



HAL
open science

Autour du noyau imidazo[4,5-b]pyridine : inhibiteurs potentiels de la protéine kinase Tyro3 et fonctionnalisation directe de liaisons C – H.

Tom Baladi

► **To cite this version:**

Tom Baladi. Autour du noyau imidazo[4,5-b]pyridine : inhibiteurs potentiels de la protéine kinase Tyro3 et fonctionnalisation directe de liaisons C – H.. Chimie organique. Université Paris Saclay (COmUE), 2016. Français. NNT : 2016SACLS386 . tel-01926081

HAL Id: tel-01926081

<https://theses.hal.science/tel-01926081>

Submitted on 19 Nov 2018

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.

NNT : 2016SACLS386



THESE DE DOCTORAT
DE
L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY
PREPAREE A
L'UNIVERSITE PARIS-SUD

ECOLE DOCTORALE N° 571
Sciences chimiques : molécules, matériaux, instrumentation et biosystèmes
Spécialité Chimie

Par

M. Tom Baladi

Autour du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine : inhibiteurs potentiels de la protéine kinase
Tyro3 et fonctionnalisation directe de liaisons C – H

Thèse présentée et soutenue à Orsay, le 18/11/2016 :

Composition du Jury :

M. Dauban, Philippe	Directeur de Recherche, ICSN	Président
M. Besson, Thierry	Professeur, IRCOF, Université de Rouen	Rapporteur
M. Benhida, Rachid	Directeur de Recherche, ICN, Université Sophia Antipolis	Rapporteur
M. Messaoudi, Samir	Chargé de Recherche, Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry	Examineur
Mme. Piguel, Sandrine	Maître de Conférences, Institut Curie, Université Paris-Sud	Directrice de thèse

Sommaire

Remerciements

Résumé

Abbréviations

Acides aminés et leurs pKa

INTRODUCTION GENERALE

I. Le noyau imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridine.....	16
II. Propriétés et synthèse.....	17
III. Applications dans le domaine biologique.....	19
IV. Objectifs du projet de thèse.....	20

CHAPITRE I

Les imidazo[4,5-*b*]pyridines comme inhibiteurs potentiels de la protéine kinase Tyro3

Introduction	24
I. La famille TAM	26
II. Etat de l'art sur les inhibiteurs de Tyro3	33
1) Les quatre types d'inhibiteurs de kinases	33
2) Inhibiteurs spécifiquement mis au point pour Tyro3.....	37
3) Inhibiteurs initialement mis au point pour d'autres cibles	40
4) Avancées au sein du laboratoire	42
Modélisation moléculaire	48
I. Introduction.....	48
II. Critères de sélection des candidats.....	52
III. Premier criblage sur plus de 500 candidats	54
IV. Second criblage : optimisation du groupement R ²	56

V. Définition des molécules cibles pour la synthèse	58
Synthèse des molécules cibles.....	59
I. Synthèse des candidats 2-alkylimidazo[4,5- <i>b</i>]pyridines.....	59
1) Rétrosynthèse	59
2) Voie A : fonctionnalisation préalable de la pyridine	60
a) Bromation et nitration de la 2-amino-4-chloropyridine	60
b) Substitution nucléophile aromatique pour l'introduction de la chaîne latérale	61
b) Réduction de la fonction nitro	62
3) Voie B : formation préalable du noyau imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridine.....	64
a) Tentatives de synthèse du noyau imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridine en une seule étape à partir de la pyridine 56.....	64
b) Tentatives de synthèse en deux étapes à partir de la pyridine 56	69
c) Synthèse à partir de la 2,3-diamino-5-bromopyridine 69	70
d) Introduction du substituant R ²	72
e) Insertion de la chaîne latérale à motif pyridone	73
f) Introduction du groupement R ² en position 6	78
II. Synthèse des 2-éthynylimidazo[4,5- <i>b</i>]pyridines	84
1) Insertion de la triple liaison par cyclisation de la pyridine 50.....	85
2) Insertion de la triple liaison par fonctionnalisation directe	86
3) Insertion de la triple liaison par couplage de Sonogashira	90
III. Autres molécules synthétisées	92
III. Conclusions.....	95
Evaluation biologique	96
I. Premier criblage par test ELISA	96
1) Principe du test	96
2) Résultats du criblage par test ELISA.....	98
II. Détermination des IC ₅₀ sur la famille TAM : dosage de l'ADP.....	101
1) Principe du test	101
2) Résultats du dosage ADP.....	103
III. Profils d'affinité sur un panel de 12 kinases.....	105
1) Principe du test	107
2) Résultats du test.....	108
IV. Etude de cytotoxicité sur cellules de cancers de la vessie	110
V. Conclusions.....	114

Conclusions et Perspectives	115
-----------------------------------	-----

CHAPITRE II

Fonctionnalisation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine

Introduction	122
Alcynylation directe du noyau imidazo[4,5-<i>b</i>]pyridine	127
I. Introduction.....	127
1) Etat de l'art sur l'alcynylation directe d'hétérocycles.....	127
2) Etat de l'art sur l'accès aux 2-éthynylimidazo[4,5- <i>b</i>]pyridines	129
II. Optimisation des conditions réactionnelles.....	130
III. Diversification des partenaires de couplages <i>gem</i> -dibromés	134
IV. Diversification des substrats imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridines	136
V. Mécanisme de la réaction	138
VI. Déprotection des produits de couplage.....	143
VI. Conclusions	144
Alcénylation directe du noyau imidazo[4,5-<i>b</i>]pyridine	145
I. Introduction.....	145
1) Etat de l'art sur l'alcénylation directe d'hétérocycles.....	145
2) Etat de l'art sur la synthèse de 2-styrylimidazo[4,5- <i>b</i>]pyridines.....	148
II. Optimisation des conditions réactionnelles.....	149
III. Diversification des partenaires de couplages bromés	151
IV. Diversification des substrats imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridines	153
V. Mécanisme de la réaction	154
Application à la synthèse d'un nouveau composé <i>push-pull</i> fluorescent.....	156
I. Introduction à la fluorescence.....	157
II. Synthèse des fluorophores.....	160
III. Etude des propriétés photophysiques des fluorophores	161
IV. Etude computationnelle.....	166
V. Conclusions.....	171
Perspectives	172

Partie expérimentale

Chimie.....	180
I. Généralités	180
II. Procédures générales (A à O)	180
III. Synthèse des molécules	185
Modélisation moléculaire	282
Evaluation biologique	283
I. Test ELISA.....	283
1) Détermination de la concentration optimale en enzyme	283
2) Protocole du test.....	284
II. Dosage de l'ADP.....	284
1) Détermination de la durée d'incubation optimale	284
2) Protocole du test.....	285
III. Profil de sélectivité	286
IV. Etude de cytotoxicité	287
Etude des propriétés photophysiques	288

Remerciements

Je tiens à remercier d'abord les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse : Thierry Besson et Rachid Benhida en tant que rapporteurs ; Véronique Stoven, Philippe Dauban et Samir Messaoudi comme examinateurs.

Je remercie aussi ma directrice de thèse, Sandrine. Merci d'avoir cru en moi quand on s'est rencontré en 2013 et de m'avoir bien préparé au concours de l'ED. Grâce à toi je suis rentré dans le monde de la recherche, ce que j'attendais depuis le jour où j'ai découvert la chimie. Merci aussi de m'avoir donné l'occasion de faire de l'enseignement, j'ai vraiment adoré ça et j'espère que j'aurai l'occasion de m'y remettre. Tu as été une encadrante modèle, qui a su à chaque fois redonner la motivation à notre petite équipe dans les moments où la chimie (ou le thésard !) avançait à reculons et ça a porté ses fruits quand je vois tous les bons résultats qu'on a finalement eus. Tu as toujours été de bon conseil, posée et méthodique et c'est vraiment agréable de travailler avec toi. J'espère que le projet Tyro3 va avoir un bel avenir quand je serai parti, je suis convaincu qu'il y a quelque chose de beau à la clé.

Je voudrais aussi remercier Marie-Paule Teulade-Fichou, directrice de l'unité Chimie, Modélisation et Imagerie pour la Biologie, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Bien sûr, un grand merci à toute l'équipe du labo et de l'unité, pour votre accueil il y a maintenant trois ans et votre gentillesse au quotidien. Nathalie, pour tout ce que tu fais pour le labo et pour moi au cours de ces trois ans; Corinne, pour avoir partagé le grand labo avec Jessy et moi, même si tu prenais toujours son parti alors que c'était toujours elle qui m'embêtait ! Romain, pour nos discussions musique et jeux et pour ton temps passé à expliquer/réparer/démarrer la LCMS ; Delphine, parce qu'on a partagé de nombreuses péripéties dans le RER et pour ton aide avec la RMN ; Florence, pour tes anecdotes au CESFO, ton enthousiasme et tes conseils sur mes projets ; Anton, pour le temps que tu as passé à répondre à toutes mes questions sur la fluo et pour m'avoir permis d'en faire une publi ; Pauline, pour avoir toujours été dispo pour des cours de micro-ondes/combiflash et ta bonne humeur, même quand tu perds aux jeux de société:p ; Chi-Hung, pour tes conseils de chimiste, les blagues que tu venais toujours nous raconter au grand labo et surtout pour avoir arrêté un début d'incendie sous ma hotte ; Claire, merci pour ta bonne humeur et ton humour, finalement ça ne fait peut-être pas si longtemps que tu es sortie de l'école ! Patricia, Sophie et Florent P., un grand merci à vous pour le temps que vous avez passé à répondre à toutes mes questions et pour tous vos conseils sur la bio, heureusement que vous étiez là. Merci aussi à Sergio pour avoir discuté du projet avec nous et avoir proposé une nouvelle approche pour les tests, qui a

bien porté ses fruits. Merci aussi à Ting-Di et Jean-Luc pour leurs efforts afin d'arriver à faire de magnifiques images de mes molécules. Nicolas, merci pour ton aide sur tous les petits soucis informatiques que j'ai eus au cours de ces trois ans et pour avoir participé activement à mon projet à de nombreuses reprises. Joël, maintenant tu as la responsabilité du grand bureau, j'espère que tu lui feras honneur, mais j'ai confiance :) Bon courage pour la suite de ta thèse (plus qu'un an, pression !) et plein de bonnes choses pour la suite. And finally the newest member of the team, Daniela, thanks for chatting and gossiping with me when I was tired of writing (even if we couldn't talk about Game of Thrones because you were so late ...).

Un petit mot pour tous les post-docs qui ont croisé mon chemin: Florian (merci pour ta patience et toutes tes explications à mon arrivée au labo), Jorge, Rocio, Aude (ou Machin, c'est comme tu veux) et Abhijit (thanks for commenting the Tunak Tunak Tun video). Marius, merci pour les crises de citations Kaamelott, pour toutes ces parties de Mōlkky imaginaires et pour le volley et le tennis, toujours au plus au niveau. I wish you all good luck for the future, in chemistry or not, and many great results.

Un merci particulier à Elodie et Naoko (vous avez le droit à un paragraphe à part !!) de m'avoir accueilli et supporté dans le grand bureau, même si je ne participais pas aux discussions de filles :) Elodie, on aura passé de bons moments au labo ou dans le bureau, à critiquer des hôtels de milliardaires à Dubaï par exemple. Je voudrais juste m'excuser pour deux choses : la plante du bureau, j'avoue que je l'ai un peu abandonnée...et ta table, que j'ai repeinte à la sauce soja à deux reprises. Ce sont elles qui ont le plus souffert de mon passage au labo :) En tous cas bravo pour ton premier boulot (même si ça commence maintenant à dater) et bonne chance pour la suite, j'espère que tu iras loin ! Naoko, je t'ai croisée moins longtemps mais entre tous ces trajets jusqu'à Croix-de-Berny en Naokomobile et un concert de Nick Cave, je trouve que ça a été bien rempli :) Et merci de m'avoir laissé jouer sur ton ukulélé ! Je te souhaite plein de bonheur avec Léopold et Yukito, que je n'ai pas encore eu le loisir de rencontrer.

Je voudrais aussi (et surtout !) remercier Valentina (Dr. Vali) et Jessy (Euuuuuh) pour leur aide précieuse tout au long de ma thèse et leur bonne humeur constante au labo.

Merci Vali pour m'avoir aidé à sortir la première déaza au prix de nombreux efforts, pour ta bonne humeur au labo en français, espagnol ou italien et pour m'avoir permis d'avoir ma première publi. J'espère qu'un beau futur t'attend chez les anglais. Toi qui au début ne voulais pas partir, te voilà bien attachée ... et maintenant même plus dans l'Europe ! Mais attention à ne pas devenir comme eux :)

Merci Jessy pour m'avoir aidé sur ... tous les projets ! Tu as donné vie aux alcynylations (trop facile) et à une publi et tu m'as permis d'avoir plein de composés à tester sur mes enzymes ... même si bon, finalement, ce sont les TB qui ont gagné ;) Je pense qu'au cours de ces deux ans à être voisins de paillasses, on aura vu à quel point la chimie peut être pleine de (mauvaises) surprises ! Merci d'avoir gardé le sourire et de ne pas être partie en courant. Merci aussi d'avoir lu et relu les débuts mon manuscrit et pour tous ces baklavas (même si ce sont un peu toujours les mêmes, non ?). Bon courage et bonne chance pour la suite, je te souhaite plein de belles choses, tu les mérites.

Merci aussi à Florent D. et Isabelle pour m'avoir accueilli dans leur labo et m'avoir permis de prendre en charge les tests bio et plus tard de participer aux tests de cytotox de nos molécules. Cela a été très enrichissant pour moi de pouvoir m'ouvrir un peu à la bio.

Une pensée à tous les stagiaires des quatre coins du monde qui ont partagé quelques jours/semaines/mois avec nous : Gaëtan (et tous tes dessins sur ma hotte), Vincent, Walid (et tes démonstrations H&S), Hang, Derrick, Qiao (et tous tes cadeaux), Jose, Hamdi, Agathe, Steeven, Jenifer, Mounir, Suan, Maeva, Béatrice, Ninon et enfin Yanis, qui m'a permis de rattraper mon retard sur le projet bio ! Plein de réussite à vous tous dans le futur.

Merci enfin à ma famille qui m'a soutenu pendant toutes ces années, ça y est cette fois je ne suis plus étudiant ! Une pensée aussi pour la team ENSCM de Paris : Aubin, Nelson, Claire, Nathan, Loïc et Elodie et la team ENSCM de Montréal : Alain, Aurélie, Guigui et Sosthy et pour les voyages en Asie et chez les caribous pendant ces trois dernières années ! Et enfin, merci à Tutu de me supporter depuis presque le début de cette thèse et de passer 6 h par mois dans le Thalys pour venir passer du temps ici.

En dernier mot, je voudrais vous dire à tous que les inscriptions sont ouvertes pour tous ceux qui voudraient venir passer quelques jours avec moi à Montréal, je vous attends (bientôt) de pied ferme tabarnak !

Résumé

Etant au quatrième rang des cancers les plus fréquents chez l'homme, le cancer de la vessie représente un enjeu médical important. Pourtant, à ce jour, seuls des traitements chirurgicaux handicapants et/ou chimiothérapeutiques non spécifiques peuvent être envisagés. Le projet de thèse s'inscrit dans le cadre de la recherche de thérapies ciblées du cancer de la vessie en ayant pour objectif le blocage, au niveau moléculaire et de manière sélective, des voies de signalisation mises en œuvre par la tyrosine kinase Tyro3 au sein des cellules cancéreuses. La mise en évidence de la surexpression de ce récepteur membranaire dans la majorité des tumeurs de vessie et son rôle dans la survie des cellules cancéreuses ont en effet permis de valider Tyro3 comme cible thérapeutique pour ce type de cancers. Le projet peut se diviser en trois parties : le développement de nouvelles méthodologies de synthèse autour du motif imidazo[4,5-*b*]pyridine, la synthèse d'une librairie de candidats inhibiteurs en utilisant les méthodes mises au point et enfin l'étude des relations structure-activité vis-à-vis de la protéine kinase Tyro3.

Bladder cancer is a major medical issue, being the fourth most frequent cancer in men and treatable only with heavy surgery and/or broad-spectrum chemotherapy. This thesis project deals with the discovery of new targeted therapies of bladder cancer by blocking specifically, at a molecular scale in cancer cells, the signaling pathways in which protein kinase Tyro3 is involved. Indeed, its overexpression in most bladder cancers and the major part it plays in cancer cells survival have led to the validation of protein kinase Tyro3 as a therapeutic target for the treatment of bladder cancer. This thesis project can be divided into three main parts: the development of new synthetic methods around the imidazo[4,5-*b*]pyridine scaffold, the synthesis of a library of compounds using these methods and eventually the study of structure-activity relationships of these compounds versus Tyro3.

Abbréviations utilisées

ACN : Acétonitrile

AcOEt : Acétate d'éthyle

AcOH : Acide acétique

ADN : Acide désoxyribonucléique

APTS : Acide *para*-toluènesulfonique

ATP : Adénosine 5'-triphosphate

ARN : Acide ribonucléique

BINAP : (\pm)-2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle

Bn : Benzyle

Boc : *tert*-butoxycarbonyle

BSA : Albumine sérique bovine

CMD : *Concerted metallation-deprotonation*

cod : 1,5-Cyclooctadiène

dba : Dibenzylidèneacetone

DCM : Dichlorométhane

DFT : *Density Functional Theory*

DHP : Dihydropyrane

DIPEA : Diisopropyléthylamine

DMAP : Diméthylaminopyridine

DMF : Diméthylformamide

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPEPhos : (Oxydi-2,1-phénylène)bis(diphénylphosphine)

DMCDA : (1*S*,2*S*)-*N*1,*N*2-Diméthylcyclohexane-1,2-diamine

dppb : 1,4-Bis(diphénylphosphino)butane

dppbz : 1,2-Bis(diphénylphosphino)benzène

dppf : 1,1'-Bis(diphénylphosphino)ferrocène

Dppp : 1,3-Bis(diphénylphosphino)propane

DTT : DL-Dithiothréitol

EDCI : *N*-(3-Diméthylaminopropyl)-*N'*-éthylcarbodiimide

ELISA : *Enzyme-linked immunosorbent assay*

FN : Fibronectine

GP : Groupement protecteur

HOMO : *Highest Occupied Molecular Orbital*

IC₅₀ : Concentration d'un inhibiteur induisant une baisse de 50 % de l'activité enzymatique

Ig : Immunoglobuline

LCMS : Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

LUMO : *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*

MCPBA : Acide *méta*-chloroperbenzoïque

MEM : Méthoxyéthosyméthyle

NanoSIMS : *Nanoscale secondary ion mass spectrometry*

NBS : *N*-bromosuccinimide

nCMD : *Non-concerted metallation-deprotonation*

NMP : *N*-méthylpyrrolidine

PDB : *Protein Data Bank*

PMB : *para*-méthoxybenzyle

qPCR : Polymerase Chain Reaction quantitative (ou en temps réel)

RTK : Récepteur à activité tyrosine kinase

siRNA : Petit ARN interférent

SNAr : Substitution nucléophile aromatique

TBS : *Tris-buffered saline*

TBTU : *ortho*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tétraméthyluronium tétrafluoroborate

TD-DFT : *Time-Dependant Density Functional Theory*

TFA : Acide trifluoroacétique

THF : Tétrahydrofurane

THP : Tétrahydropyrane

TK : Tyrosine kinase

TMB : 3,3',5,5'-Tétraméthylbenzidine

TMS : Triméthylsilyle

Tris : 2-Amino-2-(hydroxyméthyl)-1,3-propanediol

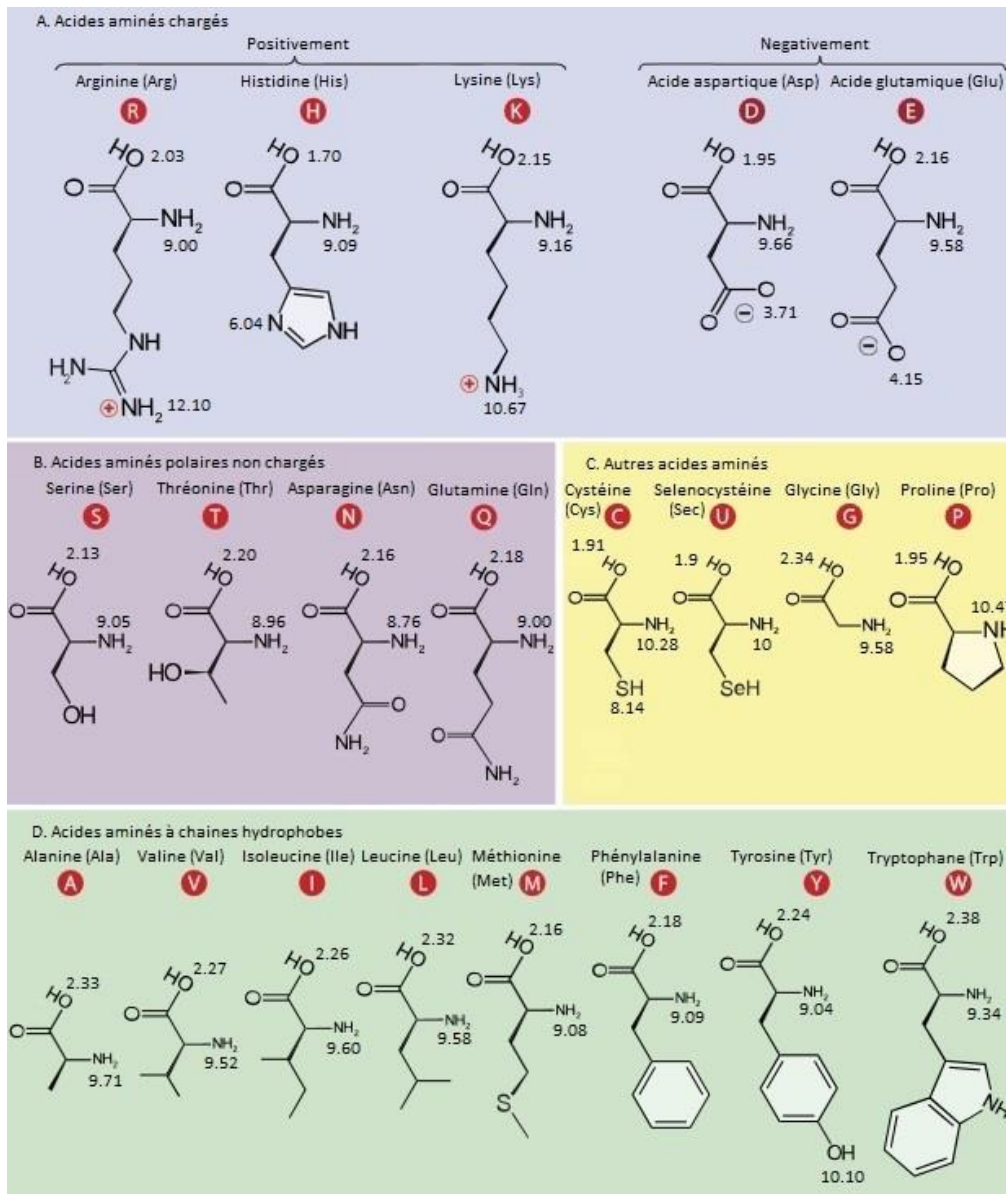
TrixiePhos : *rac*-2-(Di-*tert*-butylphosphino)-1,1'-binaphthyle

XantPhos : 4,5-Bis(diphénylphosphino)-9,9-diméthylxanthène

Xphos : 2-Dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphényle

μW : Micro-ondes

Acides aminés et leurs pKa



INTRODUCTION GENERALE

I. Le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine

Le noyau imidazopyridine est constitué d'un imidazole fusionné à une pyridine et possède quatre isomères différents (Figure 1). La pyridine et l'imidazole comportant tous deux au moins un atome d'azote, le cycle prioritaire d'après les règles de nomenclature IUPAC est la pyridine car elle comporte six chaînons. Les six liaisons formant la pyridine sont donc nommées de a à c à partir de l'atome d'azote. Les atomes constitutifs du motif imidazole sont quant à eux numérotés de 1 à 5 en respectant les règles habituelles. Le nom complet de chaque isomère est alors déterminé en indiquant quels atomes et liaisons ont fusionné. Dans ce manuscrit, seul un isomère sera étudié : l'imidazo[4,5-*b*]pyridine. Ce dernier possède trois atomes d'azote, dont aucun n'est commun aux deux cycles. Seul le doublet de l'azote *N3* est engagé dans l'aromaticité de l'hétérocycle.

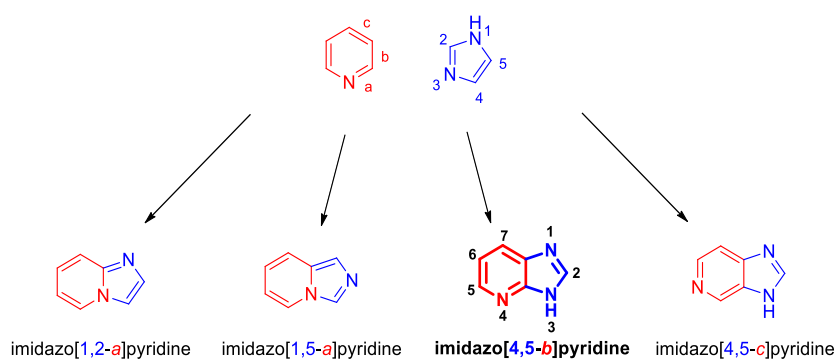


Figure 1. Le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

La première synthèse d'une imidazo[4,5-*b*]pyridine a été décrite en 1927 par Tschitschibabin et Kirsanov par chauffage de la 2,3-diaminopyridine en présence d'anhydride acétique (Schéma 1).¹

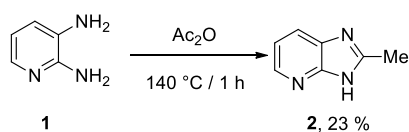


Schéma 1. Première synthèse du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

Le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine est présent sous forme polysubstituée dans un petit nombre de molécules naturelles. Par exemple, la 2-amino-1-méthyl-6-phénylimidazo[4,5-*b*]pyridine **3** est une molécule potentiellement carcinogène formée lors de la cuisson des viandes (Figure 2).² La

¹ A. E. Tschitschibabin, A. W. Kirsanow, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1927**, *60*, 766-776.

² R. Li, J. Tian, W. Li, J. Xie, *Food Chem. Toxicol.* **2013**, *55*, 182-191.

pentosidine **4** est un marqueur biologique de la formation des produits terminaux de glycation pouvant être utilisé pour le suivi du diabète.³

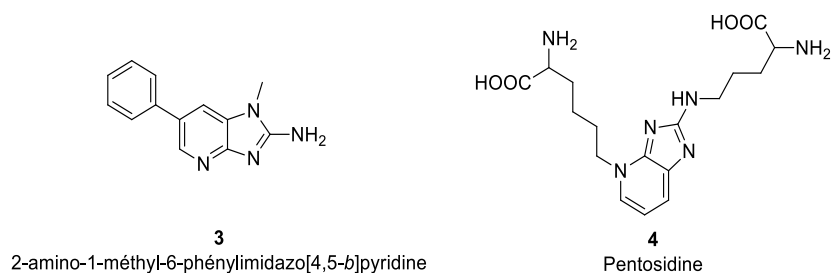


Figure 2. Deux exemples d'imidazo[4,5-*b*]pyridines naturelles.

II. Propriétés et synthèse

L'imidazo[4,5-*b*]pyridine **5** possède quatre liaisons C – H sur les positions 2, 5, 6 et 7. De par la présence des azotes *N1* et *N3* inductifs attracteurs, le carbone C2 est relativement électrophile et le proton H2 est le plus acide (Figure 3).⁴

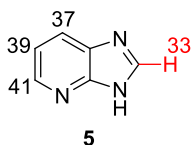


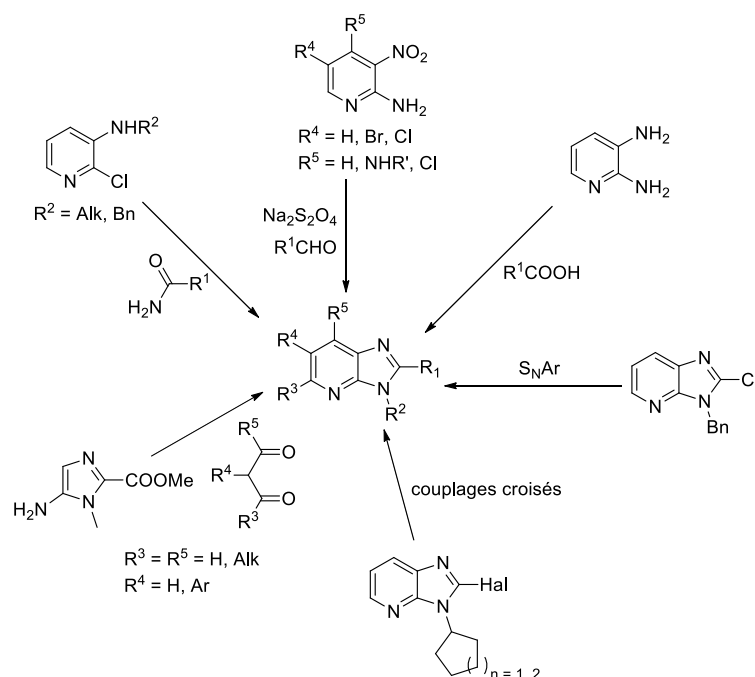
Figure 3. Valeurs des pKa de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine.

Du point de vue synthétique, plusieurs voies d'accès à des imidazo[4,5-*b*]pyridines polysubstituées ont été décrites.⁵ Celles-ci se résument principalement à deux stratégies : la première consiste à introduire des modifications directement sur le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine préformé par couplage croisé ou substitution nucléophile aromatique ; la seconde implique l'utilisation de précurseurs imidazoles ou pyridine déjà substitués (Schéma 2).

³ S. Sugiyama, T. Miyata, Y. Ueda, H. Tanaka, K. Maeda, S. Kawashima, C. Van Ypersele de Strihou, K. Kurokawa, *J. Am. Soc. Nephrol.* **1998**, 9, 1681-1688.

⁴ Calculs réalisés à l'Institut Curie par le Dr. Nicolas Saettel à l'aide du programme JAGUAR, méthode B3LYP.

⁵ (a) Y. M. Yutilov, in *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Vol. Volume 89, (Ed.: R. K. Alan), Academic Press, **2005**, pp. 159-270; (b) K. V. Bukhryakov, A. V. Kurkin, M. A. Yurovskaya, *Chem. Heterocyc. Compd.* **2011**, 47, 533-557.

Schéma 2. Synthèses d'imidazo[4,5-*b*]pyridines.

La synthèse la plus commune dans la littérature est une condensation d'aldéhydes,⁶ d'acides carboxyliques⁷ ou d'amides⁸ et de pyridines préfonctionnalisées. Le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine peut aussi être obtenu par condensation de dicétones sur le 5-aminoimidazole.⁹ Les méthodes de fonctionnalisation après formation du noyau hétéroaromatique se concentrent principalement sur la position 2. Par couplages croisés métallo-catalysés, il est possible d'introduire des groupements aryles¹⁰ ou éthyngles.¹¹ Des groupements aminés de type morpholine peuvent quant à eux être introduits par substitution nucléophile aromatique.¹²

⁶ V. Bavetsias, J. M. Large, C. Sun, N. Bouloc, M. Kosmopoulou, M. Matteucci, N. E. Wilsher, V. Martins, J. h. Reynisson, B. Atrash, A. Faisal, F. Urban, M. Valenti, A. de Haven Brandon, G. Box, F. I. Raynaud, P. Workman, S. A. Eccles, R. Bayliss, J. Blagg, S. Linardopoulos, E. McDonald, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5213-5228.

⁷ S.-Y. Lin, Y. Isome, E. Stewart, J.-F. Liu, D. Yohannes, L. Yu, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2883-2886.

⁸ A. J. Rosenberg, J. Zhao, D. A. Clark, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1764-1767.

⁹ J. Wu, X. Xing, G. D. Cuny, *Lett. Org. Chem.* **2009**, *6*, 203-207.

¹⁰ A. M. Sajith, A. Muralidharan, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1036-1041.

¹¹ A. M. Sajith, A. Muralidharan, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 5206-5210.

¹² A. J. Rosenberg, T. M. Williams, A. J. Jordan, D. A. Clark, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 3064-3072.

III. Applications dans le domaine biologique

Le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine est décrit dans la littérature dans un nombre croissant de molécules à visée thérapeutique, par exemple pour le traitement du cancer,¹³ de maladies neurodégénératives,¹⁴ du diabète¹⁵ ou de l'hypertension (Figure 4).¹⁶ Il faut toutefois souligner que dans toutes ces applications, le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine est principalement fonctionnalisé en positions 2 et 3.

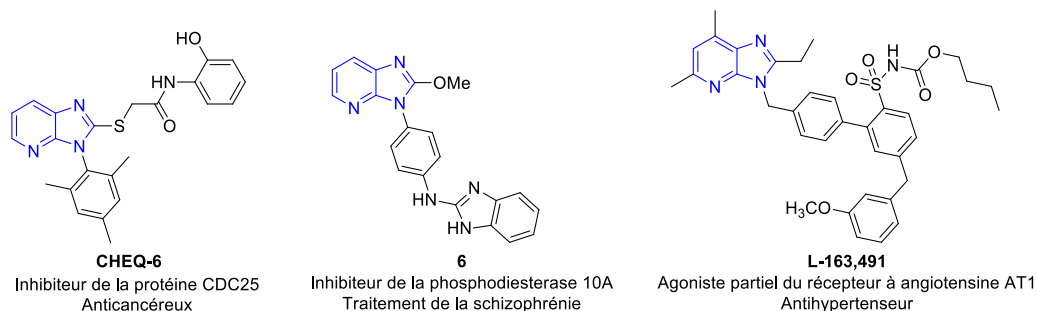


Figure 4. Trois exemples d'imidazo[4,5-*b*]pyridines à visée thérapeutique.

Plus particulièrement, l'équipe de Shen a mis au point l'imidazo[4,5-*b*]pyridine **7** possédant une très bonne IC₅₀ de 10.7 nM sur la tyrosine kinase Met (Figure 5).¹⁷

¹³ (a) Y. Song, X. Lin, D. Kang, X. Li, P. Zhan, X. Liu, Q. Zhang, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *82*, 293-307; (b) A. M. Sajith, K. K. Abdul Khader, N. Joshi, M. N. Reddy, M. Syed Ali Padusha, H. P. Nagaswarupa, M. Nibin Joy, Y. D. Bodke, R. P. Karuvalam, R. Banerjee, A. Muralidharan, P. Rajendra, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *89*, 21-31; (c) J. K. Park, S. Kim, Y. J. Han, S. H. Kim, N. S. Kang, H. Lee, S. Park, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 2580-2583; (d) J. M. Lapierre, S. Eathiraj, D. Vensel, Y. Liu, C. O. Bull, S. Cornell-Kennon, S. Iimura, E. W. Kelleher, D. E. Kizer, S. Koerner, S. Makhija, A. Matsuda, M. Moussa, N. Namdev, R. E. Savage, J. Szwaya, E. Volckova, N. Westlund, H. Wu, B. Schwartz, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 6455-6469; (e) V. Bavetsias, J. M. Large, C. Sun, N. Bouloc, M. Kosmopoulou, M. Matteucci, N. E. Wilsher, V. Martins, J. Reynisson, B. Atrash, A. Faisal, F. Urban, M. Valenti, A. de Haven Brandon, G. Box, F. I. Raynaud, P. Workman, S. A. Eccles, R. Bayliss, J. Blagg, S. Linardopoulos, E. McDonald, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5213-5228; (f) J.-M. Lapierre, S. Eathiraj, D. Vensel, Y. Liu, C. O. Bull, S. Cornell-Kennon, S. Iimura, E. W. Kelleher, D. E. Kizer, S. Koerner, S. Makhija, A. Matsuda, M. Moussa, N. Namdev, R. E. Savage, J. Szwaya, E. Volckova, N. Westlund, H. Wu, B. Schwartz, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 6455-6469.

¹⁴ E. Hu, K. Andrews, S. Chmait, X. Zhao, C. Davis, S. Miller, G. Hill Della Puppa, M. Dovlatyan, H. Chen, D. Lester-Zeiner, J. Able, C. Biorn, J. Ma, J. Shi, J. Treanor, J. R. Allen, *ACS Med. Chem. Letters* **2014**, *5*, 700-705.

¹⁵ (a) L. Chang, S. Y. Lee, P. Leonczak, J. Rozenski, S. De Jonghe, T. Hanck, C. E. Muller, P. Herdewijn, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 10080-10100; (b) K. M. Kim, K. S. Lee, G. Y. Lee, H. Jin, E. S. Durrance, H. S. Park, S. H. Choi, K. S. Park, Y. B. Kim, H. C. Jang, S. Lim, *Mol. Cell. Endocrinol.* **2015**, *409*, 1-10; (c) M. Taha, N. H. Ismail, S. Imran, H. Rashwan, W. Jamil, S. Ali, S. M. Kashif, F. Rahim, U. Salar, K. M. Khan, *Bioorg. Chem.* **2016**, *65*, 48-56.

¹⁶ B. J. De Witt, E. A. Garrison, H. C. Champion, P. J. Kadowitz, *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, *404*, 213-219.

¹⁷ D. Chen, Y. Wang, Y. Ma, B. Xiong, J. Ai, Y. Chen, M. Geng, J. Shen, *ChemMedChem* **2012**, *7*, 1057-1070.

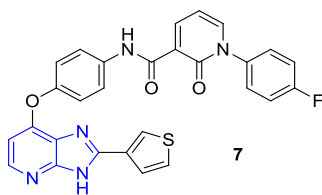


Figure 5. Inhibiteur de Met mis au point par Shen.

En tant qu'isostère de purine, cet hétérocycle a aussi été utilisé par l'équipe d'Hirao dans la préparation d'analogues non naturels de nucléosides.¹⁸ En particulier, le composé fluorescent Dss **8** peut être introduit dans un brin d'ADN ou d'ARN de manière régiospécifique (Figure 6).

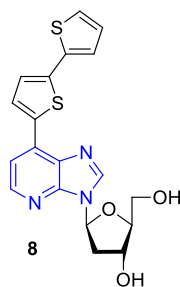


Figure 6. Le Dss, nucléoside fluorescent non naturel.

IV. Objectifs du projet de thèse

Le premier chapitre sera dédié à un projet pluridisciplinaire de chimie médicinale destiné à mettre au point des inhibiteurs potentiellement sélectifs de la protéine kinase Tyro3. Le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine pourrait permettre d'apporter la sélectivité recherchée en mettant à profit une particularité structurale de la cible Tyro3 (Figure 7). Toutes les étapes d'identification de candidats en modélisation moléculaire, de synthèse et d'évaluation *in vitro* y seront successivement décrites.

¹⁸ (a) I. Hirao, M. Kimoto, T. Mitsui, T. Fujiwara, R. Kawai, A. Sato, Y. Harada, S. Yokoyama, *Nature Met.* **2006**, *3*, 729-735; (b) M. Kimoto, K. Moriyama, S. Yokoyama, I. Hirao, *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2007**, *17*, 5582-5585; (c) M. Kimoto, T. Mitsui, S. Yokoyama, I. Hirao, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4988-4989.

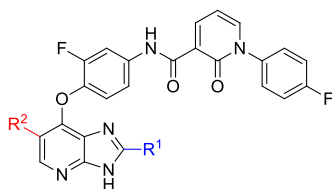


Figure 7. Schéma général des molécules à visée thérapeutique.

Le second chapitre sera quant à lui consacré au développement de nouvelles conditions d'alcynylation et alcénylation directes de ce même motif hétéroaromatique (Schéma 3). En particulier, l'intérêt de ces méthodes sera illustré par la synthèse de deux composés push-pull fluorescents dont les propriétés photophysiques seront détaillées.

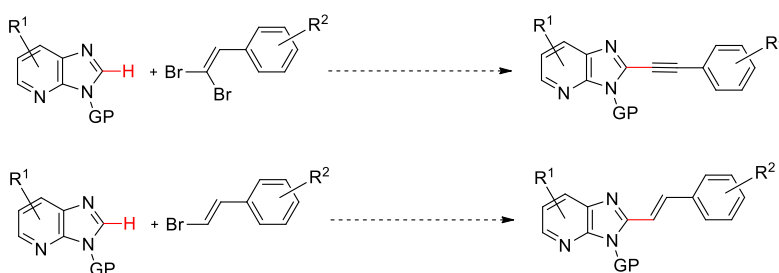


Schéma 3. Alcénylation et alcynylation directes du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

CHAPITRE I

Les imidazo[4,5-*b*]pyridines comme inhibiteurs
potentiels de la protéine kinase Tyro3

Introduction

Le cancer est devenu un enjeu majeur de santé publique au cours des dernières décennies, en particulier dans les régions les plus développées. Qu'il soit dû à des facteurs héréditaires, environnementaux ou simplement à des mutations aléatoires, le cancer a été la cause de 8.2 millions de décès en 2012.¹⁹ Le cancer se forme par accumulation progressive d'altérations dans les processus cellulaires des cellules saines. Hanahan a proposé six caractères déterminants autour desquels s'articule tout développement tumoral : la disparition des mécanismes d'apoptose (mort programmée de la cellule), l'insensibilité aux signaux d'arrêts de croissance, l'auto-activation des signaux de croissance, l'absence de régulation de la division cellulaire, une angiogénèse soutenue et l'acquisition d'un caractère invasif (Figure 8).²⁰ Ces propriétés en font une maladie particulièrement difficile à combattre car d'une grande diversité, en constante évolution et impliquant des modifications dynamiques et complexes du génome.

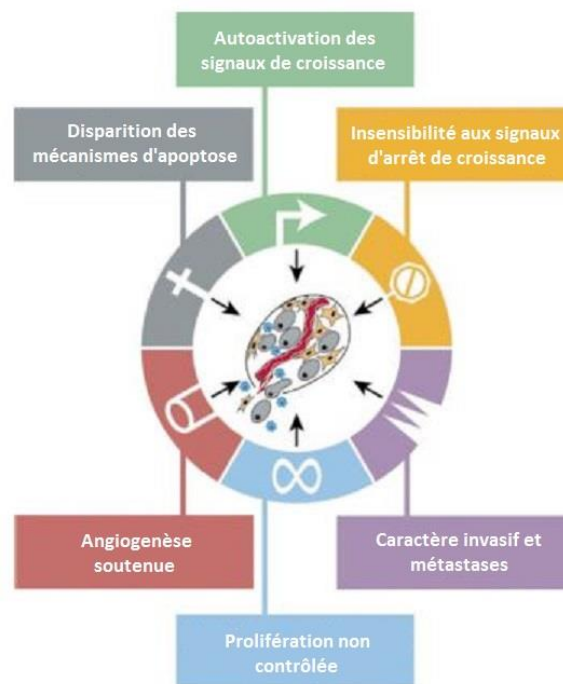


Figure 8. Les six piliers du développement tumoral.²⁰

¹⁹ Rapport Globocan 2012 de l'Organisation Mondiale de la Santé.

²⁰ D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2000**, *100*, 57-70.

Plusieurs traitements existent pour combattre le cancer, tels que la chimiothérapie, la chirurgie ou la radiothérapie. La chimiothérapie consiste en l'administration d'une ou plusieurs molécules cytotoxiques chez le patient. Les cellules cancéreuses sont les plus impactées du fait de leur taux de prolifération plus élevé mais ce type de traitement touche aussi les cellules saines et est donc à l'origine de nombreux effets secondaires comme par exemple la pancytopenie ou la chute des cheveux. La chirurgie présente elle aussi des risques, liés non seulement à l'opération elle-même mais aussi à l'anesthésie nécessaire. De plus, elle n'est pas envisageable dans tous les cas de cancers.

La thérapie ciblée, nouvelle stratégie développée au cours des vingt dernières années, doit permettre de diminuer considérablement ces effets secondaires. Elle consiste à adresser spécifiquement une molécule à une cellule cancéreuse en ciblant un marqueur surexprimé, par exemple une protéine, un récepteur ou un site membranaire particulier. Ce marqueur étant absent ou exprimé à un niveau basal dans les cellules saines, ces dernières doivent donc être épargnées.

Parmi les cibles de choix pour ce nouveau type de thérapie se trouvent les protéines kinases. Ce sont des enzymes capables de catalyser la réaction de transfert d'un groupement phosphate depuis une molécule d'adénosine-5'-triphosphate (ATP) vers le groupement hydroxyle d'un acide aminé sérine, thréonine ou tyrosine présent sur une autre protéine appelée substrat (Figure 9).²¹ Cette réaction de phosphorylation conduit à la formation d'une molécule d'adénosine-5'-diphosphate (ADP). Par l'intermédiaire de ce transfert de phosphate inorganique, les protéines kinases jouent un rôle déterminant dans les voies de signalisation cellulaires (*vide infra*). La plupart des cancers sont ainsi liés à la surexpression d'une ou plusieurs protéines kinases spécifiques, ce qui justifie l'intérêt croissant qui leur est porté pour la thérapie ciblée. Par analogie au génome, l'ensemble des kinases chez l'homme est nommé kinome.

²¹ Adapté de D. Secko, The Science Creative Quarterly, 2003.

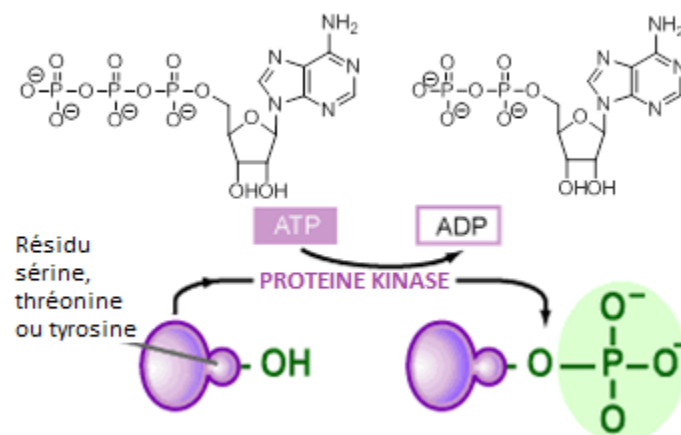


Figure 9. Réaction de phosphorylation catalysée par une protéine kinase.²¹

Durant les deux dernières décennies, un grand nombre de petites molécules ciblant le kinome humain a été développé et plus de trente d'entre elles ont été approuvées par la *Food & Drug Administration* (FDA).²² Toutefois, l'ensemble de ces inhibiteurs ne couvre pour l'instant pas plus de 15 % du kinome.²³

I. La famille TAM

Les 518 kinases identifiées à ce jour²⁴ sont regroupées sous trois catégories, en fonction des résidus qu'elles sont capables de phosphoryler : les sérine/thréonine kinases, les tyrosine kinases (TK) et les kinases bifonctionnelles capables de phosphoryler les trois résidus. Il existe 338 sérine/thréonine kinases contre seulement 90 tyrosine kinases. Parmi ces dernières, 58 sont des récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase (RTK), possédant un domaine extracellulaire pouvant se fixer à un ligand et un domaine kinase intracellulaire. Ce domaine kinase est toujours constitué d'un lobe N-terminal (caractérisé par la présence de feuillets β et d'au moins une hélice α) et d'un lobe C-terminal (hélices α uniquement), reliés par une région charnière sur laquelle peut se fixer l'ATP (Figure 10).²⁵ A proximité du site de fixation de l'ATP se situe une boucle dite d'activation, constituée d'une vingtaine d'acides aminés et initiée par une triade DFG (D = acide aspartique, F =

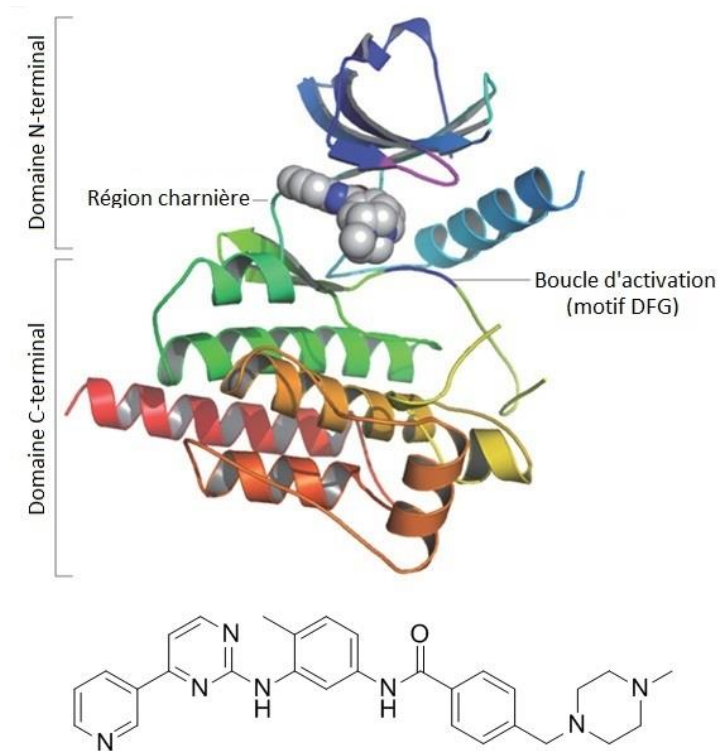
²² (a) S. Laufer, J. Bajorath, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 2167-2168; (b) P. Wu, T. E. Nielsen, M. H. Clausen, *Trends Pharmacol. Sci.* **2015**, *36*, 422-439; (c) D. Fabbro, *Mol. Pharmacol.* **2015**, *87*, 766-775; (d) D. Fabbro, S. W. Cowan-Jacob, H. Moebitz, *Brit. J. Pharmacol.* **2015**, *172*, 2675-2700.

²³ O. Fedorov, S. Muller, S. Knapp, *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 166-169.

²⁴ G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science* **2002**, *298*, 1912-1934.

²⁵ L. K. Chico, L. J. Van Eldik, D. M. Watterson, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2009**, *8*, 892-909.

phénylalanine et G = glycine). Les RTK ont été regroupés en 20 familles, suivant le degré de similarité de leur domaine kinase (Figure 11).^{24,26}



²⁶ D. R. Robinson, Y.-M. Wu, S.-F. Lin, *Oncogene* **2000**, *19*, 5548-5557.

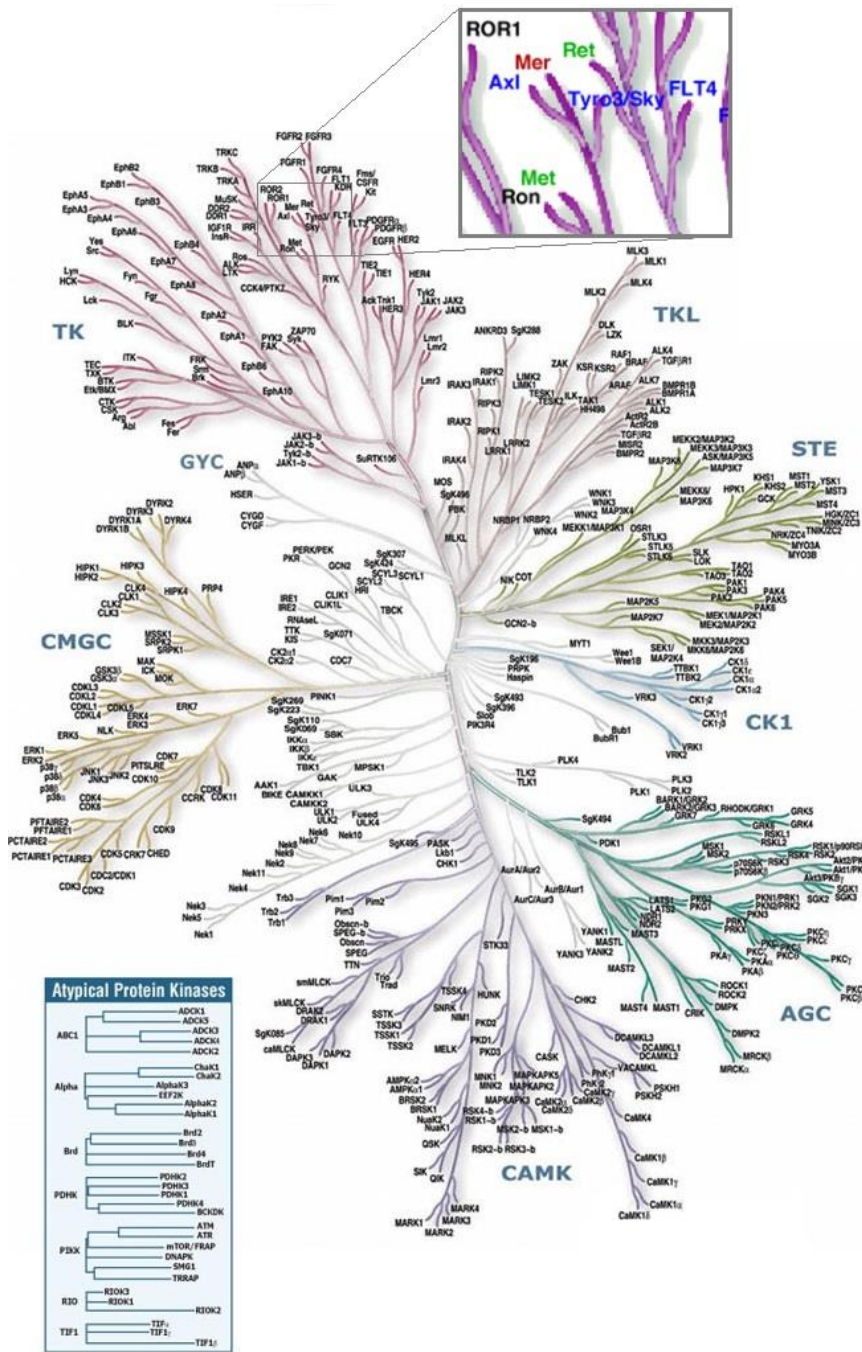


Figure 11. La famille TAM au sein du kinôme humain.²⁴

La famille TAM a été découverte au début des années 1990 en clonant des protéines à partir de cellules cancéreuses et regroupe trois récepteurs à activité tyrosine kinase : Tyro3 (identifiée aussi sous les noms Sky, Brt, Dtk, Rse, Tif, Etk2, Rek), Axl (Ark, Ufo, Tyro7), du grec *Anexelekto* (incontrôlé) et Mer (MerTK, Nyk, Eyk, Tyro12), isolée de mélanocytes et tissus épithéliaux et reproducteurs.²⁷

²⁷ R. Linger, A. Keating, H. Earp, D. Graham, *Adv. Cancer Res.* **2008**, *100*, 35-83.

Les trois membres de la famille partagent un haut degré de similitude : 52-57 % dans la région extracellulaire et 72-75 % dans le domaine intracellulaire. Ils sont chacun composés de deux domaines immunoglobuline (Ig) et deux domaines fibronectine (FN) au sein de la région extracellulaire, ainsi qu'un domaine kinase intracellulaire contenant une séquence définie KW-I/L-A-I/L-ES (Figure 12).²⁷ Les trois récepteurs TAM partagent un ligand commun, la protéine Gas6 (*Growth arrest-specific*).²⁸

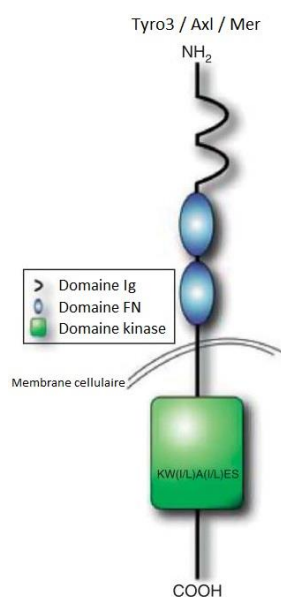


Figure 12. Structures des récepteurs de la famille TAM.²⁷

Des fragments correspondant aux domaines d'homologie aux immunoglobulines de Tyro3²⁹ d'Axl³⁰ et humaines ont été cristallisés en complexes avec Gas6 en 2004 et 2006, respectivement. La structure cristalline du domaine catalytique intracellulaire de la protéine Mer humaine a été résolue en 2009³¹ et le domaine kinase de la protéine Tyro3 murine a pu être cristallisé à deux reprises en 2012 et 2013, chaque fois en conformation DFG-in en complexe avec un inhibiteur de type I (*vide infra*) (Figure 13).³²

²⁸ S. Hafizi, B. Dahlback, *Cytokine & Growth F. Rev.* **2006**, *17*, 295-304.

²⁹ C. Heiring, B. Dahlback, Y. A. Muller, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 6952-6958.

³⁰ T. Sasaki, P. G. Knyazev, N. J. Clout, Y. Cheburkin, W. Göhring, A. Ullrich, R. Timpl, E. Hohenester, *EMBO J.* **2006**, *25*, 80-87.

³¹ X. Huang, P. Finerty, Jr., J. R. Walker, C. Butler-Cole, M. Vedadi, M. Schapira, S. A. Parker, B. E. Turk, D. A. Thompson, S. Dhe-Paganon, *J. Struct. Biol.* **2009**, *165*, 88-96.

³² (a) N. A. Powell, J. K. Hoffman, F. L. Ciske, M. D. Kaufman, J. T. Kohrt, J. Quin, 3rd, D. J. Sheehan, A. Delaney, S. M. Baxi, C. Catana, P. McConnell, J. Ohren, L. A. Perrin, J. J. Edmunds, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 1046-1050; (b) N. A. Powell, J. T. Kohrt, K. J. Filipinski, M. Kaufman, D. Sheehan, J. E. Edmunds, A. Delaney, Y. Wang, F. Bourbonnais, D. Y. Lee, F. Schwende, F. Sun, P. McConnell, C. Catana, H. Chen, J. Ohren, L. A. Perrin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 190-193.

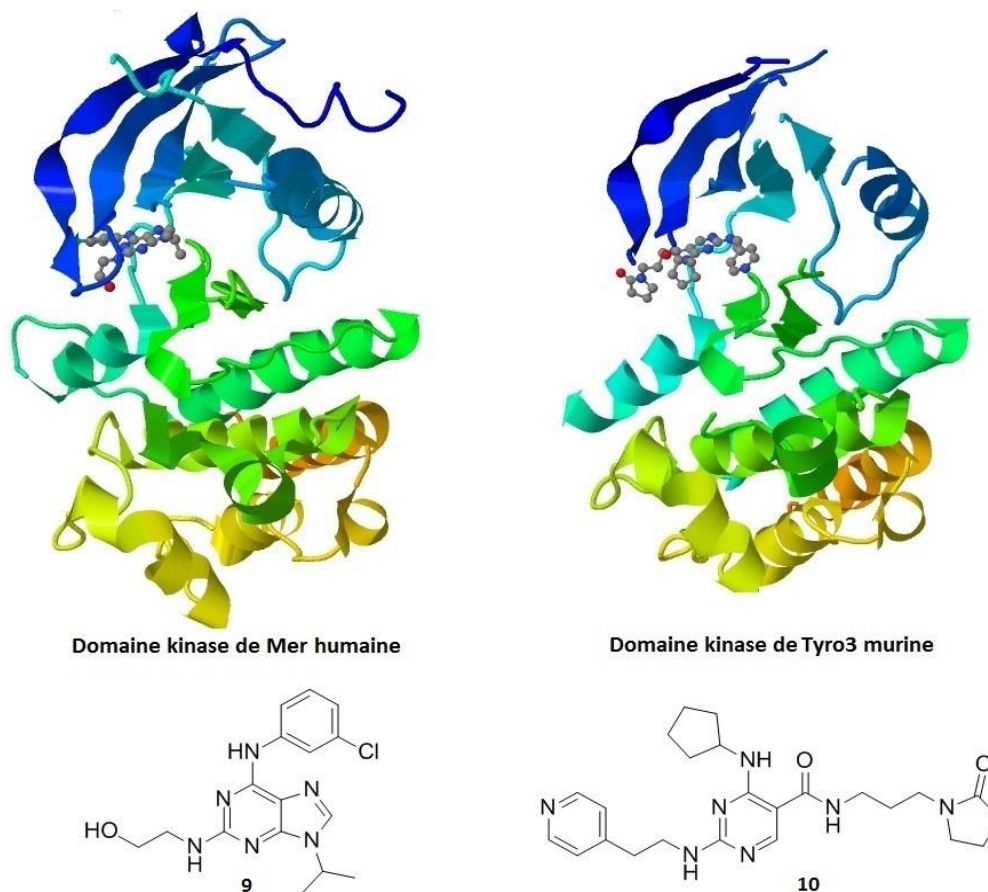


Figure 13. Structures cristallines des domaines kinases de Mer humaine (code PDB : 3BPR) et Tyro3 murine (code PDB : 4FEQ).³²

Les trois membres de la famille TAM sont impliqués dans de nombreuses fonctions cellulaires et remplissent des rôles à la fois coopératifs et redondants en fonction de la nature des cellules et de leur environnement. L'une des fonctions les plus étudiées est la régulation par Mer de l'efferoctose (élimination des cellules apoptotiques par les macrophages et les cellules dendritiques).³³ Le récepteur membranaire permet la reconnaissance et l'adhérence entre le macrophage et la membrane de la cellule morte. En effet, la protéine Gas6 se lie aux phosphatidylsérines exprimées à la surface de la cellule en apoptose et les protéines TAM sont alors capables de détecter et se lier à ces membranes à travers un complexe protéine TAM-ligand Gas6-phosphatidylsérine. De ce fait, la famille TAM constitue une cible de choix pour les infections virales.³⁴ En effet, de nombreux virus dont le virus de l'immunodéficience humaine surexpriment des phosphatidylsérines sur leur

³³ R. S. Scott, E. J. McMahon, S. M. Pop, E. A. Reap, R. Caricchio, L. Cohen, H. S. Earp, G. K. Matsushima, *Nature* **2001**, *411*, 207-211.

³⁴ (a) G. Lemke, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* **2013**, *5*, a009076; (b) S. Moller-Tank, W. Maury, *Virology* **2014**, *468-470*, 565-580.

membrane afin de mimer le signal apoptotique et faciliter l'entrée dans les cellules.³⁵ Mer et Axl jouent aussi un rôle majeur dans le système immunitaire inné ; en éliminant les anticorps intracellulaires³³ et en régulant la sécrétion et la libération de cytokines, ils permettent également de prévenir les réactions auto-immunes.³⁶

Afin de mieux illustrer les différents rôles des récepteurs TAM, leur inhibition a été étudiée chez la souris. Par exemple, la délétion des gènes codant pour Mer ou Axl mène à une élimination défectueuse des cellules apoptotiques³³ et à une surproduction d'autoanticorps.³⁷ La délétion des trois gènes TAM conduit à l'infertilité chez les souris mâles³⁸ et à de sévères réactions auto-immunes.³⁷ De plus, il a été démontré que les trois protéines TAM sont nécessaires à l'intégrité et à la perméabilité des vaisseaux sanguins car des lésions vasculaires entraînent une surexpression des protéines Axl et Gas6.^{27, 34} Les trois récepteurs sont aussi impliqués dans d'autres fonctions telles que l'agrégation plaquettaire³⁹ ou même la spermatogénèse.³⁸

Un grand nombre de cancers (côlon, foie, vessie, prostate ou leucémies par exemple) est lié à une surexpression des protéines TAM.⁴⁰ Ainsi, celles-ci peuvent être reliées à au moins trois des six fonctions acquises par les cellules cancéreuses²⁰ : le développement soutenu de l'angiogenèse, l'absence de mécanisme apoptotique et le caractère invasif.^{27, 40} Leurs gènes codants sont rarement mutés ou amplifiés mais leur transcription peut-être promue par le microenvironnement tumoral. Par exemple, la transcription du gène codant pour Mer est stimulée par le 27-hydroxycholestérol, produit par les cellules cancéreuses ou environnantes.⁴⁰

A cause de ces implications majeures dans le développement tumoral, les réactions auto-immunes ou les infections virales, la famille TAM a émergé ces dernières années en tant que cible thérapeutique d'intérêt. En particulier, en 2010, un brevet publié au sein de l'Institut Curie par l'équipe du Dr. Francois Radvanyi et du Dr. Isabelle Bernard-Pierrot a montré que la protéine Tyro3 est surexprimée dans 70 % des cancers de la vessie et que son inhibition par l'intermédiaire d'une

³⁵ M. K. Callahan, P. M. Popernack, S. Tsutsui, L. Truong, R. A. Schlegel, A. J. Henderson, *J. Immunol.* **2003**, *170*, 4840-4845.

³⁶ G. Lemke, C. V. Rothlin, *Nat. Rev. Immunol.* **2008**, *8*, 327-336.

³⁷ Q. Lu, G. Lemke, *Science* **2001**, *293*, 306-311.

³⁸ Q. Lu, M. Gore, Q. Zhang, T. Camenischk, S. Boast, F. Casagrande, C. Lai, M. K. Skinner, R. Klein, G. K. Matsushima, H. S. Earp, S. P. Goff, G. Lemke, *Nature* **1999**, *398*, 723-728.

³⁹ A. Angelillo-Scherrer, L. Burnier, N. Flores, P. Savi, M. DeMol, P. Schaeffer, J.-M. Herbert, G. Lemke, S. P. Goff, G. K. Matsushima, H. S. Earp, C. Vesin, M. F. Hoylaerts, S. Plaisance, D. Collen, E. M. Conway, B. Wehrle-Haller, P. Carmeliet, *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 237-246.

⁴⁰ D. K. Graham, D. DeRyckere, K. D. Davies, H. S. Earp, *Nat. Rev. Cancer* **2014**, *14*, 769-785.

petite molécule, d'un siRNA⁴¹ ou d'un anticorps conduisait à une importante réduction du volume tumoral sur souris xéno greffées.⁴²

Dans le monde, le cancer de la vessie est le 7^{ème} en termes d'incidence chez l'homme et le 17^{ème} chez la femme. Dans les pays les plus développés, il s'avance au 4^{ème} rang chez l'homme et 15^{ème} chez la femme. Pourtant, à ce jour, les seuls traitements utilisés pour le combattre sont encore la chimiothérapie classique ou la chirurgie, bien que cette dernière puisse mener à des problèmes d'incontinence urinaire et de stérilité, de par la proximité de la prostate et du canal déférent.⁴³

Il semble ainsi nécessaire de s'orienter vers le développement d'une nouvelle thérapie ciblée pour le traitement de ce type de cancer. En s'appuyant sur les résultats du brevet mentionné précédemment et en collaboration avec l'équipe du Dr. Radvanyi, nous avons donc décidé de nous orienter vers l'identification et la synthèse de petites molécules inhibitrices et potentiellement sélectives de la protéine kinase Tyro3.

⁴¹ Un petit ARN interférent (siRNA – *small interfering RNA*) est un ARN double brin pouvant se lier après coupure par un Dicer (enzyme) à un ARN messenger spécifique et empêcher ainsi sa traduction en protéine par le ribosome.

⁴² I. Bernard-Pierrot, F. Radvanyi, Y. Allory, N. Stransky, **2010**, I. Curie, WO2010/031828.

⁴³ M. Racioppi, D. D'Agostino, A. Totaro, F. Pinto, E. Sacco, A. D'Addessi, F. Marangi, G. Palermo, P. F. Bassi, *Urol. Int.* **2012**, *88*, 249-258.

II. Etat de l'art sur les inhibiteurs de Tyro3

A ce jour, la plupart des inhibiteurs de Tyro3 a été identifiée au hasard à travers des profils de sélectivité, après avoir été initialement développée pour d'autres kinases. Seules quelques molécules ont été mises au point spécifiquement pour Tyro3.⁴⁴

1) Les quatre types d'inhibiteurs de kinases

Avant de rentrer dans les détails de ces inhibiteurs, il convient de rappeler que les domaines kinases intracellulaires des RTK existent sous un grand nombre de conformations différentes, dépendant principalement de l'état de phosphorylation de la boucle d'activation contenant le motif acide aspartique-phénylalanine-glycine (DFG). Quand un ligand se fixe sur le domaine extracellulaire d'un RTK, il favorise une dimérisation induisant une *trans*-autophosphorylation des résidus tyrosine sur les boucles d'activation intracellulaires (Figure 14).⁴⁵ Cette autophosphorylation conduit à une conformation dite *DFG-in* et le domaine kinase intracellulaire peut alors phosphoryler d'autres substrats cytoplasmiques (Figure 15 : 1).

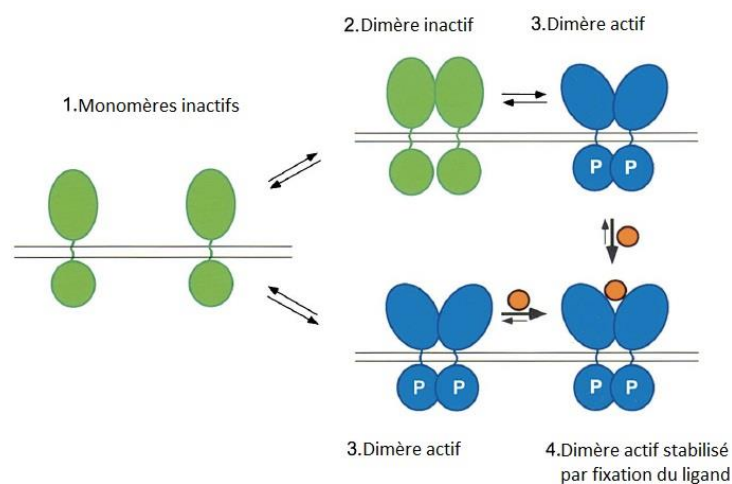


Figure 14. Formation de dimères de RTK stabilisée par fixation d'un ligand.⁴⁵

⁴⁴ T. Baladi, V. Abet, S. Piguel, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *105*, 220-237.

⁴⁵ J. Schlessinger, *Cell* **2000**, *103*, 211-225.

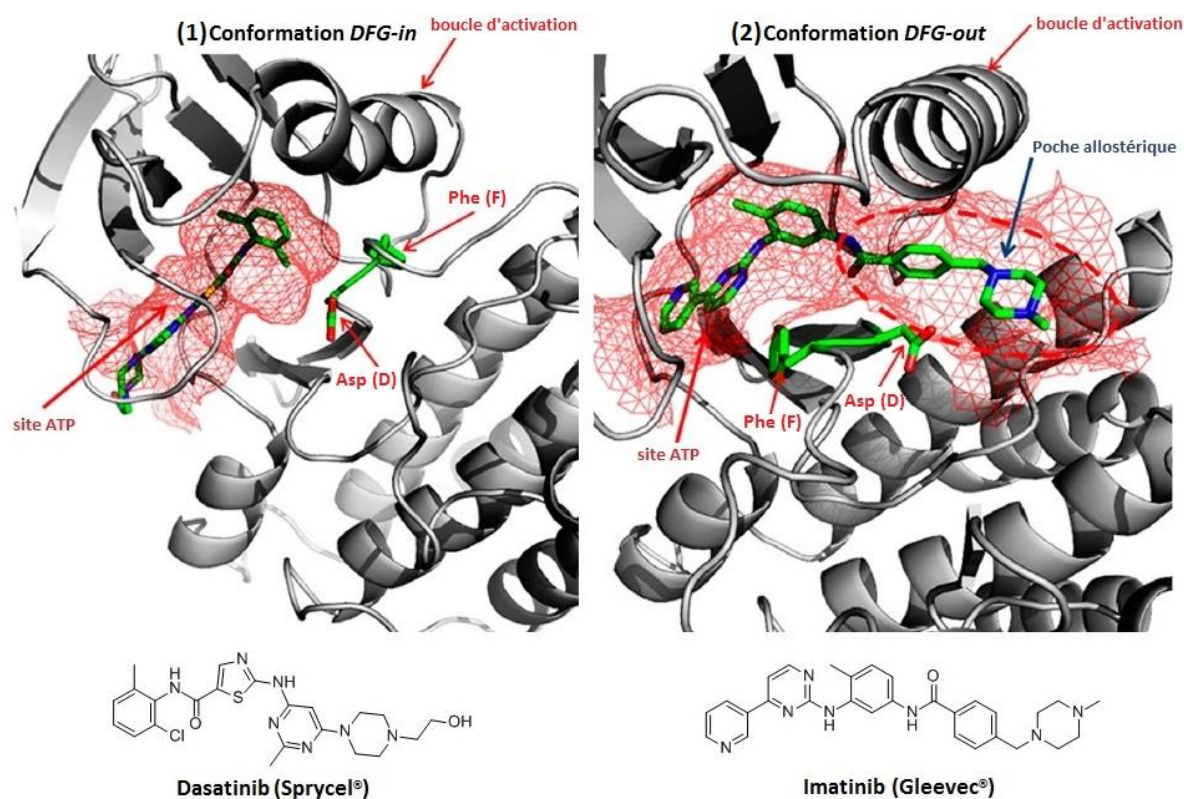


Figure 15. (1) Dasatinib fixé dans Abl en conformation *DFG-in* et (2) Imatinib fixé dans Abl en conformation *DFG-out*.

Dans le cas où cette boucle n'est pas phosphorylée (conformation dite *DFG-out*), celle-ci bascule et ouvre l'accès à une poche allostérique à proximité du site de fixation de l'ATP (Figure 15 : 2). La kinase ne peut alors plus catalyser la réaction de phosphorylation.

L'affinité des petites molécules ciblant des RTK dépend donc, en général, de l'état d'activation du domaine kinase.⁴⁶ Ainsi, nous distinguons quatre types d'inhibition.^{22d} La plupart des inhibiteurs, dits de type I (par exemple le Dasatinib en Figure 15), sont compétitifs de l'ATP car ils n'interagissent qu'avec le site de fixation de l'ATP, en conformation *DFG-in* (Figure 16 : a).^{22b} Bien que ce site de fixation soit très conservé au sein du kinome,²⁶ il a été montré que des interactions spécifiques avec quelques résidus clés au sein de la famille TAM pouvaient être exploitées pour gagner en sélectivité dans ce type d'inhibition.⁴⁷

⁴⁶ (a) A. C. Backes, B. Zech, B. Felber, B. Klebl, G. Müller, *Expert Opin. Drug Dis.* **2008**, *12*, 1409-1425; (b) A. C. Backes, B. Zech, B. Felber, B. Klebl, G. Müller, *Expert Opin. Drug Dis.* **2008**, *3*, 1427-1449; (c) L. M. Wodicka, P. Ciceri, M. I. Davis, J. P. Hunt, M. Floyd, S. Salerno, X. H. Hua, J. M. Ford, R. C. Armstrong, P. P. Zarrinkar, D. K. Treiber, *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 1241-1249.

⁴⁷ A. Messoussi, L. Peyronnet, C. Feneyrolles, G. Cheve, K. Bougrin, A. Yasri, *Molecules* **2014**, *19*, 16223-16239.

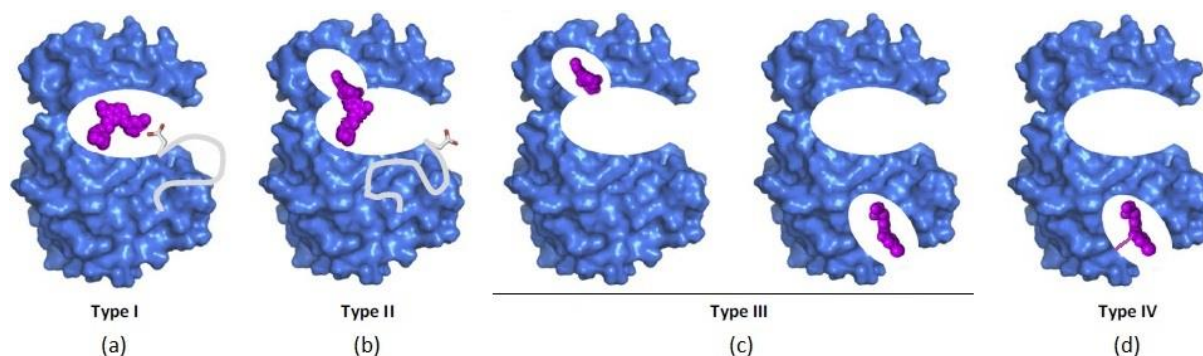


Figure 16. Différents types d'inhibiteurs de protéines kinases. Le motif DFG est schématisé par une boucle grise et l'acide aspartique est représenté à son extrémité.^{22b}

En plus de ces interactions avec le site ATP, la nouvelle génération d'inhibiteurs dits de type II (par exemple l'Imatinib en Figure 15) pénètre dans une poche allostérique, ouverte par le basculement de la boucle DFG et donc accessible uniquement dans la conformation *DFG-out* (Figure 16 : b).⁴⁸ Comme cette poche allostérique montre une plus grande variabilité selon les kinases, ces molécules peuvent potentiellement être plus sélectives que les inhibiteurs de type I. Il est important de mentionner toutefois que certains travaux suggèrent que ce type d'inhibition n'est pas toujours possible car la poche allostérique peut rester inaccessible dans certaines protéines kinases, en partie à cause de résidus encombrés stériquement sur la boucle d'activation.⁴⁹

Les inhibiteurs de type III ne vont quant à eux interagir qu'avec un site allostérique, qu'il soit voisin ou non du site ATP. Ils peuvent alors influencer sur l'activité de la kinase en induisant une modification de sa conformation (Figure 16 : c). Un exemple de molécule appartenant à cette classe est le GNF-2, premier inhibiteur de la protéine Abl confirmé de type III.⁵⁰ Il interagit avec le lobe C-terminal du domaine kinase (Figure 17).

⁴⁸ Y. Liu, N. S. Gray, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, 2, 358-364.

⁴⁹ Z. Zhao, H. Wu, L. Wang, Y. Liu, S. Knapp, Q. Liu, N. S. Gray, *ACS Chem. Biol.* **2014**, 9, 1230-1241.

⁵⁰ P. Wu, M. H. Clausen, T. E. Nielsen, *Pharmacol. Therapeut.* **2015**, 156, 59-68.

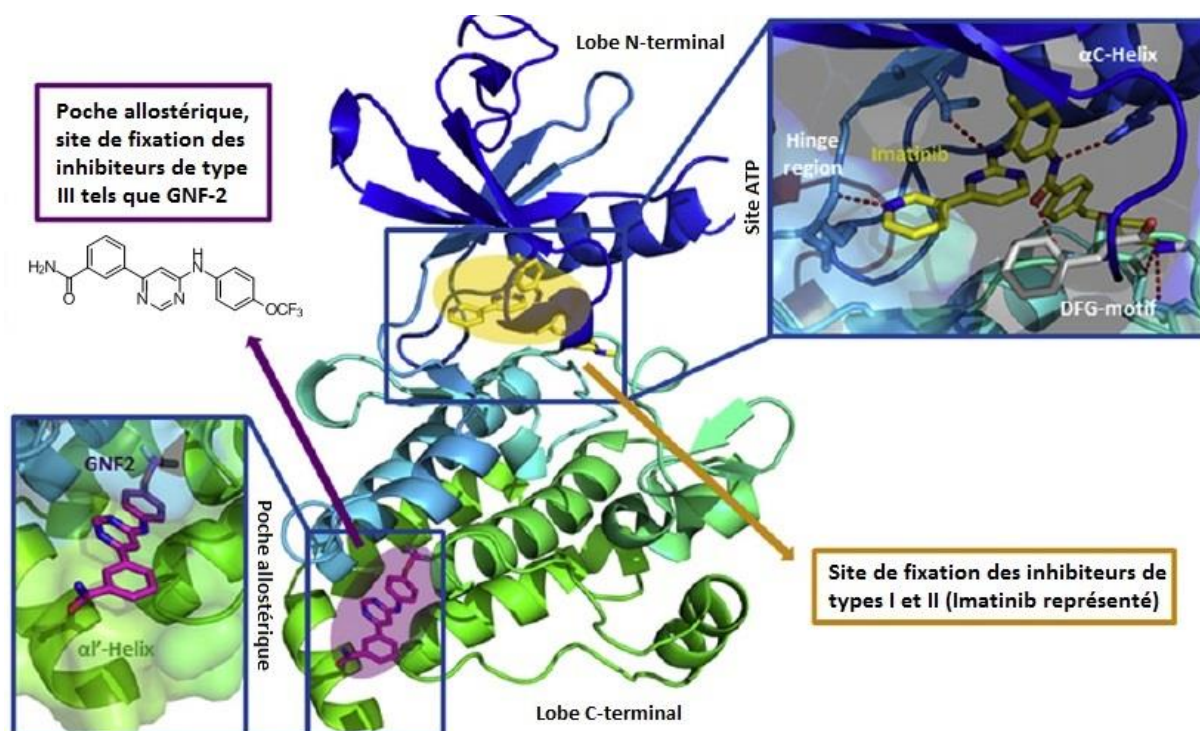


Figure 17. Structure co-cristalline de la kinase Abl en complexe avec GNF-2, inhibiteur de type III et Imatinib, inhibiteur de type II (code PDB : 3K5V).⁵⁰

Enfin, les inhibiteurs de type IV vont se fixer de manière covalente à la protéine et ainsi l'inhiber de manière irréversible (Figure 16 : d). La molécule E6201, inhibiteur de type IV de la kinase Mek1, est actuellement en phase clinique I pour le traitement de tumeurs solides et en phase II pour le traitement du psoriasis (Figure 18).⁵¹ Il se lie de manière covalente par réaction du motif énone sur les cystéines.

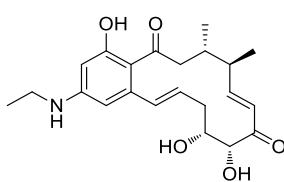


Figure 18. E6201, inhibiteur covalent de la kinase Mek1.

⁵¹ Q. Liu, Y. Sabnis, Z. Zhao, T. Zhang, Sara J. Buhrlage, Lyn H. Jones, Nathanael S. Gray, *Chem. Biol.* **2013**, *20*, 146-159.

2) Inhibiteurs spécifiquement mis au point pour Tyro3

En 2012, pour le traitement de l'insuffisance coronarienne, cinq molécules ont été mises au point pour inhiber spécifiquement Tyro3 par l'équipe de Powell autour du noyau spiroindoline-2-carboxindole (Figure 19 : composés **11** à **15**) à partir d'un criblage de la chimiothèque Pfizer.^{32b} Ce noyau n'avait jusqu'alors été utilisé dans aucun inhibiteur de kinases.

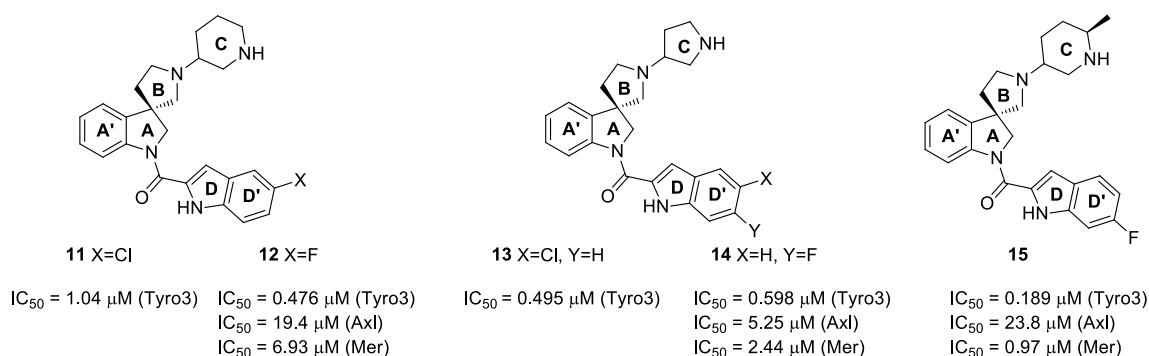


Figure 19. Inhibiteurs de Tyro3 à motif spiroindoline-2-carboxindole

Une structure cristalline de **12** fixé sur le site actif de la protéine Tyro3 murine a permis de montrer qu'il s'agissait d'un inhibiteur de type I, compétitif de l'ATP. Il forme en effet deux liaisons hydrogène avec le résidu Met596 (site ATP) mais n'interagit avec aucune poche allostérique (Figure 20 : a). Dans cette structure, le noyau spiroindoline est orienté vers le site de fixation de l'ATP, avec le noyau A' situé à environ 4 Å du groupement méthyle du résidu Ala571. Ceci a permis de mettre en évidence la présence d'une poche proche du site de fixation de l'ATP pouvant être utilisée pour apporter de la sélectivité (Figure 20 : b – cavité représentée en tant que surface accessible au solvant)⁵². En effet, dans 140 protéines tyrosine kinases humaines, ce résidu Ala571 est substitué par d'autres résidus comportant des chaînes latérales plus volumineuses et cette poche n'existe donc pas. Cette hypothèse est confirmée par le fait que les composés **12**, **13** et **14** n'ont pas d'activité sur le récepteur HGFR (*hepatocyte growth factor receptor*) pourtant structurellement très proche de la protéine Tyro3. En particulier, au sein des protéines Axl et Mer, l'alanine est remplacée par une méthionine et une isoleucine respectivement. Au sein de la famille TAM, la sélectivité reste intéressante, en particulier pour les composés **12** et **15**. L'activité de ce dernier est plus de 120 fois plus importante sur Tyro3 que sur Axl, grâce à l'introduction d'un méthyle en *alpha* de l'azote du cycle 3-pipéridine C. Toutefois, cette molécule possède une bonne IC₅₀ sur la protéine Mer, illustrant la difficulté d'obtenir de la sélectivité au sein de la famille TAM. De plus, ces cinq composés à motif

⁵² Illustration réalisée à l'Institut Curie par le Dr. Liliane Mouawad à l'aide du logiciel Visual Molecular Dynamics (VMD).

spiroindoline ont tous montré des propriétés pharmacocinétiques décevantes, en particulier au niveau de la solubilité aqueuse.

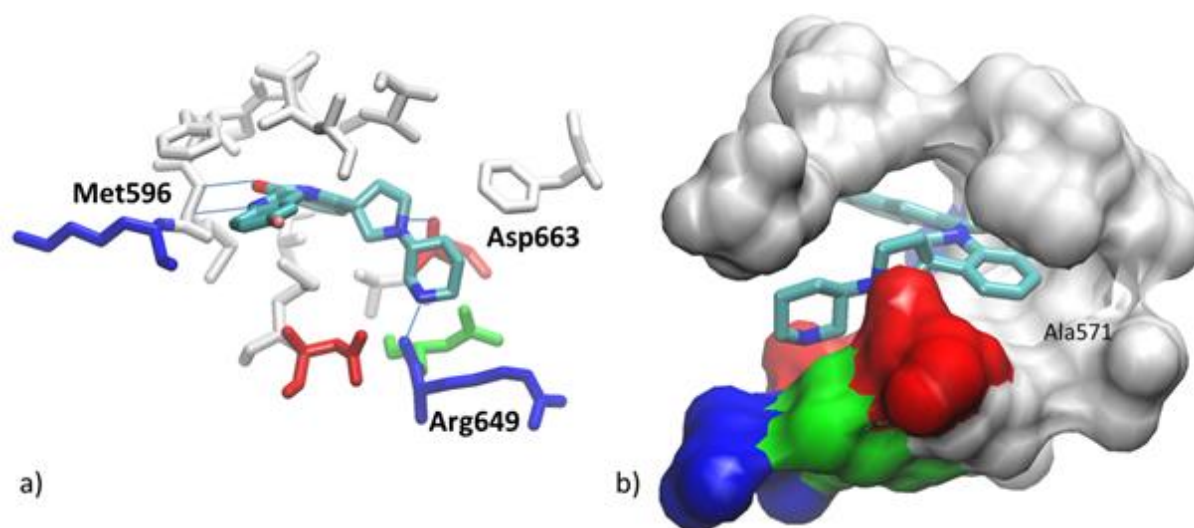


Figure 20. Structure cristalline du composé 12 fixé sur le site ATP dans Tyro3 murine (code PDB 3QUP).⁵²

La même équipe s'est ensuite orientée vers une autre touche possédant un noyau 2,4-diaminopyrimidine-5-carboxamide (Figure 21 : composé 16).^{32a, 53} Pour éviter une potentielle toxicité, le motif aniline de 16 a été remplacé par un motif cyclopentylamine. Une structure cristalline de la molécule 17 ainsi obtenue a permis de mettre à nouveau en évidence les interactions caractéristiques d'un inhibiteur de type I. Cependant, le groupement 4-pyridinéthyle en position 2 du cycle pyrimidine ne s'orientait pas comme attendu vers l'Ala571 mais vers le résidu Asp663 (Figure 22 : composé 17 en jaune).

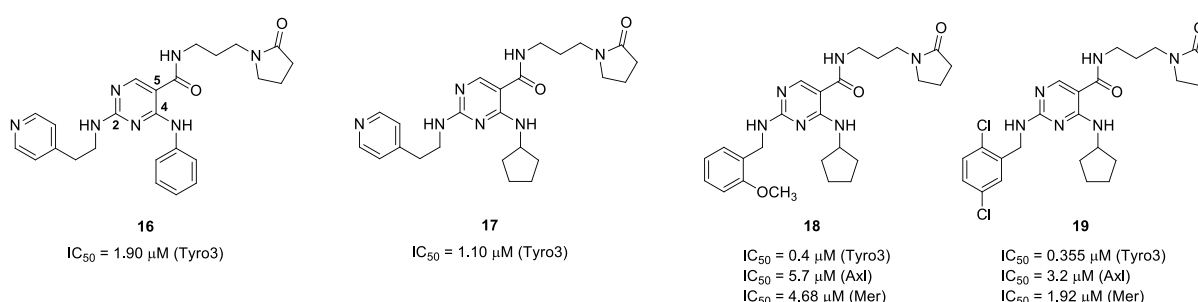


Figure 21. Inhibiteurs de Tyro3 à motif 2,4-diaminopyrimidine-5-carboxamide.

⁵³ N. A. Powell, J. K. Hoffman, F. L. Ciske, J. T. Kohrt, S. M. Baxi, Y. W. Peng, M. Zhong, C. Catana, J. Ohren, L. A. Perrin, J. J. Edmunds, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 1051-1055.

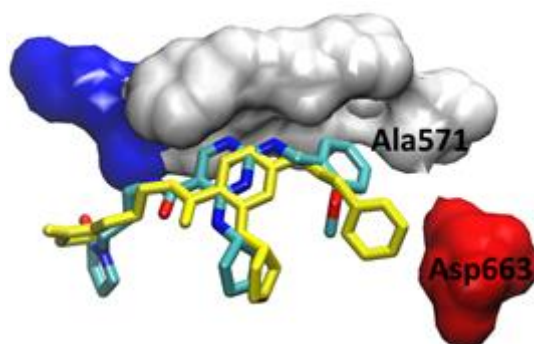


Figure 22. Superposition des structures cristallines de 17 (jaune) et 18 (bleu) en complexe avec Tyro3 murine (codes PDB : 4FEQ et 4FF8 respectivement).⁵²

Afin de tenter de réorienter la molécule vers cet acide aminé déterminant, la chaîne 4-pyridinéthyle a été remplacée par un benzylamino (di)substitué, plus court. Les nouveaux inhibiteurs **18** et **19** ont ainsi été identifiés et le nouveau motif benzylamino s'oriente cette fois effectivement vers l'Ala571 (Figure 22 : composé **18** en bleu). Les composés **18** et **19** sont ainsi cinq à onze fois plus actifs sur Tyro3 que sur Mer et Axl et ont montré une bonne sélectivité sur un large panel de kinases, mais toujours avec de mauvais résultats pharmacocinétiques.

Après avoir identifié un métabolite issu de l'hydroxylation du carbone en *alpha* du carbonyle sur le cycle butyrolactame des molécules **18** et **19**, les auteurs ont remplacé ce groupement par une *N*-méthyl-4-aminopipéridine (Figure 23 : composé **20**), par d'autres hétérocycles plus petits (composé **21**) voire simplement par un atome de brome (composé **22**). De même, en position 2, des motifs aniline ont été privilégiés face aux analogues 2-aminobenzyl pour prévenir une métabolisation rapide des composés.

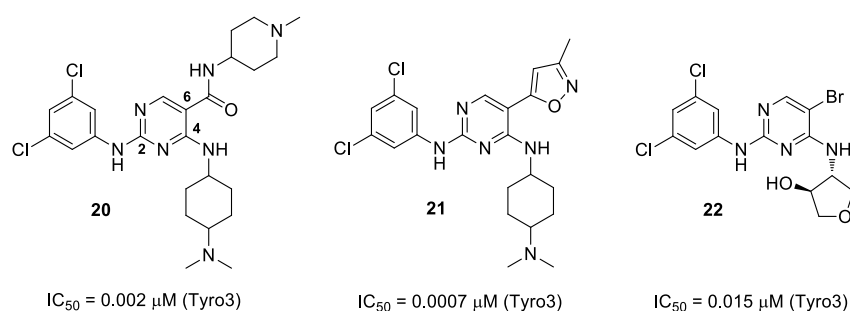


Figure 23. Structures des composés 20 à 22.

Ces trois composés présentent de très bonnes IC_{50} sur la protéine Tyro3 et une bonne sélectivité sur un profil de 47 kinases, mais aucune valeur d' IC_{50} n'est donnée sur les deux autres kinases de la famille TAM.

3) Inhibiteurs initialement mis au point pour d'autres cibles

A ce jour, plus de 50 molécules décrites dans la littérature ont été identifiées comme étant des inhibiteurs de la famille TAM au travers de profils de sélectivité. Afin d'illustrer la diversité des noyaux hétérocycliques qui les composent, cinq exemples d'inhibiteurs sont représentés en Figure 24.

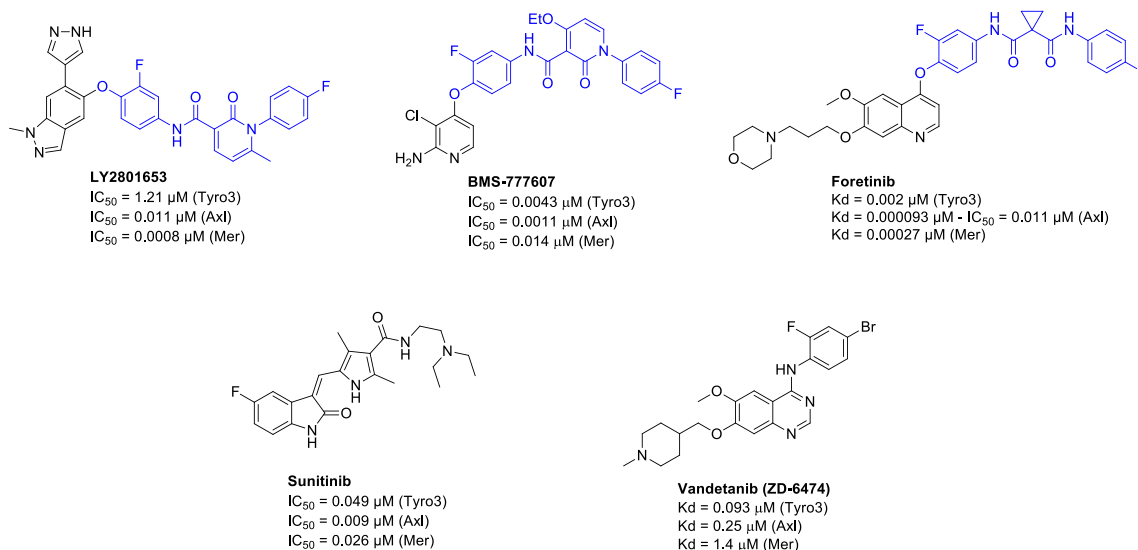


Figure 24. Structures de divers inhibiteurs de la famille TAM.

Le composé LY2801653 est un inhibiteur de kinases à large spectre mis au point pour le traitement des tumeurs solides avancées.⁵⁴ Il possède en particulier une IC_{50} de $1.21 \mu\text{M}$ sur la protéine Tyro3. Son activité sur les protéines Axl et Mer est particulièrement intéressante, avec des IC_{50} de 11 nM et 0.8 nM respectivement. Son noyau indazole est substitué par une chaîne latérale constituée des motifs 3-fluoroaniline, pyridone et 4-fluorophényle. Cette chaîne latérale interagit dans la protéine avec une poche allostérique accessible uniquement en conformation *DFG-out*, faisant de ce composé un inhibiteur de type II.

Une chaîne latérale similaire est retrouvée dans la structure du BMS-777607, cette fois introduite sur un noyau 2-aminopyridine. Ce composé a initialement été développé comme inhibiteur de la kinase Met et est actuellement en phase clinique II pour les tumeurs solides avancées ou métastatiques.⁵⁵ Une structure cristalline en complexe dans Met a montré qu'il s'agissait aussi

⁵⁴ W. Wu, C. Bi, K. M. Credille, J. R. Manro, V. L. Peek, G. P. Donoho, L. Yan, J. A. Wijsman, S. B. Yan, R. A. Walgren, *Clin. Cancer Res.* **2013**, *19*, 5699-5710.

⁵⁵ (a) G. M. Schroeder, Y. An, Z.-W. Cai, X.-T. Chen, C. Clark, L. A. M. Cornelius, J. Dai, J. Gullo-Brown, A. Gupta, B. Henley, J. T. Hunt, R. Jeyaseelan, A. Kamath, K. Kim, J. Lippy, L. J. Lombardo, V. Manne, S. Oppenheimer, J. S. Sack, R. J. Schmidt, G. Shen, K. Stefanski, J. S. Tokarski, G. L. Trainor, B. S. Wautlet, D. Wei, D. K. Williams, Y.

d'un inhibiteur de type II. Les activités mesurées sur les kinases Tyro3 et Axl sont proches de celle sur sa cible de départ Met ($IC_{50} = 0.0039 \mu\text{M}$).

