



HAL
open science

Conception de nouveaux agents iodés pour l'imagerie TEMP des récepteurs 5-HT4

Victor Babin

► **To cite this version:**

Victor Babin. Conception de nouveaux agents iodés pour l'imagerie TEMP des récepteurs 5-HT4. Chimie organique. Normandie Université, 2018. Français. NNT : 2018NORMC244 . tel-02015357

HAL Id: tel-02015357

<https://theses.hal.science/tel-02015357>

Submitted on 12 Feb 2019

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

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



Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité CHIMIE

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Conception de nouveaux agents iodés pour l'imagerie TEMP des récepteurs 5-HT4

Présentée et soutenue par
Victor BABIN

Thèse soutenue publiquement le 30/11/2018
devant le jury composé de

M. LUC NEUVILLE	Directeur de recherche au CNRS, CNRS	Rapporteur du jury
M. NICOLAS WILLAND	Professeur des universités, UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE	Rapporteur du jury
M. THOMAS CAILLY	Maître de conférences HDR, UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Membre du jury
M. JEAN-MICHEL CHEZAL	Professeur des universités, UNIVERSITE CLERMONT FERRAND 1 AUVERGNE	Président du jury
M. FREDERIC FABIS	Professeur des universités, UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Directeur de thèse
M. JEAN-PHILIPPE BOUILLON	Professeur des universités, UNIVERSITE ROUEN NORMANDIE	Co-directeur de thèse

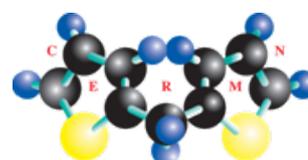
Thèse dirigée par FREDERIC FABIS et JEAN-PHILIPPE BOUILLON, Centre d'études et de recherches sur le médicament de normandie (Caen)



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE



Normande de Chimie



A Monsieur Nicolas Willand,

Professeur à l'Université de Lille

A Monsieur Luc Neuville,

Directeur de Recherche CNRS à l'ICSN à Gif-sur-Yvette

A Monsieur Jean-Michel Chezal,

Professeur à l'Université d'Auvergne

A Monsieur Thomas Cailly,

Maître de Conférence à l'Université de Caen-Normandie

A Monsieur Jean-Philippe Bouillon,

Professeur à l'Université de Rouen

A Monsieur Frédéric Fabis,

Professeur à l'Université de Caen-Normandie

Qui me font l'honneur de lire ce manuscrit,
et de juger mon travail,
en témoignage de ma profonde reconnaissance.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements les plus sincères au professeur Patrick Dallemagne, directeur du CERMN, pour m'avoir accueilli au sein de l'unité de recherche.

Je voudrais adresser mes profonds remerciements au professeur Frédéric Fabis, directeur de ma thèse, pour m'avoir permis de réaliser ce travail au sein de son équipe, m'avoir guidé dans ce projet et m'avoir fait partager sa passion pour la recherche et la chimie. Ton enthousiasme, ton plaisir d'enseigner et voire par moment ton impatience dans l'attente des résultats ont été une source d'encouragement et m'ont poussé à persévérer lorsque les résultats s'avéraient décevants. Et puis je ne peux oublier ces parties de paddle (tennis bien sur ! même si je ne doute pas de ta capacité à te déplacer comme un chef sur l'eau) où, sans broncher, tu as accepté les défaites lorsque on ne jouait pas dans la même équipe.

Je désire remercier le professeur Jean-Philippe Bouillon, co-directeur de ma thèse qui malgré la distance et le travail a toujours répondu présent à mes sollicitations et n'a jamais cessé de suivre l'évolution de mon travail. Dans cette période plus difficile, je te souhaite un bon rétablissement.

Je voudrais remercier très chaleureusement le Docteur Thomas Cailly sans qui ces trois ans de thèse auraient été bien plus difficiles. Le contenu de ce manuscrit je le dois à ton aide précieuse, ta volonté pour trouver de nouveaux sujets de recherche ou pour relancer un projet et à la confiance dont tu m'as fait part en me proposant de travailler sur ton sujet de radioiodation. Et promis, plus de Bon Jovi quand tu es dans le coin !

J'adresse au reste de l'équipe « groupe Fabis » mes plus sincères remerciements. A Manu, tes conseils, ton suivi quotidien, et la relecture de ma thèse m'ont été d'une très grande utilité. J'ai rencontré une personne formidable, d'une détermination admirable avec qui j'ai partagé un sacré nombre de foudres, de discussions plus ou moins pertinentes, présente dans les moments plus difficiles pour me faire remonter la pente bref .. Kamoulox si j'en dis plus tu choperas la grosse tête ! Ne changes rien et j'espère que tu prendras soin du petit nouveau Clément (j'en doute pas) et qu'il se rendra compte de la chance de t'avoir en chef ! A Florian, pour ces trois années passées ensemble où l'on a partagé quelques microsievverts ensemble mais aussi à ces moments autour d'un verre et d'un bon match de foot sur le port. Ton engouement pour la chimie est ahurissant et je te remercie pour ton aide préciseur dans les manipulations quand le temps me jouait des tours. A Christine alias « Christoché » de m'avoir accueilli dans son laboratoire et de m'avoir conseillé et écouté. A Alexandra et Windbedema, d'avoir toléré le flow musical pendant 2 ans, je vous souhaite bonne chance pour la suite. Et bien sur à Yohann qui m'a fait vivre une première année de thèse mémorable. Ta passion pour la chimie et ta débauche d'énergie sont incroyables ! Tu m'as fait partager ton univers musical, tes délires, très

proches des miens, on a englouti ensemble quelques litres de boissons houblonnées donnant lieu à des moments inoubliables et pour tout ca, merci et j'espère sincèrement qu'on se recroisera !

Je voudrais remercier « l'équipe du 42 » et notamment le professeur Anne Sophie Voisin-Chiret qui m'a donnée l'opportunité d'effectuer un stage de M2 chez elle sans lequel je n'aurais sans doute pas été ici en thèse. A Charline, aller, j'ose l'écrire ? Une amie. Merci pour tes conseils, de m'avoir écouté, guidé pendant ces 4 ans, pour les parties endiablées de « tu préférès », les délires. Je te souhaite pleins de bonnes choses pour la suite, jeune maman, et j'ai été ravi d'avoir été ton collègue pendant ces quatre années. A Marie, pour m'avoir accueilli et accompagné pendant ces quatre ans. J'espère t'avoir fait partager quelques unes de mes passions loufoques. A Seb, le stéphanois et ma victime favorite sur MPG. Khazri, Debuchy et Subotic sont entre de bonnes mains cette saison chez Bryan Bière Gognoux. Bonne chance pour la suite loustic ! Et forcément à mes deux coéquipières : Camille et Martina ! Je me considère très chanceux d'avoir partagé ces trois ans avec vous que ce soit dans la laboratoire ou dans l'épreuve plus délicate de l'écriture. Vous avez toujours répondu présentes et on a partagé d'excellents moments au cours de ces trois ans. Je vous souhaite le meilleur pour la suite, on se recroisera je l'espère !

Un grand merci à la « team badminton » pour ces mardis midi sportifs et de m'avoir accepté ! A Cécé, pour ces riches discussions au laboratoire autour de la chimie, du football et aux grands délires, parfois voir souvent incompréhensibles aux yeux des autres que l'on a pu avoir ! Surtout « Vive le sport ». A Remi, un bon challengeur. Merci pour tes conseils en RMN et pour ce Kyogre chanceux ! A Stephane, un niveau de jeu plutôt correct mais un gout musical plus que intéressant ! Merci pour tes conseils et continue à envoyer du Dire Straits dans les enceintes ! Bon j'espère que vous aviez bien compris que les 6 premiers mois de défaites étaient là juste pour me permettre d'intégrer le groupe.

Je voulais remercier l'ensemble des doctorants et post-doctorant avec qui j'ai partagé de très bons moments pendant ces trois années, FX et nos nombreuses sorties, je te confie le délirium, Bérénice pour nos longues discussions, Julien et nos parties de MPG accrochées, donnant lieu à beaucoup de chambrage (je reste persuadé que c'est un CSC de Marcelo et non un but de Saint-Maximin), Willy, Reynald, Caroline, Pauline, Line, Benjamin. Bon courage pour la suite.

Je remercie aussi l'ensemble du personnel du CERMN, et notamment, « les biologistes non scientifiques » Audrey et Sophie pour les tests, les explications, et les discussions qui partent dans tous les sens, Pegguy pour avoir répondu présente pour la analyses de dernières minutes, MC, la fluorescence n'a plus de mystère pour moi ! Objectif James Joyces en 2019 pour fêter ca ! Et Silvia pour m'avoir ouvert les portes de son bureau ces 4 derniers mois et d'avoir contribué à ma collection de pièces !

Je remercie la bande de Toulouse, alias « le slip » une bande de gars incroyables ou chaque retrouvaille débouche sur des délires, des fous-rires, des rencontres et des anecdotes ! Malgré la distance on arrive toujours à se retrouver que ce soit à l'île de Ré, à Bruxelles, à Metz (sacré Jourdre), Marseille, Reims, Bordeaux, Sainte-Eulalie ou encore Champignelle ! On a passé ensemble 3 ans merveilleux et j'ai été très touché par vos messages d'encouragements pendant les périodes un peu plus difficiles et par votre soutien. On se revoit très vite je l'espère pour continuer à partager ce genre de moment !

A la bande « caennaise », à Charlotte, Clément, Julien, Pacôme, Samy, et Valentin, merci de votre soutien et de vos encouragements et d'avoir partagé des moments autour d'une partie de tennis, de badminton ou d'un verre en terrasse lors de vos retours en terre natale. Une pensée aussi aux petites nouvelles, Chloé, Camille, Marion et Aline notamment, pour les encouragements et les sorties organisées cette dernière année !

Je tiens à remercier la famille Macquaire, pour avoir suivi l'évolution de mes travaux et m'avoir régulièrement encouragé et en particulier François, c'est grâce à toi que j'ai suivi ce cursus scolaire et que je suis arrivé 8 ans plus tard à soumettre ce manuscrit. Merci pour tous les voisins !

Enfin, je désire adresser mes remerciements par ma famille qui a été présente du début jusqu'à la fin. Aux cousins, Baptiste Simon et Caroline, pour leur soutien et leur accueil régulier à Paris, Lille ou Angers aux cours de ces trois années. A Tonton et Fanfan, pour leur encouragement, d'avoir suivi l'évolution de mes travaux et d'avoir toujours été présent. Et puis tout particulièrement mes parents, merci pour votre soutien et vos nombreux encouragements, d'avoir été présent dans les moments plus difficiles pour me faire relever la tête. Si aujourd'hui j'écris ces lignes c'est grâce à vous, vous m'avez accompagné jusqu'ici en me permettant de suivre le cursus que j'ai voulu et de vivre des moments mémorables. Pour tout ça je vous en suis plus que reconnaissant. Et puis à ma petite sœur, merci d'avoir aussi été présente durant ces trois ans. Je sais que l'année qui arrive s'annonce longue et difficile et je te souhaite le meilleur ! Tes qualités et notamment ta persévérance feront la différence.

Pour finir ces remerciements, je désire les adresser aux récepteurs sérotoninergiques et plus particulièrement aux récepteurs 5-HT₄ sans qui l'essentiel des travaux présentés dans ce manuscrit n'aurait jamais vu le jour.

Merci à tous !

SOMMAIRE

Abbreviations.....	5
Avant-propos	8

Chapitre 1 : Du système sérotoninergique à la génèse du projet

1. Le système sérotoninergique	13
1.1. Généralités autour de la sérotonine.....	13
1.2. Les récepteurs sérotoninergiques	14
1.2.1. Les récepteurs ionotropes.....	14
1.2.2. Les récepteurs couplés aux protéines G	15
1.3. Les récepteurs sérotoninergiques 5-HT₄.....	18
1.3.1. Généralités autour des récepteurs 5-HT ₄	18
1.3.2. L'implication des récepteurs 5-HT ₄ dans la maladie d'Alzheimer	19
1.3.3. Les ligands antagonistes des récepteurs 5-HT ₄ développés dans la littérature	22
1.3.4. Les ligands agonistes des récepteurs 5-HT ₄ développés dans la littérature	23
2. L'imagerie Médicale	26
2.1. Historique et définitions	26
2.2. Généralités autour de la radioactivité.....	27
2.3. La Tomographie d'Emission Mono-Photonique (TEMP).....	29
2.3.1. Description et principes physiques.....	29
2.3.2. Radioligands dans la littérature	30
2.3.3. Radiotraceurs pour l'imagerie TEMP des récepteurs 5-HT ₄ centraux.....	32
2.4. La Tomographie par Emission de Positrons (TEP).....	34
2.4.1. Description et principes physiques.....	34
2.4.2. Radio-pharmaceutiques dans la littérature	35
2.4.3. Radiotraceurs pour l'imagerie TEP des récepteurs 5-HT ₄	36
3. Travaux antérieurs et présentation des objectifs de recherche de la thèse	38
3.1. Première génération : découverte d'un système tricyclique prometteur (2003-2009)....	39
3.2. Seconde génération : obtention de la sélectivité par le noyau phénanthridine (2009-	40
2012)	40
3.3. Troisième génération : contrôle de la lipophilie par la série diazaphénanthridine (2012-	42
2015)	42
3.4. Présentation des objectifs pour le développement d'une quatrième génération de	43
radioligands	43

Chapitre 2 : Développement de nouveaux agents diagnostiques pour l'imagerie des récepteurs 5-HT₄

1. Evaluation de nouveaux ligands iodés pour l'imagerie TEMP des 5-HT₄R.....	47
1.1. Structuration du projet de recherche.....	47
1.2. Phase 1 : Synthèse du précurseur chimique commun	48

1.3. Phase 2 : Sélection des groupements hydrophiles	50
1.4. Phase 3 : Synthèses de nouveaux ligands iodés	55
1.4.1. Mise en place d'une stratégie de synthèse convergente	55
1.4.2. Synthèse de ligands iodés à chaîne hydrophile dite linéaire	56
1.4.3. Synthèse de ligands iodés à chaîne hydrophile dite cyclique.....	61
1.5. Phase 4 : Evaluation biologique et sélection des meilleurs ligands pour le radiomarquage	63
1.5.1. Définitions et présentation des tests biologiques réalisées.....	63
1.5.2. Evaluation biologique des composés synthétisés.....	65
1.5.3. Sélection des meilleurs composés pour le radiomarquage.....	67
1.6. Phase 5 : Préparation des précurseurs pour le radiomarquage	69
1.7. Phase 6 : Radiomarquage et évaluation préliminaire <i>in vitro</i>	72
2. Synthèse et évaluation de nouveaux ligands pour l'imagerie par fluorescence	77
2.1. Généralités autour de la fluorescence	77
2.1.1. Principe physique	77
2.1.2. Caractérisation de la fluorescence.....	78
2.1.3. Facteurs influençant la fluorescence	78
2.2. Imagerie médicale et fluorescence	79
2.3. L'imagerie par fluorescence des 5-HT₄R.....	80
2.4. Conception d'une nouvelle famille de ligands fluorescents.....	82
2.5. Evaluation <i>in vitro</i> des propriétés biologiques et de fluorescence.....	86
3. Perspectives sur la conception d'outils diagnostiques pour les 5-HT₄R	91