Les trois molécules suivantes ont été identifiées comme inhibiteurs de Tyro3 au cours d'un criblage d'affinité de 72 inhibiteurs sur 442 kinases réalisé par l'équipe de Zarrinkar.⁵⁶

Le Foretinib est actuellement en phase clinique II pour le traitement d'une large gamme de cancers.⁵⁷ En 2014, l'équipe de Keating a montré que ce composé inhibait la phosphorylation des protéines TAM à des concentrations inférieures à 1 nM, bloquant ainsi la prolifération et la migration de cellules de glioblastomes.^{57d} Nous pouvons remarquer que le noyau quinoline du Foretinib porte une chaîne latérale analogue à celles des composés LY2801653 et BMS-777607, mise en valeur en bleu sur la Figure 24. Ces chaînes sont caractéristiques des inhibiteurs de type II car elles interagissent avec la poche allostérique accessible en conformation *DFG-out*. Chaque chaîne latérale débute par un motif 2-fluorophénol relié au noyau hétérocyclique par un pont éther. Dans le cas du LY2801653 et du BMS-777607, le phénol est ensuite couplé à une pyridone par l'intermédiaire d'une fonction amide, tandis qu'un simple cyclopropane est présent dans le Foretinib. Enfin, dans tous les cas, la chaîne latérale se termine par un motif 4-fluorophényle.

Formé d'un noyau indolinone, le Sunitinib a été approuvé par la FDA en 2006 et est commercialisé par Pfizer sous le nom Sutent[®] pour le traitement des tumeurs du rein et de l'intestin.⁵⁸ Le criblage réalisé par l'équipe de Zarrinkar a révélé une bonne activité de cette molécule sur la famille TAM et en particulier sur la protéine Axl.

Zhang, Y. Zhang, J. Fagnoli, R. M. Borzilleri, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1251-1254; (b) <http://www.aslanpharma.com/drug/aslan002/>.

⁵⁶ (a) M. I. Davis, J. P. Hunt, S. Herrgard, P. Ciceri, L. M. Wodicka, G. Pallares, M. Hocker, D. K. Treiber, P. P. Zarrinkar, *Nat. Biotechnol.* **2011**, *29*, 1046-1051; (b) M. W. Karaman, S. Herrgard, D. K. Treiber, P. Gallant, C. E. Atteridge, B. T. Campbell, K. W. Chan, P. Ciceri, M. I. Davis, P. T. Edeen, R. Faraoni, M. Floyd, J. P. Hunt, D. J. Lockhart, Z. V. Milanov, M. J. Morrison, G. Pallares, H. K. Patel, S. Pritchard, L. M. Wodicka, P. P. Zarrinkar, *Nat. Biotechnol.* **2008**, *26*, 127-132.

⁵⁷ (a) T. K. Choueiri, U. Vaishampayan, J. E. Rosenberg, T. F. Logan, A. L. Harzstark, R. M. Bukowski, B. I. Rini, S. Srinivas, M. N. Stein, L. M. Adams, L. H. Ottesen, K. H. Laubscher, L. Sherman, D. F. McDermott, N. B. Haas, K. T. Flaherty, R. Ross, P. Eisenberg, P. S. Meltzer, M. J. Merino, D. P. Bottaro, W. M. Linehan, R. Srinivasan, *J. Clin. Oncol.* **2013**, *31*, 181-186; (b) T. Seiwert, J. Sarantopoulos, H. Kallender, S. McCallum, H. N. Keer, G. Blumenschein, Jr., *Invest. New Drug* **2013**, *31*, 417-424; (c) M. A. Shah, Z. A. Wainberg, D. V. Catenacci, H. S. Hochster, J. Ford, P. Kunz, F. C. Lee, H. Kallender, F. Cecchi, D. C. Rabe, H. Keer, A. M. Martin, Y. Liu, R. Gagnon, P. Bonate, L. Liu, T. Gilmer, D. P. Bottaro, *PLoS One* **2013**, *8*, e54014; (d) K.H. Knubel, B.M. Pernu, A. Sufit, S. Nelson, A.M. Pierce, A. K. Keating, *Oncotarget* **2014**, *5*, 1338-1351.

⁵⁸ (a) R. J. Motzer, M. D. Michaelson, B. G. Redman, G. R. Hudes, G. Wilding, R. A. Figlin, M. S. Ginsberg, S. T. Kim, C. M. Baum, S. E. DePrimo, J. Z. Li, C. L. Bello, C. P. Theuer, D. J. George, B. I. Rini, *J. Clin. Oncol.* **2006**, *24*, 16-24; (b) G.D. Demetri, A.T. van Oosterom, C.R. Garrett, M.E. Blackstein, M.H. Shah, J. Verweij, G. McArthur, I. R Judson, M.C. Heinrich, J.A. Morgan, J. Desai, C.D. Fletcher, S. George, C.L. Bello, X. Huang, C.M. Baum, P. G. Casali, *Lancet* **2006**, *368*, 1329-1338.

Enfin, le Vandetanib est un inhibiteur non sélectif de kinases développé par AstraZeneca ayant une activité particulièrement intéressante sur VEGFR (*vascular endothelial growth factor receptor*) et EGFR (*epidermal growth factor receptor*). Il possède une activité intéressante sur la famille TAM et en particulier sur la protéine Tyro3 (Kd = 93 nM). Il est actuellement commercialisé sous le nom Caprelsa® pour le traitement du cancer de la thyroïde.

4) Avancées au sein du laboratoire

Notre équipe travaille depuis plusieurs années à la mise au point d'inhibiteurs potentiellement sélectifs de la protéine Tyro3. En se basant sur la structure du BMS-777607, inhibiteur de type II de Met et de la famille TAM, les Dr. Rosa Suárez et Franciane Chevot ont synthétisé des analogues de type purine pouvant interagir avec la poche allostérique par le biais de chaînes latérales à motif pyridone ou amide insérées en position 6 (Figure 25).⁵⁹

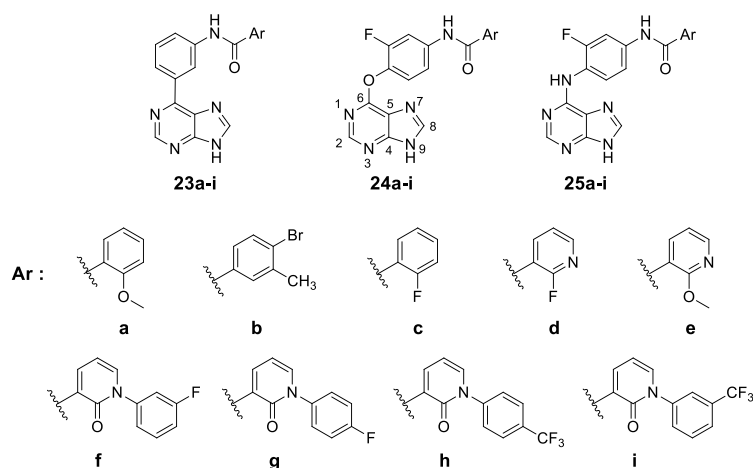


Figure 25. Banque de purine synthétisées au laboratoire par les Dr. Rosa Suarez et Franciane Chevot.

Plusieurs dérivés ont été synthétisés, les chaînes latérales pouvant être directement reliées à la purine (composés **23a-i**) ou par un l'intermédiaire d'un oxygène (composés **24a-i**) ou d'un azote (composés **25a-i**). L'affinité de ces molécules pour Tyro3 a ensuite été évaluée par un test de fixation de la protéine sur billes réalisé par la société KinomeScan™ (Table 1). Le principe du test et l'interprétation plus détaillées des scores KinomeScan™ seront décrits dans la partie Evaluation biologique. Pour cette introduction, il suffit de garder en mémoire que plus le score (donné en pourcentage) sur une protéine est élevé plus la molécule est affine pour celle-ci.

⁵⁹ R. M. Suárez, F. Chevot, A. Cavagnino, N. Saettel, F. Radvanyi, S. Piguel, I. Bernard-Pierrot, V. Stoven, M. Legraverend, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *61*, 2-25.

Table 1. Profil d'affinité des inhibiteurs de type purine (1 μ M) sur un panel de 5 kinases.

Composé	Tyro3	Axl	Mer	Met	Abl
23a	0	0	0	0	0
23b	0	0	25	0	0
23c	0	0	0	0	3
23d	0	0	0	0	5
23e	0	0	0	0	0
23f	11	0	12	19	8
23g	0	0	15	22	0
23h	0	0	0	4	0
23i	0	0	0	0	0
24c	0	0	0	34	10
24f	20	93	89	51	4
24g	83	99	99	99	0
24h	0	88	84	92	0
25a	0	0	0	0	1
25b	0	10	15	0	0
25c	0	0	0	29	3
25d	0	0	0	0	0
25e	0	0	0	0	0
25f	0	81	75	76	4
25g	0	45	39	6	18
25h	10	45	33	53	0
25i	0	37	36	22	12
Vandetanib	90	82	59	0	99.4

100<x<99	99<x<90	90<x<65
----------	---------	---------

De manière remarquable, les molécules des séries **23a-i** et **25a-i** possèdent peu voire pas d'affinité pour la famille TAM (scores d'affinité de 0 à 25 % à 1 μ M), en dehors de la molécule **25f**. La série **24a-i** est globalement plus affine pour les protéines TAM (et en particulier pour la protéine Tyro3) que la série **25a-i** (scores moyens de 54.6 % et 10.8 % respectivement). Il semble ainsi que l'angle de la liaison entre la position 6 du noyau purine et la chaîne latérale soit déterminant (0° pour liaison C – C dans la série **23a-i**, 110° pour liaison C – O – C dans la série **24c-h** ou 120° pour liaison C – N – C dans la série **25a-i**). La seule molécule affine pour Tyro3 identifiée au cours de ces travaux est

le dérivé **24g** représenté en Figure 26 ($K_d = 200$ nM). Il a obtenu un score d'affinité pour Tyro3 de 83% à 1 μ M contre 90 % pour le Vandetanib à la même concentration. Cependant, aucune sélectivité pour Tyro3 n'a été observée au sein de la famille TAM, les scores du composé **24g** étant de 99% dans Mer et Axl ($K_d = 42$ nM et 39 nM, respectivement). Une très bonne affinité a aussi été observée pour la protéine Met, structurellement très proche de la famille TAM (score de 99%, $K_d = 65$ nM). Il est tout de même important de souligner qu'aucune affinité n'est observée entre les composés de cette série purine et la tyrosine kinase Abl, plus éloignée de la famille TAM dans le kinome. De manière intéressante, ce composé possède une chaîne latérale très proche de celles du BMS-777607 et du LY2801653. Il semble donc que ce motif soit nécessaire à une interaction optimale entre la molécule et la protéine Tyro3.

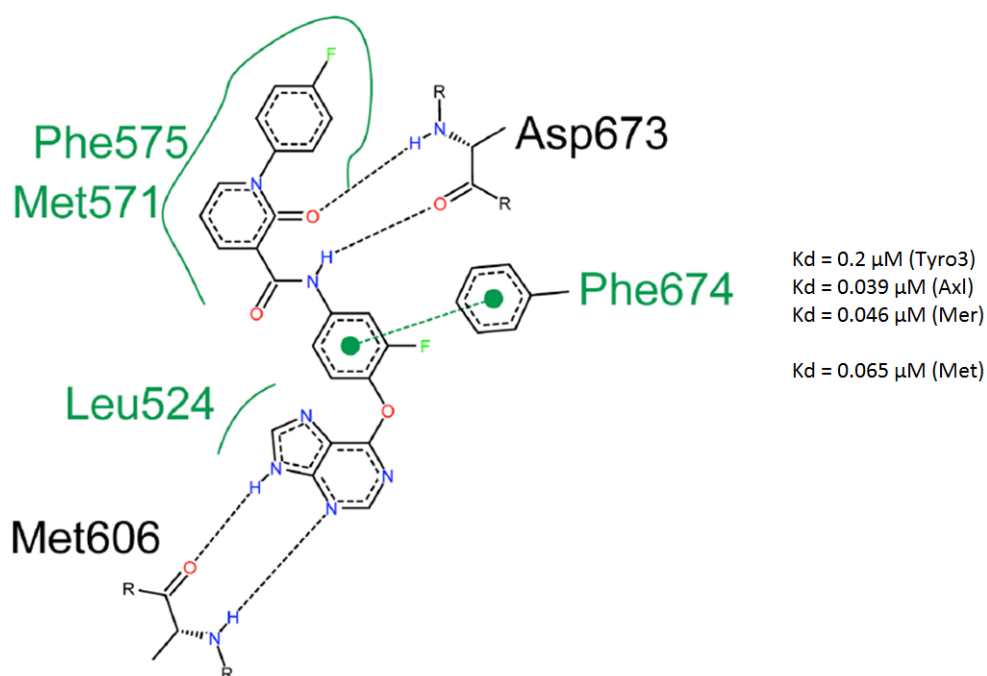


Figure 26. Représentation en 2D des interactions entre le dérivé 24g et le modèle de Tyro3 humaine.

Aucune structure cristalline de la protéine Tyro3 humaine en conformation *DFG-out* n'étant décrite dans la littérature au début de ce projet, plusieurs modèles ont été créés à l'Institut Curie par le Pr. Véronique Stoven et le Dr. Nicolas Saettel par combinaisons de structures cristallines de tyrosine kinases structurellement très proches de Tyro3. Ces différents modèles ont ensuite été évalués en y amarrant des ligands connus afin d'identifier celui conduisant aux résultats les plus proches des données biologiques. Le meilleur d'entre eux s'inspire des structures cristallines de Met humaine (code PDB : 3F82) et c-Kit humaine (code PDB : 1T46) en conformations inactives. Ce modèle sera utilisé dans toute la suite de ce manuscrit.

Lorsque la molécule **24g** est amarrée dans ce modèle, on remarque bien les interactions caractéristiques d'un inhibiteur de type II : deux liaisons hydrogènes avec Met606⁶⁰ sur le site de fixation de ATP et des interactions hydrophobes entre la chaîne pyridone et la poche allostérique (Figure **26**). Au contraire, l'analogue **25g** dans lequel la chaîne latérale est introduite en position 6 par un pont amine ne forme aucune liaison hydrogène avec le site ATP, ce qui explique son affinité plus faible pour la protéine Tyro3 (Figure **27**).

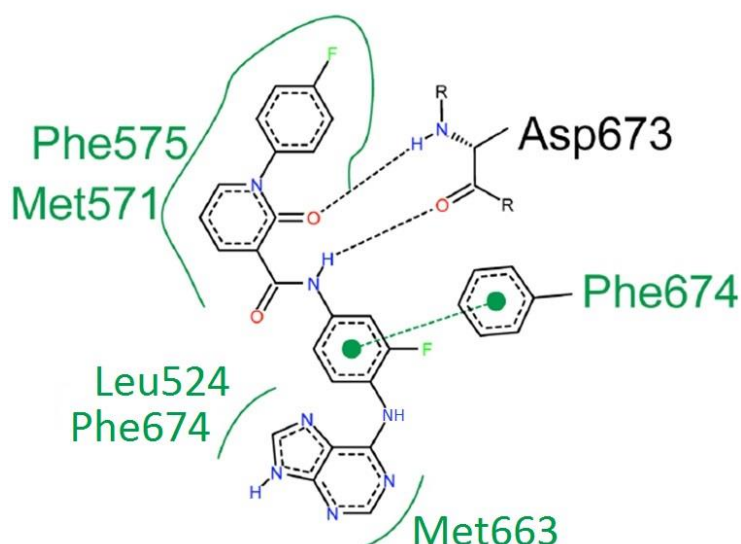


Figure 27. Représentation en 2D des interactions entre le dérivé **25g** et le modèle de Tyro3 humaine.

Une autre banque de candidats a ensuite été synthétisée, cette fois autour des noyaux 2- et 4-pyrimidine (Figure **28**).⁶¹ Cet hétérocycle permet en effet de conserver deux liaisons hydrogène avec le site de fixation de l'ATP, comme c'était le cas pour la série purine. D'après les résultats précédents, seul un pont étheroxyde entre le noyau pyrimidine et la chaîne latérale a été envisagé. Comme précédemment, les scores KinomeScan™ de chaque molécule sont présentés sur la Figure **28**.

⁶⁰ Dans la protéine Tyro3 humaine, les indices des acides aminés sont majorés de 10 par rapport à la protéine murine (ex. Met596 en structure murine devient Met606 en structure humaine).

⁶¹ T. Traore, A. Cavagnino, N. Saettel, F. Radvanyi, S. Piguel, I. Bernard-Pierrot, V. Stoven, M. Legraverend, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *70*, 789-801.

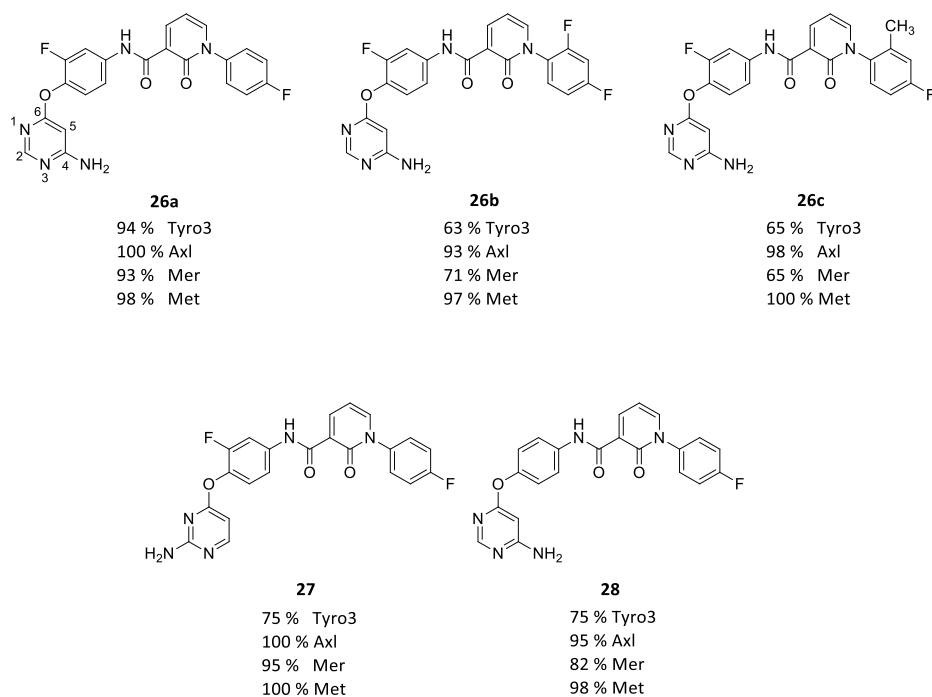


Figure 28. Banque de pyrimidines synthétisée au laboratoire.

Le composé le plus afin pour Tyro3 identifié a été **26a**, avec un score de 94 % à 1 μ M. Ce composé présente exactement la même chaîne latérale que **24g**. A nouveau, aucune sélectivité n'a été observée au sein de la famille TAM, la molécule **26a** donnant des scores de 100 % et 93% sur Axl et Mer respectivement. De très bonnes affinités pour la protéine Met sont aussi observées chez tous les composés (98 % pour **26a** à 1 μ M). La même observation avait été faite sur les analogues de type purine (96 % pour **24g** à 1 μ M) et est justifiable par le haut degré de similitude entre Met et la famille TAM. Il est toutefois important de mentionner que les analogues de type pyrimidine semblent sélectifs de la famille TAM au sein du kinome, puisqu'aucune affinité importante pour les protéines Abl1, Braf, EGFR et FGFR3 n'a été détectée.

Les travaux décrits dans de ce chapitre s'inscrivent à la suite de ces résultats, avec pour objectif d'obtenir de la sélectivité vis-à-vis de la protéine kinase Tyro3. Comme pour les études précédentes réalisées au laboratoire, nous nous concentrerons sur la mise au point d'inhibiteurs de type II afin de pouvoir interagir avec la poche allostérique proche du site de liaison de l'ATP en conformation *DFG-out*. Les principales difficultés de ce projet pluridisciplinaire sont l'absence de structure cristalline de la protéine Tyro3 humaine en conformation *DFG-out* et le haut degré d'homologie qu'elle partage avec les protéines Mer, Axl et Met. Le point central de cette étude est l'utilisation d'un noyau hétéroaromatique encore peu utilisé en chimie médicinale, l'imidazo[4,5-*b*]pyridine (Figure 7). La sélection de candidats par modélisation moléculaire sera tout d'abord

discutée, suivie de la mise au point et de l'optimisation de leur synthèse. Dans une dernière partie, l'évaluation de leur activité biologique *in vitro* sur la famille TAM sera décrite.

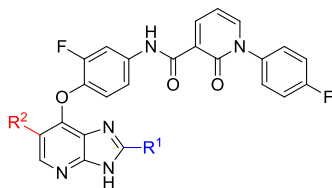


Figure 7. Schéma général des molécules à visée thérapeutique.

Modélisation moléculaire

I. Introduction

Afin d'identifier les candidats à synthétiser, l'outil informatique a été mis à profit. Avant de rentrer dans le détail des études de modélisation moléculaire, il est nécessaire de revenir sur les deux principales difficultés de ce projet de chimie médicinale : l'absence de structure cristalline de la protéine d'intérêt Tyro3 en conformation *DFG-out* et la grande homologie structurale qui existe entre les différents membres de la famille TAM.

Le premier défi a été surmonté par le Pr. Véronique Stoven à travers la création d'un modèle tridimensionnel de Tyro3 d'après les structures cristallines de Met humaine (code PDB : 3F82) et c-Kit humaine (code PDB : 1T46) en conformations inactives. Comme mentionné dans l'introduction, ces protéines ont été sélectionnées car étant très proches de Tyro3 en termes de structure tridimensionnelle. Ce modèle a ensuite été évalué en y amarrant des molécules dont les propriétés biologiques étaient connues, ainsi que leur structure cristallographique en complexe avec des protéines proches de Tyro3. Cela a permis de vérifier qu'elles présentaient bien de bons scores d'amarrage et se liaient à Tyro3 selon des modes de fixation similaires à ceux adoptés dans les protéines similaires.

L'homologie de structure au sein de la famille TAM a été illustrée par Yasri *et al.* en alignant des séquences des sites actifs de Tyro3, Axl et Mer (Figure 29).⁴⁷ En modélisant ces séquences à l'aide du projet « Swiss Model » mis en ligne par l'Université de Bâle,⁶² l'équipe de Yasri a pu déterminer les acides aminés présents à une distance de 6 Å autour du résidu Met606 appartenant au site ATP, en couleur sur la Figure 29. Les résidus conservés sont représentés en vert, tandis que les résidus variables sont en bleu. Les trois résidus clés pour cette étude sont quant à eux colorés en orange.

⁶² K. Arnold, L. Bordoli, J. Kopp, T. Schwede, *Bioinform. Oxf. Engl.* **2006**, 22, 195-201.

```

SP|sp|Q06418|518-790|TYRO3_HUMAN  FTLGRMLGKGEFGSVREQLKQEDGFSVVKVAVKMLKADI IASSDIEEFLREACMKEDH 577
SP|sp|Q12866|587-858|MERTK_HUMAN  LILGKILGEGEFGSVMEGNLQKQEDGTSKLVAVKTMKLDNSSQREIEEFLSEACMKDFSH 646
SP|sp|P30530|536-807|UFO_HUMAN    VALGKTLGEGEFGAVMEGQLNQDD-SILKVAVKTMKIAICTRSELEDFLSEAVCMKEDH 594

SP|sp|Q06418|518-790|TYRO3_HUMAN  PHVAKLVGVSLRSRAKGRLLPIPMVILPFPMKHGDLHAFLLASRIGENPFLNPLQTLIRFMV 637
SP|sp|Q12866|587-858|MERTK_HUMAN  PNVIRILGVCIEMSS-QGI PKPMVILPFPMKYGD LHTYLLYSRLETGPKHIPLQTL LKFMV 705
SP|sp|P30530|536-807|UFO_HUMAN    PNVMRLLIGVCFQGSERESFPAPVIVILPFPMKHGDLHSFLLYSRLGDPQVYLPTQMLVKFMA 654

SP|sp|Q06418|518-790|TYRO3_HUMAN  DIACGMEYLSRNRFIHRDLAARNCMIAEDMTVCVADFGLSRKTYSGDYRQGCASKLPVK 697
SP|sp|Q12866|587-858|MERTK_HUMAN  DIALGMEYLSNRNFIHRDLAARNCMIRDMTVCVADFGLSKKTYSGDYRQGR IAKMPVK 765
SP|sp|P30530|536-807|UFO_HUMAN    DIASGMEYLSRTRFIHRDLAARNCMINENMSVCVADFGLSKKTYNGDYRQGR IAKMPVK 714

SP|sp|Q06418|518-790|TYRO3_HUMAN  WLALLESADNLYTVQSDVWAFGVTMWEIMTRGQTPYAGIENAEIYNYLIGGNRLKQPPEC 757
SP|sp|Q12866|587-858|MERTK_HUMAN  WIAIESLADRVYTSKSDVWAFGVTMWEIATRGMTPYPGVQNHMEYDYLHGHRLKQPEDC 825
SP|sp|P30530|536-807|UFO_HUMAN    WIAIESLADRVYTSKSDVWVSGVTMWEIATRGMTPYPGVENSEIYDYL RQGNRLKQPADC 774

SP|sp|Q06418|518-790|TYRO3_HUMAN  MEDVYDLMYQCWSADPKQRPSTCLRMELENIL 790
SP|sp|Q12866|587-858|MERTK_HUMAN  LDELYEIMYSCWRTPDLDRPTFSVLRQLQLEKLL 858
SP|sp|P30530|536-807|UFO_HUMAN    LDGLYALMSRCWELNPQDRPSTFELRELENTL 807

```

Figure 29. Alignement des séquences des sites actifs de Tyro3, Axl (Ufo) et Mer en conformation *DFG-out*.

Dans ce rayon de 6 Å, seuls 20 % des résidus sont variables au sein de la famille TAM. En particulier, en position 581, une alanine est présente dans la protéine Tyro3, substituée par une méthionine (Met598) et une *isoleucine* (Ile650) dans Axl et Mer respectivement. Or ces deux derniers acides aminés possèdent des chaînes latérales beaucoup plus encombrantes stériquement que dans le cas de l'alanine (Figure 30). Comme mentionné dans l'introduction, cette variation sur un unique acide aminé clé a déjà été utilisée par Powell, qui a ainsi pu obtenir de la sélectivité vis-à-vis de Tyro3 en conformation *DFG-in*.^{32, 53} En effet, les inhibiteurs développés par son équipe viennent remplir l'espace disponible devant le résidu Ala571 (« poche alanine ») dans Tyro3 murine (Figure 22 : composé 18 en bleu). Au contraire, nous pouvons supposer qu'un clash stérique avec les chaînes latérales d'Ile650 et de Met598 diminue leur affinité pour les protéines Axl et Mer respectivement.

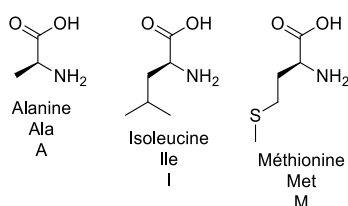


Figure 30. Résidus alanine, isoleucine et méthionine.

En étudiant la pose d'amarrage du composé 24g synthétisé au laboratoire, nous pouvons remarquer que cette poche Alanine fait face à la position 1 du noyau purine (Figure 31). Comme cela a été le cas avec les inhibiteurs de Powell, nous supposons que l'introduction d'un substituant sur cette position 1 de la molécule 24g permettrait peut-être d'obtenir de la sélectivité pour la protéine Tyro3. Pour comparaison, la Figure 31 présente la pose d'amarrage du BMS-777607 dans le modèle de Tyro3. La surface bleue délimite l'espace accessible au solvant dans cette protéine, tandis que la surface rose représente l'espace accessible au solvant dans la protéine Mer. La poche alanine est ainsi visible face à la position 5 du BMS-777607.

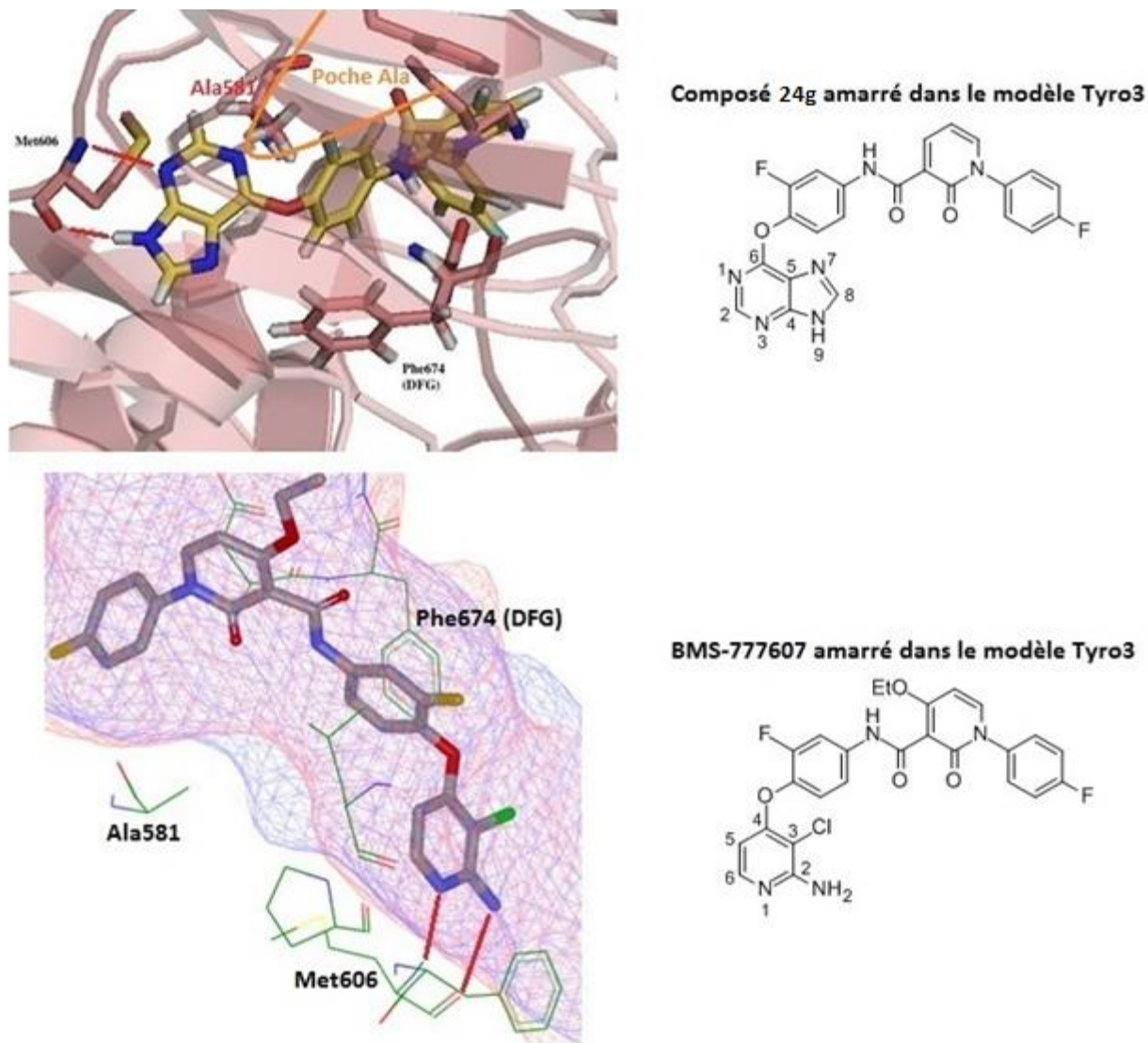


Figure 31. Poses d'amarrage de la purine 24g et du BMS-777607 dans le modèle de Tyro3 humaine.

Cependant, la substitution de l'azote *N1* du noyau purine reste relativement peu étudiée, uniquement sur des dérivés de guanine⁶³ et semble synthétiquement difficile. Pour cette raison, il a été décidé de privilégier un nouvel hétérocycle, l'imidazo[4,5-*b*]pyridine, sur lequel l'introduction d'un substituant sur la position 6, équivalente à l'azote *N1* du noyau purine, devrait être plus facile (Figure 32).

⁶³ (a) R. M. Hyde, A. D. Broom, R. W. J. Buckheit, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1878-1885; (b) J. J. Strouse, M. Jeselnik, F. Tapaha, C. B. Jonsson, W. B. Parker, J. B. Arterburn, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5699-5702; (c) R. Narukulla, D. E. Shuker, Y. Z. Xu, *Nucleic Acids Res.* **2005**, *33*, 1767-1778.

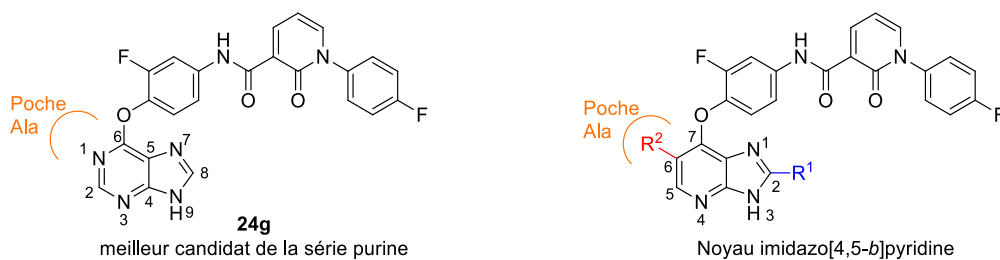


Figure 32. L'imidazo[4,5-*b*]pyridine, nouvel hétérocycle d'intérêt.

En s'appuyant sur les travaux précédents effectués au laboratoire, il a été décidé de ne pas modifier la chaîne latérale à motif pyridone introduite en position 7 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine.^{59, 61} En effet, dans les deux séries de candidats de type purine et pyrimidine, cette chaîne a conduit aux meilleures affinités. Des résultats similaires ont aussi été observés par Shen lors de la mise au point de ses inhibiteurs de Met (Figure 5 en page 20) et par Schroeder lors de la mise au point du BMS-777607.^{17, 55a} Le groupement R¹ devrait alors permettre d'apporter de l'affinité pour la protéine Tyro3 par le biais de liaisons hydrogène. Le groupement R² devrait quant à lui interagir avec la poche alanine dans Tyro3 pour apporter de la sélectivité pour celle-ci par rapport aux autres membres de la famille TAM. Afin de déterminer les groupements R¹ et R² susceptibles d'induire les meilleures affinités et de la sélectivité pour la cible thérapeutique Tyro3, plusieurs centaines de molécules ont été modélisées. Les résultats de ces expériences seront décrits dans cette partie et ont pu être obtenus grâce à une collaboration avec le Pr. Véronique Stoven et le Dr. Nicolas Saettel à l'Institut Curie. Pour chaque candidat, une banque de conformères a été générée par le logiciel OMEGA.⁶⁴ Les expériences d'amarrage moléculaire ont ensuite été réalisées à l'aide du logiciel FRED.⁶⁵ Les scores d'amarrage ont été calculés grâce à la fonction de score Chemgauss4.

⁶⁴ OEChem, Version 1.7.4, OpenEye Scientific Software, Inc., Santa Fe, NM, USA, 2010.

⁶⁵ M. McGann, *J. Chem. Inf. Model.* **2011**, *51*, 578-596.

II. Critères de sélection des candidats

Le score d'amarrage dans le modèle de Tyro3 a constitué le premier critère de tri des candidats. En effet, plus ce score est élevé en valeur absolue, plus la molécule est affine de la protéine.

Une fois cette première sélection passée, les poses des candidats dans le modèle de Tyro3 ont ensuite été étudiées une à une. Trois critères ont été recherchés au cours de cette étude. Les deux premiers sont la présence d'au moins une liaison hydrogène entre le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine et le site ATP (Met606), ainsi que l'occupation de la poche allostérique par la chaîne latérale à motif pyridone. En effet, ces interactions sont typiques des inhibiteurs de type II recherchés. Le dernier critère est l'occupation de la poche alanine présente dans Tyro3. Au cours de cette étude, deux orientations des molécules ont pu être observées selon le volume des substituants R^1 et R^2 présents. Si le substituant R^2 est peu volumineux, celui-ci peut s'orienter vers la poche alanine. Dans ce cas, les liaisons hydrogène avec le site ATP n'engagent que le résidu Met606 (liaisons N – H et C = O) ; cette orientation est dite canonique (Figure 33). Dans le cas d'un substituant R^2 trop volumineux, le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine peut pivoter de 180 ° de manière à orienter le groupement R^1 vers la poche alanine. Dans ce cas, les liaisons hydrogène avec le site ATP engagent les résidus Met606 (N – H) et Pro604 (C = O). Cette orientation est dite non canonique. Des liaisons hydrogènes étant formées avec le site ATP dans les deux cas, l'orientation adoptée par les molécules n'a pas constitué un critère de sélection.

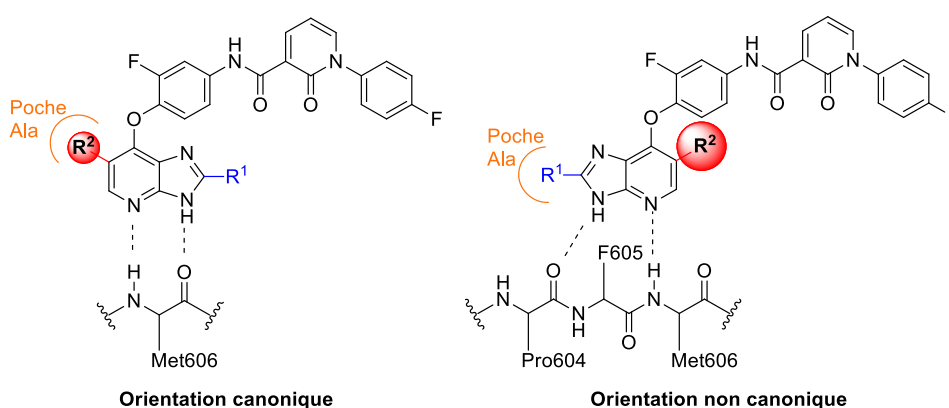


Figure 33. Orientations canonique et non canonique.

Enfin, les poses des candidats ont aussi été étudiées dans la protéine Met (code PDB : 3F82). Seuls les candidats ne formant avec Met aucune des interactions mentionnées précédemment ont été retenus.

En résumé, les candidats retenus :

- forment les interactions typiques d'une inhibition de type II dans le modèle de Tyro3 ;
- possèdent un groupement venant remplir la poche alanine dans Tyro3 ;
- ne forment aucune de ces interactions avec la protéine Met.

Ces trois points sont illustrés en Figure 34 avec l'exemple du composé **29**, candidat se fixant en position non canonique dans Tyro3. Dans la protéine Met, la molécule adopte une conformation aberrante dans laquelle aucune liaison hydrogène n'est possible.

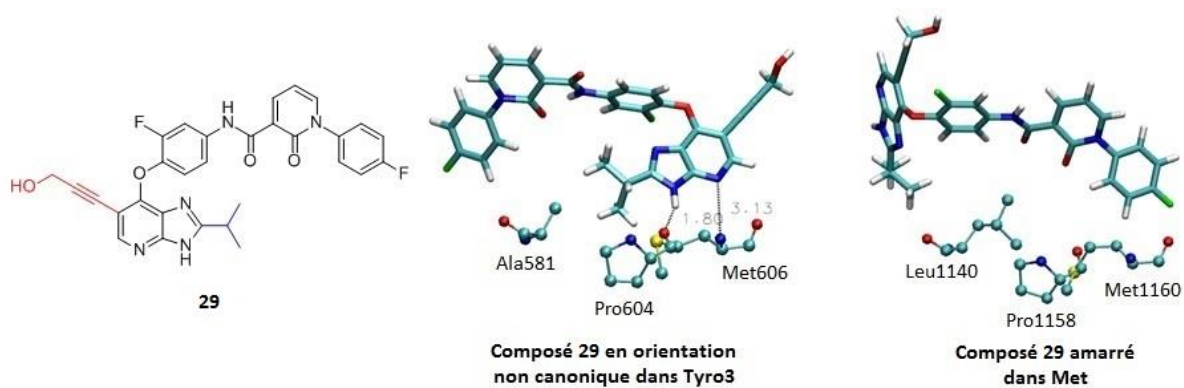


Figure 34. Poses d'amarrage du composé 29 dans le modèle de Tyro3 et dans Met.

III. Premier criblage sur plus de 500 candidats

Une première série de candidats a été modélisée suivant les combinaisons décrites en Figure

35.

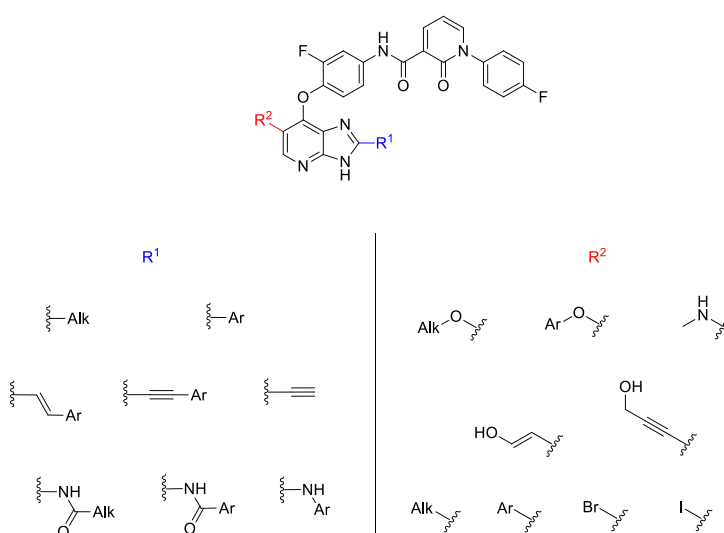


Figure 35. Première série de candidats évaluée par modélisation.

En appliquant les critères cités précédemment, deux groupes de molécules se sont dégagés parmi les meilleurs candidats (Figure 36). Le premier groupe se caractérise par la présence d'un groupement éthyne en position 2 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine. Dans les molécules du second groupe, cette position 2 est substituée par une chaîne alkyle courte, de type éthyle ou *isopropyle*. A l'exception des composés **30** et **31**, toutes ces molécules s'orientent de manière non canonique dans la protéine Tyro3. Dans ce cas, le substituant R¹ devrait donc remplir la poche alanine. L'ensemble de ces candidats forme bien deux liaisons hydrogène avec le site ATP (Pro604 et Met606) par le biais des azotes N3 et N4 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

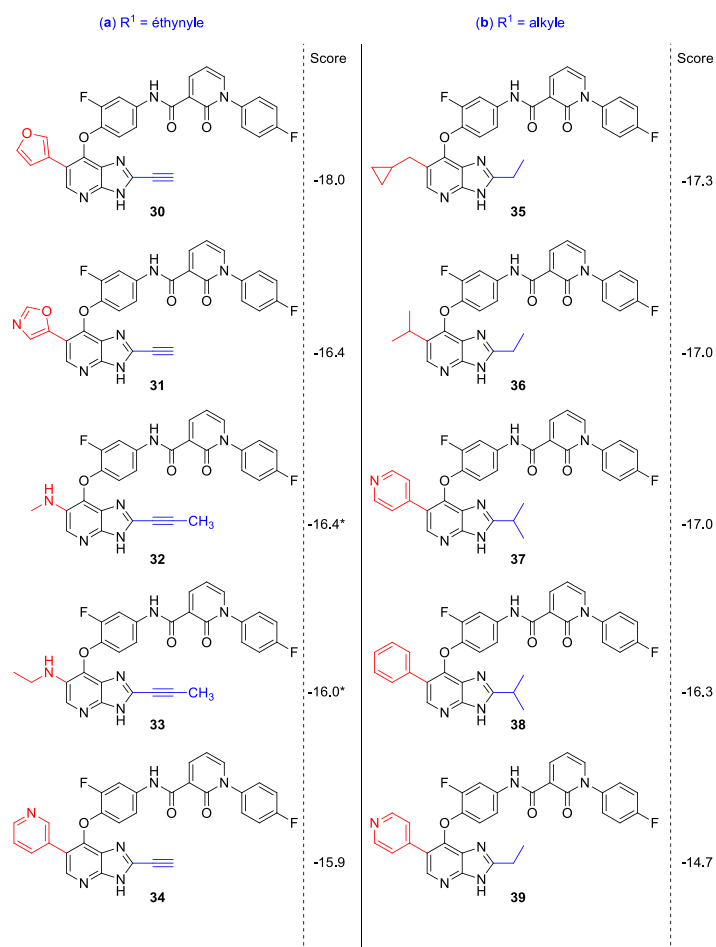


Figure 36. Meilleurs candidats à l'issue du premier criblage par modélisation.

Les scores d'amarrage des molécules orientées de manière canonique dans Tyro3 sont généralement moins bons qu'en orientation non canonique. De plus, aucun groupement R¹ ou R² ne s'est distingué de manière nette dans cette orientation.

Au cours de cette étude, il a été remarqué que l'insertion d'une chaîne longue en position 6 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine pouvait peut-être permettre d'augmenter l'affinité des molécules pour la cible Tyro3. En effet, si un accepteur de liaison hydrogène était situé à l'extrémité de cette chaîne, celui-ci pourrait former une liaison hydrogène avec les liaisons N – H de Gly609 ou Asp610, situées à proximité. Si la chaîne était substituée par un donneur de liaison hydrogène, celui-ci pourrait interagir avec la liaison C = O de Leu524 ou le carboxylate du résidu Asp610.

IV. Second criblage : optimisation du groupement R²

Afin d'améliorer les scores d'amarrage, 60 nouveaux composés possédant des groupements R² à chaînes latérales plus longues ont été évalués par modélisation moléculaire (Figure 37). Ceux-ci présentent des groupements donneurs ou accepteurs de liaisons hydrogène.

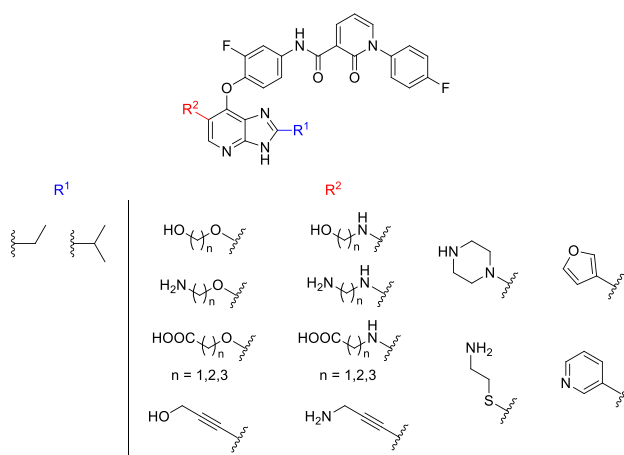


Figure 37. Second criblage pour l'optimisation du groupement R².

Les meilleurs candidats de ce second criblage ont en effet donné des scores légèrement supérieurs aux précédents (Figure 38).

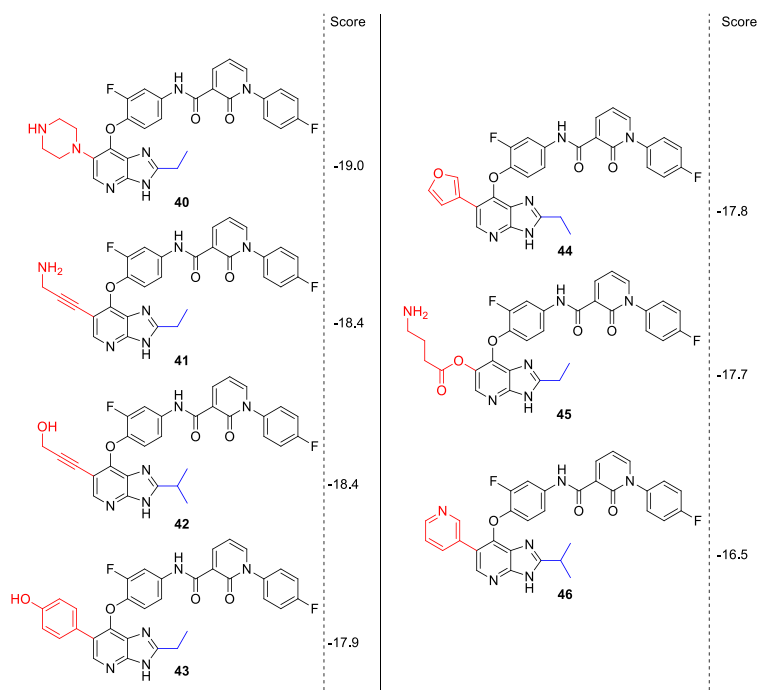
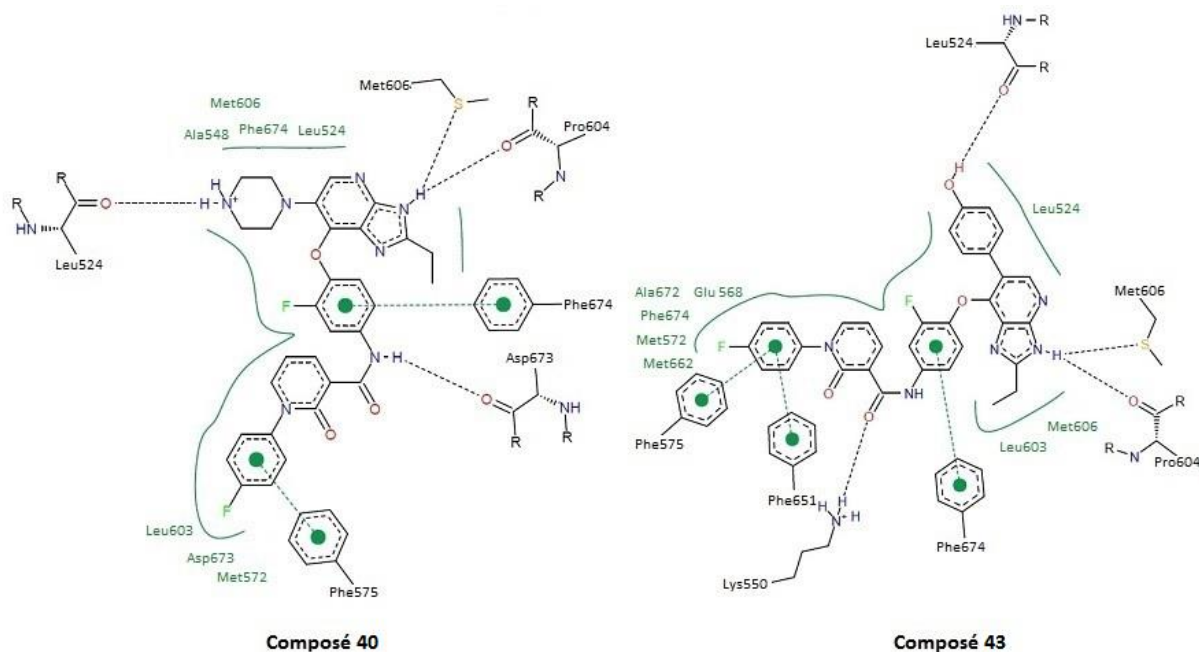


Figure 38. Meilleurs candidats à l'issue du second criblage par modélisation.

De manière satisfaisante, pour les composés **40**, **41**, **42**, **43** et **45**, la chaîne longue en position 6 permet bien la formation d'une nouvelle liaison hydrogène avec les résidus Asp610 ou Leu524 (Figure 39). Cependant, contrairement à ce qui avait été observé lors du premier criblage, la plupart des molécules ne réalise plus de liaison hydrogène avec l'azote N4 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine mais une « double » liaison hydrogène entre l'azote N3, Pro604 (C = O) et Met606 (S). Ce nouveau type de fixation au site ATP n'a toutefois pas été considéré comme défavorable, les scores d'amarrage restant satisfaisants.



La grande majorité des molécules substituées en position 6 par une chaîne alkyle très flexible donne de mauvais scores d'amarrage. En effet, l'exploration conformationnelle par le logiciel d'amarrage semble dans ces cas incomplète, en raison du très grand nombre de degrés de liberté. Cela n'a pas permis d'orienter efficacement le donneur de liaison hydrogène vers les résidus Leu524 et Asp610. Il semble donc nécessaire d'introduire de la rigidité dans ce groupement R², par exemple avec l'introduction d'une structure cyclique comme pour les composés **40** et **43**.

V. Définition des molécules cibles pour la synthèse

En s'appuyant sur les bons scores d'amarrage obtenus avec les groupements R^2 hétéroaryles précédents (composés **43**, **44** et **46**), nous avons choisi de nous orienter vers la synthèse des dérivés de 6-arylimidazo[4,5-*b*]pyridines décrits en Figure **40**. Il est toutefois important de noter que pour des raisons pratiques de synthèse, le choix des substituants R^2 a été affiné. Par exemple, le groupement 4-(diméthylamino)phényle a été retenu bien qu'il ne soit pas ressorti des expériences de modélisation moléculaire.

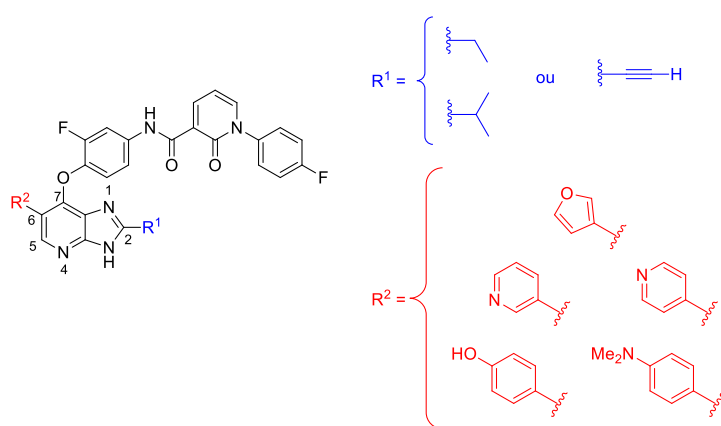


Figure 40. Les deux familles de molécules cibles définies par modélisation moléculaire.

D'après la modélisation moléculaire, les molécules cibles devraient donc s'orienter de façon non canonique au sein de Tyro3, le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine étant fixé au site ATP par le biais d'une à deux liaisons hydrogène avec les résidus Met606 et Pro604. Le groupement R^1 occuperait ainsi l'espace disponible devant le résidu Ala581 présent dans Tyro3. Dans les autres protéines de la famille TAM, celui-ci devrait entraîner un *clash* stérique avec les résidus Met598 et Ile650 et induire une perte d'affinité. Le groupement R^2 devrait quant à lui permettre de former une liaison hydrogène supplémentaire avec les résidus Asp610 ou Leu524 et ainsi augmenter l'affinité des molécules pour la protéine Tyro3.

Une fois ces molécules cibles définies, nous nous sommes concentrés sur leur synthèse. Les résultats correspondants sont présentés dans la partie suivante.

Synthèse des molécules cibles

Deux schémas synthétiques distincts ont été mis au point pour la synthèse des 2-alkyl et 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridines, respectivement.

I. Synthèse des candidats 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridines

1) Rétrosynthèse

Deux voies de rétrosynthèse ont été initialement envisagées pour aboutir au noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine trifonctionnalisé en positions 2, 6 et 7 (Schéma 4).

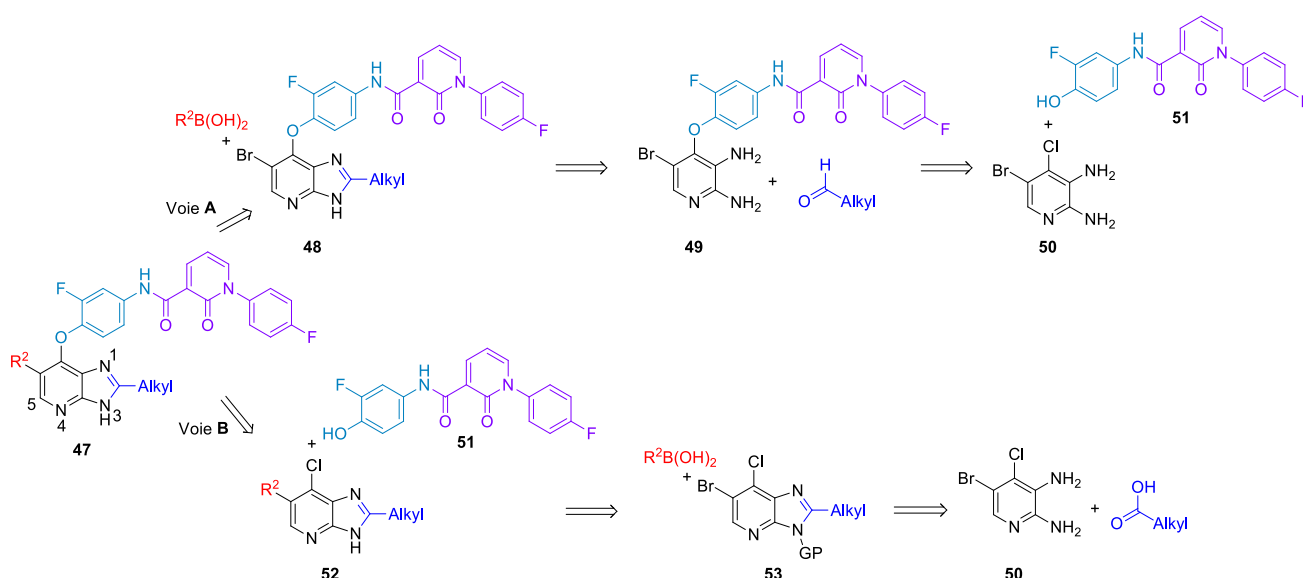


Schéma 4. Deux voies de rétrosynthèse envisageables pour la synthèse des imidazo[4,5-*b*]pyridines cibles.

Dans la voie **A**, la diversité en position 6 du motif imidazo[4,5-*b*]pyridine **47** serait introduite par un couplage de Suzuki entre un acide boronique et la molécule **48**. Cette dernière pourrait être obtenue par condensation entre un aldéhyde et la 2,3-diaminopyridine **49** déjà complètement fonctionnalisée en position 4. La chaîne latérale à motif pyridone aurait en effet été introduite au préalable par substitution nucléophile aromatique de la fonction phénol du composé **51** sur la pyridine **50**. Dans la voie **B**, le couplage de Suzuki et la SNAr seraient au contraire réalisés directement sur les positions 6 et 7 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine **53** protégé en position 3. Ce

dernier serait formé dès la première étape par condensation entre un aldéhyde et la 2,3-diamino-5-bromo-4-chloropyridine **50**. Plus convergente, la voie **A** a d'abord été privilégiée.

2) Voie A : fonctionnalisation préalable de la pyridine

a) Bromation et nitration de la 2-amino-4-chloropyridine

A partir de la 2-amino-4-chloropyridine **54** commerciale, la pyridine bromée **55** a été obtenue avec un bon rendement de 80 % dans des conditions classiques de substitution électrophile aromatique en utilisant la *N*-bromosuccinimide comme agent de bromation (Schéma 5).⁶ En raison des effets *ortho*- et *para*-orienteurs des substituants, la formation du produit de dibromation **55'** a été observée en petite quantité mais celui-ci n'a pas été isolé. Le produit **55'** est probablement formé de façon minoritaire à cause d'une gêne stérique présente due aux groupements Cl et NH₂.

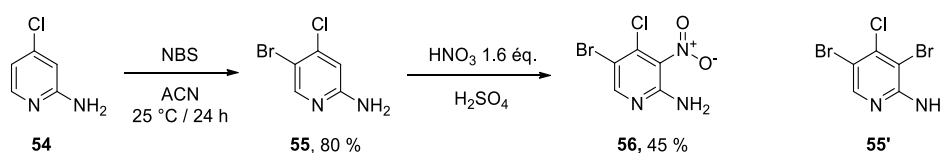


Schéma 5. Bromation de la 2-amino-4-chloropyridine **54**.

D'après des conditions décrites par l'équipe de Bavetsias sur le même substrat, le groupement nitro a ensuite été introduit en position 3 de la pyridine **55** par un mélange sulfonitrique avec un rendement de 38 % (Table 2 : Entrée 1).⁶ En prolongeant le chauffage à 1 h, il a été possible d'améliorer légèrement ce résultat (Entrée 2) mais au-delà, le produit se dégrade et le rendement chute. Celui-ci reste équivalent lorsque la réaction est réalisée sur une quantité de substrat inférieure à 5 mmol, mais au-delà, une chute significative du rendement est observée (Entrées 3 et 4). Pour ralentir la dégradation du produit attendu, une tentative de réaction à température ambiante a été réalisée, sans succès (Entrée 5). Il est intéressant de remarquer qu'un rendement de 38 % est décrit par Bavetsias, sur une quantité maximale de 640 mg de produit de départ, laissant supposer que les mêmes problèmes ont été rencontrés par son équipe.

Table 2. Optimisation de la nitration du composé 55.

Entrée	Composé 55 (mmol)	Température (°C)	Durée (min)	Rendement (%)
1	4.8	0 - 55	30	38
2	4.8	0 - 55	60	45
3	2.4	0 - 55	60	41
4	9.6	0 - 55	60	31
5	4.8	0 - 25	45	25

b) Substitution nucléophile aromatique pour l'introduction de la chaîne latérale

En parallèle de la synthèse de la pyridine **56**, la pyranone **57** est mise en réaction avec la *para*-fluoroaniline commerciale **58** en présence d'EDCI et de DMAP afin de former le motif pyridone du composé **59** (Schéma 6). La fonction ester est ensuite saponifiée en présence d'hydroxyde de lithium à température ambiante en 3 h avec un rendement quantitatif. La fonction acide carboxylique du composé **60** ainsi obtenu est condensée avec la fonction aniline du 4-amino-2-fluorophénol commercial **61** pour finaliser le motif de la chaîne latérale **51**.⁶¹

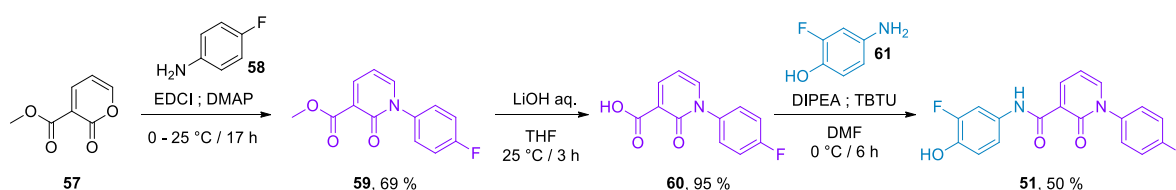
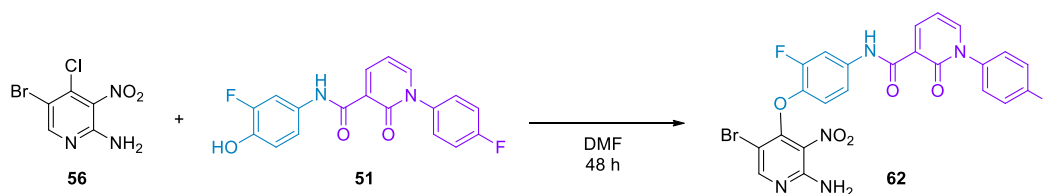


Schéma 6. Formation de la chaîne latérale 51.

Ensuite, une optimisation rapide a permis d'identifier des conditions de substitution nucléophile aromatique pour l'insertion de la chaîne latérale **51** sur la position 4 de la pyridine **56** (Table 3).

Table 3. Optimisation de la substitution nucléophile aromatique pour l'introduction de la chaîne latérale 51 sur la pyridine 56.

Entrée	Eq. Composé 51	Base (éq.)	Température (°C)	Rendement RMN (%)
1	1.1	CS ₂ CO ₃ (1.5)	70	0
2	1.1	LiOtBu (1.5)	70	25
3	1.1	LiOtBu (1.5)	100	24
4	1.1	LiOtBu (3)	100	23
5	1.5	LiOtBu (1.5)	70	28

Une base forte a été nécessaire à la réaction (Entrées 1 et 2) et des conditions de chauffage plus dures n'ont pas permis d'améliorer le rendement initialement observé (Entrée 3). La même remarque peut être faite quant à l'utilisation d'un large excès de base, qui conduit au produit attendu avec un rendement de 23 % (Entrée 4). A l'issue de cette optimisation, les conditions retenues consistent en l'utilisation de 1.5 équivalents de *tert*-butanolate de lithium dans le DMF à 70 °C pendant 48 h.¹⁷ Cependant, des problèmes de reproductibilité ont été rencontrés à cette étape et ce rendement n'a jamais pu être reproduit. Le composé **62** n'a jamais pu être isolé car toujours contaminé par l'excès de chaîne latérale **51** utilisé pour la réaction (en proportions 1:1). Les rendements indiqués sont donc estimés à partir de la RMN ¹H du mélange après chromatographie sur gel de silice. Le produit a ainsi été utilisé en mélange pour la suite de la synthèse.

b) Réduction de la fonction nitro

De même qu'à l'étape de substitution nucléophile aromatique, de nombreux problèmes de reproductibilité ont été rencontrés pour la réduction de la fonction nitro par le fer, qui n'a pu être réalisée qu'une seule fois (Schéma 7). Ces difficultés rencontrées peuvent être dues au fait que le composé **62** était utilisé en mélange avec la chaîne latérale **51**.

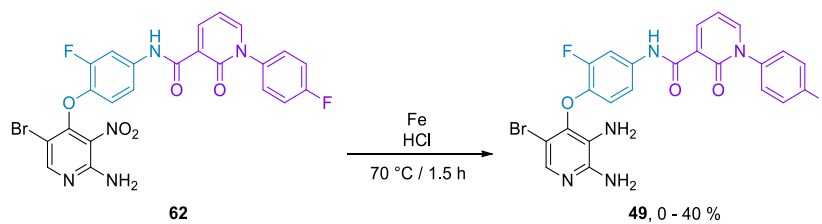


Schéma 7. Réduction de la fonction nitro du composé 62.

Bien que plus convergente, la voie **A**, résumée ci-dessous, a donc finalement été abandonnée en raison des faibles rendements obtenus à chaque étape ainsi que des nombreux problèmes de reproductibilité rencontrés (Schéma 8).

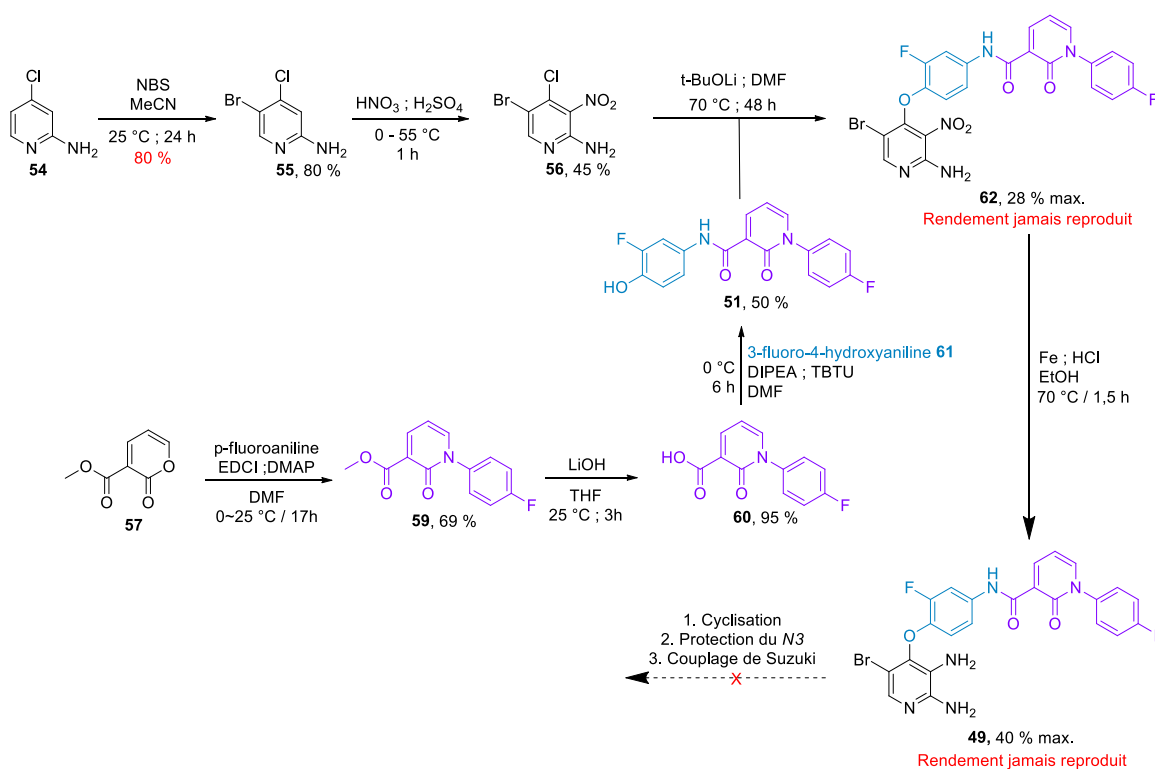


Schéma 8. Voie de synthèse la plus avancée obtenue depuis la 2-amino-4-chloropyridine 54.

3) Voie B : formation préalable du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine

Il a finalement été décidé de débiter la synthèse par la formation du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine (Schéma 9).

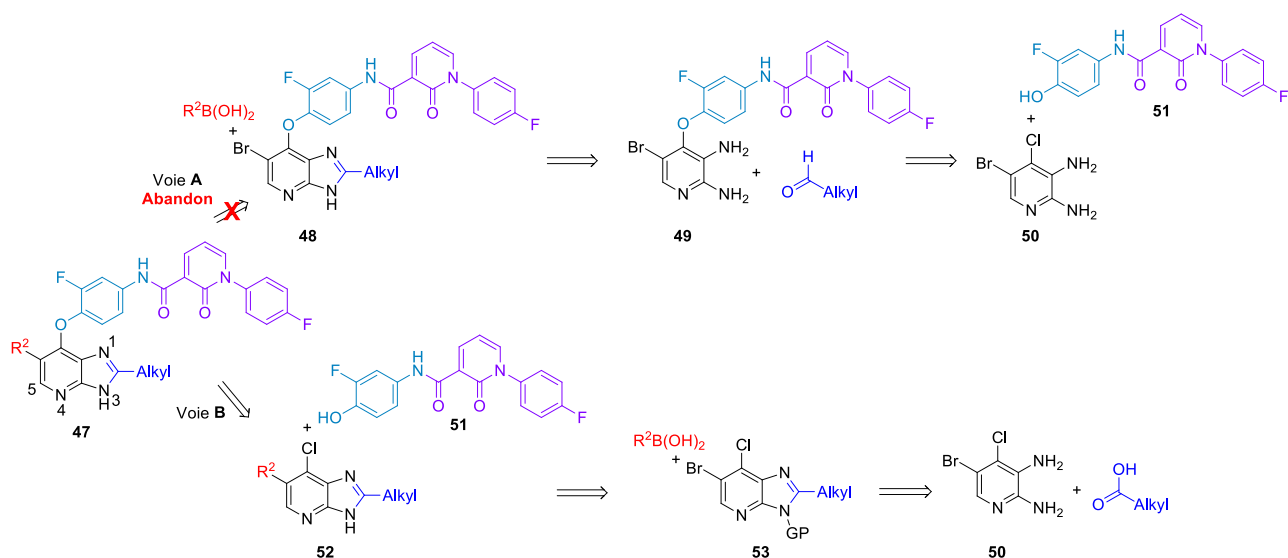


Schéma 9. Deux voies de rétrosynthèse envisageables pour l'accès aux 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridines cibles.

a) Tentatives de synthèse du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine en une seule étape à partir de la pyridine 56

Afin d'économiser une étape de synthèse depuis la pyridine 56, plusieurs essais de réduction de la fonction nitro et cyclisation en *one-pot* ont été d'abord été réalisés, en nous inspirant de trois méthodes décrites dans la littérature (Schéma 10).

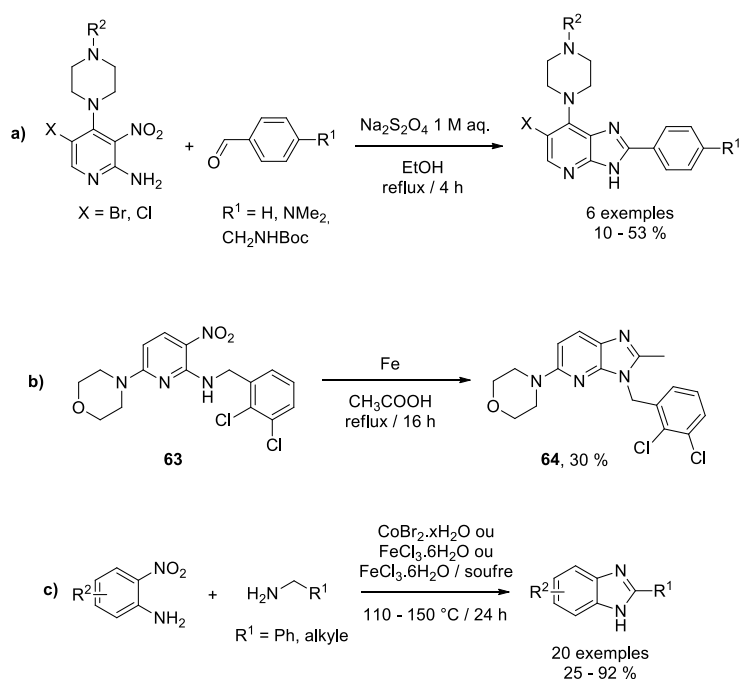


Schéma 10. Réductions et cyclisations one-pot de 2,3-diaminopyridines et 1,2-diaminophényles.

Dans le cadre de la mise au point d'inhibiteurs des kinases Aurora, l'équipe de Blagg a développé une méthode de condensation entre des benzaldéhydes et des 2-amino-3-nitropyridines en présence de dithionite de sodium (Na₂S₂O₄) comme réducteur (équation a).^{6, 66} Les rendements obtenus sont cependant assez faibles et aucune discussion n'est faite quant à l'utilisation d'aldéhydes à chaîne alkyle. Rivero et Tedesco parviennent à synthétiser le dérivé de 2-méthylimidazo[4,5-*b*]pyridine **64** par réduction-cyclisation one-pot en présence de fer en quantités stœchiométriques (équation b).⁶⁷ Le partenaire de cyclisation, l'acide acétique, est alors utilisé comme solvant de la réaction. Enfin, grâce à une catalyse par le fer (FeCl₃) ou le cobalt (CoBr₂), l'équipe d'Al-Mourabit a pu obtenir 20 dérivés de 2-alkyle et 2-phénylbenzimidazoles avec de bons rendements (équation c).⁶⁸ Cette méthode utilise des amines primaires comme partenaires de cyclisation et présente l'avantage d'être réalisée sans solvant. Elle n'est cependant pas décrite sur des substrats de type pyridine.

⁶⁶ (a) V. Bavetsias, S. Crumpler, C. Sun, S. Avery, B. Atrash, A. Faisal, A. S. Moore, M. Kosmopoulou, N. Brown, P. W. Sheldrake, K. Bush, A. Henley, G. Box, M. Valenti, A. de Haven Brandon, F. I. Raynaud, P. Workman, S. A. Eccles, R. Bayliss, S. Linardopoulos, J. Blagg, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 8721-8734; (b) V. Bavetsias, A. Faisal, S. Crumpler, N. Brown, M. Kosmopoulou, A. Joshi, B. Atrash, Y. Pérez-Fuertes, J. A. Schmitt, K. J. Boxall, R. Burke, C. Sun, S. Avery, K. Bush, A. Henley, F. I. Raynaud, P. Workman, R. Bayliss, S. Linardopoulos, J. Blagg, *J. Med. Chem.* **2013**.

⁶⁷ R. Rivero, R. Tedesco, **2013**, GLAXOSMITHKLINE, WO2013/095761.

⁶⁸ (a) T. B. Nguyen, L. Ermolenko, A. Al-Mourabit, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *135*, 118-121; (b) T. B. Nguyen, J. Le Bescont, L. Ermolenko, A. Al-Mourabit, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 6218-6221.

Dans notre cas, le dithionite de sodium utilisé par l'équipe de Blagg n'a pas permis ici de former le produit attendu (Schéma 11). En effet, seul le produit de réduction de la fonction nitro a été isolé, avec un rendement très faible de 11 %. L'utilisation de 3 équivalents de fer dans l'acide propanoïque au reflux a quant à elle mené à l'obtention d'un sel de composition inconnue dans lequel seules des traces de produit attendu ont été observées.

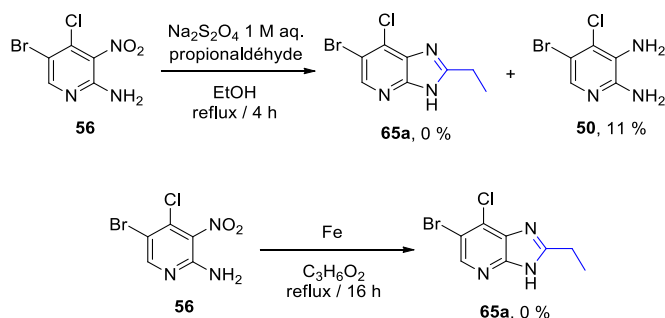
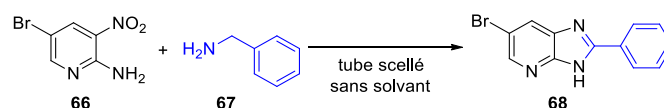


Schéma 11. Réduction et cyclisation one-pot en présence du réducteur Na₂S₂O₄.

Nous avons ensuite tenté d'appliquer les conditions d'Al-Mourabit sur la 2-amino-5-bromo-3-nitropyridine **66** commerciale avec la benzylamine comme partenaire de cyclisation. L'utilisation de FeCl₃ seul n'a pas permis d'obtenir le produit attendu **68**, quelle que soit la quantité de benzylamine utilisée (Table 4 : Entrées 1 et 2). L'ajout de 20 % de soufre au milieu réactionnel a conduit à un rendement de 12 % (Entrée 3). D'après Al-Mourabit, la formation d'une structure cristalline Fe₄S₄ contenant les atomes Fe et S à différents degrés d'oxydation permet l'accès à des potentiels rédox plus variés que dans le cas du fer seul. L'existence de cette structure cristalline n'est toutefois appuyée par aucune donnée expérimentale. Nous pouvons tout de même souligner l'utilisation du soufre comme agent oxydant dans plusieurs voies d'accès aux 2-arylimidazo[4,5-*b*]pyridines.⁶⁹ Des conditions de chauffage durcies n'ont pas amélioré significativement le rendement de la réaction (Entrée 4). L'augmentation de la quantité de système catalytique a quant à elle été très néfaste (Entrée 5).

⁶⁹ (a) N. V. Ivanova, S. I. Sviridov, A. E. Stepanov, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 8025-8027; (b) Y. M. Yutilov, L. I. Shcherbina, *Chem. Heterocyc. Compd.* **1987**, *23*, 529-535; (c) Y. M. Yutilov, L. I. Shcherbina, A. F. Efremenko, *Chem. Heterocyc. Compd.* **1989**, *25*, 783-790.

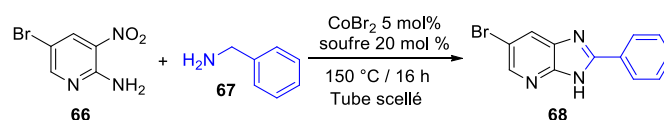
Table 4. Optimisation des conditions de réduction-cyclisation one-pot catalysée par le fer ou le cobalt.



Entrée	Eq. benzylamine 67 (éq.)	Catalyseur (mol %)	% soufre	Température (°C)	Rendement (%)
1	4	FeCl ₃ (2)	-	120	0
2	20	FeCl ₃ (2)	-	120	0
3	4	FeCl ₃ (5)	20	120	12
4	4	FeCl ₃ (5)	20	150	17
5	4	FeCl ₃ (10)	40	150	5
6	4	CoBr ₂ (5)	-	150	18
7	4	CoBr₂ (5)	20	150	36
8	4	CoBr ₂ (20)	20	150	4
9	4	CoBr ₂ (20)	-	150	14
10	8	CoBr ₂ (5)	20	100 – 200 (μW)	16

Le passage à un catalyseur au cobalt (CoBr₂) seul a conduit à un rendement assez faible de 18 % (Entrée 6) qui augmente de manière notable si 20 % molaires de soufre sont ajoutés au milieu réactionnel (Entrée 7). Pourtant, dans le cas du cobalt, l'équipe d'Al-Mourabit ne mentionne l'existence d'aucune interaction ou structure cristalline avec S comme c'était le cas pour le fer. Comme dans le cas de FeCl₃, l'augmentation de la quantité de catalyseur a entraîné une chute du rendement (Entrées 8 et 9). Enfin, un chauffage par irradiation aux micro-ondes a été tenté (Entrée 10). Après 1 h d'irradiation à 100 °C, le produit attendu **68** n'ayant toujours pas été observé, le chauffage a été prolongé pendant 1 h à 150 °C puis 1 h à 200 °C. Le rendement final de 16 % peu satisfaisant nous a conduits à abandonner cette méthode.

Encouragés par le rendement correct obtenu avec l'utilisation de 5 % molaires de CoBr₂ et 20 % molaires de soufre (Entrée 7), nous avons tenté de reproduire ces conditions en présence d'un solvant (Table 5). En effet, en raison d'une grande hétérogénéité des milieux réactionnels, le maintien d'une agitation efficace était difficile, ainsi que le traitement des bruts réactionnels. Malheureusement, le produit attendu **68** n'a alors été formé qu'à l'état de traces.

Table 5. Tentatives de réduction-cyclisation catalysée par CoBr₂ en solvant.

Entrée	Solvant	Rendement (%)
1	DMF	Traces
2	DMSO	Traces
3	1,4-Dioxane	0
4	Pyridine	0
5	Ethanol	0

Un mécanisme a été proposé par l'équipe d'Al-Mourabit pour cette réaction et consiste en une succession de réductions et oxydations par le catalyseur métallique. La benzylamine **67** subit tout d'abord une oxydation par Fe^{III} et se dimérise sous forme d'imine (**I**). La nouvelle espèce Fe^{II} formée au cours de cette réaction est utilisée pour la réduction de la fonction nitro de la pyridine **66** pour former l'intermédiaire (**II**). L'imine (**I**) se condense ensuite sur la pyridine (**II**) et l'intermédiaire (**III**) ainsi formé subit une réaromatization pour donner le produit de cyclisation **68** attendu. Le fer revient ainsi à son état d'oxydation III initial. Il est notable qu'au cours de cette étude, les intermédiaires de réaction (**I**), (**II**) et (**III**) ont bien été observés par LCMS et le mécanisme proposé par l'équipe d'Al-Mourabit semble donc confirmé (Schéma **12**).^{68b} Ces trois intermédiaires étant observés même dans les réactions qui n'aboutissent pas au produit final, il semble que l'étape limitante soit la réaromatization de (**III**) en **68**. Les catalyseurs utilisés ne sont donc peut-être pas des oxydants assez forts.

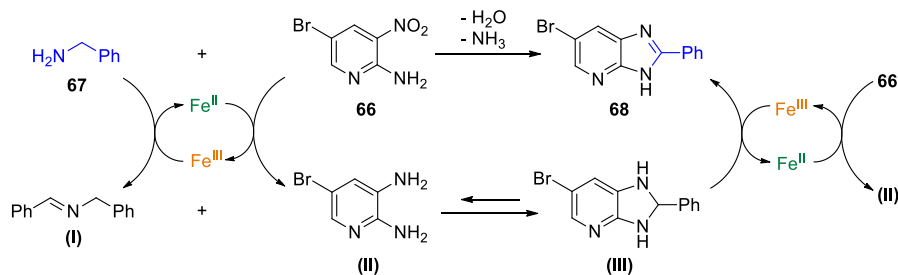


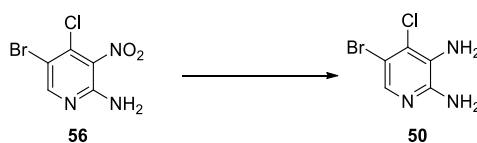
Schéma 12. Proposition de mécanisme pour la réduction-cyclisation one-pot catalysée par le fer.

Finalement, au vu des faibles rendements obtenus même après optimisation, il a été décidé de réaliser la réduction de la fonction nitro et la cyclisation en deux étapes distinctes.

b) Tentatives de synthèse en deux étapes à partir de la pyridine 56

Pour la réduction, une hydrogénation en présence de nickel de Raney a d'abord été envisagée mais a conduit à de nombreux problèmes de reproductibilité (Table 6 : Entrée 1). Des conditions de réduction à l'étain (Entrée 2)⁷⁰ ou au zinc (Entrée 3) ont été testées mais n'ont pas donné de rendements satisfaisants. Dans le cas de l'étain, des traces de produit de réduction de la liaison C – Cl ont même été observées.

Table 6. Optimisation de la réaction de réduction de la fonction nitro du composé 56.



Entrée	Réducteur (éq.)	Solvant	Durée (h)	Température (°C)	Rdt (%)
1	Ni Raney (0.35 – 5)	MeOH	2 – 7	25	0 - 95
2	SnCl ₂	EtOH	18	60	57
3	Zn (12) / NH ₄ Cl (10)	MeOH:THF 1:1	18	25	45
4	Fe (3.1) / HCl 37 % (3.3)	EtOH	18	reflux	Quant.
5	Fe (13) / NH ₄ Cl (10)	EtOH:H ₂ O 2:0.5	18	reflux	10

Finalement, l'utilisation de fer métallique en milieu acide fort (Entrée 4) a été retenue comme méthode de choix, conduisant à des rendements quantitatifs et reproductibles.⁷¹ De plus, cette méthode a présenté l'intérêt de ne pas nécessiter de purification du produit, qui est utilisé comme tel dans la suite de la synthèse. Il est intéressant de noter que l'utilisation d'un acide plus faible tel que le chlorure ammonium conduit à une baisse significative du rendement (Entrée 5).⁷²

La cyclisation a ensuite été réalisée à l'aide de l'acide carboxylique correspondant d'après des conditions déjà décrites au laboratoire sur le noyau purine.⁷³ L'utilisation de POCl₃ comme solvant permet d'activer *in situ* l'acide carboxylique sous forme de chlorure d'acyle et a conduit au produit attendu avec un bon rendement de 70 % (Schéma 13).

⁷⁰ P. Marchand, M. Antoine, M. Czech, M. Gerlach, E. Günther, T. Schuster, *Synthesis* **2011**, 2011, 794-806.

⁷¹ (a) M. D. Soll, L. P. Le Hir De Fallois, S. K. Huber, H. I. Lee, D. E. Wilkinson, R. T. Jacobs, B. C. Beck, **2010**, WO2010/056999; (b) N. Ibrahim, L. Mouawad, M. Legraverend, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3389-3393.

⁷² K. A. Ahrendt, A. J. Buckmelter, J. Grina, J. D. Hansen, E. R. Laird, B. Newhouse, L. Ren, S. M. Wenglowsky, B. Feng, K. Malesky, S. Mathieu, J. Rudolph, Z. Wen, W. B. Young, D. A. Moreno, **2009**, A. BioPharma, WO2009/US35383.

⁷³ N. Ibrahim, M. Legraverend, *J. Comb. Chem.* **2009**, *11*, 658-666.

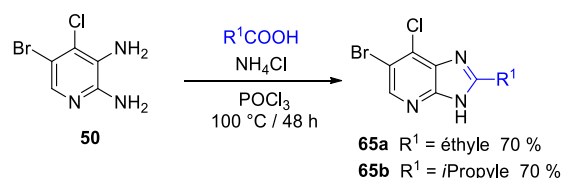


Schéma 13. Formation du motif imidazo[4,5-*b*] par cyclisation de **50** avec l'acide carboxylique correspondant.

Cependant, dans cette première voie d'accès au noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine se posait toujours le problème de l'obtention du composé **56** par nitration de la 2-amino-5-bromo-4-chloropyridine **55**, difficilement reproductible. De plus cette réaction n'est réalisable qu'à une échelle réduite de 5 mmol de substrat au maximum. Afin de contourner ces problèmes, la synthèse a été reprise à partir de la 2,3-diamino-5-bromopyridine **69** commerciale.

c) Synthèse à partir de la 2,3-diamino-5-bromopyridine **69**

Le noyau hétéroaromatique a alors été formé dès la première étape par une cyclisation identique à celle décrite sur le composé **50** (Schéma 14). De manière satisfaisante, les rendements observés ont été sensiblement équivalents.

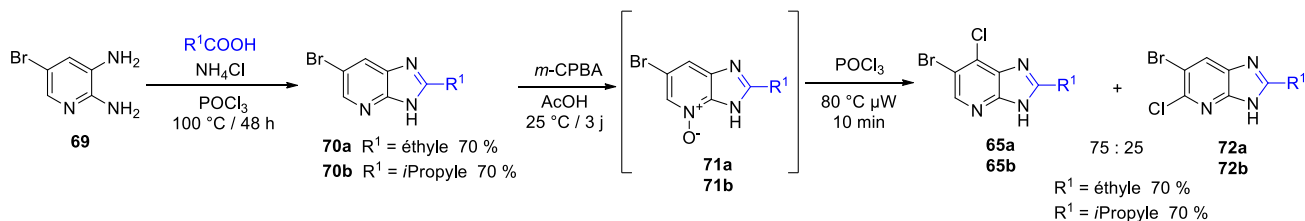


Schéma 14. Synthèse des composés **65** et **72** à partir de la 2,3-diamino-5-bromopyridine **69**.

L'introduction d'un atome de chlore en position 7 est possible via la formation d'un intermédiaire *N*-oxyde sur l'azote *N4* (composés **71**).⁷⁴ Cependant, un mélange de régioisomères **65/72** en proportions 75:25 est obtenu. Ces deux régioisomères ne sont pas séparables par chromatographie sur gel de silice ou alumine.

La protection de l'azote *N3* est donc réalisée sur le mélange d'isomères **65** et **72**. Le benzyle a été choisi comme groupement protecteur et a pu être introduit en milieu basique (NaH) à partir de bromure de benzyle. Cette réaction donne un rendement de 40 % quelle que soit la nature du

⁷⁴ T. Heinrich, J. Seenisamy, L. Emmanuvel, S. S. Kulkarni, J. Bomke, F. Rohdich, H. Greiner, C. Esdar, M. Krier, U. Grädler, D. Musil, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 1160-1170.

groupement R^1 (Schéma 15). A l'issue de cette réaction, le produit attendu est cette fois séparable de l'isomère 5-chloro par chromatographie.

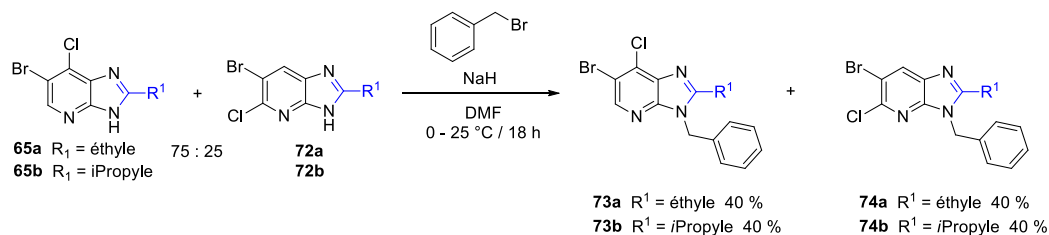


Schéma 15. Protection des composés 65 et 72 par le benzyle.

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'introduction du groupement R^2 de la chaîne latérale à motif pyridone sur les positions 6 et 7 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine. Deux voies de synthèse étaient alors envisageables : débuter par l'introduction du substituant R^2 en position 6 ou de la chaîne latérale en position 7 (Schéma 16). Nous avons choisi d'étudier d'abord la fonctionnalisation de la position 6 par couplage de Suzuki.

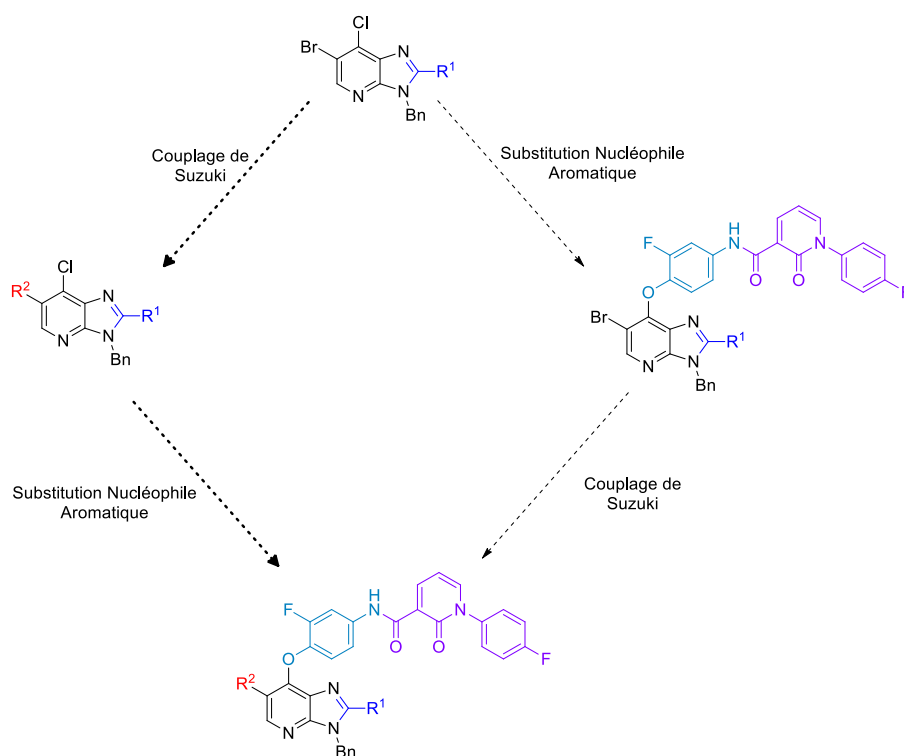
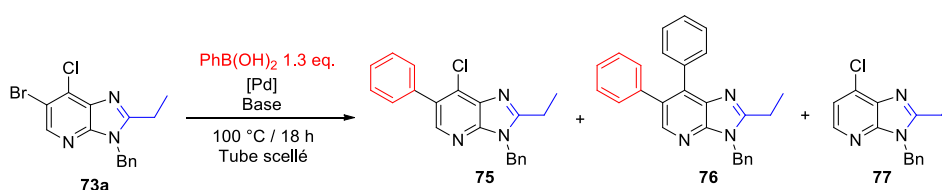


Schéma 16. Fonctionnalisation des positions 6 ou 7 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

d) Introduction du substituant R²

L'optimisation de cette réaction de Suzuki a été réalisée en utilisant l'acide phénylboronique comme partenaire de couplage. Une première tentative de réaction a été réalisée en utilisant le palladium PdCl₂(dppf) comme catalyseur (Table 7 : Entrée 1). Le produit attendu **75** a alors été observé par LCMS en mélange avec le substrat **73a** en proportions 48:52, ces composés étant difficilement séparables par chromatographie. En utilisant le palladium Pd(PPh₃)₄, la proportion de produit attendu **75** augmente mais un problème de chimiosélectivité est rencontré et les produits biarylé **76** et réduit **77** sont formés au cours de la réaction (Entrée 2). Malheureusement, les produits **75/76/77** ne sont pas séparables par chromatographie ; leurs proportions ont donc été évaluées par LCMS et le rendement présenté est estimé par RMN ¹H. La nature du cation de la base semble déterminante puisque l'utilisation de Na₂CO₃ dans les mêmes conditions n'a pas permis de réaliser le couplage (Entrée 3). Nous pouvons supposer que cela est dû à une meilleure solubilité de la base Cs₂CO₃ en solvant organique, le cation Cs⁺ étant plus mou que le cation Na⁺.⁷⁵ Finalement, le 1,4-dioxane s'est avéré être le solvant le plus efficace (Entrée 4) et l'utilisation de micro-ondes a été exclue, car conduisant à la formation exclusive des produits **76** et **77** non désirés (Entrée 5). Le composé **75** a donc été utilisé par la suite en mélange avec les composés **73a**, **76** et **77** en proportions 85:10:2,5:2,5.

Table 7. Optimisation du couplage de Suzuki.



Entrée	[Pd] (5 mol%)	Base (2 M aq.) (2 éq.)	Solvant	Ratio LCMS 73a / 75 / 76 / 77	Rendement estimé 75 (%)
1	PdCl ₂ (dppf)	Cs ₂ CO ₃	1,4-Dioxane	52 / 48 / 0 / 0	n. d.
2	Pd(PPh₃)₄	Cs₂CO₃	1,4-Dioxane	10 / 85 / 2.5 / 2.5	80
3	Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	1,4-Dioxane	100 / 0 / 0 / 0	n. d.
4	Pd(PPh ₃) ₄	Cs ₂ CO ₃	Toluène:EtOH 1:1	0 / 79 / 19 / 2	n. d.
5	Pd(PPh ₃) ₄	Cs ₂ CO ₃	Toluène:EtOH 1:1	0 / 10 / 45 / 45	n. d.

⁷⁵ G. Dijkstra, W. H. Kruizinga, R. M. Kellogg, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4230-4234.

e) Insertion de la chaîne latérale à motif pyridone

Comme l'insertion de la chaîne latérale sur la position 7 via une substitution nucléophile aromatique avait posé des problèmes de reproductibilité et de purification des produits (Voie A : Table 3), un couplage pallado-catalysé a été envisagé pour fonctionnaliser cette position. Nous avons d'abord tenté d'insérer directement la chaîne latérale **51** complète en nous appuyant sur trois exemples de la littérature (Schéma 17).

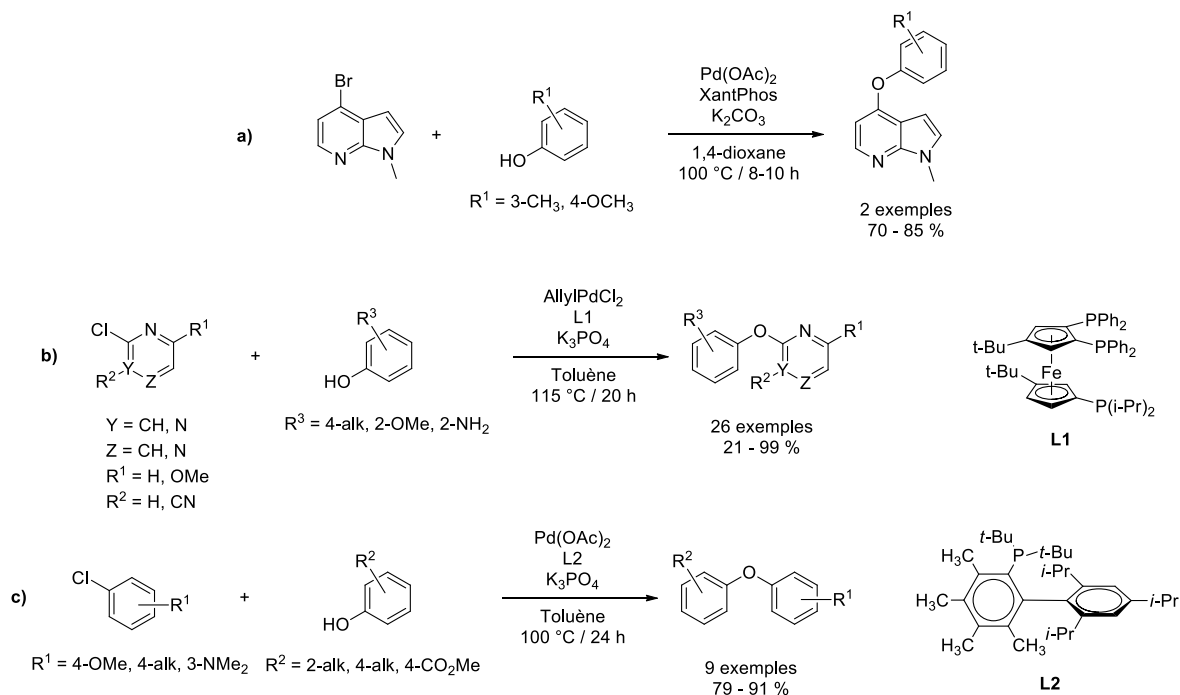


Schéma 17. Etherifications pallado-catalysées d'hétérocycles.

En 2012, l'équipe de Chandrasekhar réalise le couplage de deux dérivés de phénol à un noyau 4-bromopyrrolo[2,3-*b*]pyridine avec de très bons rendements, en utilisant l'acétate de palladium comme catalyseur dans le 1,4-dioxane (équation a).⁷⁶ Le même métal est par Hierso sous forme AllylPdCl₂ pour l'éthérification de chlorohétéroarènes dans le toluène (équation b).⁷⁷ Cette réaction utilise le ligand L1 et permet d'accéder à une librairie de 26 composés avec des rendements très satisfaisants de 52 à 99 %. Cette méthode semble particulièrement efficace de par les très faibles quantités (0.2 à 0.5 mol%) de palladium nécessaires. Des conditions similaires avaient déjà été développées en 2006 par l'équipe de Buchwald pour l'éthérification de dérivés de chlorobenzène à l'aide de la phosphine L2 (équation c).⁷⁸

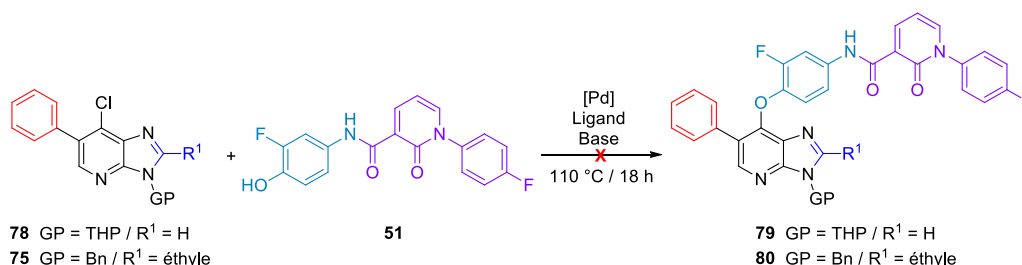
⁷⁶ R. Surasani, D. Kalita, A. V. Rao, K. B. Chandrasekhar, *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 2004-2018.

⁷⁷ M. Platon, L. Cui, S. Mom, P. Richard, M. Saeys, J.-C. Hierso, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 3403-3414.

⁷⁸ C. H. Burgos, T. E. Barder, X. Huang, S. L. Buchwald, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4321-4326.

Une partie de l'optimisation de ce couplage pallado-catalysé a été réalisée sur la molécule **78** protégée par un THP (Table **8**). En effet, cette molécule était utilisée en parallèle pour accéder aux composés cibles de type 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridine.

Table 8. Optimisation du couplage pallado-catalysé de la chaîne latérale **51**.

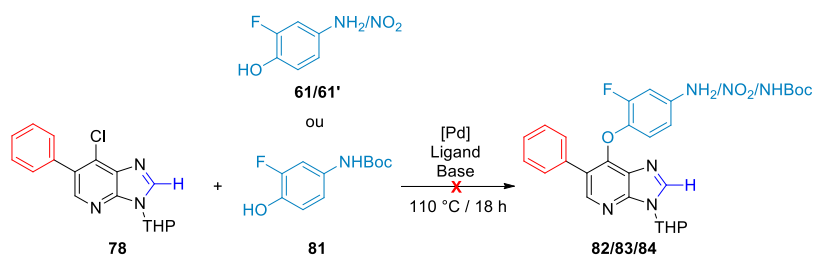


Entrée	Substrat	Eq. 51	[Pd] (mol%)	Ligand (mol%)	Base (éq.)	Solvant	Rdt (%)
1	78	1	Pd ₂ (dba) ₃ (2)	XantPhos (6)	Cs ₂ CO ₃ (1.4)	dioxane	-
2		1.1	AllylPd (0.2)	L1 (0.4)	K ₃ PO ₄ (2)	toluène	-
3	75	1.2	Pd ₂ (dba) ₃ (5)	Xphos (10)	K ₂ CO ₃ (2.2)	toluène	-
4		1.2	Pd(OAc) ₂ (4)	Xphos (8)	NaOtBu (4)	dioxane	-
5		1.5	Pd ₂ (dba) ₃ (50)	TrixiePhos (100)	Cs ₂ CO ₃ (2)	toluène	-
6		1.2	Pd(OAc) ₂ (10)	TrixiePhos (20)	K ₃ PO ₄ (1.5)	toluène	-
7		1.2	Pd(OAc) ₂ (2)	L2 (3)	K ₃ PO ₄ (2)	toluène	-

Les conditions décrites par l'équipe de Chandrasekhar n'ont pas permis de synthétiser le composé **79** attendu (Entrée 1), de même que les conditions de Hierso (Entrée 2). Nous avons ensuite tenté quelques variations autour des conditions initiales sur le composé **75**, sans succès (Entrées 3 à 6). Enfin, des conditions utilisant le ligand L2 décrites par Buchwald pour le couplage de phénols et d'halogénures d'aryles n'ont pas non plus abouti à la formation du produit désiré **80** (Entrée 7).

Une deuxième série d'expériences a alors été réalisée pour tenter de coupler l'intermédiaire **78** au 4-amino-2-fluorophénol **81** protégé (Table **9**). Ce dernier est en effet un précurseur dans la synthèse de la chaîne latérale à motif pyridone.

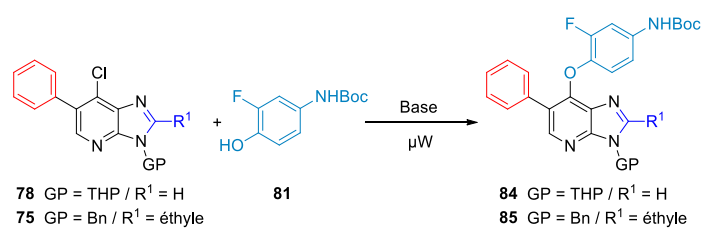
Table 9. Optimisation du couplage pallado-catalysé du phénol **81** sur le composé **78**.



Entrée	Eq. 81	[Pd] (mol%)	Ligand (mol%)	Base (éq.)	Solvant	Rdt (%)
1	1.2	Pd ₂ (dba) ₃ (5)	Xphos (10)	K ₂ CO ₃ (2.2)	toluène	-
2	1.2	Pd ₂ (dba) ₃ (20)	Xphos (40)	K ₂ CO ₃ (2.2)	toluène	-
3	1.2	Pd ₂ (dba) ₃ (20)	Xphos (40)	K ₂ CO ₃ (2.2)	dioxane	-
4	1.0	AllylPdCl ₂ (0.2)	L1 (0.4)	K ₃ PO ₄ (2)	toluène	-
5	1.0	AllylPdCl ₂ (5)	L1 (10)	K ₃ PO ₄ (2)	toluène	-
6	1.0	AllylPdCl ₂ (5)	L1 (10)	K ₃ PO ₄ (2)	dioxane	-

A nouveau, aucune variation autour des conditions de couplage de Chandrasekhar et Hierso n'a permis l'obtention du produit attendu **84**. L'utilisation du 4-amino-2-fluorophénol non protégé **61** et du 2-fluoro-4-nitrophénol **61'** comme partenaires de couplage n'a pas permis d'améliorer ces résultats. Il a donc finalement été décidé de retourner à une substitution nucléophile aromatique classique. A nouveau, un travail conséquent a été consacré à l'optimisation de cette étape.

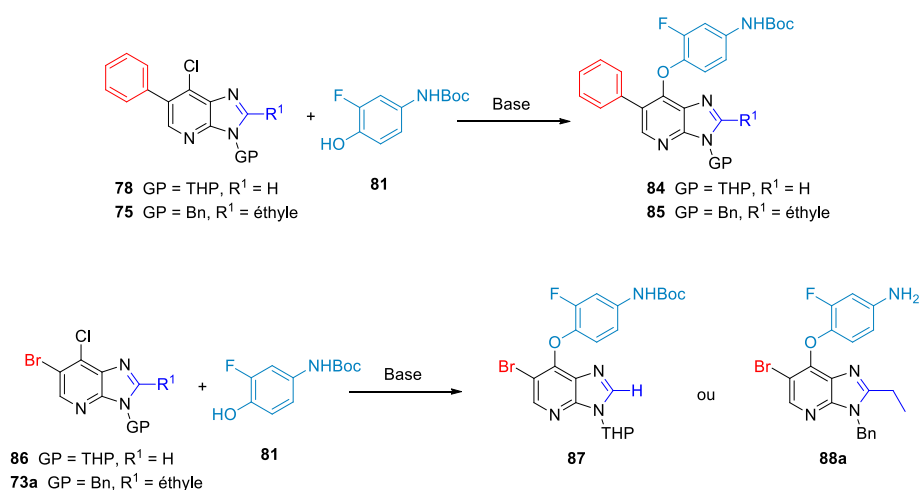
Une première étude a été réalisée sous-irradiations micro-ondes (Table **10**). L'utilisation de NaH dans le DMF a permis d'obtenir des traces de produit attendu observées par LCMS mais la réaction n'a plus évolué après 15 min (Entrées 1 et 2). De plus, un produit secondaire de substitution du chlore par la diméthylamine a été observé par LCMS, dû à la dégradation du DMF dans ces conditions. Pour cette raison, l'acétonitrile a été utilisé mais n'a pas permis d'observer la formation du produit attendu (Entrée 3). De même, les conditions décrites par Shen dans la NMP n'ont pas été efficaces (Entrée 4).¹⁷

Table 10. Optimisation de la substitution nucléophile aromatique du phénol **81** assistée par micro-ondes.

Entrée	Substrat	Eq. 81	Base (éq.)	Solvant	Température (°C)	Durée (min)	Rendement (%)
1	78	3	NaH (3)	DMF	150	15	Traces
2		3	NaH (3)	DMF	150	30	Traces
3		3	NaH (3)	ACN	150	30	-
4	75	2.5	DIPEA (6)	NMP	200	120	-

L'utilisation des micro-ondes a donc finalement été abandonnée et de nouvelles réactions sous chauffage thermique ont été réalisées (Table 11).

Table 11. Optimisation de la substitution nucléophile aromatique en chauffage classique.



Entrée	Substrat	Eq. 81	Base (éq.)	Solvant	Température (°C)	Durée (h)	Rendement (%)
1	78	3	NaH (3)	DMF	120	16	-
2		3	NaH (3)	DMSO	200	16	-
3	75	1.4	KOtBu (1.5)	DMF	50 - 100	92	-
4	86	3	NaH (3)	DMF	150	16	22
5		1.5	K₂CO₃ (2)	DMSO	100	16	63
6	73a	1.4	KOtBu (1.5)	DMF	50 - 100	92	-
7		1.5	K₂CO₃ (2)	DMSO	100	16	55

Des conditions semblables à celles développées pour l'étude sous irradiation micro-ondes n'ont pas permis de fonctionnaliser les composés **78** et **75** (Entrées 1 à 3). Nous avons ensuite remarqué que dans des conditions exactement identiques, le précurseur 6-bromo **86** semblait plus réactif que le dérivé 6-phényle **78** (Entrée 4). Cela est probablement justifiable par le renforcement de l'électrophilie du carbone 7 par la présence de l'halogène sur le carbone voisin. L'utilisation de K₂CO₃ dans le DMSO a alors permis d'obtenir le produit attendu **87** avec un rendement de 63 % (Entrée 5). De nouvelles tentatives d'irradiation aux micro-ondes n'ont pas permis d'améliorer ce résultat. Dans le cas de la molécule **73a** protégée par un benzyle, le couplage en présence de KOtBu dans le DMF ne permet pas d'obtenir le produit attendu **88a** (Entrée 6). Cependant, les conditions optimales déterminées précédemment pour la molécule **86** (K₂CO₃ dans le DMSO) permettent d'obtenir le composé **88a** avec un rendement de 55 % (Entrée 7). Il est intéressant de noter que le Boc est alors éliminé au cours de la réaction et n'entraîne donc pas d'étape supplémentaire de déprotection. Il est en revanche conservé dans le cas de la molécule **87** protégée par un THP. Il paraît toutefois surprenant que le groupement protecteur de l'azote N3 soit responsable d'une telle

différence de stabilité du groupement Boc. A l'issue de cette étape d'optimisation, il apparaît donc que la présence de l'atome de brome en position 6 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine soit primordiale pour que la substitution nucléophile aromatique ait lieu.

f) Introduction du groupement R² en position 6

La présence du brome en position 6 étant nécessaire à la substitution nucléophile aromatique, nous avons réalisé le couplage de Suzuki en aval de cette réaction (Schéma 18).

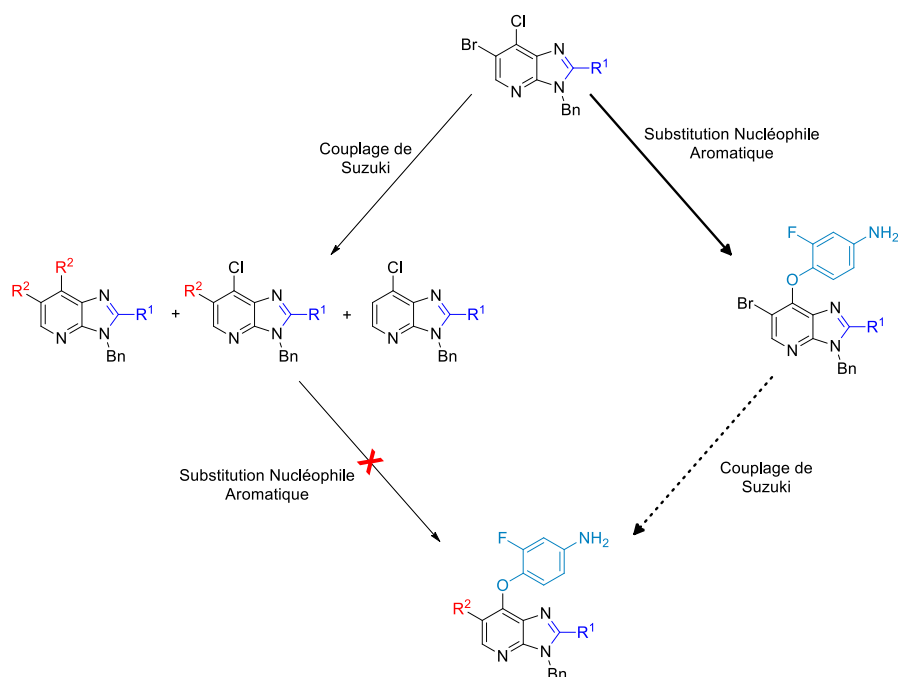


Schéma 18. Fonctionnalisation des positions 6 et 7 par SNAr puis couplage de Suzuki.

Ce changement de schéma synthétique a eu pour avantage d'éliminer les problèmes de chimiosélectivité entre Br et Cl rencontrés précédemment dans la réaction de Suzuki. Trois acides boroniques ont ainsi pu être utilisés pour introduire de la diversité sur la position 6 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine. Grâce à l'utilisation de 5 % molaires de PdCl₂(dppf) à 100 °C dans le 1,4-dioxane, les composés **89a**, **90a** et **91a** ont été obtenus avec des rendements de 64 % à 72 % (Schéma 19). Dans le cas des dérivés 2-*isopropyle*, le composé **88b** est tout d'abord obtenu par substitution nucléophile aromatique avec un rendement de 55 % sensiblement égal à celui obtenu pour l'analogue 2-éthyle. Les molécules **89b** et **91b** sont ensuite obtenues avec des rendements de 80 % et 46 %, respectivement.

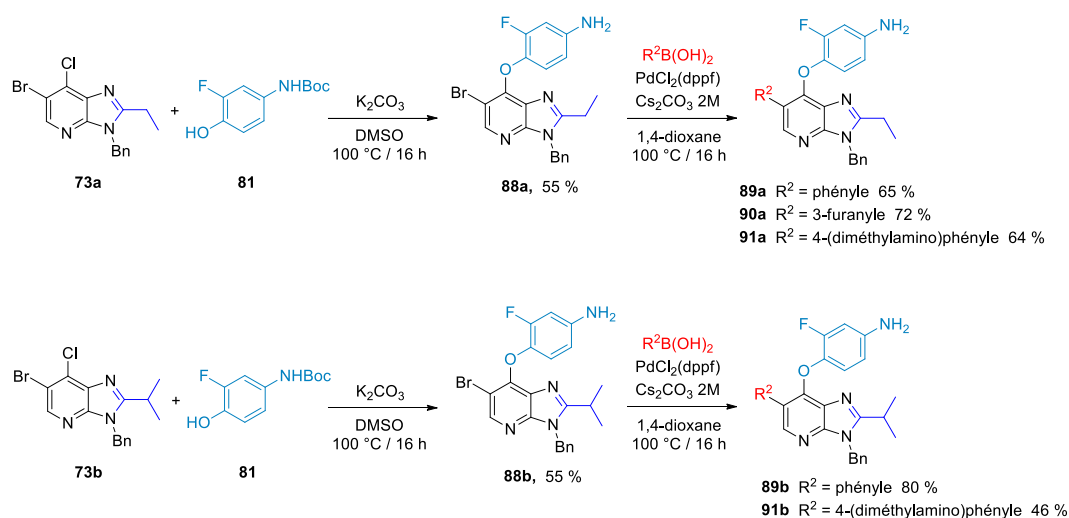


Schéma 19. Synthèse des composés 89, 90 et 91 à partir des dérivés 73.

Une fois les couplages de Suzuki réalisés, la fin de la synthèse a été complétée par condensation de la fonction acide carboxylique du composé **60** et de l'aniline libre des composés **89**, **90** et **91** dans les conditions décrites précédemment.⁶¹ Les molécules **92**, **93** et **94** sont alors obtenues avec des rendements satisfaisants de 46% à 82 % (Schéma 20). Nous pouvons toutefois remarquer que les rendements sont plus faibles pour les dérivés 2-*isopropyle*, en particulier pour la molécule **94b**.

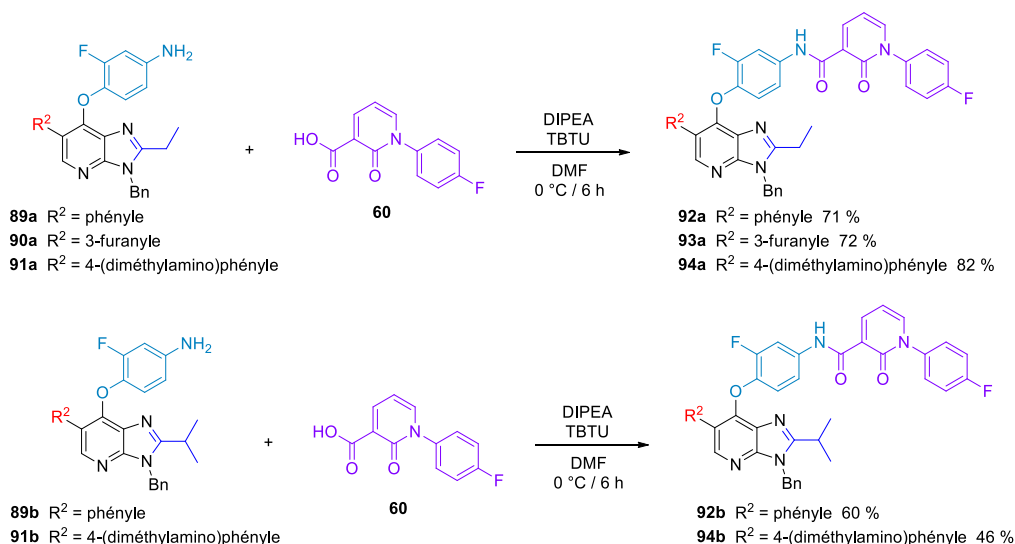


Schéma 20. Formation de la chaîne latérale par condensation de l'acide carboxylique 60 sur les dérivés 89, 90 et 91.

Il est important de mentionner que l'insertion du groupement 4-hydroxyphényl en position 6 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine a été réalisée selon un schéma synthétique alternatif. En effet, pour éviter tout problème de chimiosélectivité potentiel entre l'aniline et la fonction phénol présente sur l'acide boronique, la condensation de l'acide carboxylique **60** a été réalisée avant le couplage de

Suzuki (Schéma 21). De manière satisfaisante, le rendement global sur les deux étapes est de 55 % contre 44 % en moyenne pour les composés **92**, **93** et **94**.

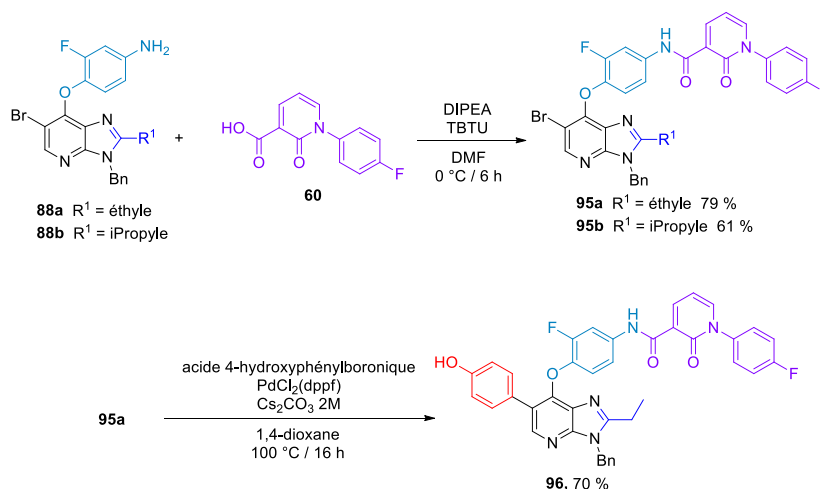


Schéma 21. Modification du schéma synthétique pour l'introduction du motif 4-hydroxyphényle en position 6.

La dernière étape de la synthèse des molécules cibles devait être la déprotection de l'azote $N3$. Pour cela, une hydrogénation en présence de palladium sur charbon a été envisagée. Malheureusement, celle-ci a posé de nombreux problèmes de reproductibilité et seuls trois produits sur sept ont pu être déprotégés (Schéma 22). Les produits **97** et **38** sont ainsi obtenus avec des rendements satisfaisants malgré une mauvaise solubilité en solvants organiques. Comme anticipé, la réduction de la liaison C – Br a été observée simultanément à la déprotection du composé **95b**, conduisant ainsi à la molécule **98** substituée uniquement sur les positions 2 et 7 avec un rendement de 48 %.

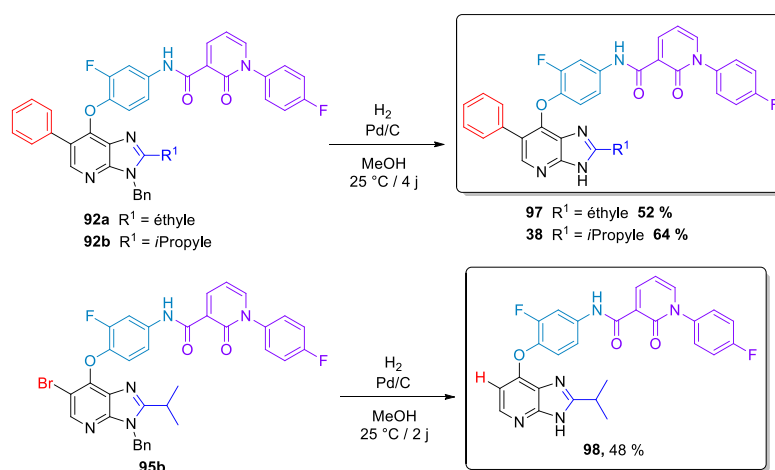


Schéma 22. Déprotection de l'azote $N3$ par hydrogénolyse en présence de palladium sur charbon.

Le passage en milieu acide (acide acétique ou TFA) ou le changement du solvant (AcOEt au lieu de méthanol) n'ont pas amélioré l'issue de cette réaction, le substrat ayant été récupéré intact dans tous les cas. Plusieurs lots commerciaux de palladium ont alors été utilisés, mais aucun n'a permis d'observer le produit de déprotection attendu. De plus, certains lots ont conduit à la réduction du motif pyridone de la chaîne latérale, mise en évidence par LCMS et RMN ^1H des bruts réactionnels (Figure 41). Une réduction non désirée d'un motif pyridone par hydrogénation en présence de palladium sur charbon avait déjà été observée par l'équipe de Zheng en 2012.⁷⁹

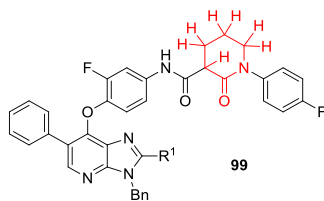


Figure 41. Produit secondaire issu de la réduction du motif pyridone.

Il a donc fallu reprendre le schéma réactionnel en utilisant un autre groupement protecteur. Le *para*-méthoxybenzyle (PMB) a été privilégié car introduit dans les mêmes conditions que le benzyle et il avait déjà été utilisé sur le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine par l'équipe de Mercier, où il avait pu être déprotégeable en conditions acides (H_2SO_4 et TFA).⁸⁰ Ce choix s'est avéré favorable car les rendements de chaque étape ont été très proches de ceux obtenus pour le benzyle (Schéma 23). Le groupement Boc de l'aniline **81** est toujours éliminé au cours de la substitution nucléophile puis les couplages de Suzuki donnent des rendements satisfaisants de 65 à 84 %. En particulier, de nouveaux groupements 3- et 4-pyridyle ont pu être introduits grâce à une catalyse par $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ en présence de 3 équivalents de K_2CO_3 dans un mélange 1,4-dioxane/ H_2O 4/1. Grâce aux conditions acides décrites par Mercier, la dernière étape de déprotection a pu être réalisée sur les 10 dérivés synthétisés. Il faut toutefois noter que les composés cibles les plus polaires **111**, **38** et **114** ont été obtenus avec des rendements faibles en raison de problèmes de purification par chromatographie, probablement en raison de leur faible solubilité.

⁷⁹ M. Ghizzoni, J. Wu, T. Gao, H. J. Haisma, F. J. Dekker, Y. George Zheng, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *47*, 337-344.

⁸⁰ B. Kenda, Y. Quesnel, A. Ates, P. Michel, L. Turet, J. Mercier, **2006**, WO2006/128693.

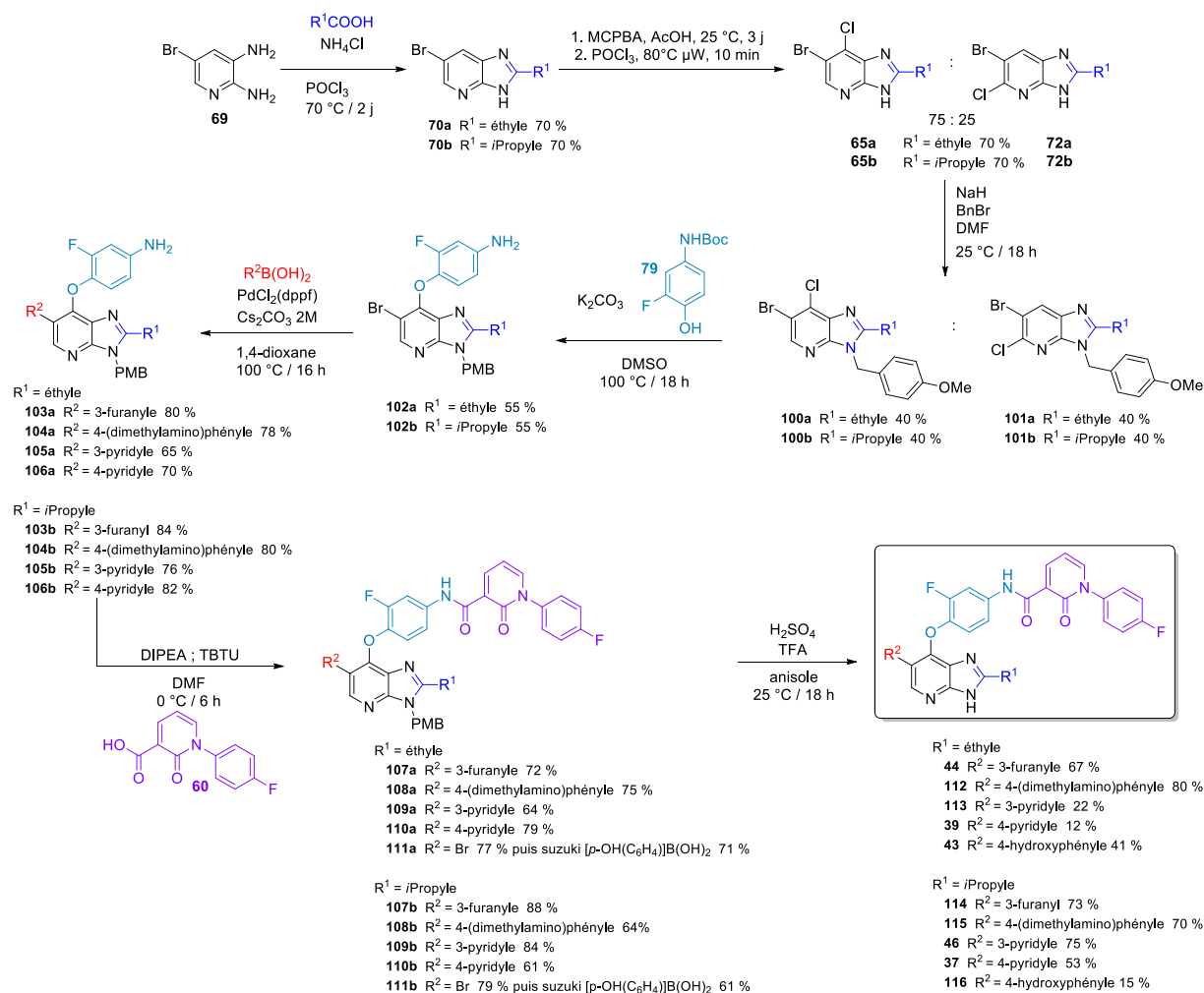


Schéma 23. Schéma synthétique final pour l'accès aux 2-alkylimidazo[4,5-b]pyridines.

Après une longue optimisation de chaque étape du schéma synthétique, treize analogues de 2-alkylimidazo[4,5-b]pyridine d'intérêt biologique ont finalement pu être synthétisés, avec des rendements satisfaisants (Figure 42).

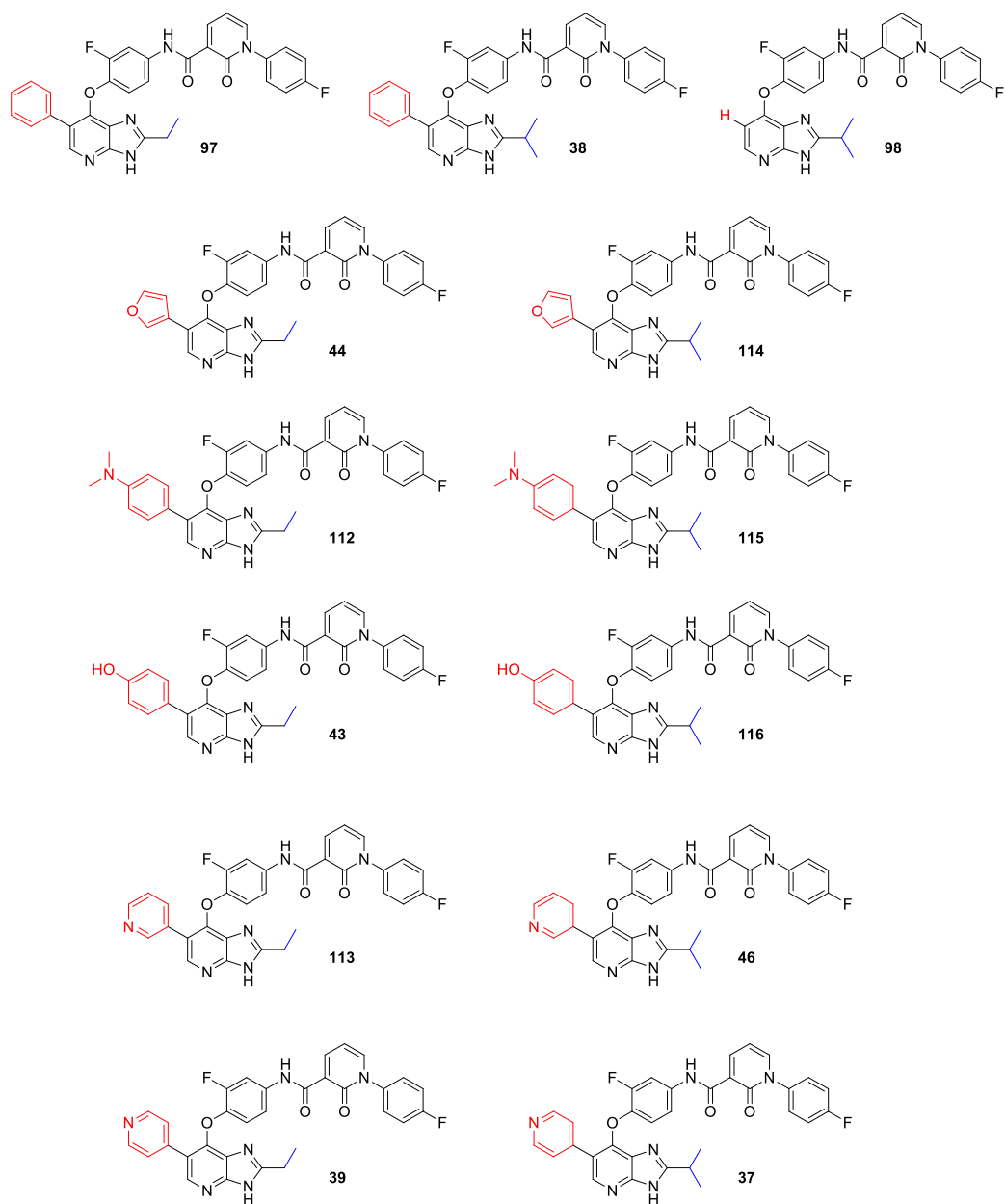


Figure 42. Les treize molécules d'intérêt du type 2-alkylimidazo[4,5-b]pyridine.

II. Synthèse des 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridines

Pour la synthèse des 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridine **117**, trois voies d'accès ont été envisagées (Schéma **24**). La première consiste à introduire la triple liaison par condensation entre la 2,3-diamino-5-bromo-4-chloropyridine **50** et un aldéhyde ou acide carboxylique. La deuxième méthode est la fonctionnalisation directe de la 6-bromo-7-chloroimidazo[4,5-*b*]pyridine **118**, par exemple à l'aide d'un dérivé alcyne bromé ou cuivré. Enfin, il est possible d'insérer la triple liaison par un couplage croisé métallo-catalysé de type Sonogashira. Cependant, cette stratégie nécessite la préfonctionnalisation de la position 2 par un halogène (composé **119**). L'optimisation de la synthèse de ces composés a été réalisée par le Dr. Valentina Abet.

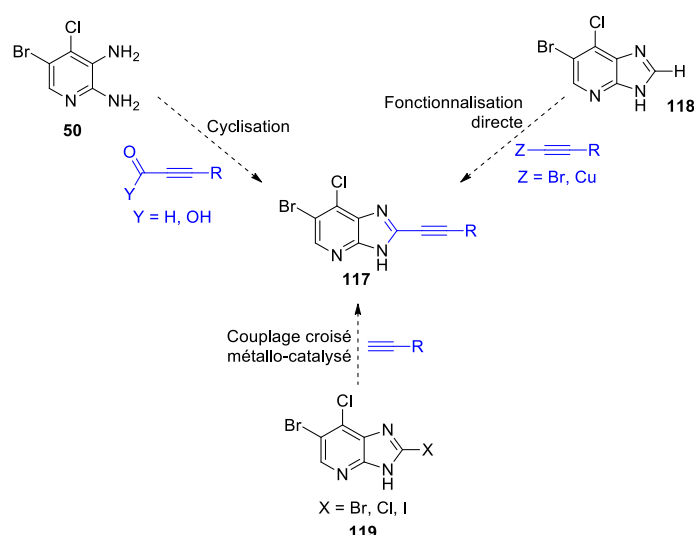


Schéma 24. Trois voies d'accès aux 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridine.

A ce jour, la seule voie d'accès aux 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridines décrite dans la littérature est un couplage de Sonogashira sans cuivre entre une 2-halogénoimidazo[4,5-*b*]pyridine et un alcyne vrai (Schéma **25**).¹¹ Cependant, cette méthode est limitée à des substrats protégés par un groupement cyclopentyl, rendant la déprotection de l'azote *N3* difficile.

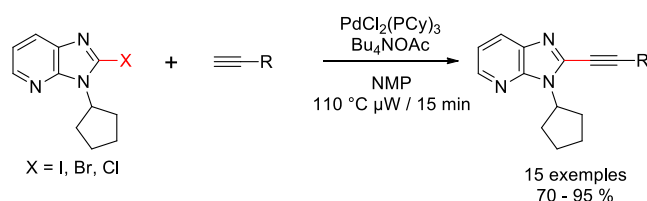


Schéma 25. Couplage de type Sonogashira pour l'introduction du motif éthyne sur l'imidazo[4,5-*b*]pyridine.

1) Insertion de la triple liaison par cyclisation de la pyridine 50

L'introduction de la triple liaison a d'abord été tentée par condensation entre la 2,3-diaminopyridine **50** avec l'acide propiolique **120** selon la méthode utilisée pour la synthèse des 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridines (Schéma **26** : équation **a**).⁷³ Cependant, le produit attendu n'a pas pu être isolé et une RMN du brut réactionnel a montré la présence du composé **122** issu de l'addition de HCl sur la triple liaison. Afin de contourner ce problème, d'autres cyclisations en milieu non nucléophile ont alors été testées. Le chauffage des deux partenaires en présence d'acide polyphosphorique, utilisé par Wibberley et Kilpatrick pour la synthèse de 2-arylimidazo[4,5-*b*]pyridines, n'a pas non plus permis d'obtenir le produit de cyclisation attendu (équation **b**).⁸¹ En 2001, l'équipe de Kumar est parvenu à synthétiser un 2-éthynylbenzimidazole par chauffage de 1,2-diaminobenzène et de l'aldéhyde correspondant.⁸² Le rendement de cette réaction est cependant très faible (10 %) ; dans notre cas, même en utilisant le composé **123** dont l'alcyne est protégé par un TMS, le produit de cyclisation **124** n'a même pas été détecté par LCMS (équation **c**). Le même résultat a enfin été observé avec l'utilisation d'oxone dans le DMF (**d**).⁸³

⁸¹ (a) R. W. Middleton, D. G. Wibberley, *J. Heterocyclic Chem.* **1980**, *17*, 1757-1760; (b) B. E. Tomczuk, C. R. Taylor, L. M. Moses, D. B. Sutherland, Y. S. Lo, D. N. Johnson, W. B. Kinnier, B. F. Kilpatrick, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2993-3006.

⁸² S. M. Kerwin, W. David, D. Kumar, **2001**, R. D. Foundation, WO2001/070217.

⁸³ J. Ishikawa, K. Saito, N. Ohe, K. Kobayashi, **2010**, S. C. Company, WO2010/JP3622.

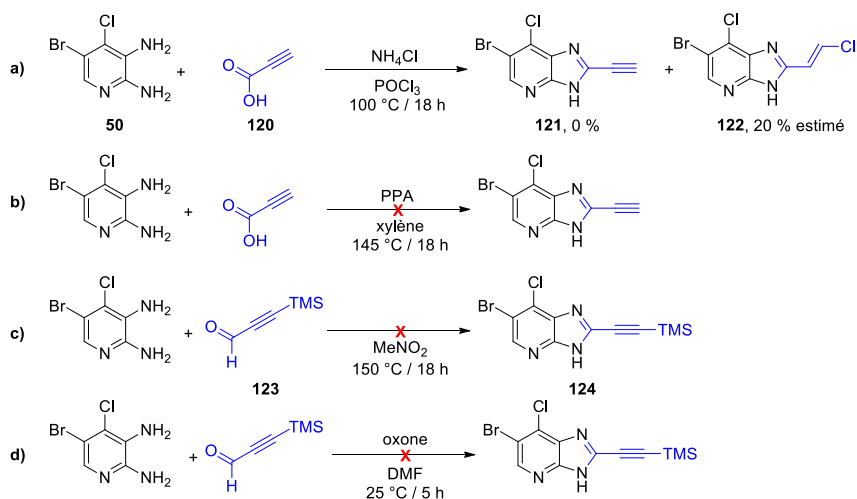


Schéma 26. Tentatives de synthèse du motif 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridine par cyclisation de la pyridine 50.

2) Insertion de la triple liaison par fonctionnalisation directe

Face à ces difficultés et afin de valoriser les méthodologies mises au point pour les composés du type 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridine, nous avons préféré former d'abord le motif imidazo[4,5-*b*]pyridine par cyclisation de la 2,3-diamino-5-bromopyridine **69** commerciale avec l'orthoformiate d'éthyle (Schéma 27). Cette réaction, initialement décrite par Herdewijn pour la synthèse de la 7-nitroimidazo[4,5-*b*]pyridine, donne le produit **125** avec un rendement quantitatif et sans purification nécessaire.⁸⁴ La position 7 est ensuite chlorée par la même méthode que sur la série 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridine. A nouveau, un mélange de régioisomères **118** et **126** est obtenu, en proportions 75:25. Ces deux composés n'étant pas séparables par chromatographie, la protection de l'azote *N3* a donc été réalisée sur le mélange de régioisomères. Pour la suite de cette synthèse, le groupement protecteur THP a été retenu car il présente l'avantage d'être déprotégeable en milieu acide, dans des conditions orthogonales à la réduction de la fonction alcyne.

⁸⁴ M. Maiti, S. Michielsens, N. Dyubankova, M. Maiti, E. Lesclinier, A. Ceulemans, P. Herdewijn, *Chemistry* **2012**, *18*, 857-868.

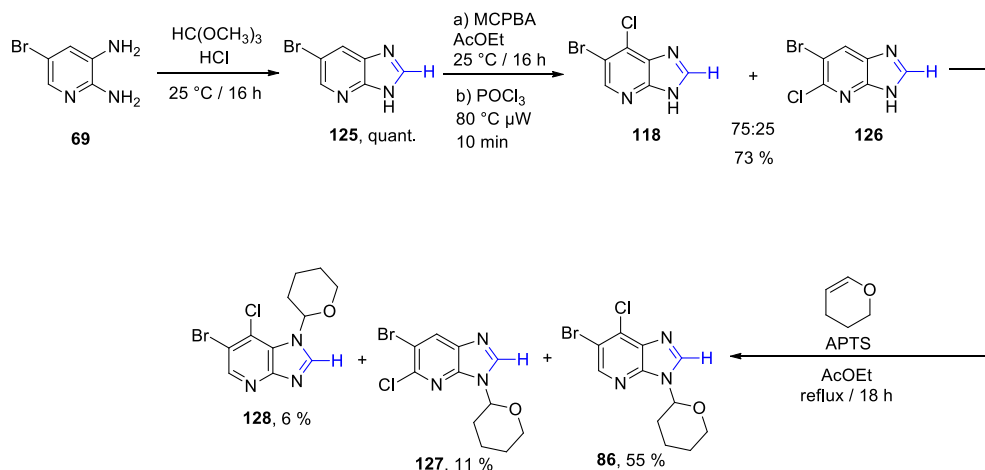


Schéma 27. Synthèse de la molécule 86 par cyclisation de la pyridine 69 et protection du N3 par un THP.

Cependant, au cours de la réaction, le groupement THP est introduit sur les azotes N1 et N3 du noyau hétérocyclique et un mélange des composés **86**, **127** et **128** est obtenu, en proportions 7:2:1. Comme dans le cas du benzyle, les régioisomères de chloration **86** et **127** sont séparables facilement par chromatographie. Le composé **128** possède quant à lui une polarité très similaire à celle du composé **86**, entraînant une purification fastidieuse de ce dernier.

Plusieurs exemples de manque de régiosélectivité lors de réactions de N-alkylation sont décrits dans la littérature et semblent dus à la présence potentielle de trois tautomères du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine en solution (Schéma 28).^{81b, 85} L'équipe de Dobrowolski a réalisé en 2011 une étude computationnelle sur l'équilibre entre ces trois tautomères.⁸⁶ Il ressort de cette étude qu'en dehors de cas spécifiques où une liaison hydrogène intramoléculaire est possible avec un substituant en position 7, le tautomère N3 – H **5** est toujours le plus stable. En phase aqueuse, le gap énergétique entre les tautomères N3 – H **5** et N1 – H **5'** est toutefois faible et les deux formes doivent donc être présentes en solution. Dans tous les cas, le tautomère N4 – H **5''** est énergétiquement défavorable.

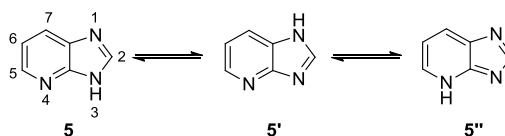


Schéma 28. Les trois tautomères du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

⁸⁵ (a) I. K. Khanna, R. M. Weier, K. T. Lentz, L. Swenton, D. C. Lankin, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 960-965; (b) Y. Mizuno, M. Ikehara, T. Itoh, K. Saito, *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 1837-1841; (c) J. Macdonald, V. Oldfield, V. Bavetsias, J. Blagg, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 2335-2347.

⁸⁶ M. Jarończyk, J. C. Dobrowolski, *Comput. Theor. Chem.* **2011**, *974*, 9-15.

Une fois le composé **86** synthétisé et isolé, nous avons d'abord tenté d'introduire la triple liaison sur le noyau hétéroaromatique par fonctionnalisation directe, selon deux méthodes décrites dans la littérature (Schéma 29). L'équipe d'Evano a établi une méthode d'alcynylation directe de benzoxazoles et benzothiazoles par des acétylénures de cuivre à température ambiante et sous atmosphère d'oxygène (équation a).⁸⁷ Cette réaction n'utilise pas de catalyseur métallique supplémentaire mais nécessite un large excès de substrat et de ligand et une quantité stœchiométrique de partenaire de couplage cuivré. Au laboratoire, l'alcynylation directe de ces substrats a aussi été décrite en utilisant les bromures de phénylacétylène comme partenaires de couplages (équation b).⁸⁸ Le cuivre est alors introduit uniquement en quantité catalytique mais l'usage d'une base forte est nécessaire. Pour les deux méthodes, des rendements satisfaisants sont observés.

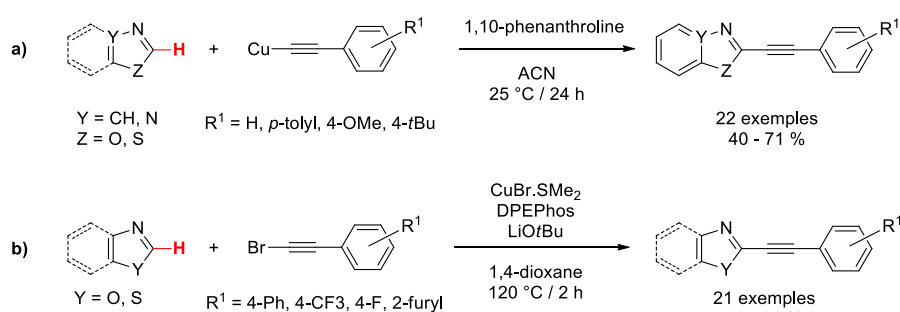


Schéma 29. Alcynylation directe d'azoles.

Bien que le rendement obtenu par l'équipe d'Evano sur le benzoxazole ait pu être reproduit, le couplage n'a pas été possible sur le *N*-méthylbenzimidazole **129** commercial, malgré plusieurs tentatives d'optimisation (Schéma 30 : équation a). De la même façon, le couplage s'est révélé inefficace sur le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine **86** (équation b) et cette méthode a donc finalement été abandonnée. Ces résultats mettent en évidence l'influence de la nature de l'hétéroatome en *alpha* de la liaison C – H à fonctionnaliser. En effet, de sa nature dépend le pKa de cette liaison (benzoxazole : 24.4 ; benzothiazole : 27.3 ; *N*-méthylbenzimidazole : 32.5).⁸⁹

⁸⁷ (a) C. Theunissen, G. Evano, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 4488-4491; (b) K. Jouvin, J. Heimbürger, G. Evano, *Chemical Science* **2012**, *3*, 756-760.

⁸⁸ F. Besselièvre, S. Piguel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9553-9556.

⁸⁹ K. Shen, Y. Fu, J.-N. Li, L. Liu, Q.-X. Guo, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1568-1576.

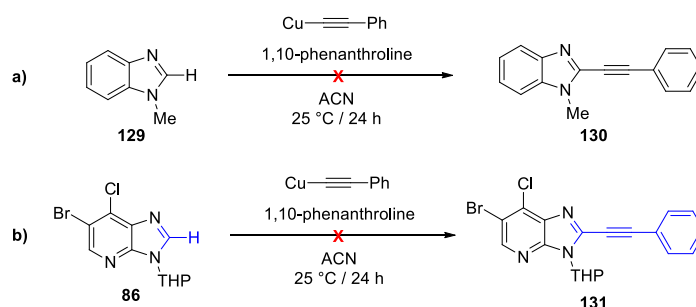
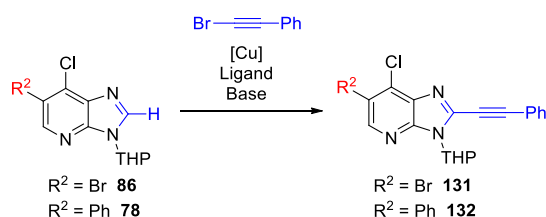


Schéma 30. Tentatives d'alcynylation directe par le phénylacétylène de cuivre.

En parallèle, nous nous sommes intéressés à des conditions d'alcynylation directe d'oxazoles par des bromures d'acétylène mises au point au laboratoire.⁸⁸ En appliquant directement les conditions de catalyse par $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ au composé **86**, le produit attendu n'a pas été observé par LCMS (Table 12 : Entrée 1). Ayant remarqué que le sous-produit majoritaire de la réaction était issu de la dimérisation du bromure de phénylacétylène, nous avons essayé de ralentir sa formation en diminuant la concentration de ce dernier, sans succès (Entrée 2). Des conditions de chauffage plus douces ne permettent pas d'améliorer ce résultat (Entrée 3). Finalement, en appliquant les conditions initiales au composé **78**, le produit attendu a été observé en proportion 50/50 avec le produit de départ (Entrée 4). Nous pouvons ainsi supposer que le cycle catalytique de la réaction était précédemment perturbé à cause de l'insertion du cuivre dans la liaison C6 – Br. Un ratio similaire a été observé en utilisant la triphénylphosphine comme ligand (Entrée 5). Une tentative de catalyse par le palladium n'ayant pas donné de résultat (Entrée 6), nous avons tenté de faire varier la source de cuivre. Finalement, l'utilisation de 5 % molaires de CuI et de 1,10-phénanthroline a permis d'obtenir un ratio LCMS satisfaisant de 30/70 entre produit de départ et produit attendu (Entrée 7). Utilisé en quantités stoechiométriques, ce couple catalyseur-ligand permet de déplacer encore la réaction vers la droite (Entrée 8). Cependant, malgré les résultats LCMS satisfaisant, le produit n'a pu être isolé qu'avec un rendement inférieur à 20 % à l'issue de cette réaction. Cette stratégie a donc été abandonnée.

Table 12. Optimisation de l'alcynylation par le bromure de phénylacétylène.



Entrée	Sub.	Eq. alcyne	Catal. (mol%)	Ligand (mol%)	Eq. LiOtBu	Solvant	Température	Ratio substrat/attendu LCMS
1	86	2.5	CuBr.SMe ₂ (15)	DPEPhos (15)	2	Dioxane	120 °C	100/0
2		0.25	CuBr.SMe ₂ (15)	DPEPhos (15)	2	Dioxane	120 °C	100/0
3		2.5	CuBr.SMe ₂ (15)	DPEPhos (15)	2	Dioxane	80 °C	100/0
4	78	2	CuBr.SMe ₂ (15)	DPEPhos (15)	2	Dioxane	120 °C	50/50
5		2	CuBr.SMe ₂ (15)	PPh ₃ (15)	2	Dioxane	120 °C	40/60
6		1	Pd(OAc) ₂ (5)	XantPhos (5.5)	2	Dioxane	100 °C	100/0
7		1.2	CuI (5)	1,10-Phén. (5)	4	Toluène	120 °C	30/70
8		1.5	CuI (100)	1,10-Phén. (100)	4	Toluène	120 °C	15/85

3) Insertion de la triple liaison par couplage de Sonogashira

Nous nous sommes par la suite orientés vers des couplages métallo-catalysés de Sonogashira pour la fonctionnalisation de la position 2 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine. Il a donc été nécessaire d'introduire au préalable un atome d'iode sur cette position.

Afin d'éviter de potentiels problèmes de chimiosélectivité entre halogènes, nous avons décidé de réaliser le couplage de Suzuki et la substitution nucléophile aromatique en amont. Les conditions utilisées pour ces deux réactions sont celles identifiées précédemment pour la série 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridine (Schéma 31). Le composé **87** est ainsi obtenu avec un rendement de 63 %. Sur cette série de molécules protégées par un THP, le groupement protecteur Boc n'a jamais été éliminé lors de l'étape de substitution nucléophile. Deux acides boroniques ont ensuite été couplés au composé **87** par réaction de Suzuki catalysée au PdCl₂(dppf) pour donner les produits **84** et **133** avec des rendements de 74 % et 82 %, respectivement.

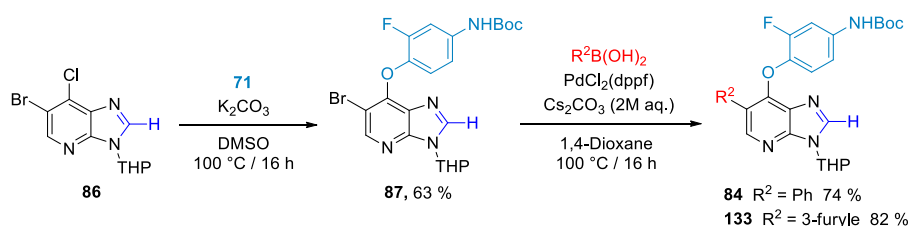


Schéma 31. Substitution nucléophile et couplages de Suzuki sur l'intermédiaire 86.

Afin de réaliser le couplage de Sonogashira, une fonctionnalisation de la position 2 avec un halogène a été nécessaire. Celle-ci a pu être réalisée en deux temps : déprotonation à l'aide de LDA puis attaque nucléophile sur l'iode moléculaire (Schéma 32). Le rendement a été de 78 % dans le cas du dérivé 6-phényle **84** mais seulement de 48 % pour le dérivé 6-furyle **133**.

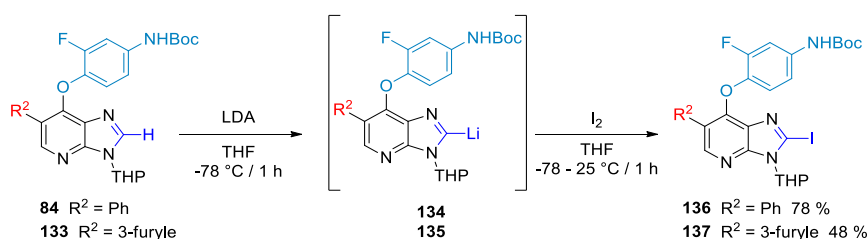


Schéma 32. Iodation des composés 84 et 133 pour le couplage de Sonogashira.

Des conditions de couplage de Sonogashira ont rapidement été établies pour accéder aux dérivés 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridines **138** et **139** (Schéma 33). Les rendements observés de 50 % et 40 % respectivement sont corrects, aucune optimisation n'ayant été réalisée par manque de temps.

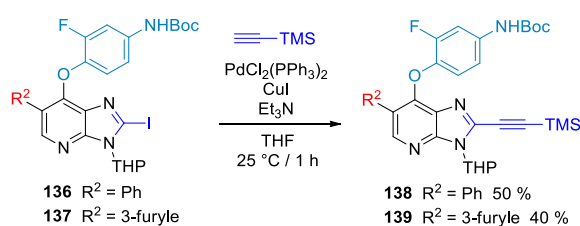


Schéma 33. Synthèse des molécules 138 et 139 par couplage de Sonogashira.

Après déprotection de la fonction aniline et de l'azote *N3* en milieu acide dans le DCM, la fonction acide carboxylique du composé **60** est condensée avec l'aniline dans les mêmes conditions que pour la série 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridine (Schéma 34). De manière satisfaisante, le groupement protecteur TMS peut être éliminé au cours de cette étape en laissant la réaction se réchauffer à température ambiante. Ainsi, la molécule cible **142** a été obtenue en une seule étape depuis le composé **140** avec un rendement de 63 %. Malheureusement, la synthèse n'a pas pu aboutir

concernant le dérivé 6-furyle **139** en raison de plusieurs problèmes de reproductibilité des réactions et de stabilité du composé.

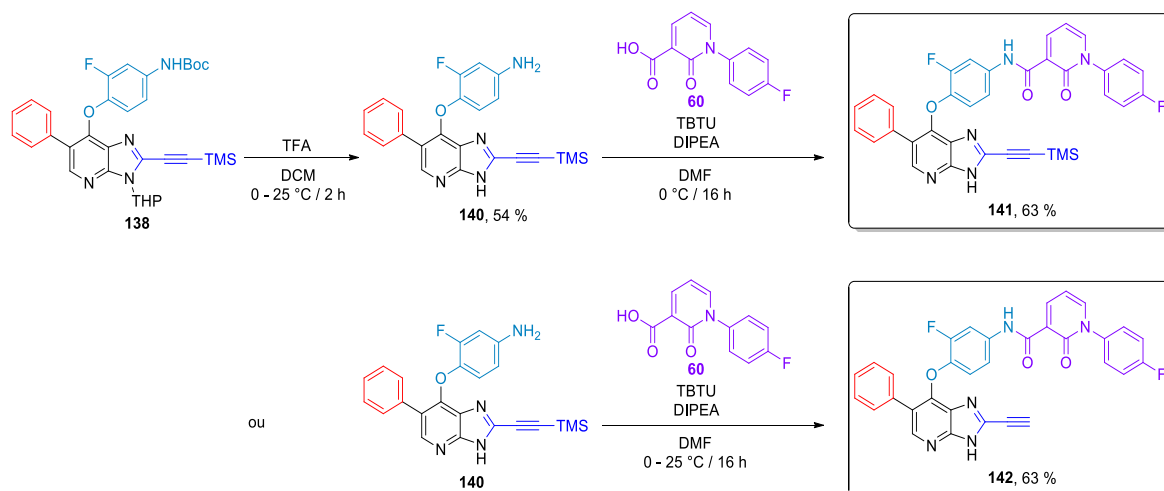


Schéma 34. Synthèse de la molécule cible **142**.

Sur les trois approches initialement envisagées, seuls des couplages croisés de type Sonogashira ont conduit à la synthèse des composés **141** et **142** appartenant à la série 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridine. Par manque de temps, aucune variation autour du groupement R² en position 6 n'a pu être réalisée.

III. Autres molécules synthétisées

Pour valider la compatibilité du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine avec la cible thérapeutique Tyro3 envisagée, la molécule **145** non substituée en positions 2 et 6 a aussi été synthétisée en 3 étapes à partir du composé **87** (Schéma 35). La première étape est la réduction de la liaison C – Br par l'hydrogène moléculaire en présence de palladium sur charbon. Il est intéressant de remarquer la différence de réactivité des groupements protecteurs Boc et THP au cours de cette étape. En effet, la formation *in situ* d'acide bromhydrique conduit à la déprotection de l'azote N3 mais le groupement Boc, moins labile, est conservé tout au long de la réaction. Le composé **143** est ainsi obtenu avec un rendement de 89 %. L'aniline est ensuite déprotégée par ajout de TFA dans le DCM à température ambiante, pour donner la molécule **144** avec un rendement de 97 %. Le composé **145** est alors obtenu par condensation de la fonction acide carboxylique de **60** avec l'aniline de **144**, avec un rendement de 31 %.

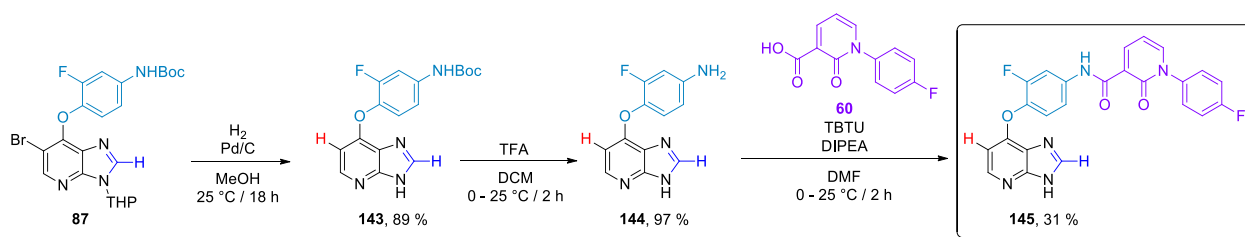


Schéma 35. Schéma alternatif pour la synthèse du composé 145.

Le composé **147** permettra quant à lui de comparer l'effet d'une substitution en position 6 par rapport à une substitution en position 2, comme c'est le cas pour la molécule **98** (Schéma 36). L'activité de ces deux molécules sera aussi à confronter à celle du composé **38** afin d'identifier si l'une des positions 2 ou 6 du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine est déterminante. Sa synthèse débute par la déprotection de l'aniline de la molécule **84** par le TFA, pour donner le composé **146** avec un rendement de 90 %. La fonction amide est ensuite formée dans les mêmes conditions que précédemment, donnant le produit **147** avec un rendement de 63 %.

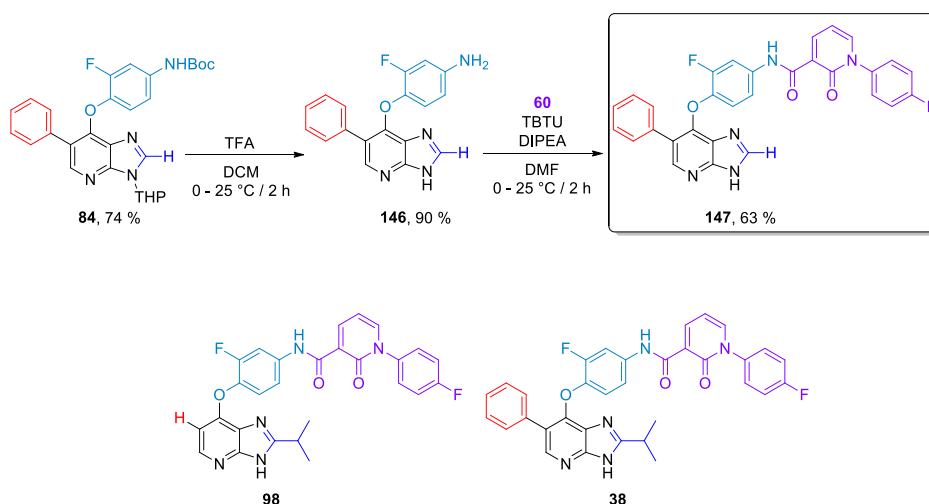


Schéma 36. Schéma alternatif pour la synthèse du composé 147.

Le composé **149** pourra apporter des informations entre activité biologique et volume du substituant en position 6, étant le plus petit groupement inséré sur cette position (Schéma 37). Il est synthétisé en deux étapes à partir du composé **87**, avec un rendement global de 45 %.

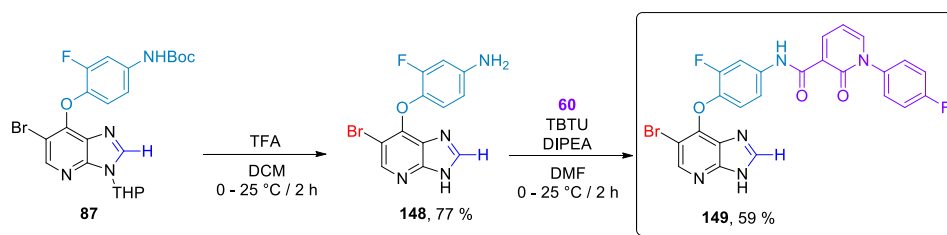


Schéma 37. Schéma alternatif pour la synthèse du composé 149.

Enfin, pour comparaison avec la molécule **149**, le dérivé **154** a été synthétisé (Schéma **38**). En effet, le brome et le méthyle ont des volumes similaires (rayons de Van der Waals de 195 et 200 pm respectivement) mais des propriétés électroniques très différentes. Il sera donc intéressant de comparer l'activité des deux composés sur la protéine kinase Tyro3. Le schéma réactionnel commence par la substitution nucléophile aromatique du phénol **81** sur l'imidazo[4,5-*b*]pyridine **148** protégée par un PMB. Après un couplage de Suzuki avec l'acide méthylboronique catalysé par PdCl₂(dppf), le composé **152** est obtenu avec un rendement de 88 %. L'aniline étant déprotégée au cours de la réaction, l'étape suivante est directement le couplage avec la fonction acide carboxylique du composé **60**, conduisant au produit **153** avec un rendement de 74 %. Enfin, l'azote N3 est déprotégé en milieu acide H₂SO₄/TFA avec un rendement de 36 % pour aboutir au composé **154**.

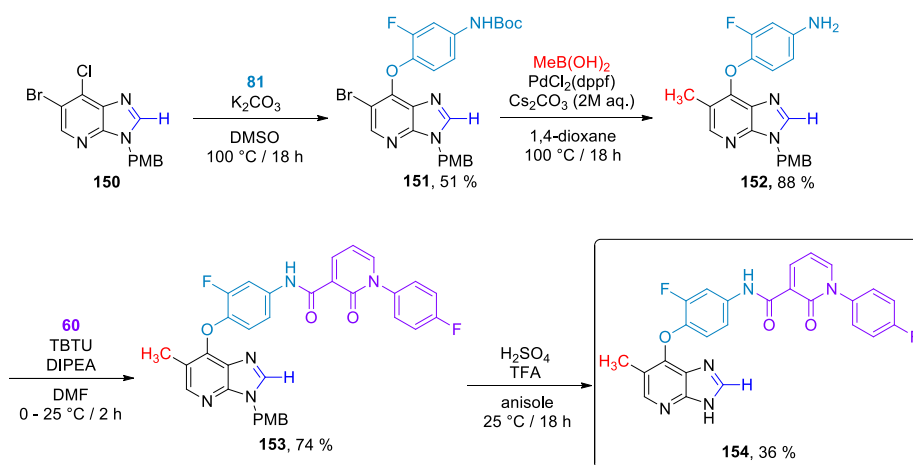


Schéma 38. Schéma alternatif pour la synthèse du composé 154.

III. Conclusions

Malgré les aléas de la synthèse et plusieurs retours en arrière nécessaires, les efforts fournis au cours de cette étude ont permis la synthèse de 19 molécules cibles en accord avec la modélisation moléculaire (Figure 43). Chacune d'entre elle a nécessité entre 7 et 10 étapes de synthèse, qui se traduisent par un rendement global maximal de 3 %. Dans la partie suivante, l'évaluation biologique de l'intégralité de ces composés et de plusieurs intermédiaires sera décrite.

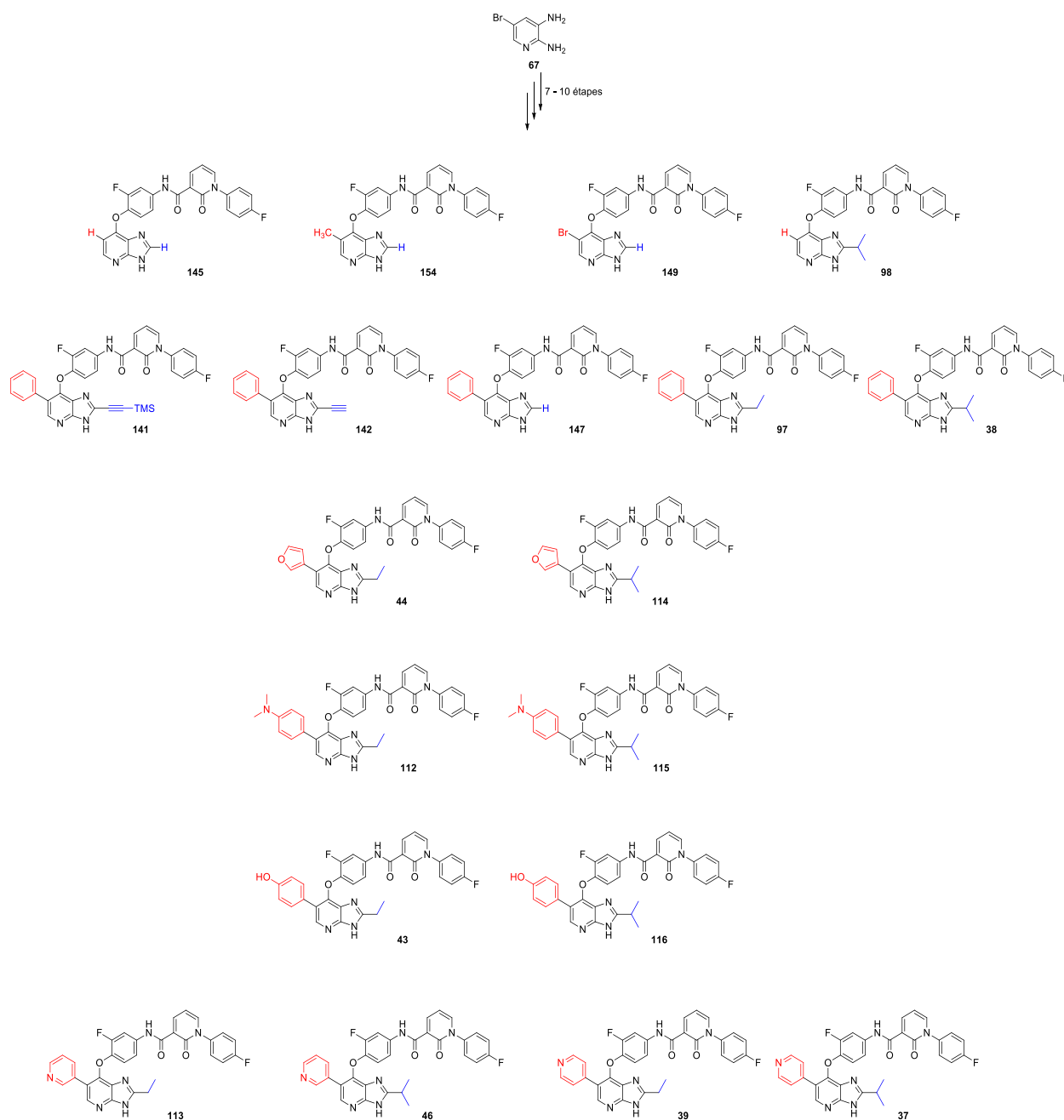


Figure 43. Molécules cibles synthétisées et évaluées par test ELISA.

Evaluation biologique

Une fois la synthèse des 19 molécules cibles achevée, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de leurs propriétés biologiques sur la famille TAM. A cette fin, un premier criblage a été réalisé en plaques 96 puits par test immuno-enzymatique ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) sur les trois protéines Tyro3, Axl et Mer.

I. Premier criblage par test ELISA⁹⁰

1) Principe du test

Lors de ce test, que j'ai pu réaliser moi-même, le composé étudié est mis en solution dans un puits au fond duquel un polypeptide Acide glutamique – Alanine – Tyrosine en proportions 6:3:1 a préalablement été adsorbé (Figure 44 : Etape I). La protéine et l'ATP sont ensuite ajoutés, puis la plaque est incubée à 37 °C (Etape II).

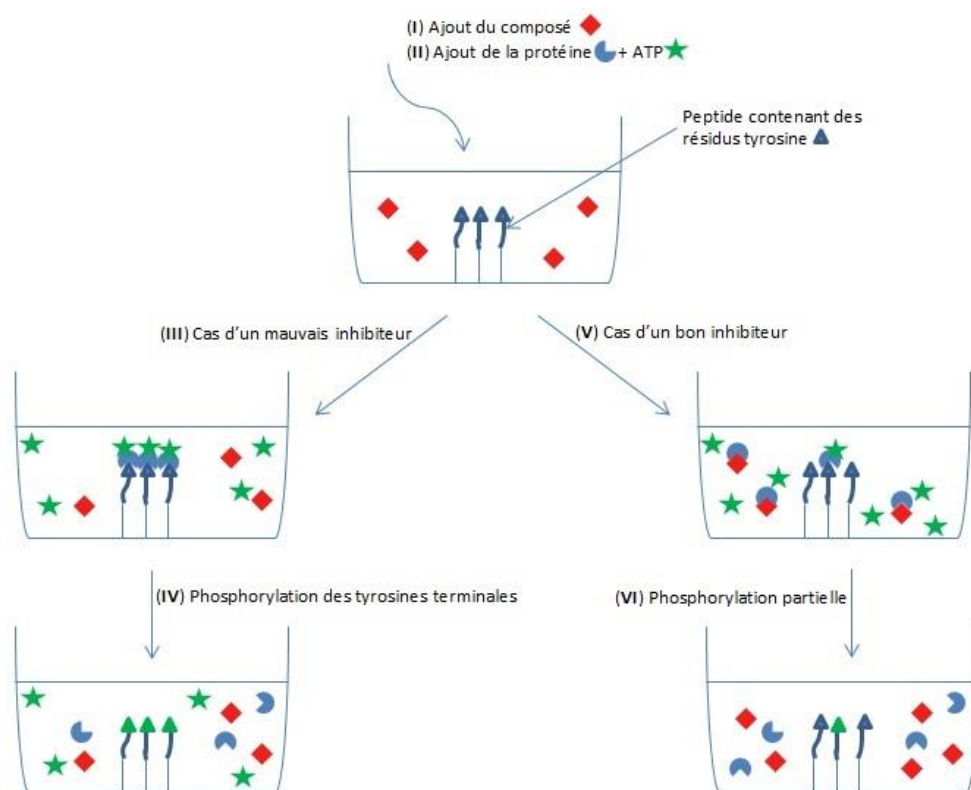


Figure 44. Principe du test ELISA (a).

⁹⁰ Le protocole détaillé est disponible dans la partie expérimentale.

Dans le cas d'un mauvais inhibiteur, le composé n'interfère pas dans le processus de phosphorylation des résidus tyrosine présents sur le peptide adsorbé. L'enzyme va donc se fixer au peptide ainsi qu'à une molécule d'ATP (Etape III). Le phosphate terminal de l'ATP va alors être transféré au résidu tyrosine du peptide adsorbé (Etape IV). Au contraire, si l'inhibiteur est assez efficace, il va se lier à l'enzyme et l'empêcher de catalyser la réaction de phosphorylation (Etape V puis VI).

Après un premier rinçage destiné à éliminer tous les composants en solution, un premier anticorps, spécifique des résidus tyrosines phosphorylés est ajouté (Figure 45 : Etape VII). Cet anticorps va ainsi se fixer uniquement sur les peptides ayant subi une phosphorylation. Un nouveau rinçage permet alors, de la même façon, de laver les anticorps non fixés aux tyrosines phosphorylées.

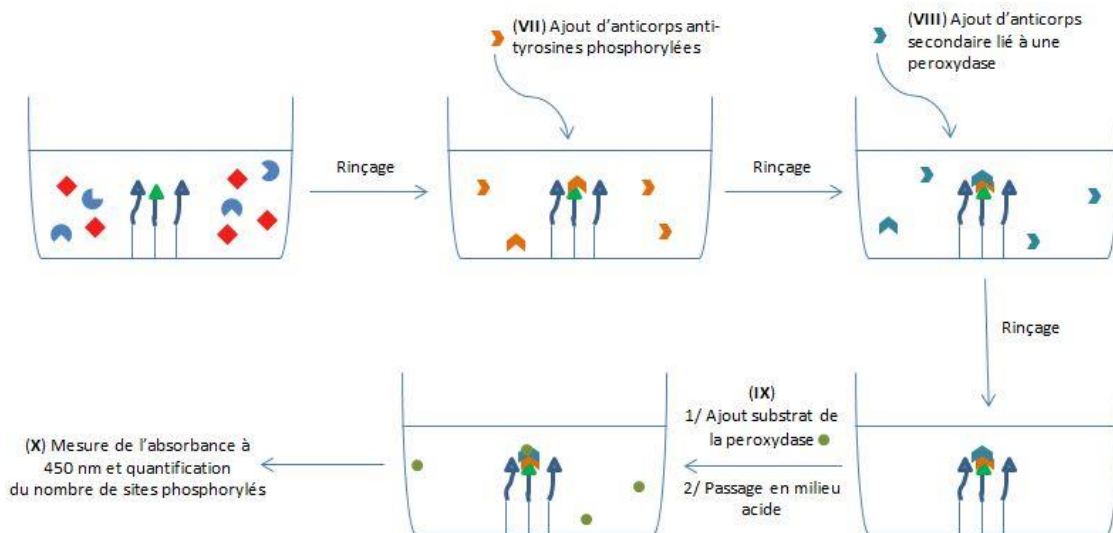


Figure 45. Schéma de principe du test ELISA (b).

Suivant le même protocole, un anticorps secondaire, reconnaissant spécifiquement l'anticorps primaire, est ajouté (Etape VIII). Il se fixe donc uniquement là où l'anticorps primaire est déjà présent. Après lavage des espèces encore en solution, la quantité d'anticorps secondaire présent dans le puits est donc directement proportionnelle à la quantité de peptide ayant été phosphorylé. Or cet anticorps est lié à une peroxydase, une enzyme capable de catalyser des réactions d'oxydation en présence de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Lors de l'ajout dans le puits de tétraméthylbenzidine (TMB) en solution dans H_2O_2 (Etape IX), une réaction d'oxydation va donc avoir lieu (Schéma 39).

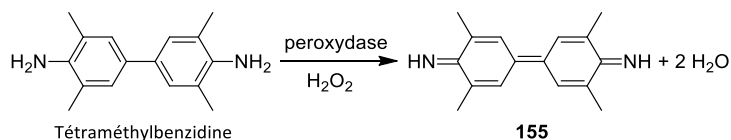


Schéma 39. Oxydation de la tétraméthylbenzidine en présence de peroxyde d'hydrogène.

La formation progressive du produit d'oxydation donne une couleur jaune d'intensité croissante à la solution. La réaction est arrêtée par ajout d'acide sulfurique 1 M et la solution vire au bleu. L'absorbance de la solution est ensuite mesurée à 450 nm et la comparaison à un puits témoin sans petite molécule à tester permet de quantifier la proportion d'enzyme ayant pu phosphoryler les peptides présents. Les tests ont été réalisés à une concentration finale en DMSO de 1 % et à des concentrations en composés de 0.63, 2.5 et 10 μM .

2) Résultats du criblage par test ELISA

Par souci de clarté, les résultats du criblage sont illustrés ici à l'aide de sept molécules représentatives décrites en Figure 46. Tous les résultats correspondent à des moyennes de mesures sur plaques en duplicats ou triplicats. Pour ce test, deux références ont été utilisées, le BMS-777607 et le Vandetanib (Figure 24 en page 40).

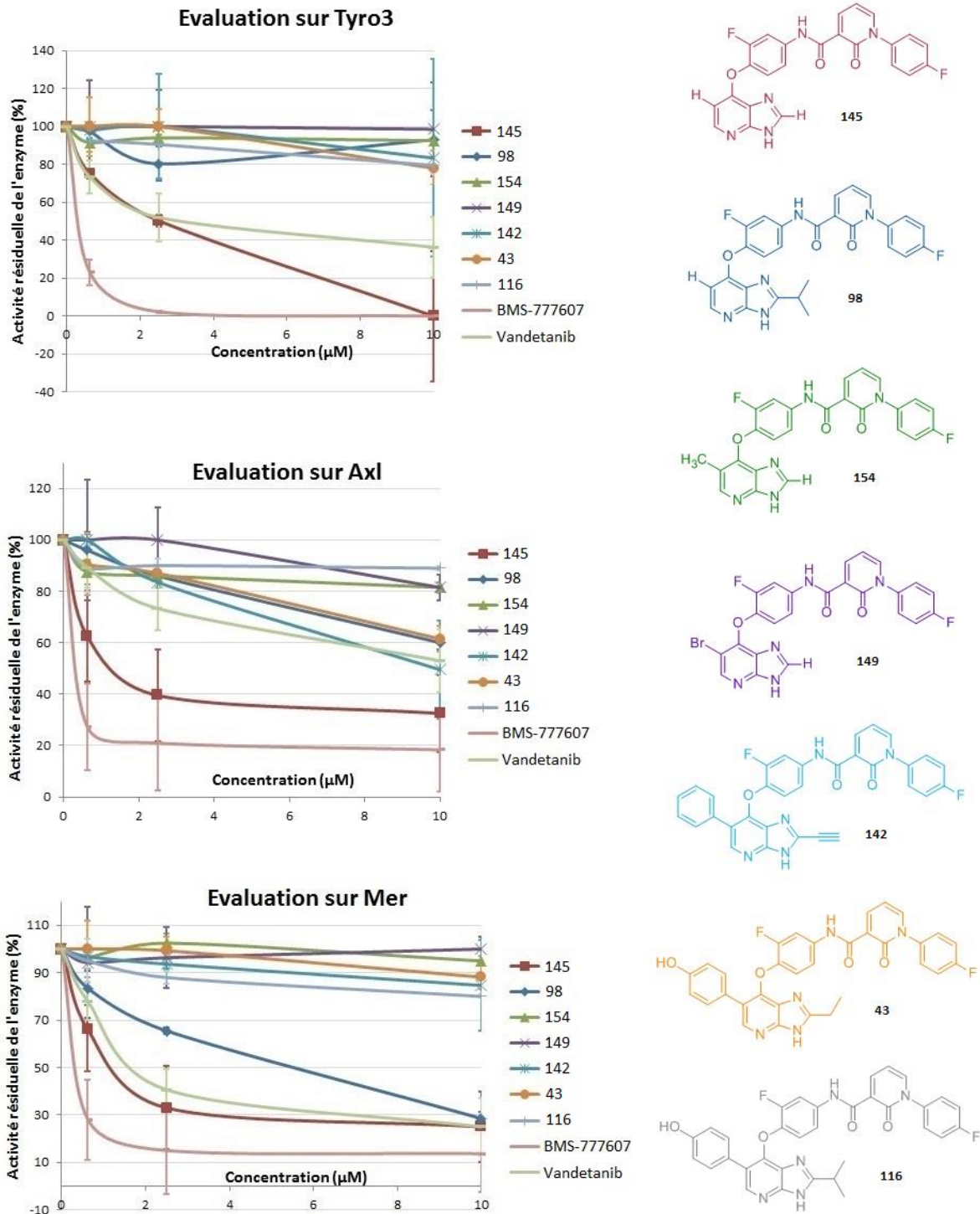


Figure 46. Résultats du criblage ELISA illustrés sur 7 molécules.

Tout d'abord, il apparaît que le BMS-777607 inhibe bien l'intégralité de la famille TAM, même à des concentrations inférieures à 1 µM. Le Vandetanib possède lui aussi une activité inhibitrice sur les trois kinases et en particulier sur la protéine Mer. Son effet est cependant moins marqué que pour le BMS-777607. Le composé **145** se dégage clairement sur l'ensemble de trois protéines TAM. D'après ce test, il donne même des résultats globalement meilleurs que le

Vandetanib utilisé comme référence. La molécule **98** semble être active sur la kinase Mer mais beaucoup moins sur Axl et Tyro3. Les molécules **154** et **149**, portant respectivement un méthyle et un brome en position 6, donnent des courbes d'allures très semblables et ne semblent posséder aucune activité sur la famille TAM.

Le composé **142** semble être actif sur la protéine Axl mais a donné des résultats très peu reproductibles, allant jusqu'à des écarts-types de 52 % à 10 μM . Ce manque de reproductibilité peut être attribué à la présence de l'alcyne terminal, susceptible de réagir avec l'un des composants du test ou simplement de se dégrader en solution. Comme illustré par les molécules **43** et **116**, aucun des composés cibles de type 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridine issus de la modélisation moléculaire ne possède d'activité intéressante sur la famille TAM à des concentrations inférieures à 10 μM . Les résultats n'ont pas pu être rationalisés en fonction de la présence des chaînes éthyle ou *isopropyle* en position 2. Ainsi, les molécules les plus actives sont finalement celles dont les structures sont les plus simples et l'introduction de substituants plus volumineux a finalement eu un effet négatif sur l'activité biologique des molécules. Enfin, le BMS-777607 reste le meilleur inhibiteur des trois protéines TAM, avec des résultats d'inhibition remarquables même au-dessous de 1 μM . Malgré les activités intéressantes notées pour les composés **145** et **98**, il apparaît qu'aucune molécule ne semble sélective de la protéine d'intérêt Tyro3 au sein de la famille TAM. Il est important de mentionner que plus de 30 intermédiaires de synthèse de type pyridine ou imidazo[4,5-*b*]pyridine ont été inclus dans ce criblage mais qu'aucun d'entre eux n'a donné d'activité sur la famille TAM.

Le principal inconvénient de cette méthode a été son manque de reproductibilité en fonction des lots d'anticorps utilisés, comme illustré par les barres d'erreur importantes sur les courbes de la Figure **46**. Afin de confirmer ces premiers résultats et de manière à obtenir des valeurs d' IC_{50} , un nouveau test enzymatique sans anticorps a donc été envisagé.

II. Détermination des IC_{50} sur la famille TAM : dosage de l'ADP⁹⁰

1) Principe du test

J'ai pu réaliser ce test grâce au kit *ADP Fluorimetric Assay* vendu par Abcam. Le principe décrit ici est général mais la composition précise du kit et la nature de l'enzyme présente ne sont pas connues. Comme pour le test ELISA, la concentration finale en DMSO est de 1 %.

Une protéine de la famille TAM est tout d'abord mise en solution dans le tampon du kit en plaques 96 puits avec le composé à tester à six concentrations différentes entre 0.1 nM et 100 μ M. Suivant l'affinité de la molécule pour la protéine, soit il n'y a pas d'interaction entre les deux (Figure 47 : Etape I), soit la molécule vient se fixer à la protéine (Etape II).

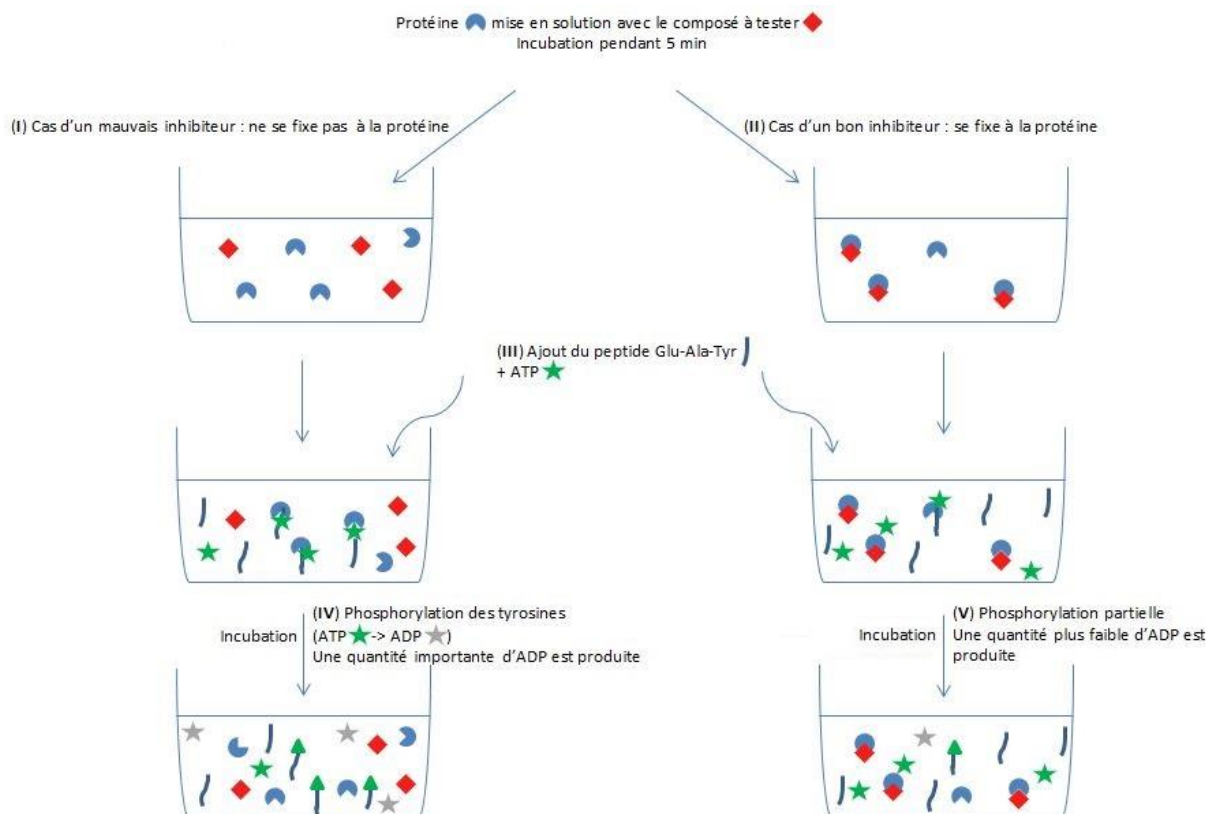


Figure 47. Principe du dosage de l'ADP par fluorimétrie (a).

Après ajout d'ATP et du même peptide que pour le test ELISA (Etape III), la phosphorylation du résidu tyrosine par la protéine TAM peut avoir lieu si l'enzyme est active (Etape IV). Au cours de ce processus, l'ATP est converti en ADP. En revanche, si l'inhibiteur s'est fixé à la protéine, la

phosphorylation n'a pas lieu et l'ATP n'est pas utilisé (Etape V). Le temps d'incubation en présence de l'ATP et du peptide varie de 5 à 10 min suivant le lot de protéine utilisé et doit toujours être déterminé au préalable. Il doit être assez court pour pouvoir supposer une relation linéaire entre la quantité d'ADP formée et la vitesse de la réaction de phosphorylation. En effet, pour déterminer les IC_{50} , nous devons assimiler la concentration d'ADP formée à la vitesse de la réaction enzymatique. Cela n'est possible que si ces deux valeurs sont directement proportionnelles. Dans l'exemple de la Figure 48, la durée d'incubation choisie pour les protéines Axl et Mer est de 10 min.

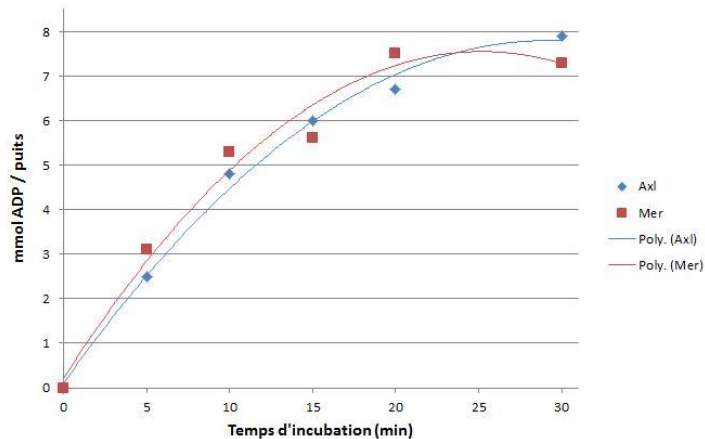


Figure 48. Suivi de la production d'ADP en fonction du temps pour les protéines Axl (bleu) et Mer (rouge), dans les conditions du dosage ADP, sans petite molécule.

Un mélange de réactifs fournis dans le kit et nommé *Reaction Mix* est alors ajouté (Figure 49 : Etape VI). Ce mélange contient une enzyme capable de convertir l'ADP en ATP et son substrat. Une nouvelle réaction enzymatique va donc commencer si de l'ADP est présent en solution, c'est-à-dire si la phosphorylation du peptide a eu lieu à l'étape précédente. Cette réaction enzymatique s'accompagne de la production de pyruvate, dont la quantité va être directement proportionnelle à la quantité d'ADP initialement produite dans le puits (Etape VII).

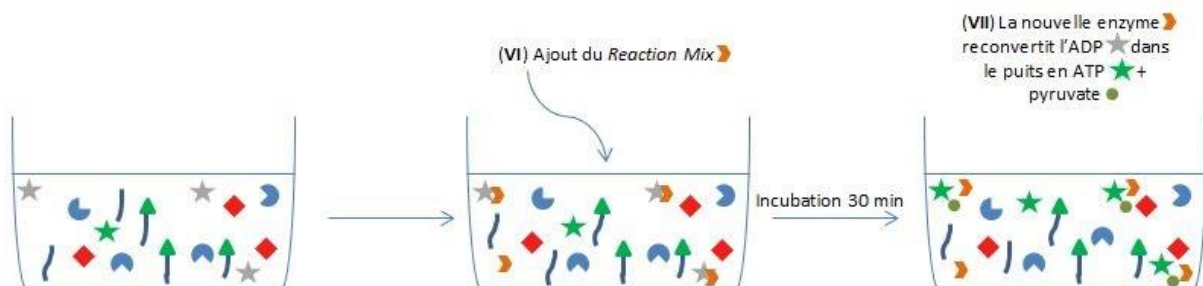


Figure 49. Principe du dosage de l'ADP par fluorimétrie (b).

Après 30 min d'incubation du *Reaction Mix*, les puits sont irradiés à 540 nm et la fluorescence du pyruvate est lue à 590 nm. En comparant les intensités d'émissions à celles de puits standards contenant une quantité connue d'ADP, il est possible d'obtenir la concentration d'ADP produite dans chaque puits. La valeur de l'IC₅₀ de chaque molécule est alors lue en représentant la concentration d'ADP produite en fonction de la concentration en petite molécule. Dans l'exemple de la Figure 50, l'IC₅₀ mesurée est de 110 nM.

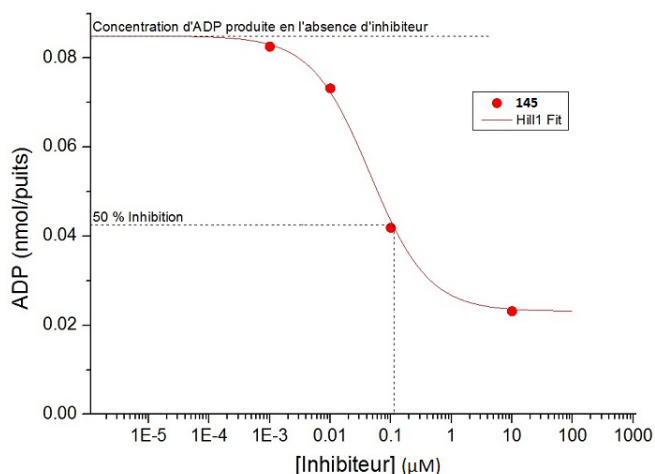


Figure 50. Détermination de l'IC₅₀ du composé 145 lors d'un dosage de l'ADP.

Ce test possède l'avantage de ne pas utiliser d'anticorps et d'être quantitatif. Il doit ainsi être plus reproductible que le test ELISA et permettre la détermination des valeurs d'IC₅₀ des composés sur la famille TAM.

2) Résultats du dosage ADP

Les molécules **145** et **98** ont été choisies pour leurs bons résultats sur Tyro3 d'après le criblage ELISA. Malgré leurs mauvais résultats au test initial, les molécules **142** et **149** ont été incluses dans ce dosage. En effet, les deux ont été identifiées comme molécules d'intérêt lors d'un criblage haut-débit sur cellules cancéreuses réalisé en parallèle par le Dr. Florent Poyer à l'Institut Curie et destiné à identifier de potentiels agents radiosensibilisants. La molécule **154** a été retenue pour comparaison au composé **149** car brome et méthyle possèdent des volumes équivalents (rayons de Van der Waals de 185 pm et 200 pm, respectivement).

Les résultats obtenus sont présentés en Table 13. Pour le BMS-777607, les valeurs d'IC₅₀ décrites par l'équipe de Schroeder sont présentées entre parenthèses pour comparaison.^{55a}

Table 13. Valeurs d'IC₅₀ (nM) déterminées par dosage fluorimétrique de l'ADP. [a] Non déterminé.