Chapitre 3 : Etat de l'art autour de la radioiodation

1. L'iode : un élément aux propriétés physico-chimiques à exploiter	97
1.1. Généralités autour de l'iode	97
1.2. Les isotopes radioactifs de l'iode	97
1.2.1. Production d'iode-123	98
1.2.2. Production d'iode-124.....	99
1.2.3. Production d'iode-125.....	99
1.2.4. Production d'iode-131	100
1.2.5. Conditionnement des isotopes radioactifs.....	100
1.3. La liaison carbone-iode.....	100
2. Les techniques de radioiodation	101
2.1. Définitions	101
2.2. La substitution nucléophile aromatique.....	103
2.3. La substitution électrophile aromatique	105
2.4. Iodation catalysée par les métaux de transitions.....	106
3. La réaction d'activation C-H comme alternative à la synthèse de précurseurs en radiomarquage	108
3.1. Généralités sur la réaction d'activation C(sp²)-H	108

3.2.	Etude de faisabilité sur une nouvelle stratégie de radiomarquage par activation C-H	111
3.2.1.	Discussion autour de la cinétique de la réaction	112
3.2.2.	Discussion autour de l'agent d'iodation	114
3.3.	Structuration du projet de recherche.....	116
Chapitre 4 : Développement d'une nouvelle méthodologie de radioiodation par		
activation C-H		
1.	Mise au point d'une nouvelle méthodologie de radioiodation par activation CH ..	119
1.1.	Optimisation des conditions expérimentales sur la 2-chloro- <i>N</i> -tosylbenzamide.....	119
1.2.	Exemplification sur divers <i>N</i> -tosylbenzamides	120
1.2.1.	Synthèse des références iodées froides	120
1.2.2.	Radioiodation des <i>N</i> -tosylbenzamides	122
1.3.	Radiomarquage de molécules biologiquement actives.....	123
1.3.1.	Synthèse des molécules possédant le motif <i>N</i> -acylsulfonamide	123
1.3.2.	Radioiodation de molécules biologiquement actives	124
2.	Exemplification de la méthodologie à d'autres groupements directeurs.....	125
2.1.	La famille « anilide ».....	126
2.2.	La famille « benzamide ».....	128
2.3.	La famille « acide carboxylique »	129
2.4.	La famille « nitrile ».....	130
2.5.	La famille « hétérocycle azoté »	131
2.6.	La famille « amine ».....	133
2.6.1.	Etude des benzylamines	133
2.6.2.	Etude sur le motif phényléthylamine	136
2.7.	La famille « carbonyle »	137
2.8.	Les autres groupements directeurs testés	137
3.	Application de la méthodologie à diverses molécules biologiquement actives	140
3.1.	Application aux ligands 5-HT ₄ développés au laboratoire.....	140
3.1.1.	Approche envisagée	140
3.1.2.	Synthèse et évaluation biologique des ligands ciblés.....	140
3.1.3.	Tentatives de radioiodation par activation C-H	143
3.2.	Evaluation sur d'autres molécules d'intérêt.....	145
3.2.1.	Le Sorafénib	145
3.2.2.	L'Edaravone	145
3.2.3.	Le Flutamide	146
3.2.4.	L'Hippuran	146
Conclusions et perspectives		149
Experimental section.....		155
Bibliography		265

ABBREVIATIONS

A β = beta amyloïde
AC = Adénylate Cyclase
AcOEt = acetate d'ethyle
AcOH = Acetic acid
ADMET = Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination, Toxicologie
AICD = APP Intracellular Domain
AMM = Autorisation de Mise sur le Marché
AMPc = Adénosine Monophosphate cyclique
APTS = Acide *para*-toluenesulfonique
ATP = Adenosine Triphosphate

BHE = Barrière Hémato-Encéphalique
Boc = *tert*-butoxycarbonyle
Boc₂O = Di-*tert*-butyl dicarbonate
B(OMe)₃ = Trimethyl borate
BV = Orbitale Basse Vacante

CE = Capture Electronique
CEA = Commissariat à l'Energie Atomique
CEREP =
CHO = Chinese Hamster Ovary
CIPE = Complex Induced Proximity Effect
CRUNCh = Centre de Recherche Universitaire Normand en Chimie
CTZ = Chimioréceptive Trigger Zone
c5-HT₄R = membrane de Récepteur 5-HT₄ de cobaye

DAG = diacylglycerol
DCL = Démence à Corps de Lewy
DCM = Dichloromethane
DIEA = Diisopropylethylamine
DMAP = 4-Diméthylaminopyridine
DME = Diméthoxyethane
DMF = Diméthylformamide
DNFs = dégénérescence Neurofibrillaires

E_c = Energie cinétique
EPAC 1 = Exchange factor directly activated by cAMP 1
ESI = Electrospray ionisation
EtOAc = Ethyl acetate
EtOH = Ethanol
Et₂O = diéthylether

FDA = Food and Drug Administration

GDP = Guanosine diphosphate
GTP = Guanosine triphosphate

hERG = human Ether-à go-go Related Gene
HRMS = High Resolution Mass Spectrometry
HPLC = High-Performance Liquid Chromatography
HO = Orbitale Haute Occupée

*h*5-HT₄R = membrane de Récepteur 5-HT₄ humain

IGF = Institut de Génomique Fonctionnelle

*i*PrMgCl.LiCl = Isopropylmagnesium chloride lithium chloride

*i*PrOH = isopropanol

IP3 = l'inositol 1,4,5 triphosphate

IR = InfraRouge

IRM = Imagerie par Résonance Magnétique

KeV = Kilolectron-Volt

K_i (ou pK_i) = constante d'affinité

K₂₂₂ = 2.2.2-Cryptand

LDA = Lithium diisopropylamide

LLE = Ligand Lipophilicity Efficiency

m-CPBA = *meta*-Chloroperoxybenzoic acid

MA = Maladie d'Alzheimer

MeCN = Acetonitrile

MeOH = Methanol

mp = melting point

MTBE = Methyl-*tert*-butyl ether

NBD = NitroBenzoxaDiazole

NaHB(OAc)₃ = Sodium triacetoxyborohydride

NCS = *N*-Chlorosuccinimide

NEt₃ = Triethylamine

NIS = *N*-Iodosuccinimide

Nphth = phthalimide

n.m = non mesuré

OFs = Orbitales Frontières

P-GP = glycoprotéine P

PdC = Palladacycle

Pd(OAc)₂ = palladium (II) acetate

Pd(PPh₃)₄ = tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0)

Pd₂dba₃ = tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0)

Phen = 1,10-phenantroline

PhI(OAc)₂ (ou PIDA) = (Diacetoxyiodo)benzene

PIP2 = phosphatidylinositol biphosphate

PLC = Phospholipase C

pK_A (ou K_A) = constante d'acidité

PKA = Protéine Kinase A

PKC = Protéine Kinase C

PPh₃ = Triphenylphosphine

*p*5-HT₄R = membrane de Récepteur 5-HT₄ de porc

Rac1 = Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1

Rap1 = Ras-related protein 1

RCC = RadioChemical Conversion

RCPG = Récepteur couplé aux protéines G

RCY = RadioChemical Yield

RMN = Résonance Magnétique Nucléaire

RX = Rayons X

SA = Specific Activity
sAPP_α = soluble Amyloid Precursor Proteine α
sAPP_β = soluble Amyloid Precursor Proteine β
SBR = Specific Binding Ratio
s-BuLi = *sec*-Butyllithium
S_EAr = Substitution Electrophile Aromatique
S_NAr = Substitution Nucléophile Aromatique
(SnBu₃)₂ = Bis(tributyltin)
SnBu₃Cl = tributyltin chloride
SnBu₃H = tributyltin hydride
SNC = Système Nerveux Central
SNP = Système Nerveux Périphérique
STEF = SIF and Tiam 1-like exchange factor

TBAF = Tetra-*n*-butylammonium fluoride
TBDMSCl = *Tert*-butyl-Dimethylsilyl Chloride
*t*BuOH = *tert*-butanol
TDM = tomodensitométrie
TEMP = Tomographie d'Emission Mono-Photonique
TEP = Tomographie à Emission de Positrons
TFA = Trifluoroacetic acid
THF = Tetrahydrofuran
TMEDA = Tetramethylethylenediamine
TMSCl = Trimethylsilyl chloride
Ts = Tosyle

^x*J* = constante de couplage

3D-QSAR = 3D Quantitative structure–activity relationship
5-HT = 5-Hydroxytryptamine
5-HTR = Récepteurs Serotoninergiques
5-HT_xR = Récepteur Sérotoninergique x

AVANT-PROPOS

Ces travaux, financés par la région Normandie au moyen du réseau CRUNCH, ont été réalisés au sein du Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie (CERMN) de l'Université de Caen sous la direction du Professeur Frédéric Fabis. Ils ont été effectués en co-direction avec l'équipe de « synthèse de biomolécules fluorées » du laboratoire de Chimie Organique et Bioorganique – Réactivité et Analyse (COBRA) de l'Université de Rouen.

Depuis plusieurs années, les activités de recherche du CERMN s'orientent autour de deux axes principaux que sont la cancérologie et les neurosciences. Cette dernière thématique se concentre principalement sur le système de transmission sérotoninergique à travers le développement de ligands sélectifs des récepteurs sérotoninergiques de type 3, 4, 6 et 7. Les projets menés peuvent se diviser en deux aspects : la conception d'agents thérapeutiques afin de lutter contre les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et l'élaboration d'agents diagnostiques pour une meilleure compréhension des mécanismes mis en jeu dans ces pathologies.

Le cadre de recherche de cette thèse se concentre sur la conception d'agents diagnostiques pour l'imagerie médicale des récepteurs 5-HT₄, cibles impliquées dans la maladie d'Alzheimer mais dont aucun traitement curatif n'existe à l'heure actuelle. Principalement focalisés sur le développement d'agents iodés pour l'imagerie nucléaire, ces travaux de synthèse se placent dans la continuité des études réalisées depuis plus d'une vingtaine d'années au laboratoire. Une nouvelle génération de ligands iodés a été synthétisée et après évaluation des propriétés physico-chimiques et biologiques, les molécules présentant les meilleurs résultats ont été radioiodées afin de réaliser l'imagerie *in vitro* de ces récepteurs sur coupe de cerveau humain. En parallèle de cette étude et suite aux difficultés rencontrées pour la préparation des précurseurs indispensables au radiomarquage, une nouvelle méthodologie de radioiodation a été investiguée par activation C-H.

Ce manuscrit se divise en cinq parties. Dans une première section, le contexte biologique autour du système sérotoninergique, du récepteur 5-HT₄ et son implication dans la maladie d'Alzheimer ainsi que le contexte bibliographique sur le développement de radioligand envers ce récepteur seront présentés afin d'établir une problématique et d'exposer les travaux envisagés. Une seconde partie comporte les travaux de synthèse réalisés sur ce sujet ainsi que les évaluations biologiques et une discussion autour des images obtenues conclura cette thématique. Dans une troisième partie, le contexte bibliographique sur les techniques de radioiodation développées aujourd'hui est révélé et montre les principaux inconvénients des techniques actuelles et justifie la démarche envisagée sur le développement d'une nouvelle stratégie de radioiodation par activation C-H. Le quatrième chapitre explique l'ensemble des expériences de radioiodation effectuées de la « proof of concept » jusqu'à

l'application sur des molécules biologiquement actives plus complexes. Enfin, après une brève conclusion générale, une partie expérimentale décrit l'ensemble des produits synthétisés et conclue ce manuscrit.

Les travaux réalisés au cours de ces trois années de recherches ont été valorisés par deux publications, une publiée et une en préparation, quatre communications orales ainsi que onze communications par affiche.

Publications :

Babin, V.; Dubost, E.; Benoist, F.; Hebert, A.; Barbey, P.; Chollet C.; Bouillon, J-P.; Manrique A.; Pieters G.; Fabis F.; Cailly T. Palladium mediated site-selective C-H radio-iodination, *Org. Lett.* **2018**, **accepted**

Babin, V.; Dubost, E.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. Iodinated radioligands for SPECT imaging of central human 5-HT₄R

Communications Orales:

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Design and synthesis of new iodinated diazaphenanthridines as potent 5-HT₄R SPECT radiotracers.* 24th Young Research Fellow Meeting, 8-10 février **2017**, Châtenay-Malabry (France).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Design, synthesis and evaluation of new iodinated diazaphenanthridines : application to the developement of new potential 5-HT₄R SPECT radiotracers.* Journées Nord-Ouest Européennes des Jeunes Chercheurs et du Groupe Français des Polymères Grand Ouest, 9-10 juin **2017**, Caen (France).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *From the design to the in vitro evaluation of new iodinated diazaphenanthridine for the development of potential 5-HT₄R SPECT radiotracers.* Medicinal Chemistry Group of the Atlantic Arc, 31 août – 1 septembre **2017**, Liverpool (Angleterre).

Babin, V.; Dubost, E.; Benoist, F.; Barbey, P.; Chollet C.; Bouillon, J-P.; Manrique A.; Pieters G.; Fabis F.; Cailly T. *Access to Radiotracers through Site-selective palladium-mediated C-H Radio-iodination* Journées Nord-Ouest Européennes des Jeunes Chercheurs, 7-8 juin **2018**, Lille (France).