Composé	Tyro3	Mer	Axl
BMS-777607	3.7 (4.3)	3.5 (14)	0.75 (1.1)
98	4700	40	70
149	270	9	2000
145	690	90	0.77
142	n.d. ^[a]	n.d.	n.d.
154	>100 µM*	>100 µM*	>100 µM*

Tout d'abord, les valeurs d'IC₅₀ obtenues pour le BMS sont en accord avec les données de la littérature, bien que ces dernières n'aient pas été déterminées à l'aide de la même méthode.

Les résultats de ce dosage sont globalement en accord avec les observations faites sur le criblage ELISA. Aucune sélectivité n'est observée vis-à-vis de Tyro3 ; toutes les molécules sont généralement plus actives sur Mer et Axl que sur notre protéine d'intérêt. Le composé **98** présente ainsi une IC₅₀ de 40 nM sur la protéine Mer, avec un rapport de sélectivité d'environ 120 par rapport à la protéine Tyro3. Le composé **149** montre une activité sur Mer du même ordre de grandeur que la référence BMS-777607, tout en étant plus sélectif (30 fois plus actif sur Mer que sur Tyro3). De manière très satisfaisante, le composé **145** possède aussi une IC₅₀ de 0.77 nM sur Axl, plus de 100 fois inférieure à celle sur Mer et près de 900 fois inférieure à celle sur Tyro3.

De manière analogue à ce qui avait été observé lors des tests immuno-enzymatiques, la molécule **142** comportant un alcyne terminal a donné des résultats très variables (courbes en dents de scie) et aucune IC₅₀ n'a pu être évaluée. A nouveau, la stabilité de l'alcyne en solution avec de multiples espèces (tampons, protéines, sels, ...) peut être mise en cause.

Aucune valeur d'IC₅₀ n'a pu être déterminée avec certitude pour le composé **154** et les valeurs ont dû être extrapolées (marquées par un astérisque). En effet, lors du tracé des résultats expérimentaux, une asymptote horizontale est atteinte avant d'obtenir 50 % d'inhibition de l'enzyme (Figure 51). Ce phénomène est typique d'un composé qui précipite : la concentration effective en solution atteint un seuil qui ne peut être dépassé même en augmentant la quantité introduite. Les

courbes d'inhibition des autres composés présentent aussi la même allure mais l'asymptote est située au-delà de 50 % d'inhibition et n'empêche donc pas la lecture de l' IC_{50} . Des IC_{50} supérieures à 100 μM sont toutefois compatibles avec l'absence d'inhibition observée en test ELISA.

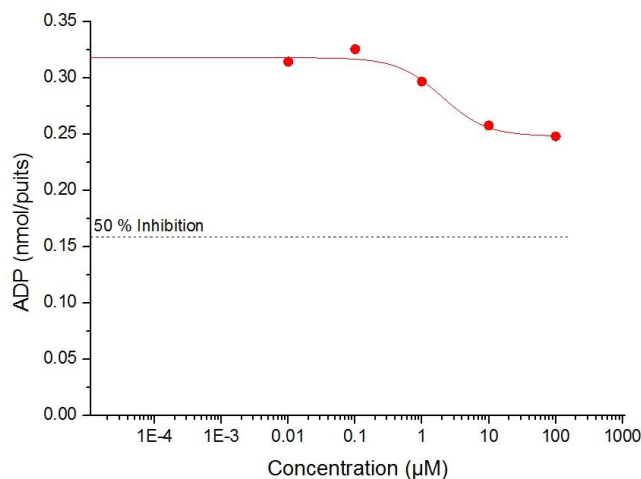


Figure 51. Exemple de dosage de la quantité d'ADP formée en présence de la protéine Tyro3 et du composé 154 après 5 min d'incubation.

Pour finir, il est important de mentionner que la molécule **149** a donné de bons résultats d' IC_{50} sur les protéines Tyro3 et Mer alors qu'elle n'avait pas été identifiée au cours du criblage ELISA. Ce résultat montre bien l'importance d'évaluer les molécules selon plusieurs méthodes différentes afin d'éviter au maximum ce type de faux-négatifs ou faux-positifs.

III. Profils d'affinité sur un panel de 12 kinases

Pour appuyer les valeurs d' IC_{50} et finaliser la caractérisation des cinq composés sélectionnés, un test de sélectivité a été réalisé par la société KinomeScan™ sur un panel de 12 kinases que nous avons choisies, dont les trois protéines de la famille TAM. La protéine Met a été choisie car structurellement très proche de cette famille et utilisée pour la création du modèle Tyro3 utilisé en modélisation. La protéine Abl1 est présente sous formes phosphorylée et non phosphorylée. En effet, l'équipe de Wodicka a montré qu'il était possible de déterminer le mode d'interaction, type I ou type II, d'une molécule en comparant son affinité sur les deux formes de cette kinase.^{46c} Rappelons que sous sa forme non-phosphorylée, la kinase n'est pas active et adopte une conformation DFG-out dans laquelle une poche allostérique est accessible à proximité du site de fixation de l'ATP. Au contraire, cette poche allostérique n'existe pas lorsque la protéine est phosphorylée, car celle-ci adopte alors une autre conformation, dite *DFG-in*. Ainsi, si l'affinité des molécules est plus forte pour la forme non-phosphorylée, Wodicka suppose qu'elles interagissent

bien avec cette poche allostérique, en tant qu'inhibiteurs de type II, comme illustré dans la Figure 52. Les autres protéines ont été choisies pour leur implication démontrée dans le développement tumoral et car elles sont localisées dans des domaines plus éloignés du kinôme humain (Figure 53).

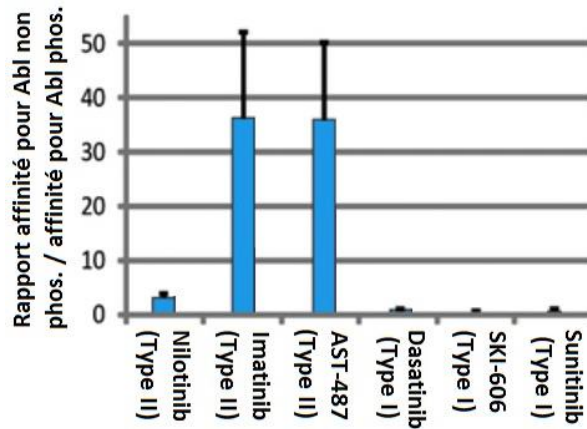


Figure 52. Rapports des affinités de six pour les deux formes de la protéine Abl.^{46c}

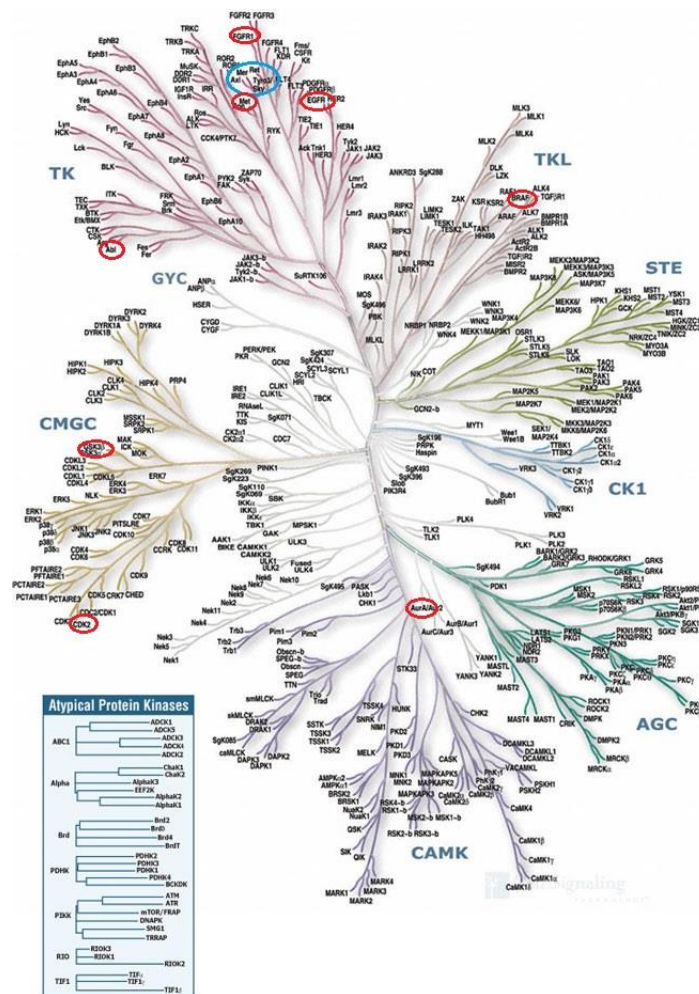


Figure 53. Localisation des 12 kinases utilisées au sein du kinome humain.²⁴

1) Principe du test⁹⁰

Toutes les kinases utilisées sont préalablement marquées avec un brin d'ADN connu. Au cours du test, le composé à tester est mis en solution avec l'une des protéines marquées, en présence de billes magnétiques recouvertes d'un ligand compétiteur standard, dont la structure n'est pas précisée par la société. Si le composé en solution a une bonne affinité pour la protéine, il se fixe sur elle et empêche donc la fixation du ligand compétiteur (Figure 54 – II).

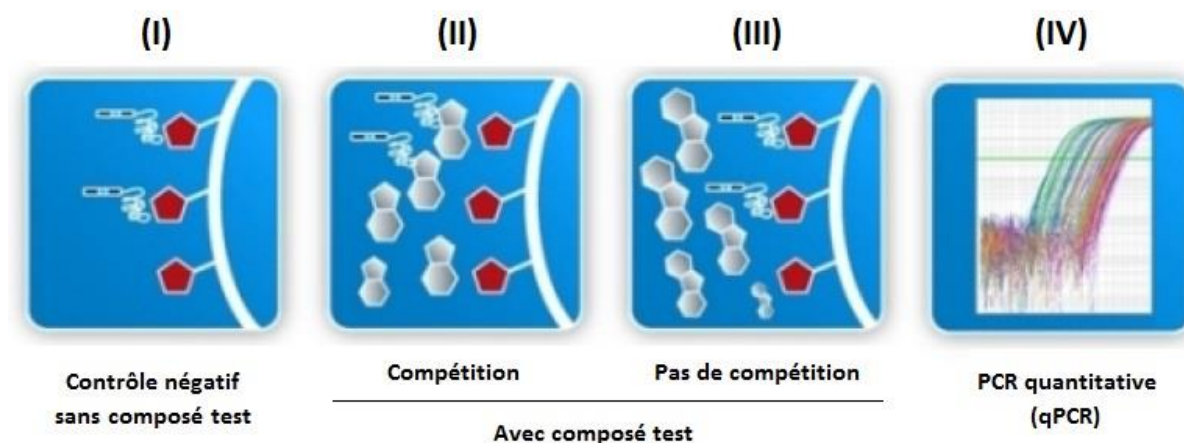


Figure 54. Schéma de principe du test réalisé par KinomeScan.⁹¹

Au contraire, si le composé en solution n'a pas d'affinité, le ligand présent sur les billes se fixe sans contrainte à la protéine (III). A l'aide d'un aimant, les billes sont ensuite retirées de la solution après 1 h d'incubation, emportant avec elles les protéines fixées au ligand. Les protéines sont ensuite décrochées des billes puis leur marqueur ADN est amplifié par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) quantitative (IV),⁹² permettant ainsi de doser la quantité de protéine fixée à la bille. En comparant à un contrôle négatif (I), il est donc possible de connaître la proportion de protéine que le composé test a empêché de se fixer aux billes. Ce rapport donne une évaluation de l'affinité de la molécule pour la protéine. Contrairement au criblage par ELISA et au dosage de l'ADP, ce test est réalisé à une concentration de 2.5 % en DMSO.

⁹¹ Documentation KinomeScan™.

⁹² La réaction en chaîne par polymérase (PCR) est une méthode d'amplification d'une séquence d'ADN. La PCR quantitative en temps réel utilisée par KinomeScan™ permet de mesurer en temps réel la quantité d'ADN polymérisé à chaque cycle grâce à un marqueur fluorescent. Plus l'intensité de fluorescence augmente rapidement, plus la quantité d'ADN au départ était élevée.

2) Résultats du test

Les résultats sont présentés en Table 14, comme pourcentages de protéines n'ayant pas été fixées aux billes magnétiques. Plus ce pourcentage est élevé, plus la molécule correspondante est affine pour la protéine étudiée.

Table 14. Profils d'affinité sur un panel de 12 kinases. [a] NP : non phosphorylée, P : phosphorylée.

Composé	98			145			154			142			149		
	0.1 μ M	1 μ M	10 μ M	0.1 μ M	1 μ M	10 μ M	0.1 μ M	1 μ M	10 μ M	0.1 μ M	1 μ M	10 μ M	0.1 μ M	1 μ M	10 μ M
Abl1 NP ^[a]	0	23	86	18	70	97.4	0	0	3	3	0	0	0	0	0
Abl1 P ^[a]	1	3	17	2	13	34	1	1	3	1	0	4	0	0	0
AurKA	1	2	12	5	2	13	1	6	41	4	0	5	7	9	45
BRaf	0	8	43	9	12	58	0	2	18	0	0	3	0	0	10
CDK2	41	95.5	99.7	0	0	48	0	0	3	5	0	0	0	0	32
EGFR	2	0	8	0	0	0	1	0	0	6	4	18	0	0	1
FGFR1	7	1	1	1	2	6	8	2	15	9	8	6	7	1	11
GSK3B	0	0	0	0	5	6	2	5	0	0	1	0	0	1	0
Met	83	96.7	96.6	83	96	97	54	94.5	96.2	10	26	82	12	82	96.4
Tyro3	1	39	92.4	17	81	99.75	0	0	5	1	6	54	15	11	10
Axl	61	90	89	78	90.7	93.3	22	67	90.1	0	1	39	4	52	90.4
Mer	92.3	99.55	99.1	87	99.3	99.6	17	78	99.05	0	0	71	4	60	98.2

100<x<99	99<x<90	90<x<65
----------	---------	---------

Il apparaît en premier lieu que les meilleurs scores sont obtenus de manière générale sur les protéines Met, Axl et Mer. Bien qu'étant initialement conçues pour être affines pour Tyro3, c'est sur cette protéine que les molécules donnent les scores les plus faibles au sein de la famille TAM. Bien que de bonnes affinités pour Met étaient prévisibles de par sa similitude élevée aux kinases TAM, il est toutefois décevant d'observer de meilleurs scores sur cette protéine que sur la protéine d'intérêt.

Il est tout de même remarquable que presque aucune affinité n'est observée pour les kinases plus éloignées de la famille TAM, ce qui montre une bonne sélectivité pour cette famille au sein du kinome. Les scores d'affinité des molécules 98 et 145 sur la protéine Abl sont nettement plus élevés lorsque celle-ci n'est pas phosphorylée, c'est-à-dire lorsqu'elle est en conformation inactive *DFG-out*. Cela confirme que ces deux composés pourraient bien interagir avec la protéine en tant qu'inhibiteurs de type II.

Une bonne corrélation apparaît entre les très bons scores d'affinité du criblage KinomeScan™ et les valeurs d'IC₅₀ satisfaisantes obtenues sur Tyro3 et Mer pour les composés **98** (IC₅₀ = 4700 nM et 40 nM, respectivement) et **145** (IC₅₀ = 690 nM et 90 nM, respectivement). Sur Axl, les scores d'affinité sont légèrement plus faibles, bien que les IC₅₀ soient meilleures (par exemple, IC₅₀ = 0.77 nM pour **145**). En revanche, le composé **154** semble posséder une affinité relativement bonne pour les protéines Axl et Mer, ce qui va à l'encontre des résultats précédents. Il serait donc intéressant de répéter les mesures d'IC₅₀ pour **154** en montant à une concentration en DMSO de 2.5 %, identique à celle utilisée par KinomeScan™ afin de tenter de s'acquitter des problèmes de solubilité de cette molécule.

Le composé **142** ne semble posséder d'affinité pour aucune des protéines incluses dans ce test, ce que confirment le criblage ELISA et le dosage ADP. De la même façon, le composé **149** fournit un score moyen sur Mer et mauvais sur Tyro3. Pourtant, de bonnes IC₅₀ ont été mesurées sur ces protéines. Ce composé ne se fixe donc peut-être pas sur le site ATP de la protéine mais réussit tout de même à bloquer la phosphorylation et la production d'ADP. Ce comportement pourrait ressembler à une inhibition de type III, hypothèse renforcée par le fait qu'aucune différence d'affinité ne soit observée sur Abl phosphorylée et non phosphorylée pour cette molécule.

En se basant sur les scores d'affinité obtenus pour plusieurs milliers de composés connus, la société KinomeScan™ a pu mettre en évidence une proportionnalité entre le score et la constante d'affinité K_d (Figure 55).

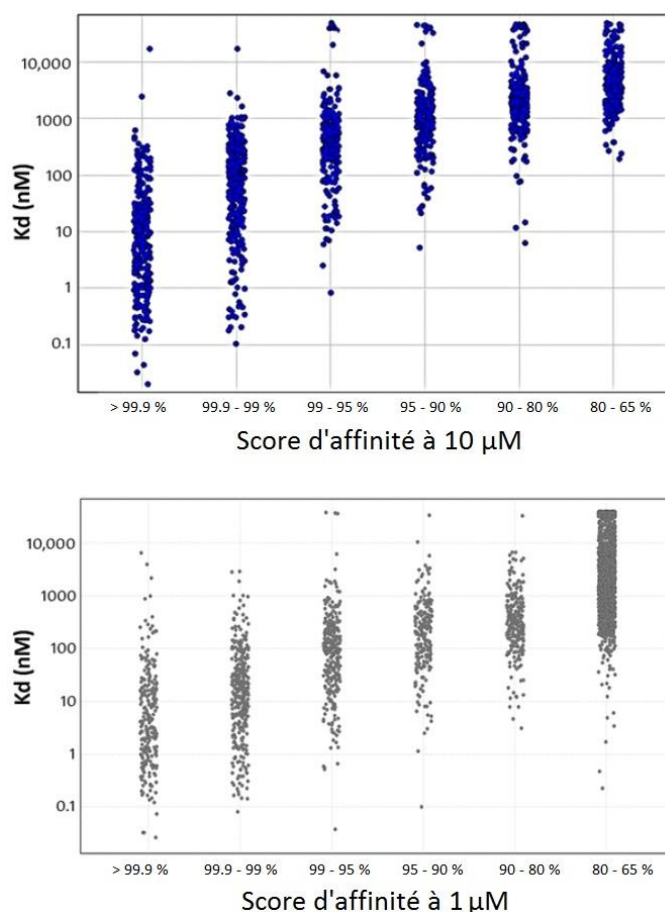


Figure 55. Corrélation entre score de criblage KinomeScan et constante d'affinité Kd à 10 µM (haut) et 1 µM (bas).⁹¹

D'après ces résultats statistiques et les scores présentés en Table 14, la constante d'affinité de la molécule 98 devrait être inférieure à 0.1 µM sur Mer et à 1 µM sur Axl. Pour la molécule 145, la constante d'affinité devrait être inférieure à 0.1 µM sur Mer et à 1 µM sur Axl et Tyro3. Ces valeurs, bien que théoriques, sont encourageantes car elles montrent que le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine utilisé permet d'obtenir une bonne affinité pour la famille TAM.

IV. Etude de cytotoxicité sur cellules de cancers de la vessie

En parallèle des tests en solutions décrits précédemment, la cytotoxicité de quatre molécules a pu être évaluée à l'Institut Curie avec l'aide du Dr. Florent Dufour, sur quatre lignées cellulaires humaines de cancers de la vessie :

- les cellules **MGH-U3**, exprimant Tyro3 mais peu Axl. La viabilité de ces cellules reste bonne même en présence d'un siRNA Tyro3.⁹³ Cela peut être dû par exemple à la prise en charge par une autre protéine des fonctions cellulaires normalement régies par Tyro3.

- les cellules **RT112**, exprimant Tyro3 et Axl de manière équivalente. Une perte de viabilité cellulaire est observée lorsque cette lignée est mise en présence d'un siRNA Tyro3, indiquant une plus forte dépendance à cette protéine.

- les cellules **5637**, exprimant de manière équivalente les trois protéines TAM. Ces cellules ne sont pas sensibles à la présence d'un siRNA Tyro3 ou d'un siRNA Axl seuls mais très sensibles à l'utilisation simultanée des deux. Cela semble indiquer que les protéines Tyro3 et Axl remplissent des rôles redondants au sein de cette lignée. Lors de l'inhibition de l'une de ces deux protéines, l'autre maintient les fonctions cellulaires correspondantes ; si les deux sont inhibées de manière simultanée, les cellules ne sont plus viables.

- les cellules **647V**, exprimant peu Tyro3 et beaucoup Axl. La viabilité de ces cellules n'est pas impactée par l'inhibition de Tyro3 ou Axl. Elles sont donc considérées comme un contrôle négatif au cours de cette étude.

Les molécules sélectionnées pour cette étude sont les trois touches identifiées par test ELISA et dosage de l'ADP et possédant une bonne affinité pour la famille TAM : **98**, **145** et **154**. La molécule **43** est choisie comme témoin négatif n'inhibant aucune des protéines TAM. Chaque lignée cellulaire a été cultivée pendant 72 h en présence de concentrations variables de petites molécules (20, 10, 5, 2.5 et 1.25 μM). Une mesure supplémentaire à 96 h a été réalisée sur les lignées MGH-U3 et RT112. Après avoir rencontré des problèmes de solubilité des composés dans l'eau à 0.2 % en DMSO, les résultats présentés dans ce manuscrit ont été obtenus à 0.5 % DMSO. Même à cette concentration plus élevée en DMSO, de petits amas de précipité ont été observés au microscope pour tous les composés à la concentration de 20 μM , qui doit donc être considérée avec circonspection. Chaque point correspond à une moyenne sur duplicats, excepté pour les deux références.

Sur les quatre lignées, les meilleurs résultats ont été observés pour le Vandetanib, dès 1.25 μM et particulièrement au-delà de 10 μM . A la même concentration, le BMS-777607 induit une chute de 50 % au maximum de la viabilité cellulaire. Sur la lignée 647V, il n'a même aucun effet visible.

⁹³ Il est rappelé qu'un petit ARN interférent (siRNA – *small interfering RNA*) est un ARN double brin pouvant se lier après coupure par un Dicer (enzyme) à un ARN messenger spécifique et empêcher ainsi sa traduction en protéine par le ribosome.

Sur la lignée MGH-U3 (Figure 56 : I, II), seuls les composés **98** et **145** semblent posséder une légère cytotoxicité, à des concentrations toutefois supérieures à 10 μM . Aucune évolution majeure n'est observée après 24 h supplémentaires d'incubation en présence des molécules en dehors du point à 20 μM pour **98**. Cependant, il est probable que ce point soit aberrant car il est peu crédible d'observer une telle variation de viabilité en seulement 24 h.

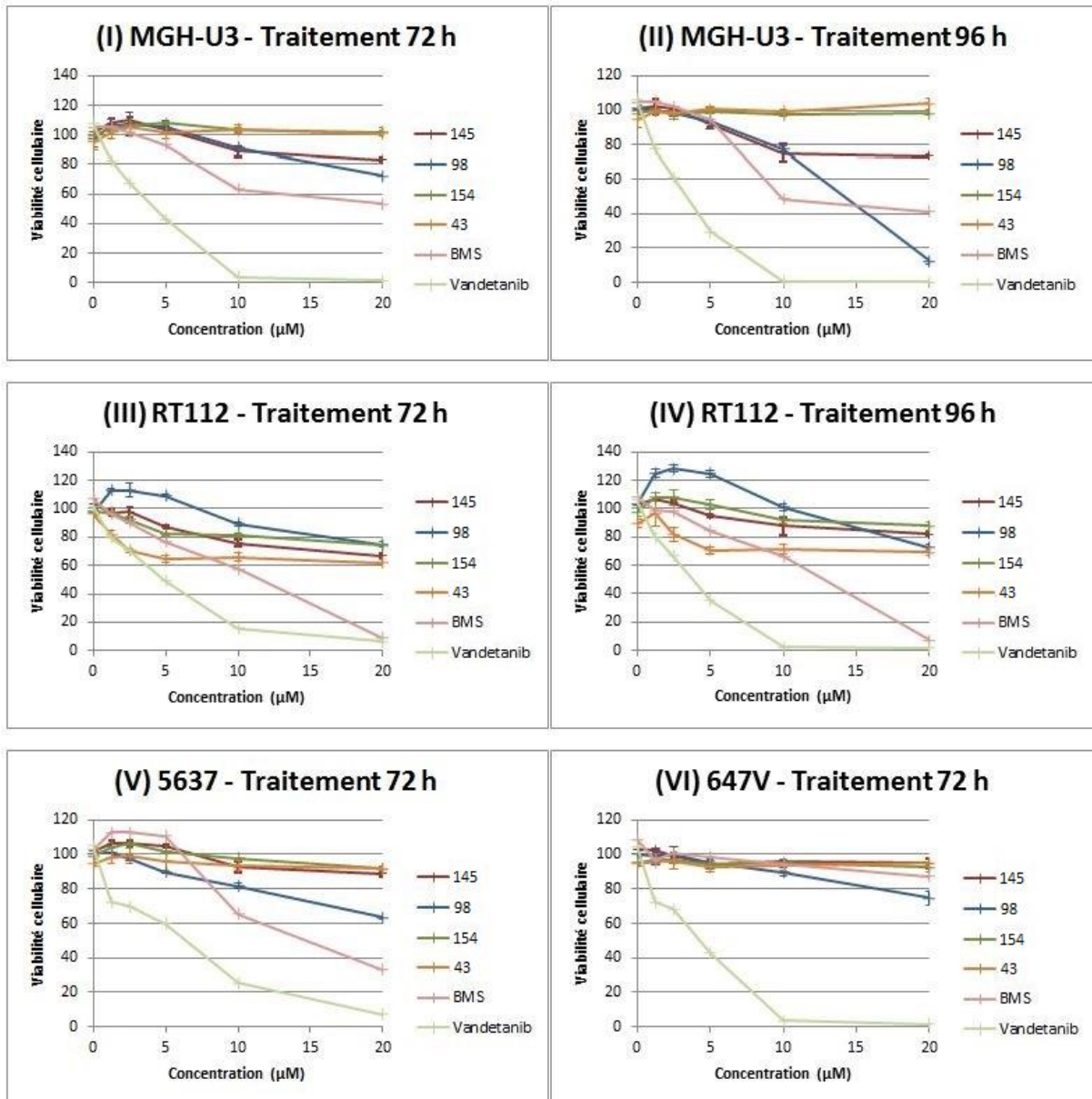


Figure 56. Etude de cytotoxicité sur les lignées MGH-U3 et RT112 après 72 h (I et III respectivement) et 96 h (II et IV respectivement) et sur les lignées 5637 (V) et 647V (VI) après 72h.

Sur la lignée RT112 (III, IV), plus dépendante à Tyro3, tous les composés ont un effet visible sur la viabilité cellulaire. Cependant, pour le composé **98** à faible concentration, cet effet est positif : la prolifération cellulaire semble être stimulée par la présence du composé. De manière surprenante,

la molécule la plus active sur cette lignée est **43**, qui n'a pourtant donné aucun résultat d'inhibition sur la famille TAM en tests ELISA. Pour tenter d'expliquer ces résultats étranges, plusieurs expériences de culture de la lignée RT112 ont été réalisées à des concentrations croissantes en DMSO (Figure 57). Au-delà de 0.25 % de DMSO, une perte de viabilité a été observée. Les résultats étonnants obtenus sur cette lignée peuvent donc être expliqués par une fragilisation des cellules à la concentration de 0.5 % en DMSO utilisée pour ce test. Un nouveau test à 0.2 % en DMSO n'a en effet montré aucune cytotoxicité des molécules jusqu'à une concentration de 2 μ M. A nouveau, aucune modification n'a été remarquée après 24 h supplémentaires de traitement.

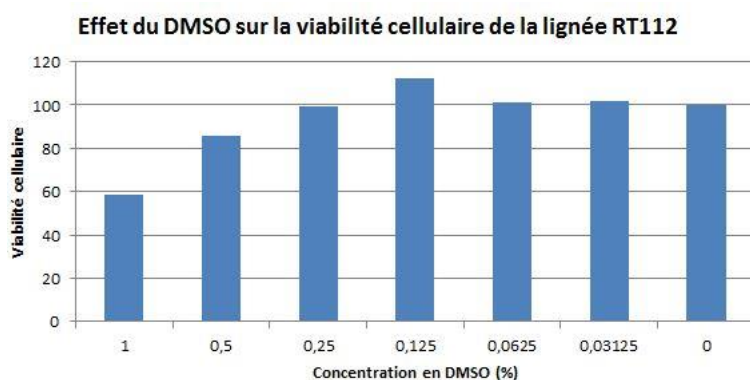


Figure 57. Etude sur la sensibilité de la lignée RT112 au DMSO.

Sur la lignée 5637 (Figure 56 : V), seule la molécule **98** se démarque au-delà de 5 μ M, les autres composés ne présentant aucune cytotoxicité. Cette lignée étant sensible à une inhibition concertée de Tyro3 et Axl, nous pouvons supposer que la molécule **98** inhibe ces deux protéines et n'est donc pas sélective de notre cible thérapeutique.

Enfin, aucun composé n'est cytotoxique sur la lignée 647V la moins dépendante à la famille TAM à des concentrations inférieures à 20 μ M (VI). Nous pouvons ainsi espérer que ce résultat indique que les composés testés n'inhibent pas d'autres protéines nécessaires à la survie des cellules, contrairement au Vandetanib. Cela indiquerait une bonne sélectivité vis-à-vis de la famille TAM au sein du kinome.

Il ressort de cette étude que malgré les résultats satisfaisants obtenus lors des tests d'affinité et des bonnes IC_{50} déterminées, aucune des molécules testées ne présente une cytotoxicité très marquée contre les cellules de cancers de vessie utilisées.

V. Conclusions

Parmi toutes les molécules synthétisées et testées, seuls deux composés ont donné des résultats satisfaisants à chaque test, **98** et **145**. En effet, il semble que la présence d'un groupement plus volumineux qu'un hydrogène en position 6 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine ait un effet extrêmement négatif sur l'affinité de la molécule pour le site ATP de la protéine Tyro3. Dans le cas où cette position est substituée par un brome, il semble toutefois que l'inhibiteur soit efficace (bonnes IC₅₀ pour **149** malgré de mauvais scores d'affinité). Cela peut être dû à un mode d'inhibition proche du type III pour cette molécule. La substitution de la position 2 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine semble moins déterminante, au vu des résultats similaires observés pour **98** et **145**. Il apparaît cependant que la molécule **145** possède une affinité pour Tyro3 légèrement supérieure, se traduisant par une IC₅₀ de 690 nM sur cette protéine, contre 4700 nM pour **98**.

Aucune des molécules testées n'a permis d'obtenir de la sélectivité pour Tyro3 et les résultats d'inhibition sont chaque fois meilleurs sur Axl et Mer, ce qui était déjà le cas pour les séries de types purine et pyrimidine. Il faut toutefois souligner les très bonnes IC₅₀ obtenues pour la molécule **145** sur Axl (0.77 nM) et pour la molécule **149** sur Mer (9 nM), s'accompagnant chaque fois d'une bonne sélectivité.

Des problèmes de précipitation ayant été rencontrés lors des tests de cytotoxicité, il serait intéressant de modifier structurellement les composés testés afin de tenter d'améliorer leur solubilité dans l'eau. Alternativement, plusieurs voies de vectorisation pourraient être envisagées telles que l'utilisation de micelles, de dendrimères ou la mise au point d'une prodrogue, en insérant un sucre sur l'azote N3 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine par exemple.

Conclusions et Perspectives

Conclusions

Après l'étude des poses d'amarrage moléculaire adoptées par les molécules des séries purine et pyrimidine dans le modèle de Tyro3 créé par le Pr. Stoven, le motif imidazo[4,5-*b*]pyridine est apparu comme noyau hétéroaromatique de choix pour cette étude. L'introduction d'un groupement en position 6 de l'hétérocycle devait permettre d'occuper un espace libre, nommé poche Alanine, existant uniquement dans la protéine Tyro3. Dans les autres kinases TAM, du fait de la présence d'acides aminés plus volumineux au même endroit, le substituant en position 6 devait induire un clash stérique et ainsi diminuer l'affinité des molécules pour ces deux récepteurs.

Le criblage par modélisation moléculaire de plusieurs centaines de candidats a permis d'isoler deux familles de molécules prometteuses (Figure 40). La première est caractérisée par la présence d'une chaîne alkyle (éthyle ou isopropyle) en position 2 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine. Dans la seconde famille, les molécules portent une fonction alcyne sur la même position. La présence, en position 6, d'un groupement de quatre à cinq atomes de long portant un donneur ou accepteur de liaison hydrogène à son extrémité est une caractéristique commune aux deux familles.

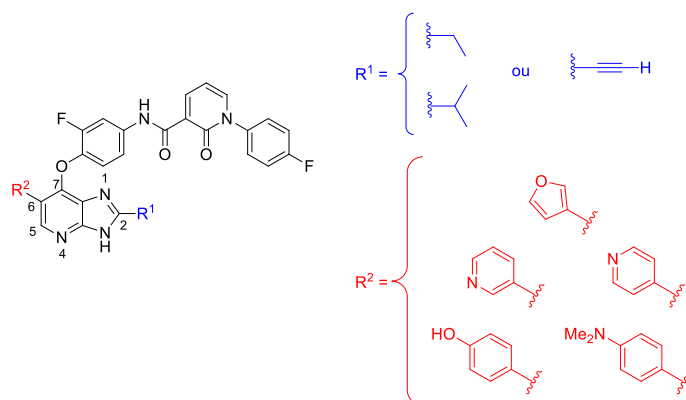


Figure 40. Les deux familles de molécules cibles définies par modélisation moléculaire.

Une voie de synthèse a ensuite été mise au point afin de parvenir à construire ces molécules cibles. Chaque étape a nécessité une longue optimisation et le schéma synthétique a dû être modifié à plusieurs reprises en raison des divers problèmes rencontrés. En particulier, la synthèse a dû être intégralement reprise en utilisant le PMB comme groupement protecteur de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine, alors que chaque étape était alors optimisée pour un groupement benzyle.

Finalement, 19 molécules cibles et 38 intermédiaires de synthèse ont été évalués sur la famille TAM au moyen d'un test ELISA. Deux molécules se sont dégagées de ces tests, **98** et **145**. Ces inhibiteurs ont été confirmés par un dosage d'ADP et un profil d'affinité sur un panel de 12 kinases (Figure 58). Ces molécules possèdent de bonnes IC_{50} sur Mer et Axl respectivement, ainsi qu'une bonne sélectivité au sein de la famille TAM. Malheureusement, ces molécules sont très peu actives sur la protéine Tyro3. La molécule **149** présente une très bonne IC_{50} sur la protéine Mer, peut-être due à une inhibition de type III.

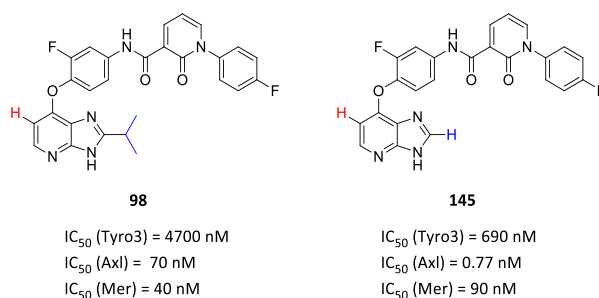


Figure 58. Deux nouveaux inhibiteurs de la famille TAM.

Nous sommes ensuite revenus à l'étude des poses d'amarrage des 19 molécules cibles dans Tyro3, afin de tenter de comprendre pourquoi les résultats biologiques ne correspondaient pas à ce qui avait été anticipé en modélisation moléculaire. Comme attendu, seules les molécules **98** et **145** se fixent en position canonique (Figure 59, scores d'amarrage de -19.5 et -20.2 respectivement). L'hydrogène en position 6 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine est alors orienté vers la poche alanine dans la protéine Tyro3. Or ces deux molécules ne sont pas sélectives de cette kinase, pour laquelle elles présentent de faibles IC_{50} , 4700 nM et 690 nM respectivement. Il semble donc que l'atome d'hydrogène soit trop petit pour induire des clashes stériques avec Ile650 et Met598 des protéines Axl et Mer, respectivement. Les groupements brome et méthyle des molécules **149** et **154** sont quant à eux suffisamment volumineux pour obliger la molécule à se fixer en position non canonique dans Tyro3. Dans ce cas, c'est l'hydrogène en position 2 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine qui pointe vers la poche alanine. De la même façon que précédemment, il n'est donc pas étonnant que ces molécules ne soient pas sélectives de la protéine Tyro3. En revanche, la modélisation moléculaire n'a pas permis d'expliquer la bonne sélectivité observée d'après les mesures d' IC_{50} des molécules **145** et **149** vis-à-vis de Axl et Mer, respectivement.

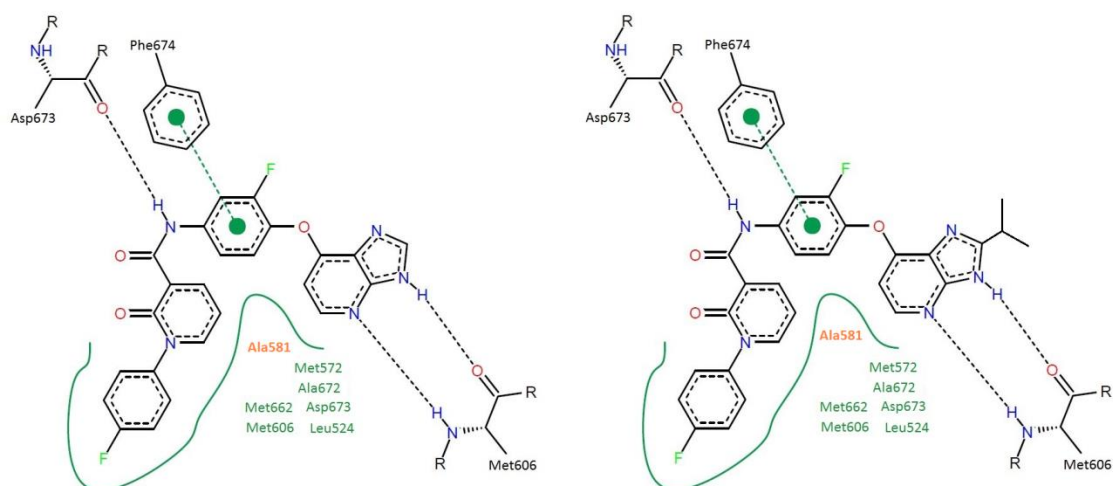


Figure 59. Poses d'amarrage des composés 145 et 98 dans le modèle de Tyro3.

En position non canonique, deux types de fixation au site ATP sont adoptés. Le premier se caractérise par les deux liaisons hydrogènes classiques entre *N3* et Pro604 ($C = O$) et entre *N4* et Met606 ($N - H$). Le deuxième présente le motif « double » liaison hydrogène déjà observé par modélisation entre *N3*, Pro604 ($C = O$) et Met606 (S) (Figure 60). Ces deux types de fixation n'avaient pas été interprétés comme étant néfastes pour l'affinité de la molécule car ils n'entraînaient pas de mauvais scores d'amarrage. En étudiant les poses d'amarrage des composés du type 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridine dans Tyro3, il apparaît que dans tous les cas, la chaîne alkyle en position 2 est effectivement orientée vers la poche alanine. Cependant, aucune de ces molécules ne possède d'activité sur les protéines de la famille TAM.

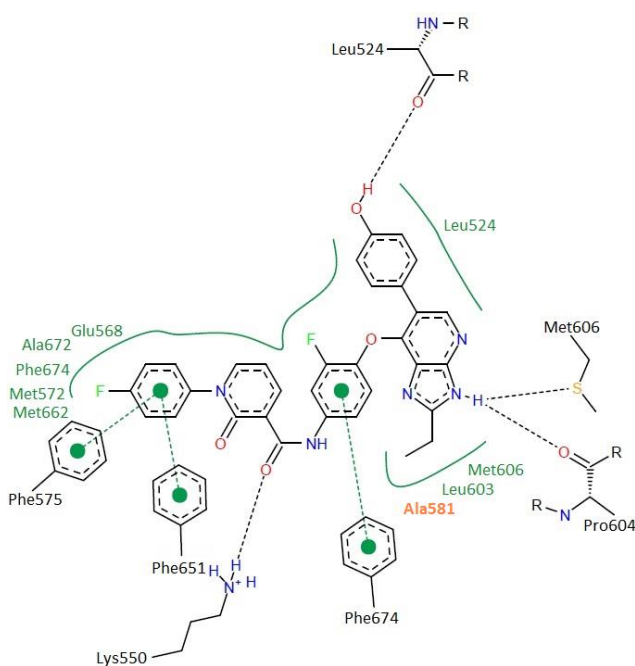


Figure 60. Pose d'amarrage du composé 43 dans le modèle de Tyro3.

Nous avons ensuite comparé ces poses aux structures cristallines des molécules de l'équipe de Powell **17** et **18** fixés en position non canonique sur le site ATP de la protéine Tyro3 murine (Figure **61**).^{32a} Dans ces deux structures, les inhibiteurs de Powell participent comme les nôtres à une liaison hydrogène avec la liaison C = O du résidu Pro594, typique de l'orientation non canonique. Cependant, les deux autres liaisons hydrogène avec le résidu Met 596 (N – H et C = O) typiques d'une orientation canonique sont elles aussi présentes. Ces inhibiteurs cumulent ainsi les interactions observées dans les deux orientations, canonique et non canonique.

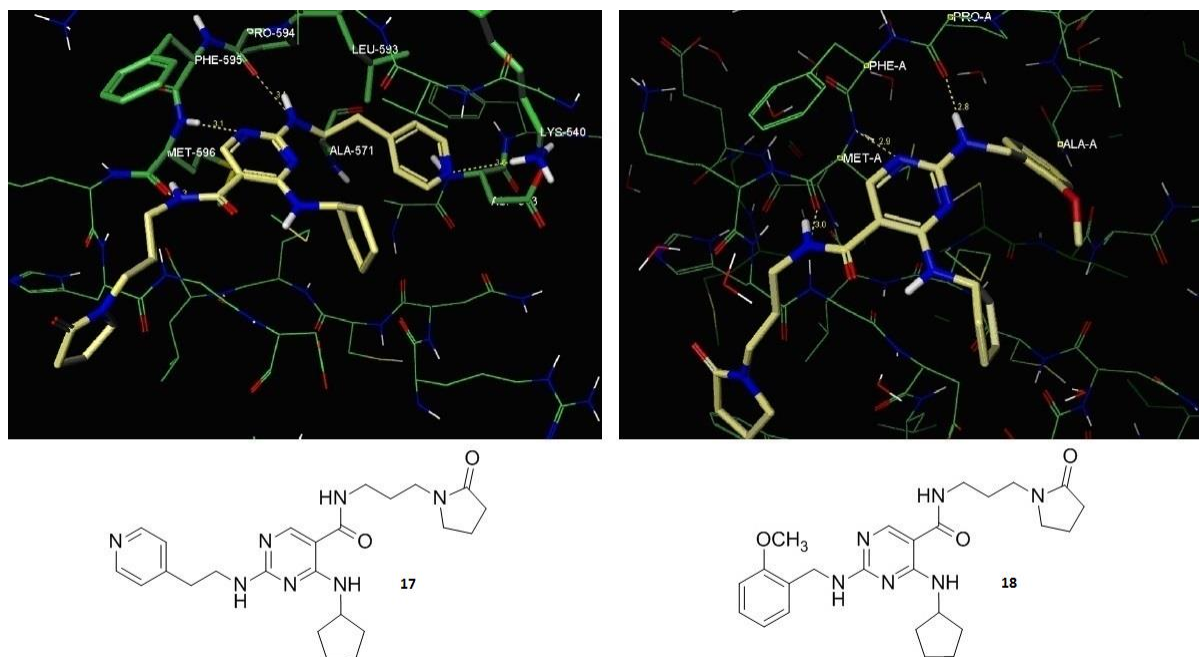


Figure 61. Poses d'amarrage des molécules **17** (code PDB : 4FEQ) et **18** (code PDB : 4FF8) dans Tyro3 murine.^{32a}

L'absence de liaison hydrogène entre les 2-alkylimidazo[4,5-*b*]pyridines synthétisées au cours de ce projet et les deux liaisons C = O et N – H de Met606 en orientation non canonique semblerait donc responsable de l'absence d'activité biologique. Ainsi, aucun des substituants déterminés par modélisation moléculaire n'a permis de gagner en sélectivité pour Tyro3 en interagissant avec la poche alanine. Comme souligné précédemment, les molécules **98**, **145** et **149** ont toutefois donné des résultats d'inhibitions très satisfaisants sur Mer et Axl, pour lesquelles elles ont de plus montré une bonne sélectivité.

Perspectives

A la lumière de ces observations et dans le but d'améliorer l'affinité des imidazo[4,5-*b*]pyridines synthétisées pour la famille TAM, une fonction amine pourra ainsi être introduite en position 5 afin de reproduire l'interaction à trois liaisons hydrogène de la structure 4FF8 (Figure **62**). Au vu des résultats biologiques obtenus, il semble que le volume maximal toléré pour le groupement

en position 6 soit celui d'un atome d'hydrogène (rayon de Van der Waals 120 pm). La présence d'un atome de fluor (rayon de Van der Waals 147 pm) sur cette position reste toutefois compatible avec une orientation canonique et de bons scores d'amarrage moléculaire. De plus, il a été remarqué en modélisation moléculaire qu'une chaîne alkyle portant une fonction amine ou alcool à son extrémité pouvait être insérée en position 2 afin de former des liaisons hydrogènes avec des acides aminés situés à l'entrée du site ATP. L'introduction de l'une de ces fonctions amine ou alcool sur le motif 4-fluorophényle de la chaîne latérale permet aussi d'améliorer le score d'amarrage des molécules dans les protéines TAM. Enfin, la substitution du motif pyridone de la chaîne latérale par une fonction alcool ou amine permettrait de diminuer l'affinité des molécules pour la protéine Met. En effet, au sein de la famille TAM, cette fonction participerait à une liaison hydrogène avec un acide aminé arginine qui n'est pas disponible dans la protéine Met.

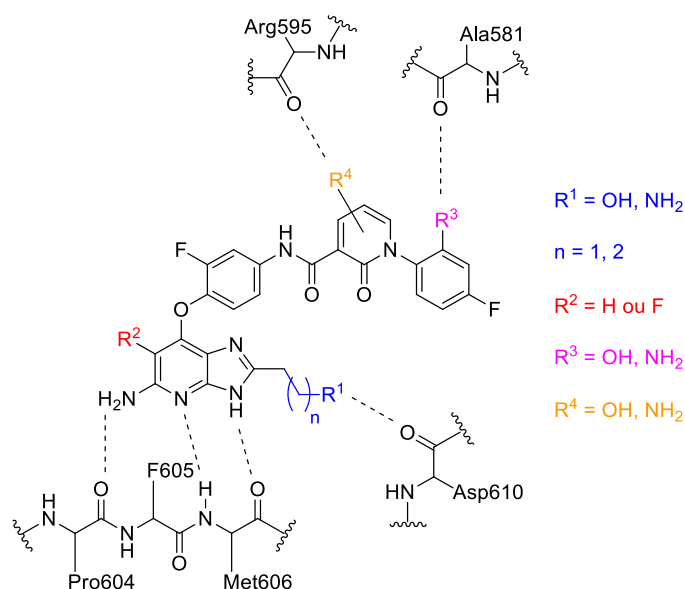


Figure 62. Nouvelles molécules cibles.

Enfin, il pourrait être intéressant de réaliser de l'imagerie cellulaire afin de connaître la localisation des molécules après une période d'incubation. En particulier, notre unité possède à l'Institut Curie une sonde NanoSIMS (*Nanoscale Secondary Ion Mass Spectrometry*) capable d'identifier la présence de fluor dans des coupes cellulaires. Les molécules d'intérêt possédant deux atomes de cet élément, il serait ainsi possible de les détecter sans marquage radioactif ni fluorescent. Cette méthode permettrait par exemple de savoir si la faible cytotoxicité des molécules est simplement due au fait qu'elles ne pénètrent pas au sein de la cellule. De plus, le récepteur d'intérêt Tyro3 étant localisé sur la membrane cellulaire, de telles expériences d'imagerie pourraient donner une première idée de la réelle sélectivité des molécules.

CHAPITRE II

Fonctionnalisation directe du noyau

imidazo[4,5-*b*]pyridine

Introduction

Les couplages croisés catalysés par des métaux de transition ont émergé massivement au cours des années 1970 et sont rapidement devenus la méthode la plus directe et efficace pour synthétiser et diversifier des molécules hétérocycliques complexes (Schéma 40).⁹⁴

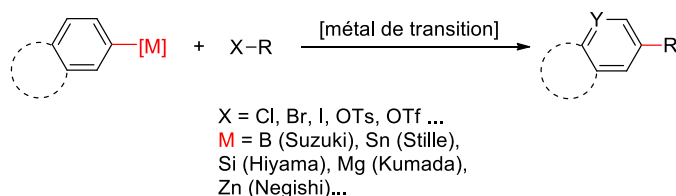


Schéma 40. Couplages croisés métallo-catalysés traditionnels.

Ces méthodes classiques présentent cependant l'inconvénient de nécessiter la préfonctionnalisation de l'un des deux partenaires de couplage en espèce organométallique. De plus, ces espèces sont utilisées en quantités stœchiométriques. Enfin, la formation de sels métalliques au cours de la réaction peut entraîner des problèmes de purification des composés.

Pour ces raisons, un intérêt croissant a été porté au cours des dix dernières années à une nouvelle stratégie de synthèse, nommée fonctionnalisation directe de liaison C – H. En effet, celle-ci permet la création de liaisons C – C ou C – N directement sur des positions hydrogénées, sans avoir à convertir l'un des deux partenaires de couplage en espèce organométallique. Cela permet ainsi de gagner en temps de synthèse ainsi qu'en économie d'atomes par rapport aux couplages métallo-catalysés classiques. Cette stratégie pourrait ainsi représenter l'une des avancées majeures de la chimie organique. Elle reste toutefois un défi pour le chimiste de par la grande variabilité de réactivité de la liaison C – H et la nécessité d'activer de manière régiosélective une seule position au sein d'une molécule. De plus, les hétérocycles contenant des atomes fortement coordinants comme l'azote ou le soufre ont tendance à empoisonner les catalyseurs ou à activer des positions non recherchées.

⁹⁴ (a) K. Tamao, K. Sumitani, M. Kumada, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 4374-4376; (b) R. F. Heck, J. P. Nolley, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2320-2322; (c) K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467-4470; (d) A. O. King, N. Okukado, E.-i. Negishi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 683-684; (e) D. Milstein, J. K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3636-3638; (f) N. Miyaura, K. Yamada, A. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437-3440; (g) L. Yin, J. Liebscher, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 133-173; (h) J. Hassan, M. Sévignon, C. Gozzi, E. Schulz, M. Lemaire, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1359-1470.

Il faut distinguer deux types de couplages pour lesquels il est possible de parler de fonctionnalisation directe :

- le premier a lieu entre un dérivé non fonctionnalisé et un partenaire halogéné (Schéma 41).⁹⁵

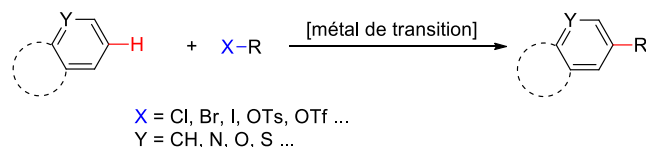


Schéma 41. Fonctionnalisation directe de liaisons C - H avec un partenaire halogéné.

- le second a lieu entre deux dérivés non fonctionnalisés. On parle alors de couplage oxydant et la présence d'une espèce oxydante dans le milieu réactionnel est nécessaire (Schéma 42).⁹⁶

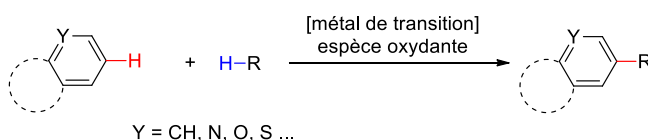


Schéma 42. Fonctionnalisation directe de liaisons C - H par couplage oxydant.

Dans les deux cas, une catalyse par un métal ou un système de métaux de transition est utilisée.

La fonctionnalisation directe a ainsi été étudiée sur de nombreux hétérocycles pour l'introduction de motifs aryle, vinyle, éthynyle⁹⁷ et plus récemment, alkyle.⁹⁸ Cependant, au départ de ce projet, seule l'arylation directe avait été étudiée sur le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine. L'équipe de Dominguez présente par exemple des conditions d'arylation directe intramoléculaire catalysée

⁹⁵ (a) D. Alberico, M. E. Scott, M. Lautens, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 174-238; (b) S. El Kazzouli, J. Koubachi, N. El Brahmi, G. Guillaumet, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 15292-15327; (c) K. Hirano, M. Miura, *Synlett* **2011**, *2011*, 294-307; (d) S. Messaoudi, J.-D. Brion, M. Alami, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 6495-6516; (e) R. Rossi, F. Bellina, M. Lessi, C. Manzini, L. A. Perego, *Synthesis* **2014**, *46*, 2833-2883; (f) T. Satoh, M. Miura, in *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions and More*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2014**, pp. 1389-1426; (g) I. V. Seregin, V. Gevorgyan, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1173-1193.

⁹⁶ (a) K. Hirano, M. Miura, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 10704-10714; (b) A. E. Wendlandt, A. M. Suess, S. S. Stahl, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11062-11087; (c) C. Liu, J. Yuan, M. Gao, S. Tang, W. Li, R. Shi, A. Lei, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 12138-12204.

⁹⁷ L. Ackermann, E. M. Beck, J. Bouffard, O. Daugulis, H. M. L. Davies, A. R. Dick, J. Du Bois, K. Fagnou, M. J. Gaunt, K. Itami, R. C. Larock, M. Lautens, C.-J. Li, G. Liu, B. Mariampillai, A. Martins, F. Shi, R. Vicente, Y. Wu, J.-B. Xia, W.-J. Yoo, S.-L. You, D. N. Zalatan, *C-H Activation*, Topics in Current Chemistry, Springer Berlin Heidelberg, **2010**.

⁹⁸ L. Jean-Gérard, R. Jazzar, O. Baudoin, in *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions and More*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2014**, pp. 1427-1493.

par le cuivre sur différents azoles dont un exemple sur le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine non substitué **156**, protégé par un *ortho*-iodobenzyle en position 1 (Schéma **43**).⁹⁹

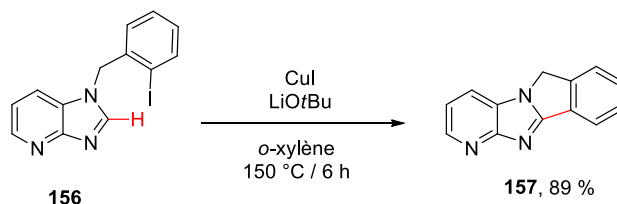


Schéma 43. Premier exemple d'arylation directe intramoléculaire catalysée par le cuivre.

D'autres arylations intramoléculaires utilisant des groupements aryles *ortho*-halogénés et catalysées par le palladium ont été décrites par le groupe de Iaroshenko sur un plus large éventail d'imidazo[4,5-*b*]pyridines (Schéma **44**).¹⁰⁰ Il faut cependant noter que dans tous ces exemples, les substrats sont toujours fonctionnalisés en position 7 par un groupement électroattracteur, principalement un trifluorométhyle. De façon surprenante, le remplacement de ce motif par un CF_2Cl est incompatible avec la réaction.

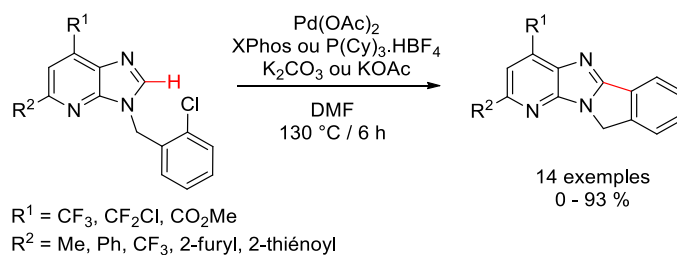


Schéma 44. Arylation directe intramoléculaire catalysée par le palladium.

La même remarque s'applique à une autre méthode d'arylation intermoléculaire catalysée par le nickel décrite par la même équipe en 2012, avec des rendements très satisfaisants (Schéma **45**).¹⁰¹

⁹⁹ N. Barbero, R. Sanmartin, E. Dominguez, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 841-845.

¹⁰⁰ V. O. Iaroshenko, D. Ostrovskiy, M. Miliutina, A. Maalik, A. Villinger, A. Tolmachev, D. M. Volochnyuk, P. Langer, *Adv. Synth. Catal.* **2012**, 2495-2503.

¹⁰¹ V. Iaroshenko, I. Ali, S. Mkrtychyan, V. Semeniuchenko, D. Ostrovskiy, P. Langer, *Synlett* **2012**, *23*, 2603-2608.

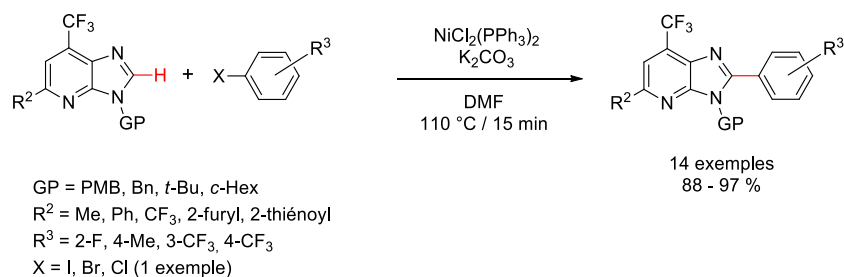


Schéma 45. Arylation directe intermoléculaire catalysée par le nickel.

Un an plus tard, l'équipe de Bavetsias développe des conditions compatibles avec un plus grand nombre de substitutions sur l'imidazo[4,5-*b*]pyridine, grâce à une co-catalyse palladium/cuivre.^{85c} Cette méthode requiert toutefois une quantité stœchiométrique d'iodure de cuivre (2.5 à 3 éq.) (Schéma 46).

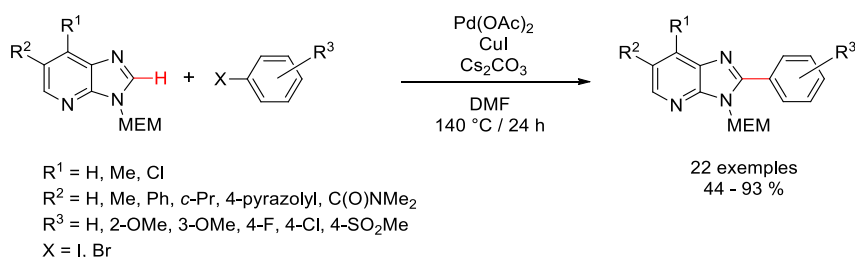


Schéma 46. Arylation directe intermoléculaire catalysée par le couple Pd/Cu.

Enfin, une méthode d'arylation directe à l'aide d'acides boroniques et assistée par irradiations micro-ondes a été décrite en 2016 par l'équipe de Muralidharan, après publication de nos travaux (Schéma 47).¹⁰² Celle-ci utilise une catalyse au cuivre en présence de carbonate de calcium, en milieu partiellement aqueux. Cependant, aucune substitution des positions 5, 6 et 7 n'est étudiée. Pour la première fois, un exemple d'alkylation directe est décrit, avec un rendement 66 % (équation **b**). Un exemple d'alcénylation directe à l'aide du trifluorovinylborate est aussi étudié, avec un rendement de 41 % (équation **c**).

¹⁰² M. P. Avinesh, M. T. J. Jaison, A. M. Sajith, H. P. Nagaswarupa, A. Muralidharan, *ChemistrySelect* **2016**, *1*, 2265-2270.

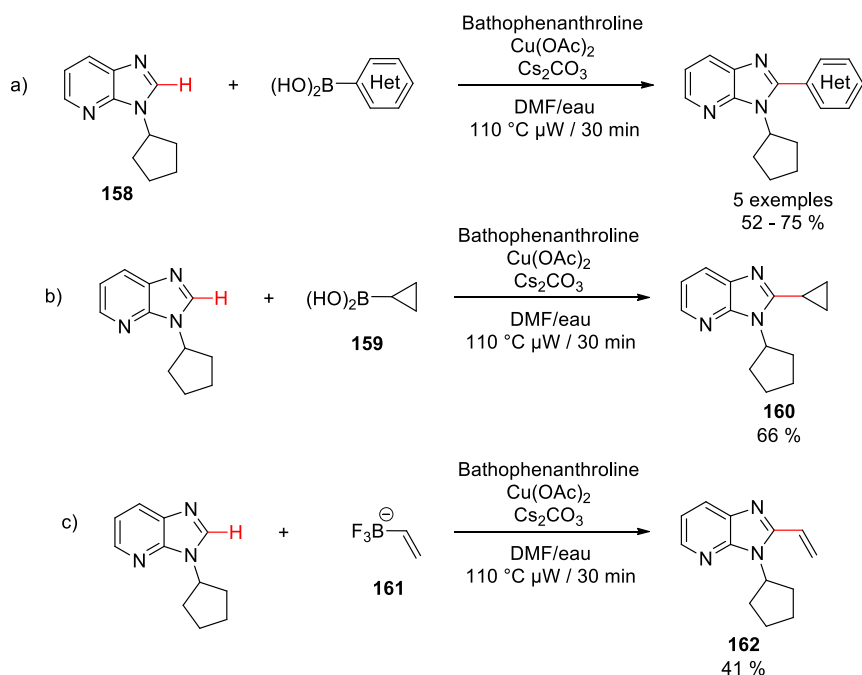
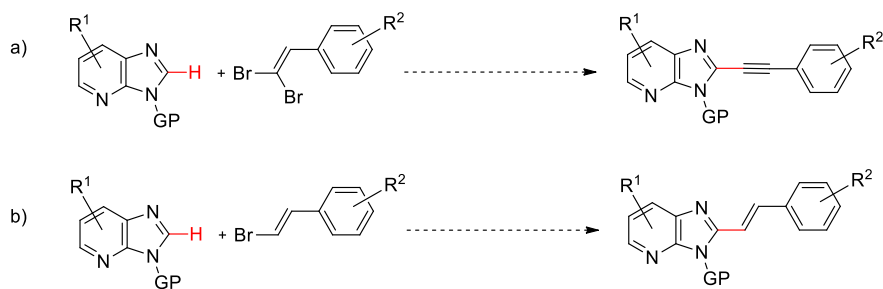


Schéma 47. Fonctionnalisation directe catalysée par le cuivre.

La réactivité du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine reste donc très peu étudiée et il nous a fallu développer de nouveaux outils pour le fonctionnaliser. Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à la mise au point de nouvelles conditions d'alcynylation directe de la position 2 de cet hétérocycle d'intérêt à l'aide d'alcènes *gem*-dibromés (Schéma 48 : équation a). En parallèle, l'alcénylation directe de la même position sera aussi étudiée, en utilisant des dérivés de β -bromostyrènes comme partenaires de couplage (équation b).

Schéma 48. Réactions d'alcynylation et alcénylation directes du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

Ce chapitre comporte donc deux parties, chacune introduite par un état des lieux sur la fonctionnalisation directe des hétérocycles et par les travaux de la littérature permettant d'accéder aux molécules d'intérêt sans passer par la fonctionnalisation directe. Enfin, l'étude des propriétés photophysiques de deux composés fluorescents synthétisés par le biais de ces méthodes sera décrite. Dans tout le chapitre, les réactions ont été dupliquées et les rendements présentés sont calculés à partir de produits isolés.

Alcynylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine

I. Introduction

1) Etat de l'art sur l'alcynylation directe d'hétérocycles

De manière générale, l'alcynylation directe de carbones sp^2 est encore assez peu étudiée. En effet, les alcynes étant plus pauvres en électrons que leurs analogues alcènes, ils sont moins réactifs en tant que partenaires de couplage. Le développement de précurseurs électrophiles d'alcynes tels qu'halogénures d'alcynes,^{88, 103} sulfones acétyléniques,¹⁰⁴ acétylénures de cuivre⁸⁷ et acides α,β -ynoïques,¹⁰⁵ ainsi que l'utilisation de dérivés d'iode hypervalent¹⁰⁶ ont permis de pallier à ce manque de réactivité (Schéma 49).¹⁰⁷ En particulier, les alcènes *gem*-dihalogénés se sont révélés plus intéressants que les monohalogénures d'alcynes correspondants, tout en étant facilement synthétisés et peu chers.¹⁰⁸

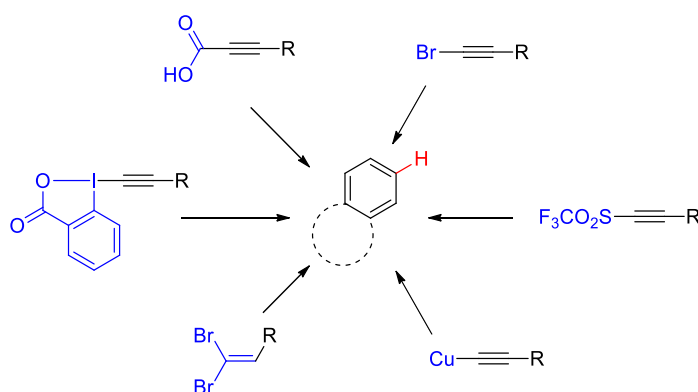


Schéma 49. Précurseurs d'alcynes décrits dans la littérature.

¹⁰³ (a) E. Brachet, P. Belmont, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 7519-7529; (b) N. Matsuyama, K. Hirano, T. Satoh, M. Miura, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4156-4159; (c) N. Sauermann, M. J. González, L. Ackermann, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5316-5319.

¹⁰⁴ (a) J. Gong, P. L. Fuchs, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4486-4487; (b) J. S. Xiang, P. L. Fuchs, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5269-5272.

¹⁰⁵ (a) J. Kim, D. Kang, E. J. Yoo, P. H. Lee, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 7902-7906; (b) K. Park, S. Lee, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 14165-14182.

¹⁰⁶ (a) J. P. Brand, J. Charpentier, J. Waser, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9346-9349; (b) J. P. Brand, J. Waser, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7304-7307; (c) Z.-Z. Zhang, B. Liu, C.-Y. Wang, B.-F. Shi, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4094-4097.

¹⁰⁷ J. P. Brand, J. Waser, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 4165-4179.

¹⁰⁸ G. Chelucci, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 1344-1462.

Nous détaillerons ici cinq méthodes d'alcynylation directe représentatives de la littérature sur des dérivés d'imidazole, classées en fonction du précurseur d'alcyne utilisé.

En 2009, l'équipe de Miura décrit l'alcynylation directe de plusieurs benzazoles, en utilisant les bromures d'alcynes comme partenaires de couplage et catalysée par le nickel (Schéma 50 : équation a).^{103b} Tandis que la plupart des exemples décrits sont synthétisés en utilisant 2 équivalents de la base LiOtBu, il est intéressant de noter que dans le cas de l'imidazole et du benzimidazole, 4 équivalents sont nécessaires. De plus, la réaction n'a pas lieu sans l'ajout d'iodure de cuivre au milieu réactionnel, ce qui semble mettre en évidence la faible réactivité de ces hétérocycles vis-à-vis de la fonctionnalisation directe.

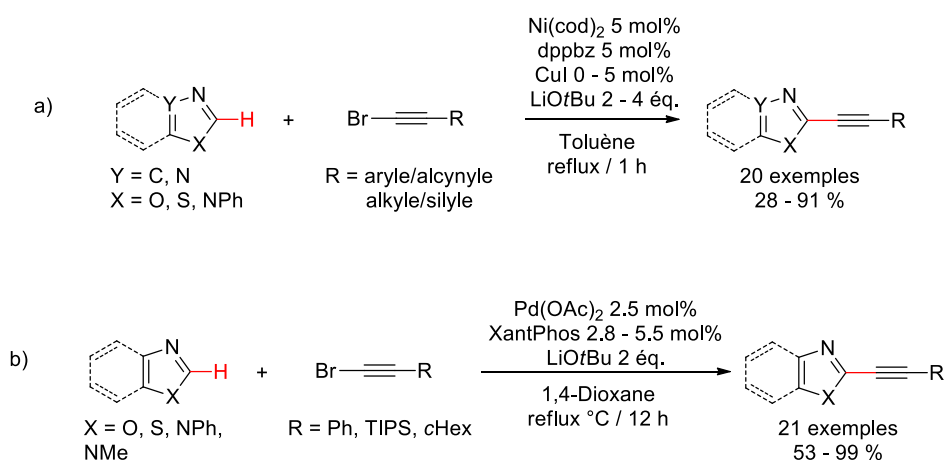


Schéma 50. Alcynylation directe à l'aide de bromures d'alcynes.

Les mêmes partenaires de couplage sont utilisés par l'équipe de Chang en 2010 pour l'alcynylation directe d'azoles et d'azolines, catalysée cette fois par le palladium (équation b).¹⁰⁹ A nouveau, la base forte LiOtBu est utilisée en excès.

En 2012, l'équipe de Murai met au point une méthode de couplage oxydant entre des dérivés d'azoles et des alcynes vrais (Schéma 51 : équation a).¹¹⁰ L'alcyne est utilisé en excès et ajouté en deux fois au cours de la réaction. L'oxydant utilisé est l'argent, sous la forme Ag₂CO₃ et en léger excès.

¹⁰⁹ S. H. Kim, S. Chang, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1868-1871.

¹¹⁰ F. Shibahara, Y. Dohke, T. Murai, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 5381-5388.

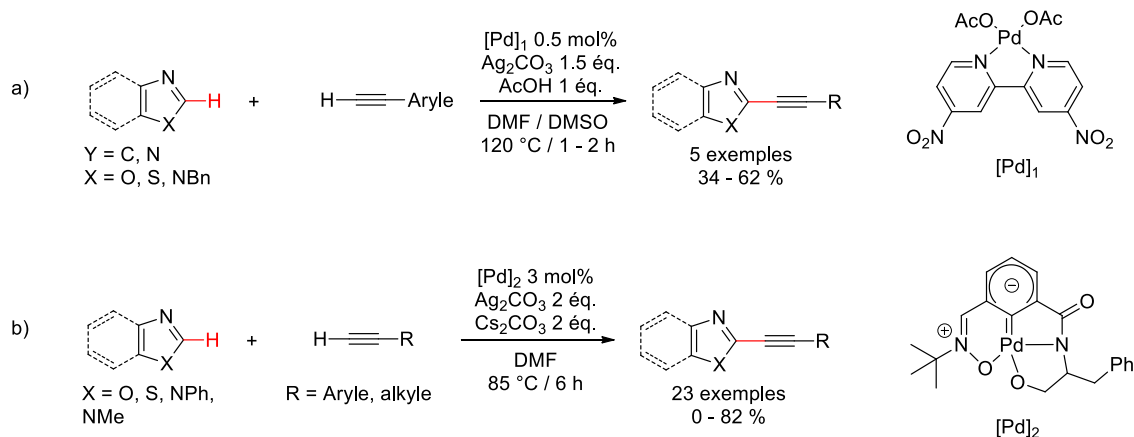
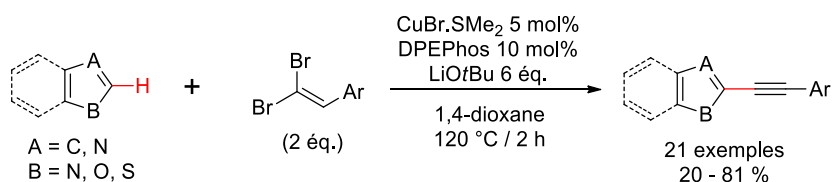


Schéma 51. Couplage oxydant d'alcynes vrais.

De même, l'argent est utilisé par l'équipe de Kantam pour réaliser un couplage oxydant entre des alcynes vrais et divers hétérocycles azotés (équation **b**).¹¹¹ Cette réaction nécessite une charge en palladium de 3 %, plus élevée que pour la méthode précédente mais les conditions de chauffage sont moins dures.

Enfin, la première synthèse d'analogues de 2-éthynylbenzoxazoles utilisant des alcènes *gem*-dibromés a été décrite au laboratoire en 2010 (Schéma **52**).¹¹² Cette réaction est catalysée par le cuivre et compatible avec une large gamme de substrats et de partenaires *gem*-dibromés.

Schéma 52. Alcynylation directe d'azoles à l'aide d'alcènes *gem*-dihalogénés.

2) Etat de l'art sur l'accès aux 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridines

Concernant notre noyau d'intérêt, la seule voie d'accès à des 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridines explorée à ce jour repose sur un couplage de type Sonogashira sans cuivre entre un alcyne terminal et une imidazo[4,5-*b*]pyridine halogénée en position 2 (Schéma **25**).¹¹ Cependant,

¹¹¹ T. Parsharamulu, P. Vishnuvardhan Reddy, P. R. Likhar, M. Lakshmi Kantam, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 1975-1981.

¹¹² B. Pacheco Berciano, S. Lebrequier, F. Besselièvre, S. Piguel, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4038-4041.

cette méthode est limitée à des substrats protégés par un groupement cyclopentyle et aucune discussion n'est faite quant à l'influence d'autres groupements protecteurs sur le rendement.

En se basant sur le savoir-faire développé au laboratoire en série oxazole, nous avons donc tenté de développer une nouvelle méthodologie de synthèse pour l'accès à des 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridines par alcynylation directe du noyau hétéroaromatique à l'aide de partenaires alcènes *gem*-dibromés (Schéma 53). Ceux-ci sont préparés en une seule étape à partir des aldéhydes correspondants, dans les conditions décrites par l'équipe de Ramirez (CBr₄, triphénylphosphine).¹¹³ Cette étude a été réalisée avec l'aide du Dr. Jessy Aziz.

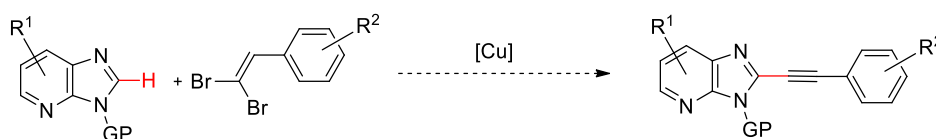


Schéma 53. Alcynylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine à développer.

II. Optimisation des conditions réactionnelles

Dans cette étude, la 6-bromoimidazo[4,5-*b*]pyridine **125** a été choisie comme molécule de référence. Elle est en effet facilement accessible par condensation de la 2,3-diamino-5-bromopyridine commerciale avec l'orthoformiate de méthyle en milieu acide, réaction déjà utilisée dans la synthèse des molécules à visée thérapeutique (Schéma 54).

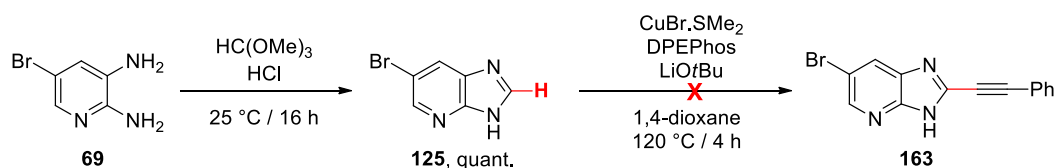


Schéma 54. Première tentative d'alcynylation directe.

Après une tentative d'alcynylation directe de la 6-bromoimidazo[4,5-*b*]pyridine **125** dans les conditions développées au laboratoire (CuBr.SMe₂) sans succès, nous avons décidé de protéger l'azote N3 (Schéma 55). Dans l'optique de pouvoir déprotéger cette position en milieu acide et de manière orthogonale à la triple liaison, les groupements PMB et méthyoxéthoxyméthyle (MEM) ont été proposés. Ce dernier est introduit à partir du chlorure de méthyoxéthoxyméthyle en présence de

¹¹³ N. B. Desai, N. McKelvie, F. Ramirez, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 1745-1747.

triéthylamine, au reflux du toluène pendant 16 h.^{85c} Les groupements protecteurs benzyle et PMB sont quant à eux introduits dans les conditions décrites au chapitre 1 avec des rendements de 39 %.

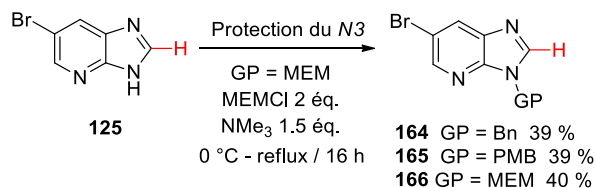
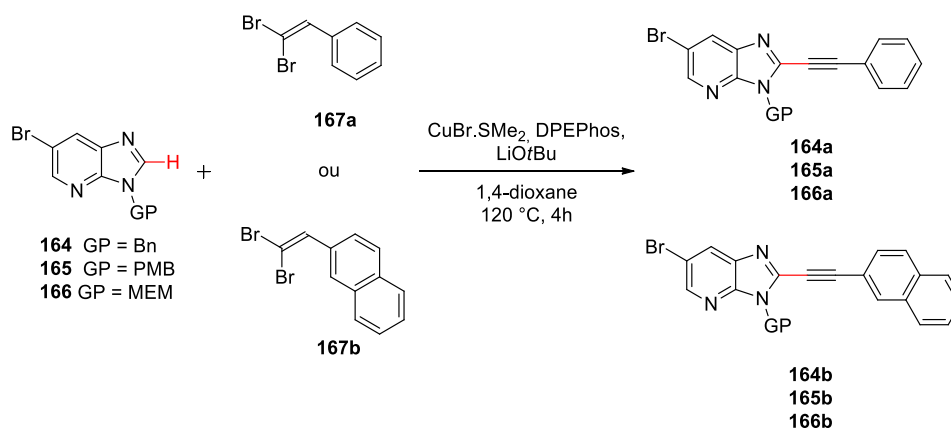


Schéma 55. Protection de l'azote N3.

En appliquant directement les conditions établies sur les oxazoles, les 6-bromoimidazo[4,5-*b*]pyridines **164**, **165** et **166** ont été couplées au β -bromostyrène. Le benzyle et le PMB sont alors apparus comme les groupements protecteurs les plus intéressants, les produits de couplage ayant été obtenus avec des rendements de 66 % et 65 % contre seulement 19 % pour le MEM (Table 15 : Entrées 1 à 3). Cette tendance a ensuite été confirmée en utilisant cette fois le 1-(2,2-dibromovinyle)naphtalène comme partenaire de couplage.

Table 15. Influence du groupement protecteur sur la réaction d'alcynylation directe.

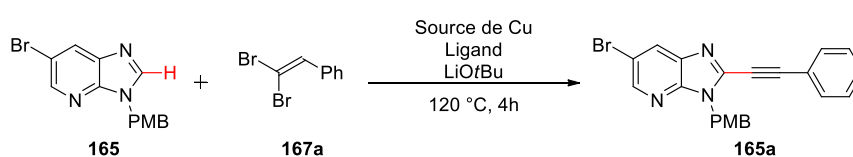


Entrée	Alcène	Groupement Protecteur	Rendement (%)
1	167a	Bn	66
2		PMB	65
3		MEM	19
4	167b	Bn	42
5		PMB	60
6		MEM	33

Comme il présentait l'avantage d'être potentiellement déprotégeable de manière orthogonale à la réduction de la triple liaison, l'utilisation du PMB a été préférée. L'optimisation a donc été réalisée en utilisant les composés **165** et **167a** comme références.

En présence d'acétate de cuivre ($\text{Cu}(\text{OAc})_2$) ou de bromure de cuivre en complexe avec le diméthyle sulfure ($\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$), le couplage a donné des résultats équivalents en fournissant le composé **165a** avec des rendements de 64 et 65 % respectivement (Table 16 : Entrées 1 et 2). En revanche, l'utilisation d'iodure (CuI) ou de sulfate de cuivre pentahydraté ($\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$) s'est avérée délétère, de même que la substitution du cuivre par le palladium (Entrées 3 à 5).

Table 16. Optimisation des conditions d'alcynylation directe.



Entrée	Catalyseur	Ligand	Solvant	Rendement (%)
1	CuBr.SMe₂	DPEPhos	1,4-dioxane	65/53^[a]/69^[b]/25^[c]/Traces^[d]
2	$\text{Cu}(\text{OAc})_2$	DPEPhos	1,4-dioxane	64
3	CuI	DPEPhos	1,4-dioxane	35
4	$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	DPEPhos	1,4-dioxane	31
5	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	DPEPhos	1,4-dioxane	0
6	$\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$	XantPhos	1,4-dioxane	59
7	$\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$	Binap	1,4-dioxane	30
8	$\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$	Dppp	1,4-dioxane	45

La XantPhos, électroniquement et stériquement très proche de la DPEPhos, a mené à un rendement équivalent de 59 % (Entrée 6). L'utilisation de deux autres phosphines bidentates, le BINAP et la Dppp, n'a pas donné de résultat satisfaisant (Entrées 7 et 8).

L'utilisation de 6 équivalents de base LiOtBu semble être optimale, 4 équivalents permettant d'accéder au produit **165a** avec un rendement de 53 % et 8 équivalents ne conduisant pas à une augmentation significative du rendement de base (Entrées 1a, b). La nature de la base n'a pas été modifiée. Il est important de noter que des problèmes de reproductibilité ont été rencontrés au cours de la mise au point de cette méthodologie et que la sublimation du LiOtBu a parfois été nécessaire. En effet, en fonction des lots commerciaux, celui-ci contient une part variable d'espèces anioniques mixtes LiOtBu.LiOH résultant d'une hydrolyse partielle du composé, très hygroscopique.

La présence de cette espèce, non réactive pour le processus d'alcynylation directe,¹¹⁴ peut ainsi altérer le rendement. Ces observations mettent en évidence le rôle crucial de la base dans la réaction d'alcynylation directe et l'importance du pKa de la liaison C – H.

Si la réaction a lieu dans un solvant moins polaire que le 1,4-dioxane, comme le toluène ou le fluorobenzène, le produit **165a** est récupéré avec un très faible rendement, voire uniquement sous forme de traces (Entrées 1c et 1d respectivement).

De plus, la charge minimale en catalyseur est de 10 mol% car, même en conservant le ratio 1 : 2 par rapport à la DPEPhos, la réduction de cette charge mène à une perte significative de rendement. A l'issue de l'optimisation, les conditions fixées sont donc CuBr.SMe₂ à 10 mol%, DPEPhos à 20 mol% et LiOtBu (6 éq.) dans le 1,4-dioxane à 120 °C.

Enfin, plusieurs tentatives de déprotection du PMB en milieu acide (acides chlorhydrique, sulfurique et trifluoroacétique) ont alors été réalisées mais le composé déprotégé n'a jamais pu être isolé. Seule la dégradation du produit de départ et la formation de sous-produits non identifiés ont été observées. Il a donc été décidé d'abandonner ce groupement protecteur et de revenir à l'éther de méthoxyéthoxyméthyle (MEM). Ce groupement avait déjà été utilisé par l'équipe de Macdonald pour l'arylation d'imidazo[4,5-*b*]pyridines et le MEM avait alors pu être déprotégé par l'acide chlorhydrique concentré, dans le THF.^{85c} Cependant, en appliquant les conditions d'alcynylation directe déterminées précédemment, le produit **166a** n'a été obtenu qu'avec un rendement faible de 19 % (Table **15** : entrée 3). L'emploi de Cu(OAc)₂ au lieu de CuBr.SMe₂ a alors permis de ramener cette valeur à 46% et un résultat similaire a été observé pour le produit **166b** isolé à 77 % (Schéma **56**). Dans la suite de l'étude, les deux catalyseurs ont été utilisés en parallèle pour chaque couplage et seul le meilleur résultat est présenté dans le texte (voir partie expérimentale pour le détail des deux rendements).

¹¹⁴ C. Lambert, F. Hampel, P. von Ragé Schleyer, M. G. Davidson, R. Snaith, *J. Organomet. Chem.* **1995**, *487*, 139-141.

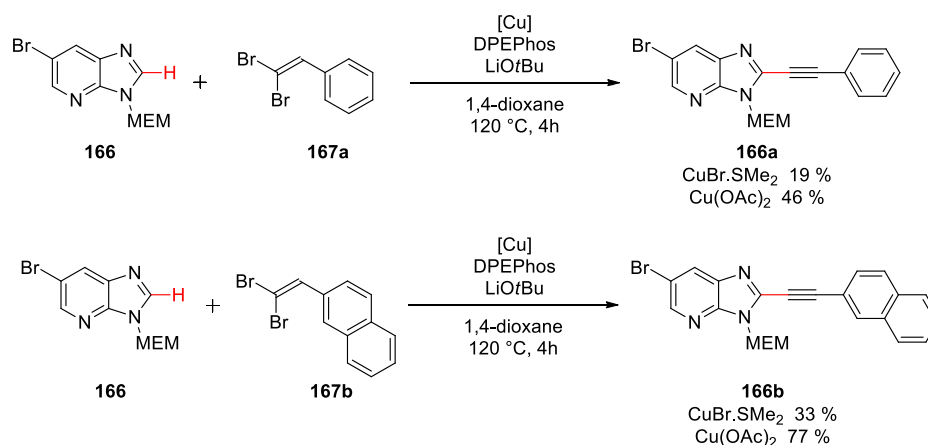


Schéma 56. Influence de la source de cuivre sur la réaction d'alcynylation directe.

III. Diversification des partenaires de couplages *gem*-dibromés

Grace aux conditions optimisées, de nombreux dérivés *gem*-dibromés, riches ou pauvres en électrons, ont pu être couplés à la 6-bromoimidazo[4,5-*b*]pyridine **166** avec des rendements satisfaisants (Schéma **57**). La réaction est compatible avec les groupements protecteurs méthoxy et éther silylé (composés **166f**, **g**). De même, une substitution des positions *mé*ta ou *para* du cycle phényle par des halogènes est possible et ces positions sont intactes après réaction, toujours disponibles pour une fonctionnalisation ultérieure (composés **166h**, **i**, **j**, **k**).

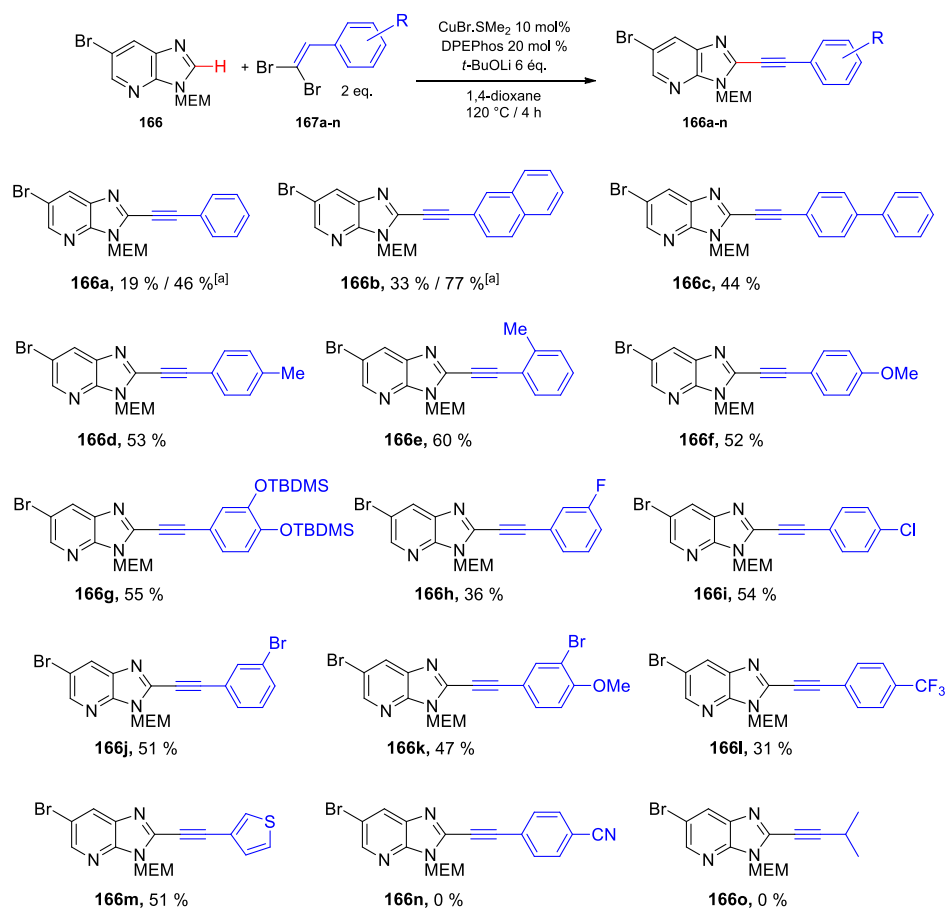


Schéma 57. Diversification des partenaires de couplage gem-dibromés. [a] Le catalyseur utilisé est Cu(OAc)₂.

La présence d'un atome de fluor, introduit directement sur le cycle ou à travers un groupement trifluorométhoxy, semble abaisser la réactivité du dérivé *gem*-dibromé (**166h, l**). Ce motif phényle peut aussi être remplacé par un thiophène sans conséquence sur le rendement de l'alcynylation directe (**166m**). Enfin, la réaction est incompatible avec la présence d'un groupement cyano sur le dérivé *gem*-dibromé (**166n**) de même qu'avec une substitution de l'alcène exclusivement par des chaînes alkyles. Dans les deux cas, le produit attendu n'est visible qu'à l'état de traces. Parmi tous les produits représentés sur le Schéma 57, seules les molécules **166a** et **166b** ont été synthétisées en utilisant le catalyseur Cu(OAc)₂ au lieu de CuBr.SMe₂. Aucun rationnel n'a toutefois pu être établi quant à l'utilisation de ces deux sources de cuivre.

IV. Diversification des substrats imidazo[4,5-*b*]pyridines

L'ajout d'un chlore en position 7 de la 6-bromoimidazo[4,5-*b*]pyridine conduit à une légère baisse de rendement (Schéma 58 : composés **168b**, **168f**). De même, si un atome de chlore est présent en position 5, les produits de couplage sont obtenus en faible proportions (composés **169b**, **169f**). La substitution de la position 6 par un motif phényle entraîne une baisse de rendement pour le couplage avec le 1-(2,2-dibromovinyl)-4-méthoxybenzène (composés **166f**, **171f**). En revanche, la réaction ne semble pas sensible à la substitution de ce phényle, les composés **170f**, **171f** et **172f** étant obtenus avec des rendements sensiblement équivalents.

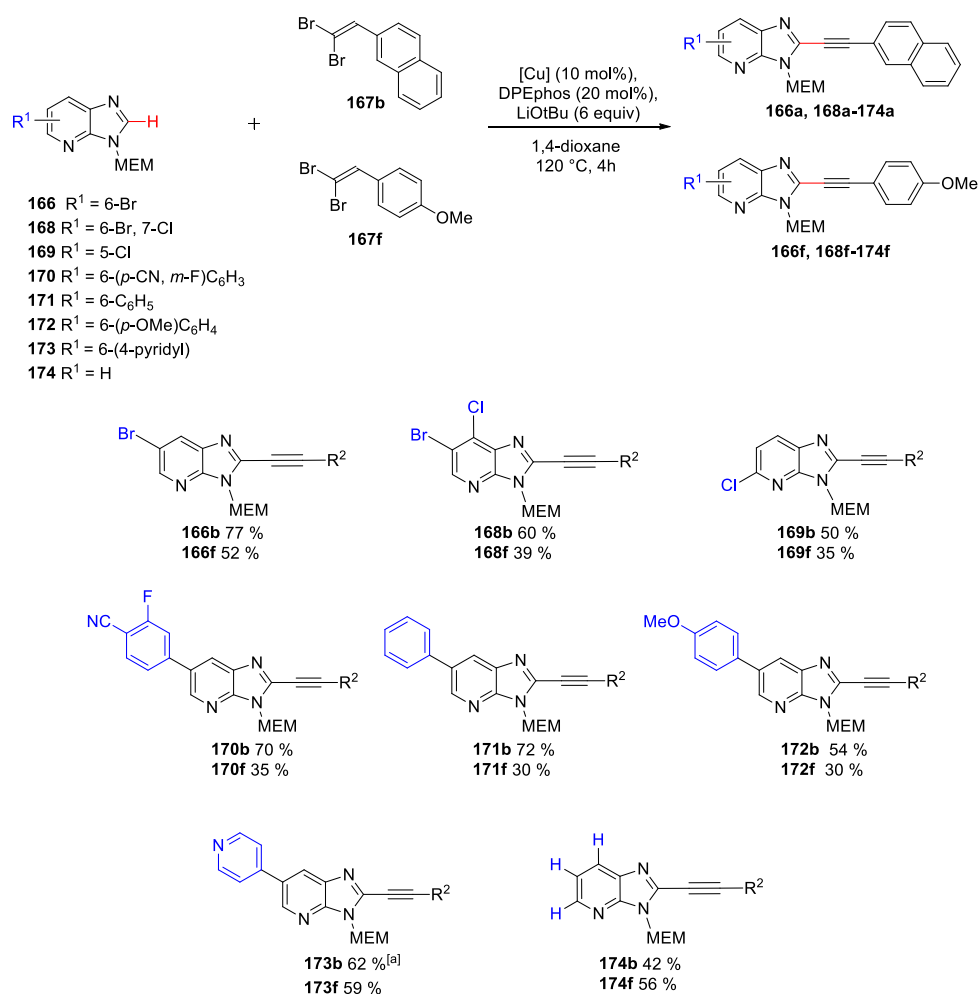


Schéma 58. Influence de la substitution du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine sur l'alcynylation directe. [a] Le catalyseur utilisé est Cu(OAc)₂.

Lors du couplage avec le 2-(2,2-dibromovinyl)naphtalène **167b**, le caractère électronique de ce phényle en position 6 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine semble plus déterminant. En effet, le rendement de la réaction est faiblement impacté par la présence d'un groupement cyano mésomère attracteur en *para* et d'un fluor en *mé*ta (composés **171b** et **170b**) mais chute lorsqu'un substituant mésomère

donneur tel que méthoxy est présent (composé **172b**). Lorsque la position 6 est substituée par un hétérocycle pauvre en électrons tel qu'une pyridine, les rendements sont satisfaisants et équivalents quel que soit le partenaire *gem*-dibromé utilisé (composés **173b** et **173f**). Cependant, dans le cas du composé **173b**, le passage au catalyseur Cu(OAc)₂ a été nécessaire. Le couplage du 2-(2,2-dibromovinyl)naphtalène **167b** et du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine non substitué **174** conduit au composé **174b** avec un rendement de 42 %, le plus faible observé. Pourtant, le couplage avec le 1-(2,2-dibromovinyl)-4-méthoxybenzène **167f** n'est pas impacté et le composé **174f** est obtenu avec un rendement de 56 %. De manière générale, l'alcynylation directe est donc favorisée lorsque l'imidazo[4,5-*b*]pyridine est appauvrie en électrons mais l'issue de la réaction dépend aussi grandement de la substitution du partenaire *gem*-dibromé.

V. Mécanisme de la réaction

A ce jour, quatre types de mécanismes ont été proposés pour la fonctionnalisation directe (Schéma 59) :¹¹⁵

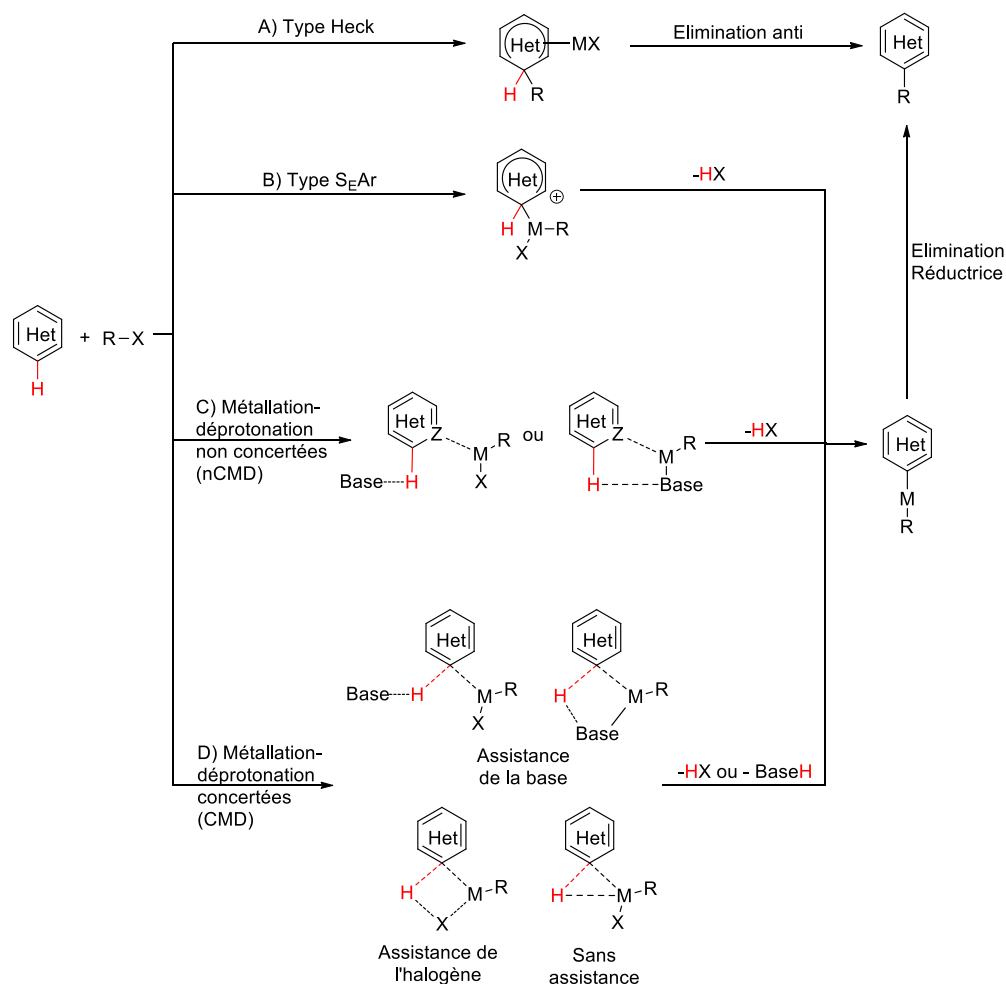


Schéma 59. Quatre mécanismes possibles pour la fonctionnalisation directe.¹¹⁵

- A) une carbométallation, assimilable à un mécanisme de type Heck.
- B) une métallation électrophile, de type substitution électrophile aromatique
- C) une métallation-déprotonation non concertées, semblable à un couplage croisé
- D) une activation C–H par métallation-déprotonation concertées

¹¹⁵ L. Théveau, C. Verrier, P. Lassalas, T. Martin, G. Dupas, O. Querolle, L. Van Hijfte, F. Marsais, C. Hoarau, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 14450-14463.

Rôle de la base

En comparant l'imidazo[4,5-*b*]pyridine¹¹⁶ à d'autres hétérocycles plus communs,⁸⁹ il apparaît que la valeur du pKa de cette liaison est particulièrement élevée (Figure 63). Cette observation met en relief le défi que représente la fonctionnalisation directe de cette position et justifie qu'une base très forte telle que LiOtBu soit nécessaire (pKa = 17).

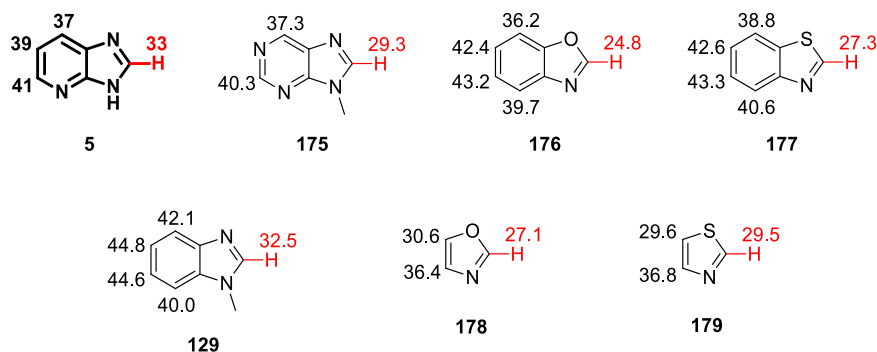


Figure 63. pKa de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine et comparaison à divers hétérocycles.

Comme mentionné précédemment, le rôle essentiel joué par la base a aussi été mis en évidence expérimentalement par la nécessité, à plusieurs reprises, de sublimer le LiOtBu afin d'augmenter sa réactivité. Pour cette raison, nous pouvons postuler un mécanisme de type CMD ou nCMD avec assistance de la base pour la réaction d'alcynylation directe. De plus, le cuivre(I) étant peu électrophile, il semble peu probable qu'un mécanisme de type S_EAr soit favorisé.

Rôle du cuivre

Lors de l'étude d'une méthode d'arylation directe d'arènes par une catalyse au cuivre, l'équipe de Daugulis a montré que le 1,2,3,4,5-pentafluorobenzène **180** pouvait être déprotoné par une base puis réagir avec le catalyseur CuI et le ligand phénanthroline pour former l'espèce organocuivrée **181** (Schéma 60).¹¹⁷

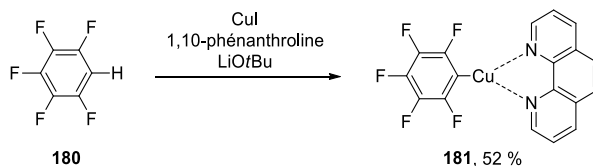


Schéma 60. Complexe décrit par Daugulis.

¹¹⁶ Calculs réalisés à l'Institut Curie par le Dr. Nicolas Saettel à l'aide du programme Jaguar, méthode B3LYP.

¹¹⁷ H.-Q. Do, R. M. K. Khan, O. Daugulis, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15185-15192.

Par analogie à ces travaux, nous pouvons proposer un intermédiaire similaire pour la réaction d'alcynylation directe, avec une liaison C2 – Cu coordonnée à la DPEPhos (Figure 64).

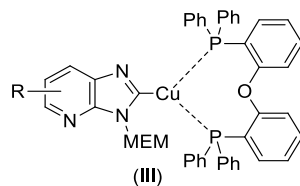


Figure 64. Intermédiaire réactionnel proposé par analogie aux travaux de Daugulis.

Pour lever l'indétermination sur le mécanisme de type CMD ou nCMD le plus favorable pour la formation de cet intermédiaire cuivré, plusieurs tentatives de couplage ont été réalisées sur d'autres hétérocycles (Schéma 61).

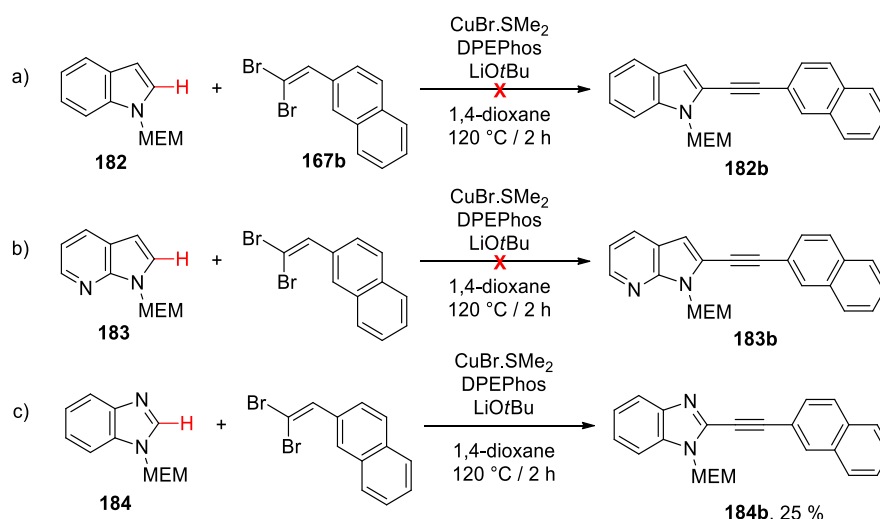


Schéma 61. Tentatives d'alcynylation directe sur les noyaux indole et 7-azaindole.

Les deux échecs rencontrés pour l'alcynylation directe des noyaux indole **182** et 7-azaindole **183** semblent mettre en évidence l'importance de l'azote *N1* sur le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine. Cette hypothèse est renforcée par le fait que le produit de couplage **184b** est quant à lui obtenu avec un rendement de 25 %. Pour cette raison, il semble qu'un mécanisme de type nCMD avec coordination du cuivre sur cet azote *N1* soit à privilégier. L'importance de la coordination entre cet atome d'azote et le métal de transition a déjà été mise en évidence sur le noyau purine par l'équipe de Fairlamb en 2009.¹¹⁸ D'après Gorelsky, ce phénomène permet d'abaisser le pKa de la liaison C – H et donc d'augmenter sa réactivité.¹¹⁹

¹¹⁸ T. E. Storr, C. G. Baumann, R. J. Thatcher, S. De Ornellas, A. C. Whitwood, I. J. S. Fairlamb, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5810-5821.

¹¹⁹ S. I. Gorelsky, *Organometallics* **2012**, *31*, 794-797.

Proposition de mécanisme

En nous basant sur ce qui a été décrit précédemment, nous proposons le mécanisme nCMD suivant pour l'alcynylation du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine (Schéma 62).

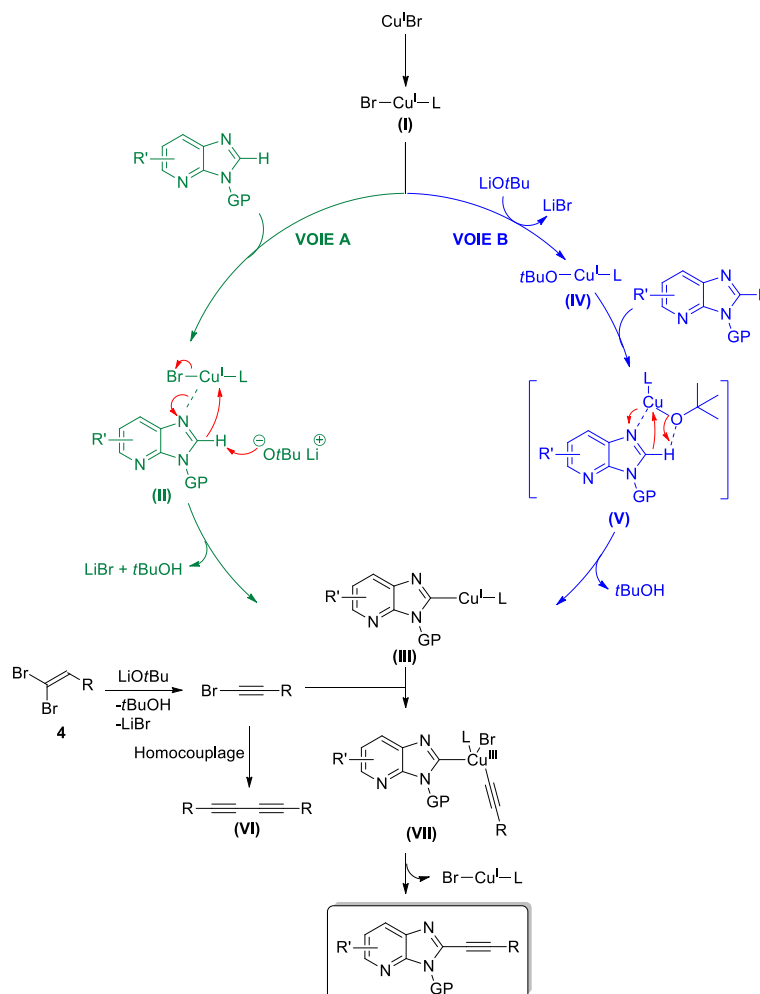


Schéma 62. Mécanismes proposés pour l'alcynylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

Le premier, noté **A**, débute par la coordination du complexe de cuivre (**I**) à l'azote *N1* en alpha de la liaison C – H à activer sur l'imidazo[4,5-*b*]pyridine. L'étape suivante est la déprotonation de la position 2 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine par la base LiOtBu suivie d'un réarrangement pour former la 2-cuprioimidazo[4,5-*b*]pyridine (**III**).¹¹²

Cet intermédiaire peut aussi être formé selon un second mécanisme, noté **B**. Un échange de ligand décrit par Hartwig et Lin a alors lieu entre le complexe (**I**) et la base et permet de former le complexe alkoxyde (**IV**).¹²⁰ L'état de transition (**V**) est alors formé par une coordination du cuivre à

¹²⁰ (a) J. W. Tye, Z. Weng, R. Giri, J. F. Hartwig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2185-2189; (b) M. Wang, T. Fan, Z. Lin, *Organometallics* **2012**, *31*, 560-569.

l'azote *N1* similaire à celle du mécanisme A puis une déprotonation a lieu et aboutit au complexe (III) attendu. D'après les calculs DFT réalisés par l'équipe de Lin, le complexe (IV) neutre peut être substitué par un complexe anionique (IV_b) énergétiquement favorable pour la fonctionnalisation directe d'hétérocycles oxygénés ou soufrés (Schéma 63).

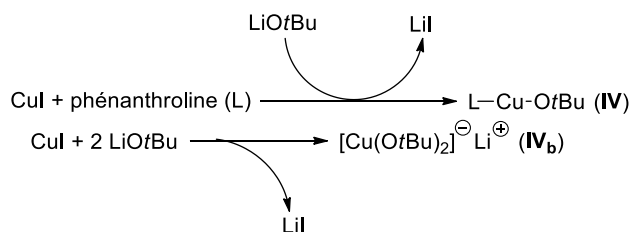


Schéma 63. Formation des complexes (IV) et (IV_b) cuivrés.

Cependant, dans le cas de l'imidazole et du benzimidazole, le complexe neutre reste privilégié. Nous supposons que c'est aussi le cas pour le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

En parallèle a lieu *in situ* la déhydrobromation du dérivé *gem*-dibromé pour former le bromure d'alcyne correspondant. La présence de cette espèce dans le milieu est confirmée par la formation importante du composé (VI) par homocouplage. De plus, lorsque la 2-bromoimidazo[4,5-*b*]pyridine **166** est mise en réaction avec le bromure de phényléthyne dans les mêmes conditions, le produit **166a** est obtenu avec un rendement de 60 %, confirmant la bonne réactivité de cette espèce (Schéma 64).

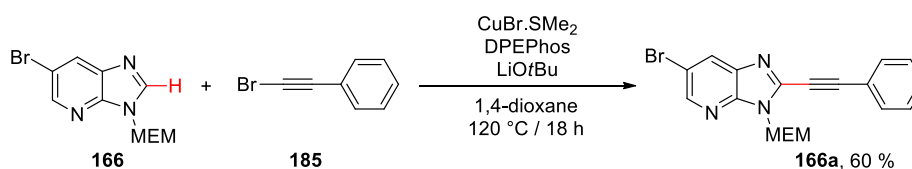


Schéma 64. Alcynylation directe de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** par le bromure de phénylacétylène.

Enfin, l'addition oxydante de l'alcyne bromé sur le complexe (III) suivie d'une élimination réductrice permet la formation du produit de couplage et la régénération du système catalytique.

Ces deux propositions de mécanismes permettent de justifier la nécessité d'utiliser une grande quantité de base (6 éq.) car celle-ci est utile non seulement à la déprotonation du noyau aromatique mais aussi à la formation de l'intermédiaire alcyne bromé.

Le fait que les rendements observés au cours de l'optimisation aient été globalement plus faible pour les substrats protégés par un MEM peut peut-être s'expliquer par la coordination du cuivre aux atomes d'oxygène (Figure 65).

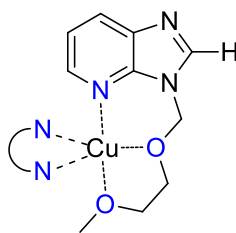


Figure 65. Proposition de complexe entre le cuivre et l'imidazo[4,5-*b*]pyridine protégée par un MEM.

La formation d'une cage autour du cuivre empêcherait ainsi le métal de se coordiner à l'atome d'azote *N1* et ainsi de permettre la déprotonation de la liaison C2 – H. Toutefois, aucune donnée expérimentale ne permet pour l'instant d'appuyer cette théorie.

VI. Déprotection des produits de couplage

Enfin, de manière à illustrer l'intérêt du MEM comme groupement protecteur dans cette réaction, quelques 6-bromo-2-alcynylimidazo[4,5-*b*]pyridines ont été déprotégées (Schéma 65). Contrairement à l'utilisation d'acide chlorhydrique décrite par Macdonald,^{85c} l'acide sulfurique a ici été privilégié pour éviter une réaction entre la triple liaison et le nucléophile Cl⁻. Les produits sont obtenus avec des rendements modestes mais présentent l'avantage de précipiter dans le THF. Il est donc possible de les isoler facilement, sans purification supplémentaire.

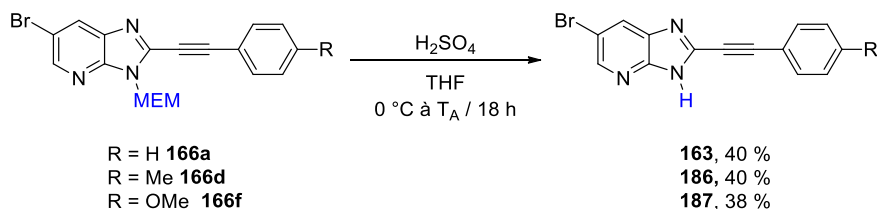


Schéma 65. Déprotection des produits d'alcynylation directe protégés par MEM.

VI. Conclusions

Une méthode efficace d'alcynylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine catalysée par le cuivre a ainsi été mise au point. Compatible avec de nombreux groupements fonctionnels et protecteurs, elle a permis d'établir une petite chimiothèque de 31 molécules avec des rendements de 30 à 77 % (Schéma 66). En s'appuyant sur la littérature et plusieurs tentatives d'alcynylation directe d'autres hétérocycles, un mécanisme réactionnel a pu être proposé. Il serait toutefois intéressant de compléter cette étude par des calculs DFT afin d'appuyer ces hypothèses. Trois analogues 2-alcynylimidazo[4,5-*b*]pyridines ont pu être déprotégés en milieu acide sans dégrader la triple liaison, illustrant ainsi l'intérêt du MEM comme groupement protecteur orthogonal à la triple liaison. L'ensemble de ces travaux a donné lieu à une publication.¹²¹

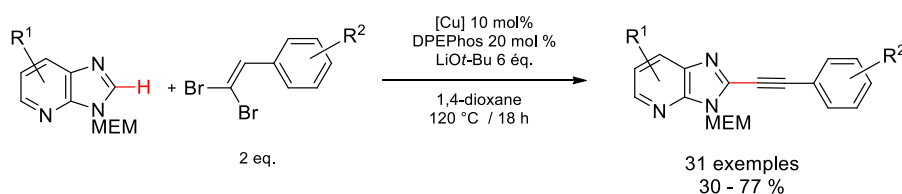


Schéma 66. Alcynylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

¹²¹ J. Aziz, T. Baladi, S. Piguel, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 4122-4133.

Alcénylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine

En parallèle de la mise au point des conditions d'alcénylation directe décrites précédemment, des travaux de méthodologie ont été réalisés sur l'alcénylation directe de la même position (Schéma 67).

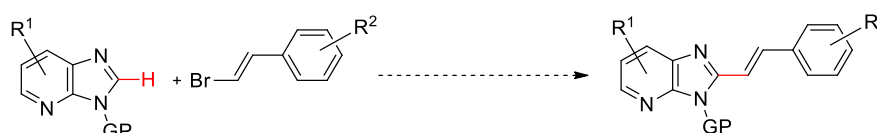


Schéma 67. Réaction d'alcénylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

I. Introduction

1) Etat de l'art sur l'alcénylation directe d'hétérocycles

L'alcénylation directe d'hétérocycles s'est rapidement développée depuis 2001, quand l'équipe d'Inoue décrit pour la première fois une catalyse par le ruthénium pour l'ortho-alcénylation de la 2-phénylpyridine **188** (Schéma 68).¹²² Par la suite, cette méthode a pu être étendue au noyau 2-aryloxazoline **192**, uniquement avec des alcènes substitués par un groupement méthyle ou phényle.

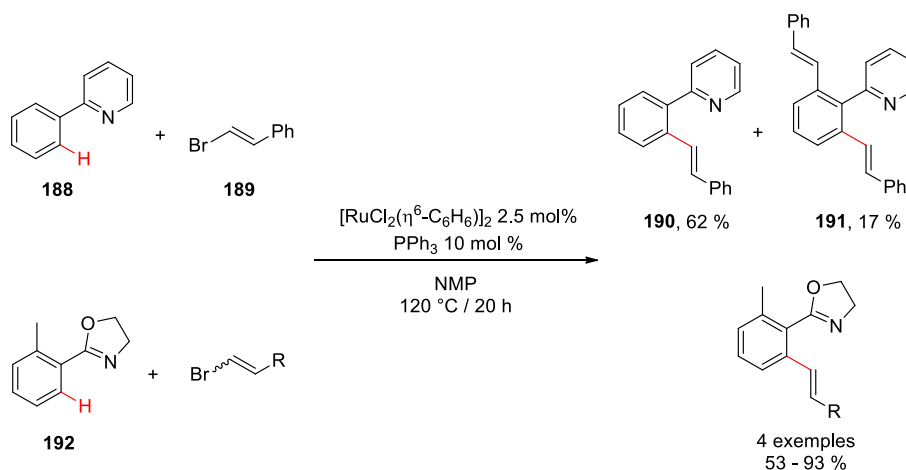


Schéma 68. Premier exemple d'alcénylation directe.

¹²² S. Oi, S. Fukita, N. Hirata, N. Watanuki, S. Miyano, Y. Inoue, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2579-2581.

Bien que des conditions de catalyse par le rhodium¹²³ ou le fer¹²⁴ aient été décrites, nous ne détaillerons ici que six méthodes d'alcénylation directe catalysées par le palladium et/ou le cuivre. En effet, ces deux métaux restent des catalyseurs de choix pour leur coût, leur réactivité et leur tolérance générale à une large gamme de groupements fonctionnels. L'ensemble de ces méthodes utilise les alcènes monohalogénés comme partenaires de couplage.

Au laboratoire, l'alcénylation directe de la position 2 de 5-phényloxazoles a été décrite, en utilisant une catalyse par le cuivre en présence d'un ligand azoté (Schéma 69).¹²⁵ Ces conditions tolèrent une grande diversité fonctionnelle.

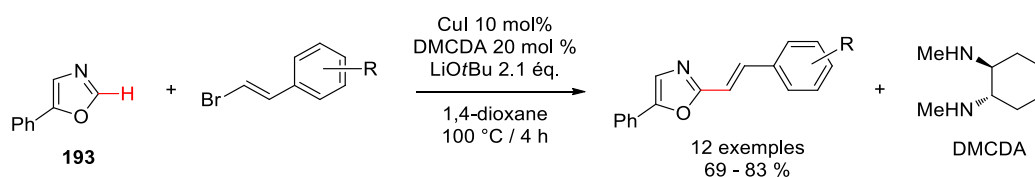


Schéma 69. Exemple de catalyse par le cuivre.

Toujours au sein de notre laboratoire, la synthèse de 2-vinyl-5-phényloxazoles par une catalyse au palladium a été étudiée (Schéma 70).¹²⁶ Cette réaction nécessite l'utilisation d'une base forte mais a permis l'introduction d'alcènes de manière régiosélective et stéréospécifique avec des rendements satisfaisants.

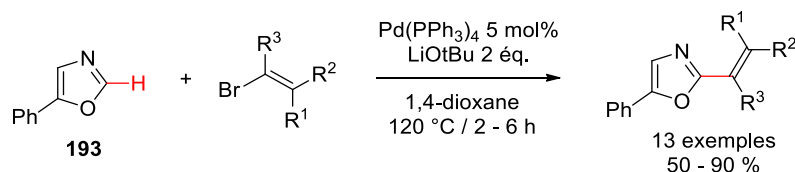


Schéma 70. Exemple de catalyse par Pd(PPh₃)₄.

L'équipe d'Alami utilise pour la première fois un système palladium/cuivre en proportions 1:2 pour l'alcénylation directe de benzazoles (Schéma 71).¹²⁷ Plusieurs partenaires monohalogénés sont compatibles avec cette réaction, qu'ils soient substitués par des groupements phényles ou alkyles.

¹²³ B. Gong, J. Shi, X. Wang, Y. Yan, Q. Li, Y. Meng, H. E. Xu, W. Yi, *Adv. Synth. Catal.* **2014**, 356, 137-143.

¹²⁴ H. T. Dang, T. N. Lieu, T. Truong, N. T. S. Phan, *J. Mol. Catal. A* **2016**, 420, 237-245.

¹²⁵ F. Besselièvre, S. Piguel, F. Mahuteau-Betzer, D. S. Grierson, *Org. Lett.* **2008**, 10, 4029-4032.

¹²⁶ F. Besselièvre, S. Lebrequier, F. Mahuteau-Betzer, S. Piguel, *Synthesis* **2009**, 2009, 3511-3518.

¹²⁷ S. Sahnoun, S. Messaoudi, J.-D. Brion, M. Alami, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2010, 6097-6102.

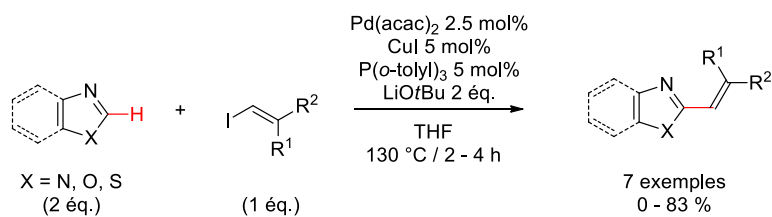


Schéma 71. Exemple d'alcénylation directe co-catalysée par un système Pd/Cu.

Une méthode d'alcénylation de benzoxazoles catalysée par le palladium est rapportée en 2012 par l'équipe de Willis (Schéma 72).¹²⁸ Rapide, cette réaction est réalisée en milieu aqueux et permet de conserver la stéréochimie du précurseur alcène iodé. Cependant, un excès de substrat est nécessaire.

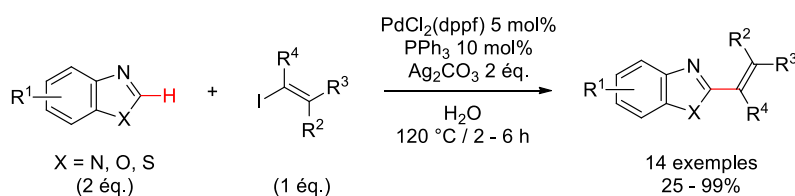


Schéma 72. Exemple d'alcénylation directe dans l'eau.

Enfin, un système co-catalytique palladium/cuivre similaire a été développé au laboratoire en 2011 pour l'alcénylation directe assistée par micro-ondes de la position 8 de purines à l'aide de partenaires β -bromostyrènes (Schéma 73).¹²⁹ Cette méthode avait permis la synthèse de plusieurs N9-benzyl-8-styryl-purines avec des rendements variables de 24 à 71 %. Des rendements similaires avaient été obtenus lors de l'utilisation d'autres substrats azoles analogues.

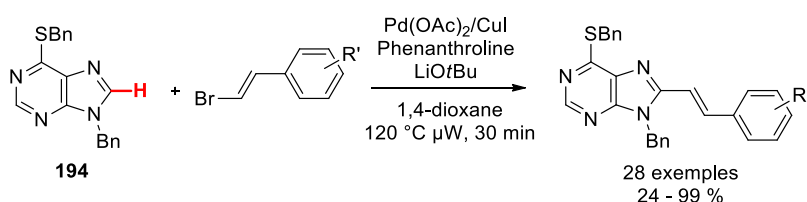


Schéma 73. Alcénylation directe de 9-benzylpurines.

¹²⁸ M. Gerelle, A. J. Dalencon, M. C. Willis, *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 1954-1957.

¹²⁹ R. Vabre, F. Chevot, M. Legraverend, S. Piguel, *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 9542-9547.

2) Etat de l'art sur la synthèse de 2-styrylimidazo[4,5-*b*]pyridines

La première synthèse de 2-styrylimidazo[4,5-*b*]pyridines a été décrite pour la première fois en 1964 par Komlossy, par condensation de dérivés d'acide cinnamique sur un noyau 2,3-diaminopyridine en présence d'acide polyphosphorique (Schéma 74 : équation 1).¹³⁰ Cependant, cette méthode requiert des conditions dures et n'a été décrite que sur un nombre très limité de substrats. En 1979, Ratnam accède à des 2-styrylimidazo[4,5-*b*]pyridines par condensations de divers benzaldéhydes substitués sur des 2-méthylimidazo[4,5-*b*]pyridines à haute température (équation 2).¹³¹ Cette méthode donne de meilleurs rendements que la précédente mais présente l'inconvénient d'utiliser les benzaldéhydes en large excès et de nécessiter une température encore plus élevée.

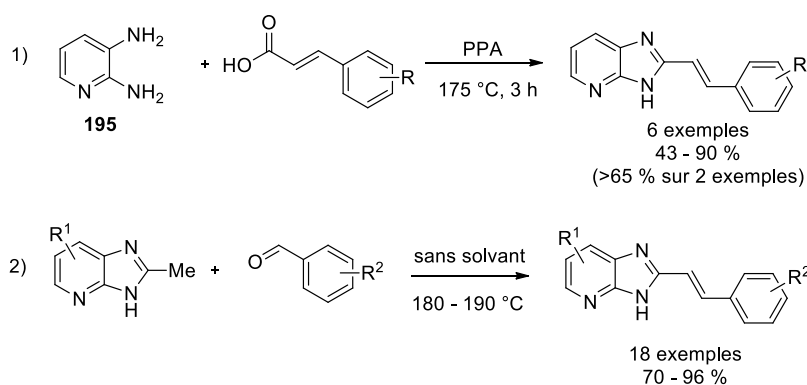


Schéma 74. Travaux précédents pour l'introduction du motif styryle en position 2 d'imidazo[4,5-*b*]pyridines.

Nous avons donc cherché à transposer les conditions d'alcénylation directe des 9-benzylpurines décrites précédemment à la fonctionnalisation directe de la position 2 de notre noyau d'intérêt (Schéma 75). Les partenaires de couplages β -bromostyrènes seront préparés en une étape par réduction des alcènes *gem*-dibromés correspondants, dans les conditions décrites par l'équipe d'Agawa.¹³²

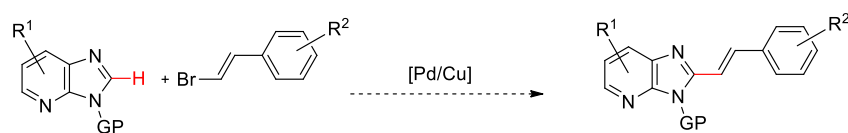


Schéma 75. Alcénylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine à développer.

¹³⁰ D. L. Garmaise, J. Komlossy, *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 3403-3405.

¹³¹ P. K. Dubey, C. V. Ratnam, *Indian J. Chem.* **1979**, *18*, 428-431.

¹³² T. Hirao, T. Masunaga, Y. Ohshiro, T. Agawa, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3745-3747.

II. Optimisation des conditions réactionnelles

Comme pour l'étude de la réaction d'alcénylation directe, la 6-bromoimidazo[4,5-*b*]pyridine **125** a été choisie comme matière première. La réaction n'ayant pas eu lieu avec le substrat non protégé, nous nous sommes intéressés premièrement à l'utilisation du groupement protecteur THP car il présentait l'avantage d'être déprotégeable en milieu acide, de façon orthogonale à la réduction de la double liaison (Schéma 76). Celui-ci est introduit dans les mêmes conditions que dans le cas des molécules à visée thérapeutique, à partir du DHP en présence d'APTS. Le composé **197** est alors obtenu avec un rendement de 67 %.

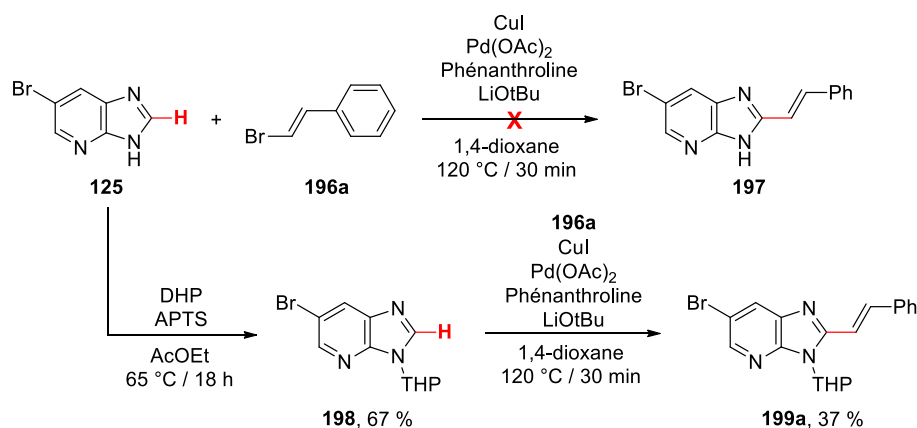
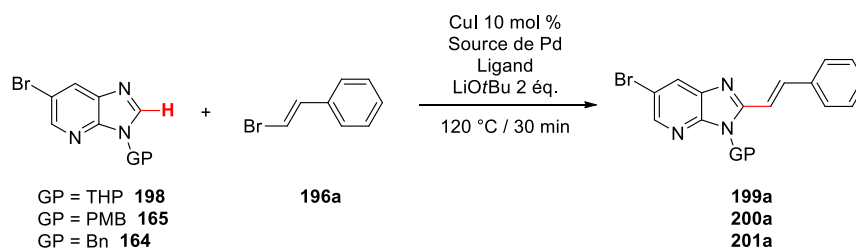


Schéma 76. Nécessité de la protection de l'azote N3 préalablement à l'alcénylation directe.

Malheureusement, en appliquant directement les conditions de co-catalyse Pd/Cu décrites précédemment, le rendement pour la molécule **199a** n'a pas excédé 40 % (Table 17 : Entrée 1). Même en prolongeant la durée d'irradiation à 1h, ce résultat n'a pas pu être amélioré, bien que du produit de départ était encore visible par chromatographie. Lors du suivi de la réaction, il est apparu que le seul produit secondaire formé était issu de la dimérisation très rapide du partenaire β -bromostyrène, récupéré en très grande quantité à l'issue du couplage. Un essai a donc été réalisé en utilisant 10 équivalents de β -bromostyrène pour tenter d'augmenter la quantité de monomère en solution mais le rendement a alors chuté à 26 % (Entrée 2). On peut donc supposer que ce large excès a en fait favorisé la réaction de dimérisation par rapport à la réaction de couplage. Le changement de groupe protecteur de THP à PMB a alors été envisagé et a permis d'atteindre, au mieux, un rendement de 52 % (Entrée 3). La source de palladium la plus efficace est toutefois restée l'acétate de palladium (Entrées 4 et 5).

Table 17. Optimisation des conditions d'alcénylation directe assistée par micro-ondes.



Entrée	GP	Source de Pd (5 mol%)	Ligand (20 mol%)	Rendement (%)
1	THP	Pd(OAc) ₂	Phénanthroline	37
2	THP	Pd(OAc) ₂	Phénanthroline	26
3	PMB	Pd(OAc) ₂	Phénanthroline	52
4	PMB	PdCl ₂ (dppf)	Phénanthroline	3
5	PMB	Pd(PPh ₃) ₄	Phénanthroline	25
6	Bn	Pd(OAc)₂	Phénanthroline	66/41^[a]/37^[b]/70^[c]
7	Bn	PdCl ₂ (MeCN) ₂	Phénanthroline	55
8	Bn	Pd(OAc) ₂	Terpyridine	37
9	Bn	Pd(OAc) ₂	XPhos	3
10	Bn	Pd(OAc) ₂	XantPhos	20
11	Bn	Pd(OAc) ₂	XantP. /Phen.	12

Finalement, et de la même façon que pour le travail réalisé sur les purines, le groupement protecteur donnant le meilleur rendement a été le benzyle (66 %, Entrée 6). Nous avons donc choisi de le conserver pour la suite de l'optimisation, renonçant de la même façon à sa déprotection. Le ratio 1 : 2 entre palladium et cuivre semble crucial (Entrée 6a : 10 mol% de catalyseur au palladium) et l'absence de l'un des deux métaux du milieu réactionnel conduit uniquement à des traces de produit. L'irradiation aux micro-ondes est elle aussi déterminante, un rendement de 8 % étant obtenu en 18h de réaction sous chauffage traditionnel en bain d'huile à la même température. Comme pour la réaction d'alcylation directe, l'utilisation d'un solvant moins polaire tel que le fluorobenzène entraîne une chute drastique du rendement (Entrée 6b). Comme précédemment, l'acétate de palladium est à nouveau le meilleur catalyseur pour la réaction d'alcénylation directe (Entrée 7).

Nous nous sommes alors attachés à l'étude de l'influence du ligand. La substitution de la phénanthroline par la terpyridine n'est pas bénéfique à la réaction (Entrée 8), de même que l'utilisation de ligands du palladium, la Xphos et la XantPhos (Entrées 9 et 10). L'utilisation combinée

de XantPhos et de phénanthroline chacune à 20 mol% a conduit à un rendement encore plus faible que lors de l'utilisation de la XantPhos seule (Entrée 11).

Ayant obtenu à ce stade des résultats très similaires à ceux décrits pour l'alcénylation directe des purines, nous avons décidé de ne pas faire varier la source de cuivre (CuI) et la base (LiOtBu) utilisées. Les conditions déterminées à l'issue de cette étape d'optimisation sont donc Pd(OAc)₂ à 5 mol%, CuI à 10 mol%, phénanthroline à 20 mol%, LiOtBu (2 éq.) dans le 1,4-dioxane, sous irradiations micro-ondes à 120 °C pendant 30 min. Il est important de mentionner que la réaction est viable sur des échelles de l'ordre du gramme (Entrée 6c : 2.6 mmol de substrat).

Nous pouvons noter qu'à l'image du MEM pour la réaction d'alcynylation directe, le THP a conduit ici aux rendements les plus faibles. Cette observation semble mettre en évidence l'incompatibilité du motif N3 – CH₂ – O – CH₂ avec la fonctionnalisation directe de la liaison C2 – H et renforce ainsi l'hypothèse d'une coordination entre cuivre et oxygène.

III. Diversification des partenaires de couplages bromés

L'utilisation de ces conditions a permis de coupler l'imidazo[4,5-*b*]pyridine **164** à une grande variété de β-bromostyrènes riches ou déficients en électrons avec des bons rendements (Schéma **77**). Une large gamme de groupements fonctionnels (halogènes, cyano) et protecteurs d'alcools (méthoxy, éther silylé) est tolérée. En particulier, la réaction est aussi compatible avec la présence d'un acétal, groupement protecteur des fonctions aldéhyde et cétone très utilisées en chimie organique. Cette caractéristique de la réaction est très intéressante car de tels groupements peuvent être mis à profit pour d'autres types de fonctionnalisations à la suite de l'alcénylation directe. Nous pouvons tout de même noter que la présence d'un groupement nitro sur le styrène mène à une perte importante de rendement (**201k**).

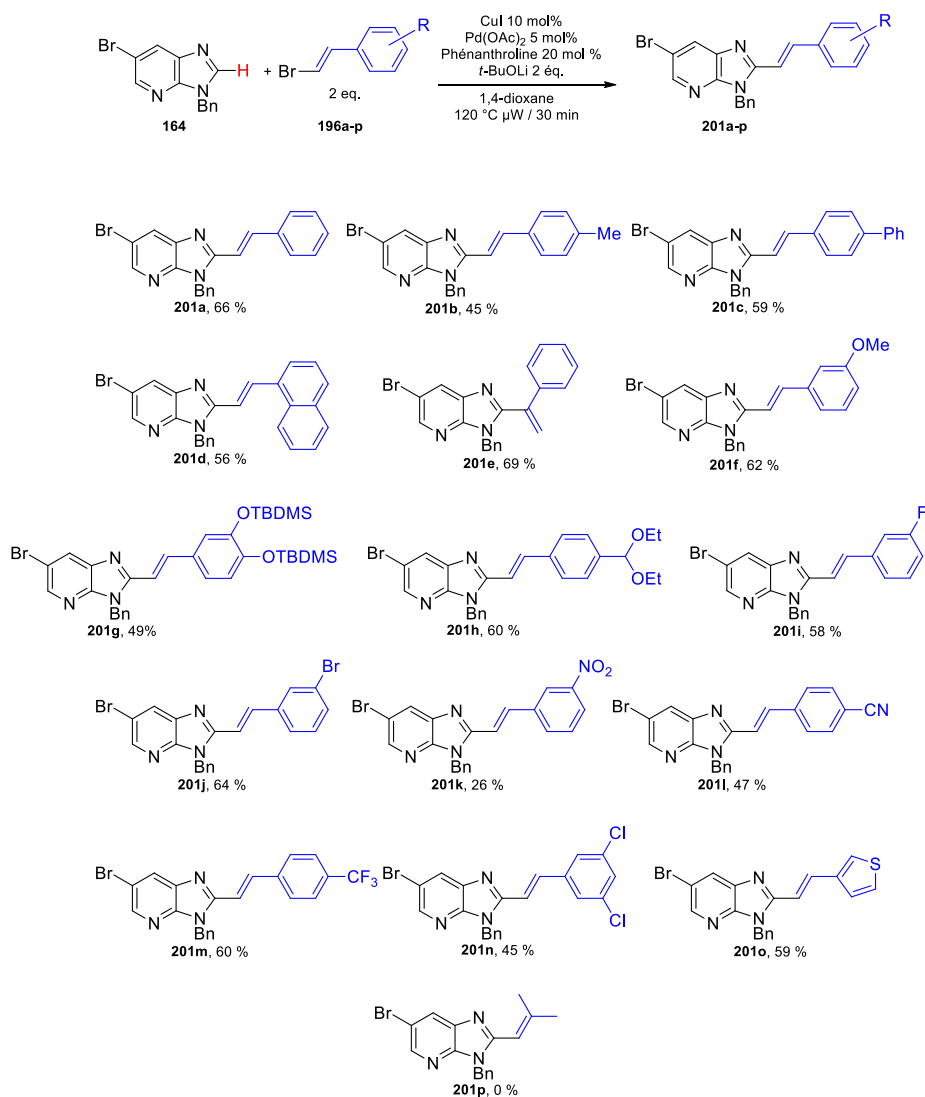


Schéma 77. Diversifications des partenaires de couplages bromés.

De manière analogue à l'alcénylation directe, le motif bromostyrène a pu être remplacé par un motif 3-vinylthiophène sans conséquence notable sur le rendement (**201o**). En revanche, la réaction n'est pas compatible avec un dérivé bromé où la double liaison n'est substituée que par des alkyles et le substrat est alors récupéré dans son intégralité (**201p**).

IV. Diversification des substrats imidazo[4,5-*b*]pyridines

La substitution des positions 5, 6 et 7 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine par des halogènes n'interfère pas avec la réaction et la position halogénée est laissée intacte, laissant le chemin libre vers l'obtention d'imidazo[4,5-*b*]pyridines polysubstituées (Schéma 78 : composés **202a**, **203a** et **204a**). L'alcénylation directe de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine elle-même est aussi possible mais donne un rendement moins bon de 42 % (**205a**). La réaction est réalisable sur des 6-arylimidazo[4,5-*b*]pyridines mais dépend alors fortement de la substitution de l'aryle. En effet, la présence d'un groupement méthoxy mésomère donneur en *ortho* est très néfaste et le produit attendu n'est alors obtenu qu'avec un rendement de 9% (**206a**). A l'inverse, la présence d'un groupement cyano mésomère attracteur en *para* et d'un fluor en *mé*ta est favorable à la réaction (**208a**).

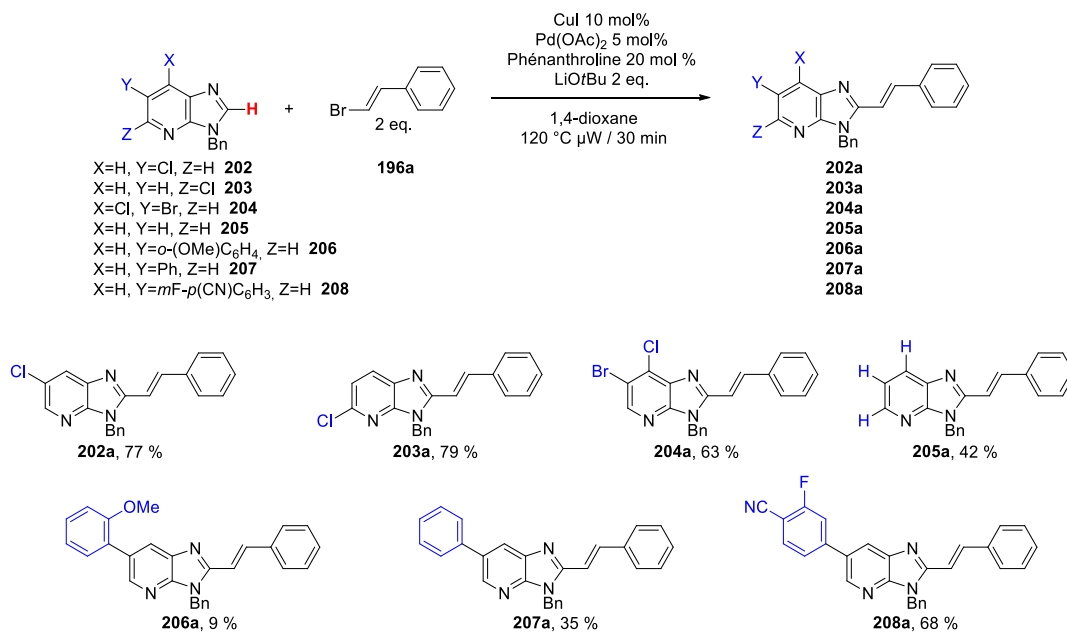


Schéma 78. Influence de la substitution du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine sur l'alcénylation directe.

Il semble donc que l'alcénylation directe soit particulièrement sensible à la densité électronique présente sur le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine et ne se déroule dans de bonnes conditions que pour des substrats très pauvres en électrons.

V. Mécanisme de la réaction

A la lumière de cette étude et comme pour la réaction d'alcénylation directe, le pKa de la liaison C2-H semble déterminant et une base forte telle que LiOtBu est donc nécessaire au couplage.

Le mécanisme de la réaction, par analogie à celui proposé pour l'alcénylation directe et aux travaux de thèse du Dr. Vabre réalisés au laboratoire sur le noyau purine, devrait être constitué de deux cycles de catalyse (Schéma 79).¹³³

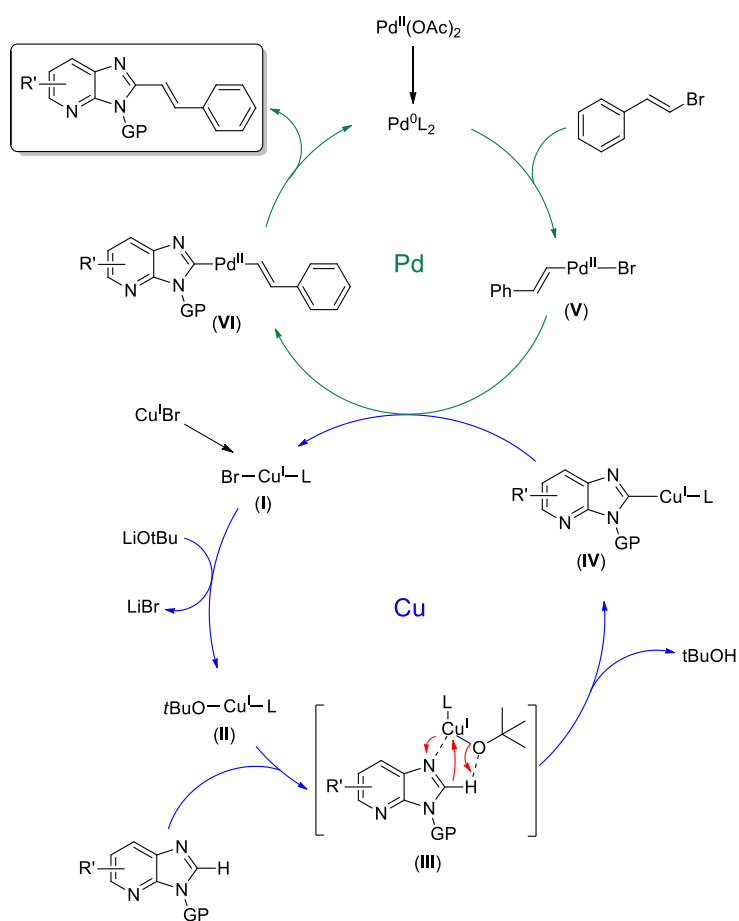


Schéma 79. Mécanisme proposé pour l'alcénylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

Dans le cycle de catalyse au cuivre, le complexe alkoxyde (II), analogue à celui décrit pour l'alcénylation directe, se coordine à l'azote *N1* du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine pour former l'état de transition (III), qui subit à son tour une déprotonation et un réarrangement internes. Parallèlement, l'addition oxydante de la liaison C – Br du bromostyrène sur le palladium donne le complexe (V) par addition oxydante. Une étape de transmétalement entre les espèces (IV) et (V) conduit ensuite à la

¹³³ Thèse de R. Vabre, Université Paris-Sud 2013.

formation du complexe **(VI)** qui, par élimination réductrice, permet de libérer le produit de couplage et de régénérer le palladium à l'état d'oxydation 0.

Application à la synthèse d'un nouveau composé *push-pull* fluorescent

De nos jours, la fluorescence est une technique incontournable en microscopie cellulaire, notamment utilisée pour l'imagerie des tissus biologiques. Le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine est présent depuis 2010 dans la littérature pour ses propriétés de fluorescence. Tout d'abord, le transfert de protons au sein des états fondamental et excité de la 2-(2'-hydroxyphényl)imidazo[4,5-*b*]pyridine **209** a été étudié par les équipes de Krishnamoorthy,¹³⁴ Eichen¹³⁵ et Mosquera (Figure 66).¹³⁶ Les effets de solvant et de N-alkylation sur la fluorescence de la 2-(4'-diméthylaminophényl)imidazo[4,5-*b*]pyridine **210** ont aussi été étudiés par Krishnamoorthy en 2011 et 2013,¹³⁷ après que cette molécule ait été identifiée comme inhibiteur des kinases Aurora.¹³⁸ Cette même équipe a enfin étudié l'effet de l'introduction d'une double liaison entre le noyau aromatique et le motif *para*-(diméthylamino)phényl (composé **211**) en 2014.¹³⁹ Cette transformation avait alors perturbé les propriétés physiques de la molécule et diminué son rendement quantique dans tous les solvants sauf le glycérol, pour lequel la viscosité du milieu permet probablement de limiter les mouvements de rotation au niveau de l'alcène. Par ailleurs, une imidazo[4,5-*b*]pyridine fluorescente a pu être utilisée comme analogue non naturel de nucléoside pouvant être inséré spécifiquement sur certains sites de l'ADN au cours de la réplication et de la transcription (composé **8**).^{18b, 18c}

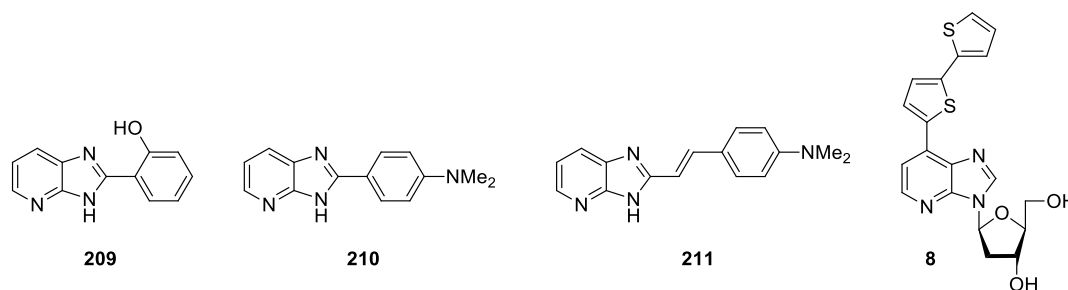


Figure 66. Exemples d'imidazo[4,5-*b*]pyridines fluorescentes décrits dans la littérature.

¹³⁴ (a) F. A. S. Chipem, G. Krishnamoorthy, *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 12063-12070; (b) G. Krishnamoorthy, S. K. Dogra, *J. Lumin.* **2000**, *92*, 91-102; (c) G. Krishnamoorthy, S. K. Dogra, *J. Lumin.* **2000**, *92*, 103-114.

¹³⁵ H. Salman, S. Meltzman, S. Speiser, Y. Eichen, *J. Lumin.* **2003**, *102-103*, 261-266.

¹³⁶ A. Brenlla, M. Veiga, J. L. Perez Lustres, M. C. Rios Rodriguez, F. Rodriguez-Prieto, M. Mosquera, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 884-896.

¹³⁷ (a) N. Dash, G. Krishnamoorthy, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2011**, *10*, 939-946; (b) A. Mishra, S. Sahu, N. Dash, S. K. Behera, G. Krishnamoorthy, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 9469-9477.

¹³⁸ V. Bavetsias, C. Sun, N. Bouloc, J. Reynisson, P. Workman, S. Linardopoulos, E. McDonald, *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2007**, *17*, 6567-6571.

¹³⁹ A. Mishra, S. Sahu, S. Tripathi, G. Krishnamoorthy, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*, 1476-1486.

Au cours de ces travaux de synthèse, la fluorescence de plusieurs composés a été remarquée. Nous avons donc envisagé par la suite la mise au point de 2-vinylimidazo[4,5-*b*]pyridines fluorescentes et l'étude préliminaire de leurs propriétés photophysiques.

I. Introduction à la fluorescence

Lorsqu'un photon est absorbé par une molécule, une molécule est promue de l'état fondamental S_0 vers un état excité d'énergie supérieure S_1 ou S_2 (Figure 67 : Flèches vertes). Pour revenir à son état fondamental, la molécule doit alors relaxer, c'est-à-dire dissiper l'énergie ainsi acquise. L'une des voies de relaxation, nommée fluorescence, se caractérise par une émission rapide de photon de longueur d'onde correspondante au gap énergétique entre état excité et état fondamental (Flèches rouges).

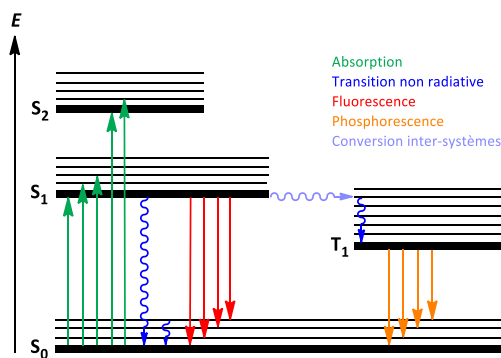


Figure 67. Diagramme de Jablonski.

La molécule excitée peut aussi subir une inversion de spin et passer ainsi d'un état singulet à un état triplet de même énergie. La relaxation depuis ce nouvel état triplet peut s'accompagner elle aussi d'une émission de photon ; on parle alors de phosphorescence (Flèches oranges). Ce phénomène ne sera pas traité ici.

Enfin, la molécule peut relaxer par l'intermédiaire de transitions non radiatives, c'est-à-dire sans émission de photon (Flèches bleues). L'énergie est dans ce cas dissipée par contact avec une molécule de solvant ou par rotations autour de liaisons simples ou isomérisation $Z - E$ par exemple.

Dans la suite de ce manuscrit, les molécules fluorescentes seront caractérisées par trois grandeurs physiques :

- le **coefficient d'absorption molaire**, noté ϵ_{abs} et exprimé en $M^{-1}\text{cm}^{-1}$, caractérise la probabilité qu'une molécule passe à l'état excité sous irradiation à une longueur d'onde donnée. Il

peut être défini expérimentalement par la loi de Beer-Lambert $A = \epsilon_{\text{abs}} \cdot \ell \cdot C$ où A est l'absorbance, ℓ la longueur de la cuve et C la concentration du composé. Cette relation linéaire n'est toutefois valable que dans un certain domaine d'absorbance, en général entre 0.5 et 1. Ce coefficient dépend de la longueur d'onde et de la température.

- le **rendement quantique**, noté ϕ_F , est le rapport du nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés. Compris entre 0 et 1, il caractérise ainsi la population de molécules relaxant par émission de photon : plus le rendement quantique est élevé, plus le composé est fluorescent. Expérimentalement, il peut être quantifié en comparant le composé étudié à une référence telle que le sulfate de quinine ou la Rhodamine B (Figure 68).¹⁴⁰ Il dépend du solvant, du pH et de la température mais ne dépend pas de la longueur d'onde d'excitation.

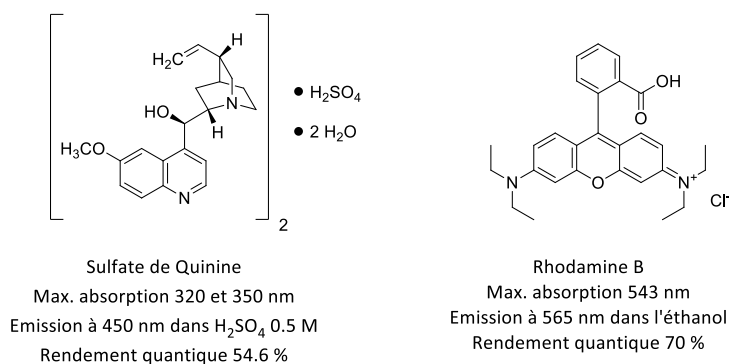


Figure 68. Quinine sulfate et Rhodamine B.

- le **déplacement de Stokes**, exprimé en cm^{-1} , représente la différence entre les maxima des spectres d'absorption et d'émission. Pour éviter des phénomènes de réabsorption dans les applications pratiques, il est préférable que ce déplacement soit le plus grand possible.

De plus, il est nécessaire d'introduire la notion de solvatochromisme, qui correspond au déplacement du spectre d'absorption d'une molécule en fonction du solvant – notamment de sa polarité (Figure 69). Si l'augmentation de polarité du solvant se traduit par un déplacement du spectre vers les grandes longueurs d'onde, le solvatochromisme est dit positif. Un solvatochromisme négatif correspond donc à un déplacement vers le bleu. La même notion peut être appliquée au spectre d'émission et est alors nommée solvatofluorochromisme.

¹⁴⁰ (a) D. F. Eaton, *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1107-1114; (b) T. Karstens, K. Kobs, *J. Phys. Chem.* **1980**, *84*, 1871-1872.

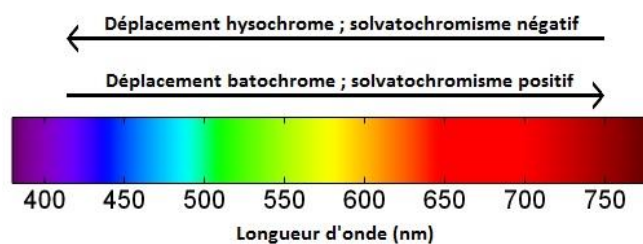


Figure 69. Illustration du solvatochromisme lors d'une augmentation de polarité du solvant.

Dans l'optique de réaliser de nouvelles sondes fluorescentes, les méthodologies d'alcynylation et alcénylation directes ont été appliquées à la synthèse de deux imidazo[4,5-*b*]pyridines substituées en position 6 par un groupement 4-(diméthylamino)phényle électrodonneur (*push*) et en position 2 par un groupement trifluorométhyle électroattracteur (*pull*) (Figure 70). En effet, ce caractère *push-pull* doit faciliter le déplacement des électrons au sein de la molécule et ainsi améliorer ses propriétés photophysiques. Ces deux molécules sont des systèmes π -conjugués dits « croisés » car il n'est pas possible de délocaliser par mésomérie les électrons du groupement *push* jusqu'au groupement *pull*. L'intérêt de ce type de système est de séparer spatialement l'HOMO et la LUMO afin d'augmenter la solvatofluorochromie des molécules. En effet, lors de l'excitation d'un système π -conjugué croisé, un électron est promu de l'HOMO à la LUMO et se déplace donc d'une extrémité à l'autre de la molécule, augmentant ainsi sa polarité. Cet état excité très polaire, dit « état de transfert de charges », sera donc stabilisé et plus bas en énergie dans les solvants polaires. Lors du retour à l'état fondamental, le photon émis aura ainsi une énergie plus faible dans les solvants polaires (émission dans le rouge) que dans les solvants apolaires (émission dans le bleu).

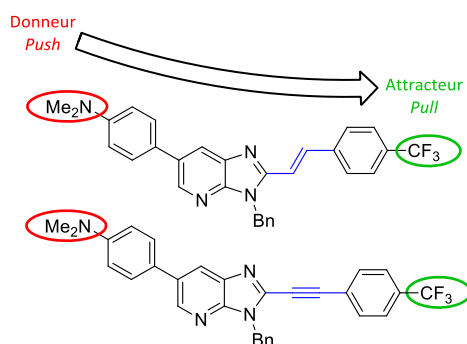


Figure 70. Stratégie push-pull envisagée.

II. Synthèse des fluorophores

Un couplage de Suzuki a tout d'abord permis d'obtenir la 6-(4-diméthylaminophényl)imidazo[4,5-*b*]pyridine **212** avec un rendement assez faible de 34 % (non optimisé : Schéma 80). Le motif 4-(trifluorométhyl)phénylvinyl est ensuite introduit par alcénylation directe de la molécule **212**. Malgré la présence du groupement diméthylamino mésomère donneur, le composé **213** est obtenu avec un rendement de 22 % bien supérieur à ce qui avait été observé pour le composé **206a** (Schéma 78). L'analogue alcyne **214** a été synthétisé par alcénylation directe de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine **212** suivant les conditions décrites précédemment afin de comparer l'influence de la triple liaison sur les propriétés photophysiques de la molécule.

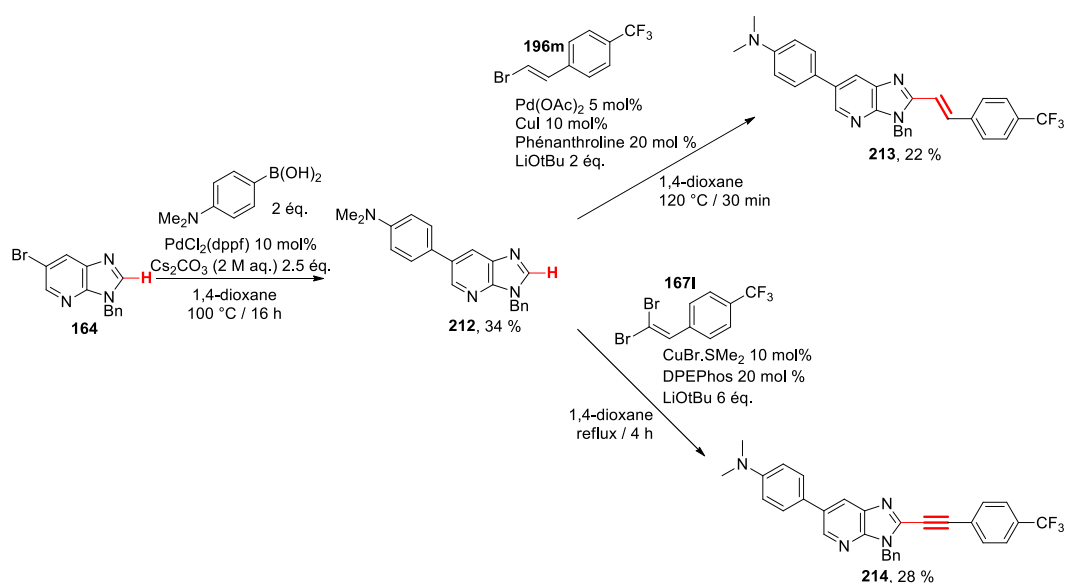


Schéma 80. Synthèse de l'alcène push-pull **213** et de son analogue alcyne **214**.

III. Etude des propriétés photophysiques des fluorophores

Les propriétés photophysiques des molécules **213** et **214** ainsi que du précurseur **212** et de l'analogue **201m** (Schéma **77** en page 152) sont résumés dans la Table **18**. Ces résultats ont été obtenus avec l'aide du Dr. Anton Granzhan.

Table 18. Propriétés optiques des composés. [a] Maximum (ou épaulement) de plus grande longueur d'onde. [b] Dans le cas où plusieurs maxima sont visibles, le plus haut est indiqué en gras. [c] Exc. 315 nm. [d] Exc. 350 nm. [e] Exc. 400 nm. [f] Exc. 380 nm. [g] Non détectable.

Composé	Solvant	λ_{abs} (nm) [a]	ϵ_{abs} (cm ⁻¹ M ⁻¹) [a]	λ_{em} (nm) [b]	Rendement quantique ϕ_F (%)	Déplacement de Stokes (cm ⁻¹)
212 [c]	Cyclohexane	308	18300	379 ; 390	63	6000 ; 6800
	Toluène	315	19300	408	67	7200
	1,4-Dioxane	313	21300	413	62	7700
	AcOEt	312	21400	430	52	8800
	DCM	313	21000	444	61	9400
	THF	310	22600	433	55	9200
	ACN	313	21600	468	46	10600
	MeOH	311	22300	515	2	12700
	201m [d]	Cyclohexane	371	29000	386 ; 405 ; 431	12
Toluène		373	27700	389 ; 409 ; 434	16	1100 ; 2400 ; 3800
1,4-Dioxane		371	29300	392 ; 411 ; 431	12	1400 ; 2600 ; 3800
AcOEt		368	30800	386 ; 408 ; 427	9	1300 ; 2700 ; 3800
DCM		371	28300	391 ; 410 ; 430	10	1400 ; 2600 ; 3700
THF		369	32900	391 ; 410 ; 431	11	1500 ; 2700 ; 3900
ACN		365	33500	388 ; 409 ; 428	5	1600 ; 2900 ; 4000
MeOH		365	25500	385 ; 404 ; 425	5	1400 ; 2600 ; 3900
213 [e]		Cyclohexane	376	26300	459 ; 484	63
	Toluène	386	23600	521	59	6700
	1,4-Dioxane	385	24700	538	36	7400
	AcOEt	380	27200	603	2	9700
	DCM	382	25900	606	3	9700
	THF	385	25700	607	2	9500
	ACN	380	24300	654	<1%	11000
	MeOH	378	24200	-	n.d. [g]	-
	214 [f]	Cyclohexane	365	20000	438 ; 458	63
Toluène		375	18100	490	66	6300
1,4-Dioxane		378	18100	511	61	6900
DCM		372	16800	565	10	9200
AcOEt		370	20000	568	4	9400
THF		374	17500	572	3	9300
ACN		368	18300	612	<1%	10900
MeOH		373	17700	-	n.d.	-

Les composés **213** et **214** absorbent dans le proche UV (**213**: $\lambda_{\text{max}} = 386$ nm, **214**: $\lambda_{\text{max}} = 375$ nm dans le toluène), avec un spectre assez large et présentant un épaulement (composé **213**) ou un maximum (composé **214**) de plus grande longueur d'onde clairement définis (indiqués par un astérisque sur les spectres) et ne montrent quasiment aucune propriété de solvatochromie (Figure **71**). Cette observation dénote une faible polarité des molécules à l'état fondamental, due à un faible couplage entre les groupements électrodonneur et électroattracteur à l'état fondamental. Cette

propriété est caractéristique des systèmes π -conjugués croisés. Le déplacement dans le bleu du spectre d'absorption du dérivé éthynyle **214** par rapport à celui de l'analogue vinyl **213** est cohérent avec les données sur d'autres systèmes donneur-accepteur.¹⁴¹

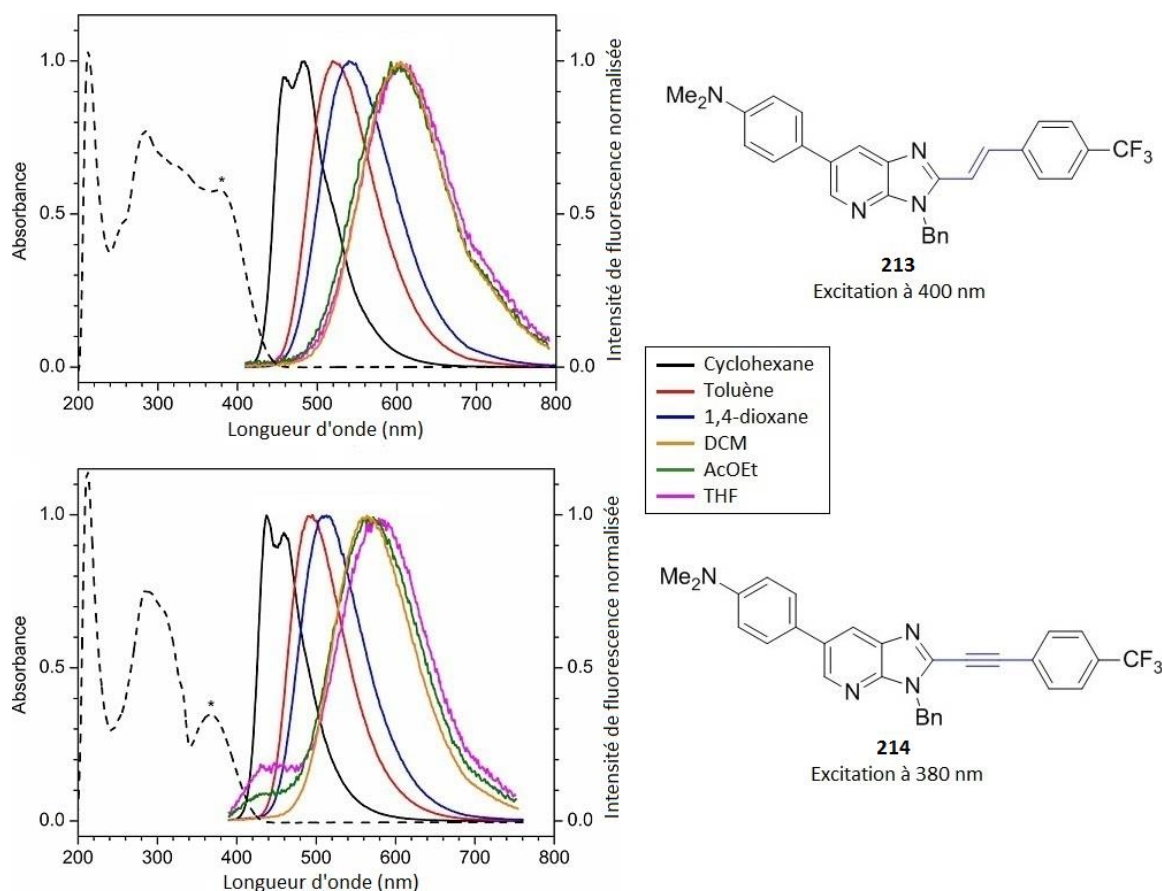


Figure 71. Spectres d'absorption (lignes pointillées) et de fluorescence (normalisés, lignes pleines) des composés **213** et **214** à 20 μM dans différents solvants.

Les composés **213** et **214** présentent tous deux un important solvatochromisme avec des maxima d'émission allant, pour **213**, de 459 nm dans le cyclohexane à 654 nm dans MeCN et pour **214**, de 438 nm à 612 nm dans les mêmes solvants. Ce comportement conduit à des déplacements de Stokes dépendants du solvant et pouvant atteindre des valeurs élevées (environ 11000 cm^{-1} dans l'acétonitrile). Contrairement aux observations rapportées sur la plupart des systèmes dans la littérature, où les dérivés éthynyles ont généralement des déplacements de Stokes plus élevés que les analogues vinyliques, les déplacements de **213** et **214** sont très comparables dans les mêmes solvants.^{141a, 141c} La même observation avait toutefois déjà été réalisée au laboratoire sur des oxazoles π -conjugués.^{141b} Les rendements quantiques des deux dérivés éthynyl et styryl sont élevés

¹⁴¹ (a) S. Achelle, J. Rodríguez-López, F. Robin-le Guen, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7564-7571; (b) F. Mahuteau-Betzer, S. Piguel, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3188-3193; (c) G. Marcelo, S. Pinto, T. Cañeque, I. F. A. Mariz, A. M. Cuadro, J. J. Vaquero, J. M. G. Martinho, E. M. S. Maçôas, *J. Phys. Chem. A* **2015**, *119*, 2351-2362; (d) H. Umezawa, S. Okada, H. Oikawa, H. Matsuda, H. Nakanishi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2005**, *78*, 344-348.

dans le cyclohexane et le toluène (59 à 66 %) mais chutent radicalement dans les solvants plus polaires (inférieurs à 1 % dans l'acétonitrile). Ces observations sont illustrées dans la Figure 72 par la photographie des deux fluorophores dans les six solvants utilisés.



Figure 72. Photographies de cuves contenant les composés **213** et **214** en solution dans les six solvants de l'étude, à concentration constante, sous irradiation UV.

Un comportement similaire est observé pour l'intermédiaire **212** dont le spectre d'absorption est légèrement déplacé vers la gauche ($\lambda_{\max} = 315$ nm dans le toluène) mais présente lui aussi un solvatochromisme marqué (maximum d'émission de 315 nm dans le toluène à 515 nm dans le méthanol) (Figure 73). En effet, de par le caractère électrodéficient du carbone en position 2 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine **212**, celle-ci possède un certain caractère push-pull, à l'image de **213** et **214**. De manière surprenante, le rendement quantique du précurseur **212** reste élevé même en solvants aprotiques polaires (46 % dans l'acétonitrile). Enfin, le composé **201m** dépourvu de groupement électrodonneur ne présente pas de solvatochromisme marqué ainsi que des déplacements de Stokes relativement faibles de l'ordre de 2300 à 2900 cm^{-1} .

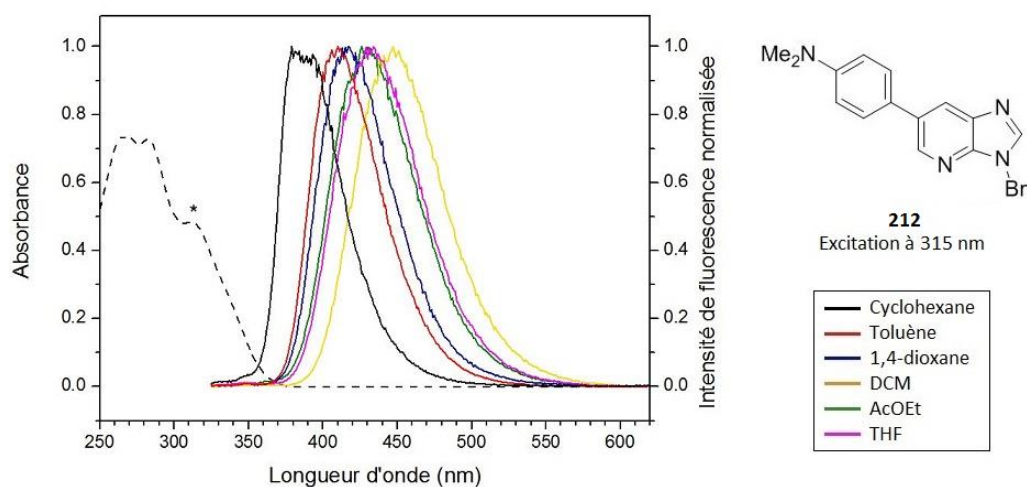


Figure 73. Spectres d'absorption (lignes pointillées) et de fluorescence (normalisés, lignes pleines) du composé **212** à 35 μM dans différents solvants.

Afin d'étudier plus en détails le rôle du caractère *push-pull* dans les états fondamental et excité des composés **213** et **214**, l'influence de la protonation de ces molécules par le TFA a été mesurée dans le toluène. En effet, cette protonation devrait avoir lieu au niveau du groupement diméthylamino et mener ainsi à la perte de son caractère électrodonneur. L'addition de TFA provoque un léger déplacement vers le bleu des spectres d'absorption de **213**, de 386 à 355 nm et de **214**, de 375 à 347 nm (Figure 74). Cela indique que le passage de l'état fondamental à l'état excité est moins favorable dans le cas où la molécule est protonée.

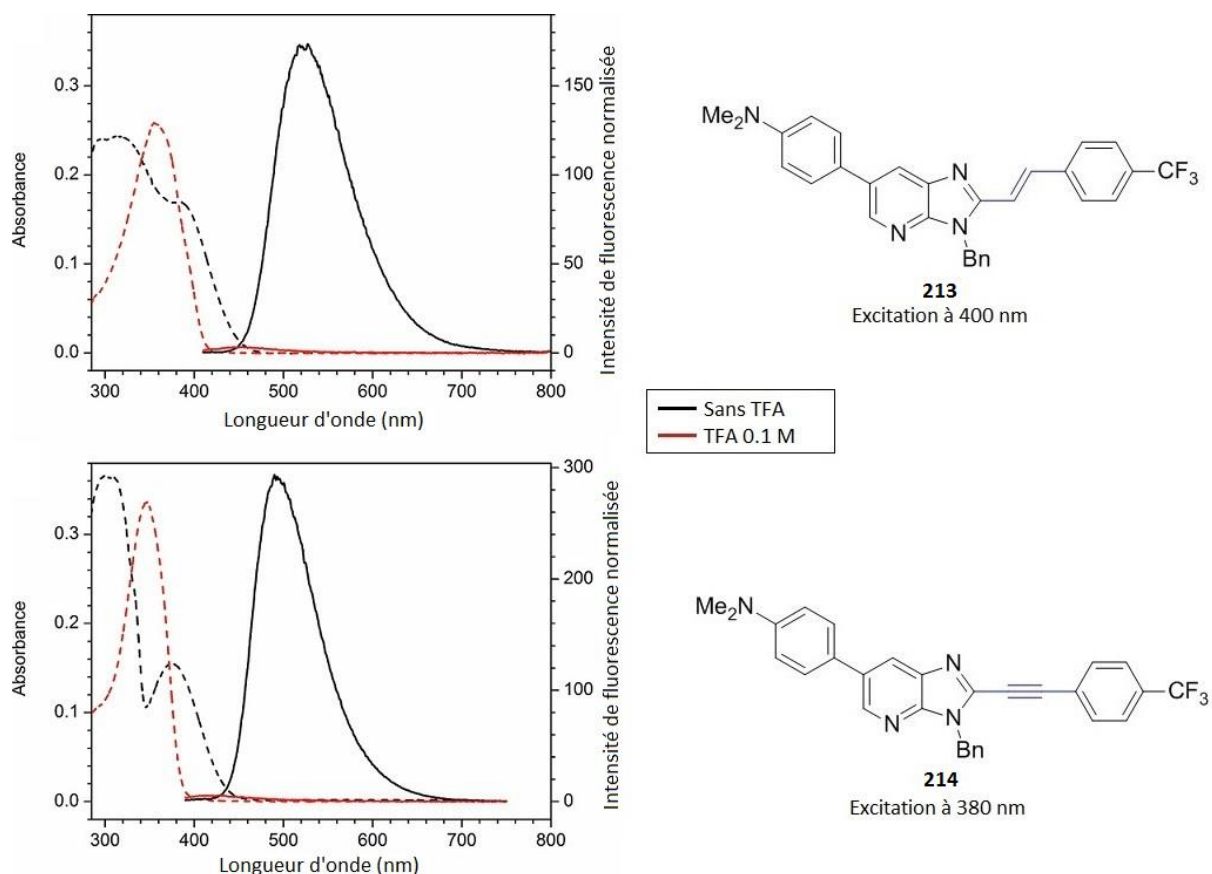


Figure 74. Influence de la protonation sur les spectres d'absorption (lignes pointillées) et d'émission (lignes pleines) des composés **213** et **214** à 10 μ M dans le toluène.

Au niveau des spectres de fluorescence, la protonation mène à une perte quasi complète d'émission de la part des deux composés. Cette observation confirme l'hypothèse d'une émission depuis un état de transfert de charges, dont la formation est bloquée par la perte du caractère électrodonneur du groupement diméthylamino.

Enfin, la photostabilité des composés **201m**, **212**, **213** et **214** a été étudiée par suivi dans le temps, sous irradiation continue de lumière blanche, de l'évolution des spectres d'absorption (Figure 75).

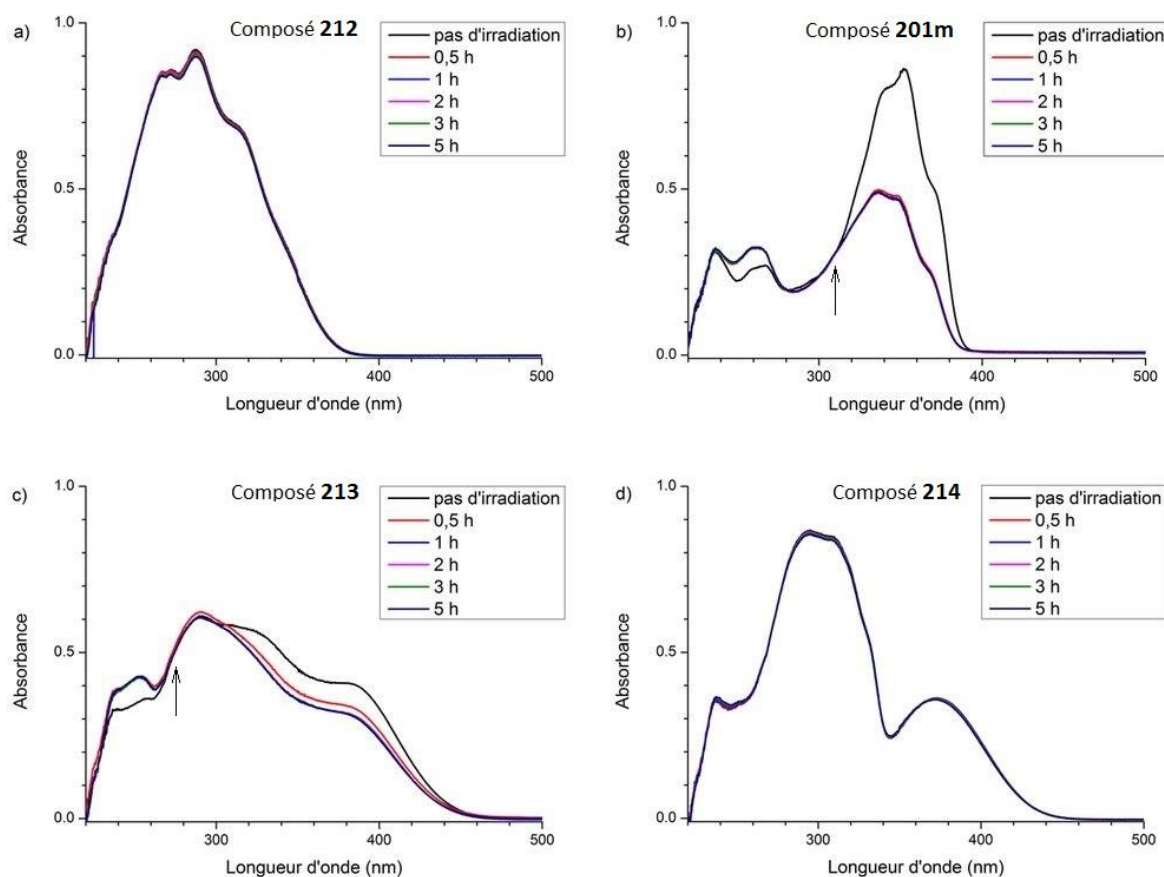


Figure 75. Evolution des spectres d'absorption ($c = 20 \mu\text{M}$ dans le 1,4-dioxane) sous irradiation de lumière blanche (150 W, 1530 lx).

Dans ces conditions, les spectres des composés **201m** et **213** subissent des modifications majeures laissant supposer l'existence d'une isomérisation $E - Z$ prévisible pour ces deux molécules.^{139, 142} Les points isobestiques¹⁴³ observés (indiqués par une flèche sur la Figure 75) suggèrent toutefois qu'aucune autre réaction de dégradation n'accompagne cette isomérisation. Les spectres des composés **212** et **214** ne subissent quant à eux aucun changement visible, montrant ainsi la stabilité du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine et de l'analogue éthynyle.

¹⁴² (a) T. A. Fayed, *J. Photoch. Photobiol. A*. **1999**, *121*, 17-25; (b) B. Jedrzejewska, B. Osmialowski, R. Zalesny, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2016**, *15*, 117-128.

¹⁴³ Il est rappelé qu'un point isobestique correspond à une longueur d'onde à laquelle l'absorbance d'un mélange de plusieurs formes en équilibre reste constante quelles que soient les proportions de ces dernières. En effet, à cette longueur d'onde, tous les composés en équilibre ont le même coefficient d'absorption.

IV. Etude computationnelle

Dans le but d'identifier la nature des transitions électroniques observées, des calculs DFT (*Density Functional Theory*) ont été réalisés sur les molécules **213** et **214** (Table 19 et Figure 76), avec l'aide du Dr. Anton Granzhan.

Table 19. Résultats des calculs DFT pour les molécules 213 et 214.

Molécule	213	214
Energie totale E_t (Ha)	-1675.7446	-1674.4895
Rayon de cavité d'Onsager a_0 (Å)	6.22	6.23
Moment dipolaire dans l'état fondamental μ_f (D)	6.77	6.80
Moment dipolaire dans l'état excité μ_e (D)	23.81	26.56
$\mu_e - \mu_f$ (D)	17.04	19.76
Longueur d'onde de la transition de plus basse énergie λ_{max} (nm)	335.5	326
Nombre de fréquences imaginaires	0	0

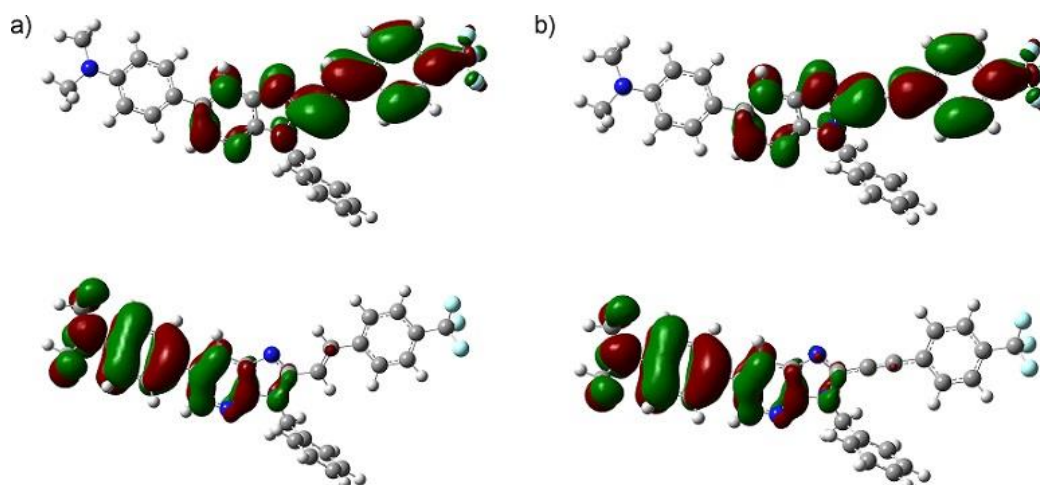


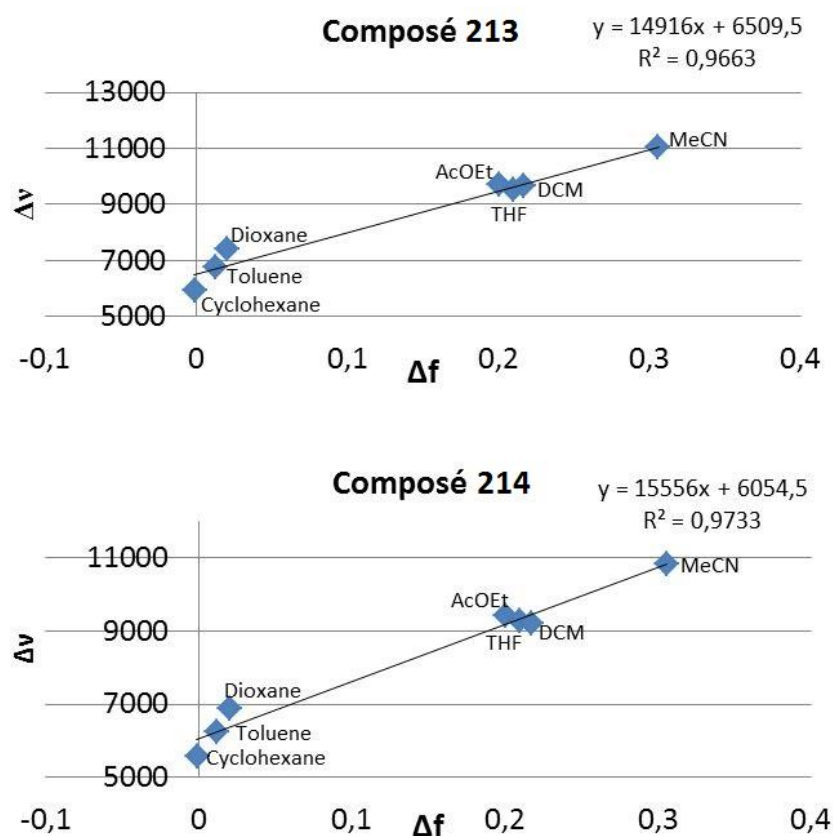
Figure 76. Orbitales moléculaires frontières (haut : LUMO et bas HOMO) des composés 213 (a) et 214 (b) à l'état fondamental. Les surfaces correspondent à une valeur constante de 0,02.

Pour les deux analogues **213** et **214**, les orbitales la plus haute occupée (HOMO) et la plus basse libre (LUMO) sont très localisées spatialement : l'HOMO est principalement localisée autour du motif électrodonneur tandis que la LUMO est située majoritairement au niveau de l'alcène/alcyne et du motif électroattracteur. Il est toutefois important de noter un chevauchement partiel des deux orbitales au niveau du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine. Cette séparation spatiale des deux orbitales

moléculaires frontières est typique de systèmes π -conjugués croisés¹⁴⁴ et est due dans notre cas au fait que les groupements *push* et *pull* sont situés sur les positions 2 et 6 de l'imidazo[4,5-*b*]pyridine. Bien que les valeurs absolues des énergies de transition ne soient pas tout à fait en accord avec les mesures expérimentales (Table 18), le décalage vers le bleu est bien observé pour le spectre d'absorption de la molécule 214 ($\lambda_{\text{max}} = 365$ nm dans le cyclohexane) en comparaison de la molécule 213 ($\lambda_{\text{max}} = 376$ nm dans le cyclohexane).

Afin de mieux comprendre le déplacement des bandes d'émission de 213 et 214 vers le rouge dans les solvants polaires et de confirmer les valeurs obtenues par DFT pour les moments dipolaires, les données de la Table 18 ont été rassemblées sous forme de diagrammes de Lippert – Mataga (Figure 77).

Figure 77. Diagrammes de Lippert - Mataga des composés 213 et 214.



¹⁴⁴ (a) W. C. W. Leu, A. E. Fritz, K. M. Digianantonio, C. S. Hartley, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 2285-2298; (b) Cornelis A. van Walree, Veronica E. M. Kaats-Richters, Sandra J. Veen, B. Wieczorek, Johanna H. van der Wiel, Bas C. van der Wiel, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 3046-3056; (c) A. J. Zuccherro, P. L. McGrier, U. H. F. Bunz, *Accounts Chem. Res.* **2010**, *43*, 397-408.

Les diagrammes de Lippert – Mataga sont construits d'après la relation suivante :

$$\Delta_{\theta} = \left(\frac{2(\mu_e - \mu_f)^2}{hca_0^3} \times \Delta_f \right) + \text{constante}$$

où Δ_{θ} est le déplacement de Stokes, μ_e et μ_f les moments dipolaires dans les états excités et fondamentaux, respectivement, a_0 le rayon de cavité d'Onsager¹⁴⁵ calculé en Table 19 et Δ_f la polarisabilité orientationnelle du milieu, définie par

$$\Delta_f = \left(\frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \right)$$

où ϵ représente la constant diélectrique du solvant considéré et n son indice de réfraction. Le rayon de cavité tel que défini par Onsager représente le rayon d'une sphère théorique de volume égal au volume moléculaire du composé étudié. La surface de cette sphère est une approximation de la surface d'interaction entre la molécule et le solvant.

En utilisant le coefficient directeur, noté A , de la droite obtenue, il est ainsi possible d'estimer l'augmentation du moment dipolaire subie lors de l'excitation :

$$\mu_e - \mu_f = \sqrt{\frac{A \times hca_0^3}{2}} \text{ en StatC.cm}$$

$$\mu_e - \mu_f = 10^{18} \sqrt{\frac{A \times hca_0^3}{2}} \text{ en Debye}$$

où la constante de Planck $h = 6,63.10^{-27}$ erg, la célérité de la lumière $c = 3.10^{10}$ cm/s et a_0 est exprimé en cm.

Les valeurs suivantes sont alors obtenues, en bon accord avec les résultats DFT :

Molécule	213	214
$\mu_e - \mu_f$ expérimentale (D)	18.9	19.4
$\mu_e - \mu_f$ d'après DFT(D)	17.0	19.8

Comme attendu pour un système π -conjugué croisé, le moment dipolaire est donc significativement plus élevé dans l'état excité que dans l'état fondamental.

¹⁴⁵ L. Onsager, *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, 58, 1486-1493.

D'après des calculs supplémentaires de DFT dépendante au temps (TD-DFT, *Time-Dependent Density Functional Theory*) réalisés sur les deux analogues, il semble que la transition HOMO → LUMO soit prédominante dans les deux cas pour les transitions de plus faible énergie, confirmant ainsi leur implication dans la formation de l'état de transfert de charges (Table 20).

Table 20. Contribution des différentes promotions orbitale-à-orbitale dans les transitions de plus basse énergies observées pour les molécules 213 et 214.

	213	214
HOMO-1 - LUMO	0.348	0.235
HOMO - LUMO	0.559	0.580
HOMO - LUMO+1	-0.197	-0.268
HOMO - LUMO+4	-	-

Enfin, les propriétés photophysiques déterminées pour **213** et **214** peuvent être comparées à celles des composés **215** et **211**, deux molécules décrites dans la littérature par l'équipe de Krishnamoorthy et ne comportant pas de groupement accepteur d'électrons (Figure 78).^{137, 139}

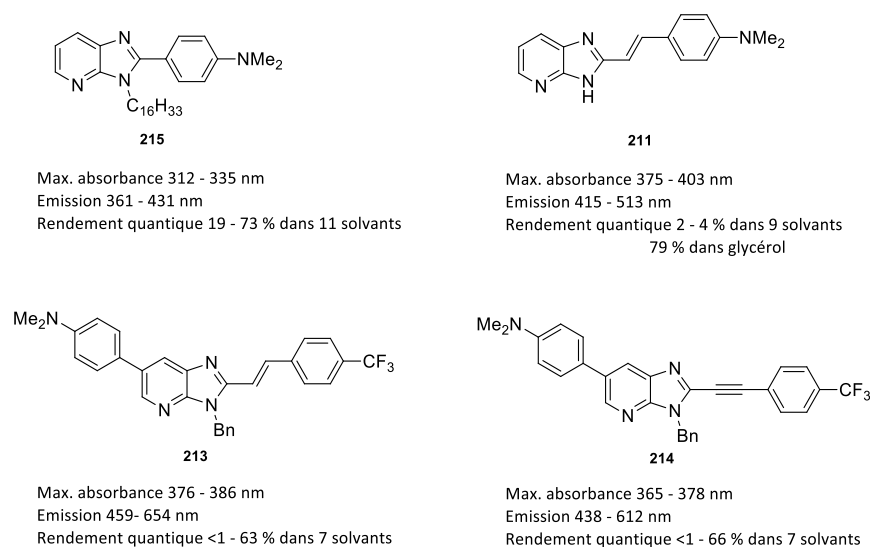


Figure 78. Quatre dérivés d'imidazo[4,5-*b*]pyridine fluorescents.

Bien que les quatre dérivés absorbent tous dans la région des proche-UV, les bandes d'émission des composés **213** et **214** sont très déplacées vers le rouge en comparaison avec celles des deux molécules de la littérature ($\lambda_{em} = 361 - 431$ nm pour **215** et $\lambda_{em} = 415 - 513$ nm pour **211**). Cela conduit à des déplacements de Stokes bien plus hauts, jusqu'à 11000 cm^{-1} pour **213** et **214** contre seulement 5720 cm^{-1} pour **211**, dans l'acétonitrile. De mêmes, les propriétés de solvatofluorochromie de **213** et **214** sont bien plus prononcées que pour **215** et **211**, ainsi que pour

d'autres systèmes donneur- π -accepteur plus simples.^{141a, 146} Cette comparaison met en évidence l'efficacité des systèmes π -conjugués croisés en tant que fluorophores hautement solvatofluorochromes. Ainsi, un intérêt croissant est aujourd'hui porté à la synthèse de molécules dont l'HOMO et la LUMO sont spatialement bien séparées pour la mise au point de nouvelles sondes fluorescentes.^{144c, 147}

¹⁴⁶ Y. Niko, Y. Cho, S. Kawauchi, G.-i. Konishi, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 36480-36484.

¹⁴⁷ D. Oesch, N. W. Luedtke, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 12641-12644.

V. Conclusions

En résumé, nous avons pu mettre au point une méthode rapide d'alcénylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine co-catalysée par le couple palladium/cuivre et assistée par irradiation micro-ondes. Dotée d'une grande tolérance fonctionnelle, cette réaction a permis de synthétiser 24 analogues avec de bons rendements (Schéma 81). L'intérêt de la méthode d'alcénylation directe a pu être illustré par la synthèse d'une molécule *push-pull* fluorescente. L'étude de ses propriétés photophysiques a mis en évidence de forts déplacements de Stokes, dus à une émission depuis un état de transfert de charges. Des calculs DFT ont finalement permis d'appuyer les résultats expérimentaux et de mieux comprendre les transitions électroniques ayant lieu lors de l'irradiation. L'ensemble de ces travaux a fait l'objet d'une publication.¹⁴⁸

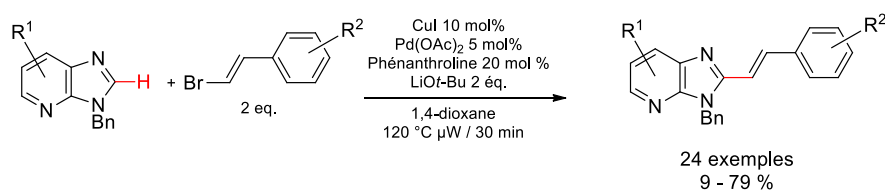


Schéma 81. Alcénylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

¹⁴⁸ T. Baladi, A. Granzhan, S. Piguel, *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 2016, 2421-2434.

Perspectives

Pour compléter l'étude de la réactivité du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine, il serait maintenant intéressant de mettre au point une méthode d'alkylation directe de la position 2 (Schéma 82 : a). En particulier, par rapport à la conclusion du projet de chimie médicinale décrit au premier chapitre, cela permettrait d'accéder rapidement aux nouvelles molécules cibles définies. Le couplage oxydatif sur cette même position reste quant à lui inexploré et pourrait représenter un nouveau défi de synthèse (b). En effet, cette méthode a l'avantage d'utiliser deux partenaires non fonctionnalisés et donc de gagner encore en économie d'atomes.