Communications par affiche:

Babin, V.; Tournier, B.; Fresneau, N.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Conception synthesis and evaluation of new iodinated diazaphenanthridines as potent 5-HT₄R SPECT radiotracers,* 23rd Young Research Fellow Meeting, 15-17 janvier **2016**, Lille (France)

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Design of iodinated diazaphenanthridines: application to the synthesis of 5-HT₄R radiotracers*, 13th Anglo-Normand Organic Chemistry Colloquium, 24-27 avril **2016**, Rouen (France).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Design of iodinated diazaphenanthridines: application to the synthesis of 5-HT₄R radiotracers*, 30^{èmes} Journées Franco-Belges de pharmacochimie, 25-27 mai **2016**, Amboise (France).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Pharmacomodulation and synthesis of iodinated diazaphenanthridines for the development of 5-HT₄R SPECT radiotracers*, Normandy Doctoral School of Chemistry Day, 13 juin **2016**, Caen (France).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Access to substituted diazaphenanthridines : application to the development of new potential 5-HT₄ receptor ligands and radiotracers*, 52nd Internationale Conference on Medicinal Chemistry, 6-8 juillet **2016**, Caen (France).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Iodinated diazaphenanthridine derivatives : promising structures for 5-HT₄R SPECT radiotracers*, 15th Belgian Organic Synthesis Symposium, 10-15 juillet **2016**, Anvers (Belgique).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *Substituted diazaphenanthridines : Application to the development of new potential 5-HT₄R ligands and radioligands*. Normandy Doctoral School of Chemistry Day, 19 juin **2017**, Rouen (France).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *From the design to the in vitro evaluation of new iodinated diazaphenanthridine for the development of potential 5-HT₄ SPECT radiotracers*. 25th Young Research Fellow Meeting, 5-7 février **2018**, Orléans (France).

Babin, V.; Dubost, E.; Benoist, F.; Barbey, P.; Chollet C.; Bouillon, J-P.; Manrique A.; Pieters G.; Fabis F.; Cailly T. *Access to Radiotracers through Site-selective palladium-mediated C-H Radioiodination*. 1st International Symposium of Paris-Saclay : Drug Discovery and New Therapeutics, 9-11 avril **2018**, Paris-Saclay (France).

Babin, V.; Tournier, B.; Davis, A.; Millet, P.; Cailly, T.; Bouillon, J-P.; Fabis, F. *From the design to the in vitro evaluation of new iodinated diazaphenanthridine for the development of potential 5-HT₄ SPECT radiotracers*. Medicinal Chemistry Group of the Atlantic Arc / Journée Franco-Belge, 13-15 juin **2018**, Asnelles-sur-mer (France).

Babin, V.; Dubost, E.; Benoist, F.; Barbey, P.; Chollet C.; Bouillon, J-P.; Manrique A.; Pieters G.; Fabis F.; Cailly T. *Access to Radiotracers through Site-selective palladium-mediated C-H Radioiodination*. Normandy Doctoral School of Chemistry Day, 21 juin **2018**, Le Havre (France).

Chapitre 1 :

Du système sérotoninergique à la génèse du projet

1. Le système sérotoninergique

1.1. Généralités autour de la sérotonine

La sérotonine est une monoamine biogène présente chez une grande variété d'êtres vivants ayant notamment un rôle de neurotransmetteur chez l'Homme. L'origine du mot sérotonine fait suite à la description d'une substance vasomotrice (aux propriétés **toniques**) localisée au sein du **sérum** au milieu du XX^e siècle. ^[1] Chimiquement identifiée quelques années plus tard comme étant la **5-HydroxyTryptamine (5-HT)**, on la détecte aujourd'hui au sein du Système Nerveux Central (SNC) (noyaux du raphé, glande pinéale, hypothalamus, thalamus, système limbique, cortex frontal) mais aussi au niveau du Système Nerveux Périphérique (SNP) (moelle épinière, tube digestif, ^[2] plaquettes sanguines dans les cellules endothéliales ^[3]).

La biosynthèse de la sérotonine est réalisée en deux étapes dans les neurones sérotoninergiques ou les cellules entérochromaffines à partir du L-tryptophane (Try), acide aminé essentiel apporté par l'alimentation. Par action successive de la tryptophane hydroxylase puis de la 5-Hydroxytryptophane décarboxylase, le L-tryptophane est tout d'abord hydroxylé en position 5 du cycle indole puis décarboxylé pour conduire la sérotonine (**Figure 1**).

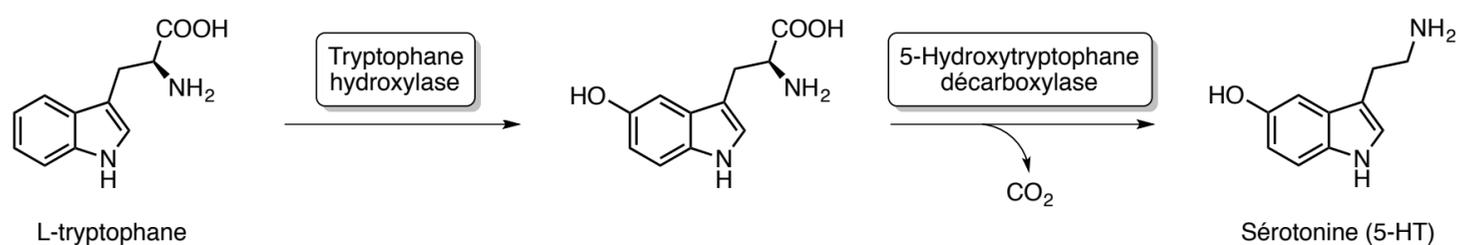


Figure 1 : Biosynthèse de la sérotonine à partir du L-tryptophane

Une fois synthétisée dans le cytoplasme des cellules, la sérotonine est ensuite transférée par l'intermédiaire de transporteurs vésiculaires (VAMT-1 et VAMT-2) vers les granules situés aux terminaisons présynaptiques pour y être stockée. Le neurotransmetteur est ensuite libéré dans l'espace synaptique par exocytose où trois actions sont envisageables. La sérotonine peut être captée par les 5-HTR de la membrane postsynaptique et ainsi assurer la transduction du signal neuronal. Elle peut être recapturée par les 5-HTR présynaptiques ou par le transporteur de la sérotonine (SERT) signalant un rétrocontrôle négatif vis-à-vis d'une nouvelle libération du neurotransmetteur. Elle peut être métabolisée et dégradée en acide 5-hydroxyindole acétique sous l'action de deux enzymes, la monoamine oxydase et l'aldéhyde déshydrogénase.

¹ Filip, M.; Bader, M. *Pharmacol. Reports* **2009**, *61*, 761–777.

² Mohammad-Zadeh, L. F.; Moses, L.; Gwaltney-Brant, S. M. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **2008**, *31*, 187–199.

³ Linder, A. E.; Ni, W.; Diaz, J. L.; Szasz, T.; Burnett, R.; Watts, S. W. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *323*, 415–421.

La sérotonine, par le biais de ses récepteurs, a un rôle déterminant dans de nombreuses fonctions physiologiques dont le sommeil, ^[4] la prise alimentaire, ^[5] les capacités cognitives, ^[6] le contrôle de l'humeur ou encore la motricité ^[7] font partie d'une liste non exhaustive.

1.2. Les récepteurs sérotoninergiques

Les récepteurs sérotoninergiques, regroupés en 7 familles (5-HT₁R – 5-HT₇R) elles-mêmes subdivisées en plusieurs sous-types selon leurs différences structurales, biochimiques et pharmacologiques, ^[8] sont la cible de nombreuses substances médicamenteuses comme les antidépresseurs, les agents antimigraineux ou encore les neuroleptiques. Parmi les sept catégories précédemment citées, deux classes de récepteurs existent : les récepteurs ionotropes (5-HT₃) et les récepteurs métabotropes, couplés aux protéines G.

1.2.1. Les récepteurs ionotropes

Les récepteurs ionotropes, localisés sur les neurones centraux et périphériques, sont des récepteurs protéiques liés à un canal ionique. Sous l'action du neurotransmetteur, ils sont capables de déclencher une dépolarisation rapide de la cellule après ouverture du canal cationique (**Figure 2**). ^[9] L'afflux de Na⁺ et de Ca²⁺ conduit à une diminution de la charge négative intracellulaire du neurone postsynaptique provoquant un potentiel d'action postsynaptique excitateur (PPSE) qui aboutit à la libération d'un autre neurotransmetteur.

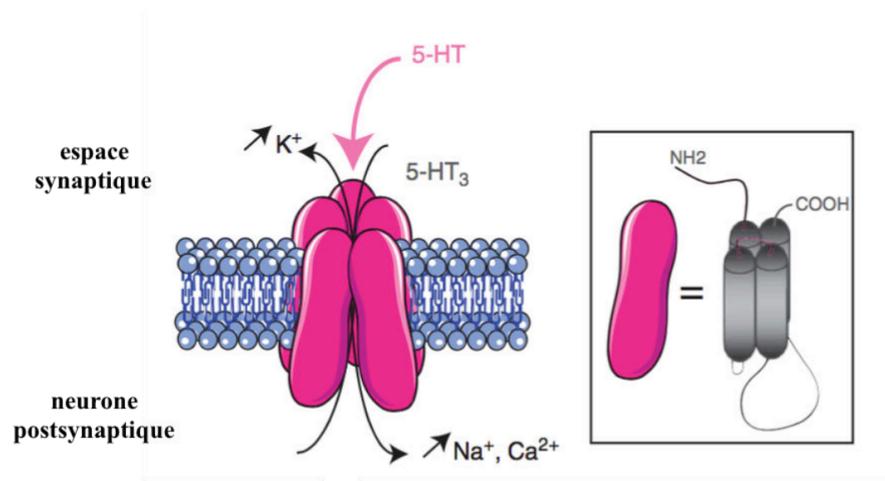


Figure 2 : Représentation schématique du récepteur 5-HT₃

Appartenant à la superfamille des récepteurs ionotropes à boucle cystéine, la famille des 5-HT₃R est la seule famille de récepteurs ionotropes parmi les autres groupes de récepteurs sérotoninergiques. Une très forte densité de ces récepteurs est localisée au sein du Système Nerveux Central dans une région du cerveau nommée CTZ (Chimioréceptive Trigger Zone) qui déclenche le réflexe nauséeux. ^[10] Des antagonistes sélectifs de ce récepteur sont principalement utilisés pour traiter les nausées et les vomissements post-opératoires ou induits par une chimiothérapie anti-cancéreuse.

⁹ Masson, J.; Emerit, M. B.; Hamon, M.; Darmon, M. *Wiley Interdiscip. Rev. Membr. Transp. Signal.* **2012**, *1*, 685–713.

¹⁰ Lummis, S. C. R. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 40239–40245.

1.2.2. Les récepteurs couplés aux protéines G

Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs) sont une famille de protéines membranaires comportant sept domaines hydrophobes transmembranaires sous la forme d'hélice α connectés entre eux par trois boucles extracellulaires et trois boucles intracellulaires. L'extrémité N-terminale est orientée vers l'espace extracellulaire tandis que la partie C-terminale est intracellulaire (**Figure 3**).^[11]

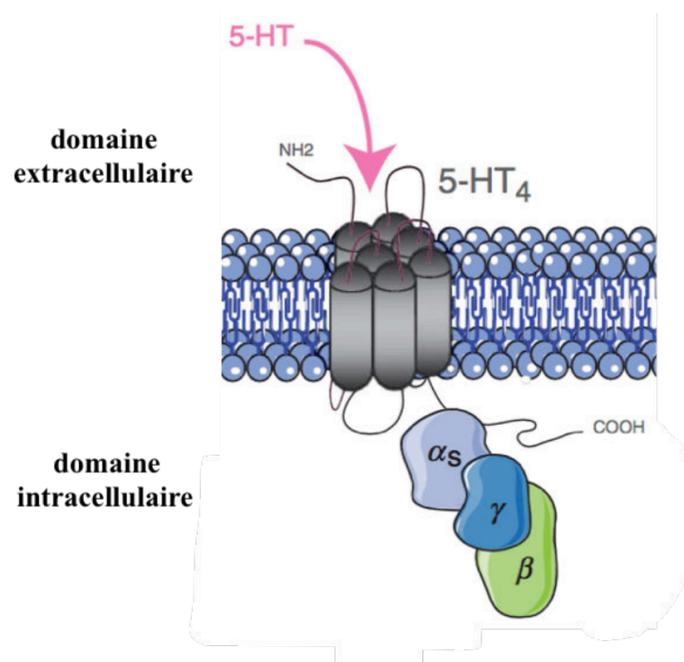


Figure 3 : Représentation schématique des RCPGs

L'activation par un neurotransmetteur ou un ligand induit un changement de conformation du récepteur qui lui permet d'entrer en contact avec une protéine G. Celle-ci va alors transmettre le signal provenant du récepteur à l'intérieur de la cellule *via* l'activation de multiples effecteurs.

Ces protéines G fixées à la surface interne de la membrane plasmique sont constituées de trois sous-unités protéiques $G\alpha$, $G\beta$ et $G\gamma$ (**Figure 4**). Bien qu'il existe plusieurs types de protéines G, chacune reconnue par un récepteur spécifique, elles répondent toutes au même mécanisme d'activation. Au repos un nucléotide de guanosine diphosphate (GDP) est lié à la sous unité $G\alpha$. Lorsque le récepteur est activé par un ligand agoniste, l'enchaînement heptahélice constitutif du récepteur change de conformation. La protéine G est alors capable de se lier au couple récepteur-ligand provoquant un nouveau changement conformationnel cette fois-ci de la protéine. Suite à cette modification structurale, la protéine G est alors activée *via* un échange guanosine triphosphate (GTP) – GDP. Cela déclenche la dissociation de la sous-unité $G\alpha$ des sous-unités $G\beta - G\gamma$ permettant la régulation de différents effecteurs intracellulaires (enzyme, canaux ioniques) membranaires ou cytosoliques. Enfin sous l'action d'une GTPase la GTP est hydrolysé en GDP engendrant une nouvelle association du motif $G\alpha$ avec les motifs $G\beta - G\gamma$, la libération d'un groupement phosphorylé et le retour à l'état de repos.^[12]

¹¹ Wall, M. A.; Coleman, D. E.; Lee, E.; Iñiguez-Lluhi, J. A.; Posner, B. A.; Gilman, A. G.; Sprang, S. R. *Cell* **1995**, *83*, 1047–1058.

¹² Denis, C.; Saulière, A.; Galandrin, S.; Sénard, J.-M.; Galès, C. *Curr. Pharm. Des.* **2012**, *18*, 128–144.