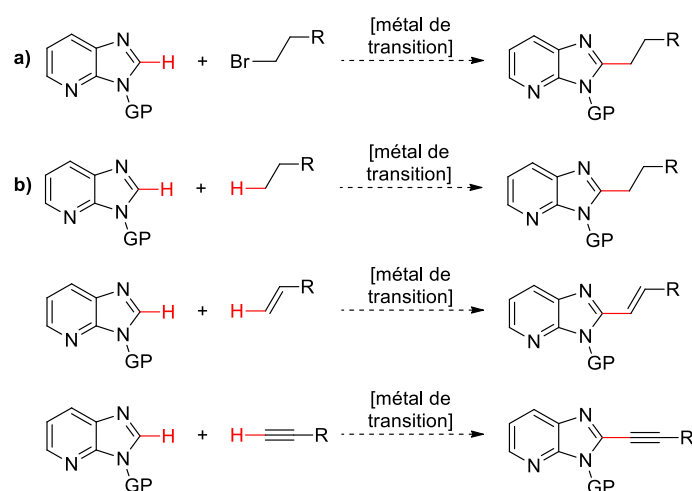


Schéma 82. Alkylation directe et couplage oxydatif sur le noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

De plus, les propriétés fluorescentes intéressantes obtenues sur deux imidazo[4,5-*b*]pyridines sont encourageantes et pourraient être mises à profit pour des applications biologiques, cet hétérocycle étant un isostère de purines.

Par exemple, à l'instar des travaux de l'équipe d'Hirao (Figure 79 : a), l'insertion d'un sucre sur l'azote *N3* pourrait permettre d'utiliser ces composés comme marqueurs de l'ADN (b).^{18c}

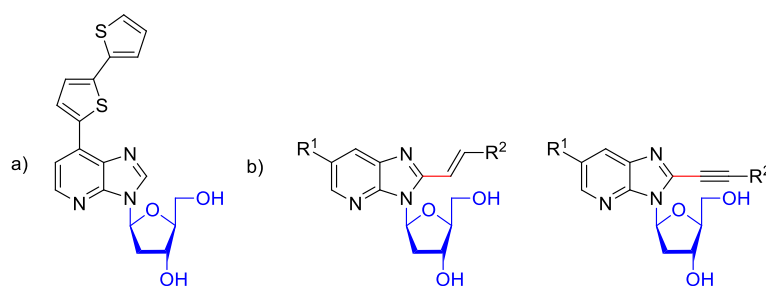


Figure 79. Potentielles sondes imidazo[4,5-*b*]pyridines fluorescentes pour l'ADN.

Durant la dernière décennie, les sondes fluorescentes dites « *light-up* » ou « *turn-on* » pour la détection de protéines sont devenues un domaine de recherche particulièrement actif.¹⁴⁹ A l'image des fluorophores développés dans ce chapitre, ces sondes sont généralement formées de deux plateformes hétéroaromatique reliées par une fonction alcène ou alcyne (Figure 80).

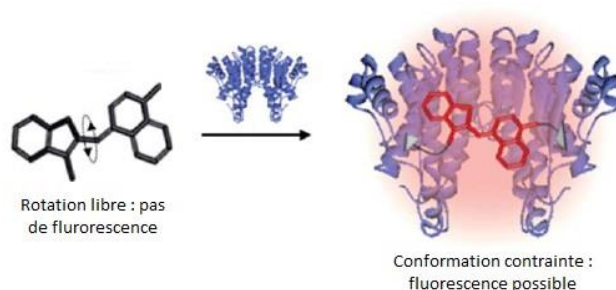


Figure 80. Principe de fonctionnement des sondes "turn-on".¹⁴⁹

En solution, ces sondes adoptent des conformations non planes dans lesquelles aucune fluorescence n'est possible en raison de l'absence de conjugaison entre les deux plateformes. Au contraire, une fois fixées dans une protéine, les sondes adoptent une conformation plane dans laquelle la fluorescence est possible. Nous pouvons donc imaginer synthétiser une molécule qui possède à la fois de l'affinité pour la protéine kinase Tyro3 et de bonnes propriétés photophysiques une fois fixée à la protéine, afin de mettre au point une nouvelle méthode de test d'affinité par déplacement de sonde fluorescente (Figure 81).

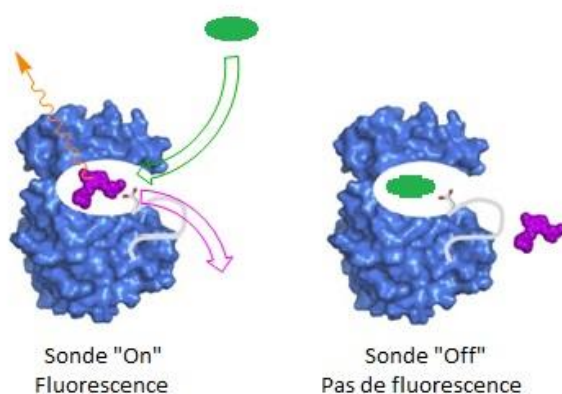


Figure 81. Exemple de sonde fluorescente pour une protéine.

¹⁴⁹ (a) L. Unger-Angel, B. Rout, T. Ilani, M. Eisenstein, L. Motiei, D. Margulies, *Chemical Science* **2015**, *6*, 5419-5425; (b) H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. L. Choyke, Y. Urano, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2620-2640.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

Deux projets distincts ont été menés en parallèle au cours des travaux présentés dans ce manuscrit.

Le premier, de chimie thérapeutique, concernait la synthèse d'inhibiteurs potentiellement sélectifs de la protéine kinase Tyro3 pour le traitement du cancer de la vessie. Deux séries d'imidazo[4,5-*b*]pyridines cibles ont été définies à l'issue d'une première étape de modélisation moléculaire (Figure 40).

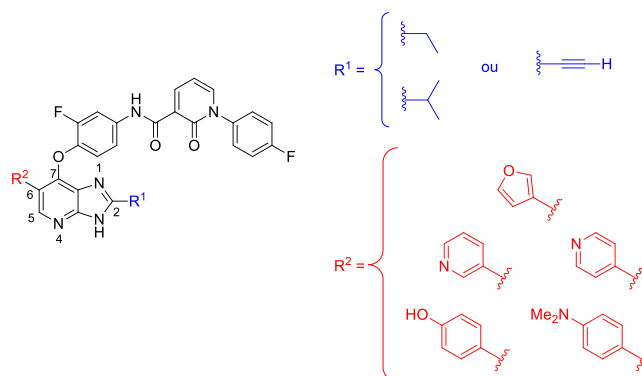


Figure 40. Les deux familles de molécules cibles définies par modélisation moléculaire.

Un important travail de mise au point et d'optimisation de leur voie de synthèse a ensuite été réalisé et a abouti à la préparation de vingt molécules cibles. Celles-ci ont alors pu être évaluées biologiquement sur les trois protéines de la famille TAM, par le biais de trois tests *in vitro* distincts : un test ELISA, un dosage de l'ADP et un test d'affinité réalisé par la société KinomeScan™. Au cours de cette évaluation, deux candidats se sont détachés : **98** et **145** (Figure 58). Aucune sélectivité pour Tyro3 n'a été observée ; au contraire, c'est sur cette protéine que les résultats sont les moins satisfaisants. Cependant, de très bonnes IC₅₀ ont été mesurées pour le composé **98** sur Mer et pour le composé **145** sur Axl, accompagnées d'une bonne sélectivité au sein de la famille TAM. En parallèle, des tests de cytotoxicité de quatre candidats sur quatre lignées cellulaires ont été réalisés. La molécule **98** a montré la meilleure toxicité et des expériences d'imagerie cellulaire sont actuellement en cours afin d'identifier sa localisation au sein de la cellule cancéreuse.

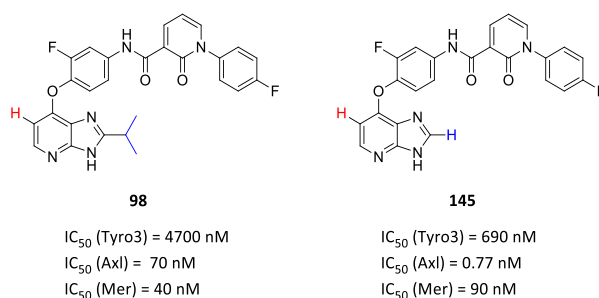


Figure 58. Deux nouveaux inhibiteurs de la famille TAM.

Conclusion

Les résultats biologiques obtenus, couplés à de nouvelles expériences d'amarrage moléculaire, ont permis de mieux comprendre les interactions entre protéine et inhibiteurs. Sur la base de ces observations, une nouvelle banque de molécules cibles a pu être définie (Figure 62). Des expériences d'imagerie cellulaires pourront être réalisées au sein de l'unité et venir appuyer le développement et l'optimisation de ces nouveaux inhibiteurs.

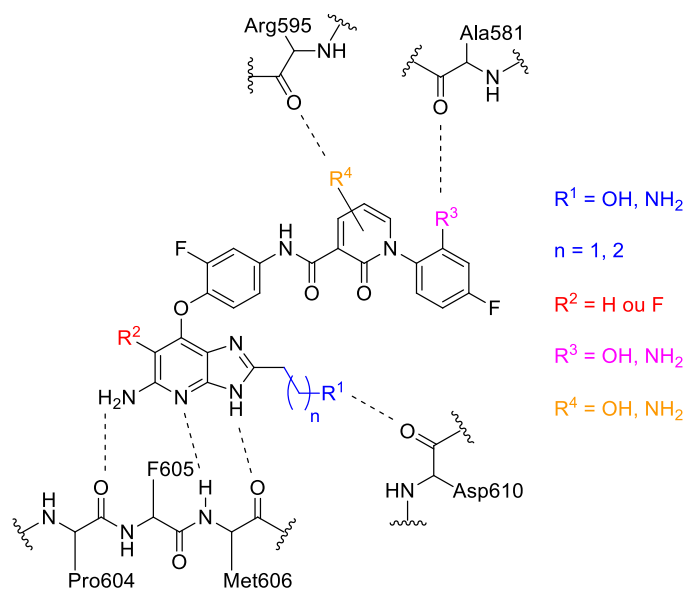


Figure 62. Nouvelles molécules cibles.

Le second projet décrit dans cet ouvrage a concerné la mise au point de deux nouvelles méthodologies d'alcynylation et alcénylation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine (Schéma 83).

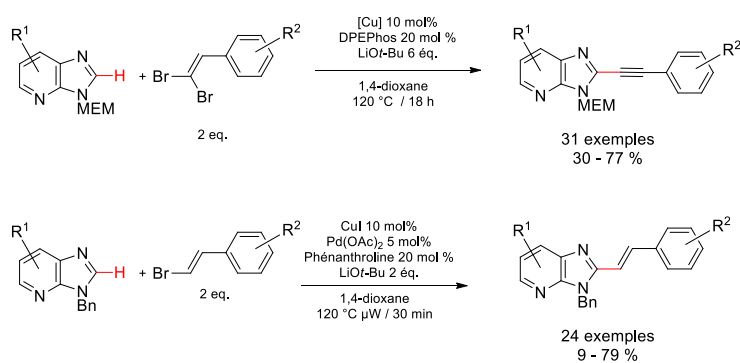


Schéma 83. Nouvelles méthodologies de fonctionnalisation directe du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine.

Ces approches ont permis d'explorer et de mettre à profit une nouvelle réactivité du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine, jusqu'alors très peu étudié. Grâce à une catalyse au cuivre et à l'utilisation d'alcènes *gem*-dibromés facilement accessibles, 31 dérivés de type 2-éthynylimidazo[4,5-*b*]pyridine ont été synthétisés avec de bons rendements. Par une co-catalyse palladium/cuivre assistée par

Conclusion

irradiation micro-ondes, 24 analogues de type 2-vinylimidazo[4,5-*b*]pyridine ont été obtenus à partir de dérivés du β -bromostyrène. L'intérêt de ces deux méthodes a en particulier été illustré par la synthèse de deux composés fluorescents hautement solvatofluorochromes illustrés en Figure 82.

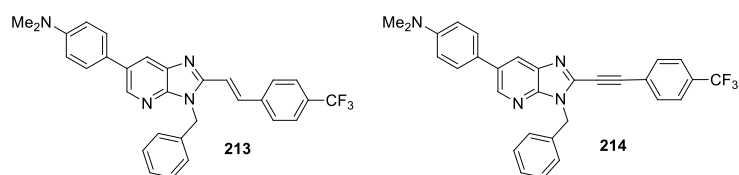


Figure 82. Nouvelles imidazo[4,5-*b*]pyridines fluorescentes synthétisées.

Les propriétés photophysiques de ces deux composés ont pu être décrites de manière approfondie et corrélées par une étude computationnelle réalisée en parallèle.

Enfin, il est important de mentionner que l'intégralité des molécules synthétisées au cours de ces travaux va être transférée dans la chimiothèque de l'Institut Curie pour de futurs criblages à haut débit.

Partie expérimentale

Chimie

I. Généralités

Commercially available reagents and solvents were used without further purification. Yields refer to isolated and purified products. Reactions were monitored by TLC carried out on 60F-254 silica gel plates and visualized under UV light at 254 and 365 nm. Column chromatography was performed on a Teledyne ISCO Combiflash Companion using pre-packed silica 60 columns. Chemical shifts (δ) of ^1H and ^{13}C NMR are reported in ppm and residual non deuterated solvents were used as references. Multiplicities are designated by the following abbreviations: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, bs = broad singlet, m = multiplet. High-resolution mass spectra (HRMS) were measured by a TOF spectrometer, using electrospray ionization (ESI) or atmospheric pressure photoionization (APPI) method. All indicated masses for bromine- and chlorine-containing derivatives correspond to ^{79}Br and ^{35}Cl isotopes. Microwave irradiations were performed on a CEM explorer and temperature measurement of reaction mixtures was achieved by an IR sensor. The method was set with maximum power of 150 W (without Powermax) and maximum pressure of 16 bar. Reaction times refer to the hold time at the desired temperature. Reactions were cooled by compressed air after the heating period was over. Melting points were measured with a Stuart SMP30.

II. Procédures générales (A à O)

General procedure A for the condensation of 60 on anilines: In a round bottom flask under argon atmosphere, 1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxylic acid (1 equiv.) and TBTU (1.3 equiv.) were dissolved in DMF and the resulting solution was cooled down to 0 °C. After 15 min, DIPEA (3 equiv.) was added and the mixture was stirred for another 15 min. The corresponding aniline (1 equiv.) was subsequently added and the resulting solution was stirred at 0 °C for 4 h. Solvent was removed under reduced pressure and the residue was taken in AcOEt and washed with a saturated NaHCO_3 aqueous solution. The organic layer was dried on MgSO_4 and purified by chromatography in a gradient of DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product.

General procedure B for the chlorination of position 7 of the 3H-imidazo[4,5-b]pyridine core: To a mixture of 6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (1 equiv.) in AcOH was added *m*-chloroperbenzoic acid (2 equiv.). The reaction mixture was stirred at RT for 3 d then filtered through a sintered glass

disk to afford a first fraction of 6-bromo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine 4-oxide. The filtrate was concentrated under reduced pressure, taken in AcOEt and filtered again to render a second fraction of the *N*-oxide. The combined fractions of 6-bromo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine 4-oxide were taken in AcOEt and the resulting suspension was refluxed for 1 h. Subsequent filtration through sintered glass disk afforded 6-bromo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine-4-oxide with no trace of benzoic acid. The solid was distributed in microwave tubes in 250 mg portions and POCl₃ (1.5 mL) was added in each tube. The reaction mixture was heated under microwave irradiation at 80 °C for 10 min. Subsequently, the reaction mixture was poured on ice, neutralized with a 3 M NaOH aqueous solution and the aqueous layer was extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried with anhydrous MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to give the desired product as an inseparable mixture (ratio 85:15) with the 5-chloro-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine isomer.

General procedures C and D for the synthesis of 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridines from 2,3-diaminopyridines:

C: A mixture of the 2,3-diaminopyridine (1 equiv.), NH₄Cl (6 equiv.) and the corresponding carboxylic acid (1.5 equiv.) was heated at 100 °C for 24 h. The mixture was subsequently poured on ice and neutralized with 3 M NaOH aqueous solution. The aqueous layer was extracted with AcOEt and the combined organic layers were dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient of DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product.

D: To a mixture of the 2,3-diaminopyridine (1 equiv.) in methyl-orthoformate was added dropwise a 10 M HCl aqueous solution (2 equiv.). The reaction was stirred overnight at RT. Subsequently, the reaction mixture was dissolved in H₂O, neutralized by addition of a 3 M NaOH aqueous solution and extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried with anhydrous MgSO₄ and filtered. Evaporation of the solvent under reduced pressure to give the corresponding product with no further purification.

General procedure E for the benzyl protection of the imidazo[4,5-*b*]pyridine core: To a solution of the imidazo[4,5-*b*]pyridine (1 equiv.) in dry DMF at 0 °C under argon atmosphere was added portionwise NaH (1.1 equiv. as a 60 % dispersion in mineral oil). The mixture was left stirring at 0 °C for 30 min then benzyl bromide (1.1 equiv) was added dropwise. The reaction mixture was then allowed to warm up to room temperature and stirred overnight. Subsequently, the solvent was removed under reduced pressure and the resulting oil was taken in AcOEt and washed with water. The combined organic layers were dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The

residue was then purified by column chromatography using a gradient of cyclohexane to 50/50 cyclohexane/AcOEt to give the corresponding product.

General procedure F for the aromatic nucleophilic substitution of position 7 on the imidazo[4,5-*b*]pyridine core: In a sealed tube, dry K₂CO₃ (2 equiv.) was added to a solution of *t*-Butyl (3-fluoro-4-hydroxyphenyl)carbamate **81** (1.5 equiv.) in DMSO. The resulting suspension was stirred for 10 min at RT before the corresponding *N*3-protected 5-chloro-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (1 equiv.) was added. The tube was then warmed up to 70 °C for 16 h. After cooling down to RT, brine was added and the mixture was extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was then purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to AcOEt to give the corresponding product.

General Procedure G for the Suzuki coupling: To a mixture of the *N*3-protected 6-bromo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (1 equiv.), PdCl₂(dppf) (5 mol %) and the corresponding boronic acid (1.5 equiv.) in 1,4-dioxane was added a 2 M Cs₂CO₃ aqueous solution (2 equiv.). The reaction mixture was warmed up to 100 °C under argon atmosphere for 18 h. Subsequently, water was added and the mixture was extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried on anhydrous MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography using a gradient of cyclohexane to 40/60 cyclohexane/AcOEt to give the corresponding product.

General procedure H for the PMB protection of the imidazo[4,5-*b*]pyridine core: To a mixture of the 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (1 equiv.) in dry DMF at 0 °C under argon atmosphere was added NaH (60% dispersion in mineral oil) (1.1 equiv) portionwise. The mixture was stirred at 0 °C for 30 min under argon atmosphere then *p*-methoxybenzyl bromide (1.1 equiv) was added dropwise. The reaction mixture was then allowed to warm up to RT and stirred under argon atmosphere overnight. Subsequently, the DMF was evaporated under reduced pressure and the residue was taken in H₂O and extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography using a gradient of cyclohexane to AcOEt to give the corresponding product.

Typical procedure I for the deprotection of *N*3-PMB-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridines: In a round-bottom flask under argon atmosphere, the *N*3-protected imidazo[4,5-*b*]pyridine (1 equiv.) was solubilized in anisole (2.3 equiv.) before TFA (33 equiv.) was added dropwise. Subsequently, sulfuric acid (58 %, 2.3 equiv.) is added dropwise and the mixture is stirred at RT for 16 h. The mixture was then cooled down to 0 °C and neutralized with a saturated NaHCO₃ aqueous solution. The aqueous layer was extracted with AcOEt then DCM. The combined organic layers were dried on MgSO₄ and

concentrated under reduced pressure. The resulting material was purified by chromatography using 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product.

Typical procedure J for the protection of 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridines with MEMCl: To a solution of 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (1 equiv) in dry toluene was added triethylamine (1.5 equiv). The reaction was stirred at 0 °C for 30 minutes. A solution of 2-methoxyethoxymethyl chloride (MEMCl) (2 equiv) in toluene was added to the mixture via a dropping funnel over a period of one hour at 0 °C. The reaction mixture was then heated to reflux (110 °C) overnight. The solvent was evaporated under reduced pressure and the residue purified by column chromatography using a gradient of Cyclohexane to AcOEt to give the corresponding *N*3-protected 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine.

Typical procedure K for the synthesis of 1,1-dibromoalkenes (167): 1,1-dibromoalkenes were synthesized according to the Ramirez procedure starting from commercially available aldehydes.¹¹³ The typical procedure for their preparation is described for compound **167k**.¹⁵⁰

Compounds **167a**,¹⁵¹ **167b**,¹⁵¹ **167c**,¹⁵² **167d**,¹⁵¹ **167e**,¹⁵³ **167f**,¹⁵³ **167g**,¹⁵⁴ **167h**,¹⁵⁵ **167i**,¹⁵³ **167j**,¹⁵² **167l**,¹⁵⁶ **167m**¹⁵⁷ and **167n**¹⁵² showed satisfactory spectroscopic data in agreement with those reported in the literature.

Typical procedure L for the direct alkynylation between 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridines and 1,1-dibromoalkenes: In a round-bottom flask, *N*3-protected-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (1 equiv), copper catalyst (0.1 equiv), DPEPhos (0.2 equiv) and 1,4-dioxane (2 mL) were mixed under argon inlet for 5 minutes at room temperature. LiOtBu (6 equiv) was then added, the reaction mixture was stirred for 1 min and 1,1-dibromoalkene (2 equiv) was added. The mixture was stirred at 110 °C for 4 hours. The crude reaction mixture was allowed to cool down to room temperature before AcOEt was added. After filtration on celite, the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to AcOEt to give the corresponding product. It should be noticed that the direct alkynylation reaction was performed in a sealed tube for

¹⁵⁰ M. A. Ashwell, J.-M. Lapierre, C. Brassard, K. Bresciano, C. Bull, S. Cornell-Kennon, S. Eathiraj, D. S. France, T. Hall, J. Hill, E. Kelleher, S. Khanapurkar, D. Kizer, S. Koerner, J. Link, Y. Liu, S. Makhija, M. Moussa, N. Namdev, K. Nguyen, R. Nicewonger, R. Palma, J. Szwaya, M. Tandon, U. Uppalapati, D. Vensel, L. P. Volak, E. Volckova, N. Westlund, H. Wu, R.-Y. Yang, T. C. K. Chan, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 5291-5310.

¹⁵¹ J. i. Uenishi, R. Kawahama, O. Yonemitsu, J. Tsuji, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8965-8975.

¹⁵² A. K. Morri, Y. Thummala, V. R. Doddi, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4640-4643.

¹⁵³ X. Y. Chen, L. Wang, M. Frings, C. Bolm, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3796-3799.

¹⁵⁴ M. Uchiyama, H. Ozawa, K. Takuma, Y. Matsumoto, M. Yonehara, K. Hiroya, T. Sakamoto, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5517-5520.

¹⁵⁵ J. J. Hagan, E. Ratti, C. Routledge, **2005**, GLAXOSMITHKLINE, WO2005/048999A3.

¹⁵⁶ A. V. Shastin, V. N. Korotchenko, V. G. Nenajdenko, E. S. Balenkova, *Synthesis* **2001**, 2081-2084.

¹⁵⁷ K. A. Roper, M. B. Berry, S. V. Ley, *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 1781-1790.

compounds **164a**, **164b**, **165a**, **165b**, **166a**, **166d**, **166e**, **166f**, **166m**, **172b** and **170f**, conditions which gave better results than if performed in a flask.

Typical procedure M for the deprotection of N3-MEM-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridines: In a round-bottom flask and under argon inlet, sulfuric acid (130 equiv) was added dropwise to a solution of N3-MEM-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (1 equiv) in THF (2 mL) at 0 °C. The mixture was stirred overnight at room temperature. After neutralization of the crude reaction mixture with a saturated solution of NaHCO₃, the precipitate was filtered and washed several times with dichloromethane. The desired products were obtained without any further purification.

General procedure N for the preparation of vinyl bromides (196):¹²⁹ To a solution of the corresponding dibromovinyl derivative (1 equiv.) in diethyl phosphite (3 equiv.) was added triethylamine (3 equiv.). The reaction was stirred at room temperature for 2 h. Diethyl ether was added and the salts were removed by filtration. The filtrate was then concentrated under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography in cyclohexane to give the desired product.

Compounds **196a**, **196e** and **196p** are commercially available. Compounds **196b**,¹⁵⁸ **196c**,¹⁵⁹ **196d**,¹⁶⁰ **196f**,¹⁵⁹ **196h**,¹⁵⁹ **196i**,¹⁶⁰ **196j**,¹⁶¹ **196k**,¹⁶⁰ **196l**,¹⁶² **196m**,¹⁶³ and **196o**¹⁶⁴ showed satisfactory spectroscopic data in agreement with those reported in the literature.

General procedure O for the direct alkenylation of imidazo[4,5-*b*]pyridines: In a microwave tube under argon atmosphere were introduced the imidazo[4,5-*b*]pyridine substrate (1 equiv.), CuI (10 mol%), 1,10-phenanthroline (20 mol%), Pd(OAc)₂ (5 mol%) and lithium *tert*-butoxide (2 equiv.), followed by the desired vinyl bromide (2 equiv.) as a solution in dioxane (2 mL). The tube was flushed with argon, sealed and heated under microwave irradiation at 120 °C for 30 min. Subsequently, the mixture was taken in water and extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried on anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography using a gradient of cyclohexane to 40/60 AcOEt/cyclohexane to give the corresponding product.

¹⁵⁸ C. Kuang, H. Senboku, M. Tokuda, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 1491-1496.

¹⁵⁹ P. Pawluć, G. Hreczycho, J. Szudkowska, M. Kubicki, B. Marciniak, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3390-3393.

¹⁶⁰ C. Kuang, H. Senboku, M. Tokuda, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 637-642.

¹⁶¹ H. Horibe, Y. Fukuda, K. Kondo, H. Okuno, Y. Murakami, T. Aoyama, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 10701-10709.

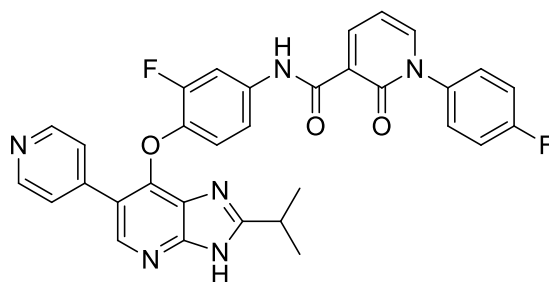
¹⁶² M. Qian, Z. Huang, E.-i. Negishi, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1531-1534.

¹⁶³ R. A. Haack, T. D. Penning, S. W. Djurić, J. A. Dziuba, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 2783-2786.

¹⁶⁴ M. R. Uehling, R. P. Rucker, G. Lalic, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 8799-8803.

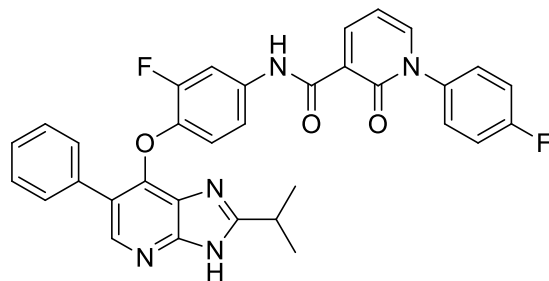
III. Synthèse des molécules

***N*-(3-fluoro-4-((2-isopropyl-6-(pyridin-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (37):**



Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **110b** (435 mg, 0.62 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (190 mg, 53 %). Mp: 286 – 288 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 13.09 (bs, 1H), 11.96 (bs, 1H), 8.67 – 8.46 (m, 3H), 8.35 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 7.57 (s, 4H), 7.39 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.20 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.69 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.03 (s, 1H), 1.23 (s, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 161.9 (d, *J* = 245.3 Hz), 161.8, 161.5, 161.3, 152.3, 149.7, 148.6, 144.8, 144.0, 142.8, 140.3, 136.3, 134.9, 129.3 (d, *J* = 9.1 Hz), 125.6, 124.2, 120.2, 119.4, 116.2, 115.9, 115.5, 108.2, 107.0, 40.1, 39.8, 28.7, 20.8. MS (ES+) *m/z* (%): 290.1 (100) [M+2H]²⁺; 579.2 (90). HRMS (ESI) calculated for C₃₂H₂₅F₂N₆O₃ 579.1956; found 579.1960.

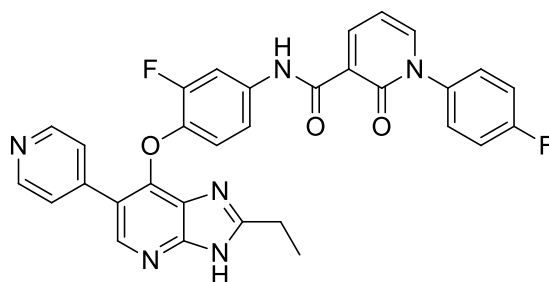
***N*-(3-fluoro-4-((2-isopropyl-6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (38):**



To a solution of *N*-(4-((3-benzyl-2-isopropyl-6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **92b** (60 mg, 0.09 mmol) in EtOH (10 mL) was added Pd 10 % on carbon (96 mg, 0.09 mmol). The resulting suspension was

flushed with argon and purged twice before flushing with hydrogen. The medium was then stirred at RT overnight. The suspension was subsequently filtered on a celite plug and the filtrate was concentrated under reduce pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient from DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product as a white solid (33 mg, 64 %). Mp: 177 – 179 °C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ = 12.96 (s, 1H), 11.93 (s, 1H), 8.55 (dd, J = 7.3, 2.1 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.10 (dd, J = 6.6, 2.1 Hz, 1H), 7.84 (dd, J = 13.2, 2.4 Hz, 1H), 7.59 (dd, J = 8.9, 4.9 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.46 – 7.37 (m, 3H), 7.34 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.20 – 7.13 (m, 1H), 6.90 (t, J = 9.1 Hz, 1H), 6.71 (t, J = 14.0 Hz, 1H), 3.04 (hept, J = 7.0 Hz, 1H), 1.24 (d, J = 7.0 Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ = 161.8 (d, J = 246.1 Hz), 161.7, 161.2, 157.7, 151.7 (d, J = 243.8 Hz), 151.2, 147.9, 144.9, 144.7, 143.9, 140.6 (d, J = 11.3 Hz), 136.2 (d, J = 3.1 Hz), 134.9, 134.1 (d, J = 9.4 Hz), 129.3, 129.2 (d, J = 9.0 Hz), 128.4, 127.3, 126.2, 122.6, 120.2, 119.3, 116.0 (d, J = 23.1 Hz), 115.6, 108.1 (d, J = 23.0 Hz), 107.0, 22.2, 11.8. MS (ES+) m/z (%): 578.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$; 1177.4 (10) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$ 578.2004; found 578.2020.

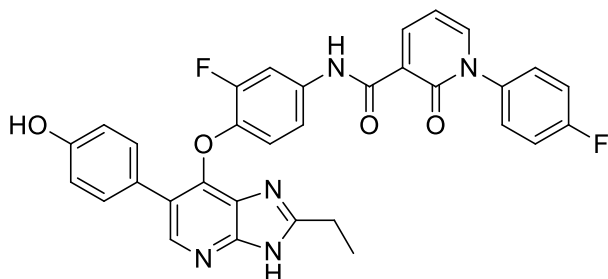
***N*-(4-((2-ethyl-6-(pyridin-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (39):**



Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **110a** (275 mg, 0.40 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (26 mg, 12 %). Mp: 238 – 240 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 12.42 (bs, 1H), 11.84 (bs, 1H), 8.71 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.62 (d, J = 4.7 Hz, 2H), 8.28 (s, 1H), 7.76 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 7.60 (dd, J = 6.6, 2.1 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 5.4 Hz, 2H), 7.41 - 7.36 (m, 2H), 7.28 - 7.22 (m, 2H), 7.15 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.60 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 2.90 (q, J = 7.8 Hz, 2H), 1.37 (t, J = 7.8 Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ = 161.8 (d, J = 246.0 Hz), 161.8, 161.3, 158.1, 157.9, 157.7, 157.4, 152.1, 152.0 (d, J = 243.8 Hz), 149.6, 148.3, 144.8, 144.7, 144.0, 142.8, 140.2 (d, J = 11.4 Hz), 136.2 (d, J = 2.1 Hz), 134.6 (d, J = 9.5 Hz), 132.1, 131.5 (d, J = 9.9 Hz), 129.3 (d, J = 8.9 Hz), 125.9, 124.1, 120.2, 119.9, 119.5, 118.3, 116.0 (d, J = 22.9 Hz), 115.6, 108.1 (d, J = 22.9 Hz), 107.0, 66.3, 59.7, 48.6, 22.2, 20.7, 14.0, 11.7. MS (ES+) m/z (%):

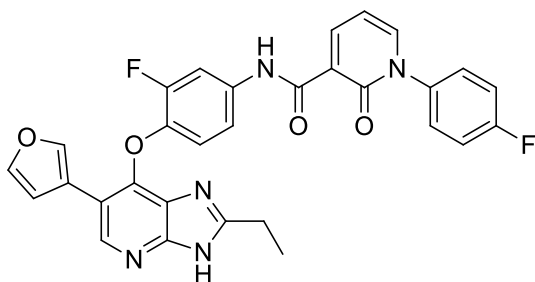
208.0 (100); 283.1 (55) $[M+2H]^{2+}$; 565.2 (80). HRMS (ESI) calculated for $C_{31}H_{23}F_2N_6O_3$ 565.1800; found 565.1790.

***N*-(4-((2-ethyl-6-(4-hydroxyphenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (43):**



Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-2-ethyl-6-(4-hydroxyphenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **111a** (240 mg, 0.34 mmol) to give the corresponding product as a white solid (82 mg, 41 %). Mp: 230 – 232 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 12.84 (bs, 1H), 11.82 (bs, 1H), 9.44 (s, 1H), 8.43 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.97 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 7.48 (s, 2H), 7.31 – 7.22 (m, 4H), 7.04 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 6.69 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 6.59 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 2.76 – 2.55 (m, 2H), 1.10 – 1.13 (m, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ = 161.9 (d, J = 245.0 Hz), 161.8, 161.2, 156.9, 151.6 (d, J = 243.7 Hz), 145.2, 144.8, 144.1, 143.8, 140.6 (d, J = 13.6 Hz), 136.3, 133.9 (d, J = 9.2 Hz), 130.7, 130.1, 130.4, 129.3, 125.2, 123.1, 120.3, 116.3, 115.9, 115.6, 115.3, 108.2, 107.0, 22.3, 12.0. HRMS (ESI) calculated for $C_{32}H_{24}F_2N_5O_4$ 580.1796; found 580.1807.

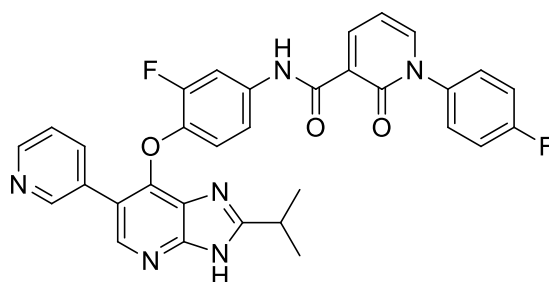
***N*-(4-((2-ethyl-6-(furan-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (44):**



Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-2-ethyl-6-(furan-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **107a** (175 mg, 0.26 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (96 mg, 67 %). Mp: 262 – 264 °C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.99 (bs, 1H), 11.97 (bs, 1H), 8.58 (t, J = 8.4

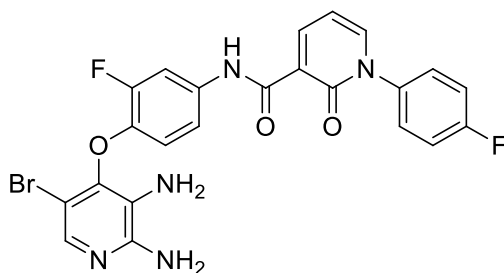
Hz, 2H), 8.10 – 7.92 (m, 3H), 7.74 (s, 1H), 7.61 – 7.57 (m, 2H), 7.40 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.85 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 6.69 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.72 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 1.20 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 163.5, 161.8, 161.3, 160.3, 157.7, 150.9, 150.2, 147.5, 144.8, 144.1, 143.9, 143.4, 140.5, 140.16, 136.27, 134.3, 129.3, 129.2, 126.5, 120.2, 119.2, 116.2, 115.9, 113.8, 108.5, 107.0, 22.3, 11.9$. MS (ES+) m/z (%): 554.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4$ 554.1640; found 554.1633.

***N*-(3-fluoro-4-((2-isopropyl-6-(pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (46):**



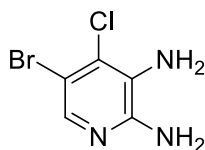
Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **109b** (414 mg, 0.59 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (256 mg, 75 %). Mp: 306 – 308 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 13.06$ (bs, 1H), 11.96 (bs, 1H), 8.74 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.54 (dd, $J = 7.2, 2.3$ Hz, 2H), 8.31 (s, 1H), 8.09 (dd, $J = 6.6, 2.1$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.85 (dd, $J = 13.2, 2.3$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J = 9.0, 4.9$ Hz, 1H), 7.47 – 7.37 (m, 4H), 7.20 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.98 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.69 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 3.11 – 2.96 (m, 1H), 1.24 (s, 3H), 1.22 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 161.9$ (d, $J = 245.9$ Hz), 161.8, 161.4, 161.3, 152.0 (d, $J = 242.0$ Hz), 151.9, 149.7, 148.4 (d, $J = 20.9$ Hz), 144.8 (d, $J = 9.2$ Hz), 144.0, 142.7, 140.3 (d, $J = 11.7$ Hz), 136.8, 136.4, 136.3 (d, $J = 2.8$ Hz), 134.6 (d, $J = 9.8$ Hz), 130.9, 129.3 (d, $J = 9.0$ Hz), 125.8, 123.5, 120.2, 120.0, 119.0, 116.1 (d, $J = 23.0$ Hz), 115.5, 108.0 (d, $J = 22.7$ Hz), 107.0, 28.7, 20.8. MS (ES+) m/z (%): 290.1 (60) $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; 310.6 (100); 579.2 (65) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{32}\text{H}_{25}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_3$ 579.1956; found 579.1932.

***N*-[4-((2,3-diamino-5-bromopyridin-4-yl)oxy)-3-fluorophenyl]-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (49):**



In a sealed tube under argon atmosphere at RT were introduced the inseparable 50:50 mixture of **62** and **51** (330 mg, 0.59 mmol) and iron powder (101 mg, 1.8 mmol) in EtOH (10 mL). HCl (37 %, 0.20 mL, 2 mmol) was then added dropwise and the reaction mixture was warmed up to 70 °C for 3 h. The residue was then filtered on Celite and washed with EtOH. The filtrate was concentrated under reduced pressure, taken in AcOEt and neutralized with 3 M NaOH aqueous solution. The aqueous layer was then extracted with AcOEt and the combined organic layers were dried on MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient of DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product as a grey solid (62.3 mg, 40 %). Mp: 139 – 141 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ = 11.95 (s, 1H), 8.56 (dd, *J* = 7.2, 2.0 Hz, 1H), 8.11 (dd, *J* = 6.5, 2.0 Hz, 1H), 7.96 (dd, *J* = 13.3, 2.2 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 8.7, 4.9 Hz, 2H), 7.42 (dd, *J* = 14.8, 5.9 Hz, 3H), 7.19 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.72 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.54 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.10 (s, 2H), 5.06 (s, 2H). MS (ES+) *m/z* (%): 528.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₃H₁₇N₅O₃F₂Br 528.0483; found 528.0479.

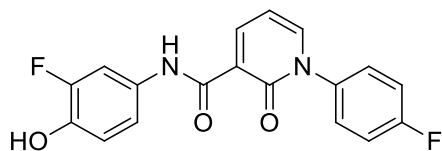
2,3-Diamino-5-bromo-4-chloropyridine (50):



To a solution of 2-amino-5-bromo-4-chloro-3-nitropyridine **56** (2.2 g, 8.71 mmol) in EtOH (20 mL) was added dropwise 10 M chlorhydric acid (2.88 mL, 28.8 mmol) at RT. Iron (1.49 g, 26.7 mmol) was then added portionwise and the resulting suspension was warmed up to reflux for 24 h. The reaction mixture was filtered on a celite plug and washed with EtOH to remove the iron salts. The filtrate was concentrated under reduce pressure and the resulting residue was taken in AcOEt and neutralized with a 3 M NaOH aqueous solution. The organic layer was then dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to give the corresponding product as a gray solid (1.9 g, quant.) without

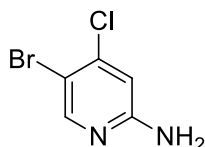
further purification. Mp: 147 – 149 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 7.44 (s, 1H), 5.99 (s, 2H), 5.29 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 155.5, 136.6, 119.8, 115.0, 99.2. MS (ES+) m/z (%): 223.9 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_3\text{ClBr}$ 221.9434; found 221.9438.

***N*-(3-fluoro-4-hydroxyphenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (51):**

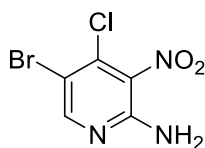


The reaction was performed following procedure A on 4-Amino-2-fluorophenol **61** (3 g, 23.6 mmol) to give the corresponding product as a light brown solid (4 g, 50 %). Mp: 217-219 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 11.77 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 8.52 (dd, J = 7.3, 1.9 Hz, 1H), 8.07 (dd, J = 6.4, 1.7 Hz, 1H), 7.72 (dd, J = 13.5, 2.4 Hz, 1H), 7.61 – 7.53 (m, 2H), 7.45 – 7.35 (m, 2H), 7.11 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.88 (t, J = 9.3 Hz, 1H), 6.68 (t, J = 7.0 Hz, 1H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 161.8 (d, J = 245.9 Hz), 161.7, 160.8, 150.3 (d, J = 239.3 Hz), 144.4, 143.6, 141.1 (d, J = 12.2 Hz), 136.3 (d, J = 2.9 Hz), 130.3 (d, J = 9.3 Hz), 129.2 (d, J = 8.9 Hz), 120.4, 117.7 (d, J = 3.7 Hz), 116.0 (d, J = 18.9 Hz), 115.9 (d, J = 3.9 Hz), 108.3 (d, J = 23.0 Hz), 106.9. MS (ES+) m/z (%): 343.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}_2$ 343.0894; found 343.0902.

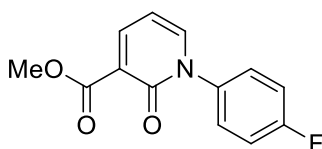
2-Amino-5-bromo-4-chloropyridine (55):



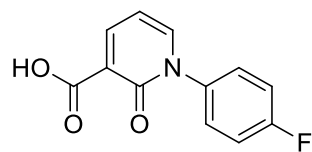
To a solution of commercial 2-amino-4-chloropyridine **54** (1 g, 7.78 mmol) in acetonitrile (40 mL) was added dropwise a solution of *N*-bromosuccinimide (1.45 g, 8.12 mmol) in acetonitrile (20 mL). The yellow reaction mixture was stirred at RT for 18 h and subsequently concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography using a gradient of DCM to 80/20 DCM/AcOEt to give the corresponding product as a beige solid (1.30 g, 80 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.17 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 4.51 (bs, 2H). MS (ES+) m/z (%): 206.8 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.⁶

2-Amino-5-bromo-4-chloro-3-nitropyridine (56):

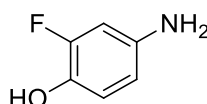
In a sealed tube under argon atmosphere was introduced 2-amino-5-bromo-4-chloropyridine **55** (0.55 g, 2.65 mmol) in sulfuric acid (4 mL) at 0 °C. The resulting mixture was stirred for 15 min at 0 °C until solubilisation of **2**. The sealed tube was then warmed up to 55 °C and nitric acid (0.25 mL, 3.90 mmol) is added dropwise in 1 min. The resulting orange mixture was stirred at 55 °C for 1 h and subsequently poured on ice. The aqueous layer was neutralized with 3 M NaOH aqueous solution then extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient of DCM to 99/1 DCM/EtOH to give the corresponding product as a bright yellow solid (300 mg, 45 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ = 8.42 (s, 1H), 7.38 (bs, 2H). MS (ES+) *m/z* (%): 252.0 (100) [M+H]⁺. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.⁶

Methyl 1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxylate (59):

To a solution of commercial methyl-2-oxo-2H-pyran-3-carboxylate **57** (7 g, 45.4 mmol) in DMF (20 mL), was added dropwise under argon atmosphere the commercial *p*-fluoroaniline **58** (4.5 mL, 46.8 mmol). The resulting mixture was stirred at 0 °C for 7 h before EDCI (11.3 g, 59 mmol) and DMAP (1.39 g, 11.4 mmol) were added. After stirring at RT for 12 h, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the resulting brown oil was extracted with AcOEt, washed with brine and dried on MgSO₄. Solvent was evaporated and crude product was purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to AcOEt to give the corresponding product as a beige solid (7.8 g, 69 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ = 8.10 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.49 – 7.32 (m, 4H), 6.39 (m, 1H), 3.73 (s, 3H). MS (ES+) *m/z* (%): 247.9 (100) [M+H]⁺. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.⁶¹

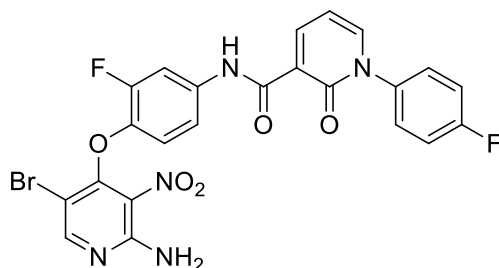
1-(4-Fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxylic acid (60):

A solution of methyl 1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxylate **59** (7.8 g, 31.4 mmol) in THF (39 mL) at RT was treated with a 1 M LiOH aqueous solution (55 mL) for 3 h. The mixture was then concentrated under reduced pressure, extracted with AcOEt and the pH was adjusted to 2 by adding 1 M HCl aqueous solution. The organic layer was dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to give the corresponding product as a beige solid (7.0 g, 95 %) without further purification. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8.47 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 7.65 – 7.52 (m, 2H), 7.47 – 7.33 (m, 2H), 6.77 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H). MS (ES+) *m/z* (%): 256.0 (100) [M+Na]⁺. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.⁶¹

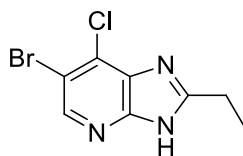
4-Amino-2-fluorophenol (61):

To a solution of 2-Fluoro-4-nitrophenol (1.6 g, 10.0 mmol) in EtOH (10 mL) was added Pd 10 % on carbon (100 mg, 0.1 mmol). The resulting suspension was flushed with argon and purged twice before flushing with hydrogen. The medium was then stirred at RT overnight. The suspension was subsequently filtered on a celite plug and the filtrate was concentrated under reduce pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient from DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product as a brown solid which was used without any further purification (1.2 g, 98 %). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8.55 (s, 1H), 6.60 (dd, *J* = 10.0, 8.6 Hz, 1H), 6.32 (dd, *J* = 13.4, 2.5 Hz, 1H), 6.18 (dd, *J* = 8.5, 1.3 Hz, 1H), 4.66 (s, 2H). MS (ES+) *m/z* (%): 127.9 (100) [M+ H]⁺. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.¹⁶⁵

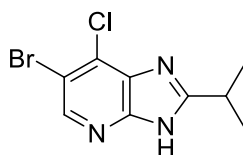
¹⁶⁵ S. Demkowicz, K. Filipiak, M. Maslyk, J. Ciepielski, S. de Pascual-Teresa, S. Martin-Santamaria, B. d. Pascual-Teresa, A. Ramos, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 3697-3706.

***N*-(4-((2-amino-5-bromo-3-nitropyridin-4-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (62):**

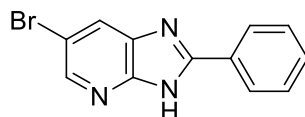
In a sealed tube under argon atmosphere at RT was introduced *N*-(3-fluoro-4-hydroxyphenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **51** (75 mg, 0.22 mmol), followed by LiOtBu (24 mg, 0.30 mmol) in dry DMF (1 mL). The resulting suspension was stirred at RT for 1 h before 2-amino-5-bromo-4-chloro-3-nitropyridine **56** (50 mg, 0.20 mmol) was added. The tube was then warmed up to 70 °C and stirred for 16 h. Solvent was removed under reduced pressure and the residue was taken in AcOEt and washed with a saturated Na₂CO₃ aqueous solution. The organic layer was then dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient of DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product **9** in 50:50 mixture with excess **51** as a brown solid (estimated 30 mg, 28 %). Mp: 139 – 141 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ = 11.98 (s, 1H), 11.78 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 8.53 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H + 1H), 8.44 (s, 1H), 8.09 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H), 7.94 (dd, *J* = 13.6, 1.9 Hz, 1H), 7.72 (dd, *J* = 12.9, 2.3 Hz, 1H), 7.57 (bs, 4H + 2H), 7.40 (t, *J* = 8.25 Hz, 2H + 2H), 7.27 (dd, *J* = 8.6, 1.7 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.00 – 6.83 (m, 1H + 1H), 6.74 – 6.64 (m, 1H + 1H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ 161.8 (d, *J* = 246.1 Hz), 161.8 (d, *J* = 249.1 Hz), 161.7, 161.4, 155.4, 154.4, 154.2, 153.4, 152.5, 151.7, 151.2, 149.7, 149.3, 144.8, 144.5, 144.0, 143.7, 141.1 (d, *J* = 12.4 Hz), 138.9 (d, *J* = 11.4 Hz), 136.3 (d, *J* = 2.6 Hz), 136.2 (d, *J* = 2.3 Hz), 134.7 (d, *J* = 9.4 Hz), 130.3 (d, *J* = 9.1 Hz), 129.3 (d, *J* = 9.0 Hz), 125.2, 120.5, 120.1, 117.7 (d, *J* = 3.5 Hz), 117.2, 116.0 (d, *J* = 23.4 Hz), 108.6 (d, *J* = 22.8 Hz), 108.3 (d, *J* = 23.2 Hz), 107.0, 106.9, 99.0. MS (ES+) *m/z* (%): 558.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₃H₁₅N₅O₅F₂Br 558.0225; found 558.0251.

6-Bromo-7-chloro-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (65a):

Reaction was performed following procedure B on 6-bromo-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **70a** (1.1 g, 4.90 mmol) to give the corresponding product in 75:25 mixture with 6-bromo-5-chloro-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **72a** as a beige solid (890 mg, 70 %). Mp: 79 – 81 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8.44 (s, 1H), 8.33 (s, 0.34H), 3.04 – 2.70 (m, 2H), 1.33 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 161.4, 160.8, 150.9, 149.9, 144.1, 141.3, 132.5, 131.4, 129.5, 127.9, 112.5, 110.3, 22.4, 11.8. MS (ES+) *m/z* (%): 260.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₈H₈ClBrN₃ 259.9590; found 259.9591.

6-Bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (65b):

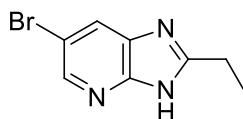
Reaction was performed following procedure B on 6-bromo-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **70b** (3.4 g, 14.3 mmol) to give the corresponding product in 75:25 mixture with 6-bromo-5-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **72b** as a beige solid (2.75 g, 70 %). Mp: 123 – 125 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8.41 (s, 1H), 8.31 (s, 0.25H), 3.33 – 3.00 (m, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.33 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 165.2, 164.6, 151.0, 150.1, 144.0, 141.2, 132.7, 131.5, 129.7, 128.0, 112.3, 110.1, 28.9, 28.8, 21.0, 20.9. MS (ES+) *m/z* (%): 276.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₉H₁₀N₃BrCl 273.9747; found 273.9760.

6-Bromo-2-phenyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (68):

A mixture of commercial 2-amino-5-bromo-3-nitropyridine **66** (200 mg, 0.92 mmol), benzylamine (0.4 mL, 3.66 mmol), CoBr·2H₂O (14 mg, 0.05 mmol) and sulfur (6 mg, 0.18 mmol) was stirred in a sealed tube under argon atmosphere at 150 °C for 24 h. The crude mixture was then taken in DCM and sonicated before filtration. The filtrate was then concentrated under reduced pressure and purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to AcOEt to give the corresponding product as a

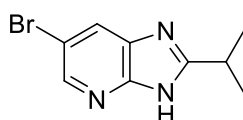
gray solid (90 mg, 36 %). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.41 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.24 – 8.18 (m, 2H), 7.56 (d, J = 4.9 Hz, 3H). MS (ES+) m/z (%): 274.0 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.¹⁶⁶

6-Bromo-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (70a):



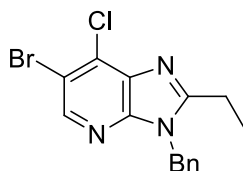
Reaction was performed following procedure C on 2,3-diamino-5-bromopyridine **69** (4 g, 20.4 mmol) to give the corresponding product as a brown solid (3.23 g, 70 %). Mp: 237 – 239 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.91 (bs, 1H), 8.31 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 2.85 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 1.31 (t, J = 7.6 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ = 160.1, 142.8, 112.2, 22.3, 11.7. MS (ES+) m/z (%): 226.0 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_8\text{H}_9\text{BrN}_3$ 225.9980; found 225.9983.

6-Bromo-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (70b):



Reaction was performed following procedure C on 2,3-diamino-5-bromopyridine **69** (4.17 g, 21.3 mmol) to give the corresponding product as a brown solid (3.6 g, 70 %). Mp: 190 – 192 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.83 (d, J = 121.0 Hz, 1H), 8.33 (d, J = 19.6 Hz, 1H), 8.12 (d, J = 37.8 Hz, 1H), 3.29 – 2.98 (m, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.33 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ = 163.3, 147.7, 142.7, 136.2, 127.8, 112.2, 28.7, 20.9. MS (ES+) m/z (%): 240.0 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{Br}$ 240.0136; found 240.0141.

3-Benzyl-6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (73a):

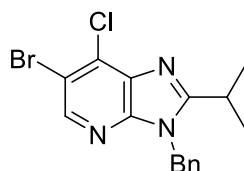


Reaction was performed following procedure E on isomers mixture **65a/72a** (350 mg, 1.3 mmol) to give the corresponding product as a light yellow solid (200 mg, 40 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.45 (s, 1H), 7.38 – 7.21 (m, 3H), 7.17 – 7.06 (m, 2H), 5.46 (s, 2H), 2.85 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.34 (t, J =

¹⁶⁶ B. G. Szczepankiewicz, J. J. Rohde, R. Kurukulasuriya, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1833-1835.

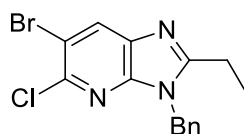
7.5 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 163.2, 147.4, 145.1, 135.9, 133.9, 133.4, 129.0, 128.1, 126.6, 114.5, 45.7, 27.4, 21.2. Mp: 118 – 120 °C. MS (ES+) m/z (%): 352.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{ClBr}$ 350.0060; found 350.0066.

3-Benzyl-6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (73b):



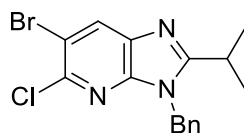
Reaction was performed following procedure E on isomers mixture **65b/72b** (500 mg, 1.8 mmol) to give the corresponding product as a light yellow solid (270 mg, 40 %). Mp: 123 – 125 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.44 (s, 1H), 7.28 (m, 3H), 7.09 (m, 2H), 5.49 (s, 2H), 3.13 (hept, $J = 6.6$ Hz, 1H), 1.34 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 163.5, 146.4, 143.4, 135.7, 134.7, 131.9, 128.9, 128.0, 126.7, 112.4, 45.5, 27.2, 21.1. MS (ES+) m/z (%): 366.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{ClBr}$ 364.0216; found 364.0209.

3-Benzyl-6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (74a):

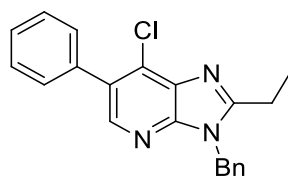


Light yellow solid. Mp: 123 – 125 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.20 (s, 1H), 7.35 – 7.20 (m, 3H), 7.18 – 7.04 (m, 2H), 5.39 (s, 2H), 2.79 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.35 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 159.6, 146.6, 143.4, 135.4, 134.6, 131.9, 128.9, 128.1, 126.9, 112.3, 45.6, 21.6, 10.7.

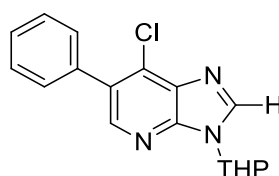
3-Benzyl-6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (74b):



Light yellow solid. Mp: 117 – 119 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.21 (s, 1H), 7.35 – 7.19 (m, 3H), 7.18 – 7.03 (m, 2H), 5.44 (s, 2H), 3.11 (hept, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.29 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 163.4, 146.3, 143.3, 135.7, 134.6, 131.8, 128.8, 128.0, 126.6, 112.3, 45.5, 27.2, 21.2.

3-Benzyl-7-chloro-2-ethyl-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (75):

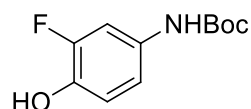
In a sealed tube under argon atmosphere, a 2 M Cs₂CO₃ aqueous solution (1.1 mL, 2.3 mmol) was added to a mixture of 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **73a** (400 mg, 1.14 mmol), phenylboronic acid (181 mg, 1.5 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (66 mg, 0.06 mmol) in 1,4-dioxane (8 mL). The tube was warmed up to 100 °C for 18 h. The mixture is then taken in AcOEt and washed with water. The organic layer was dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to AcOEt to give the corresponding product in an 62:38 mixture with the *biphenyl compound* **76** as a light yellow oil (estimated 80 % yield for expected product). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.40 (s, 1H), 8.30 (s, 0.47H), 7.58 – 7.12 (m, 10H + 5.7H), 5.55 (s, 2H), 5.52 (s, 1.1H), 2.94 – 2.79 (m, 2H + 0.76H), 1.36 (t, J = 7.5 Hz, 1.1H), 1.29 (t, J = 7.5 Hz, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 158.3, 148.3, 145.1, 138.9, 138.2, 136.5, 134.8, 131.1, 131.0, 130.5, 128.9, 128.1, 127.9, 127.8, 127.7, 126.8, 126.6, 45.4, 21.7, 12.0. MS (ES+) *m/z* (%): 348.1 (25) [expected+H]⁺; 390.2 (100) [diaryl+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₉ClN₃ 348.1268; found 348.1265.

7-Chloro-6-phenyl-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (78):

In a sealed tube under argon atmosphere, a 2 M Cs₂CO₃ aqueous solution (0.2 mL, 0.4 mmol) was added to a mixture of 6-bromo-7-chloro-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **86** (63.3 mg, 0.2 mmol), phenylboronic acid (32 mg, 0.26 mmol) and PdCl₂(dppf) (7.3 mg, 0.01 mmol) in 1,4-dioxane (4 mL). The tube was warmed up to 100 °C for 18 h. The mixture is then taken in AcOEt and washed with water. The organic layer was dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to AcOEt to give the corresponding product in a 90:10 mixture with the biphenyl compound as a light yellow oil (estimated 85 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.37 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.56 – 7.41 (m, 5H), 5.86 (dd, J = 9.9, 2.8 Hz, 1H), 4.27 – 4.15 (m, 1H), 3.88 – 3.76 (m, 1H), 2.26 – 2.06 (m, 3H), 1.90 – 1.63 (m, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 146.1, 145.8, 145.7, 145.6, 142.4, 142.0, 139.4, 138.2, 135.7, 134.4, 133.8,

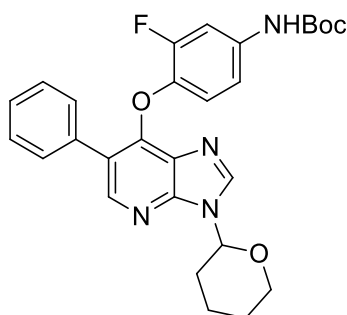
133.4, 132.9, 131.7, 131.2, 130.6, 130.3, 129.9, 128.2, 128.0, 127.9, 127.7, 126.7, 81.9, 81.5, 68.7, 31.6, 24.8, 24.8, 22.9, 22.7. MS (ES+) m/z (%): 230 (100) [expected-THP+H]⁺; 272.1 (35) [diaryl-THP+H]⁺; 314.1 (55) [expected+H]⁺; 356.2 (65) [diaryl+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₇H₁₇ClN₃O 314.1060; found 314.1057.

***t*-Butyl (3-fluoro-4-hydroxyphenyl)carbamate (81):**



A solution of 4-amino-2-fluorophenol **61** (2.5 g, 19.7 mmol) and triethylamine (2.7 mL, 19.7 mmol) in dry THF (50 mL) was cooled down to 0°C. After addition of di-*t*-butyl-dicarbonate (4.2 mL, 19.7 mmol) the ice bath was removed and the reaction was stirred at RT for 16h. The solution was diluted with AcOEt and washed with a saturated NH₄Cl solution and brine. The organic phase was dried over MgSO₄, evaporated and purified by flash chromatography using a gradient of cyclohexane to 60/40 cyclohexane/AcOEt to give the corresponding product as a beige solid (3.2 g, 72%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 7.36 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 6.92-6.79 (m, 2H), 6.37 (bs, 1H), 5.07 (bs, 1H), 1.50 (s, 9H). MS (ES+) m/z (%): 172 (100) [M-*t*-Bu]⁺. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.¹⁶⁷

***t*-Butyl(3-fluoro-4-((6-phenyl-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate (84):**

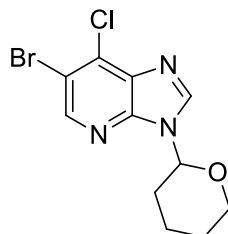


Reaction was performed following procedure G on *t*-butyl(4-((6-bromo-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate **87** (431 mg, 0.85 mmol,) using PdCl₂(dppf) (31 mg, 0.04 mmol) to allow the corresponding product as a beige solid (136 mg, 74 %). Mp: 191 – 193 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.41 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.58-7.57 (m, 2H), 7.46-7.35 (m, 3H), 6.94 (t, 1H, *J* = 9.0 Hz), 6.85-6.81 (m, 2H), 5.85 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 9.0 Hz), 4.14 (dd, 1H, *J* =

¹⁶⁷ D. J. Hwang, J. Yang, H. Xu, I. M. Rakov, M. L. Mohler, J. T. Dalton, D. D. Miller, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 6525-6538.

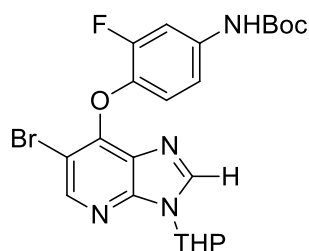
3.0 and 9.0 Hz), 3.81 (td, 1H, $J = 3.0$ and 12.0 Hz), 2.11-2.03 (m, 3H), 1.76-1.73 (m, 3H), 1.42 (s, 9H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 171.2, 153.2$ (d, $J = 263$ Hz), 152.7, 148.3, 147.1, 140.8, 139.5 (d, $J = 12$ Hz), 136.0 (d, $J = 9$ Hz) 135.0, 129.8, 128.4, 127.5, 125.8, 123.4, 120.6, 113.7, 107.1 (d, $J = 23$ Hz), 81.7, 80.2, 68.8, 31.7, 28.2, 24.9, 22.9. MS (ES+) m/z (%): 505 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{FN}_4\text{O}_4$ 505.2251; found 505.2235.

6-Bromo-7-chloro-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (86):



A suspension of the inseparable mixture **118/126** (3.0 g, 12.9 mmol) and *p*-toluenesulfonic acid (122 mg, 0.65 mmol) in AcOEt (30 mL) was heated to 65°C and stirred for 30 min. Subsequently, 3,4-Dihydro-2H-pyran (1.8 mL, 19.3 mmol) was added and the reaction was heated to reflux and stirred for 16h. The resulting mixture was diluted with AcOEt, the pH was adjusted to 8 by addition of a saturated NaHCO_3 aqueous solution, the organic phase was extracted with AcOEt, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to 50/50 cyclohexane/AcOEt to give the corresponding product as a white solid (2.25 g, 55 %). Mp: $71 - 73^\circ\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 8.51$ (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 5.79 (dd, 1H, $J = 3.0$ and 9.0 Hz), 4.18 (dd, 1H, $J = 3.0$ and 9.0 Hz), 3.80 (td, 1H, $J = 3.0$ and 12.0 Hz), 2.18-2.03 (m, 3H), 1.80-1.68 (m, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 146.3, 145.2, 142.9, 134.9, 134.4, 114.9, 82.1, 68.8, 31.8, 24.8, 22.8$. MS (ES+) m/z (%): 318 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{BrClN}_3\text{O}$ 315.9852; found 315.9857.

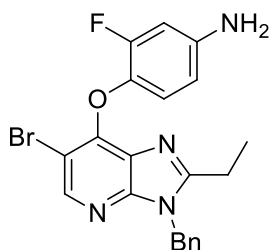
***t*-Butyl(4-((6-bromo-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate (87):**



Reaction was performed following procedure F on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **86** (158 mg, 0.5 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (136

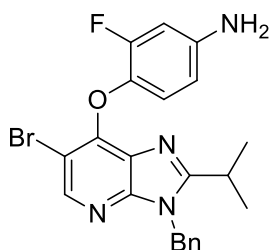
mg, 63 %). Mp: 194 – 196 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.48 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.45 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz), 7.06 (t, 1H, $J = 9.0$ Hz), 6.92-6.84 (m, 2H), 5.77 (dd, 1H, $J = 3.0$ and 9.0 Hz), 4.14 (dd, 1H, $J = 3.0$ and 9.0 Hz), 3.77 (td, 1H, $J = 3.0$ and 12.0 Hz), 2.11-1.94 (m, 3H), 1.79-1.64 (m, 3H), 1.42 (s, 9H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 169.0, 153.4 (d, $J = 289$ Hz), 152.4, 147.9, 147.2, 141.1, 139.2 (d, $J = 12$ Hz), 136.2 (d, $J = 9$ Hz), 126.7, 121.1, 113.6, 107.2 (d, $J = 24$ Hz), 104.8, 81.8, 80.8, 68.8, 31.8, 28.3, 24.9, 22.9, 14.2. MS (ES+) m/z (%): 507.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{BrN}_4\text{O}_4\text{F}$ 507.1043; found 507.1060.

4-((3-Benzyl-6-bromo-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (88a):



Reaction was performed following procedure F on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **73a** (640 mg, 1.83 mmol) to give the corresponding product as a brown solid (440 mg, 55 %). Mp: 157 – 159 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.40 (s, 1H), 7.39 – 7.20 (m, 3H), 7.20 – 7.05 (m, 2H), 6.95 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.48 (dd, $J = 12.1$, 2.5 Hz, 1H), 6.37 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 2.67 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.17 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 157.0, 154.5 (d, $J = 246.3$ Hz), 151.0, 150.4, 146.1, 144.3 (d, $J = 9.5$ Hz), 136.7 (d, $J = 12.4$ Hz), 136.0, 128.9, 128.0, 126.9, 121.8 (d, $J = 2.1$ Hz), 116.7, 110.2 (d, $J = 2.9$ Hz), 104.3, 103.4 (d, $J = 21.3$ Hz), 45.6, 21.4, 10.8. MS (ES+) m/z (%): 441.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{OBrF}$ 441.0726; found 441.0733.

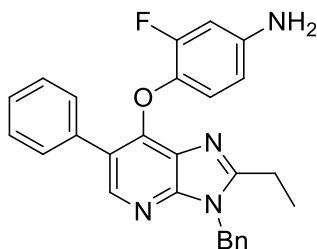
4-((3-Benzyl-6-bromo-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (88b):



Reaction was performed following procedure F on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **73b** (450 mg, 1.23 mmol) to give the corresponding product as a brown solid (310 mg, 55 %). Mp: 156 – 158 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.38 (s, 1H), 7.39 – 7.18 (m, 5H), 7.18 – 7.04 (m, 2H), 6.96 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.43 – 6.32 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 3.39

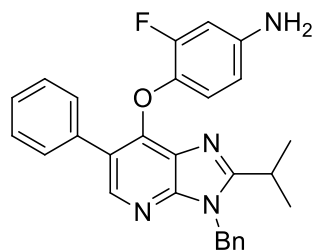
(b, 2H), 3.03 – 2.92 (m, 1H), 1.14 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 160.5, 154.6 (d, $J = 246.0$ Hz), 151.0, 150.2, 146.0, 144.3 (d, $J = 9.4$ Hz), 136.6 (d, $J = 12.5$ Hz), 136.3, 128.8, 127.8, 126.7, 126.5, 121.9 (d, $J = 2.0$ Hz), 109.9 (d, $J = 2.9$ Hz), 104.0, 103.2 (d, $J = 21.4$ Hz), 45.4, 27.1, 21.1. MS (ES+) m/z (%): 455.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{OBrF}$ 455.0883; found 455.0872.

4-((3-Benzyl-2-ethyl-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (89a):



Reaction was performed following procedure G on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **88a** (110 mg, 0.25 mmol) with phenylboronic acid (46 mg, 0.37 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (70 mg, 65 %). Mp: 168 – 170 °C. ^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ = 8.37 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.53 – 7.42 (m, 2H), 7.41 – 7.18 (m, 7H), 6.92 (m, 1H), 6.83 – 6.68 (m, 2H), 5.72 (m, 1H), 5.61 (s, 2H), 2.87 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.19 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 156.6, 154.1 (d, $J = 245.6$ Hz), 150.9, 150.8, 145.9, 143.6 (d, $J = 9.4$ Hz), 137.1 (d, $J = 12.1$ Hz), 136.3, 135.5, 129.8, 128.8, 128.2, 127.8, 127.1, 126.8, 125.9, 123.1, 121.2 (d, $J = 2.3$ Hz), 110.0 (d, $J = 2.9$ Hz), 103.3 (d, $J = 21.4$ Hz), 45.4, 21.4, 11.0. MS (ES+) m/z (%): 439.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{BrN}_4\text{OF}$ 439.1934; found 439.1938.

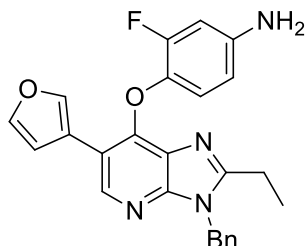
4-((3-Benzyl-2-isopropyl-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (89b):



Reaction was performed following procedure G on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **88b** (100 mg, 0.22 mmol) with phenylboronic acid (40 mg, 0.33 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (80 mg, 80 %). Mp: 157 – 159 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.27 (s, 1H), 7.62 – 7.47 (m, 2H), 7.47 – 7.20 (m, 6H), 7.15 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 6.79 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.34 (dd, $J = 12.4, 2.8$ Hz, 1H), 6.24 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.49 (s, 2H), 3.55 (s, 2H), 3.02 (hept, $J = 6.7$ Hz, 1H), 1.18 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 160.3, 154.4 (d, $J = 245.9$ Hz), 151.3,

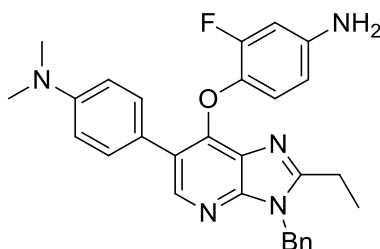
150.7, 146.0, 143.6 (d, $J = 9.3$ Hz), 137.4 (d, $J = 12.1$ Hz), 136.7, 135.7, 129.9, 129.0, 128.3, 127.9, 127.2, 126.8, 126.0, 123.0, 121.7 (d, $J = 2.3$ Hz), 110.1 (d, $J = 3.0$ Hz), 103.3 (d, $J = 21.4$ Hz), 45.5, 27.3, 21.4. MS (ES+) m/z (%): 453.2 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{28}H_{26}N_4OF$ 453.2091; found 453.2088.

4-((3-Benzyl-2-ethyl-6-(furan-3-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (90a):



Reaction was performed following procedure G with doubled equivalents of catalyst and base on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **88a** (100 mg, 0.23 mmol) with 3-furylboronic acid (76 mg, 0.68 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (70 mg, 72 %). Mp: 156 – 158 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 8.49$ (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.34 – 7.22 (m, 3H), 7.15 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 6.86 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.48 (dd, $J = 12.1, 2.4$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 2.68 (dd, $J = 14.9, 7.4$ Hz, 2H), 1.17 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 156.5, 154.5 (d, $J = 245.8$ Hz), 150.7, 150.6, 144.1, 143.9 (d, $J = 9.3$ Hz), 142.8, 141.1, 137.1 (d, $J = 12.3$ Hz), 136.4, 129.0, 127.9, 127.0, 125.9, 121.3 (d, $J = 2.2$ Hz), 119.6, 114.3, 110.2 (d, $J = 3.0$ Hz), 110.0, 103.6 (d, $J = 21.4$ Hz), 45.6, 21.5, 11.0. MS (ES+) m/z (%): 429.2 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{25}H_{22}N_4O_2F$ 429.1727; found 429.1729.

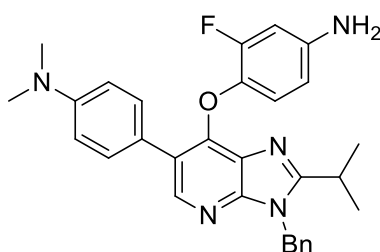
4-(7-(4-Amino-2-fluorophenoxy)-3-benzyl-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-N,N-dimethylaniline (91a):



Reaction was performed following procedure G with doubled equivalents of catalyst and base on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **88a** (100 mg, 0.23 mmol) with p-(dimethylamino)phenylboronic acid (112 mg, 0.68 mmol) to give the corresponding product as a brown solid (70 mg, 64 %). Mp: 202 – 204 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 8.30$ (s, 1H), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.34 – 7.22 (m, 3H), 7.16 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 6.83 – 6.72 (m, 3H), 6.39 (dd, $J = 12.4, 2.2$ Hz,

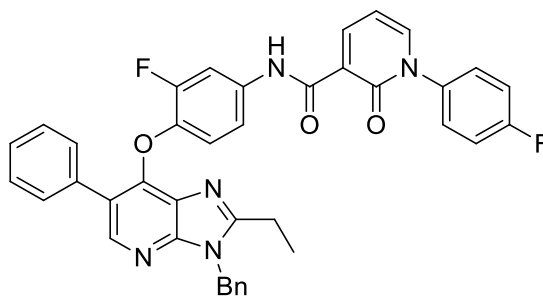
1H), 6.26 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 5.44 (s, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.97 (s, 6H), 2.68 (q, $J = 7.8$ Hz, 2H), 1.18 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 156.2, 154.2 (d, $J = 245.8$ Hz), 150.7, 150.2, 149.7, 145.8, 143.2 (d, $J = 9.3$ Hz), 137.6 (d, $J = 12.1$ Hz), 136.4, 130.4, 128.8, 127.7, 126.9, 126.0, 123.4, 123.3, 121.1 (d, $J = 2.4$ Hz), 112.4, 110.0 (d, $J = 2.9$ Hz), 103.5 (d, $J = 21.3$ Hz), 45.4, 40.6, 21.4, 11.0. MS (ES+) m/z (%): 482.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{OF}$ 482.2356; found 482.2368.

4-(7-(4-Amino-2-fluorophenoxy)-3-benzyl-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-N,N-dimethylaniline (91b):



Reaction was performed following procedure G on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **88b** (70 mg, 0.15 mmol) with p-(dimethylamino)phenylboronic acid (38 mg, 0.23 mmol) to give the corresponding product as a brown solid (35 mg, 46 %). Mp: 199 – 201 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.28 (s, 1H), 7.46 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.35 – 7.20 (m, 4H), 7.18 – 7.02 (m, 2H), 6.77 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.38 (dd, $J = 12.2, 2.4$ Hz, 1H), 6.25 (dd, $J = 8.6, 1.9$ Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 3.53 (s, 2H), 2.97 (bs, 7H), 1.16 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 159.9, 154.3 (d, $J = 245.7$ Hz), 151.0, 150.1, 149.8, 145.9, 143.3 (d, $J = 9.3$ Hz), 137.6 (d, $J = 12.1$ Hz), 136.8, 130.4, 128.9, 127.7, 126.7, 126.1, 123.5, 123.3, 121.5 (d, $J = 2.4$ Hz), 112.4, 110.0 (d, $J = 2.9$ Hz), 103.4 (d, $J = 21.5$ Hz), 45.4, 40.6, 27.2, 21.3. MS (ES+) m/z (%): 269.1 (100); 496.2 (80) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{OF}$ 496.2513; found 496.2499.

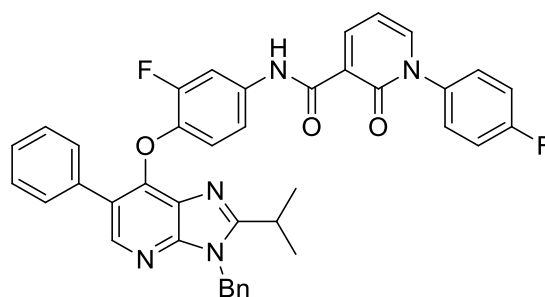
N-(4-((3-benzyl-2-ethyl-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (92a):



Reaction was performed following procedure A on 4-((3-benzyl-2-ethyl-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **89a** (100 mg, 0.23 mmol) to give the corresponding product as a

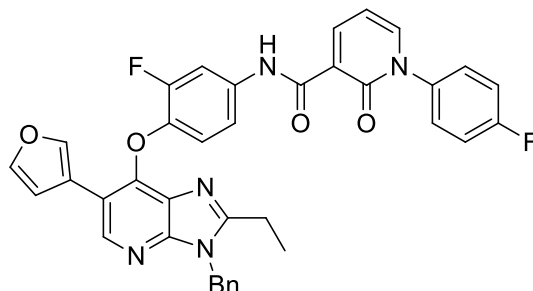
white solid (105 mg, 71 %). Mp: 136 – 138 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 11.77 (s, 1H), 8.71 (dd, J = 7.3, 2.1 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.72 (dd, J = 12.5, 1.7 Hz, 1H), 7.58 (dd, J = 6.9, 1.9 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.41 – 7.25 (m, 10H), 7.17 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.85 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 6.58 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 2.71 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.18 (t, J = 7.5 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 162.8 (d, J = 226.38 Hz), 162.4, 161.1 (d, J = 5.2 Hz), 157.0, 153.0 (d, J = 246.4 Hz), 150.7, 150.1, 146.0, 144.9, 141.4, 141.2 (d, J = 11.9 Hz), 136.2, 135.8 (d, J = 3.3 Hz), 135.2, 134.5 (d, J = 9.5 Hz), 129.7, 128.9, 128.4 (d, J = 8.9 Hz), 128.3, 127.9, 127.3, 126.8, 126.3, 123.5, 122.2, 119.9 (d, J = 1.7 Hz), 116.8 (d, J = 23.2 Hz), 115.3 (d, J = 3.3 Hz), 108.9 (d, J = 23.3 Hz), 107.2, 45.5, 21.5, 11.1. MS (ES+) m/z (%): 654.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{39}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$ 654.2317; found 654.2303.

***N*-(4-((3-benzyl-2-isopropyl-6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (92b):**



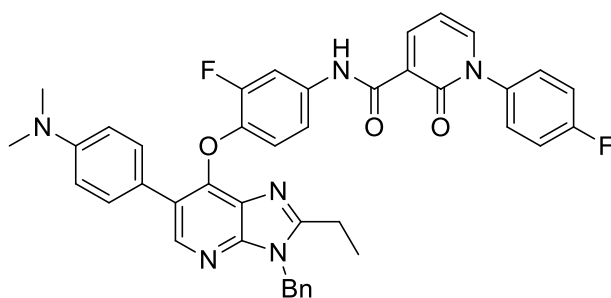
Reaction was performed following procedure A on 4-((3-benzyl-2-isopropyl-6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **89b** (100 mg, 0.22 mmol) to give the corresponding product as a light yellow solid (88 mg, 60 %). Mp: 134 – 136 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 11.76 (s, 1H), 8.71 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.70 (dd, J = 12.1, 1.6 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 7.56 – 7.50 (m, 2H), 7.43 – 7.20 (m, 10H), 7.15 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.86 (t, J = 8.6 Hz, 1H), 6.58 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 5.50 (s, 2H), 3.11 – 2.88 (m, 1H), 1.17 (d, J = 6.6 Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 162.7 (d, J = 250.3 Hz), 162.4, 161.1, 160.7, 153.1 (d, J = 246.3 Hz), 150.6, 150.2, 145.9, 144.9, 141.5, 141.1 (d, J = 11.9 Hz), 136.5, 135.8 (d, J = 3.3 Hz), 135.2, 134.6 (d, J = 9.6 Hz), 129.7, 128.8, 128.4 (d, J = 8.9 Hz), 128.2, 127.8, 127.3, 126.6, 126.2, 123.3, 122.1, 120.3 (d, J = 1.6 Hz), 116.8 (d, J = 23.2 Hz), 115.1 (d, J = 3.2 Hz), 108.7 (d, J = 23.3 Hz), 107.2, 45.4, 27.2, 21.2. MS (ES+) m/z (%): 668.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{40}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$ 668.2473; found 668.2480.

***N*-(4-((3-benzyl-2-ethyl-6-(furan-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (93a):**



Reaction was performed following procedure A on 4-((3-benzyl-2-ethyl-6-(furan-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **90a** (36 mg, 0.15 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (65 mg, 72 %). Mp: 209 – 211 °C. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ = 8.61 (dd, *J* = 7.3, 2.1 Hz, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.97 – 7.88 (m, 2H), 7.85 (dd, *J* = 12.9, 2.2 Hz, 1H), 7.55 – 7.45 (m, 3H), 7.35 – 7.23 (m, 5H), 7.21 – 7.15 (m, 2H), 7.08 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.75 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.68 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.54 (s, 2H), 2.75 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.10 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.7 (d, *J* = 250.3 Hz), 162.5, 161.2, 157.0, 153.1 (d, *J* = 246.1 Hz), 150.4, 149.4, 145.0, 144.1, 142.9, 141.6, 140.8 (d, *J* = 11.8 Hz), 136.2, 135.9 (d, *J* = 3.3 Hz), 134.8 (d, *J* = 9.6 Hz), 128.9, 128.4 (d, *J* = 8.9 Hz), 127.9, 126.9, 126.3, 122.2, 119.5 (d, *J* = 1.2 Hz), 119.3, 116.8 (d, *J* = 23.1 Hz), 115.5 (d, *J* = 3.2 Hz), 114.9, 109.8, 109.2 (d, *J* = 23.1 Hz), 107.3, 45.6, 26.9, 21.4, 11.1. MS (ES⁺) *m/z* (%): 644.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₇H₂₈N₅O₄F₂ 644.2109; found 644.2095.

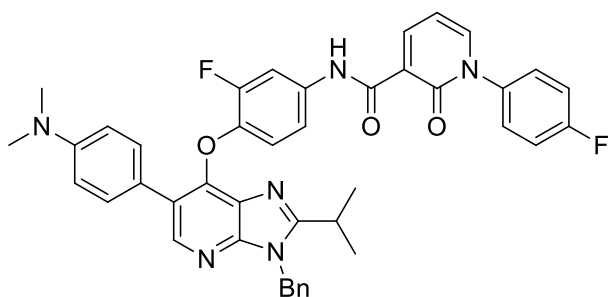
***N*-(4-((3-benzyl-6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (94a):**



Reaction was performed following procedure A on 4-(7-(4-amino-2-fluorophenoxy)-3-benzyl-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-6-yl)-*N,N*-dimethylaniline **91a** (37 mg, 0.16 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (83 mg, 82 %). Mp: 136 – 138 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 11.95 (s, 1H), 8.56 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 7.58 (s, 2H), 7.51 – 7.07 (m, 7H), 6.97 – 6.84 (m, 3H), 6.84 – 6.64 (m, 3H), 5.50 (s, 2H), 2.90 (s, 7H), 2.73 (s,

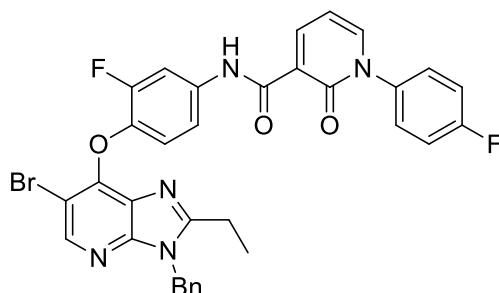
2H), 1.04 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 164.5, 162.5, 161.2, 156.9, 153.1 (d, $J = 246.3$ Hz), 150.2, 149.9, 149.8, 146.0, 145.0, 141.6 (d, $J = 11.7$ Hz), 141.5, 136.5, 136.0 (d, $J = 3.3$ Hz), 134.3 (d, $J = 9.4$ Hz), 130.4, 129.0, 128.5 (d, $J = 8.9$ Hz), 127.9, 126.9, 126.6, 124.1, 123.0, 122.4, 119.6 (d, $J = 2.3$ Hz), 116.9 (d, $J = 23.3$ Hz), 115.4 (d, $J = 3.2$ Hz), 112.5, 109.2 (d, $J = 23.6$ Hz), 107.4, 45.6, 40.6, 21.6, 11.3. MS (ES+) m/z (%): 349.1 (100) $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; 697.3 (40) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{41}\text{H}_{35}\text{N}_6\text{O}_3\text{F}_2$ 697.2739; found 697.2739.

***N*-(4-((3-benzyl-6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (94b):**



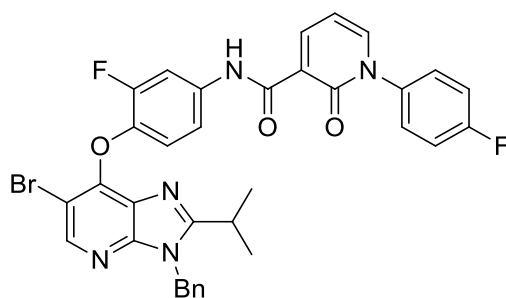
Reaction was performed following procedure A on 4-(7-(4-amino-2-fluorophenoxy)-3-benzyl-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-6-yl)-*N,N*-dimethylaniline **91b** (35 mg, 0.07 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (23 mg, 46 %). Mp: 134 – 136 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 11.76 (s, 1H), 8.69 (dd, $J = 6.9, 1.5$ Hz, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.73 (dd, $J = 12.6, 1.8$ Hz, 1H), 7.56 (dd, $J = 6.9, 1.8$ Hz, 1H), 7.44 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.37 (dd, $J = 8.7, 4.7$ Hz, 2H), 7.33 – 7.19 (m, 5H), 7.14 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.84 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.55 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 5.48 (s, 2H), 3.01 (hept, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.94 (s, 6H), 1.15 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 164.4, 162.4, 161.0, 160.4, 153.1 (d, $J = 246.1$ Hz), 145.9, 144.9, 141.4, 141.4 (d, $J = 11.8$ Hz), 136.7, 135.9 (d, $J = 3.4$ Hz), 134.3 (d, $J = 9.5$ Hz), 130.3, 128.9, 128.4 (d, $J = 8.9$ Hz), 127.7, 126.65, 126.4, 123.7, 123.00, 122.3, 120.0 (d, $J = 1.7$ Hz), 116.8 (d, $J = 23.2$ Hz), 115.1 (d, $J = 3.0$ Hz), 112.3, 108.8 (d, $J = 23.2$ Hz), 107.3, 45.3, 40.5, 31.0, 21.3. MS (ES+) m/z (%): 356.1 (100) $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; 711.3 (45) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{42}\text{H}_{37}\text{N}_6\text{O}_3\text{F}_2$ 711.2895; found 711.2900.

***N*-(4-((3-benzyl-6-bromo-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (95a):**



Reaction was performed following procedure A on 4-((3-benzyl-6-bromo-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **88a** (100 mg, 0.23 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (118 mg, 79 %). Mp: 208 – 210 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.87 (s, 1H), 8.73 (dd, *J* = 7.2, 2.2 Hz, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.86 (dd, *J* = 12.5, 2.4 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 6.5, 2.2 Hz, 1H), 7.44 – 7.34 (m, 2H), 7.32 – 7.19 (m, 6H), 7.11 (dd, *J* = 7.2, 1.8 Hz, 2H), 7.01 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.60 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 2.66 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.13 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.8 (d, *J* = 250.4 Hz), 162.5, 161.3, 157.4, 153.5 (d, *J* = 246.9 Hz), 150.4, 150.1, 146.1, 145.1, 141.6, 140.6 (d, *J* = 12.2 Hz), 135.9, 135.9 (d, *J* = 3.5 Hz), 135.4 (d, *J* = 9.7 Hz), 128.9, 128.5 (d, *J* = 8.9 Hz), 128.0, 126.9, 126.9, 122.2, 120.5 (d, *J* = 1.3 Hz), 116.9 (d, *J* = 23.1 Hz), 115.5 (d, *J* = 3.3 Hz), 109.1 (d, *J* = 23.1 Hz), 107.3, 104.8, 45.6, 21.5, 10.9. MS (ES⁺) *m/z* (%): 658.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₃H₂₅N₅O₃F₂Br 656.1109; found 656.1111.

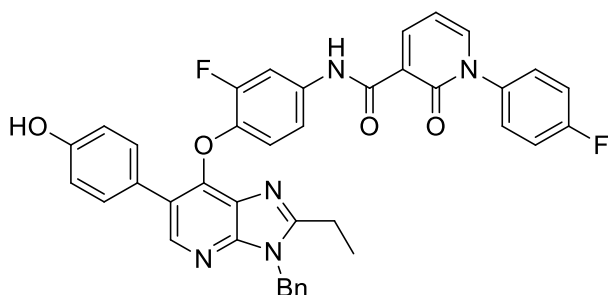
***N*-(4-((3-benzyl-6-bromo-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (95b):**



Reaction was performed following procedure A on 4-((3-benzyl-6-bromo-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **88b** (80 mg, 0.18 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (72 mg, 61 %). Mp: 219 – 221 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.88 (s, 1H), 8.73 (dd, *J* = 7.3, 2.2 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.85 (dd, *J* = 12.7, 2.4 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 6.6, 2.2 Hz, 1H), 7.44 – 7.35 (m, 2H), 7.31 – 7.20 (m, 6H), 7.09 (dd, *J* = 7.8, 2.1 Hz, 2H), 7.03 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.60 (t, *J* = 7.0 Hz,

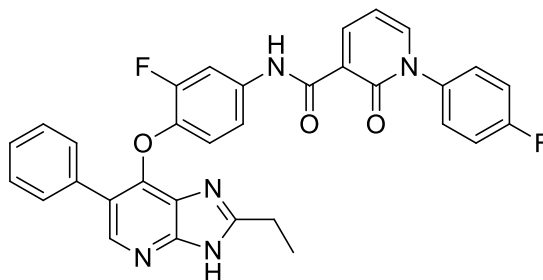
1H), 5.43 (s, 2H), 2.97 (hept, $J = 6.7$ Hz, 1H), 1.11 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 162.7$ (d, $J = 250.4$ Hz), 162.4, 161.2, 160.9, 153.5 (d, $J = 246.8$ Hz), 150.2, 150.2, 146.0, 145.0, 141.6, 140.5 (d, $J = 12.2$ Hz), 136.2, 135.8 (d, $J = 3.3$ Hz), 135.4 (d, $J = 9.6$ Hz), 128.9, 128.4 (d, $J = 8.8$ Hz), 127.9, 126.8, 126.6, 122.1, 120.8 (d, $J = 1.1$ Hz), 116.8 (d, $J = 23.1$ Hz), 115.3 (d, $J = 3.3$ Hz), 108.9 (d, $J = 23.2$ Hz), 107.3, 104.5, 45.5, 27.2, 21.1. MS (ES+) m/z (%): 670.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2\text{Br}$ 670.1265; found 670.1280.

***N*-(4-((3-benzyl-2-ethyl-6-(4-hydroxyphenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (96):**



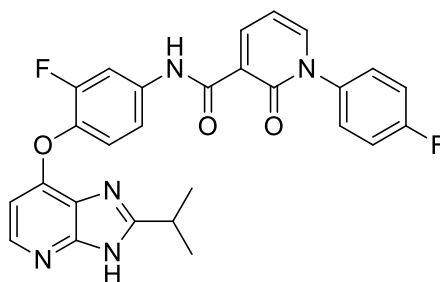
Reaction was performed following procedure G on *N*-(4-((3-benzyl-6-bromo-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **95a** (38 mg, 0.27 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (86 mg, 70 %). Mp: 189 – 191 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) $\delta = 11.93$ (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 8.53 (dd, $J = 6.9, 1.8$ Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.08 (dd, $J = 6.6, 1.8$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 7.61 – 7.52 (m, 2H), 7.44 – 7.24 (m, 7H), 7.23 – 7.12 (m, 3H), 6.90 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.69 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 2.71 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.15 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMF-d_7) $\delta = 160.2$ (d, $J = 246.3$ Hz), 160.1, 159.4, 155.4, 154.9, 150.6 (d, $J = 243.8$ Hz), 148.4, 146.9, 143.3, 142.6, 141.7, 138.8 (d, $J = 11.8$ Hz), 135.1, 134.7 (d, $J = 2.8$ Hz), 132.9 (d, $J = 9.8$ Hz), 128.6, 127.3 (d, $J = 8.9$ Hz), 126.6, 125.5, 124.9, 123.7, 123.6, 121.3, 118.6, 117.9, 113.9 (d, $J = 23.2$ Hz), 113.2, 105.9 (d, $J = 23.4$ Hz), 104.7, 97.6, 42.8, 18.7, 8.2. MS (ES+) m/z (%): 670.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{39}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_4\text{F}_2$ 670.2266; found 670.2277.

***N*-(4-((2-ethyl-6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (97):**



To a solution of *N*-(4-((3-benzyl-2-ethyl-6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **92a** (60 mg, 0.09 mmol) in EtOH (10 mL) was added Pd 10 % on carbon (98 mg, 0.09 mmol). The resulting suspension was flushed with argon and purged twice before flushing with hydrogen. The medium was then stirred at RT overnight. The suspension was subsequently filtered on a celite plug and the filtrate was concentrated under reduce pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient from DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product as a white solid (27 mg, 52 %). Mp: 173 – 175 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 13.00 (s, 1H), 11.93 (s, 1H), 8.55 (dd, *J* = 7.2, 1.8 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.10 (dd, *J* = 6.6, 1.5 Hz, 1H), 7.85 (dd, *J* = 14.1, 1.6 Hz, 1H), 7.62 – 7.49 (m, 4H), 7.46 – 7.32 (m, 5H), 7.18 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.89 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.71 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 2.73 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.20 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 161.8 (d, *J* = 246.1 Hz), 161.7, 161.2, 157.3, 151.8 (d, *J* = 245.5 Hz), 151.3, 148.1, 145.0, 144.7, 143.9, 140.5, 136.2 (d, *J* = 2.2 Hz), 134.9, 134.2, 129.3, 129.2 (d, *J* = 9.1 Hz), 128.3, 127.2, 126.0, 122.4, 120.2, 119.5, 116.0 (d, *J* = 23.0 Hz), 115.4, 108.0 (d, *J* = 24.1 Hz), 107.0, 28.6, 20.8. MS (ES+) *m/z* (%): 564.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₂H₂₄N₅O₃F₂ 564.1847; found 564.1854.

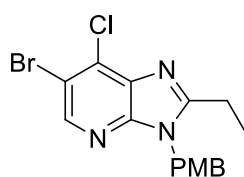
***N*-(3-fluoro-4-((2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (98):**



To a solution of *N*-(4-((3-benzyl-6-bromo-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **95b** (50 mg, 0.07 mmol)

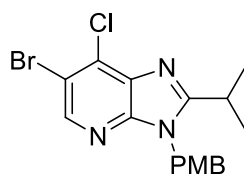
in EtOH (10 mL) was added Pd 10 % on carbon (80 mg, 0.07 mmol). The resulting suspension was flushed with argon and purged twice before flushing with hydrogen. The medium was then stirred at RT overnight. The suspension was subsequently filtered on a celite plug and the filtrate was concentrated under reduce pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient from DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product as a white solid (18 mg, 48 %). Mp: 244 – 246 °C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.89 (s, 1H), 12.10 (s, 1H), 8.60 (dd, J = 7.3, 2.0 Hz, 1H), 8.14 (dd, J = 6.6, 2.0 Hz, 1H), 8.09 – 8.00 (m, 2H), 7.65 – 7.60 (m, 2H), 7.49 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.43 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 7.37 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 6.74 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 3.21 – 3.10 (m, 1H), 1.36 (d, J = 6.7 Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ = 161.9 (d, J = 246.1 Hz), 161.8, 161.6, 160.2, 153.8, 153.5 (d, J = 245.6 Hz), 151.4, 145.0, 144.8, 144.2 (d, J = 16.5 Hz), 136.7 (d, J = 9.3 Hz), 136.2 (d, J = 2.5 Hz), 129.3, 129.2, 124.2, 123.6, 120.1, 116.5, 116.1 (d, J = 23.1 Hz), 108.6 (d, J = 22.9 Hz), 107.0, 102.7, 28.6, 21.0. MS (ES+) m/z (%): 502.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$; 1025.3 (20) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$ 502.1691; found 502.1710.

6-Bromo-7-chloro-2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (100a):



The reaction was performed following procedure H on the mixture of **65a/72a** (1.3 g, 4.95 mmol) in DMF (15 mL) to give the corresponding product as a white solid (780 mg, 40 %). Mp: 104 – 106 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.43 (s, 1H), 7.07 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.80 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.37 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.85 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.33 (t, J = 7.5 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 159.6, 159.4, 147.6, 145.1, 133.8, 133.3, 128.4, 127.7, 114.4, 114.4, 55.4, 45.5, 21.9, 11.6. MS (ES+) m/z (%): 380.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{BrClN}_3\text{O}$ 380.0165; found 380.0174.

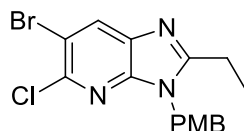
6-Bromo-7-chloro-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (100b):



The reaction was performed following procedure H on the mixture of **65b/72b** (3.1 g, 11.29 mmol) in DMF (30 mL) to give the corresponding product as a white solid (1.76 g, 40 %). Mp: 106 – 108 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.33 (s, 1H), 7.00 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 6.72 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.10 (dd, J = 12.3, 6.1 Hz, 1H), 1.27 (d, J = 9 Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 163.3,

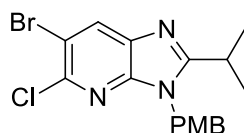
159.4, 147.4, 145.0, 133.9, 133.3, 128.2, 128.0, 114.4, 114.4, 55.3, 45.4, 27.5, 21.3. MS (ES+) m/z (%): 394.0 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{17}H_{18}N_3OClBr$ 394.0322; found 394.0319.