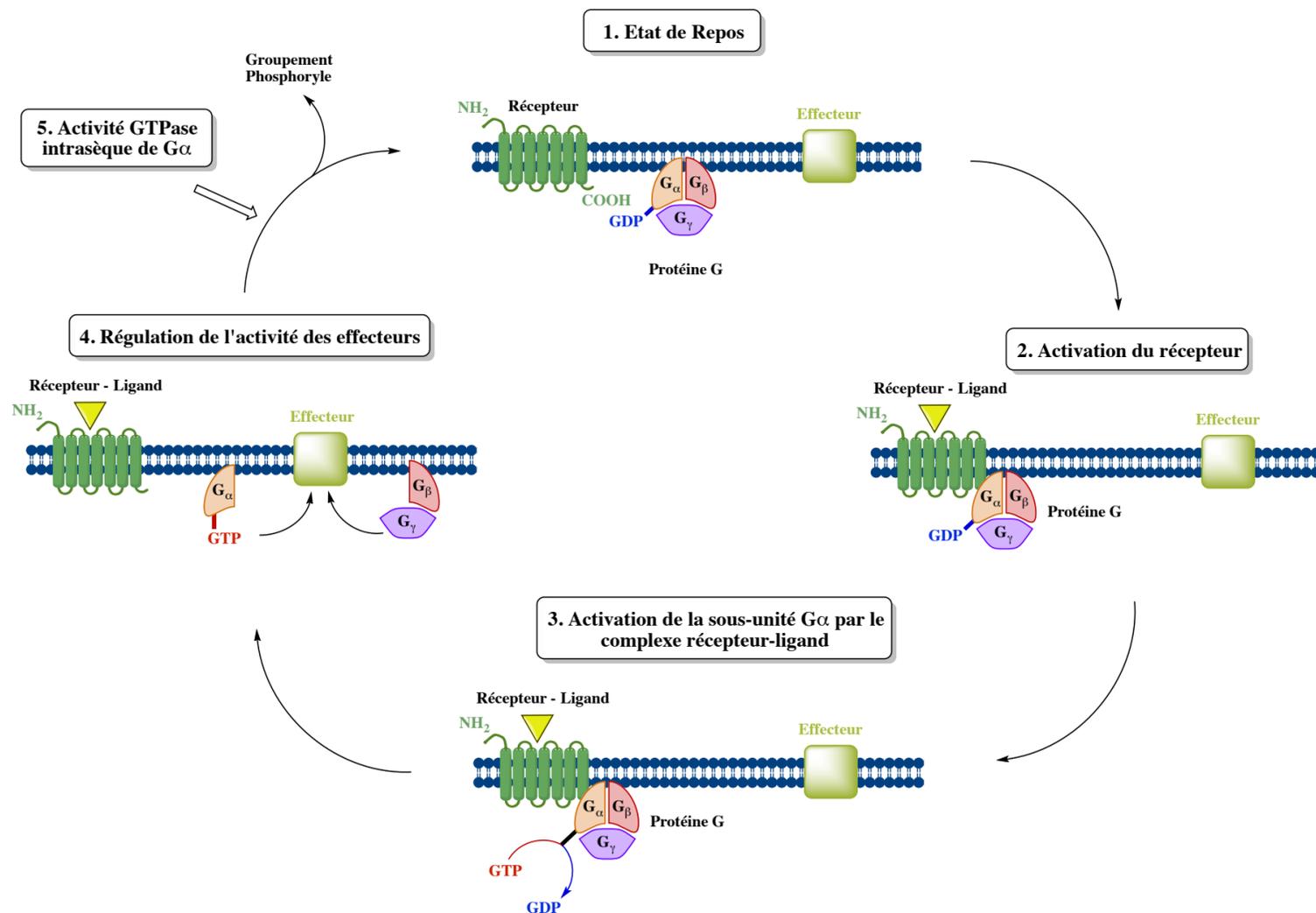


Figure 4 : Mode d'action d'un RCPG ^[13]

L'ensemble des 5-HTR, mis à part le 5-HT₃R vu précédemment, appartient à la classe des RCPGs. Trois catégories de transducteurs couplés à ces 5-HTR se distinguent apportant chacun une réponse spécifique après interaction avec différents effecteurs :

- **La famille $G_{i/o}$**

Les récepteurs 5-HT_{1a}, 5-HT_{1b}, 5-HT_{1d}, 5-HT_{1e}, 5-HT_{1f}, 5-HT_{5a} sont couplés au transducteur $G_{\alpha_{i/o}}$ inhibiteur de l'Adénylate-Cyclase (AC). Cette enzyme membranaire catalyse la conversion de l'ATP en AMP cyclique (AMPC), un second messager responsable de l'activation le Protéine Kinase A (PKA). L'inhibition de AC a pour conséquence une diminution d'AMPC et donc l'inactivation de la PKA ce qui engendre une ouverture plus importante du canal potassique provoquant une sortie d'ions K^+ massive. Le neurone se retrouve donc hyperpolarisé ce qui entrave la propagation de l'influx nerveux (**Figure 5**).

¹³ Denis, C.; Saulière, A.; Galandrin, S.; Sénard, J.-M.; Galés, C. *Curr. Pharm. Des.* **2012**, *18*, 128–144.

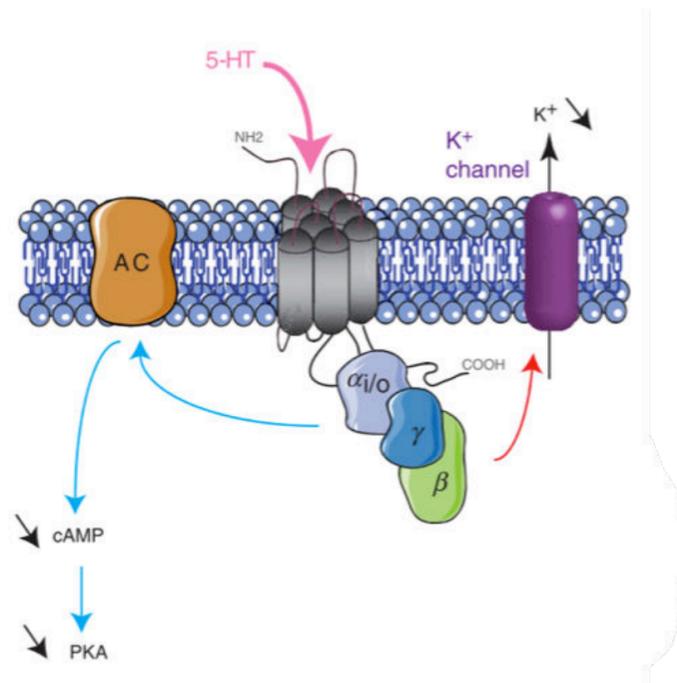


Figure 5 : Mécanisme de transduction principal des 5-HTR couplés à la famille $G_{i/o}$.

- La famille G_q

Les récepteurs 5-HT_{2a}, 5-HT_{2b}, 5-HT_{2c} sont couplés au transducteur $G\alpha_q$ impliqué dans l'activation de la phospholipase C (PLC). Cette enzyme membranaire catalyse l'hydrolyse du phosphatidylinositol biphosphate (PIP₂) pour générer deux seconds messagers : l'inositol 1,4,5 triphosphate (IP₃) et le diacylglycerol (DAG) responsables de l'activation de la Protéine Kinase C (PKC), ce qui a pour conséquence l'augmentation de la concentration de Ca^{2+} intracellulaire (Figure 6).^[14] Il est à noter que l'isoforme 5-HT_{2b} n'est pas exprimée chez l'Homme.

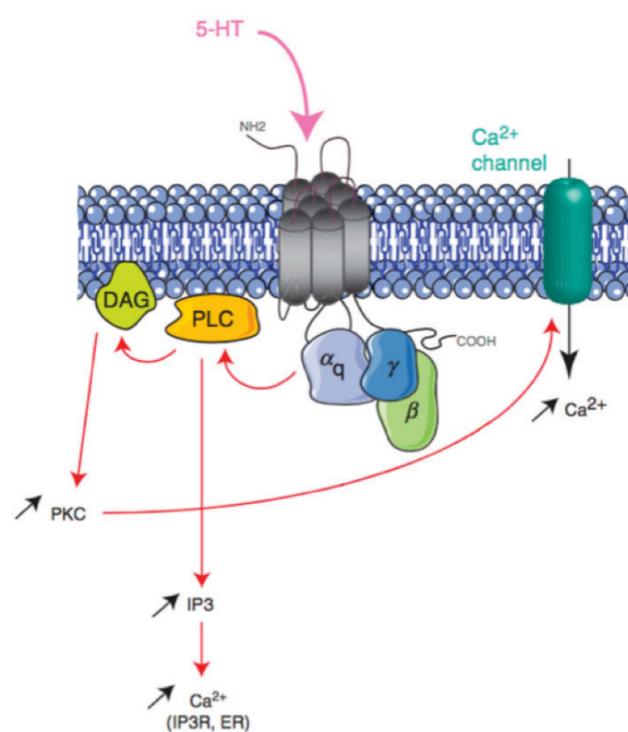


Figure 6 : Mécanisme de transduction principal des 5-HTR couplés à la famille G_q .

¹⁴ Conn, P. J.; Sanders-Bush, E. *Neuropharmacology* 1984, 23, 993–996.

- **La famille G_s**

Les récepteurs 5-HT₄, 5-HT₆, 5-HT₇ sont couplés au transducteur Gα_s impliqué dans l'activation de l'Adénylate-Cyclase. Contrairement aux récepteurs couplés au transducteur Gα_{i/o}, l'information transmise ici permet l'augmentation de l'AMPC et par conséquent l'activation de la PKA ce qui engendre le blocage du canal potassique et donc la sortie d'ions K⁺. Le neurone se retrouve donc dépolarisé ce qui permet la propagation de l'influx nerveux (**Figure 7**).

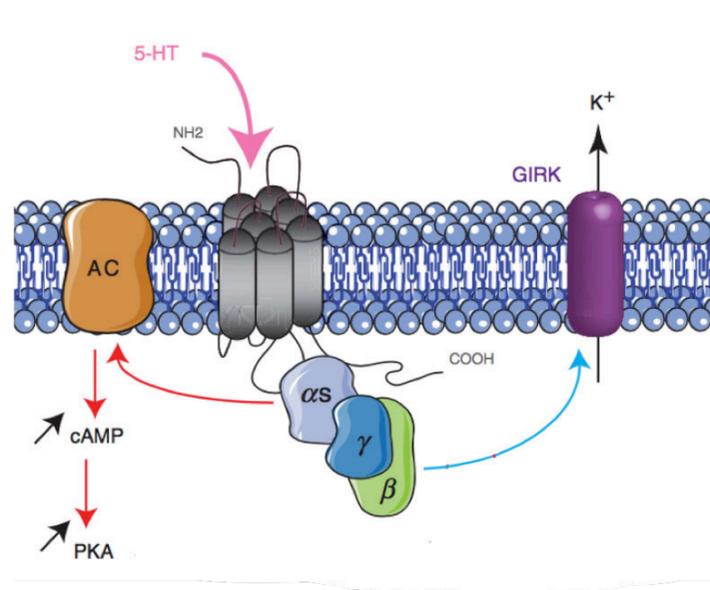


Figure 7 : Mécanisme de transduction principal des 5-HTR couplés à la famille G_s.

Dans la suite de cette partie nous nous intéresserons plus particulièrement aux récepteurs 5-HT₄ dont l'implication dans la maladie d'Alzheimer a été démontrée. ^[15]

1.3. Les récepteurs sérotoninergiques 5-HT₄

1.3.1. Généralités autour des récepteurs 5-HT₄

Découverts en 1988 par l'équipe de Dumuis *et al.* ^[16] les 5-HT₄R est une famille de récepteurs divisée en 7 sous-unités appelés isoformes (5-HT_{4a}, 5-HT_{4b}, 5-HT_{4c}, 5-HT_{4d}, 5-HT_{4e}, 5-HT_{4f}, 5-HT_{4g} et 5-HT_{4n}) qui se différencient par la longueur de leur chaîne C-terminale intracellulaire. ^[17] Ils sont localisés au sein du Système Nerveux Périphérique au niveau de la vessie, dans le tube digestif le cœur et les glandes surrénales où, en fonction de leurs localisations, ils sont impliqués dans des troubles gastro-intestinaux ^[18] et l'insuffisance cardiaque. ^[19] Ils sont aussi présents au sein du Système Nerveux Central dans le système limbique (hypothalamus, noyau accumbens, hippocampe, amygdale), le tubercule olfactif et le ganglion de la base notamment (stratium, substance noire). ^[20] La répartition de ces isoformes n'est cependant pas uniforme. Chez l'Homme, on retrouve par exemple la sous-unité

¹⁵ Maillet, M.; Robert, S.; Lezoualc'h, F. *Curr. Alzheimer Res.* **2004**, *1*, 79–85.

¹⁶ Dumuis, A.; Bouhelal, R.; Sebben, M.; Cory, R.; Bockaert, J. *Mol. Pharmacol.* **1988**, *34*, 880-887.

¹⁷ Bockaert, J.; Claeysen, S.; Compan, V.; Dumuis, A. *Curr. Drug Targets. CNS Neurol. Disord.* **2004**, *3*, 39–51.

¹⁸ Beattie, D. T.; Smith, J. A. M. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2008**, *377*, 181–203.

¹⁹ Qvigstad, E.; Brattelid, T.; Sjaastad, I.; Andressen, K.; Krobert, K. W.; Birkland, J. A.; Sejersted, O.; Kaumann, A. J.; Skomedal, T.; Osnes, J. B.; Levy, F. O. *Cardiovasc. Res.* **2005**, *65*, 869–878.

²⁰ Eglén, R. M.; Wong, E. H.; Dumuis, A.; Bockaert, J. *Trends Pharmacol. Sci.* **1995**, *16*, 391–398.

5-HT_{4d} localisée uniquement au niveau de l'intestin tandis que les isoformes 5-HT_{4a}, 5-HT_{4b} et 5-HT_{4c} sont exprimés au niveau du cerveau. ^[1]

Les 5-HT₄Rs périphériques, sont notamment étudiés pour leurs effets sur le tractus gastro-intestinal et leurs implications dans des pathologies comme la diarrhée, la constipation et le syndrome du colon irritable. ^[21] Au niveau du système cardiaque ils sont localisés dans l'atrium où un effet inotrope positif est observé lors de l'activation de ces récepteurs. Cela induit une augmentation du rythme cardiaque et de la force de contraction suggérant l'implication de ces récepteurs dans les troubles d'arythmie auriculaire. ^[22] Enfin, au niveau du tractus urinaire, localisés sur le detrusor, muscle situé sur la paroi de la vessie, l'activation de ces récepteurs stimule les transmissions cholinergiques qui pourraient être responsables des phénomènes d'incontinence urinaire. ^[23] Le développement de ligands antagonistes de ces récepteurs améliorerait le stockage de l'urine et permettrait un meilleur contrôle de la miction.

L'intérêt thérapeutique porté pour les 5-HT₄R centraux est tout aussi important. De nombreuses études pharmacologiques ont montré que ce récepteur était impliqué dans des troubles physiologiques comme la prise alimentaire, ^[24] les changements d'humeur, ^[25] les processus cognitifs, ^[26] l'apprentissage et la mémoire. ^[27] Alors qu'il a été montré que la densité des 5-HT₄Rs était stable chez l'adulte au cours du temps, des études ont établi que chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, l'expression des récepteurs 5-HT₄ diminuait de près de 66% dans l'hippocampe et de 23% dans le cortex frontal. ^{[28], [29]}

1.3.2. L'implication des récepteurs 5-HT₄ dans la maladie d'Alzheimer

La Maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative chronique et évolutive qui se traduit par une perte progressive et irréversible des capacités cognitives. Découverte en 1906 par le neuropsychiatre allemand Aloïs Alzheimer après une étude *post-mortem* sur le cerveau de sa patiente, les processus biologiques responsables de cette pathologie sont aujourd'hui de mieux en mieux définis. Outre les facteurs génétiques et environnementaux, deux types de lésions au sein du cortex cérébral caractérisent la Maladie d'Alzheimer : ^[30]

²¹ Manabe, N.; Wong, B. S.; Camilleri, M. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2010**, *19*, 765–775.

²² Kaumann, A. J. *Trends Pharmacol. Sci.* **1994**, *15*, 451–455.

²³ Tonini, M.; Candura, S. M. *Trends Pharmacol. Sci.* **1996**, *17*, 314–316.

²⁴ Jean, A.; Conductier, G.; Manrique, C.; Bouras, C.; Berta, P.; Hen, R.; Charnay, Y.; Bockaert, J.; Compan, V. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, *104*, 16335–16340.

²⁵ Lucas, G.; Rymar, V. V.; Du, J.; Mnie-Filali, O.; Bisgaard, C.; Manta, S.; Lambas-Senas, L.; Wiborg, O.; Haddjeri, N.; Piñeyro, G.; Sadikot, A. F.; Debonnel, G. *Neuron* **2007**, *55*, 712–725.

²⁶ Matsumoto, M.; Togashi, H.; Mori, K.; Ueno, K.; Ohashi, S.; Kojima, T.; Yoshioka, M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *296*.

²⁷ Meneses, A.; Hong, E. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1997**, *56*, 347–351.

²⁸ Reynolds, G. P.; Mason, S. L.; Meldrum, A.; De Keizer, S.; Parnes, H.; Eglen, R. M.; Wong, E. H. *Br. J. Pharmacol.* **1995**, *114*, 993–998.

²⁹ Wong, E. H. F.; Reynolds, G. P.; Bonhaus, D. W.; Hsu, S.; Eglen, R. M. *Behav. Brain Res.* **1995**, *73*, 249–252.

³⁰ Dickson, D. W. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **1997**, *56*, 321–339.

- **Les plaques séniles**, localisées dans le milieu extracellulaire formées à partir du peptide bêta amyloïde A β .
- **Les dégénérescences neurofibrillaires** (DNFs) intraneuronales liées à la déstabilisation des microtubules en lien avec la protéine tau.

L'accumulation des protéines associées à ces deux mécanismes pathologiques est à l'origine de la neurodégénérescence. Cependant, les mécanismes moléculaires de la mort neuronale dans la Maladie d'Alzheimer ne sont, à l'heure actuelle, pas clairement identifiés. La formation de plaques amyloïdes ou l'hypothèse de la « cascade amyloïde » nous intéresse plus particulièrement ici.

Les plaques séniles (ou plaques amyloïdes) sont des agglomérations protéiques extracellulaires provenant d'un peptide appelé β -amyloïde (A β). Ce peptide de taille variable provient du clivage séquentiel d'une glycoprotéine transmembranaire appelée précurseur de la protéine β -amyloïde ou APP (Amyloid Precursor Protein) par différentes secrétases. Le clivage de cette protéine peut être effectué par deux voies métaboliques distinctes (**Figure 8**).^[31]

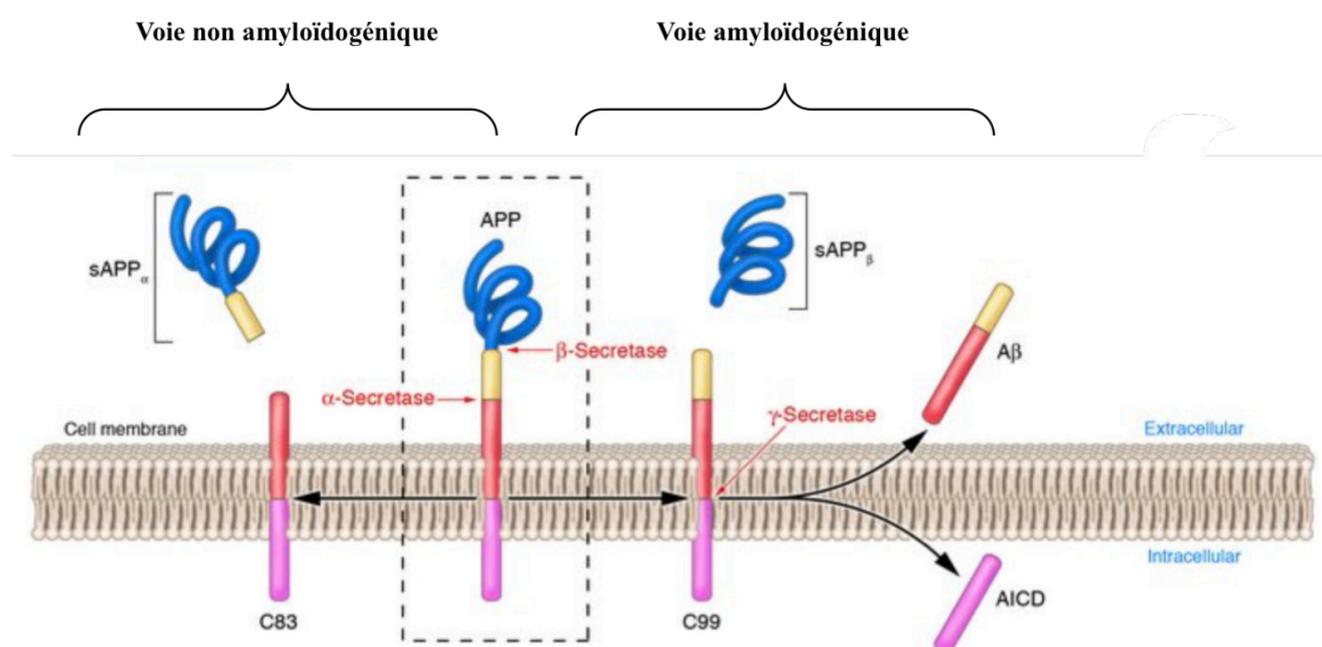


Figure 8 : Clivage de l'APP suivant la voie amyloïdogénique ou non

La voie non amyloïdogénique, prédominante chez les individus jeunes, conduit à un clivage dit « normal » de l'APP. L'enzyme α -secrétase effectue un premier clivage extracellulaire (au niveau cytosolique) libérant un premier fragment hydrosoluble, le sAPP $_{\alpha}$, fragment aux propriétés neuroprotectrices.^[32] Une seconde enzyme, la γ -secrétase, effectue un second clivage transmembranaire conduisant à deux nouveaux fragments : le p3 aux propriétés encore indéterminées et le fragment AICD (APP IntraCellular Domain).

³¹ Gandy, S. *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 1121–1129.

³² Gralle, M.; Botelho, M. G.; Wouters, F. S. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 15016–15025.

La voie amyloïdogénique, prédominante chez les individus âgés, conduit à un clivage dit « anormal » de l'APP. Par clivage successif des enzymes β -secrétase et γ -secrétase, trois fragments sont libérés : sAPP β et AICD, hydrosolubles, mais surtout le peptide A β . Ce dernier, insoluble et neurotoxique existe essentiellement sous deux formes A β 40 et A β 42 constituées respectivement de 40 et 42 acides aminés. Ces peptides, hydrophobes, ne peuvent être dégradés efficacement et s'accumulent dans le milieu extracellulaire. Au moyen de différentes interactions de type hydrophobes ou Van de Waals, ces oligomères s'agrègent sous la forme de feuillets β conduisant à la formation de plaques séniles responsables de la mort neuronale. [33]

Comme exposé précédemment, les 5-HT $_4$ R sont couplés aux protéines G et plus particulièrement à la famille des protéines G $_s$ activatrices de l'Adénylate Cyclase. Il a été démontré que l'activation de ces récepteurs avait un rôle dans le métabolisme de l'APP (**Figure 9**). [34]

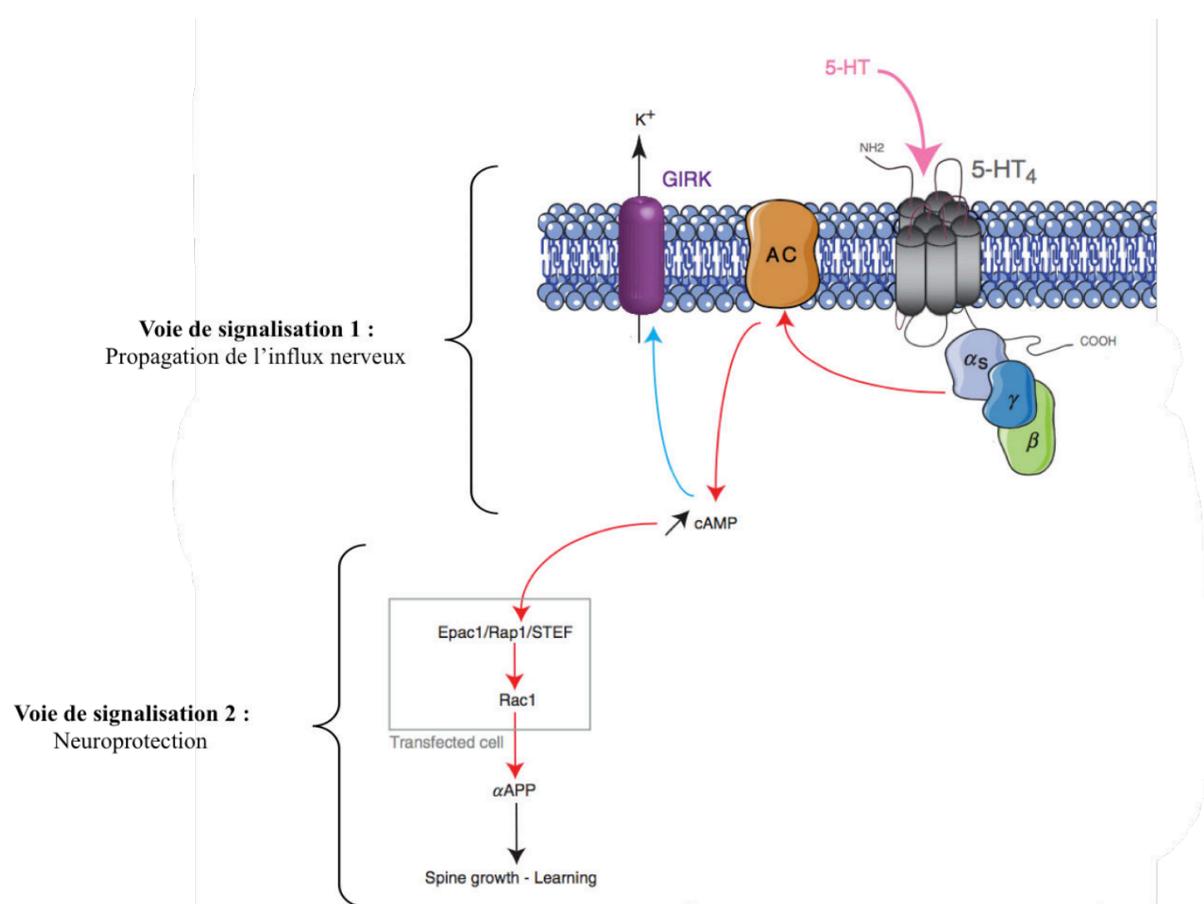


Figure 9 : Voie d'activation de l'APP par les 5-HT $_4$ R

L'activation de l'AC engendre une augmentation de la production de l'AMPc. La première voie de signalisation observée et discutée précédemment conduit à la dépolarisation du neurone permettant la propagation de l'influx nerveux. En parallèle une seconde voie de signalisation a été établie. [35] L'AMPc produite se fixe sur un agent de transfert échangeur de guanine Epac1. Jusqu'alors inactif, ce complexe interagit avec Rap1 une petite GTPase puis STEF un facteur d'échange nucléotidique pour former un nouveau complexe capable d'activer à son tour Rac1 une petite GTPase. [36] L'activation de

³³ Harkany, T.; Abrahám, I.; Kónya, C.; Nyakas, C.; Zarándi, M.; Penke, B.; Luiten, P. G. *Rev. Neurosci.* **2000**, *11*, 329–382.

³⁴ Cochet, M.; Donneger, R.; Cassier, E.; Gaven, F.; Lichtenthaler, S. F.; Marin, P.; Bockaert, J.; Dumuis, A.; Claeysen, S. *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 130–140.

³⁵ Maillet, M.; Robert, S. J.; Cacquevel, M.; Gastineau, M.; Vivien, D.; Bertoglio, J.; Zugaza, J. L.; Fischmeister, R.; Lezoualc'h, F. *Nat. Cell Biol.* **2003**, *5*, 633.

³⁶ Zaldua, N.; Gastineau, M.; Hoshino, M.; Lezoualc'h, F.; Zugaza, J. L. *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 5814–5818.

cette enzyme favorise alors le clivage de l'APP par l' α -secrétase libérant ainsi le fragment sAPP $_{\alpha}$, neuroprotecteur et hydrosoluble, selon la voie non amyloïdogénique.