6-Bromo-7-chloro-2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (101a):



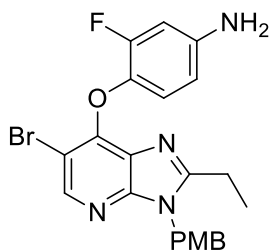
Mp: 95 – 97 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.13 (s, 1H), 7.05 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.77 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 5.28 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 2.76 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.31 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 159.6, 159.3, 146.6, 143.4, 134.6, 131.8, 128.5, 127.5, 114.3, 112.3, 55.3, 45.2, 21.7, 10.7.

6-Bromo-7-chloro-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (101b):



Mp: 99 – 101 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.44 (s, 1H), 7.07 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.82 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 5.42 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.17 (hept, J = 6.8 Hz, 1H), 1.34 (d, J = 6.8 Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 163.3, 159.5, 147.5, 145.1, 134.0, 133.4, 128.3, 128.1, 114.5, 114.4, 55.4, 45.4, 27.6, 21.4.

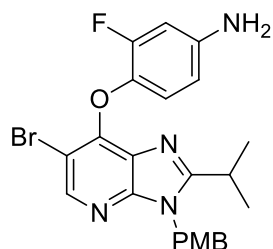
4-((6-Bromo-2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (102a):



The reaction was performed following procedure F on 6-bromo-7-chloro-2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **100a** (110 mg, 0.29 mmol) in DMSO (3 mL) to give the corresponding product as a beige solid (750 mg, 55 %). Mp: 122 – 124 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.39 (s, 1H), 7.08 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.91 (t, J = 8.6 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.52 – 6.37 (dd, J = 3, 8.6 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 5.31 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.67 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.16 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 159.3, 157.0, 154.5 (d, J = 243.8 Hz), 150.9, 150.5, 146.0, 144.4 (d, J = 9.5 Hz), 136.6 (d, J = 12.4 Hz), 128.5, 128.1, 126.6, 121.7 (d, J = 1.9 Hz), 114.3, 110.1 (d, J

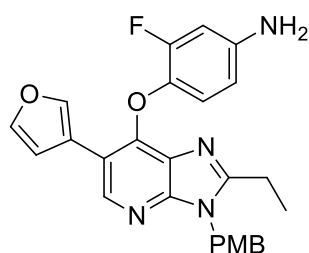
= 2.9 Hz), 104.3, 103.4 (d, $J = 21.3$ Hz), 55.4, 45.13, 21.5, 10.8. MS (ES+) m/z (%): 471.1 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{22}H_{21}BrFN_4O_2$ 471.0832; found 471.0829.

4-((6-Bromo-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (102b):



The reaction was performed following procedure F on 6-bromo-7-chloro-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **100b** (814 mg, 2.06 mmol) in DMSO (4 mL) to give the corresponding product as a beige solid (550 mg, 55%). Mp: 117 – 119 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.37 (s, 1H), 7.06 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.88 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.40 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.99 (m, 1H), 1.15 (s, 3H), 1.13 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 160.6, 159.2, 154.7 (d, $J = 246.1$ Hz), 151.0, 150.3, 146.0, 144.4 (d, $J = 9.4$ Hz), 136.7 (d, $J = 12.4$ Hz), 128.5, 128.2, 126.7, 122.0 (d, $J = 1.9$ Hz), 114.3, 110.1 (d, $J = 2.9$ Hz), 104.1, 103.3 (d, $J = 21.4$ Hz), 55.3, 45.1, 27.2, 21.3. MS (ES+) m/z (%): 485.1 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{23}H_{23}BrFN_4O_2$ 485.0988; found 485.0974.

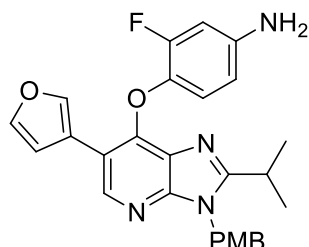
4-((3-(4-Methoxybenzyl)-2-ethyl-6-(furan-3-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (103a):



The reaction was performed following procedure G on 4-((6-bromo-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102a** (120 mg, 0.25 mmol) in 1,4-dioxane (3 mL) to give the corresponding product as a beige solid (92 mg, 80 %). Mp: 129 – 131 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.48 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.47 (t, $J = 3$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.90 – 6.72 (m, 4H), 6.42 (m, 1H), 6.27 (m, 1H), 5.35 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.68 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.17 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 159.3, 156.5, 156.0 (d, $J = 244.0$ Hz), 150.5, 144.0, 143.8, 142.8, 141.0, 136.9 (d, $J = 12.1$ Hz), 128.5, 128.5, 126.0, 121.0, 119.5, 114.3, 114.3, 110.1 (d, $J = 2.6$ Hz), 109.9,

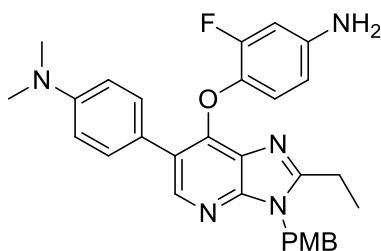
103.6 (d, $J = 21.3$ Hz), 55.4, 45.1, 21.5, 11.0. MS (ES+) m/z (%): 459.2 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{26}H_{24}FN_4O_3$ 459.1832; found 459.1817.

4-((3-(4-Methoxybenzyl)-6-(furan-3-yl)-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (103b):



The reaction was performed following procedure G on 4-((6-bromo-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102b** (160 mg, 0.33 mmol) in 1,4-dioxane (3 mL) to give the corresponding product as a brown solid (132 mg, 84 %). Mp: 117 – 119 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 8.46$ (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.47 (t, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.81 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 4H), 6.45 (dd, $J = 8.6, 2.4$ Hz, 1H), 6.30 (ddd, $J = 8.6, 2.6, 1.2$ Hz, 1H), 5.38 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.01 (p, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.16 (s, 3H), 1.13 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 160.0, 159.3, 154.6$ (d, $J = 245.5$ Hz), 150.8, 150.4, 143.9, 143.8, 142.8, 141.0, 137.1 (d, $J = 12.2$ Hz), 128.9, 128.3, 125.9, 121.6 (d, $J = 2.1$ Hz), 119.6, 114.3, 114.1, 110.1, 110.0, 110.0, 103.4 (d, $J = 21.5$ Hz), 55.4, 45.0, 27.2. MS (ES+) m/z (%): 473.2 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{27}H_{26}FN_4O_3$ 473.1989; found 473.1994.

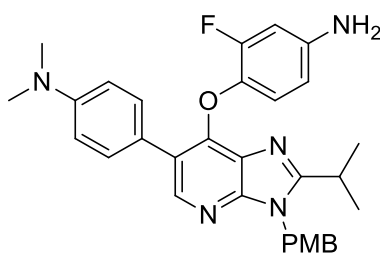
4-(7-(4-Amino-2-fluorophenoxy)-3-(4-methoxybenzyl)-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-N,N-dimethylaniline (104a):



The reaction was performed following procedure G with doubled equivalents of catalyst and base on 4-((6-bromo-2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102a** (77 mg, 0.16 mmol) in 1,4-dioxane (3 mL) to give the corresponding product as a brown solid (68 mg, 78 %). Mp: 180 – 182 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 8.32$ (s, 1H), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.42 – 6.30 (m, 5H), 6.37 (dd, $J = 3, 8.4$ Hz, 1H), 6.23 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.37 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.96 (s, 6H), 2.70 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.19 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 159.2,$

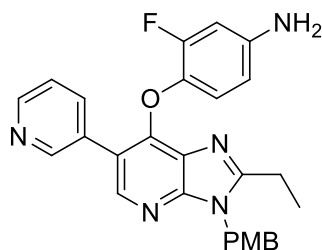
156.4, 154.1 (d, $J = 245.6$ Hz), 150.7, 150.2, 149.7, 145.9, 143.3 (d, $J = 9.4$ Hz), 137.6 (d, $J = 12.1$ Hz), 130.5, 128.6, 128.4, 126.2, 123.5, 123.4, 121.0 (d, $J = 2.0$ Hz), 114.2, 112.5, 110.1 (d, $J = 2.7$ Hz), 103.5 (d, $J = 21.3$ Hz), 55.4, 45.0, 40.7, 21.6, 11.2. MS (ES+) m/z (%): 392.2 (90) [M-PMB+H]⁺; 512.2 (100) [M+H]⁺; 1045.5 (30) [2M+Na]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₀H₃₁FN₅O₂ 512.2462; found 512.2462.

4-(7-(4-Amino-2-fluorophenoxy)-3-(4-methoxybenzyl)-2-isopropyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-6-yl)-*N,N*-dimethylaniline (104b):



The reaction was performed following procedure G with doubled equivalents of catalyst and base on 4-((6-bromo-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102b** (200 mg, 0.41 mmol) in 1,4-dioxane (3 mL) to give the corresponding product as a dark brown solid (172 mg, 80 %). Mp: 174 – 176 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) $\delta = 8.31$ (s, 1H), 7.48 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.10 (s, 2H), 6.97 – 6.60 (m, 5H), 6.51 – 6.07 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.97 (s, 6H), 2.89 (s, 1H), 1.19 (s, 3H), 1.17 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) $\delta = 159.9$, 159.2, 154.3 (d, $J = 245.5$ Hz), 150.9, 150.1, 149.8, 145.9, 143.3 (d, $J = 9.8$ Hz), 137.6 (d, $J = 12.1$ Hz), 130.5, 129.0, 128.2, 126.2, 123.5, 123.2, 121.4 (d, $J = 1.9$ Hz), 114.2, 112.4, 110.0 (d, $J = 2.7$ Hz), 103.4 (d, $J = 21.6$ Hz), 55.3, 44.9, 40.7, 27.2, 21.4. MS (ES+) m/z (%): 406.2 (100) [M-PMB+H]⁺; 526.3 (50) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₁H₃₃N₅O₂F 526.2618; found 526.2615.

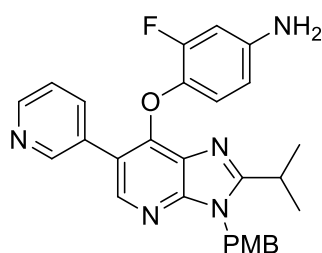
4-((2-Ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-3-yl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (105a):



The reaction was performed following procedure G with Pd(PPh₃)₄ (155 mg, 0.13 mmol) as catalyst and K₂CO₃ (558 mg, 4.0 mmol) as base, on 4-((6-bromo-2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102a** (634 mg, 1.36 mmol) in a 1,4-dioxane/water mixture (6/2 mL)

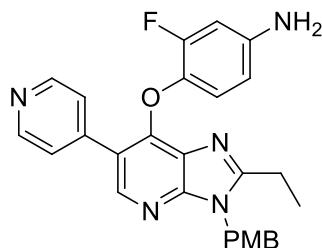
to give the corresponding product as a beige solid (410 mg, 65 %). Mp: 142 – 144 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.79 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.29 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 7.12 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.80 (t, J = 8.2 Hz, 3H), 6.29 (dd, J = 25.3, 11.0 Hz, 2H), 5.37 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.70 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.19 (t, J = 7.5 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 159.3, 156.9, 154.3 (d, J = 242.3 Hz), 151.5, 151.4, 150.2, 148.1, 145.4, 144.1, 137.1, 137.0, 136.8, 128.5, 128.3, 125.7, 121.6, 119.4, 114.3, 110.2, 103.3 (d, J = 21.8 Hz), 55.3, 45.1, 21.6, 10.9. MS (ES+) m/z (%): 350.1 (100) $[\text{M-PMB+H}]^+$; 470.2 (70) $[\text{M+H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{FN}_5\text{O}_2$ 470.1992; found 470.1993.

3-Fluoro-4-((2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-3-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)aniline (105b):



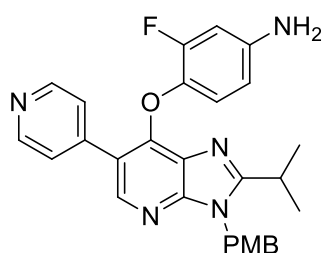
The reaction was performed following procedure G with $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (143 mg, 0.12 mmol) as catalyst and K_2CO_3 (600 mg, 4.0 mmol) as base, on 4-((6-bromo-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102b** (634 mg, 1.34 mmol) in a 1,4-dioxane/water mixture (6/2 mL) to give the corresponding product as a white solid (457 g, 76%). Mp: 130 – 132 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.77 (s, 1H), 8.60 – 8.48 (m, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.91 (dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 7.31 (dd, J = 7.9, 5.0 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 6.90 – 6.72 (m, 3H), 6.34 (dd, J = 12.2, 2.6 Hz, 1H), 6.29 – 6.23 (m, 1H), 5.42 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.13 – 2.94 (m, 1H), 1.19 (s, 3H), 1.16 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 160.6, 159.3, 154.4 (d, J = 245.8 Hz), 151.6, 151.3, 150.2, 148.3, 145.4, 144.0 (d, J = 9.5 Hz), 137.3, 137.0 (d, J = 12.1 Hz), 131.8, 128.7, 128.3, 125.8, 123.1, 122.0 (d, J = 1.9 Hz), 119.1, 114.3, 110.1 (d, J = 2.7 Hz), 103.2 (d, J = 21.4 Hz), 55.4, 45.1, 27.3, 21.3. MS (ES+) m/z (%): 364.2 (100) $[\text{M-PMB+H}]^+$; 484.2 (70) $[\text{M+H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{FN}_5\text{O}_2$ 484.2149; found 484.2155.

4-((2-Ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-4-yl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (106a):



The reaction was performed following procedure G with Pd(PPh₃)₄ (25 mg, 0.02 mmol) as catalyst and K₂CO₃ (88 mg, 0.64 mmol) as base, on 4-((6-bromo-2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102a** (100 mg, 0.21 mmol) in a 1,4-dioxane/water mixture (1/0.25 mL) to give the corresponding product as a brown solid (70 mg, 70 %). Mp: 168 – 170 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.61 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 8.29 (s, 1H), 7.52 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 7.12 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.85 - 6.79 (m, 3H), 6.36 (dd, *J* = 12.2, 2.6 Hz, 1H), 6.27 (dd, *J* = 8.1, 2.0 Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.70 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.18 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 159.4, 157.0, 154.4 (d, *J* = 245.8 Hz), 151.7, 151.4, 149.7, 145.3, 144.2 (d, *J* = 9.6 Hz), 143.9, 136.9 (d, *J* = 12.8 Hz), 128.5, 128.3, 125.6, 124.6, 121.7 (d, *J* = 2.3 Hz), 119.94, 114.32, 110.1 (d, *J* = 2.9 Hz), 103.3 (d, *J* = 21.4 Hz), 55.4, 45.2, 21.6, 10.9. MS (ES⁺) *m/z* (%): 350.1 (100) [M-PMB+H]⁺; 470.2 (75) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₇H₂₅FN₅O₂ 470.1992; found 470.2005.

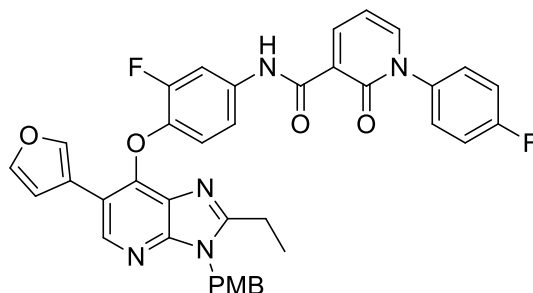
3-Fluoro-4-((2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-4-yl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)aniline (106b):



The reaction was performed following procedure G with Pd(PPh₃)₄ (142 mg, 0.12 mmol) as catalyst and K₂CO₃ (508 mg, 3.68 mmol) as base, on 4-((6-bromo-2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102b** (595 mg, 1.23 mmol) in a 1,4-dioxane/water mixture (6/2 mL) to give the corresponding product as a brown oil (484 mg, 82 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.61 (s, 2H), 8.27 (s, 1H), 7.51 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H), 7.11 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 6.85-6.79 (m, 3H), 6.38 (dd, *J* = 3.4 Hz, 1H), 6.27 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.19 – 2.89 (m, 1H), 1.17 (s, 3H), 1.15 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 160.6, 159.3, 154.5 (d, *J* = 245.9 Hz), 151.5 (d, *J* = 4.2

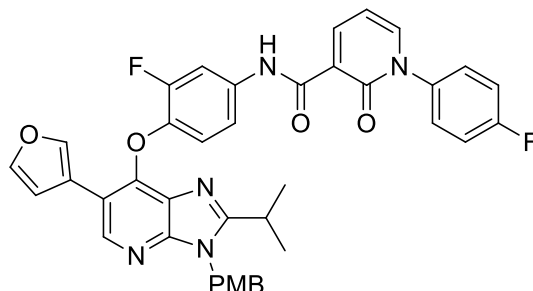
Hz), 149.7, 145.3, 144.2 (d, $J = 9.4$ Hz), 143.9, 137.0 (d, $J = 11.3$ Hz), 128.6, 128.3, 125.9, 125.6, 124.6, 122.0, 119.8, 114.3, 110.0, 103.2 (d, $J = 21.4$ Hz), 55.4, 45.1, 27.3, 21.3. MS (ES+) m/z (%): 364.2 (100) [M-PMB+H]⁺; 484.2 (90) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₈H₂₇FN₅O₂ 484.2149; found 484.2158.

***N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-2-ethyl-6-(furan-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (107a):**



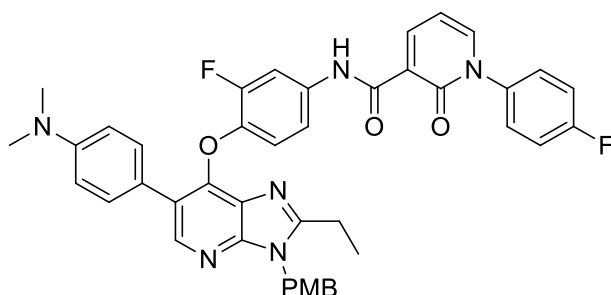
The reaction was performed following procedure A on 4-((3-(4-methoxybenzyl)-2-ethyl-6-(furan-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **103a** (156 mg, 0.34 mmol) in DMF (8 mL) to give the corresponding product as a brown solid (165 mg, 72 %). Mp: 186 – 188 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.81 (bs, 1H), 8.65 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.94 – 7.69 (m, 3H), 7.57 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J = 19.7$ Hz, 3H), 7.23 (d, $J = 8.4$ Hz, 3H), 7.09 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 6.86 – 6.71 (m, 3H), 6.54 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.37 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.71 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.7 (d, $J = 249.0$ Hz), 162.4, 161.3, 159.3, 157.5, 152.8 (d, $J = 247.0$ Hz), 149.5 (d, $J = 65.3$ Hz), 144.7 (d, $J = 50.3$ Hz), 143.0, 141.9 (d, $J = 31.3$ Hz), 140.9, 140.7 (d, $J = 11.9$ Hz), 135.9 (d, $J = 3.2$ Hz), 134.7 (d, $J = 9.8$ Hz), 128.5, 128.4, 128.0, 126.2, 125.0, 122.1, 119.0, 118.8, 118.2, 116.8 (d, $J = 23.1$ Hz), 115.6, 114.3, 110.4, 109.8, 109.2 (d, $J = 23.0$ Hz), 107.3, 55.3, 45.3, 21.4, 11.4. MS (ES+) m/z (%): 674.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₈H₃₀F₂N₅O₅ 674.2215; found 674.2214.

***N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-(furan-3-yl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (107b):**



The reaction was performed following procedure A on 4-((3-(4-methoxybenzyl)-2-isopropyl-6-(furan-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **103b** (288 mg, 0.61 mmol) in DMF (15 mL) to give the corresponding product as a yellow solid (368 mg, 88 %). Mp: 176 – 178 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.84 (bs, 1H), 8.68 (dd, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.84 (dd, *J* = 9 Hz, 1H), 7.58 (dd, *J* = 6 Hz, 1H), 7.45 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.40 – 7.36 (m, 2H), 7.22 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.15 – 7.07 (m, 3H), 6.89 (t, *J* = 9 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 6 Hz, 3H), 6.57 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.05 – 2.96 (m, 1H), 1.13 (s, 3H), 1.11 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.8 (d, *J* = 249.0 Hz), 162.5, 161.2, 160.6, 159.2, 153.3 (d, *J* = 246.0 Hz), 150.3, 149.6, 145.0, 144.0, 142.9, 141.6, 140.9 (d, *J* = 4.4 Hz), 140.8, 135.9 (d, *J* = 3.0 Hz), 134.8 (d, *J* = 9.5 Hz), 128.7, 128.5 (d, *J* = 8.3 Hz), 128.2, 126.2, 122.2, 120.0, 119.4, 116.9 (d, *J* = 22.5 Hz), 115.3 (d, *J* = 3.0 Hz), 114.6, 114.2, 109.9, 109.0 (d, *J* = 23.2 Hz), 107.3, 55.3, 45.0, 27.2, 21.3. MS (ES⁺) *m/z* (%): 688.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₉H₃₂F₂N₅O₅ 688.2372; found 688.2358.

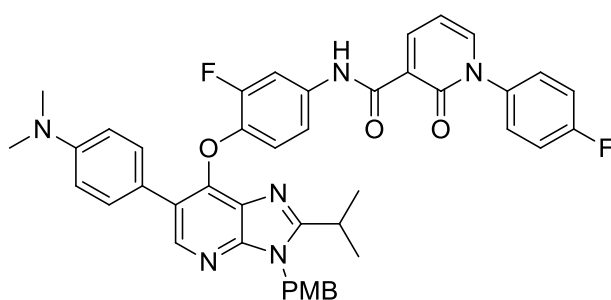
***N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (108a):**



The reaction was performed following procedure A on 4-(7-(4-amino-2-fluorophenoxy)-3-(4-methoxybenzyl)-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-6-yl)-*N,N*-dimethylaniline **104a** (63 mg, 0.12 mmol) in DMF (3 mL) to give the corresponding product as a yellow solid (67 mg, 75 %). Mp: 170 – 172 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.76 (bs, 1H), 8.64 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H),

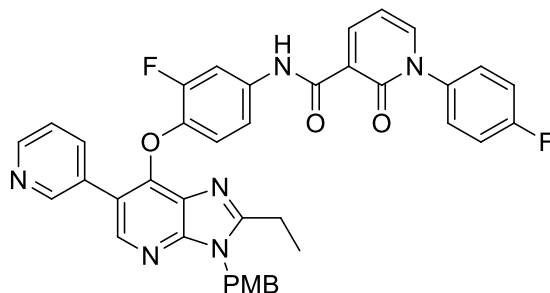
7.53 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.47 – 7.29 (m, 4H), 7.20 – 7.03 (m, 6H), 6.90 – 6.67 (m, 4H), 6.51 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 5.37 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.93 (s, 6H), 2.70 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.16 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 164.4, 160.9$ (d, $J = 245.0$ Hz), 161.1, 159.3, 156.9, 152.9 (d, $J = 244.9$ Hz), 150.1, 149.8, 149.6, 145.9, 145.0, 141.6, 135.9 (d, $J = 3.0$ Hz), 134.2 (d, $J = 9.6$ Hz), 130.3, 128.5, 128.4, 128.4, 126.6, 124.0, 122.9, 122.2, 119.5, 117.0, 116.7, 115.4, 114.3, 112.4, 109.1 (d, $J = 22.5$ Hz), 107.3, 55.3, 45.1, 40.6, 21.6, 11.3. MS (ES+) m/z (%): 364.1 (50) $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; 607.2 (100) $[\text{M}-\text{PMB}+\text{H}]^+$; 727.3 (80) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{42}\text{H}_{37}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_4$ 727.2844; found 727.2855.

***N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (108b):**



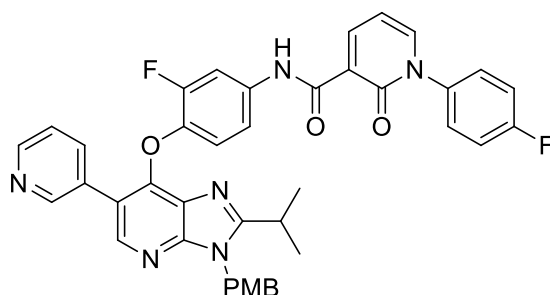
The reaction was performed following procedure A on 4-(7-(4-amino-2-fluorophenoxy)-3-(4-methoxybenzyl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-6-yl)-*N,N*-dimethylaniline **104b** (175 mg, 0.33 mmol) in DMF (3 mL) to give the corresponding product as a brown solid (158 mg, 64 %). Mp: 122 – 124 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 11.72$ (bs, 1H), 8.74 – 8.58 (m, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.73 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.67 – 7.53 (m, 2H), 7.43 – 7.17 (m, 6H), 7.09 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.96 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.74 – 6.61 (m, 2H), 6.56 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.15 – 3.05 (m, 1H), 2.92 (s, 6H), 1.20 (s, 3H), 1.18 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 162.5, 161.2, 161.0, 159.3, 151.1, 149.8$ (d, $J = 8.7$ Hz), 149.3, 146.3, 145.0, 141.5 (d, $J = 14.4$ Hz), 136.0 (d, $J = 3.4$ Hz), 130.3, 128.6, 128.5, 128.5, 128.4, 128.2, 126.5 (d, $J = 3.0$ Hz), 125.6 (d, $J = 1.8$ Hz), 124.4, 122.8, 122.3, 119.4, 117.7, 117.1, 116.8, 114.4, 112.6, 110.9, 107.4, 55.4, 45.2, 40.7, 27.3, 21.3. MS (ES+) m/z (%): 371.2 (55) $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; 621.2 (80) $[\text{M}-\text{PMB}+\text{H}]^+$; 741.3 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{43}\text{H}_{39}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_4$ 741.3001; found 741.3022.

***N*-(4-((2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (109a):**



The reaction was performed following procedure A on 4-((2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **105a** (670 mg, 1.43 mmol) in DMF (36 mL) to give the corresponding product as a yellow oil (625 mg, 64 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 11.79 (bs, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.65 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.88 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 12.8 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.37 – 7.30 (m, 2H), 7.20 (t, J = 6.6 Hz, 3H), 7.10 (d, J = 7.6 Hz, 3H), 6.88 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.54 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.72 – 2.61 (m, 2H), 1.13 (t, J = 6.9 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 164.4, 164.2 (d, J = 241.5 Hz), 162.5, 161.2, 161.1, 160.9 (d, J = 240.1 Hz), 157.3, 154.9, 151.6, 151.4, 150.3 (d, J = 20.6 Hz), 148.5, 145.2 (d, J = 24.6 Hz), 141.3, 140.9 (d, J = 12.8 Hz), 137.2, 135.9 (d, J = 3.4 Hz), 135.1 (d, J = 9.7 Hz), 132.2, 131.3, 128.5, 128.4, 128.2, 126.0, 123.2, 122.2, 120.4, 119.7, 116.9 (d, J = 23.2 Hz), 115.5 (d, J = 3.0 Hz), 114.3, 109.0 (d, J = 23.4 Hz), 107.3, 55.3, 45.2, 21.6, 11.0. MS (ES+) m/z (%): 565.2 (100) [M-PMB+H] $^+$; 685.2 (45) [M+H] $^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{39}\text{H}_{31}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_4$ 685.2375; found 685.2376.

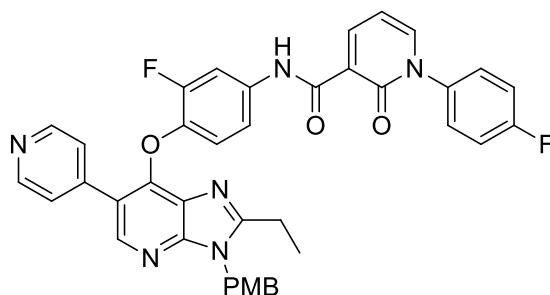
***N*-(3-fluoro-4-((2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (109b):**



The reaction was performed following procedure A on 4-((2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **105b** (394 mg, 0.81 mmol) in DMF (20 mL) to give the corresponding product as a yellow solid (480 mg, 84 %). Mp: 188 – 190 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 11.83 (bs, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.67 (dd, J = 7.2, 2.2 Hz, 1H), 8.53 (d, J = 4.6 Hz,

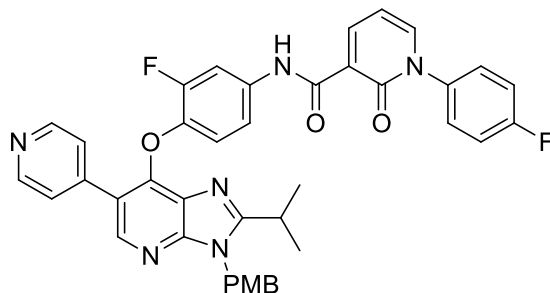
1H), 8.28 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J = 13.3, 2.2$ Hz, 1H), 7.60 (dd, $J = 6.7, 2.2$ Hz, 1H), 7.43 – 7.34 (m, 2H), 7.35 – 7.18 (m, 3H), 7.11 (d, $J = 8.6$ Hz, 3H), 6.92 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.56 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.05 (q, $J = 13.3, 6.7$ Hz, 1H), 1.16 (s, 3H), 1.13 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 162.7$ (d, $J = 240.8$ Hz), 162.5, 162.4, 161.2, 161.0, 159.2, 153.3 (d, $J = 246.4$ Hz), 151.2, 150.6, 150.1, 148.4, 145.1 (d, $J = 21.2$ Hz), 141.7, 140.9 (d, $J = 12$ Hz), 137.2, 135.9 (d, $J = 3.0$ Hz), 135.1 (d, $J = 9.8$ Hz), 131.4, 128.5, 128.4, 128.2, 125.9, 123.2, 122.1, 120.7 (d, $J = 1.5$ Hz), 119.5, 116.8 (d, $J = 23.1$ Hz), 115.3 (d, $J = 3.2$ Hz), 114.2, 108.8 (d, $J = 23.3$ Hz), 107.3, 55.3, 45.0, 27.2, 21.3. MS (ES+) m/z (%): 579.2 (100) $[\text{M-PMB+H}]^+$; 699.2 (45) $[\text{M+H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{40}\text{H}_{33}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_4$ 699.2531; found 699.2545.

***N*-(4-((2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (110a):**



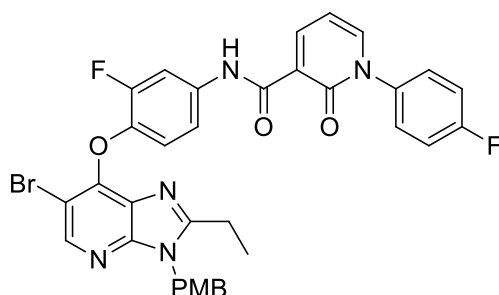
The reaction was performed following procedure A on 4-((2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **106a** (290 mg, 0.62 mmol) in DMF (15 mL) to give the corresponding product as a white solid (332 mg, 79 %). Mp: 214 – 216 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 11.83$ (bs, 1H), 8.70 – 8.54 (m, 3H), 8.31 (s, 1H), 7.76 (dd, $J = 12.8, 2.2$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 6.6, 2.2$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 4.7$ Hz, 2H), 7.36 (dd, $J = 8.7, 4.7$ Hz, 2H), 7.21 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 8.7$ Hz, 3H), 6.90 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.53 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.67 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.13 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 164.4, 160.9$ (d, $J = 239.4$ Hz), 161.2, 157.4, 151.7, 150.3, 149.7, 145.3, 145.1, 143.5, 141.7, 140.8 (d, $J = 12.1$ Hz), 135.9, 135.3, 128.5, 128.4, 128.1, 125.8, 124.4, 122.1, 120.4, 120.3, 117.0, 116.7, 115.5, 114.3, 109.2, 108.9, 107.3, 55.4, 45.2, 21.5, 10.9. MS (ES+) m/z (%): 565.2 (100) $[\text{M-PMB+H}]^+$; 685.2 (55) $[\text{M+H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{39}\text{H}_{31}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_4$ 685.2375; found 685.2378.

***N*-(3-fluoro-4-((2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (110b):**



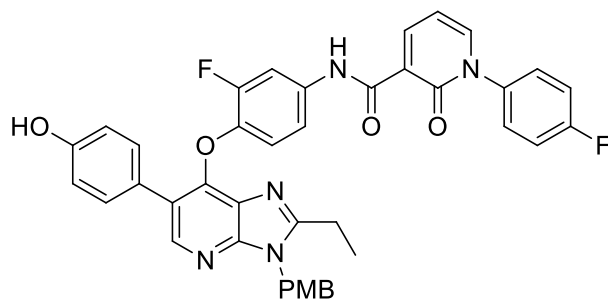
The reaction was performed following procedure A on 4-((2-isopropyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **106b** (454 mg, 0.94 mmol) in DMF (23 mL) to give the corresponding product as a white solid (403 mg, 61 %). Mp: 203 – 205 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.85 (bs, 1H), 8.71 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 8.32 (s, 1H), 7.88 – 7.72 (m, 2H), 7.60 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 7.44 – 7.32 (m, 2H), 7.31 – 7.20 (m, 2H), 7.20 – 7.04 (m, 3H), 6.97 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.59 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.13 – 2.90 (m, 1H), 1.13 (s, 3H), 1.11 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 164.4, 162.5, 161.2 (d, *J* = 7.5 Hz), 161.1, 160.9 (d, *J* = 241.5 Hz), 153.5 (d, *J* = 246.3 Hz), 151.8, 150.6, 148.3, 145.2, 145.1, 141.7, 140.7 (d, *J* = 11.0 Hz), 135.9 (d, *J* = 3.8 Hz), 135.5 (d, *J* = 10.4 Hz), 129.5, 129.5, 128.5, 128.4, 128.2, 125.6, 122.2, 121.0, 119.5, 116.9 (d, *J* = 23.3 Hz), 115.4 (d, *J* = 3.0 Hz), 114.3, 108.9 (d, *J* = 22.9 Hz), 107.4, 55.3, 45.1, 27.2, 21.3. MS (ES⁺) *m/z* (%): 579.2 (100) [M-PMB+H]⁺; 699.3 (55) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₄₀H₃₃F₂N₆O₄ 699.2531; found 699.2536.

***N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-2-ethyl-6-(4-hydroxyphenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (111a) (two steps):**



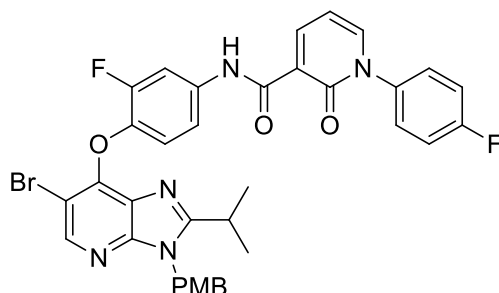
Reaction was performed following procedure A on 4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-bromo-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102a** (705 mg, 1.50 mmol) to give the corresponding product **111a'** as a beige solid (795 mg, 77 %). Mp: 234 – 236 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.87 (bs, 1H), 8.72 (dd, *J* = 6.6, 2.3 Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.86 (dd, *J* = 12.7, 2.3 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 6.6, 2.3

Hz, 1H), 7.41 – 7.37 (m, 2H), 7.32 – 7.15 (m, 3H), 7.08 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.99 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.59 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.67 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.14 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 162.9$ (d, $J = 249.0$ Hz), 162.6, 161.3, 159.4, 157.4, 153.5 (d, $J = 246.0$ Hz), 150.3 (d, $J = 26.6$ Hz), 146.2, 145.2, 141.7, 140.7 (d, $J = 12.1$ Hz), 136.0 (d, $J = 3.3$ Hz), 135.5 (d, $J = 9.6$ Hz), 128.6, 128.5, 128.1, 127.0, 122.4, 120.5, 117.1, 116.8, 115.6 (d, $J = 3.3$ Hz), 114.4, 109.3 (d, $J = 23.1$ Hz), 107.4, 104.9, 55.4, 45.3, 21.6, 11.0. MS (ES+) m/z (%): 686.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4\text{Br}$ 686.1214; found 686.1221.

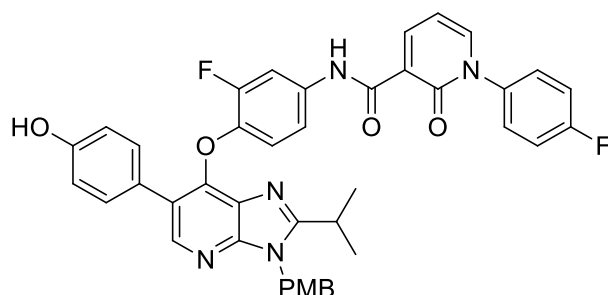


Reaction was performed following procedure G with doubled equivalents of catalyst and base, on N-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-bromo-2-ethyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **111a'** (415 mg, 0.60 mmol) to give the corresponding product **111a** as a white solid (300 mg, 71 %). Mp: 164 – 166 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) $\delta = 11.94$ (bs, 1H), 9.54 (s, 1H), 8.54 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.08 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 7.60 – 7.56 (m, 2H), 7.43 – 7.35 (m, 4H), 7.19 (d, $J = 8.1$ Hz, 3H), 6.88 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.68 (t, $J = 9, 6.8$ Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 2.73 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.05 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) $\delta = 161.8$ (d, $J = 244.7$ Hz), 161.8, 161.2, 158.7, 156.9, 156.8, 151.9 (d, $J = 243.8$ Hz), 150.0, 148.3, 145.1, 144.7, 144.0, 140.5 (d, $J = 11.5$ Hz), 136.2 (d, $J = 2.8$ Hz), 130.5, 129.3 (d, $J = 9.2$ Hz), 128.8 (d, $J = 8.8$ Hz), 128.5, 128.2, 125.5, 125.3, 125.1, 123.0, 120.2, 119.6, 116.0 (d, $J = 23.2$ Hz), 115.5, 115.3, 114.1, 107.0, 55.1, 44.3, 20.5, 10.8. MS (ES+) m/z (%): 700.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{40}\text{H}_{32}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_5$ 700.2372; found 700.2376.

***N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-(4-hydroxyphenyl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (**111b**) (two steps):**



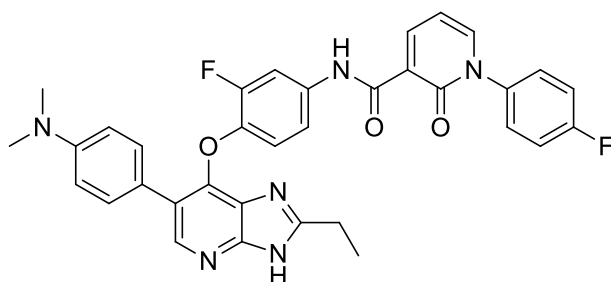
Reaction was performed following procedure A on 4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-bromo-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **102b** (570 mg, 1.17 mmol) to give the corresponding product **111b'** as a beige solid (650 mg, 79 %). Mp: 220 – 222 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.89 (bs, 1H), 8.69 (dd, *J* = 8.8, 2.2 Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.85 (dd, *J* = 12.7, 2.2 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 6.6, 2.2 Hz, 1H), 7.41 – 7.37 (m, 2H), 7.29 – 7.16 (m, 3H), 7.03 (m, 3H), 6.80 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.58 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.07 – 2.92 (m, 1H), 1.12 (s, 3H), 1.10 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.8 (d, *J* = 248.8 Hz), 162.5, 161.3, 161.0, 159.3, 153.6 (d, *J* = 247.0 Hz), 150.2 (d, *J* = 6.6 Hz), 146.0, 145.1, 141.7, 140.6 (d, *J* = 13.5 Hz), 135.9 (d, *J* = 3.3 Hz), 135.48 (d, *J* = 9.5 Hz), 128.55, 128.4 (d, *J* = 4.4 Hz), 128.2, 127.0, 122.2, 120.8, 116.9 (d, *J* = 23.2 Hz), 115.4 (d, *J* = 2.7 Hz), 114.3, 109.0 (d, *J* = 21.8 Hz), 107.4, 104.6, 55.3, 45.1, 27.3, 21.3. MS (ES+) *m/z* (%): 700.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₅H₂₉F₂N₅O₄Br 700.1371; found 700.1386.



Reaction was performed following procedure G with doubled equivalents, on *N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-bromo-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **111b'** (656 mg, 0.94 mmol) to give the corresponding product **111b** as a beige solid (410 mg, 61 %). Mp: 179 – 181 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 11.95 (bs, 1H), 9.52 (s, 1H), 8.55 (dd, *J* = 7.2, 2.1 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.09 (dd, *J* = 6.6, 2.1 Hz, 1H), 7.85 (dd, *J* = 13.2, 2.1 Hz, 1H), 7.59 (dd, *J* = 8.7, 4.9 Hz, 2H), 7.43 – 7.34 (m, 4H), 7.18 – 7.15 (m, 3H), 6.89 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.81 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.69 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.45 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.17 (m, 1H), 1.05 (s, 3H), 1.03 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 161.9 (d, *J* = 245.9

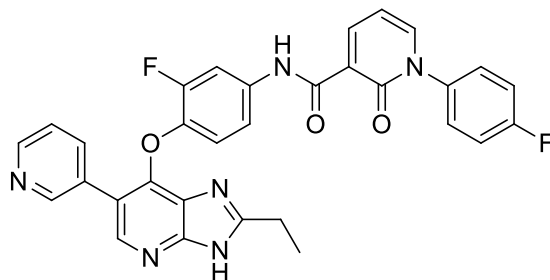
Hz), 161.8, 161.2, 160.6, 158.7, 156.8, 152.1 (d, $J = 243.7$ Hz), 149.8, 148.5, 145.2, 144.8, 144.0, 140.4, 140.3, 136.2 (d, $J = 3.0$ Hz), 134.4 (d, $J = 10.0$ Hz), 130.5, 129.3 (d, $J = 8.9$ Hz), 129.0, 128.3, 125.5, 125.2, 122.9, 120.2, 119.7, 116.1 (d, $J = 23.1$ Hz), 115.3, 114.1, 107.9 (d, $J = 24.0$ Hz), 107.0, 55.1, 44.2, 26.2, 21.2. MS (ES+) m/z (%): 714.3 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{41}H_{34}F_2N_5O_5$ 714.2528; found 714.2540.

***N*-(4-((6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (112):**



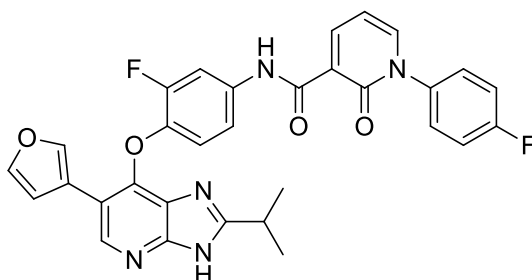
Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-ethyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **108a** (100 mg, 0.14 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (67 mg, 80 %). Mp: 186 – 188 °C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 11.91$ (bs, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.57 (s, 3H), 7.38 (s, 4H), 7.13 (s, 1H), 6.91 – 6.49 (m, 3H), 2.86 (s, 6H), 2.74 (s, 2H), 1.21 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 163.6, 161.8, 161.3, 160.3, 157.7, 149.6, 145.1, 144.8, 144.0, 143.8, 141.0, 136.3, 136.3, 133.9, 129.8, 129.3, 126.8, 123.4, 122.1, 120.3, 116.3, 116.0, 115.7, 112.2, 108.4, 107.1, 22.4, 12.1$. MS (ES+) m/z (%): 304.1 (100) $[M+2H]^{2+}$; 607.2 (80) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{34}H_{29}F_2N_6O_3$ 607.2269; found 607.2279.

***N*-(4-((2-ethyl-6-(pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (113):**



Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((2-ethyl-3-(4-methoxybenzyl)-6-(pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **109a** (325 mg, 0.47 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (58 mg, 22 %). Mp: 286 – 288 °C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 13.04 (zs, 1H), 11.96 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.56 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 8.33 (s, 1H), 8.11 (dd, *J* = 6.6, 2.1 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 7.86 (dd, *J* = 13.2, 2.3 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 8.6, 4.9 Hz, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.42 (t, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.22 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.98 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.71 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 2.80 – 2.69 (m, 2H), 1.26 – 1.17 (m, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 161.9 (d, *J* = 245.8 Hz), 161.8, 161.3, 157.9, 151.9 (d, *J* = 243.4 Hz), 151.8, 149.6, 148.3, 144.8, 144.0, 140.3 (d, *J* = 12.0 Hz), 136.7, 136.2 (d, *J* = 2.4 Hz), 134.5 (d, *J* = 8.7 Hz), 130.8, 129.3 (d, *J* = 9.0 Hz), 126.0, 123.4, 120.2, 119.8, 119.1, 116.0 (d, *J* = 23.1 Hz), 115.6, 108.1 (d, *J* = 22.9 Hz), 107.0, 22.2, 11.8. MS (ES⁺) *m/z* (%): 283.1 (50) [M+2H]²⁺; 303.6 (100); 565.2 (70) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₁H₂₃F₂N₆O₃ 565.1800; found 565.1805.

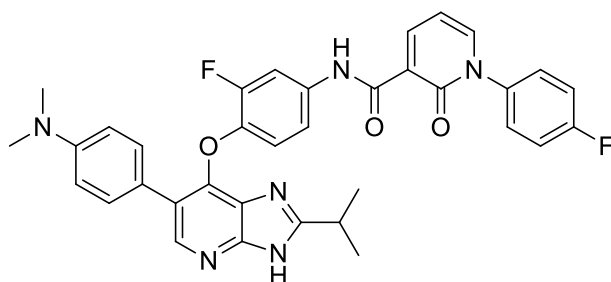
***N*-(4-((6-(furan-3-yl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (114):**



Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-2-isopropyl-6-(furan-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **107b** (330 mg, 0.48 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (200 mg, 73 %). Mp: 257 – 259 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 12.97 (bs, 1H), 11.98 (bs, 1H), 8.56 (d, *J* = 9.8 Hz, 2H), 8.10 (dd, *J* = 4.8, 1.8 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.61 –

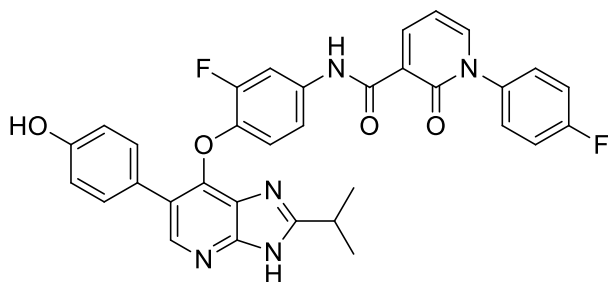
7.57 (m, 2H), 7.40 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.86 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.70 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.00 (m, 1H), 1.23 (s, 3H), 1.20 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 161.89$ (d, $J = 243.8$ Hz), 161.8, 161.3, 161.1, 152.0 (d, $J = 241.5$ Hz), 151.0, 147.7, 144.8, 143.9, 143.6 (d, $J = 5.3$ Hz), 140.3, 140.1 (d, $J = 12.0$ Hz), 136.3 (d, $J = 3$ Hz), 134.4 (d, $J = 11.3$ Hz), 129.4, 129.2, 126.2, 120.2, 119.3, 116.2, 115.9, 115.6, 113.6, 109.9, 108.2 (d, $J = 22.5$ Hz), 107.0, 28.7, 20.8. MS (ES+) m/z (%): 568.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{31}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4$ 568.1796; found 568.1770.

***N*-(4-((6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (115):**



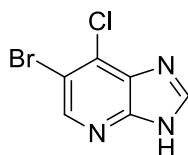
Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **108b** (185 mg, 0.25 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (109 mg, 70 %). Mp: 240 – 242 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 12.91$ (bs, 1H), 11.92 (bs, 1H), 8.53 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.17 – 7.96 (m, 1H), 7.88 (dd, $J = 11.9, 1.5$ Hz, 1H), 7.60 – 7.55 (m, 2H), 7.49 – 7.22 (m, 4H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.74 – 6.66 (m, 4H), 3.10 – 3.01 (m, 1H), 2.88 (s, 6H), 1.27 (s, 3H), 1.24 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 161.9$ (d, $J = 244.7$ Hz), 161.8, 161.2, 149.6, 145.0, 144.7, 143.9, 140.7, 136.3 (d, $J = 2.9$ Hz), 133.8, 129.8, 129.3 (d, $J = 8.9$ Hz), 123.2, 122.1, 120.2, 116.1 (d, $J = 23.0$ Hz), 115.5, 112.2, 108.2 (d, $J = 23.1$ Hz), 107.0, 30.7, 28.7, 21.0. MS (ES+) m/z (%): 311.1 (75) $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; 621.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_3$ 621.2426; found 621.2429.

***N*-(4-((6-(4-hydroxyphenyl)-2-isopropyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (116):**

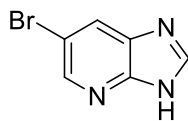


Reaction was performed following procedure I on *N*-(4-((3-(4-methoxybenzyl)-2-isopropyl-6-(4-hydroxyphenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **111b** (398 mg, 0.56 mmol) to give the corresponding product as a white solid (49 mg, 15 %). Mp: 246 – 248 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 12.92 (bs, 1H), 11.92 (bs, 1H), 9.51 (s, 1H), 8.62 – 8.47 (m, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 7.58 (s, 2H), 7.36 (m, 4H), 7.13 (s, 1H), 6.88 – 6.60 (m, 3H), 3.05 (s, 1H), 1.24 (s, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 161.9 (d, *J* = 245.8 Hz), 161.8, 161.2, 161.1, 156.7, 151.7 (d, *J* = 243.3 Hz), 150.9, 147.8, 144.9, 144.7, 144.0, 140.6 (d, *J* = 11.4 Hz), 137.4, 136.3 (d, *J* = 2.4 Hz), 134.0 (d, *J* = 9.5 Hz), 130.4, 130.1, 129.3 (d, *J* = 8.7 Hz), 126.2, 125.3, 122.7, 120.3, 119.1, 116.1 (d, *J* = 23.1 Hz), 115.4, 115.2, 108.0 (d, *J* = 22.9 Hz), 107.0, 28.7, 20.9. HRMS (ESI) calculated for C₃₃H₂₆F₂N₅O₄ 594.1953; found 594.1965.

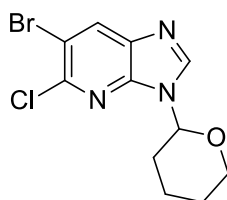
6-Bromo-7-chloro-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (118):



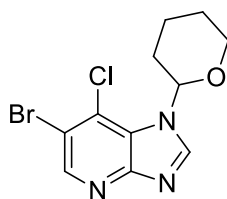
Reaction was performed following procedure B using 6-bromo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **125** (3.6 g, 18.5 mmol) to give the corresponding product in a 75:25 mixture with the 6-bromo-5-chloro-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine isomer **126** as a beige solid (3.1 g, 73%). Mp: 199-201 °C. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ = 8.51 (s, 2H), 8.46 (s, 0.33H, 5-Cl isomer). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 146.6, 145.8, 145.5, 142.3, 133.7, 133.2, 132.3, 130.4, 128.8, 127.8, 113.1, 111.1. MS (ES⁺) *m/z* (%): 231.9 (100) [M+H]⁺, 273.0 (20) [M+CH₃CN+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₆H₄N₃ClBr 231.9277; found 231.9287.

6-Bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (125):

Reaction was performed following procedure D on commercial 2,3-diamino-5-bromopyridine **69** (12 g, 64 mmol) to give the corresponding product as a gray solid (3.6 g, 99%) which was used without any further purification. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.47 (s, 1H), 8.41 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.27 (d, J = 1.2 Hz, 1H). MS (ES+) m/z (%): 198.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.¹⁶⁸

6-Bromo-5-chloro-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (127):

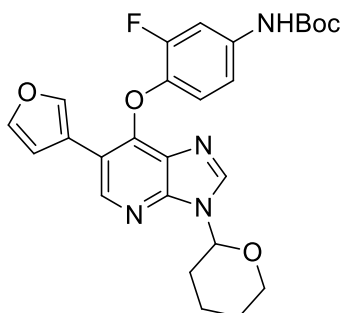
White solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.31 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 5.78 (dd, 1H, J = 3.0 and 9.0 Hz), 4.16 (dd, 1H, J = 3.0 and 9.0 Hz), 3.80 (td, 1H, J = 3.0 and 12.0 Hz), 2.17-1.98 (m, 3H), 1.90-1.68 (m, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 144.3, 143.5, 135.2, 133.4, 113.1, 81.7, 68.9, 31.8, 24.7, 22.8.

6-Bromo-7-chloro-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-imidazo[4,5-b]pyridine (128):

White solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.25 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 5.48 (dd, 1H, J = 3.0 and 9.0 Hz), 4.07 (dd, 1H, J = 3.0 and 9.0 Hz), 3.74 (td, 1H, J = 3.0 and 12.0 Hz), 2.16-2.02 (m, 3H), 1.80-1.60 (m, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 154.3, 145.0, 144.2, 125.5, 125.1, 113.3, 84.1, 67.8, 30.4, 24.6, 22.0.

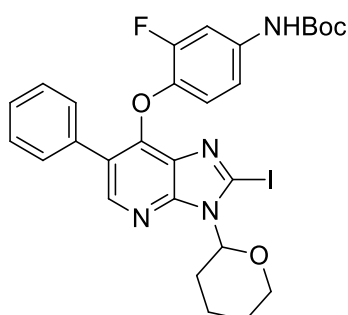
¹⁶⁸ T. Itoh, K. Ono, T. Sugawara, Y. Mizuno, *J. Heterocyclic Chem.* **1982**, *19*, 513-517.

***t*-Butyl(3-fluoro-4-((6-(furan-3-yl)-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate (133):**



Reaction was performed following procedure G on *t*-butyl(4-((6-bromo-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate **87** (175 mg, 0.34 mmol) using 3-furyllboronic acid (77 mg, 0.69 mmol) and PdCl₂(dppf) (13 mg, 0.02 mmol) to allow the corresponding product as a beige solid (137.8 mg, 82 %). Mp: 164 – 166 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.57 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.50-7.42 (m, 2H), 6.99-6.84 (m, 3H), 6.60 (br s, 1H), 5.80 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 9.0 Hz), 4.16 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 9.0 Hz), 3.80 (td, 1H, *J* = 3.0 and 12.0 Hz), 2.10-2.01 (m, 3H), 1.79-1.65 (m, 3H), 1.42 (s, 9H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 169.3, 153.4 (d, *J* = 245 Hz), 152.6, 150.9, 147.8, 145.2, 142.9, 140.9 (d, *J* = 25 Hz), 139.3 (d, *J* = 12 Hz), 135.8 (d, *J* = 10 Hz), 126.2, 120.3, 119.0, 114.9, 113.7, 109.8, 107.3 (d, *J* = 25 Hz), 81.7, 80.5, 68.7, 31.7, 28.2, 24.9, 22.9. MS (ES+) *m/z* (%): 495 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₆H₂₈FN₄O₅ 495.2044; found 495.2040.

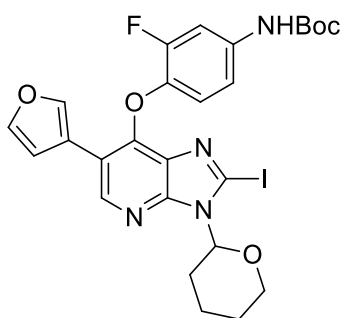
***t*-Butyl(3-fluoro-4-((2-iodo-6-phenyl-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate (136):**



To a solution of diisopropylamine (0.07 mL, 0.50 mmol) in dry THF (2 mL) at -78°C, *n*-BuLi (1.6 M in THF, 0.31 mL, 0.50 mmol) was added dropwise. After 30 min stirring, a solution of *t*-butyl(4-((6-bromo-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate **84** (51 mg, 0.10 mmol) in dry THF (2 mL) was added. After 1h, a solution of I₂ (128 mg, 0.50 mmol) in dry THF (2 mL) was added. The reaction was warmed up to RT and stirred for another 1 h. The crude was diluted with AcOEt, washed with a saturated Na₂S₂O₃ aqueous solution. The organic layer was dried

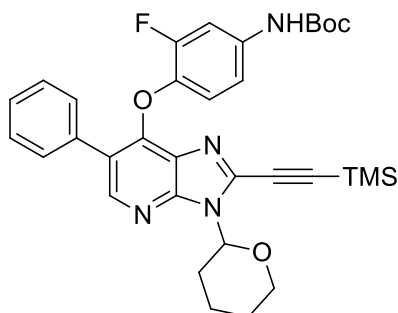
over MgSO_4 and purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to 70/30 cyclohexane/AcOEt to give the corresponding product as a beige solid (49.2 mg, 78 %). Mp: 151 – 153 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.34 (s, 1H), 7.58-7.48 (m, 2H), 7.40-7.28 (m, 3H), 6.76-6.74 (m, 2H), 6.61-6.59 (m, 1H), 5.71 (dd, 1H, J = 3.0 and 9.0 Hz), 4.25 (dd, 1H, J = 3.0 and 9.0 Hz), 3.76 (td, 1H, J = 3.0 and 12.0 Hz), 3.32-3.18 (m, 1H), 2.17-2.13 (m, 1H), 1.91-1.82 (m, 2H), 1.78-1.65 (m, 3H), 1.42 (s, 9H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 171.1, 151.6, 151.2, 151.1 (d, J = 217 Hz), 146.7, 139.8 (d, J = 13 Hz), 135.1 (d, J = 38 Hz), 134.5, 130.0 (d, J = 10 Hz), 129.6, 128.4, 127.5, 124.2, 119.6, 113.5, 107.2 (d, J = 31 Hz), 102.7, 86.9, 80.5, 69.3, 29.0, 28.2, 24.8, 23.5. MS (ES+) m/z (%): 631 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{FIN}_4\text{O}_4$ 631.1218; found 631.1227.

***t*-Butyl (3-fluoro-4-((6-(furan-3-yl)-2-iodo-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate (137):**



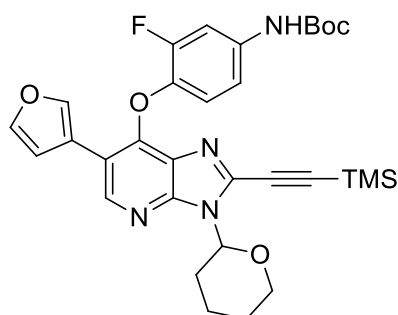
To a solution of diisopropylamine (0.22 mL, 1.56 mmol) in dry THF (3 mL) at -78°C , *n*-BuLi (1.6 M in THF, 0.98 mL, 1.56 mmol) was added dropwise. After 30 min stirring, a solution of *t*-butyl (3-fluoro-4-((6-(furan-3-yl)-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate **133** (155 mg, 0.31 mmol) in dry THF (3 mL) was added. After 1h, a solution of I_2 (397 mg, 1.56 mmol) in dry THF (3 mL) was added. The reaction was heated to RT and stirred for further 1h and worked up. The crude was diluted with AcOEt, washed with a saturated $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ aqueous solution. The organic layer was dried over MgSO_4 and purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to 80/20 cyclohexane/AcOEt to give the corresponding product as a yellow oil (92.8 mg, 48 %). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ = 9.53 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.78 (s, 1 Hz), 1.48 (d, 1H, J = 15 Hz), 7.10-7.01 (m, 2H), 6.90-6.65 (m, 2H), 5.62 (d, 1H, J = 12 Hz), 4.09-4.13 (m, 1H), 2.03-1.81 (m, 2H), 1.71-1.56 (m, 4H), 1.47 (s, 9H). MS ESI (m/z) 621 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 169.8, 163.1, 158.3, 154.4, 153.8, 152.7, 149.6, 149.1, 148.6, 146.0, 145.2, 141.7, 136.7, 127.7, 126.6, 120.5, 117.5, 116.9, 113.9, 111.0, 106.3, 103.1, 102.2, 98.5, 97.1, 96.9, 93.9, 93.5, 91.2, 86.6, 79.7, 75.1, 65.5, 62.9, 58.8, 35.4, 32.2, 28.0, 27.6, 25.0, 20.3. MS (ES+) m/z (%): 631 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{FIN}_4\text{O}_5$ 621.1010; found 621.1014.

***t*-Butyl(3-fluoro-4-((6-phenyl-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-2-((trimethylsilyl)ethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate (138):**



A solution of *t*-Butyl (3-fluoro-4-((2-iodo-6-phenyl-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate **136** (150 mg, 0.24 mmol) in dry THF (3 mL) degassed. Et₃N (0.07 mL, 0.47 mmol) was added and the medium was degassed again. CuI (9 mg, 0.05 mmol), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (17 mg, 0.02 mmol) and TMS-acetylene (0.14 mL, 0.95 mmol) were added and the reaction was stirred for 1h. The solvent was evaporated under reduced pressure and the residue was purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to 80/20 cyclohexane/AcOEt to give the corresponding product as a beige solid (72.1 mg, 50 %). Mp: 263 – 265 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.25 (s, 1H), 7.38 (d, 2H, *J* = 6.0 Hz), 7.26-7.13 (m, 5H), 6.66-6.55 (m, 2H), 5.72 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 12.0 Hz), 4.04 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 12.0 Hz), 3.55 (td, 1H, *J* = 3.0 and 12.0 Hz), 3.96-3.83 (m, 1H), 1.98-1.93 (m, 1H), 1.74-1.57 (m, 3H), 1.49-1.46 (m, 2H), 1.15 (s, 9H), 0.00 (s, 9H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 155.3, 152.0, 151.7, 148.9 (d, *J* = 10.2 Hz), 140.2 (d, *J* = 12.2 Hz), 136.9, 136.5 (d, *J* = 9.7 Hz), 135.6, 130.5, 129.2, 128.3, 127.0, 125.0, 120.5 (d, *J* = 1.3 Hz), 114.7, 108.0 (d, *J* = 22.7 Hz), 104.8, 94.0, 84.4, 80.7, 70.1, 30.1, 29.0, 28.0, 25.7, 24.3, -0.0. MS (ES⁺) *m/z* (%): 601 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₃H₃₈FN₄O₄Si 601.2646; found 601.2654.

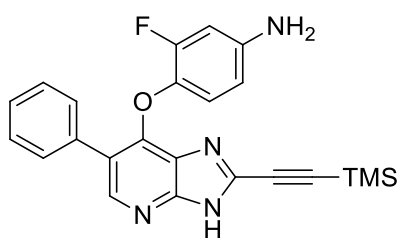
***t*-Butyl(3-fluoro-4-((6-(furan-3-yl)-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-2-((trimethylsilyl)ethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate (139):**



To solution of *t*-butyl (3-fluoro-4-((6-(furan-3-yl)-2-iodo-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate **137** (73 mg, 0.12 mmol) in dry THF (2 mL), Et₃N (0.03 mL, 0.24

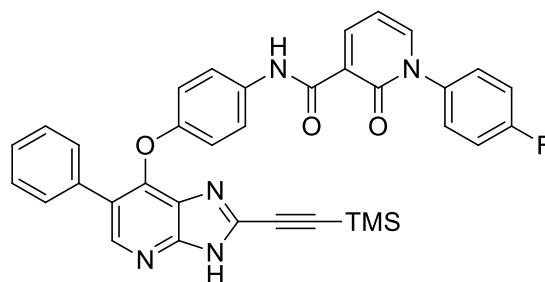
mmol) was added under argon atmosphere. CuI (4.5 mg, 0.02 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (8.3 mg, 0.01 mmol) and TMS-acetylene (0.07 mL, 0.47 mmol) were added and the reaction was stirred for 1 h. The solvent was evaporated under reduced pressure and the residue was purified by chromatography using a gradient of cyclohexane to 80/20 cyclohexane/AcOEt to give the corresponding product as a white solid (29.1 mg, 40 %). Mp: 244 – 246 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.61 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.38 (d, 2H, *J* = 3.0 Hz), 7.40 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 12. Hz), 6.84-6.72 (m, 4H), 5.86 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 12.0 Hz), 4.23 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 12.0 Hz), 3.73 (td, 1H, *J* = 3.0 and 12.0 Hz), 3.13-3.01 (m, 1H), 2.14-2.11 (m, 1H), 1.92-1.75 (m, 3H), 1.68-1.59 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.25 (s, 9H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 173.7, 153.7 (d, *J* = 243 Hz), 153.6, 151.2, 148.4, 147.08, 143.7, 139.7 (d, *J* = 12 Hz), 137.0 (d, *J* = 3 Hz), 136.8, 127.0, 120.3, 119.7, 116.3, 114.8, 110.4, 108.2 (d, *J* = 23 Hz), 105.0, 93.9, 84.5, 80.6, 70.1, 30.1, 28.9, 25.7, 24.3, 0.0. MS (ES+) *m/z* (%): 591 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₁H₃₆FN₄O₅Si 591.2439; found 591.2432.

3-Fluoro-4-((6-phenyl-2-((trimethylsilyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)aniline (140):



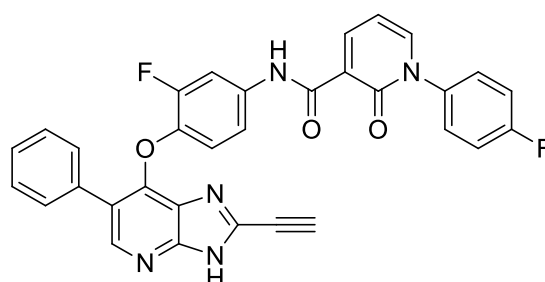
A solution of *t*-butyl (3-fluoro-4-((6-phenyl-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-2-((trimethylsilyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate **138** (66 mg, 0.11 mmol) in DCM (1 mL) was cooled to 0°C. TFA (1 mL) was then added dropwise and the reaction was heated to RT for 2 h. The mixture was taken in DCM and the pH was adjusted to 8 by addition of a saturated NaHCO₃ aqueous solution. The organic phase was extracted with DCM, dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by chromatography in AcOEt gave the corresponding product as a yellow solid (25.2 mg, 54 %). Mp: 259 – 261 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.40(s, 1H), 7.60-7.58 (m, 2H), 7.44-7.34 (m, 3H), 6.86 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 6.39 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz), 6.27 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 3.56 (br s, 2H), 0.23 (s, 9H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 156.1, 151.3 (d, *J* = 205 Hz), 147.5, 144.4 (d, *J* = 9 Hz), 137.3 (d, *J* = 10 Hz), 136.4, 135.4, 130.4, 128.9, 128.1, 127.5, 124.1, 121.7 (d, *J* = 16 Hz), 111.0, 101.0, 94.9, 85.9, 83.4, 0.00. MS (ES+) *m/z* (%): 417 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₃H₂₂FN₄OSi 417.1547; found 417.1547.

***N*-(3-fluoro-4-((6-phenyl-2-((trimethylsilyl)ethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (141):**



Reaction was performed following procedure A on 3-Fluoro-4-((6-phenyl-2-((trimethylsilyl)ethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)aniline **140** (11 mg, 0.03 mmol) to give the corresponding product as a white solid (11.6 mg, 63 %). Mp: 214 – 216 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.77 (s, 1H), 8.69 (d, 1H, *J* = 6.0 Hz), 8.46 (s, 1H), 7.74 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz), 7.60-7.55 (m, 3H), 7.53-7.39 (m, 4H), 7.24-7.11 (m, 4H), 7.09 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz), 6.86-6.80 (m, 1H), 6.58 (t, 1H, *J* = 9.0 Hz), 0.23 (s, 9H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 161.9 (d, *J* = 245.8 Hz), 161.8, 161.4, 147.9, 144.9, 144.1, 136.3, 129.5, 129.3 (d, *J* = 9.0 Hz), 128.5, 127.7, 120.3, 116.1 (d, *J* = 23.0 Hz), 115.8, 108.3 (d, *J* = 23.6 Hz), 107.1, 84.9, 74.5, 1.9. MS (ES+) *m/z* (%): 632 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₅H₂₈F₂N₅O₃Si 632.1929 found 632.1918.

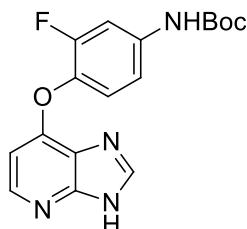
***N*-(4-((2-ethynyl-6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (142):**



Reaction was performed following procedure A on 3-Fluoro-4-((6-phenyl-2-((trimethylsilyl)ethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)aniline **140** (23 mg, 0.05 mmol), warming the mixture up to room temperature, to give the corresponding product as a beige solid (22 mg, 63 %). Mp: 224 – 226 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.80 (s, 1H), 8.70 (d, 1H, *J* = 3.0 Hz), 8.44 (s, 1H), 7.76 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz), 7.58-7.56 (m, 3H), 7.41-7.37 (m, 5H), 7.21-7.10 (m, 4H), 6.95 (t, 1H, *J* = 6.0 Hz), 6.58 (t, 1H, *J* = 6.0 Hz), 3.27 (s, 1H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 163.9 (d, *J* = 286.2 Hz), 161.7, 161.3, 160.9, 158.4, 153.3, 149.1, 147.9, 144.8, 144.0, 136.2 (d, *J* = 2.3 Hz), 134.7, 134.3, 129.4, 129.3 (d, *J* = 8.9 Hz), 128.5, 127.5, 125.9, 123.1, 120.2, 120.1, 116.0 (d, *J* = 23.0 Hz), 115.7, 108.1 (d, *J* = 23.3 Hz), 107.0, 102.1,

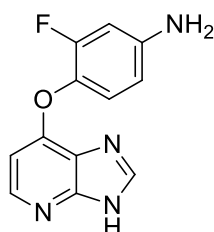
84.8, 74.4. MS (ES+) m/z (%): 560 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{32}H_{20}F_2N_5O_3$ 560.1534; found 560.1522.

***t*-Butyl 4-((3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate (143):**



To a solution of *t*-Butyl 4-((6-bromo-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate **87** (530 mg, 1.05 mmol) in EtOH (10 mL) was added Pd 10 % on carbon (1.1 g, 1.05 mmol). The resulting suspension was flushed with argon and purged twice before flushing with hydrogen. The medium was then stirred at RT overnight. The suspension was subsequently filtered on a celite plug and the filtrate was concentrated under reduce pressure. The residue was purified by chromatography using a gradient from DCM to 90/10 DCM/EtOH to give the corresponding product as a white solid (320 mg, 89 %). Mp: 195 – 197 °C. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ = 13.18 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.18 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 12.8 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.48 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 1.50 (s, 9H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ = 157.9 (q, J = 30.8 Hz), 154.4 (d, J = 243.2 Hz), 148.4 (d, J = 10.1 Hz), 145.4, 142.5, 123.9, 120.9, 118.5, 116.1, 110.1, 102.1, 101.5 (d, J = 20.8 Hz), 64.9, 23.7, 15.2. MS (ES+) m/z (%): 345.1 (100) $[M+H]^+$; 711.2 (10) $[2M+Na]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{17}H_{18}N_4O_3F$ 345.1363; found 345.1360.

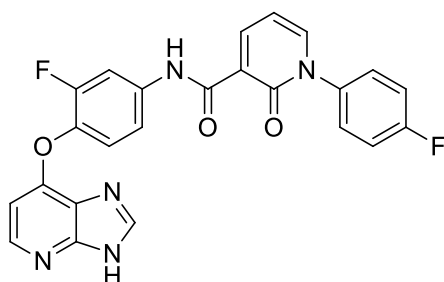
4-((3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (144):



To a solution of tert-butyl 4-((3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate **143** (320 mg, 0.93 mmol) in DCM (3 mL), TFA (0.5 mL) was added dropwise at 0 °C. The reaction was then allowed to warm up to RT and was stirred for 2 h. The reaction mixture was diluted with DCM and the pH was adjusted to 8 by addition of a saturated $NaHCO_3$ aqueous solution. The organic phase was extracted with DCM and the combined organic layers were dried on $MgSO_4$ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using AcOEt to give the

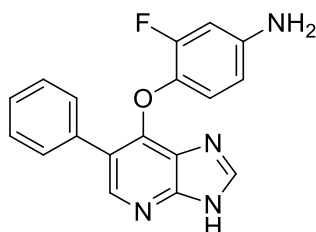
corresponding product as a beige solid (220 mg, 97 %). Mp: 230 – 232 °C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.33 (s, 1H), 8.15 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.05 (t, J = 9.0 Hz, 1H), 6.55 (dd, J = 13.2, 2.4 Hz, 1H), 6.46 (dd, J = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 6.38 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ = 155.0, 153.5 (d, J = 244.5 Hz), 152.7, 150.5, 145.4, 142.3, 138.4 (d, J = 6.7 Hz), 135.0, 123.5 (d, J = 0.9 Hz), 114.6, 106.5 (d, J = 23.2 Hz), 102.8. MS (ES+) m/z (%): 245.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$; 511.1 (25) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}$ 245.0839; found 245.0843.

***N*-(4-((3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (145):**



Reaction was performed following procedure A on 4-((3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **144** (200 mg, 0.82 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (115 mg, 31 %). Mp: 230 – 232 °C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 13.11 (s, 1H), 12.05 (s, 1H), 8.60 (dd, J = 7.3, 2.0 Hz, 1H), 8.25 (d, J = 47.8 Hz, 2H), 8.09 (dd, J = 6.6, 2.0 Hz, 1H), 7.99 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 7.60 (dd, J = 8.9, 4.9 Hz, 2H), 7.48 – 7.23 (m, 4H), 6.74 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 6.56 (s, 1H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ = 161.9 (d, J = 246.0 Hz), 161.8, 161.6, 154.7, 153.4 (d, J = 245.6 Hz), 150.4, 145.5, 144.9, 144.0, 142.3, 136.9, 136.6, 136.2 (d, J = 2.8 Hz), 129.2 (d, J = 8.9 Hz), 124.3 (d, J = 2.8 Hz), 123.5, 120.2, 116.5, 116.0 (d, J = 23.1 Hz), 108.7 (d, J = 22.8 Hz), 107.0, 103.5. MS (ES+) m/z (%): 460.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$ 460.1221; found 460.1221.

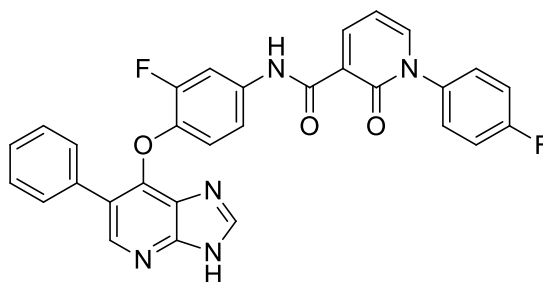
3-Fluoro-4-((6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)aniline (146):



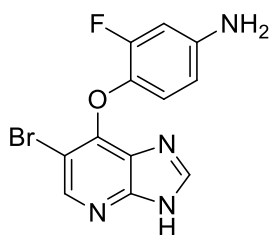
A solution of *t*-Butyl (3-fluoro-4-((6-phenyl-3-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)carbamate **84** (81.4 mg, 0.16 mmol) in DCM (1 mL) was cooled to 0°C. TFA (1 mL) was then added dropwise and the reaction was heated to RT over 2h. The crude was diluted with DCM

and the pH was adjusted to 8 by addition of a saturated NaHCO₃ aqueous solution. The organic phase was extracted with DCM, dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by chromatography in AcOEt gave the corresponding product as a yellow solid (46 mg, 90 %). Mp: 166 – 168 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ = 13.10 (br s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.56-7.54 (m, 2H), 7.43-7.34 (m, 3H), 6.79-6.63 (m, 1H), 6.36 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 9.0 Hz), 6.21 (dd, 1H, *J* = 3.0 and 9.0 Hz), 3.81 (td, 1H, *J* = 3.0 and 12.0 Hz), 2.11-2.03 (m, 3H), 1.76-1.73 (m, 3H), 1.42 (s, 9H), 5.15 (br s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 154.3 (d, *J* = 243 Hz), 152.0, 146.7, 144.2 (d, *J* = 12 Hz), 141.7 (d, *J* = 7 Hz), 136.5 (d, *J* = 12 Hz), 135.0, 130.2, 129.9, 128.3, 127.6, 122.8, 121.9, 113.4, 110.5, 103.5 (d, *J* = 21 Hz). MS (ES+) *m/z* (%): 321 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₈H₁₄FN₄O 321.1152 found; 321.1146.

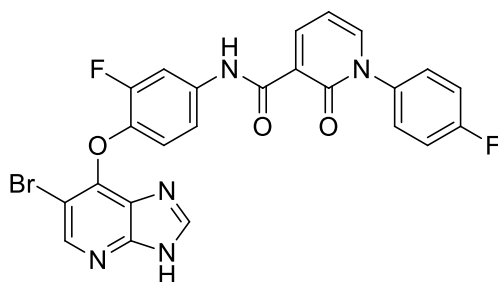
***N*-(3-fluoro-4-((6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (147):**



The reaction was performed following procedure A on 3-Fluoro-4-((6-phenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)aniline **146** (32 mg, 0.10 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (35 mg, 63 %). Mp: 168 – 170 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.82 (s, 1H), 8.79 (d, 1H, *J* = 3.0 Hz), 8.45 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.78 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz), 7.61-7.58 (m, 3H), 7.45-7.35 (m, 5H), 7.25-7.14 (m, 3H), 6.96 (br s, 1H), 6.58 (t, 1H, *J* = 6.0 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.7 (d, *J* = 249 Hz), 162.3, 161.3, 149.5 (d, *J* = 24 Hz), 146.7, 145.0, 142.2, 141.6, 140.7, 137.0 (d, *J* = 9 Hz), 135.8, 134.9 (d, *J* = 23 Hz), 129.8, 128.5, 128.4, 128.3, 127.5, 124.3 (d, *J* = 12 Hz), 123.4, 121.9, 120.1 (d, *J* = 17 Hz), 116.7 (d, *J* = 23 Hz), 115.8, 109.3 (d, *J* = 23 Hz), 107.5, 107.2. MS (ES+) *m/z* (%): 536 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₀H₂₀F₂N₅O₃ 536.1534; found 536.1539.

4-((6-Bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline (148):

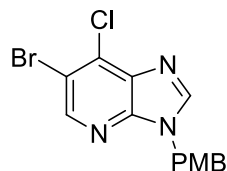
To a solution of 4-((6-bromo-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **87** (50.7 mg, 0.12 mmol) in DCM (3 mL), TFA (0.5 mL) was added dropwise at 0 °C. The reaction was then allowed to warm up to RT and was stirred for 2 h. The reaction mixture was diluted with DCM and the pH was adjusted to 8 by addition of a saturated NaHCO₃ aqueous solution. The organic phase was extracted with DCM and the combined organic layers were dried on MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by chromatography using AcOEt to give the corresponding product as a beige solid (30.8 mg, 77%). Mp: 252 – 254 °C. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ = 8.37(s, 1H), 8.03 (s, 1H), 6.70 (t, 1H, *J* = 9.0 Hz), 6.45 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 6.33 (d, 1H, *J* = 6.0 Hz). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 153.8 (d, *J* = 241.9 Hz), 151.1, 149.9, 147.2 (d, *J* = 10.2 Hz), 146.1, 143.1, 133.7 (d, *J* = 12.3 Hz), 125.7, 121.8, 109.3, 102.5, 101.3 (d, *J* = 20.8 Hz). MS (ES+) *m/z* (%): 323 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₂H₉BrFN₄O 322.9943; found 322.9949.

***N*-4-((6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (149):**

The reaction was performed following procedure A on 4-((6-Bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluoroaniline **148** (22 mg, 0.07 mmol) to give the corresponding product as a white solid (21.7 mg, 59%). Mp: 219 – 221 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ = 13.38 (s, 1H), 11.99 (s, 1H), 8.55 (dd, *J* = 7.3, 1.9 Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.09 (dd, *J* = 6.6, 2.0 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 7.58 (dd, *J* = 8.6, 4.9 Hz, 2H), 7.39 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.11 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.70 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 161.8 (d, *J* = 245.9 Hz), 161.8, 161.4, 152.4 (d, *J* = 244.2 Hz), 149.9, 149.7, 146.3, 144.8, 144.0, 143.8, 139.6 (d, *J* = 11.6 Hz), 136.2 (d, *J* = 2.4 Hz), 135.5 (d, *J* = 8.9 Hz), 129.3 (d, *J* = 8.9 Hz), 126.2, 120.9, 120.2, 116.0 (d, *J* = 23.0 Hz), 115.7, 108.1

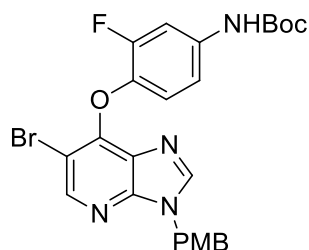
(d, $J = 22.7$ Hz), 107.0, 103.4. MS (ES+) m/z (%): 538 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{24}H_{15}BrF_2N_5O_3$ 538.0326; found 538.0315.

6-Bromo-7-chloro-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (150):

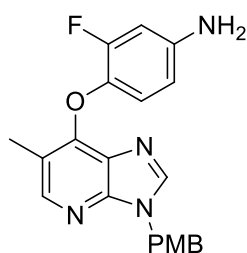


The reaction was performed following procedure H on 6-bromo-7-chloro-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **118** (2.5 g, 10.75 mmol) in DMF (25 mL) to give the corresponding product as a light yellow solid (1.71 g, 45 %). Mp: 99 – 101 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 8.51$ (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.25 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.86 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 5.36 (s, 2H), 3.77 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 159.7$, 146.4, 146.1, 144.9, 134.8, 134.4, 129.4, 127.0, 114.8, 114.4, 55.3, 47.2. MS (ES+) m/z (%): 354.0 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{14}H_{12}N_3O_4BrCl$ 351.9852; found 351.9863.

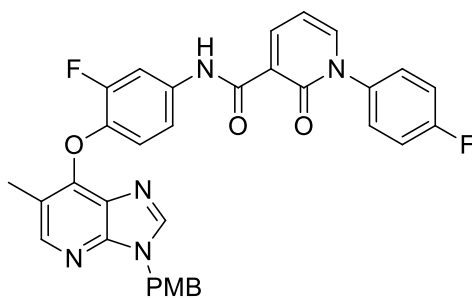
***t*-Butyl(4-((6-bromo-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate (151):**



The reaction was performed following procedure F on 6-bromo-7-chloro-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **150** (1.4 g, 3.97 mmol) in DMSO (3 mL) to give the corresponding product as a light red solid (1.1 g, 51 %). Mp: 162 – 164 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 8.50$ (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.50 – 7.39 (m, 1H), 7.22 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.08 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.57 (s, 1H), 5.31 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 1.49 (s, 9H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 159.7$, 153.4 (d, $J = 296.2$ Hz), 152.4, 148.8, 147.4, 143.1, 139.2 (d, $J = 12.4$ Hz), 136.2 (d, $J = 9.6$ Hz), 129.4, 127.3, 126.7, 121.2 (d, $J = 1.6$ Hz), 114.4, 113.5 (d, $J = 2.6$ Hz), 107.2 (d, $J = 24.0$ Hz), 104.4, 80.8, 55.3, 47.0, 28.3. MS (ES+) m/z (%): 545.1 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{25}H_{25}N_4O_4BrF$ 543.1043; found 543.1042.

3-Fluoro-4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)aniline (152):

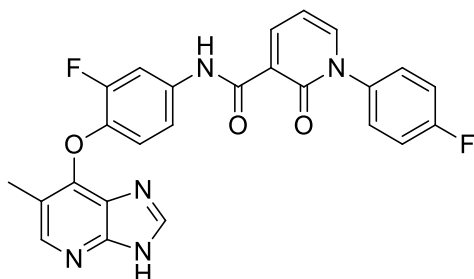
The reaction was performed following procedure G with doubled equivalents of catalyst and base, tert-butyl(4-((6-bromo-3-(4-methoxybenzyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)-3-fluorophenyl)carbamate **151** (600 mg, 1.35 mmol) in 1,4-dioxane (20 mL) to give the corresponding product as a beige solid (450 mg, 88 %). Mp: 74 – 76 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.22 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.29 – 7.12 (m, 2H), 6.95 – 6.74 (m, 3H), 6.37 (dd, *J* = 34.9, 8.7 Hz, 2H), 5.29 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.39 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 159.5, 154.3 (d, *J* = 246.0 Hz), 153.1, 148.7, 146.9, 143.9 (d, *J* = 9.3 Hz), 142.4, 137.0 (d, *J* = 12.3 Hz), 129.3, 127.8, 126.0, 121.6 (d, *J* = 2.2 Hz), 117.8, 114.3, 110.4 (d, *J* = 3.2 Hz), 103.6 (d, *J* = 21.3 Hz), 55.3, 46.7, 13.2. MS (ES⁺) *m/z* (%): 379.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₂₀N₄O₂F 379.1570; found 379.1572.

***N*-(3-fluoro-4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (153):**

The reaction was performed following procedure A on 3-fluoro-4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)aniline **152** (300 mg, 0.79 mmol) in DMF (20 mL) to give the corresponding product as a beige solid (350 mg, 74 %). Mp: 199 – 201 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 11.85 (s, 1H), 8.77 – 8.58 (m, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.87 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.38 (s, 2H), 7.32 – 7.11 (m, 5H), 6.88 (dd, *J* = 23.0, 7.8 Hz, 3H), 6.56 (s, 1H), 5.32 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.38 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 162.7 (d, *J* = 250.3 Hz), 162.4, 161.2, 159.5, 153.1 (d, *J* = 246.6 Hz), 152.0, 148.5, 147.1, 145.0, 142.7, 141.5, 141.0 (d, *J* = 12.0 Hz), 135.8 (d, *J* = 3.3 Hz), 134.9 (d, *J* = 9.4 Hz), 129.3, 128.4 (d, *J* = 8.9 Hz), 127.7, 126.5, 122.2, 119.9 (d, *J* = 1.7 Hz), 118.5, 116.8 (d, *J* = 23.3 Hz), 115.7 (d, *J* = 3.4 Hz), 114.3, 109.4 (d, *J* = 23.1 Hz), 107.2, 55.3, 46.7, 13.1. MS (ES⁺) *m/z* (%): 594.2

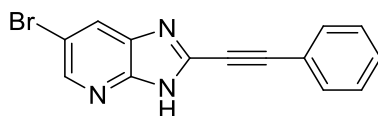
(100) $[M+H]^+$; 1209.4 (20) $[2M+Na]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_3H_{26}N_5O_4F_2$ 594.1953; found 594.1964.

***N*-(3-fluoro-4-((6-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide (154):**

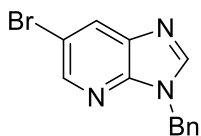


The reaction was performed following procedure I on *N*-(3-fluoro-4-((3-(4-methoxybenzyl)-6-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-7-yl)oxy)phenyl)-1-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carboxamide **153** (260 mg, 0.44 mmol) to give the corresponding product as a yellow solid (75 mg, 36 %). Mp: 211 – 213 °C. 1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ = 8.55 (dd, J = 7.3, 2.2 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.08 (dd, J = 6.6, 2.1 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 7.61 – 7.54 (m, 2H), 7.39 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 7.22 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.70 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 161.9 (d, J = 245.9 Hz), 161.8, 161.4, 155.8 (d, J = 262.5 Hz), 150.8, 149.6, 146.5, 144.9, 144.0, 142.6, 140.4 (d, J = 12.6 Hz), 136.3 (d, J = 3.0 Hz), 134.8 (d, J = 8.6 Hz), 133.7, 131.9, 129.6, 129.3 (d, J = 9.0 Hz), 125.4, 120.5, 120.3, 116.9, 116.1 (d, J = 23.1 Hz), 115.8, 113.8, 108.3 (d, J = 22.7 Hz), 107.1, 99.6, 12.7. MS (ES+) m/z (%): 474.1 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{25}H_{18}N_5O_3F_2$ 474.1378; found 474.1374.

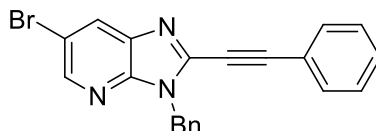
6-Bromo-2-(phenylethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (163):



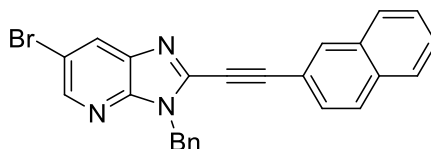
The reaction carried out following procedure M starting from C2-alkynylated 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166a** (95 mg, 0.25 mmol) afforded the corresponding product (30 mg, 40 %) as a beige solid. Mp: 220 – 222 °C. 1H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 14.02 (bs, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.69 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 7.57 – 7.49 (m, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 146.4, 145.5, 137.7, 131.9, 130.4, 129.1, 128.9, 119.9, 92.7, 80.0. MS (ES+) m/z (%): 298 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{14}H_9N_3Br$ 297.9980; found 297.9990.

3-Benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (164):

Reaction was performed following procedure E on 6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **125** (6 g, 30.3 mmol) to give the corresponding product as a beige solid (3.40 g, 39 %). Mp: 106 – 108 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.47 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.21 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.41 – 7.26 (m, 5H), 5.44 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 145.8, 145.5, 145.2, 136.5, 135.5, 130.5, 129.2, 128.6, 127.9, 114.2, 47.4. MS (ES+) *m/z* (%): 288.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₃H₁₁N₃Br 288.0136; found 288.0150.

3-Benzyl-6-bromo-2-(phenylethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (164a):

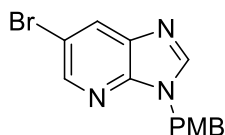
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (7.13 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (90 mg, 66 %) as a brown solid after flash chromatography followed by recrystallization in cyclohexane. Mp: 127 – 129 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.48 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 7.50 – 7.37 (m, 5H), 7.30 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 5.60 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.3, 145.6, 139.5, 136.4, 135.9, 132.3, 130.4, 129.9, 129.0, 128.8, 128.3, 128.1, 120.6, 114.8, 97.2, 78.7, 47.2. MS (ES+) *m/z* (%): 390.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₅N₃Br 388.0449; found 388.0454.

3-Benzyl-6-bromo-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (164b):

The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (7.13 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (64 mg, 42 %) as a yellow solid after flash chromatography followed by recrystallization in cyclohexane. Mp: 202 – 204 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.49 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 7.5 Hz, 3H), 7.57 (t, *J* = 8.5 Hz, 3H), 7.46 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* = 7.2

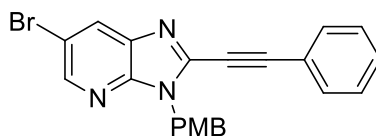
Hz, 3H), 5.64 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.3, 145.6, 136.5, 136.0, 133.7, 133.2, 132.8, 129.9, 129.0, 128.6, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.9, 127.2, 117.8, 114.9, 97.7, 79.0, 47.2. MS (ES+) m/z (%): 440.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{Br}$ 438.0606; found 438.0608.

6-Bromo-3-(*p*-methoxybenzyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (165):

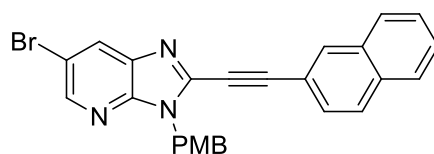


Reaction was performed following procedure H on 6-bromo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **125** (4 g, 20.2 mmol) to give the corresponding product as a green solid (2.50 g, 39 %). Mp: 102 – 104 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.47 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.20 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.26 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.87 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 5.37 (s, 2H), 3.79 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 159.7, 145.7, 145.2, 144.9, 136.5, 130.4, 129.4, 127.4, 114.4, 114.0, 55.3, 46.9. MS (ES+) m/z (%): 318.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 359.0 (10) $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OBr}$ 318.0242; found 318.0237.

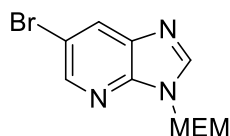
6-Bromo-3-(4-methoxybenzyl)-2-(phenylethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (165a):



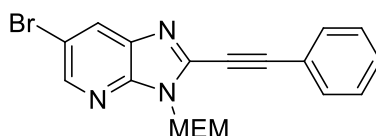
The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **165** (100 mg, 0.31 mmol) and $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ (6.46 mg, 0.03 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (84 mg, 65 %) as a brown solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 176 – 178 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.48 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.64 – 7.62 (m, 2H), 7.55 – 7.29 (m, 5H), 6.85 – 6.82 (m, 2H), 5.54 (s, 2H), 3.76 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 159.6, 146.2, 136.4, 134.3, 132.3, 130.4, 130.2, 129.8, 129.7, 128.8, 128.1, 120.7, 114.8, 114.2, 97.1, 78.9, 55.4, 46.7. MS (ES+) m/z (%): 420.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{OBr}$ 418.0555; found 418.0563.

6-Bromo-3-(4-methoxybenzyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]-pyridine (165b):

The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **165** (100 mg, 0.31 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.03 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (87 mg, 60 %) as a white solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 154 – 156 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.48 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.85 (dd, *J* = 8.7, 2.8 Hz, 3H), 7.62 (dd, *J* = 7.5, 0.9 Hz, 1H), 7.55 (t, *J* = 4.5 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.56 (s, 2H), 3.75 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 159.6, 146.2, 145.5, 139.4, 136.5, 133.7, 133.1, 132.8, 129.8, 129.7, 128.6, 128.2, 128.0, 127.9, 127.2, 117.8, 114.8, 114.3, 97.6, 79.1, 55.4, 46.7. MS (ES+) *m/z* (%): 470.1 (35) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₆H₁₉N₃OBr 468.0711; found 468.0726.

6-Bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166):

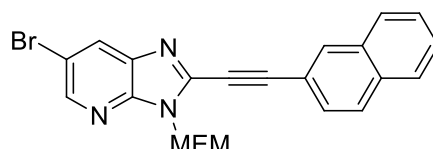
The reaction was carried out following procedure J on 6-bromo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **125** (3.00 g, 15.15 mmol), MEMCl (3.77 g, 30.30 mmol) and triethylamine (3.16 mL) to give the corresponding product as an orange oil (1.68 g, 40 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.46 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H), 8.22 (t, *J* = 3.0 Hz, 2H), 5.73 (s, 2H), 3.74 – 3.64 (m, 2H), 3.55 – 3.47 (m, 2H), 3.34 (s, 3H). MS (ES+) *m/z* (%): 286.0 (100) [M+H]⁺. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.^{85c}

6-Bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-(phenylethynyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166a):

The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and Cu(OAc)₂ (6.35 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (62 mg, 46 % versus 19 % with CuBr.SMe₂) as an orange solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 70 – 72 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.48 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.17 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.70 – 7.61 (m,

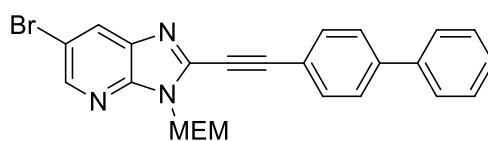
2H), 7.50 – 7.36 (m, 3H), 5.87 (s, 2H), 3.82 – 3.75 (m, 2H), 3.55 – 3.49 (m, 2H), 3.33 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.5, 145.8, 139.9, 136.3, 132.5, 130.5, 130.0, 128.8, 120.5, 115.2, 97.2, 78.1, 72.9, 71.6, 69.5, 59.2. MS (ES+) m/z (%): 386.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2\text{Br}$ 386.0504; found 386.0511.

6-Bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridine (166b):

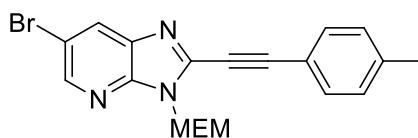


The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (6.35 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (118mg, 77 % versus 33 % with $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$) as a white solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 117 – 119 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.48 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.21 – 8.17 (m, 2H), 7.87 – 7.84 (m, 3H), 7.65 (dd, J = 8.5, 1.5 Hz, 1H), 7.57 – 7.54 (m, 2H), 5.91 (s, 2H), 3.88 – 3.76 (m, 2H), 3.59 – 3.47 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.5, 145.8, 140.0, 136.4, 133.8, 133.4, 132.8, 130.0, 128.6, 128.2, 128.0, 128.0, 127.9, 127.2, 117.7, 115.2, 97.8, 78.4, 72.9, 71.6, 69.5, 59.2. MS (ES+) m/z (%): 438.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{Br}$ 436.0661; found 436.0662.

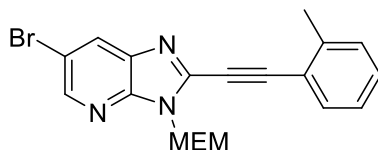
2-([1,1'-Biphenyl]-4-ylethynyl)-6-bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo-[4,5-b]pyridine (166c):



The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (71 mg, 44 %) as a yellowish solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 139 – 141 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.48 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.78 – 7.56 (m, 6H), 7.53 – 7.37 (m, 3H), 5.88 (s, 2H), 3.82 – 3.79 (m, 2H), 3.54 – 3.52 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.4, 145.7, 143.1, 139.8, 139.8, 136.3, 132.8, 129.9, 129.0, 128.1, 127.3, 127.1, 119.2, 115.1, 97.2, 78.7, 72.8, 71.5, 69.4, 59.1. MS (ES+) m/z (%): 464.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{Br}$ 462.0817; found 462.0818.

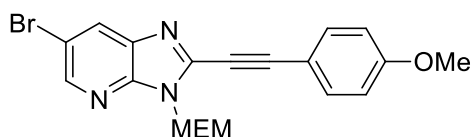
6-Bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-(*p*-tolylethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166d):

The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (74 mg, 53 % *versus* 48 % with Cu(OAc)₂) as a light yellow solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 89 – 91 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.44 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.19 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.84 (s, 2H), 3.78 – 3.75 (m, 2H), 3.58 – 3.42 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.38 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.2, 145.7, 141.0, 140.1, 136.3, 132.3, 129.8, 129.5, 117.4, 115.1, 97.7, 77.6, 72.8, 71.5, 69.4, 59.2, 21.8. MS (ES+) *m/z* (%): 402.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₉H₁₉N₃O₂Br 400.0661; found 400.0657.

6-Bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-(*o*-tolylethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166e):

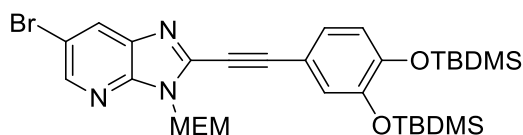
The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (84 mg, 60 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 64 – 66 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.45 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.38 – 7.12 (m, 3H), 5.84 (s, 2H), 3.81 – 3.69 (m, 2H), 3.53 – 3.43 (m, 2H), 3.30 (s, 3H), 2.56 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.4, 141.6, 136.4, 133.0, 130.5, 130.2, 130.0, 130.0, 128.8, 126.0, 120.4, 115.2, 96.4, 81.8, 72.8, 71.5, 69.4, 59.2, 21.0. MS (ES+) *m/z* (%): 400.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₉H₁₉N₃O₂Br 400.0661; found 400.0652.

6-Bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (166f):



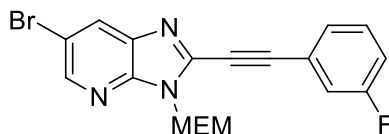
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (76 mg, 52 % versus 53 % with Cu(OAc)₂) as a yellow solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 137 – 139 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.44 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.84 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.80 – 3.75 (m, 2H), 3.53 – 3.48 (m, 2H), 3.32 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 161.3, 146.1, 145.8, 136.4, 134.1, 130.1, 129.8, 115.0, 114.5, 112.4, 97.8, 77.3, 72.8, 71.5, 69.4, 59.2, 55.5. MS (ES⁺) *m/z* (%): 416.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₉H₁₉N₃O₃Br 416.0610 found; 416.0609.

2-((3,4-Bis((tert-butyldimethylsilyl)-oxy)phenyl)ethynyl)-6-bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (166g):



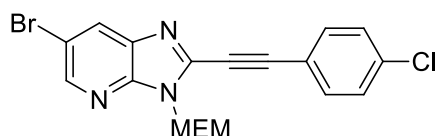
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (124 mg, 55 %) as a beige solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 95 – 97 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.46 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.85 (s, 2H), 3.82 – 3.75 (m, 2H), 3.54 – 3.48 (m, 2H), 3.33 (s, 3H), 1.00 (s, 9H), 0.99 (s, 9H), 0.23 (s, 6H), 0.22 (s, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 149.9, 147.1, 146.1, 145.7, 140.3, 136.3, 129.7, 126.5, 124.7, 121.3, 115.0, 112.9, 97.8, 72.7, 71.5, 69.4, 59.1, 25.9, 18.5, 18.4, - 4.0, - 4.3. MS (ES⁺) *m/z* (%): 648.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₀H₄₅N₃O₄BrSi₂ 646.2132; found 646.2120.

6-Bromo-2-((3-fluorophenyl)ethynyl)-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166h):



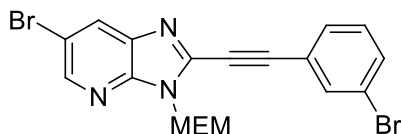
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (51 mg, 36 % *versus* 32 % with Cu(OAc)₂) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 71 – 73 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.47 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.47 – 7.29 (m, 3H), 7.14 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.85 (s, 2H), 3.78 – 3.75 (m, 2H), 3.52 – 3.49 (m, 2H), 3.32 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 162.4 (d, *J* = 248.1 Hz), 146.7, 145.7, 139.4, 136.2, 130.5 (d, *J* = 8.5 Hz), 130.2, 128.4 (d, *J* = 3.2 Hz), 122.3 (d, *J* = 9.4 Hz), 119.2 (d, ²*J*_{C-F} = 23.5 Hz), 117.9 (d, *J* = 21.2 Hz), 115.3, 95.5 (d, *J* = 3.4 Hz), 78.7, 72.8, 71.6, 69.5, 59.2. MS (ES+) *m/z* (%): 406.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₈H₁₆N₃O₂FBr 404.0410; found 404.0405.

6-Bromo-2-((4-chlorophenyl)ethynyl)-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166i):



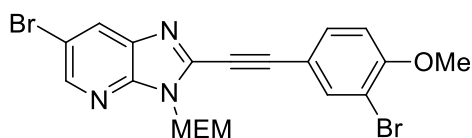
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (80 mg, 54 % *versus* 37 % with Cu(OAc)₂) as a yellowish solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 118 – 120 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.46 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.37 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 5.83 (s, 2H), 3.85 – 3.71 (m, 2H), 3.59 – 3.44 (m, 2H), 3.32 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.5, 145.7, 136.7, 136.2, 133.5, 130.0, 129.2, 118.9, 115.2, 95.8, 78.9, 72.7, 71.5, 69.4, 59.1. MS (ES+) *m/z* (%): 422.0 (100) [M+H]⁺. HRMS calculated for C₁₈H₁₆N₃O₂ClBr 420.0114; found 420.0114.

6-Bromo-2-((3-bromophenyl)ethynyl)-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166j):

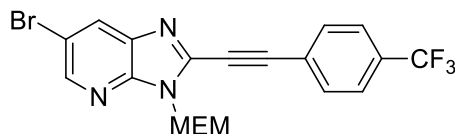


The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (83 mg, 51 %) as a white solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 91 – 93 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.49 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.37 – 7.17 (m, 1H), 5.87 (s, 2H), 3.87 – 3.70 (m, 2H), 3.61 – 3.45 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.7, 145.7, 136.2, 134.9, 133.5, 130.9, 130.2, 130.1, 122.5, 122.4, 115.2, 95.2, 79.1, 72.8, 71.6, 69.4, 59.2. MS (ES+) *m/z* (%): 466.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₈H₁₆N₃O₂Br₂ 463.9609; found 463.9602.

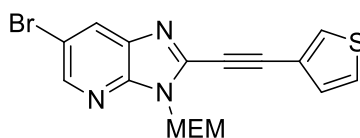
6-Bromo-2-((3-bromo-4-methoxyphenyl)-ethynyl)-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166k):



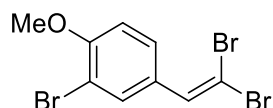
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (81 mg, 47 % versus 21 % with Cu(OAc)₂) as a yellow solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 136 – 138 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.45 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.57 (dd, *J* = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.83 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.78 – 3.75 (m, 2H), 3.53 – 3.50 (m, 2H), 3.34 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 157.7, 146.4, 145.8, 139.8, 137.0, 136.3, 133.2, 130.0, 115.2, 113.8, 111.9, 111.8, 95.9, 78.1, 72.8, 71.6, 69.4, 59.2, 56.5. MS (ES+) *m/z* (%): 496.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₉H₁₈N₃O₃Br₂ 493.9715; found 493.9719.

6-Bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-((4-(trifluoromethyl)phenyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (166l):

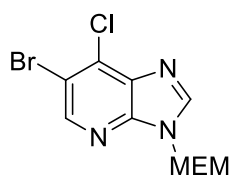
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (48 mg, 31 % *versus* 28 % with Cu(OAc)₂) as a white solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 121 – 123 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.50 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.68 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.88 (s, 2H), 3.80 – 3.77 (m, 2H), 3.53 – 3.51 (m, 2H), 3.34 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.9, 145.7, 139.2, 136.3, 132.7, 132.0 (q, ²*J*_{C-F3} = 32.3 Hz), 130.3, 125.8 (q, ³*J*_{C-F3} = 3.7 Hz), 124.3 (d, ⁴*J*_{C-F3} = 0.9 Hz), 123.7 (q, ¹*J*_{C-F3} = 270.8 Hz), 115.4, 95.1, 80.0, 72.9, 71.6, 69.6, 59.2. MS (ES+) *m/z* (%): 454.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₉H₁₆N₃O₂F₃Br 454.0378; found 454.0375.

6-Bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-(thiophen-3-ylethynyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]-pyridine (166m):

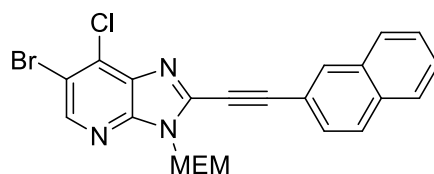
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.46 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (70 mg, 51 % *versus* 42 % with Cu(OAc)₂) as a beige solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 99 – 101 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.47 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.82 – 7.74 (m, 1H), 7.37 (dd, *J* = 5.0, 3.0 Hz, 1H), 7.32 – 7.26 (m, 1H), 5.85 (s, 2H), 3.81 – 3.78 (m, 2H), 3.54 – 3.51 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.4, 145.7, 139.9, 136.3, 132.4, 129.9, 126.3, 119.7, 115.1, 92.6, 77.9, 72.8, 71.5, 69.5, 59.2. MS (ES+) *m/z* (%): 394.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₆H₁₅N₃O₂SBr 392.0068 found; 392.0060.

2-Bromo-4-(2,2-dibromovinyl)-1-methoxybenzene (167k):

In a round-bottom flask and under argon inlet, a solution of PPh_3 (10.98 g, 41.85 mmol) in DCM (30 mL) was slowly added *via* a dropping funnel to a solution of 3-bromo-4-methoxybenzaldehyde (3.00 g, 13.95 mmol), carbon tetrabromide (6.94 g, 20.93 mmol) in DCM (100 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred overnight at room temperature. The solvent was evaporated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography using cyclohexane afforded dibromoalkene **167k** as a yellow solid (1.80 g, 35 %). Mp: 58 – 60 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 7.76 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.47 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.87 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H). ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 155.7, 134.8, 133.0, 128.8, 128.8, 111.4, 111.3, 88.8, 56.2. HRMS (APPI) calculated for $\text{C}_9\text{H}_7\text{Br}_3\text{O}$ 367.8046; found 367.8038.

6-Bromo-7-chloro-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (168):

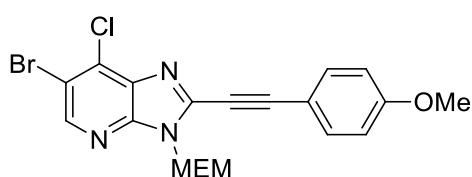
Reaction was performed following procedure J on 6-bromo-7-chloro-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **118** (1.85 g, 7.94 mmol), in toluene (150 mL) to give the corresponding product as a yellow solid (1.62 g, 64 %). Mp: 72 – 74 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.36 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 5.61 (s, 2H), 3.66 – 3.52 (m, 2H), 3.44 – 3.35 (m, 2H), 3.20 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 147.0, 146.4, 145.5, 135.3, 134.5, 115.5, 73.5, 71.7, 69.3, 59.2. MS (ES+) m/z (%): 322.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2\text{ClBr}$ 319.9801; found 319.9803.

6-Bromo-7-chloro-3-((2-methoxyethoxy)-methyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (168b):

The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **168** (100 mg, 0.31 mmol) and $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ (6.41 mg, 0.03 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding

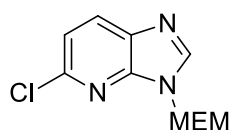
product (88 mg, 60 %) as a yellow solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 138 – 140 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.52 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 3H), 7.63 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.59 – 7.48 (m, 2H), 5.89 (s, 2H), 3.85 – 3.78 (m, 2H), 3.56 – 3.50 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 147.4, 146.0, 139.9, 134.4, 134.3, 133.7, 133.4, 132.6, 128.5, 128.1, 127.9, 127.8, 127.1, 117.4, 115.9, 98.3, 78.1, 73.2, 71.5, 69.6, 59.2. MS (ES+) m/z (%): 472.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_2\text{ClBr}$ 470.0271; found 470.0273.

6-Bromo-7-chloro-3-((2-methoxyethoxy)-methyl)-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (168f):



The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **168** (100 mg, 0.31 mmol) and $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ (6.41 mg, 0.03 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (55 mg, 39 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 117 – 119 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.52 (s, 1H), 7.58 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.92 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 5.85 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.80–3.77 (m, 2H), 3.56 – 3.46 (m, 2H), 3.34 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 161.4, 147.2, 146.1, 140.3, 134.4, 134.2, 134.2, 115.8, 114.5, 112.1, 98.5, 77.1, 73.1, 71.5, 69.5, 59.2, 55.5. MS (ES+) m/z (%): 452.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_3\text{ClBr}$ 450.0220; found 450.0229.

5-Chloro-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (169) (three steps):



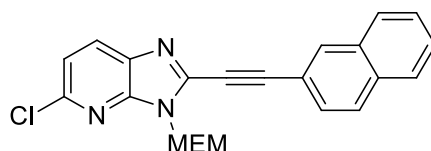
To a mixture of 10 M HCl aqueous solution (28.5 mL, 285 mmol, 3.3 equiv.) in EtOH (170 mL), was added commercially available 2-amino-6-chloro-3-nitropyridine (15 g, 86.4 mmol). Iron (14.8 g, 265 mmol) was then added portionwise and the medium was heated at reflux for 3 h. Subsequently, the reaction mixture was allowed to cool down to RT, taken in EtOH and filtered on Celite. The filtrate was concentrated under reduced pressure and the resulting residue was taken in AcOEt and neutralized with a 3 M NaOH aqueous solution. After a novel filtration on Celite, the aqueous layer was extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried with anhydrous MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure to give the desired 2,3-diamino-6-chloropyridine (**a**) as a

dark brown solid with no further purification (8.6 g, 69 %). Mp: 121-122 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 6.67 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.77 (s, 2H), 4.74 (s, 2H). Compound showed satisfactory spectroscopic data in agreement with those reported in the literature.¹⁶⁹

Cyclisation following procedure D starting from 2,3-diamino-6-chloropyridine (**a**) (8.55 g, 59.55 mmol) allowed 5-chloro-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (**b**) (9.00 g, 98 %) as a grey solid. Mp: 224 – 226 °C. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.50 (s, 1H), 8.07 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.3 Hz, 1H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ = 151.6, 145.2, 143.7, 128.4, 126.1, 117.6. MS (ES+) m/z (%): 154.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_3\text{Cl}$ 154.0172; found 154.0172.

Protection following procedure J starting from 5-chloro-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (**b**) (3.00 g, 19.54 mmol), in toluene (300 mL) allowed compound **169** as a yellow oil (2.70 g, 57 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.22 (s, 1H), 8.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 3.75 – 3.70 (m, 2H), 3.55 – 3.49 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.1, 145.9, 144.4, 133.7, 130.1, 118.9, 72.7, 71.2, 68.7, 58.7. MS (ES+) m/z (%): 242.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}$ 242.0696; found 242.0691.

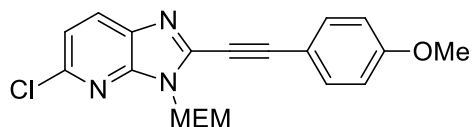
5-Chloro-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (169b**):**



The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **169** (100 mg, 0.41 mmol) and $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ (8.51 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (80 mg, 50 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 121 – 123 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.19 (s, 1H), 7.98 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 8.3 Hz, 3H), 7.64 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.60 – 7.48 (m, 2H), 7.29 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.89 (s, 2H), 3.85 – 3.82 (m, 2H), 3.57 – 3.54 (m, 2H), 3.36 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 147.3, 134.3, 134.1, 133.7, 133.3, 132.8, 130.0, 128.6, 128.2, 128.0, 127.9, 127.1, 120.1, 117.8, 97.5, 78.5, 72.8, 71.6, 69.5, 59.2. MS (ES+) m/z (%): 392.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}$ 392.1166; found 392.1168.

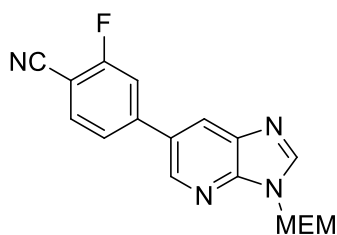
¹⁶⁹ M. Oguchi, K. Wada, H. Honma, A. Tanaka, T. Kaneko, S. Sakakibara, J. Ohsumi, N. Serizawa, T. Fujiwara, H. Horikoshi, T. Fujita, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3052-3066.

5-Chloro-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-3H-imidazo-[4,5-*b*]pyridine (169f):



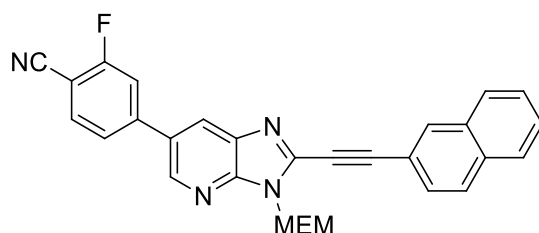
The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **169** (100 mg, 0.41 mmol) and CuBr.SMe₂ (8.51 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (53 mg, 35 %) as a brown solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 114 – 116 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 7.96 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.84 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.83 – 3.77 (m, 2H), 3.58 – 3.48 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 161.2, 147.0, 134.2, 134.1, 130.9, 129.8, 120.4, 119.9, 114.4, 112.5, 97.5, 77.3, 72.7, 71.5, 69.5, 59.2, 55.5. MS (ES+) *m/z* (%): 372.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₉H₁₉N₃O₃Cl 372.1115; found 372.1102.

2-Fluoro-4-(3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-6-yl)benzonitrile (170):



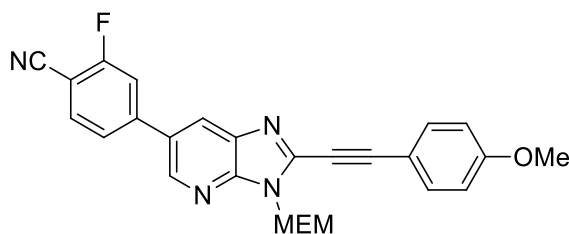
Procedure G using 6-bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** afforded the desired compound (0.91 g, 80 %) as a brown solid. Mp: 173 – 175 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.65 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.75 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.50 (dd, *J* = 13.4, 9.3 Hz, 2H), 5.81 (s, 2H), 3.79 – 3.70 (m, 2H), 3.57 – 3.50 (m, 2H), 3.34 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 163.6 (d, *J* = 259.6 Hz), 146.0, 145.9, 144.1, 134.2, 130.2, 126.6, 123.9 (d, *J* = 3.3 Hz), 115.5, 115.2, 113.9, 100.6, 100.4, 73.4, 71.7, 69.3, 59.2. MS (ES+) *m/z* (%): 327.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₇H₁₆N₄O₂F 327.1257; found 327.1255.

2-Fluoro-4-(3-((2-methoxyethoxy)-methyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)benzonitrile (170b):

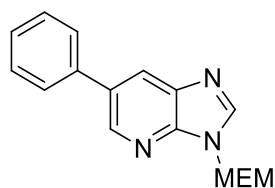


The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **170** (100 mg, 0.31 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.30 mg, 0.03 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (103 mg, 70 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 170 – 172 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.61 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.81 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 7.67 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.53–7.40 (m, 4H), 5.91 (s, 2H), 3.94 – 3.76 (m, 2H), 3.64 – 3.48 (m, 2H), 3.34 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 163.4 (d, *J* = 259.3 Hz), 147.6, 145.8 (d, *J* = 8.1 Hz), 144.6, 140.1, 135.3, 134.0, 133.6, 133.2, 132.6, 130.3 (d, *J* = 1.8 Hz), 128.5, 128.1, 127.9, 127.9, 127.8, 127.1, 125.9, 123.6 (d, ⁴*J*_{C-F} = 3.2 Hz), 117.5, 115.0 (d, *J* = 20.4 Hz), 113.9, 100.2 (d, *J* = 15.6 Hz), 97.8, 78.3, 72.8, 71.5, 69.4, 59.1. MS (ES+) *m/z* (%): 477.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₉H₂₂N₄O₂F 477.1727 found; 477.1703.

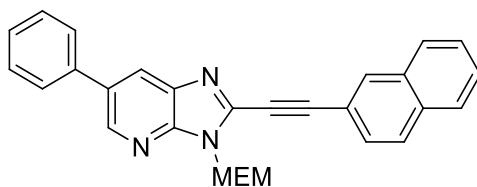
2-Fluoro-4-(3-((2-methoxyethoxy)-methyl)-2-(4-methoxyphenyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)benzonitrile (170f):



The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **170** (100 mg, 0.31 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.30 mg, 0.03 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (50 mg, 35 %) as a brown solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 150 – 152 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.64 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.75 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.54 – 7.47 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 5.93 (s, 2H), 3.87 – 3.82 (m, 5H), 3.56 – 3.53 (m, 2H), 3.36 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 163.6 (d, *J* = 259.5 Hz), 161.4, 146.1, 146.0, 144.4, 134.2, 130.4, 125.9, 123.8 (d, *J* = 3.2 Hz), 115.4, 115.1, 114.5, 114.0, 112.3, 100.5, 100.3, 98.1, 77.4, 72.9, 71.6, 69.5, 59.2, 55.6. MS (ES+) *m/z* (%): 457.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₆H₂₂N₄O₃F 457.1676; found 457.1666.

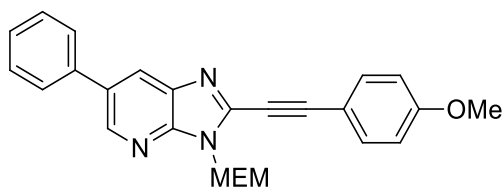
3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (171):

Procedure G using 6-bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **166** afforded the desired compound (0.65 g, 66 %) as a green solid. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.64 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.38 – 8.12 (m, 2H), 7.60 (m, 2H), 7.47 (m, 2H), 7.39 (m, 1H), 5.77 (s, 2H), 3.78 – 3.67 (m, 2H), 3.55 – 3.47 (m, 2H), 3.34 (s, 3H). MS (ES+) m/z (%): 284.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.^{85c}

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (171b):

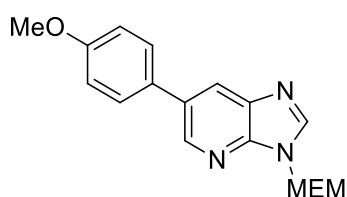
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **171** (100 mg, 0.35 mmol) and $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ (7.26 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (109 mg, 72 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 127 – 129 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.69 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.21 (s, 2H), 7.92 – 7.80 (m, 3H), 7.73 – 7.59 (m, 3H), 7.59 – 7.45 (m, 4H), 7.40 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 5.96 (s, 2H), 3.92 – 3.84 (m, 2H), 3.62 – 3.53 (m, 2H), 3.37 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.6, 145.2, 139.4, 138.5, 135.5, 133.7, 133.7, 133.2, 132.8, 129.2, 128.5, 128.2, 128.0, 128.0, 127.8, 127.6, 127.1, 126.0, 117.9, 97.2, 78.8, 72.8, 71.6, 69.4, 59.2. MS (ES+) m/z (%): 434.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_2$ 434.1869; found 434.1863.

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-6-phenyl-3H-imidazo-[4,5-*b*]pyridine (171f):



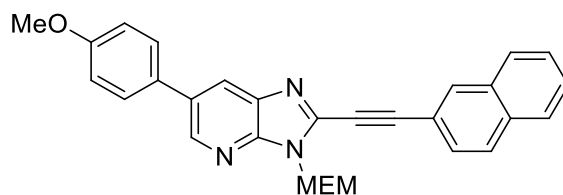
The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **171** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (7.26 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded **8f** (43 mg, 30 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 97 – 99 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.67 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.62 (dd, *J* = 7.8, 4.8 Hz, 4H), 7.50 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.41 (dd, *J* = 8.3, 6.3 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.93 (s, 2H), 3.91 – 3.80 (m, 5H), 3.56 – 3.53 (m, 2H), 3.36 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 161.2, 146.6, 144.9, 139.7, 138.6, 135.4, 134.1, 133.6, 129.2, 127.8, 127.6, 125.8, 114.4, 112.6, 97.3, 72.7, 71.6, 69.3, 59.2, 55.5. MS (ES+) *m/z* (%): 414.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₅H₂₄N₃O₃ 414.1818; found 414.1802.

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-6-(4-methoxyphenyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (172):



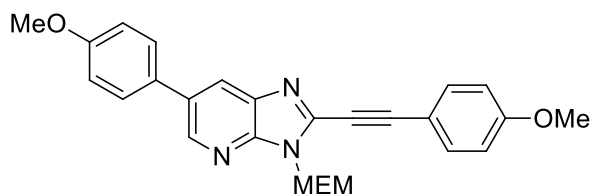
Procedure G using 6-bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** afforded the desired compound (1.07 g, 98 %) as a green solid. Mp: 68 – 70 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.58 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.99 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.74 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.75 – 3.68 (m, 2H), 3.53 – 3.46 (m, 2H), 3.32 (s, 3H). ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ = 159.4, 146.2, 144.8, 144.0, 135.2, 132.7, 131.0, 128.6, 126.0, 114.6, 73.0, 71.6, 68.9, 59.1, 55.4. MS (ES+) *m/z* (%): 314.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₇H₂₀N₃O₃ 314.1505; found 314.1509.

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-6-((4-methoxyphenyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (172b):

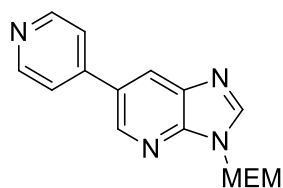


The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **172** (100 mg, 0.32 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.56 mg, 0.03 mmol) as the copper catalyst in a sealed tube afforded the corresponding product (80 mg, 54 %) as a yellow solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 160 – 162 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.65 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.15 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.4 Hz, 3H), 7.66 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 9.1, 3.7 Hz, 4H), 7.03 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.95 (s, 2H), 3.88 – 3.85 (m, 5H), 3.57 – 3.54 (m, 2H), 3.37 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 159.6, 146.2, 145.0, 139.2, 135.5, 133.7, 133.5, 133.2, 132.8, 131.0, 128.7, 128.5, 128.2, 128.1, 128.0, 127.8, 127.1, 125.5, 118.0, 114.7, 97.1, 78.8, 72.8, 71.6, 69.3, 59.2, 55.5. MS (ES+) *m/z* (%): 464.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₉H₂₆N₃O₃ 464.1974; found 464.1953.

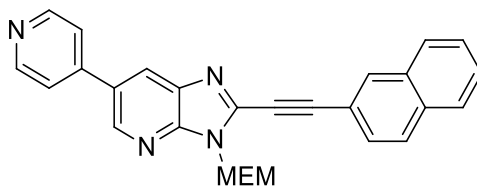
3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-6-((4-methoxyphenyl)-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (172f):



The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **172** (100 mg, 0.32 mmol) and CuBr.SMe₂ (6.56 mg, 0.03 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (43 mg, 30 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 87 – 89 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.62 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.61 – 7.53 (m, 4H), 7.02 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.90 (s, 2H), 3.85 – 3.81 (m, 8H), 3.58 – 3.48 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 161.2, 159.5, 144.7, 135.5, 134.1, 133.4, 132.2, 131.0, 128.7, 125.3, 114.6, 114.4, 113.7, 112.7, 97.2, 72.7, 71.6, 69.3, 59.2, 55.5, 55.5. MS (ES+) *m/z* (%): 444.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₆H₂₆N₃O₄ 444.1923; found 444.1925.

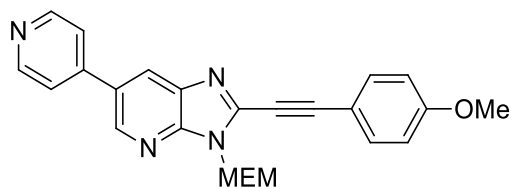
3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-6-(pyridin-4-yl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (173):

In a sealed tube and under argon inlet, Pd(PPh₃)₄ (300 mg, 0.26 mmol) was added to a solution of 6-bromo-3-((2-methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166** (744 mg, 2.60 mmol) in a mixture of 1,4-dioxane/H₂O 4/1 (15 mL) followed by K₂CO₃ (1.08 g, 7.80 mmol) and the pyridin-4-ylboronic acid (639 mg, 5.20 mmol). The reaction mixture was stirred at 110 °C for 12 hours. After cooling to room temperature, the mixture was extracted with AcOEt (3x) and the organic layers dried with MgSO₄. Purification by flash column chromatography (Dichloromethane/EtOH 95/5) afforded **3g** as a beige solid (600 mg, 80 %). Mp: 53 – 55 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.73 – 8.72 (m, 3H), 8.32 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 5.80 (s, 2H), 3.79 – 3.68 (m, 2H), 3.59 – 3.45 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ = 150.2, 147.5, 145.8, 145.5, 143.6, 135.2, 129.6, 126.3, 121.7, 72.9, 71.4, 68.8, 58.9. MS (ES+) *m/z* (%): 285.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₅H₁₇N₄O₂ 285.1352; found 285.1353.

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-6-(pyridin-4-yl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (173b):

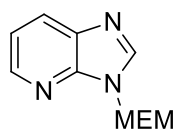
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **173** (100 mg, 0.35 mmol) and Cu(OAc)₂ (6.39 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (94 mg, 62 %) as a beige solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 117 – 119 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.22 (s, 1H), 7.86 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 7.70 – 7.61 (m, 3H), 7.60 – 7.51 (m, 2H), 7.39 (s, 2H), 7.17 – 7.07 (m, 2H), 5.98 (s, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.56 (s, 2H), 3.36 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 158.7, 133.9, 133.7, 133.5, 133.1, 132.6, 132.0, 131.8, 128.4, 128.0, 127.8, 127.8, 127.8, 127.0, 123.6, 120.0, 117.5, 97.5, 78.5, 72.8, 71.4, 69.3, 59.1. MS (ES+) *m/z* (%): 435.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₇H₂₃N₄O₂ 435.1821; found 435.1819.

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-6-(pyridin-4-yl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (173f):



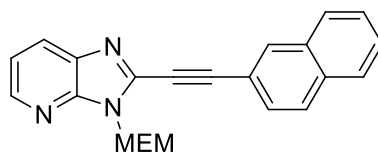
The reaction carried out following procedure L starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine **173** (100 mg, 0.35 mmol) and CuBr.SMe₂ (7.23 mg, 0.04 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (86 mg, 59 %) as a yellow solid after flash chromatography followed by recrystallization in a mixture of cyclohexane/dichloromethane. Mp: 125 – 127 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.70 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.84 – 7.44 (m, 6H), 6.93 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.92 (s, 2H), 3.85 – 3.81 (m, 5H), 3.59 – 3.48 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 161.3, 158.9, 144.4, 135.6, 134.2, 133.9, 132.2, 128.5, 125.7, 123.9, 120.2, 114.5, 112.5, 97.8, 72.8, 71.6, 69.4, 59.2, 55.6. MS (ES+) *m/z* (%): 415.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₄H₂₃N₄O₃ 415.1770; found 415.1757.

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (174) (two steps):

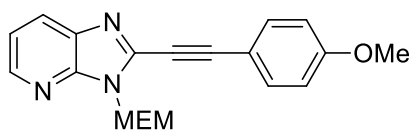


3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridine (**c**) was prepared following procedure D with commercially available pyridine-2,3-diamine (2.00 g, 18.33 mmol) to give a dark red solid (1.63 g, 74 %). Mp: 150 – 152 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8.43 (s, 1H), 8.34 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J* = 4.5, 7.9 Hz, 1H). Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.¹⁶⁸

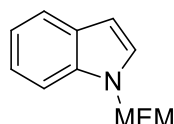
Procedure J starting from 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (**c**) (0.60 g, 5.04 mmol) in toluene (80 mL) allowed compound **174** as a yellow oil (0.63 g, 60 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.07 (dd, *J* = 4.8, 0.9 Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.74 (dd, *J* = 8.0, 0.9 Hz, 1H), 6.91 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 3.41 – 3.38 (m, 2H), 3.17 – 3.14 (m, 2H), 2.98 (s, 3H). Spectroscopic data were in agreement with those reported in the literature.^{85c}

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (174b):

The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **174** (100 mg, 0.48 mmol) and CuBr.SMe₂ (9.92 mg, 0.05 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (72 mg, 42 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 65 – 67 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.45 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 3H), 7.65 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.58 – 7.49 (m, 2H), 7.31 – 7.27 (m, 1H), 5.94 (s, 2H), 3.85 – 3.82 (m, 2H), 3.55 – 3.52 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 145.8, 135.3, 133.7, 133.2, 132.8, 128.5, 128.2, 128.0, 128.0, 127.8, 127.8, 127.1, 119.6, 118.0, 97.0, 78.7, 72.7, 71.6, 69.3, 59.2. MS (ES+) *m/z* (%): 358.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₂H₂₀N₃O₂ 358.1556; found 358.1551.

3-((2-Methoxyethoxy)methyl)-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridine (174f):

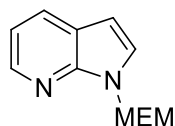
The reaction carried out following procedure L starting from 3H-imidazo[4,5-b]pyridine **174** (100 mg, 0.48 mmol) and CuBr.SMe₂ (9.92 mg, 0.05 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (91 mg, 56 %) as a brown solid after flash chromatography. Mp: 79 – 81 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.37 (dd, *J* = 4.8, 1.2 Hz, 1H), 7.96 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.21 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.83 (s, 2H), 3.85 – 3.67 (m, 5H), 3.48 – 3.47 (m, 2H), 3.28 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 161.0, 147.0, 145.4, 139.0, 135.2, 133.9, 127.5, 119.4, 114.3, 112.5, 96.9, 77.5, 72.5, 71.5, 69.1, 59.0, 55.4. MS (ES+) *m/z* (%): 338.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₉H₂₀N₃O₃ 338.1505; found 338.1507.

1-((2-Methoxyethoxy)methyl)-1H-indole (182):

The reaction was carried out following procedure J on indole (1 g, 8.54 mmol), MEMCl (1.60 g, 12.8 mmol) and NaH (0.55 g, 13.7 mmol) to give the corresponding product as a red oil (625 mg, 36 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 7.58 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.18 (td, *J* = 15.0, 0.9 Hz,

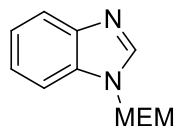
1H), 7.13 – 7.06 (m, 2H), 6.47 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 3.41 – 3.29 (m, 4H), 3.25 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 134.04, 126.84, 125.83, 119.84, 118.64, 117.96, 107.71, 100.28, 73.87, 69.27, 64.86, 56.53$. MS (ES+) m/z (%): 205.1 (10) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ 205.1103; found 205.1100.

1-((2-Methoxyethoxy)methyl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine (183):

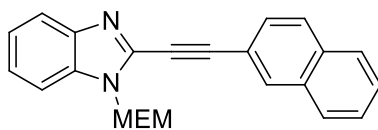


The reaction was carried out following procedure J on 7-azaindole (2.5 g, 21.16 mmol), MEMCl (5.30 g, 42.32 mmol) and triethylamine (4.40 mL) to give the corresponding product as a bright red oil (2 g, 46 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 8.33$ (dd, $J = 4.8, 1.4$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.09 (dd, $J = 7.8, 4.8$ Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 5.75 (s, 2H), 3.65 – 3.56 (m, 2H), 3.51 – 3.42 (m, 2H), 3.33 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 148.13, 143.19, 129.23, 128.11, 120.93, 116.57, 101.49, 73.84, 71.66, 68.01, 59.08$. MS (ES+) m/z (%): 207.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2$ 207.1134; found 207.1128.

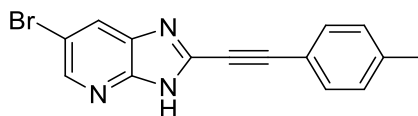
1-((2-Methoxyethoxy)methyl)-1H-benzo[d]imidazole (184):



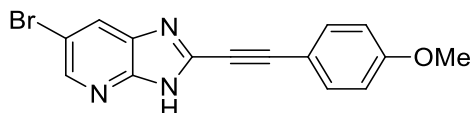
The reaction was carried out following procedure J on benzimidazole (2.5 g, 21.16 mmol), MEMCl (5.3 g, 42.32 mmol) and triethylamine (4.4 mL) to give the corresponding product as a brown oil (500 mg, 11 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 8.00$ (s, 1H), 7.85 – 7.77 (m, 1H), 7.60 – 7.51 (m, 1H), 7.38 – 7.25 (m, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.59 – 3.51 (m, 2H), 3.51 – 3.42 (m, 2H), 3.34 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 143.86, 143.29, 133.66, 123.56, 122.78, 120.31, 110.31, 74.91, 71.63, 67.71, 59.03$. MS (ES+) m/z (%): 207.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$ 207.1134; found 207.1124.

1-((2-Methoxyethoxy)methyl)-2-(naphthalen-2-ylethynyl)-1H-benzo[d]imidazole (184b):

The reaction carried out following procedure L starting from 1-((2-methoxyethoxy)methyl)-1H-benzo[d]imidazole **184** (100 mg, 0.48 mmol) and CuBr.SMe₂ (9.92 mg, 0.05 mmol) as the copper catalyst afforded the corresponding product (43.6 mg, 25 %) as a beige solid after flash chromatography. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.16 (s, 1H), 7.86 - 7.80 (m, 4H), 7.63 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.59 - 7.49 (m, 3H), 7.39 - 7.32 (m, 2H), 5.85 (s, 2H), 3.75 - 3.63 (m, 2H), 3.58 - 3.42 (m, 2H), 3.35 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 143.43, 137.52, 134.08, 133.56, 132.85, 132.81, 128.54, 128.11, 127.98, 127.68, 127.08, 124.65, 123.68, 120.38, 118.20, 110.58, 100.06, 95.86, 78.84, 74.50, 71.55, 68.16, 59.20. MS (ES+) *m/z* (%): 357.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₃H₂₁N₂O₂ 357.1603; found 357.1588.

6-Bromo-2-(*p*-tolylethynyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (186):

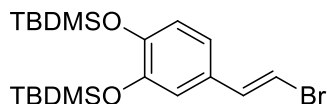
The reaction carried out following procedure M starting from C2-alkynylated 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166d** (130 mg, 0.32 mmol) afforded the corresponding product (41 mg, 40 %) as a beige solid. Mp: 226 - 228 °C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8.1 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.25 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 158.0, 148.7, 140.0, 139.3, 138.2, 131.2, 129.4, 123.9, 119.7, 109.1, 88.5, 85.6, 21.0. MS (ES+) *m/z* (%): 312 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₅H₁₁N₃Br 312.014; found 312.0136.

6-Bromo-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (187):

The reaction carried out following procedure M starting from C2-alkynylated 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **166f** (50 mg, 0.12 mmol) afforded the corresponding product (15 mg, 38 %) as a brown solid. Mp: 160 - 162 °C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8.43 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.06 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 160.6, 150.1, 144.6, 139.3,

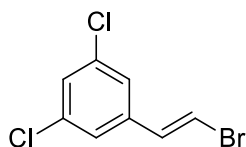
133.6, 125.8, 114.7, 113.1, 112.0, 92.4, 79.9, 55.4. MS (ES+) m/z (%): 328 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{15}H_{11}N_3OBr$ 328.0085; found 328.0086.

(E)-((4-(2-bromovinyl)-1,2-phenylene)bis(oxy))bis(tert-butyldimethylsilane) (196g):



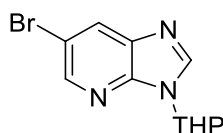
The reaction was carried out following general procedure N using ((4-(2,2-dibromovinyl)-1,2-phenylene)bis(oxy))bis(tert-butyldimethylsilane) (1.4 g, 2.6 mmol) to allow the desired product as a yellow oil (760 mg, 65 %). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 6.96 (d, $^3J_{H-H}$ = 13.9 Hz, 1H), 6.76 (s, 3H), 6.54 (d, $^3J_{H-H}$ = 13.9 Hz, 1H), 0.99 (s, 9H), 0.97 (s, 9H), 0.19 (s, 12H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 147.6, 147.2, 136.9, 129.7, 121.3, 119.8, 118.9, 104.2, 26.1, 18.5, 18.6, -4.0. MS (ES+) m/z (%): 442.1 (40) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{20}H_{35}BrO_2Si_2$ 442.1359; found 442.1362.

(E)-1-(2-bromovinyl)-3,5-dichlorobenzene (196n):



The reaction was carried out following general procedure N using 1,3-dichloro-5-(2,2-dibromovinyl)benzene (1.2 g, 3.6 mmol) to allow the desired product as a yellow oil (591 g, 65 %). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 7.28 (t, $^4J_{H-H}$ = 1.8 Hz, 1H), 7.17 (d, $^4J_{H-H}$ = 1.5 Hz, 2H), 6.99 (d, $^3J_{H-H}$ = 14.1 Hz, 1H), 6.85 (d, $^3J_{H-H}$ = 14.0 Hz, 1H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 138.8, 135.6, 134.9, 128.2, 124.6, 110.0. HRMS (APPI) calculated for $C_8H_5BrCl_2$ 249.8952; found 249.8939.

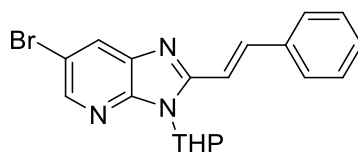
6-Bromo-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (198):



To a mixture of 6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **125** (1.1 g, 5.6 mmol) in AcOEt (15 mL) was added *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (106 mg, 0.56 mmol) and the reaction was heated to 65 °C under argon atmosphere for 30 min. Subsequently, DHP (1.5 mL, 16.7 mmol) was added and the reaction mixture was refluxed under argon atmosphere overnight. The mixture was then taken in H_2O and pH was adjusted to 7 with a 3 M NaOH aqueous solution. The aqueous layer was extracted with AcOEt and the combined organic layers were dried on anhydrous $MgSO_4$, filtered and

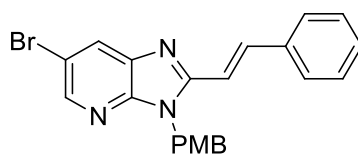
concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography using a gradient of cyclohexane to 40/60 AcOEt/cyclohexane to give **1** as a yellow oil (1.05 g, 67 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.43 (d, $^4J_{\text{H-H}}$ = 1.7 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.20 (d, $^4J_{\text{H-H}}$ = 1.7 Hz, 1H), 5.80 (dd, $^3J_{\text{H-H}}$ = 9.6 Hz, $^4J_{\text{H-H}}$ 2.5 Hz), 4.17 (dd, $^3J_{\text{H-H}}$ = 12.3 Hz, $^4J_{\text{H-H}}$ 2.5 Hz, 1H), 3.79 (td, $^3J_{\text{H-H}}$ = 11.2 Hz, $^4J_{\text{H-H}}$ 2.7 Hz, 1H), 2.20 – 1.98 (m, 3H), 1.87 – 1.57 (m, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 145.2, 144.9, 143.1, 136.7, 130.6, 114.3, 81.9, 68.9, 31.9, 25.0, 23.0. MS (ES+) m/z (%): 198.0 (100) $[\text{M-THP+H}]^+$, 282.0 (30) $[\text{M+H}]^+$, 585.0 (30) $[\text{2M+Na}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OBr}$ 282.0242; found 282.0245.

(E)-6-bromo-2-styryl-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (199a):



Reaction was performed following general procedure O on 6-bromo-3-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **198** (90 mg, 0.3 mmol) using *beta*-bromostyrene **196a** (117 mg, 0.6 mmol) to allow the desired product as a light yellow solid (45 mg, 37 %). Mp: 139-141 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.34 (d, $^4J_{\text{H-H}}$ = 1.5 Hz, 1H), 8.10 (d, $^4J_{\text{H-H}}$ = 1.6 Hz, 1H), 7.96 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 16.0 Hz, 1H), 7.62 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 6.9 Hz, 2H), 7.54 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 16.2 Hz, 1H), 7.45 – 7.35 (m, 3H), 6.05 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 9.3 Hz, 1H), 4.31 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 10.6 Hz, 1H), 3.81 (t, $^3J_{\text{H-H}}$ = 10.8 Hz, 1H), 2.32 – 2.24 (m, 1H), 2.11 – 2.08 (m, 1H), 1.94 – 1.71 (m, 4H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 153.3, 146.0, 143.9, 138.3, 136.3, 135.8, 129.5, 129.0, 128.8, 127.6, 115.5, 114.4, 82.5, 69.4, 31.8, 25.3, 23.3. MS (ES+) m/z (%): 302.0 (80) $[\text{M-THP+H}]^+$, 384.1 (100) $[\text{M+H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{OBr}$ 384.0711; found 384.0717.

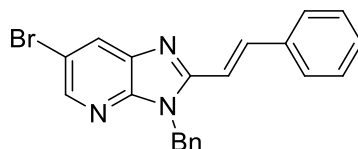
(E)-6-bromo-3-(4-methoxybenzyl)-2-styryl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (200a):



Reaction was performed following general procedure O on 6-bromo-3-(4-methoxybenzyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **165** (90 mg, 0.3 mmol) using *beta*-bromostyrene **196a** (104 mg, 0.6 mmol) to allow the desired product as a beige solid (62 mg, 52 %). Mp: 130-132 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.39 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.99 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 15.6 Hz, 1H), 7.52 (s, 2H), 7.38 (s, 3H), 7.18 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 6.9 Hz, 2H), 7.05 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 14.9 Hz, 1H), 6.84 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 7.1 Hz, 2H), 5.53 (s, 2H), 3.76 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 159.4, 153.3, 147.0, 144.4, 139.0, 136.6, 135.4, 129.7, 129.0, 128.7, 128.3, 128.1,

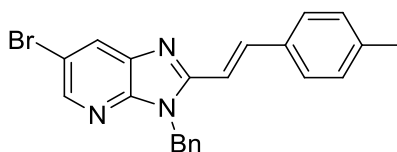
127.6, 115.6, 114.4, 112.9, 55.3, 45.1. MS (ES+) m/z (%): 420.1 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{22}H_{19}N_3OBr$ 420.0711; found 420.0721.

(E)-3-benzyl-6-bromo-2-styryl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201a):

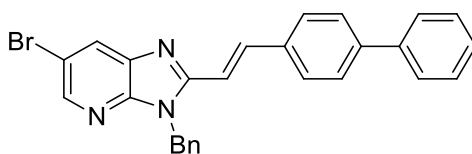


Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using *beta*-bromostyrene **196a** (127 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a beige solid (91 mg, 66 %). Mp: 154-156 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.39 (d, $^4J_{H-H}$ = 1.8 Hz, 1H), 8.14 (d, $^4J_{H-H}$ = 1.8 Hz, 1H), 7.98 (d, $^3J_{H-H}$ = 15.8 Hz, 1H), 7.50 (m, 2H), 7.38 – 7.21 (m, 8H), 7.01 (d, $^3J_{H-H}$ = 15.9 Hz, 1H), 5.59 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 153.3, 147.0, 144.5, 139.1, 136.6, 136.0, 135.4, 129.7, 129.1, 129.0, 128.7, 128.2, 127.6, 126.8, 114.5, 112.8, 45.5. MS (ES+) m/z (%): 390.1 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{21}H_{17}N_3Br$ 390.0606; found 390.0612.

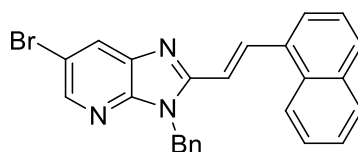
(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(4-methylstyryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201b):



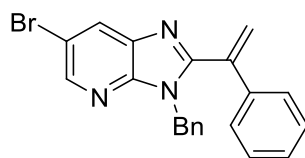
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-1-(2-bromovinyl)-4-methylbenzene **196b** (137 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a light yellow solid (65 mg, 45 %). Mp: 168-170 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.37 (d, $^4J_{H-H}$ = 1.8 Hz, 1H), 8.13 (d, $^4J_{H-H}$ = 1.5 Hz, 1H), 7.96 (d, $^3J_{H-H}$ = 15.6 Hz, 1H), 7.41 (d, $^3J_{H-H}$ = 8.1 Hz, 2H), 7.32 – 7.26 (m, 3H), 7.23 – 7.17 (m, 4H), 6.96 (d, $^3J_{H-H}$ = 15.9 Hz, 1H), 5.58 (s, 2H), 2.37 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ = 153.6, 147.1, 144.3, 140.1, 139.2, 136.6, 136.0, 132.7, 129.7, 129.0, 128.6, 128.1, 127.5, 126.8, 114.4, 111.7, 45.5, 21.5. MS (ES+) m/z (%): 404.1 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{22}H_{19}N_3Br$ 404.0762; found 404.0762.

(E)-2-(2-([1,1'-biphenyl]-4-yl)vinyl)-3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201c):

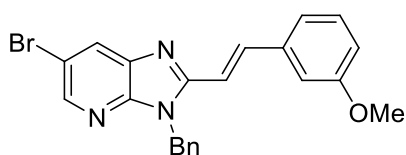
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (E)-4-(2-bromovinyl)-1,1'-biphenyl **196c** (180 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a light yellow solid (90 mg, 59 %). Mp: 253-255 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.40 (d, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, 1H), 8.16 (d, ⁴J_{H-H} = 1.9 Hz, 1H), 8.03 (d, ³J_{H-H} = 15.7 Hz, 1H), 7.64 – 7.57 (m, 6H), 7.48 – 7.43 (m, 2H), 7.40 – 7.27 (m, 5H), 7.23 (s, 1H), 7.05 (d, ³J_{H-H} = 15.7 Hz, 1H), 5.61 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 153.4, 147.1, 144.5, 142.5, 140.2, 138.6, 136.6, 136.0, 134.4, 129.1, 128.9, 128.7, 128.2, 128.1, 127.8, 127.6, 127.0, 126.8, 114.5, 112.6, 45.5. MS (ES+) *m/z* (%): 466.1 (100) [M+H]⁺, 931.2 (10) [2M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₇H₂₁N₃Br 466.0919; found 466.0927.

(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(2-(naphthalen-1-yl)vinyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201d):

Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (E)-1-(2-bromovinyl)naphthalene **196d** (162 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a yellow solid (88 mg, 56 %). Mp: 168-170 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.77 (d, ³J_{H-H} = 15.5 Hz, 1H), 8.42 (d, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, 1H), 8.23 – 8.20 (m, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.67 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.62 – 7.43 (m, 4H), 7.36 – 7.29 (m, 3H), 7.23 (s, 1H), 7.10 (d, ³J_{H-H} = 15.3 Hz, 1H), 5.63 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 152.2, 146.0, 143.5, 135.5, 135.0, 135.0, 132.6, 131.9, 130.3, 128.9, 128.0, 127.8, 127.6, 127.1, 125.7, 125.7, 125.2, 124.4, 123.3, 122.6, 114.6, 113.4, 44.5. MS (ES+) *m/z* (%): 440.1 (100) [M+H]⁺, 879.1 (10) [2M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₅H₁₉N₃Br 440.0762; found 440.0759.

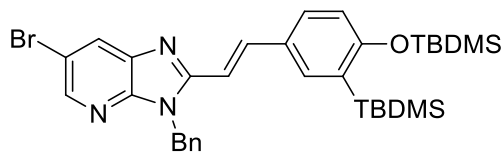
3-Benzyl-6-bromo-2-(1-phenylvinyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (201e):

Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using *alpha*-bromostyrene **196e** (127 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a brownish oil (94 mg, 69 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.46 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 8.22 (d, ⁴J_{H-H} = 2.1 Hz, 1H), 7.32 (d, ³J_{H-H} = 5.1 Hz, 3H), 7.26 (s, 2H), 7.22 – 7.15 (m, 3H), 6.97 (d, ³J_{H-H} = 3.6 Hz, 2H), 5.97 (s, 1H), 5.73 (s, 1H), 5.19 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 155.7, 147.2, 145.1, 139.2, 137.3, 136.1, 135.9, 129.9, 129.0, 128.9, 128.6, 127.8, 127.2, 126.9, 122.6, 114.2, 46.6. MS (ES+) *m/z* (%): 390.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₇N₃Br 390.0606; found 390.0602.

(*E*)-3-benzyl-6-bromo-2-(3-methoxystyryl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (201f):

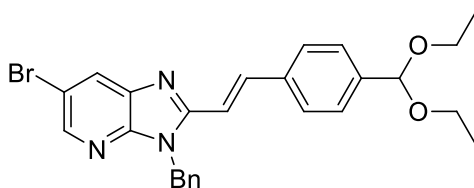
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-1-(2-bromovinyl)-3-methoxybenzene **196f** (148 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a yellow solid (87 mg, 62 %). Mp: 141-143 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.39 (d, ⁴J_{H-H} = 1.6 Hz, 1H), 8.14 (d, ⁴J_{H-H} = 1.8 Hz, 1H), 7.94 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 7.30 (t, ³J_{H-H} = 7.8 Hz, 4H), 7.21 (d, ³J_{H-H} = 7.8 Hz, 2H), 7.11 (d, ³J_{H-H} = 7.6 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.94 (d, ³J_{H-H} = 15.6 Hz, 1H), 6.90 (dd, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.8 Hz, 1H), 5.59 (s, 2H), 3.83 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 159.9, 153.2, 147.0, 144.5, 139.0, 136.8, 136.6, 136.0, 130.0, 129.1, 128.8, 128.2, 126.8, 120.1, 115.2, 114.5, 113.2, 112.9, 55.3, 45.5. MS (ES+) *m/z* (%): 420.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₂H₁₉N₃OBr 420.0711; found 420.0718.

(E)-3-benzyl-2-(3,4-bis((tert-butyl)dimethylsilyloxy)styryl)-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201g):

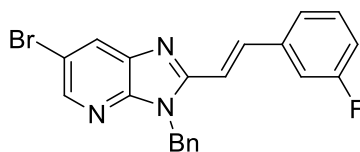


Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-((4-(2-bromovinyl)-1,2-phenylene)bis(oxy))bis(tert-butyl)dimethylsilane **196g** (308 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a light yellow solid (120 mg, 49 %). Mp: 144-146 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.37 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.85 (d, ³J_{H-H} = 15.9 Hz, 1H), 7.31 – 7.15 (m, 5H), 7.03 – 6.93 (m, 2H), 6.81 (d, ³J_{H-H} = 6.6 Hz, 1H), 6.76 (d, ³J_{H-H} = 15.6 Hz, 1H), 5.57 (s, 2H), 0.99 (s, 9H), 0.98 (s, 9H), 0.21 (d, *J* = 2.9 Hz, 12H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 153.8, 148.9, 147.2, 147.1, 144.1, 138.9, 136.6, 136.1, 129.1, 129.0, 128.4, 128.1, 126.8, 121.3, 121.3, 120.1, 114.3, 110.5, 108.2, 45.5, 25.9, 25.9, 18.5, -4.1. MS (ES+) *m/z* (%): 650.2 (100) [M+H]⁺, 1299.4 (10) [2M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₃H₄₅N₃O₂BrSi₂ 650.2234; found 650.2226.

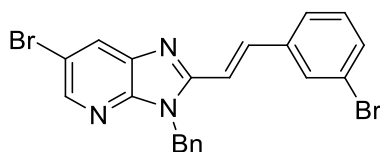
(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(4-(diethoxymethyl)styryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201h):



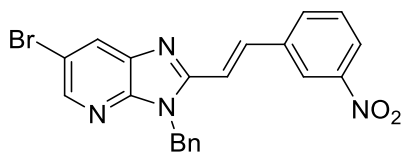
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-1-(2-bromovinyl)-4-(diethoxymethyl)benzene **196h** (198 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a yellow solid (110 mg, 60 %). Mp: 115-117 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.39 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 8.14 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 7.98 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 7.50 (s, 4H), 7.36 – 7.27 (m, 3H), 7.24 – 7.18 (m, 2H), 7.01 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 5.59 (s, 2H), 5.50 (s, 1H), 3.81 – 3.28 (m, 4H), 1.24 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 153.3, 147.0, 144.5, 140.7, 138.7, 136.6, 136.0, 135.4, 129.1, 128.8, 128.2, 127.4, 127.3, 126.8, 114.5, 113.0, 101.1, 61.1, 45.5, 26.9, 15.2. MS (ES+) *m/z* (%): 418.1 (30) [deprotected aldehyde+H]⁺, 492.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₆H₂₇N₃O₂Br 492.1287; found 492.1266.

(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(3-fluorostyryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201i):

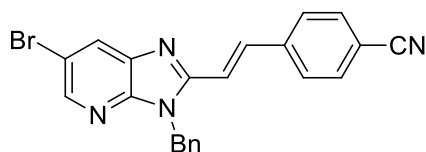
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-1-(2-bromovinyl)-3-fluorobenzene **196i** (140 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a beige solid (85 mg, 58 %). Mp: 141-143 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.40 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.93 (d, ³J_{H-H} = 15.6 Hz, 1H), 7.38 – 7.26 (m, 5H), 7.23 – 7.14 (m, 3H), 7.09 – 7.03 (m, 1H), 6.99 (d, ³J_{H-H} = 15.7 Hz, 1H), 5.60 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 161.4 (d, *J* = 245 Hz), 152.8, 147.0, 144.8, 137.7, 137.6 (d, *J* = 4.4 Hz), 136.5, 135.9, 130.4 (d, *J* = 8.3 Hz), 129.1, 128.9, 128.2, 126.8, 123.7 (d, *J* = 2.6 Hz), 116.4 (d, *J* = 21.4 Hz), 114.6, 114.1, 113.5 (d, *J* = 21.9 Hz), 45.56. MS (ES+) *m/z* (%): 408.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₆N₃BrF 408.0512; found 408.0499.

(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(3-bromostyryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201j):

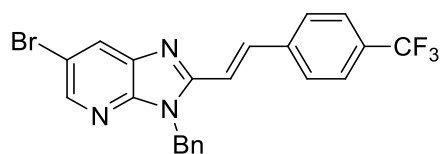
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-1-bromo-3-(2-bromovinyl)benzene **196j** (182 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a beige solid (104 mg, 64 %). Mp: 177-179 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.40 (d, ⁴J_{H-H} = 1.9 Hz, 1H), 8.15 (d, ⁴J_{H-H} = 1.9 Hz, 1H), 7.89 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.47 (d, ³J_{H-H} = 7.6 Hz, 1H), 7.41 (d, ³J_{H-H} = 7.6 Hz, 1H), 7.35 – 7.26 (m, 3H), 7.25 – 7.15 (m, 3H), 6.99 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 5.60 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 152.7, 147.0, 144.8, 137.5, 137.3, 136.5, 135.9, 132.4, 130.5, 130.0, 129.2, 129.0, 128.2, 126.8, 126.4, 123.1, 114.6, 114.2, 45.6. MS (ES+) *m/z* (%): 468.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₆N₃Br₂ 467.9711; found 467.9712.

(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(3-nitrostyryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201k):

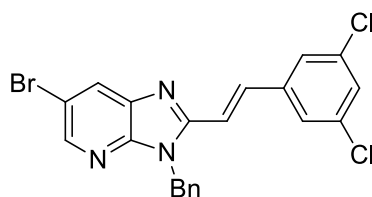
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-1-(2-bromovinyl)-3-nitrobenzene **196k** (158 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a brown solid (40 mg, 26 %). Mp: 210-212 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.43 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.17 (s, 2H), 8.00 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.56 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.38 – 7.28 (m, 2H), 7.28 – 7.19 (m, 3H), 7.12 (d, ³J_{H-H} = 16.4 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 152.2, 148.8, 147.0, 145.2, 137.2, 136.4, 136.0, 135.8, 133.5, 130.0, 129.2, 129.2, 128.4, 126.8, 123.9, 121.4, 115.9, 114.8, 45.7. MS (ES+) *m/z* (%): 435.0 (100) [M+H]⁺, 476.1 (10) [M+CH₃CN+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₆N₄O₂Br 435.0457; found 435.0462.

(E)-4-(2-(3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-yl)vinyl)benzonitrile (201l):

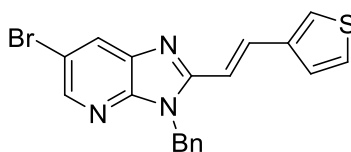
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (90 mg, 0.3 mmol) using (*E*)-4-(2-bromovinyl)benzonitrile **196l** (130 mg, 0.6 mmol) to allow the desired product as a light yellow solid (60 mg, 47 %). Mp: 186-188 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.44 (d, ⁴J_{H-H} = 1.9 Hz, 1H), 8.18 (d, ⁴J_{H-H} = 1.9 Hz, 1H), 7.97 (d, ³J_{H-H} = 15.6 Hz, 1H), 7.67 (d, ³J_{H-H} = 8.6 Hz, 2H), 7.57 (d, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, 2H), 7.33 (m, 2H), 7.22 (m, 3H), 7.08 (d, ³J_{H-H} = 15.7 Hz, 1H), 5.62 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 152.2, 147.0, 145.3, 139.7, 136.6, 136.5, 135.9, 132.7, 129.2, 129.2, 128.3, 127.8, 126.7, 118.5, 116.3, 114.8, 112.6, 45.6. MS (ES+) *m/z* (%): 415.1 (50) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₂H₁₆N₄Br 415.0558; found 415.0552.

(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(4-(trifluoromethyl)styryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201m):

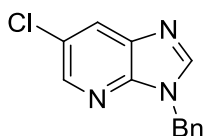
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-1-(2-bromovinyl)-4-(trifluoromethyl)benzene **196m** (174 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a beige solid (90 mg, 60 %). Mp: 186-188 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.42 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 8.16 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 7.98 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 7.63 (d, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, 2H), 7.58 (d, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, 2H), 7.40 – 7.28 (m, 3H), 7.24 – 7.17 (m, 2H), 7.07 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 5.62 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 152.5, 147.0, 145.0, 138.7, 137.1, 136.5, 135.9, 129.2, 129.1, 128.3, 127.6, 126.8, 126.0, 122.1, 118.5, 115.3, 114.7, 45.6. MS (ES+) *m/z* (%): 458.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₂H₁₆N₃BrF₃ 458.0480; found 458.0481.

(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(3,5-dichlorostyryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201n):

Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (*E*)-1-(2-bromovinyl)-3,5-dichlorobenzene **196n** (175 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a beige solid (74 mg, 45 %). Mp: 191-193 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.42 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 8.16 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 7.83 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 7.37 – 7.28 (m, 6H), 7.20 (d, ³J_{H-H} = 6.3 Hz, 2H), 6.98 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 5.61 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 152.2, 147.0, 146.9, 145.1, 138.4, 136.4, 135.9, 135.8, 135.6, 129.2, 129.1, 128.3, 126.8, 125.7, 115.6, 114.8, 45.6. MS (ES+) *m/z* (%): 458.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₅N₃Cl₂Br 457.9826; found 457.9819.

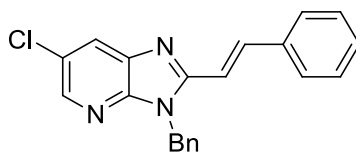
(E)-3-benzyl-6-bromo-2-(2-(thiophen-3-yl)vinyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (201o):

Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (100 mg, 0.4 mmol) using (E)-3-(2-bromovinyl)thiophene **196o** (131 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a brown solid (75 mg, 59 %). Mp: 154-156 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.37 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.97 (d, ³J_{H-H} = 15.4 Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.35 – 7.26 (m, 5H), 7.21 (m, 2H), 6.81 (d, ³J_{H-H} = 15.6 Hz, 1H), 5.57 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 153.5, 147.1, 144.3, 138.5, 136.6, 136.0, 132.9, 129.1, 128.6, 128.1, 127.0, 127.0, 126.8, 124.7, 114.4, 112.5, 45.5. MS (ES+) *m/z* (%): 396.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₉H₁₅N₃SBr 396.0170; found 396.0166.

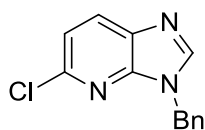
3-Benzyl-6-chloro-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (202) (two steps):

The first step was carried out following procedure D on commercially available 2,3-diamino-5-chloropyridine (6 g, 41.8 mmol) in trimethyl orthoformate (137 mL) to give the corresponding 6-chloro-3H-imidazo-[4,5-b]pyridine (**d**) as a grey solid (5.9 g, 92 %). Mp: 233–235 °C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 8.50 (s, 1 H), 8.34 (d, ⁴J_{H,H} = 2.2 Hz, 1 H), 8.15 (d, ⁴J_{H,H} = 2.2 Hz, 1 H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆): δ = 149.8, 145.7, 142.1, 131.2, 124.4, 123.4 ppm. MS (ES+): *m/z* (%): 154.0 (100) [M + H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₆H₅N₃Cl 154.0172, found 154.0175.

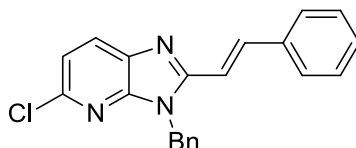
Protection following procedure E on 6-chloro-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (**d**) (4 g, 26.1 mmol) in DMF (64 mL) allowed the corresponding product as a beige solid (2.35 g, 37 %). Mp: 104-106 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.38 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 8.06 (d, ⁴J_{H-H} = 2.1 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.35 – 7.28 (m, 5H), 5.44 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 145.5, 145.3, 143.4, 135.8, 135.5, 129.1, 128.5, 127.8, 127.5, 126.3, 47.3. MS (ES+) *m/z* (%): 244.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₃H₁₁N₃Cl 244.0642; found 244.0646.

(E)-3-benzyl-6-chloro-2-styryl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (202a):

Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-chloro-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **202** (100 mg, 0.4 mmol) using styryl bromide **196a** (150 mg, 0.8 mmol) to allow the desired product as a beige solid (110 mg, 77 %). Mp: 166-168 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.31 (d, $^4J_{\text{H-H}}$ = 2.1 Hz, 1H), 8.00 (d, $^4J_{\text{H-H}}$ = 1.9 Hz, 1H), 8.00 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 15.9 Hz, 1H), 7.51 (m, 2H), 7.41 – 7.27 (m, 6H), 7.25 – 7.19 (m, 2H), 7.02 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 15.8 Hz, 1H), 5.60 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 153.5, 146.8, 142.5, 139.1, 136.1, 135.9, 135.4, 129.7, 129.1, 129.0, 128.2, 127.6, 126.8, 126.7, 125.9, 112.8, 45.5. MS (ES+) m/z (%): 346.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{Cl}$ 346.1111; found 346.1112.

3-Benzyl-5-chloro-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (203):

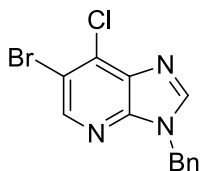
The protection was then carried out following general procedure E using 6-chloro-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (**b**) (6 g, 39.1 mmol) in DMF (112 mL). Chromatography using cyclohexane to 40/60 AcOEt/cyclohexane gave a light pink solid (3.2 g, 34 %). Mp: 101-103 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.36 – 7.3 (m, 5H), 7.27 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.5, 146.1, 144.2, 135.4, 134.2, 130.5, 129.2, 128.6, 128.1, 118.9, 47.3. MS (ES+) m/z (%): 244.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{Cl}$ 244.0642; found 244.0638.

(E)-3-benzyl-5-chloro-2-styryl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (203a):

Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-5-chloro-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **203** (100 mg, 0.4 mmol) using styryl bromide **196a** (150 mg, 0.8 mmol) to allow the desired product as a beige solid (114 mg, 79 %). Mp: 149-151 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 7.97 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 8.4 Hz, 1H), 7.96 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 15.3 Hz, 1H), 7.52 - 7.46 (m, 2H), 7.39 – 7.27 (m, 6H), 7.25 – 7.15 (m, 3H), 6.99 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 15.9 Hz, 1H), 5.60 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 152.6, 147.7, 145.2,

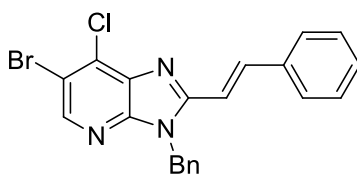
138.6, 136.0, 135.5, 134.3, 129.6, 129.1, 128.9, 128.7, 128.1, 127.5, 126.9, 119.3, 112.9, 45.5. MS (ES+) m/z (%): 346.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₇N₃Cl 346.1111; found 346.1104.

3-Benzyl-6-bromo-7-chloro-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (**204**):



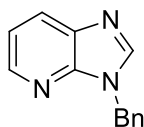
The reaction was performed following procedure E on **118** (600 mg, 2.6 mmol) in DMF (9 mL) to give the corresponding product as a yellow oil (200 mg, 23 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.52 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.31 (s, 5H), 5.43 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 146.6, 146.2, 145.0, 135.1, 135.0, 134.4, 129.2, 128.6, 127.8, 115.0, 47.7. MS (ES+) m/z (%): 322.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₁₃H₁₀N₃ClBr 321.9747; found 321.9738.

(*E*)-3-benzyl-6-bromo-7-chloro-2-styryl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (**204a**):



Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-bromo-7-chloro-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **204** (100 mg, 0.3 mmol) using *beta*-bromostyrene **196a** (114 mg, 0.6 mmol) to allow the desired product as a yellow solid (80 mg, 63 %). Mp: 191-193 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.44 (s, 1H), 8.10 (d, ³J_{H-H} = 15.4 Hz, 1H), 7.51 (s, 2H), 7.36-7.22 (m, 8H), 7.00 (d, ³J_{H-H} = 14.7 Hz, 1H), 5.59 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 153.6, 147.5, 145.4, 140.0, 135.7, 135.3, 134.6, 133.1, 129.8, 129.1, 128.9, 128.2, 127.6, 126.8, 115.1, 112.3, 45.9. MS (ES+) m/z (%): 424.0 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₁₆N₃ClBr 424.0216; found 424.0204.

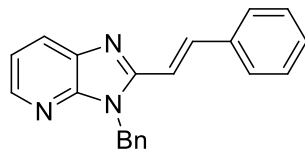
3-Benzyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (**205**):



The reaction was performed following procedure E on 3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (**c**) (500 mg, 4.2 mmol) in DMF (9 mL) to give the corresponding product as a light brown solid (200 mg, 23 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.43 (dd, ³J_{H-H} = 4.7, ⁴J_{H-H} = 1.3 Hz, 1H), 8.09 (dd, ³J_{H-H} = 8.0 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.3

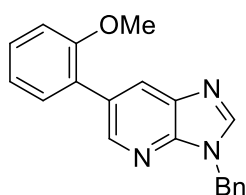
Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.36 – 7.27 (m, 5H), 7.24 (d, $^3J_{H-H} = 4.8$ Hz, 1H), 5.48 (s, 2H). Compound showed satisfactory spectroscopic data in agreement with those reported in the literature.^{85a}

(E)-3-benzyl-2-styryl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (205a):

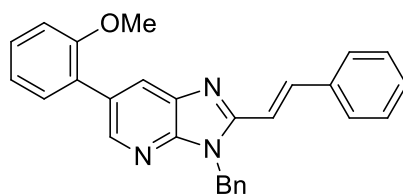


Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **205** (100 mg, 0.5 mmol) using *beta*-bromostyrene **196a** (175 mg, 1 mmol) to allow the desired product as a light brown solid (58 mg, 42 %). Mp: 115-117 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 8.36$ (d, $^3J_{H-H} = 3.0$ Hz, 1H), 8.04 (d, $^3J_{H-H} = 8.4$ Hz, 1H), 7.96 (d, $^3J_{H-H} = 15.9$ Hz, 1H), 7.50 (m, 2H), 7.41 – 7.21 (m, 9H), 7.04 (d, $^3J_{H-H} = 15.6$ Hz, 1H), 5.65 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 152.1, 148.4, 143.9, 138.2, 136.4, 135.6, 135.5, 129.5, 129.0, 128.9, 128.0, 127.5, 126.8, 126.5, 119.0, 113.2, 45.3$. MS (ES+) m/z (%): 312.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_3$ 312.1501; found 312.1506.

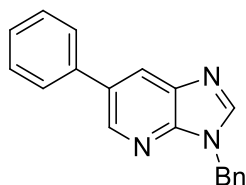
3-Benzyl-6-(2-methoxyphenyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (206):



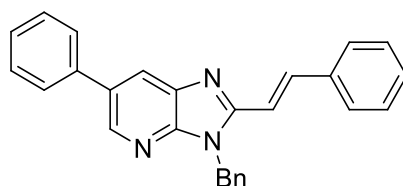
Reaction was performed following general procedure G on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (150 mg, 0.52 mmol) using 2-methoxyphenylboronic acid (119 mg, 0.8 mmol) to allow the desired product as a yellow oil (120 mg, 73 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 8.59$ (d, $^4J_{H-H} = 1.8$ Hz, 1H), 8.26 (d, $^4J_{H-H} = 1.8$ Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.41 – 7.33 (m, 7H), 7.09 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 5.51 (s, 2H), 3.84 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 156.6, 146.0, 145.8, 144.1, 135.9, 135.0, 131.2, 129.4, 129.1, 129.0, 128.9, 128.3, 127.8, 127.8, 121.1, 111.2, 55.5, 47.1$. MS (ES+) m/z (%): 316.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}$ 316.1450; found 316.1451.

(E)-3-benzyl-6-(2-methoxyphenyl)-2-styryl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (206a):

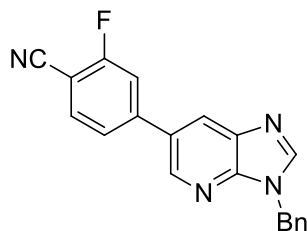
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-(2-methoxyphenyl)-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **206** (100 mg, 0.3 mmol) using *beta*-bromostyrene **196a** (116 mg, 0.6 mmol) to allow the desired product as a yellow oil (12 mg, 9 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.53 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.01 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 16.0 Hz, 1H), 7.52 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 6.5 Hz, 2H), 7.44 – 7.24 (m, 10H), 7.13 – 7.00 (m, 3H), 5.67 (s, 2H), 3.85 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 153.5, 147.1, 144.3, 138.5, 136.6, 136.0, 133.3, 132.9, 129.1, 128.6, 128.1, 127.0, 126.9, 126.8, 124.7, 114.4, 112.5, 45.5, 26.9. MS (ES+) m/z (%): 418.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 835.4 (10) $[2\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}$ 418.1919; found 418.1909.

3-Benzyl-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (207):

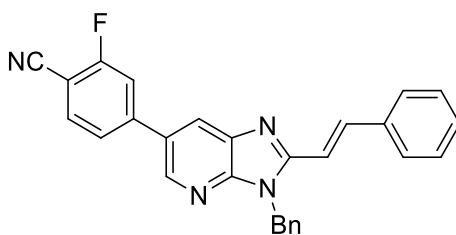
Reaction was performed following general procedure G on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **164** (300 mg, 1.04 mmol) using phenylboronic acid (190 mg, 1.6 mmol) to allow the desired product as a beige solid (242 mg, 81 %). Mp: 134-136 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.67 (d, $^4J_{\text{H-H}}$ = 1.8 Hz, 1H), 8.26 (d, $^4J_{\text{H-H}}$ = 1.9 Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.63 (d, $^3J_{\text{H-H}}$ = 7.4 Hz, 2H), 7.50 (t, $^3J_{\text{H-H}}$ = 7.4 Hz, 2H), 7.41 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.34 (s, 5H), 5.51 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 146.6, 144.6, 144.0, 138.8, 135.8, 135.5, 132.6, 129.1, 128.4, 127.8, 127.6, 127.5, 126.4, 47.2. MS (ES+) m/z (%): 286.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_3$ 286.1344; found 286.1331.

(E)-3-benzyl-6-phenyl-2-styryl-3H-imidazo[4,5-b]pyridine (207a):

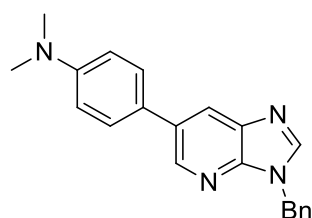
Reaction was performed following general procedure O on 3-benzyl-6-phenyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **207** (100 mg, 0.4 mmol) using *beta*-bromostyrene **196a** (104 mg, 0.6 mmol) to allow the desired product as a beige solid (42 mg, 35 %). Mp: 120-122 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.60 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.02 (d, ³J_{H-H} = 16.3 Hz, 1H), 7.65 (d, ³J_{H-H} = 5.7 Hz, 2H), 7.56 – 7.46 (m, 4H), 7.44 – 7.26 (m, 9H), 7.06 (d, ³J_{H-H} = 15.8 Hz, 1H), 5.67 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 152.8, 147.9, 143.3, 139.0, 138.4, 136.4, 135.5, 135.6, 133.1, 129.5, 129.0, 129.1, 128.9, 128.1, 127.6, 127.5, 126.8, 124.8, 113.2, 45.5. MS (ES⁺) *m/z* (%): 388.2 (100) [M+H]⁺, 775.4 (10) [2M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₇H₂₂N₃ 388.1814; found 388.1796.

4-(3-Benzyl-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridin-6-yl)-2-fluorobenzonitrile (208):

Reaction was performed following general procedure G on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-*b*]pyridine **164** (300 mg, 1.04 mmol) using 4-cyano-3-fluorophenylboronic acid (258 mg, 1.6 mmol) to allow the desired product as a beige solid (290 mg, 85 %). Mp: 201-203 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.65 (d, ⁴J_{H-H} = 1.9 Hz, 1H), 8.25 (d, ⁴J_{H-H} = 2.0 Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.74 (dd, *J* = 8.1 Hz, 6.7 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* = 8.1, 1.8 Hz, 1H), 7.48 (dd, *J* = 10.2 Hz, 1.5 Hz, 1H), 7.35 (m, 5H), 5.52 (s, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 165.2, 161.8, 147.7, 146.3 (d, *J*_{F-C} = 8.2 Hz), 145.5, 143.6, 135.5, 134.1, 129.4, 129.1, 128.5, 127.8, 126.5, 123.7 (d, *J*_{F-C} = 3.2 Hz), 115.2 (d, *J*_{F-C} = 20.5 Hz), 113.9, 100.1 (d, *J*_{F-C} = 15.8 Hz), 47.4. MS (ES⁺) *m/z* (%): 329.1 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₂₀H₁₄N₄F 329.1202; found 329.1198.

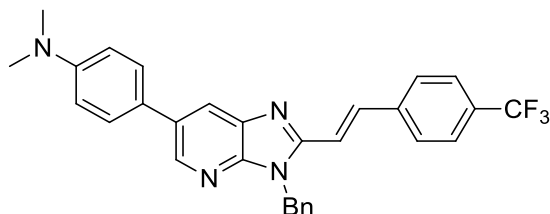
(E)-4-(3-benzyl-2-styryl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-2-fluorobenzonitrile (208a):

Reaction was performed following general procedure O on 4-(3-benzyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-2-fluorobenzonitrile **208** (120 mg, 0.4 mmol) using styryl bromide **196a** (134 mg, 0.7 mmol) to allow the desired product as a light yellow solid (106 mg, 68 %). Mp: 197-199 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.57 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 2.0$ Hz, 1H), 8.18 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 1.9$ Hz, 1H), 8.04 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 15.8$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 7.7, 6.8$ Hz, 1H), 7.57 – 7.47 (m, 4H), 7.44 – 7.25 (m, 8H), 7.06 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 15.8$ Hz, 1H), 5.67 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 165.2, 161.8, 153.8, 149.0, 146.5, 142.8, 139.3, 136.0, 135.6, 135.4, 134.1, 129.9, 129.8, 129.1, 129.0, 128.2, 127.6, 126.8, 124.7, 123.7, 114.0, 112.7, 45.6. MS (ES+) m/z (%): 431.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{F}$ 431.1672; found 431.1664.

4-(3-Benzyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-N,N-dimethylaniline (212):

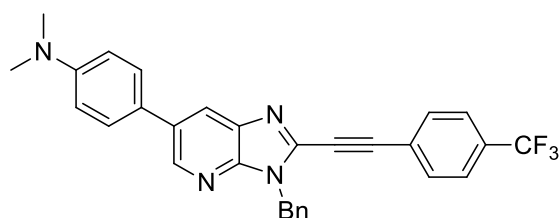
Reaction was performed following general procedure G with doubled equivalents of catalyst and base, on 3-benzyl-6-bromo-3H-imidazo[4,5-b]pyridine **164** (300 mg, 1.04 mmol) using 4-dimethylaminophenylboronic acid (515 mg, 3.1 mmol) to allow the desired product as a grey solid (100 mg, 34 %). Mp: 199-201 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 8.64 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 1.5$ Hz, 1H), 8.19 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 1.5$ Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.53 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.7$ Hz, 2H), 7.33 (s, 5H), 6.85 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 2H), 5.50 (s, 2H), 3.01 (s, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = 149.0, 144.9, 143.3, 142.5, 134.9, 134.6, 131.7, 128.0, 127.2, 127.1, 126.7, 125.6, 124.3, 111.9, 46.1, 39.5. MS (ES+) m/z (%): 239.1 (40) $[\text{M}-\text{Bn}+\text{H}]^+$, 329.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_4$ 329.1766; found 329.1770.

(E)-4-(3-benzyl-2-(4-(trifluoromethyl)styryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-N,N-dimethylaniline (213):



Reaction was performed on 4-(3-benzyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-N,N-dimethylaniline **210** (85 mg, 0.3 mmol) following general procedure O using (*E*)-1-(2-bromovinyl)-4-(trifluoromethyl)benzene **196m** (130 mg, 0.5 mmol) to allow the desired product as a bright orange solid (28 mg, 22 %). Compound **213** was additionally purified by recrystallization in EtOH/Dioxane prior to photophysical analysis. Mp: 184-186 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.61 (d, ⁴J_{H-H} = 1.7 Hz, 1H), 8.18 (d, ⁴J_{H-H} = 1.6 Hz, 1H), 7.99 (d, ³J_{H-H} = 16.0 Hz, 1H), 7.61 – 7.54 (m, 7H), 7.34 – 7.24 (m, 4H), 7.10 (d, ³J_{H-H} = 15.9 Hz, 1H), 6.86 (d, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, 2H), 5.66 (s, 2H), 3.01 (s, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 151.5, 150.1, 147.1, 143.5, 139.1, 136.4, 136.0, 135.6, 133.5, 131.0, 130.6, 129.1, 128.1, 127.5, 126.7, 126.6, 125.8, 124.0, 122.12, 115.8, 113.0, 45.5, 40.6. MS (ES+) *m/z* (%): 499.2 (100) [M+H]⁺. HRMS (ESI) calculated for C₃₀H₂₆N₄F₃ 499.2110; found 499.2100.

(E)-4-(3-benzyl-2-((4-(trifluoromethyl)phenyl)ethynyl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-N,N-dimethylaniline (214):



Reaction was performed on 4-(3-benzyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-6-yl)-N,N-dimethylaniline **210** (100 mg, 0.3 mmol) following general procedure L using 1-(2,2-dibromoethenyl)-4-(trifluoromethyl)benzene **167I** (200 mg, 2 eq.) to allow the desired product as a yellow solid (43 mg, 28 %). Compound **214** was additionally purified by recrystallization in EtOH/Dioxane prior to photophysical analysis. Mp: 215-217 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 8.69 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.67 (s, 3H), 7.53 (d, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, 2H), 7.43-7.40 (m, 2H), 7.36-7.29 (m, 4H), 6.85 (d, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, 2H), 5.66 (s, 2H), 3.02 (s, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 150.2, 145.2, 136.2, 135.5, 134.3, 134.2, 133.7, 132.4, 131.7, 131.3, 130.0, 128.8, 128.6, 128.1, 127.8, 126.2, 125.5, 125.6, 125.0, 124.7, 121.8, 112.9,

Partie expérimentale

94.3, 47.0, 40.5. MS (ES+) m/z (%): 497.2 (100) $[M+H]^+$. HRMS (ESI) calculated for $C_{30}H_{24}N_4F_3$ 497.1953; found 497.1947.

Modélisation moléculaire

Le modèle tridimensionnel de Tyro3 a été construit en se basant sur les coordonnées cristallographiques des protéines Met (code PDB : 3F82, résolution 2.50 Å) et cKit (code PDB : 1T46, résolution 1.60 Å) humaines sans molécule d'eau. La modélisation de Tyro3 par homologie a été réalisée par le logiciel MODELLER à l'aide d'un protocole automatisé d'optimisation et de minimisation. La qualité topologique du modèle a ensuite été évaluée selon différentes approches : diagramme de Ramachandran, analyses sur les serveurs QMEAN¹⁷⁰ et MolProbity.¹⁷¹

Les expériences d'amarrage moléculaire ont été réalisées avec le logiciel FRED en utilisant la fonction de score Chemgauss4.⁶⁵ Pour chaque candidat, une banque de conformères a été générée avec OMEGA puis soumise à FRED. OMEGA permet la génération de conformères (au maximum 5000 conformères par composé) de faibles énergies par rotation autour de liaisons simples, les longueurs et angles des liaisons restant fixes.⁶⁴ Seule la pose d'amarrage de meilleur score pour chaque candidat a ensuite été retenue et analysée de manière à repérer les interactions impliquées.

¹⁷⁰ P. Benkert, M. Künzli, T. Schwede, *Nucleic Acids Res.* **2009**, 37 (Web Server issue), W510-W514.

¹⁷¹ I. W. Davis, A. Leaver-Fay, V. B. Chen, J. N. Block, G. J. Kapral, X. Wang, L. W. Murray, W. B. Arendall, J. Snoeyink, J. S. Richardson, D. C. Richardson, *Nucleic Acids Res.* **2007**, 35 (Web Server Issue), W375-W383.

Evaluation biologique

I. Test ELISA

1) Détermination de la concentration optimale en enzyme

Pour chaque nouveau lot de protéine TAM, un test préliminaire doit être effectué de manière à déterminer la concentration de kinase à utiliser pour l'évaluation des petites molécules. Il s'agit d'évaluer la quantité de peptide phosphorylé en fonction de la quantité de protéine introduite, après 1,5 h d'incubation. Ce test préliminaire est réalisé dans les conditions décrites ci-dessous, sans petite molécule et sur des concentrations en protéine de 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50 et 100 ng/mL. Un exemple des résultats obtenus est donné en Figure 83.

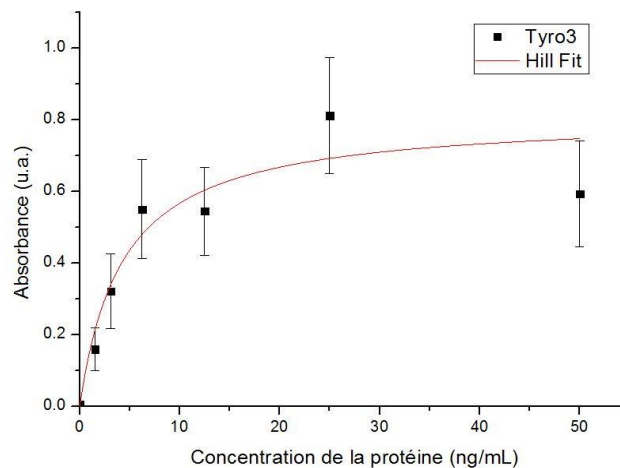


Figure 83. Absorbances mesurées pour une gamme de concentration en protéine Tyro3 de 1.56 à 100 ng/mL, dans les conditions du test ELISA, sans petite molécule.

La concentration utilisée pour l'évaluation des petites molécules doit correspondre à la portion exponentielle de la courbe. En effet, si l'on se place à une concentration trop élevée en protéine, aucune variation de l'absorbance ne sera observée même si la molécule testée est un bon inhibiteur. Au contraire, si l'on se place à une concentration trop faible en protéine, il sera difficile de différencier un très bon inhibiteur d'un faible inhibiteur. Dans l'exemple de la Figure 83, la concentration choisie pour l'enzyme Tyro3 est de 10 ng/mL.

2) Protocole du test

TAM family kinases (Thermo Fisher) activity assays were performed in the presence of potential inhibitors in 96-well plates pre-coated with 1 µg/well poly(Glu, Ala, Tyr) peptide (Sigma Aldrich) as substrate. The small molecules at various concentrations (2X) in 2 % DMSO (50 µL) and recombinant human TAM protein kinase domain in 2X buffer (50 µL – Tyro3 15 ng/mL or Axl 60 ng/mL or Mer 60 ng/mL, 100 mM Tris pH 7.4, 10 mM MgCl₂, 10 mM MnCl₂, 2 mM DTT, 0.4 % BSA, 10 µM ATP) were then added and incubated for 1.5 h at 37 °C. Background signal was evaluated in absence of ATP in buffer. Experiments at each concentration were performed in duplicates or triplicates. Pan-kinome inhibitors Vandetanib and BMS-777607 were used as positive controls. After incubation, the plate was washed three times with TBS containing 0.05 % Tween-20 (TBS-T). The wells were then saturated with 300 µL TBS-T containing 3 % BSA were added in each well and plate was incubated for 1 h at 37 °C. Plate was washed three times with TBS-T and 100 µL of anti-phosphotyrosine antibody (PY99, 1:1000 dilution in TBS-T-1 % BSA) were added. After overnight incubation at 4 °C, the place was washed three times with TBS-T and 100 µL of horse anti-mouse HRP-linked antibody (1:2000 dilution in TBS-T-1 % BSA) were added. The plate was incubated for 1 h at room temperature and washed three times with TBS-T. Finally, 100 µL of TMB substrate (Thermo Fisher) were added and the plate was incubated at room temperature until blue color emerged. The reaction was stopped adding 100 µL of 2 N H₂SO₄ and the absorbance was read at 450 nm using a plate reader. Screening “hits” are identified by measuring the amount of phosphorylation in test wells versus control wells.

II. Dosage de l'ADP

1) Détermination de la durée d'incubation optimale

Pour chaque protéine TAM, un test préliminaire doit être effectué de manière à déterminer la durée d'incubation à utiliser pour l'évaluation des petites molécules. Il s'agit d'évaluer la quantité d'ADP produite en fonction du temps, à concentration constante en protéine. Ce test préliminaire est réalisé dans les conditions décrites ci-dessous, sans petite molécule et avec une concentration en protéine de 150 ng/mL. Dans l'exemple de la Figure 48, la durée d'incubation choisie pour les protéines Axl et Mer est de 10 min.

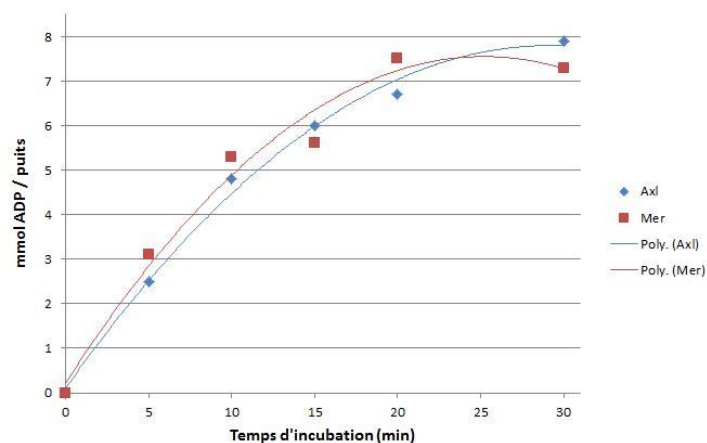


Figure 48. Suivi de la production d'ADP en fonction du temps pour les protéines Axl (bleu) et Mer (rouge), dans les conditions du dosage ADP, sans petite molécule.

2) Protocole du test

In a 96-well plate, a set of standard wells containing 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0 nmol of ADP was first prepared by diluting a commercial concentrated solution of ADP in water (supplied in Abcam kit). In test wells, 10 μL of a 150 ng/mL solution of TAM protein (ThermoFisher) in reaction buffer (supplied in Abcam kit) was dispensed. A control well containing only DMSO at the same concentration was prepared alongside. Potential inhibitors were then added to the enzyme at various concentrations (5X) as 10 μL of a 5 % DMSO/water solution and incubated 5 min. Each well was then completed to 50 μL with 30 μL of buffer containing ATP (5.2 μM) and the poly (Glu-Ala-Tyr) peptide (7 $\mu\text{g}/\text{mL}$) as substrate and incubated for 5 min (Tyro3) or 10 min (Axl and Mer). "Reaction Mix" was subsequently prepared (supplied in Abcam kit) and 50 μL and was added to each well, including standard wells. After 30 min of incubation, fluorescence was read at 590 nm upon excitation at 540 nm and compared to that of standard wells to recover the ADP concentration in the corresponding well. Control well therefore gives the maximum concentration of ADP that can be produced by the protein, in the same conditions with no inhibitor. The IC_{50} values were determined by plotting ADP concentration as a function of small molecule concentration.

III. Profil de sélectivité

Cette étude a été réalisée par la société KinomeScan™, selon le protocole suivant.

For most assays, kinase-tagged T7 phage strains were grown in parallel in 24-well blocks in an *E. coli* host derived from the BL21 strain. *E. coli* were grown to log-phase and infected with T7 phage from a frozen stock (multiplicity of infection = 0.4) and incubated with shaking at 32°C until lysis (90-150 minutes). The lysates were centrifuged (6,000 x g) and filtered (0.2µm) to remove cell debris. The remaining kinases were produced in HEK-293 cells and subsequently tagged with DNA for qPCR detection. Streptavidin-coated magnetic beads were treated with biotinylated small molecule ligands for 30 minutes at room temperature to generate affinity resins for kinase assays. The liganded beads were blocked with excess biotin and washed with blocking buffer (SeaBlock (Pierce), 1 % BSA, 0.05 % Tween 20, 1 mM DTT) to remove unbound ligand and to reduce non-specific phage binding. Binding reactions were assembled by combining kinases, liganded affinity beads, and test compounds in 1X binding buffer (20 % SeaBlock, 0.17X PBS, 0.05 % Tween 20, 6 mM DTT). Test compounds were prepared as 40X stocks in 100% DMSO and directly diluted into the assay. All reactions were performed in polypropylene 384-well plates in a final volume of 0.02 ml. The assay plates were incubated at room temperature with shaking for 1 hour and the affinity beads were washed with wash buffer (1X PBS, 0.05 % Tween 20). The beads were then re-suspended in elution buffer (1X PBS, 0.05 % Tween 20, 0.5 µM non-biotinylated affinity ligand) and incubated at room temperature with shaking for 30 minutes. The kinase concentration in the eluates was measured by qPCR.

IV. Etude de cytotoxicité

Les quatre lignées cellulaires humaines utilisées proviennent de l'ATCC et correspondent à des cancers de la vessie. Les lignées 5637 et RT112 ont été cultivées en milieu RPMI sous atmosphère 5 % CO₂. Les lignées MGH-U3 et 647V ont été cultivées en milieu D-MEM sous la même atmosphère. Les cellules ont étéensemencées (5000 cellules par puits pour lignées 5637, RT112 et 647V ; 10000 cellules pour MGH-U3) en plaques 96 puits dans 90 µL de milieu de culture puis traitées 24 h plus tard avec les composés en solution (10 µL) dans un mélange 5 % DMSO/eau (concentration finale 0.5 % en DMSO). Les puits contrôles ont été cultivés dans les mêmes conditions. Après 72 ou 96 h, le réactif Celltiter Glo (Promega) est ajouté et incubé dans le noir pendant 10 min à 25 °C : la luminescence est alors lue et la viabilité cellulaire est évaluée selon le ratio :

$$\frac{\text{signal puits traité}}{\text{signal puits contrôle}} \times 100$$

Etude des propriétés photophysiques

Absorption spectra were recorded with an Agilent Cary 300 Bio double-beam spectrophotometer in quartz cells (path length 1 cm), using slit widths of 2 nm and a scan rate of 150 nm.min⁻¹. Extinction coefficients were determined using Beer-Lambert plots on a range of solution concentrations from 10 to 30 μM. Fluorescence spectra were recorded with an Agilent Cary Eclipse Bio or Horiba Jobin Yvon Fluoromax 3 fluorimeter in quartz cells with a cross-section of 1 × 0.5 cm, using slit widths of 2.5 or 5 nm. Fluorescence quantum yields were determined by comparative method on 1 to 3 μM solutions using quinine sulfate as a reference ($\phi = 0.54$ in 0.5 M H₂SO₄).^{140a} For this method, fluorescence intensities of a sample and a reference are plotted as functions of their absorbance. A linear correlation is then observed and fluorescence quantum yield is calculated as follows:

$$\phi_x = \phi_{ref} \times \frac{grad_x}{grad_{ref}} \times \frac{\eta_x^2}{\eta_{ref}^2}$$

where *x* stands for the sample, *ref* the reference, ϕ the quantum yield and η the refractive index of the solvent.

Titre : Autour du noyau imidazo[4,5-*b*]pyridine : inhibiteurs potentiels de la protéine kinase Tyro3 et fonctionnalisation directe de liaisons C – H

Mots clés : Chimie Organique, Chimie Pharmaceutique, Activation (Chimie), Inhibiteur des tyrosine kinases

Résumé : Etant au quatrième rang des cancers les plus fréquents chez l'homme, le cancer de la vessie représente un enjeu médical important. Pourtant, à ce jour, seuls des traitements chirurgicaux handicapants et/ou chimiothérapeutiques non spécifiques peuvent être envisagés. Le projet de thèse s'inscrit dans le cadre de la recherche de thérapies ciblées du cancer de la vessie en ayant pour objectif le blocage, au niveau moléculaire et de manière sélective, des voies de signalisation mises en œuvre par la tyrosine kinase Tyro3 au sein des cellules cancéreuses.

La mise en évidence de la surexpression de ce récepteur membranaire dans la majorité des tumeurs de vessie et son rôle dans la survie des cellules cancéreuses ont en effet permis de valider Tyro3 comme cible thérapeutique pour ce type de cancers.

Le projet peut se diviser en trois parties : le développement de nouvelles méthodologies de synthèse autour du motif imidazo[4,5-*b*]pyridine, la synthèse d'une librairie de candidats inhibiteurs en utilisant les méthodes mises au point et enfin l'étude des relations structure-activité vis-à-vis de la protéine kinase Tyro3.

Title : Imidazo[4,5-*b*]pyridines : potential inhibitors of protein kinase Tyro3 and direct functionalization of C – H bonds

Keywords : Organic Chemistry, Medicinal Chemistry, Direct Functionalization, Tyrosine Kinase Inhibitors

Abstract : Bladder cancer is a major medical issue, being the fourth most frequent cancer in men and treatable only with heavy surgery and/or broad-spectrum chemotherapy. This thesis project deals with the discovery of new targeted therapies of bladder cancer by blocking specifically, at a molecular scale in cancer cells, the signaling pathways in which protein kinase Tyro3 is involved. Indeed, its overexpression in most bladder cancers and the major part it plays in cancer cells survival have led to the validation of protein kinase Tyro3 as a therapeutic target for the treatment of bladder cancer.

This thesis project can be divided into three main parts: the development of new synthetic methods around the imidazo[4,5-*b*]pyridine scaffold, the synthesis of a library of compounds using these methods and eventually the study of structure-activity relationships of these compounds versus Tyro3.