Des résultats expérimentaux *in vivo* sont venus appuyer l'hypothèse selon laquelle l'activation des 5-HT $_4$ Rs favoriserait le clivage de l'APP selon la voie non amyloïdogénique. Il a été montré par exemple que la stimulation de ce récepteur par un agoniste sur une lignée cellulaire CHO (Chinese Hamster Ovary) induit une augmentation de la libération du fragment sAPP $_{\alpha}$.^[37] Plus récemment les travaux de Cho *et al.* ont mis en évidence la corrélation entre l'activation sélective des 5-HT $_4$ Rs et l'inhibition de production de A β .^[38]

A la lecture de ces données, les récepteurs 5-HT $_4$ se présentent donc comme une cible thérapeutique judicieuse pour trouver un traitement curatif de la Maladie d'Alzheimer notamment.^[39] Le développement de ligands sélectifs et affins des récepteurs 5-HT $_4$ a fait l'objet de nombreuses études mais seuls des composés destinés au traitement des troubles gastro-intestinaux ont apporté des résultats satisfaisants.^[40] C'est pourquoi le développement de ligands agonistes pour les 5-HT $_4$ Rs est, à l'heure actuelle, une thématique encore à l'étude.

1.3.3. Les ligands antagonistes des récepteurs 5-HT $_4$ développés dans la littérature

Les antagonistes sont des ligands capables de bloquer ou de diminuer l'information transmise lorsque le récepteur est normalement activé par son ligand endogène. Ce profil pharmacologique est notamment recherché pour pallier les problèmes d'incontinence urinaire, les troubles gastro-intestinaux mais aussi les vomissements liés à l'activation des 5-HT $_4$ Rs. En 2002 l'équipe de Bureau *et al.* a proposé un pharmacophore avec une approche « 3D-QSAR » en s'appuyant sur les données disponibles dans la littérature et d'anciens travaux de pharmacomodulation (**Figure 10**).^{[41], [42]}

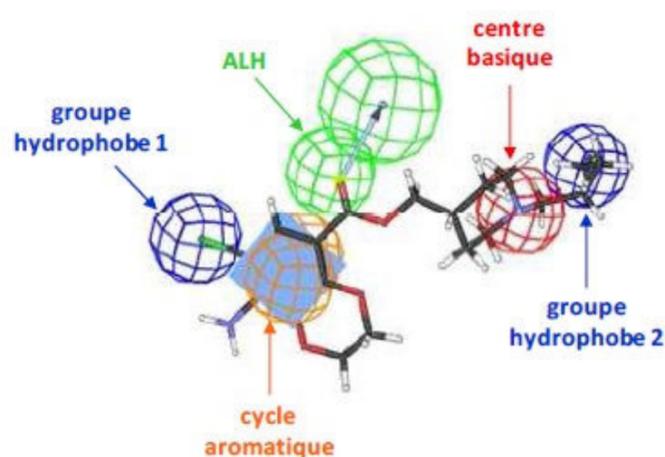


Figure 10 : Pharmacophore des antagonistes des récepteurs 5-HT $_4$ (basé sur le ligand SB-204070)^[43]

³⁷ Robert, S. J.; Zugaza, J. L.; Fischmeister, R.; Gardier, A. M.; Lezoualc'h, F. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 44881–44888.

³⁸ Cho, S.; Hu, Y. *Exp. Neurol.* **2007**, *203*, 274–278.

³⁹ Lezoualc'h, F. *Exp. Neurol.* **2007**, *205*, 325–329.

⁴⁰ Bureau, R.; Boulouard, M.; Dauphin, F.; Lezoualc'h, F.; Rault, S. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10*, 527–553.

⁴¹ Gaster, L. M.; King, F. D. *Med. Res. Rev.* **1997**, *17*, 163–214.

⁴² López-Rodríguez, M. L.; Morcillo, M. J.; Benhamú, B.; Rosado, M. L. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **1997**, *11*, 589–599.

⁴³ Bureau, R.; Daveu, C.; Lemaître, S.; Dauphin, F.; Landelle, H.; Lancelot, J.-C.; Rault, S. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42*, 962–967.

Ce pharmacophore comporte deux groupements hydrophobes, dont un à proximité d'un motif aromatique, un accepteur de liaison hydrogène et la présence d'un centre basique. Issus de différentes familles, dérivés indoles, benzamides ou benzoates par exemple, un grand nombre de ligands antagonistes ont été décrits dans la littérature. On peut notamment citer le **GR-113808** découvert en 1993 par Grossman *et al.* qui s'est révélé être très affiné et sélectif du 5-HT₄R ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 0,16$ nM).^[44] Aujourd'hui l'analogue tritié, le [³H]GR-113808 est toujours utilisé pour réaliser des tests de binding et ainsi déterminer l'affinité de potentiels ligands 5-HT₄. Le **SB-204070**, dérivé benzoate, est également un antagoniste ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 0,5$ nM).^[45] Enfin par combinaison du **GR-113808** et du **SB-204070**, le **SB-2072266** (ou **Piboserod**) s'est avéré être aussi un antagoniste très affiné et sélectif des récepteurs 5-HT₄ ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 0,016$ nM).^[46] Il est entré en essai clinique et a été évalué en phase II pour le traitement de la fibrillation auriculaire et du syndrome du colon irritable mais les résultats ont remis en considération un potentiel intérêt thérapeutique (**Figure 11**).^[47]

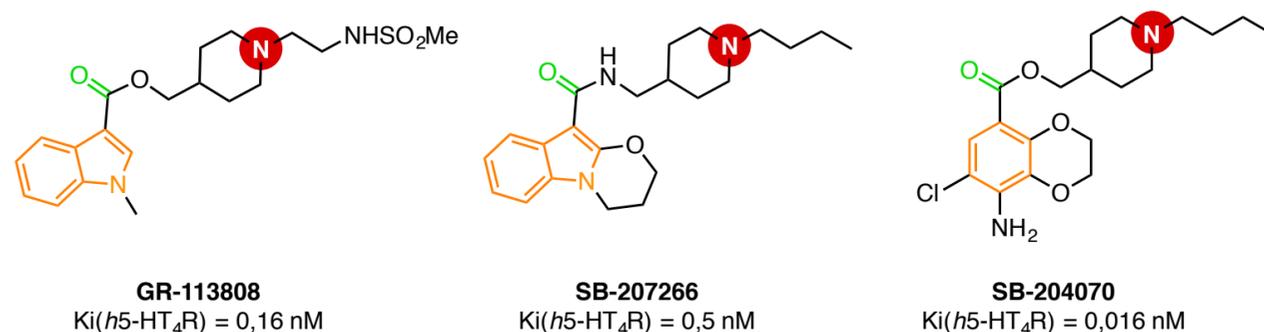


Figure 11 : Exemple de ligands antagonistes sélectifs des récepteurs 5-HT₄

1.3.4. Les ligands agonistes des récepteurs 5-HT₄ développés dans la littérature

Les agonistes sont des ligands capables de reproduire l'action du ligand endogène qui se lie au récepteur. Ce profil pharmacologique est plutôt recherché pour traiter les troubles intestinaux, la constipation mais surtout dans le cas de la Maladie d'Alzheimer. En 2008, en utilisant une nouvelle fois une approche « 3D-QSAR » et les précédents travaux dans la littérature, l'équipe de Bureau *et al.* du laboratoire a déterminé un pharmacophore pour les ligands agonistes du récepteur 5-HT₄ (**Figure 12**).^{[48], [49]}

⁴⁴ Gale, J. D.; Grossman, C. J.; Whitehead, J. W.; Oxford, A. W.; Bunce, K. T.; Humphrey, P. P. *Br. J. Pharmacol.* **1994**, *111*, 332–338.

⁴⁵ Gaster, L. M.; Jennings, A. J.; Joiner, G. F.; King, F. D.; Mulholland, K. R.; Rahman, S. K.; Starr, S.; Wyman, P. A.; Wardle, K. A. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 4121–4123.

⁴⁶ Gaster, L. M.; Joiner, G. F.; King, F. D.; Wyman, P. A.; Sutton, J. M.; Bingham, S.; Ellis, E. S.; Sanger, G. J.; Wardle, K. A. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4760–4763.

⁴⁷ Kjekshus, J. K.; Torp-Pedersen, C.; Gullestad, L.; Køber, L.; Edvardsen, T.; Olsen, I. C.; Sjaastad, I.; Qvigstad, E.; Skomedal, T.; Osnes, J.-B.; Levy, F. O. *Eur. J. Heart Fail.* **2009**, *11*, 771–778.

⁴⁸ Buchheit, K.-H.; Gamse, R.; Giger, R.; Hoyer, D.; Klein, F.; Kloppner, E.; Pfannkuche, H.-J.; Mattes, H. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2326–2330.

⁴⁹ Iskander, M. N.; Coupar, I. M.; Winkler, D. A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, *0*, 153–158.

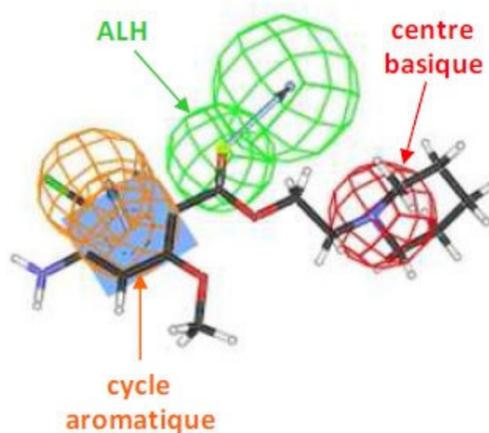


Figure 12 : Pharmacophore des agonistes des récepteurs 5-HT₄ (basé sur le ligand RS-67333) ^[50]

Le modèle pharmacophorique établi pour les agonistes des récepteurs 5-HT₄ est très proche du modèle proposé pour les ligands antagonistes. L'absence de groupements hydrophobes est la seule différence notable. On retrouve la présence d'un motif aromatique, d'un accepteur de liaison hydrogène et la présence d'un cycle basique. Cette forte analogie entre agoniste et antagoniste montre qu'il est délicat d'établir une réelle différence entre les ligands agonistes et antagonistes pour les 5-HT₄Rs. Bien que moins décrits dans la littérature, on retrouve plusieurs agonistes, dérivés benzamides, très affins envers 5-HT₄R. Le **Cisapride** ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 31,6 \text{ nM}$) a été la première molécule de cette famille à être commercialisée et approuvée par la **Food and Drug Administration (FDA)** pour le traitement des troubles gastro-intestinaux. Peu sélectif des 5-HT₄R, il a dû être retiré du marché suite aux effets secondaires indésirables sur le rythme cardiaque. Plusieurs analogues synthétisés par la suite comme le **Renzapride** ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 25 \text{ nM}$) ou le **Mosapride** ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 126 \text{ nM}$) ont apporté une amélioration dans la sélectivité vis-à-vis des 5-HT₄Rs mais présentent toujours un profil antagoniste des 5-HT₃Rs. Une nouvelle génération de benzamide a permis d'obtenir la sélectivité désirée avec la synthèse du **Prucalopride** ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 2,5 \text{ nM}$), dérivé benzofurancarboxamide. Il a obtenu une **Autorisation de Mise sur le Marché (AMM)** dans de nombreux pays européens (dont la France en 2009) pour le traitement de la constipation idiopathique chronique chez les femmes (**figure 13**). ^[51]

⁵⁰ Bureau, R.; Varin, T.; Lepailleur, A.; Daveu, C.; Lemaitre, S.; Lancelot, J.-C.; Lesnard, A.; Butt-Gueulle, S.; Dauphin, F.; Rault, S. *Curr. Comput. Aided-Drug Des.* **2008**, *4*, 199–208.

⁵¹ Tack, J.; Camilleri, M.; Chang, L.; Chey, W. D.; Galligan, J. J.; Lacy, B. E.; Müller-Lissner, S.; Quigley, E. M. M.; Schuurkes, J.; De Maeyer, J. H.; Stanghellini, V. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2012**, *35*, 745–767.

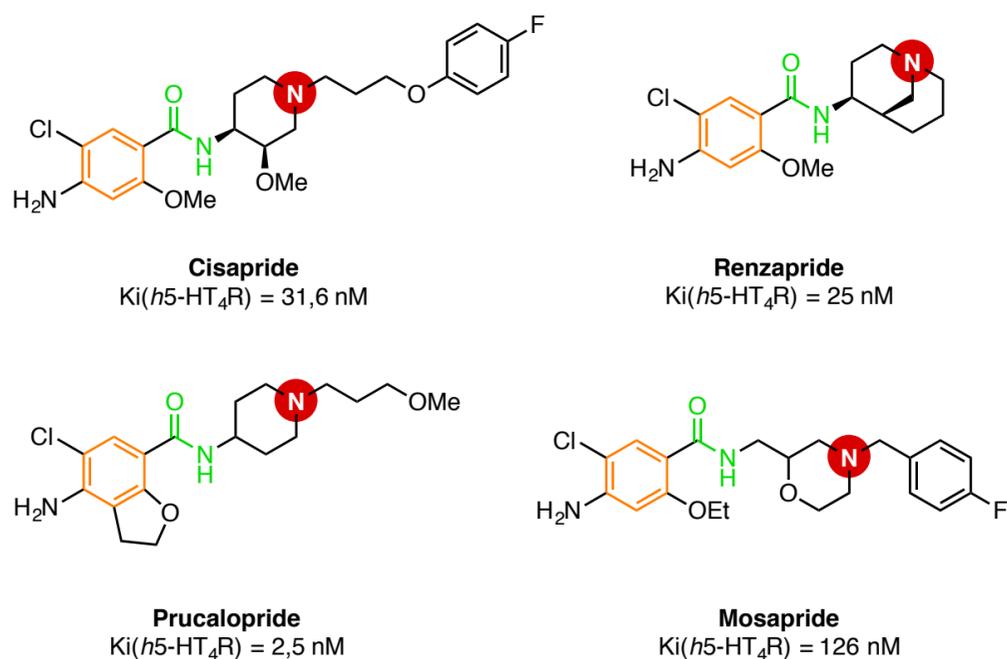


Figure 13: Ligands agonistes dérivés benzamides des récepteurs 5-HT₄

Outre la famille des benzamides, d'autres agonistes ont été décrits dans la littérature. Le **Tegaserod** ($K_i(h5-HT_4R) = 4,0 \text{ nM}$), dérivé carbazimidamide, affin mais non sélectif des 5-HT₄R a d'abord été accepté par la FDA mais a du être retiré du marché aux Etats-Unis pour des effets secondaires similaires au **Cisapride**. Le **RS-67333** ($K_i(h5-HT_4R) = 2,0 \text{ nM}$), ligand modèle pour la présentation du pharmacophore des agonistes, est un dérivé arylcétone dont les résultats biologiques ont montré une excellente affinité envers les 5-HT₄R. Plus récemment, un dérivé benzisoxazole, le **PF-04995274** ($K_i(h5-HT_4R) = 0,33 \text{ nM}$) développé par les laboratoires Pfizer, évalué comme agoniste partiel des 5-HT₄Rs, a montré son intérêt dans un potentiel traitement de la maladie d'Alzheimer et l'amélioration des fonctions cognitives (**Figure 14**).^[52]

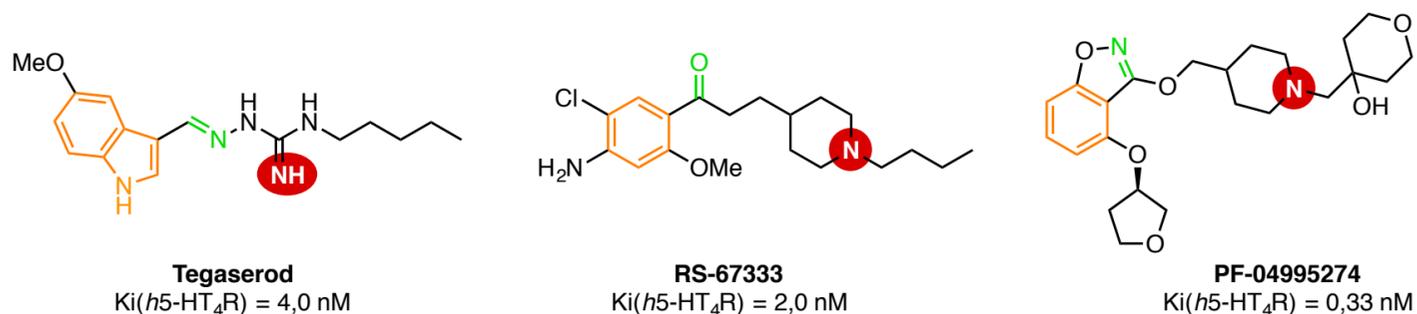


Figure 14 : Diversité des ligands agonistes des récepteurs 5-HT₄

Cette liste non exhaustive de ligands agonistes ou antagonistes ne cesse de croître depuis une vingtaine d'années. Le manque de sélectivité des ligands évalués jusqu'à présent ainsi que la découverte d'un éventuel rôle thérapeutique de ce récepteur avec la Maladie d'Alzheimer explique l'intérêt porté à cette cible. Si les mécanismes biochimiques expliquant le lien entre cette maladie et le récepteur semblent établis, aucun moyen diagnostique ne permet à l'heure actuelle de prévenir un potentiel déclin des capacités cognitives dû à cette maladie. C'est pourquoi, l'utilisation des techniques d'imagerie médicale constitue une méthode non invasive et prometteuse pour améliorer la

⁵² Brodney, M. A.; Johnson, D. E.; Sawant-Basak, A.; Coffman, K. J.; Drummond, E. M.; Hudson, E. L.; Fisher, K. E.; Noguchi, H.; Waizumi, N.; McDowell, L. L.; Papanikolaou, A.; Pettersen, B. A.; Schmidt, A. W.; Tseng, E.; Stutzman-Engwall, K.; Rubitski, D. M.; Vanase-Frawley, M. A.; Grimwood, S. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9240–9254.

recherche sur ce récepteur en conditions physiologiques et physiopathologiques. Le développement de composés spécifiques du récepteur, les radiotraceurs, permettrait une meilleure compréhension *in vivo* du SNC.

2. L'imagerie Médicale

2.1. Historique et définitions

La première utilisation des techniques d'imagerie médicale remonte à plus d'un siècle avec la découverte des rayons X par le physicien allemand Wilhelm Röntgen. En se basant sur l'absorption plus ou moins importante des rayons X en fonction de la densité des tissus traversés, il réalise le premier cliché « photographique » de la main de sa femme. ^[53] Dès lors un grand nombre de techniques d'imagerie ont été développées en corrélation avec la découverte de plusieurs phénomènes physiques au cours du XX^e siècle. Au début des années 1920, la première artériographie voit le jour. Cette technique repose sur l'utilisation des rayons X et d'un agent de contraste (généralement iodé) pour visualiser la circulation sanguine. En 1934, les physico-chimistes français Frédéric et Irène Joliot-Curie découvrent la radioactivité artificielle. Un an plus tard, le chimiste hongrois George de Hevesy pose le principe de l'imagerie moléculaire et fonctionnelle en étudiant la circulation sanguine et la formation des os grâce à une solution de phosphate de sodium radioactif. L'emploi des ultrasons dans le domaine médical ne se fera qu'au milieu des années 1950. Bien que découverts quarante ans plus tôt, leur utilisation se limite au secteur militaire pour la détection des sous-marins ennemis lors des deux grandes guerres. D'abord utilisés pour observer le corps humain, c'est uniquement dans les années 1970 qu'ils seront utilisés pour l'écoute des battements du cœur d'un fœtus. Durant cette même décennie, les premiers appareils d'imagerie par résonance magnétique font leur apparition, une trentaine d'année après la découverte et la mesure du phénomène de résonance magnétique.

Le terme d'imagerie médicale ne sera finalement employé qu'au début des années 1990 suite aux prouesses technologiques réalisées dans les domaines des mathématiques appliquées et de l'informatique, et à l'exploitation de ces méthodes dans les milieux hospitaliers. Aujourd'hui plusieurs techniques d'imagerie médicale, différentes mais complémentaires, sont utilisées dans les hôpitaux pour réaliser des diagnostics *in vivo* et peuvent être classées en deux catégories :

- Les méthodes d'**imagerie moléculaire morphologiques/anatomiques** qui permettent l'analyse des tissus, des os, des organes ou des vaisseaux. On y retrouve la tomодensitométrie (TDM) utilisant les rayons X, l'échographie basée sur les ultrasons et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) qui repose sur le phénomène de résonance magnétique.

⁵³ Webb, S. *Acta Oncol.* **2009**, *48*, 169–177.

- Les méthodes d'**imagerie moléculaire fonctionnelles** qui permettent de visualiser, quantifier un processus biologique et surtout de voir fonctionner un organe. Cette catégorie regroupe les techniques d'imagerie nucléaire que sont la Tomographie à Emission de Positrons (TEP) et la Tomographie d'Emission Mono-Photonique (TEMP) basées sur la radioactivité artificielle mais aussi l'IRM fonctionnelle cérébrale ainsi que l'imagerie optique utilisant différents phénomènes physiques caractéristiques de la lumière (absorption, émission, fluorescence...)

A l'interface de 5 disciplines (à savoir la médecine, la physique, la chimie, les mathématiques et l'informatique), l'imagerie médicale n'a cessé d'évoluer et de se perfectionner en utilisant des technologies novatrices et de plus en plus précises. Il est désormais possible d'observer un organe mais surtout de le voir fonctionner, de réaliser des examens biologiques ou des tests neurologiques. Dans ce domaine, le rôle du chimiste consiste à développer un outil fiable, dépourvu de toxicité et spécifique de la cible à analyser.

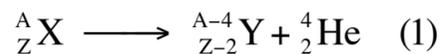
Après une brève introduction sur les principes de la radioactivité, nous nous intéresserons essentiellement aux techniques d'imagerie nucléaire, leurs fonctionnements, ainsi qu'aux composés radiochimiques développés dans la littérature et tout particulièrement pour l'imagerie des récepteurs 5-HT₄.

2.2. Généralités autour de la radioactivité

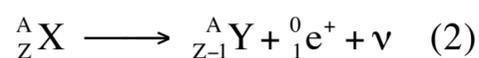
La radioactivité est un phénomène physique d'origine naturel découvert par hasard en 1896 par Henry Becquerel. Elle est aujourd'hui utilisée dans des secteurs divers et variés comme l'énergie (centrale nucléaire), le militaire (la bombe atomique), la géologie (datation) et bien entendu le domaine médical. Ce phénomène physique se manifeste au cœur du noyau de l'atome. Un atome (X) est composé d'un noyau autour duquel gravitent des électrons (e⁻). Les particules constitutives du noyau se nomment les nucléons (A) et se divisent en deux catégories : les protons (Z) chargés positivement et de neutrons (N) électriquement neutres. L'ensemble de ces éléments permet d'établir une nomenclature pour l'atome qui s'écrit sous la forme A_ZX . Si aujourd'hui 118 éléments chimiques sont connus et répertoriés dans le tableau périodique de Mendeleïev, plus de 2500 noyaux chimiques plus ou moins stables, ont été observés ou synthétisés par les physiciens.

Lorsque un atome se trouve dans un état instable dû à un surplus de nucléons, il est alors capable d'émettre un rayonnement provenant d'une modification de la composition du noyau pour retrouver un état stable. Cette transformation spontanée caractérise le phénomène de radioactivité et les rayonnements émis existent sous quatre formes :

- **La désintégration α** : le noyau atomique expulse une particule α assimilable à un noyau d'hélium (1). Le rayonnement émis a un pouvoir de pénétration très faible et il peut être arrêté par une simple feuille de papier.



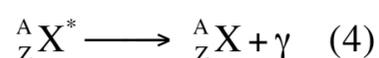
- **La désintégration β^+** : elle se traduit par la transformation d'un proton en neutron engendrant l'émission d'un positron (e^+) et d'un neutrino (ν) (2). Ce rayonnement ne parcourt que quelques mètres dans l'air et peut être arrêté par une vitre ou une feuille d'aluminium.



- **La désintégration β^-** : comme son nom l'indique, c'est la réaction inverse de la désintégration β^+ . La transformation d'un neutron en proton engendre l'émission d'un électron et d'un antineutrino $\bar{\nu}$ (3). Le comportement de ce rayonnement est le même que lors d'une désintégration β^+ .



- **La désintégration γ** : elle se produit lorsque qu'un atome se trouvant dans un état excité retourne à son état fondamental (4). Elle accompagne très souvent une désintégration α ou β dans laquelle l'élément fils généralement obtenu se trouve dans un état excité. Au même titre que les rayons X, le rayonnement γ est un rayonnement électromagnétique de fréquence propre et très énergétique. Très pénétrant, d'importantes épaisseurs de plomb ou de béton sont nécessaires pour arrêter ce rayonnement.



Un atome capable d'émettre un de ces rayonnements se nomme radioisotope ou radionucléide. Il est cependant impossible de prédire avec certitude l'instant où cette désintégration se produira. Néanmoins, si l'on considère un échantillon plus important, que l'on nomme source radioactive, un modèle mathématique a pu être établi. On appelle alors activité ($A(t)$), le nombre de désintégration par unité de temps émis par cette source radioactive (5). Mesurée au laboratoire par un activimètre, elle s'exprime en Becquerel (Bq), unité correspondant à une désintégration par seconde.

$$A(t) = A_0 e^{-\lambda t} \quad (5)$$

L'expression mathématique permettant de calculer l'activité en fonction du temps fait intervenir l'activité initiale (A_0) ainsi qu'une constante radioactive λ (exprimée en s^{-1}), indiquant la probabilité d'un noyau radioactif de se désintégrer. Usuellement, cette constante radioactive λ est remplacée par

un paramètre similaire pour caractériser le devenir d'une source radioactive, le temps de demi-vie $t_{1/2}$ spécifique à chaque radioisotope. L'activité suit une loi de décroissance exponentielle et l'on considère qu'après un temps égal à 10 fois la demi-vie, elle devient négligeable.

Les quelques notions physiques présentées permettent de faire le lien entre l'utilisation de la radioactivité et le domaine de l'imagerie médicale. Le parcours de radionucléides introduits dans l'organisme pourra être suivi en détectant les rayonnements émis par désintégration. Le choix du radioisotope reste cependant très restreint. Le rayonnement dégagé doit respecter une gamme énergétique : un rayonnement peu énergétique sera atténué par la traversée de différents tissus et donc non détectable tandis qu'un rayonnement trop énergétique risquerait d'irradier inutilement les organes avoisinant. La désintégration α par exemple ne sera pas utilisée en imagerie chez l'Homme. De plus l'activité introduite dans l'organisme doit être adaptée à la durée nécessaire du diagnostique. Le temps de demi-vie du radionucléide doit donc être suffisamment long pour pouvoir réaliser des images mais surtout relativement court si l'on considère une durée égale à 10 fois $t_{1/2}$ pour l'extinction du signal et ainsi éviter des rayonnements inutiles. Une liste de radionucléides aux paramètres adéquats a donc été établie pour pouvoir aujourd'hui utiliser ce principe physique autour de deux techniques d'imagerie médicale.

2.3. La Tomographie d'Emission Mono-Photonique (TEMP)

2.3.1. Description et principes physiques

La TEMP dite aussi SPECT en anglais (Single Photon Emission Computed Tomography) est une technique d'imagerie nucléaire fondée sur le principe de la scintigraphie caractéristique des isotopes radioactifs émetteurs γ . L'isotope radioactif est introduit sur une molécule vectrice, capable de se lier sur la cible prédéfinie, pour créer un composé chimique radioactif que l'on nomme radiotraceur (ou radioligand). L'espèce radioactive est ensuite injectée dans l'organisme du patient, se distribue dans l'ensemble du corps et se fixe sur la cible à analyser. Par décroissance radioactive, le radioisotope émet une antiparticule ainsi qu'un rayonnement gamma, détectable et d'énergie spécifique. Le rayonnement produit est alors récolté par une gamma-caméra qui tourne autour du patient. Cette gamma-caméra, élaborée en 1957, est constituée d'un collimateur qui agit comme un filtre vis-à-vis des rayonnements que l'on cherche à étudier. Ce collimateur précède un scintillateur, un cristal de Iodure de Sodium dopé au Thallium capable d'absorber l'énergie du rayonnement émis et de réémettre par désexcitation un nouveau faisceau de photons lumineux. Ce rayonnement lumineux est ensuite converti en un signal électrique par effet photo-électrique grâce à un photomultiplicateur. Le signal électrique est amplifié par un système de dynodes, détecté, puis grâce à un algorithme complexe une image tridimensionnelle est recréée (**Figure 15**).^[54]

⁵⁴ Anger, H. O. *J. Nucl. Med.* **1964**, 5, 515–531.

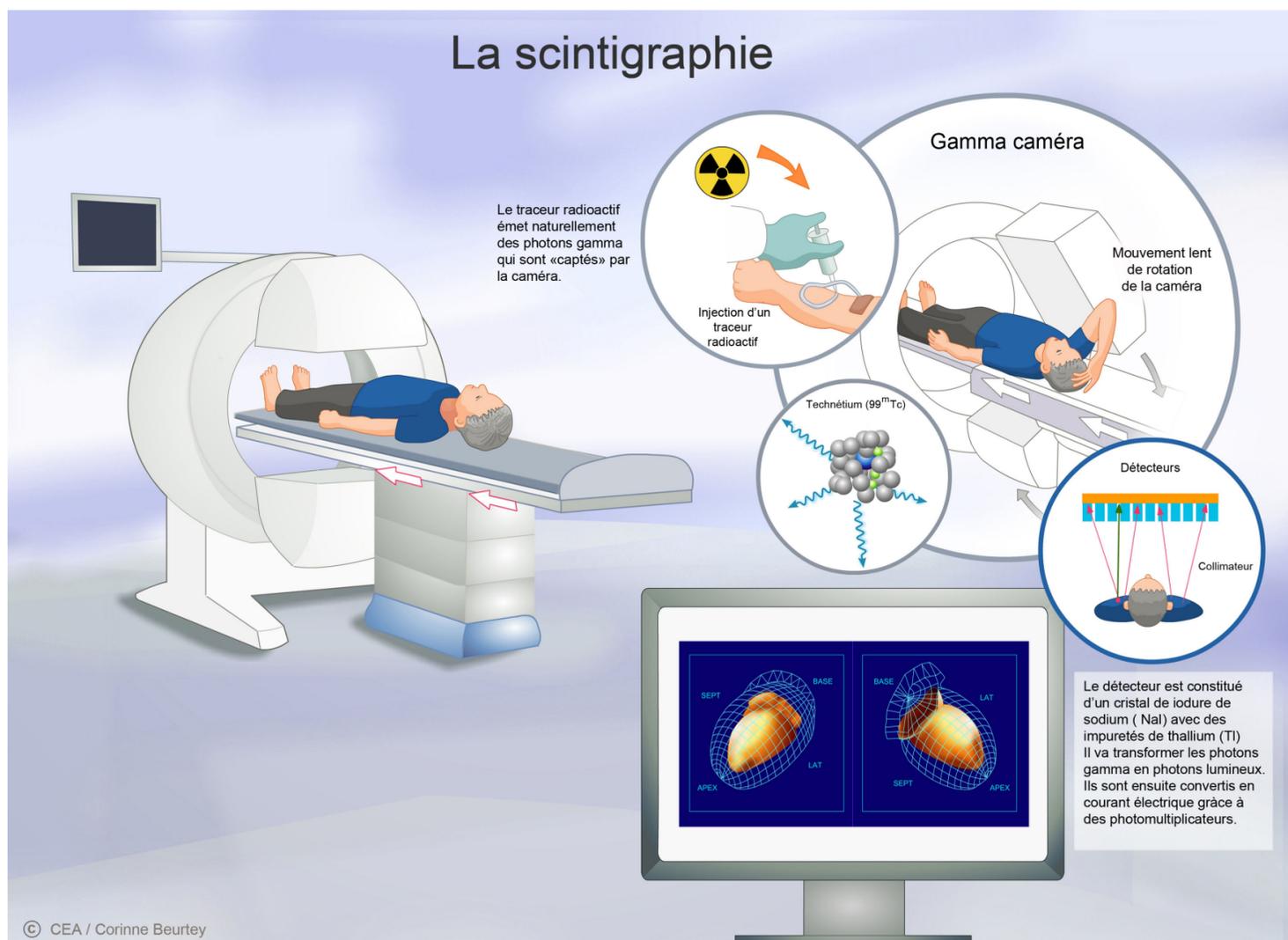


Figure 15 : Schéma du fonctionnement de l'imagerie TEMP

2.3.2. Radioligands dans la littérature

Le développement d'un radioligand s'appuie sur plusieurs expertises qui seront développées par la suite. Le **Tableau 1** recense les principaux radionucléides utilisés aujourd'hui dans la littérature ainsi que leurs propriétés physico-chimiques. ^[55]

Radionucléide	Temps demi-vie ($t_{1/2}$)	Energie	Source
^{99m}Tc	6,02 jours	141 keV	$\text{Na}^{99}\text{Mo} / \text{Al}_2\text{O}_3$
^{111}In	2,80 jours	171 keV, 245 keV	$^{111}\text{InCl}_3$
^{123}I	13,2 heures	159 keV	Na^{123}I
^{133}Xe	5,20 jours	31 keV, 81 keV	-
^{201}Tl	3,04 jours	71 keV	$^{201}\text{TlCl}$

Tableau 1 : Principaux radionucléides utilisés pour l'imagerie TEMP

⁵⁵ Delacroix, D.; Guerre, J.-P.; Leblanc, P. *Guide pratique radionucléides et radioprotection : manuel pour la manipulation de substances radioactives dans les laboratoires de faible et moyenne activité*; EDP Sciences, 2006.

En France, 31 composés radio-pharmaceutiques ont une AMM pour un usage diagnostique en imagerie TEMP. ^[56] Parmi les composés marqués à l'iode-123 le [¹²³I]MIBG, utilisé en oncologie pour la détection de neuroblastomes et de phéochromocytomes, est à l'heure actuelle, le radioligand le plus utilisé pour l'imagerie TEMP. ^[57] Le [¹²³I]loflupane, développé par la société GE healthcare sous le nom de DaTscanTM, est un analogue de la cocaïne capable de se fixer spécifiquement sur les transporteurs présynaptiques de la dopamine (DaTs). Il est principalement utilisé en imagerie pour réaliser le diagnostic du syndrome Parkinsonien et permet notamment de différencier les pertes cognitives dues à la Maladie d'Alzheimer ou à la Démence à Corps de Lewy (DCL). ^[58] Enfin le [¹²³I]IMPY qui, contrairement aux deux premiers cités, n'est pas utilisable en clinique mais seulement en recherche, permet la détection des plaques amyloïdes dans la Maladie d'Alzheimer. En raison de son instabilité métabolique *in vivo* les essais cliniques se sont arrêtés en Phase I (Figure 16). ^[59], ^[60]

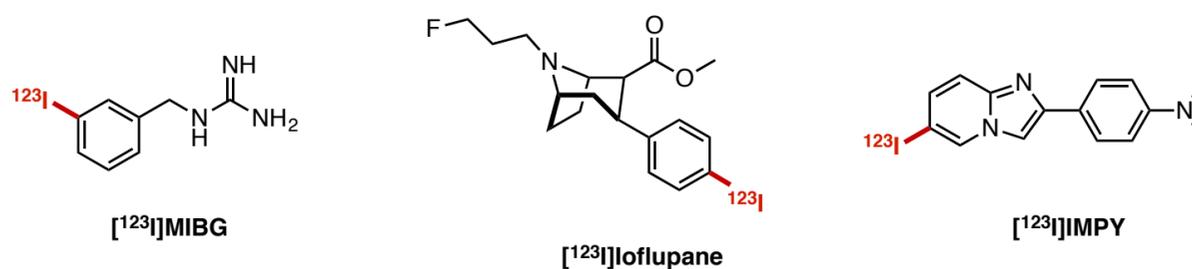


Figure 16 : Exemple de radioligands iodés pour l'imagerie TEMP

La conception de radio-pharmaceutiques contenant un métal de transition (Technétium-99m) ou un métal pauvre en électrons (Indium-111, Thallium-201) comme radionucléide est différente. Le métal ne pouvant être lié par une simple liaison covalente la création d'une capsule chélatrice est nécessaire. Celle-ci peut être reliée à une molécule vectrice comme pour le [^{99m}Tc]TRODAT-1, radiotraceur pour les transporteurs de la dopamine, ^[61] ou simplement servir de cage vectrice comme l'illustre le [^{99m}Tc]HMPAO utilisé pour étudier le débit sanguin cérébral (figure 17). ^[62] L'utilisation de ces radioligands est exclusivement réservée au domaine de la recherche.

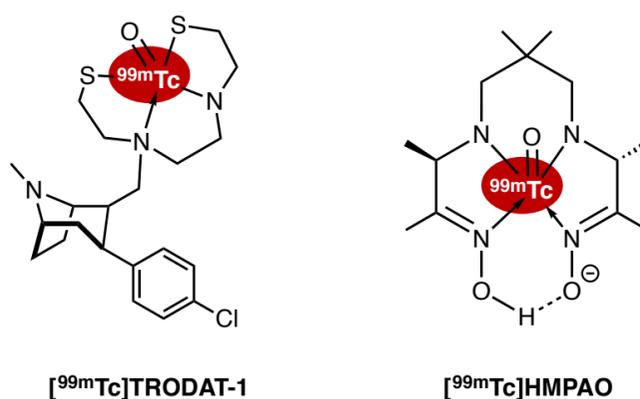


Figure 17 : Exemple de radioligands au technétium 99m pour l'imagerie TEMP

⁵⁶ Thériaque, http://www.theriaque.org/apps/recherche/rch_simple.php (consulté le 3 Mai, 2018).

⁵⁷ Sharp, S. E.; Trout, A. T.; Weiss, B. D.; Gelfand, M. J. *RadioGraphics* **2016**, *36*, 258–278.

⁵⁸ Djang, D. S. W.; Janssen, M. J. R.; Bohnen, N.; Booij, J.; Henderson, T. A.; Herholz, K.; Minoshima, S.; Rowe, C. C.; Sabri, O.; Seibyl, J.; Van Berckel, B. N. M.; Wanner, M. J. *Nucl. Med.* **2012**, *53*, 154–163.

⁵⁹ Newberg, A. B.; Wintering, N. A.; Plössl, K.; Hochold, J.; Stabin, M. G.; Watson, M.; Skovronsky, D.; Clark, C. M.; Kung, M.-P.; Kung, H. F. *J. Nucl. Med.* **2006**, *47*, 748–754.

⁶⁰ Ono, M.; Saji, H. *Int. J. Mol. Imaging* **2011**, 543267.

⁶¹ Kung, H. F.; Kim, H.-J.; Kung, M.-P.; Meegalla, S. K.; Plössl, K.; Lee, H.-K. *Eur. J. Nucl. Med.* **1996**, *23*, 1527–1530.

⁶² Moretti, J.-L.; Defer, G.; Cinotti, L.; Cesaro, P.; Degos, J.-D.; Vigneron, N.; Ducassou, D.; Holman, B. L. *Eur. J. Nucl. Med.* **1990**, *16*, 17–22.

Enfin, le Xénon-133 peut être utilisé en recherche pour l'imagerie du cœur ou des poumons par inhalation du radionucléide. ^[63]

2.3.3. Radiotraceurs pour l'imagerie TEMP des récepteurs 5-HT₄ centraux

Dans une revue de 2013 publiée dans le journal *Medicinal Research Reviews* exposant l'ensemble des radioligands développés pour les récepteurs sérotoninergiques, les auteurs établissent un cahier des charges pour la conception de radio-pharmaceutiques *in vivo* visant les 5-HTR. ^[64] Un certain nombre de facteurs sont pris en considération :

- **La synthèse chimique et la pureté isotopique** : l'incorporation du radionucléide doit se faire le plus rapidement possible pour éviter une décroissance radioactive trop importante. De plus le radioligand doit être d'une pureté optimale afin de ne pas entrer en compétition avec l'analogue non radioactif.
- **L'affinité et la spécificité (K_i)**: le radioligand doit posséder une affinité envers la cible de l'ordre du nanomolaire. Une affinité plus importante rendrait la dissociation récepteur-radioligand plus complexe et engendrerait un dérèglement du récepteur. Une affinité moins importante rendrait une analyse *in vivo* plus courte et moins précise.
- **La lipophilie (LogP ou LogD)** : calculée (LogP) ou simulée (*c*LogP), ce paramètre physico-chimique estime la capacité d'une molécule à se solubiliser en milieu aqueux. Pour un radioligand cette valeur doit être comprise dans une gamme évaluée empiriquement afin de pouvoir passer la barrière-hémato-encéphalique tout en évitant un marquage non spécifique. Les travaux réalisés indiquent un LogP inférieur à 3.5. ^[65] L'influence de ce paramètre sera présenté plus en détail dans le seconde chapitre de ce manuscrit (Chapitre 2, § 1.3.).
- **La stabilité métabolique** : pour pouvoir réaliser une étude approfondie, le radioligand doit être stable *in vivo* suffisamment longtemps. Une fois métabolisés, il est nécessaire que les métabolites radiomarqués soient expulsés du cerveau rapidement afin de ne pas interférer dans l'acquisition de l'image.
- **La pharmacologie** : l'introduction du radionucléide ne doit pas modifier les propriétés du ligand. Substituer un atome d'hydrogène par un atome d'iode par exemple modifie d'une part la lipophilie et d'autre par l'encombrement stérique. L'étape préalable de design est primordiale.

⁶³ Demedts, M.; De Roo, M.; Devos, P.; Billiet, L.; Cosemans, J. *Eur. J. Nucl. Med.* **1977**, *2*, 9–12.

⁶⁴ Paterson, L. M.; Kornum, B. R.; Nutt, D. J.; Pike, V. W.; Knudsen, G. M. *Med. Res. Rev.* **2013**, *33*, 54–111.

⁶⁵ Waterhouse, R. N. *Mol. Imaging Biol.* **2003**, *5*, 376–389.

Il existe aujourd'hui dans la littérature un seul radioligand pour l'imagerie TEMP des 5-HT₄R marqué à l'iode-123, le [¹²³I]SB-207710. ^[66] Analogue iodé du SB-204070 (Chapitre 1, § 1.3.3), l'évaluation biologique du composé non radioactif a montré que la substitution de l'atome de chlore par un atome d'iode ne modifiait pas l'affinité du composé ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 0,008 \text{ nM}$). ^[67] Les auteurs ont dans un premier temps marqué le SB-207710 avec de l'iode-125, radionucléide émetteur γ de faible énergie utilisé essentiellement en autoradiographie, pour l'injecter chez le rat et réaliser des études *ex vivo*. Les résultats ont montré une bonne corrélation entre l'activité radioactive détectée et la présence de 5-HT₄R. Pour aboutir à ces conclusions, les auteurs ont comparé leurs résultats avec une précédente étude visant à déterminer la densité des 5-HT₄R *in vitro* à l'aide du [³H]GR-113808 (Chapitre 1, § 1.3.3). ^[68] Le SB-207710 a ensuite été marqué à l'iode-123 afin de réaliser une étude *in vivo* chez le primate. Les résultats ont indiqué d'une part que ce radioligand était capable de marquer les zones riches en récepteurs 5-HT₄, et d'autre part un marquage spécifique suite au déplacement du radioligand par le SB-204070. Néanmoins, les auteurs ont pointé les limites de ce composé à savoir la difficulté à traverser la BHE ainsi qu'un signal trop faible pour réaliser une quantification *in vivo*. On peut aussi noter la faible stabilité métabolique due à la présence d'une fonction ester réduisant la durée de vie *in vivo* du radioligand (Figure 18).

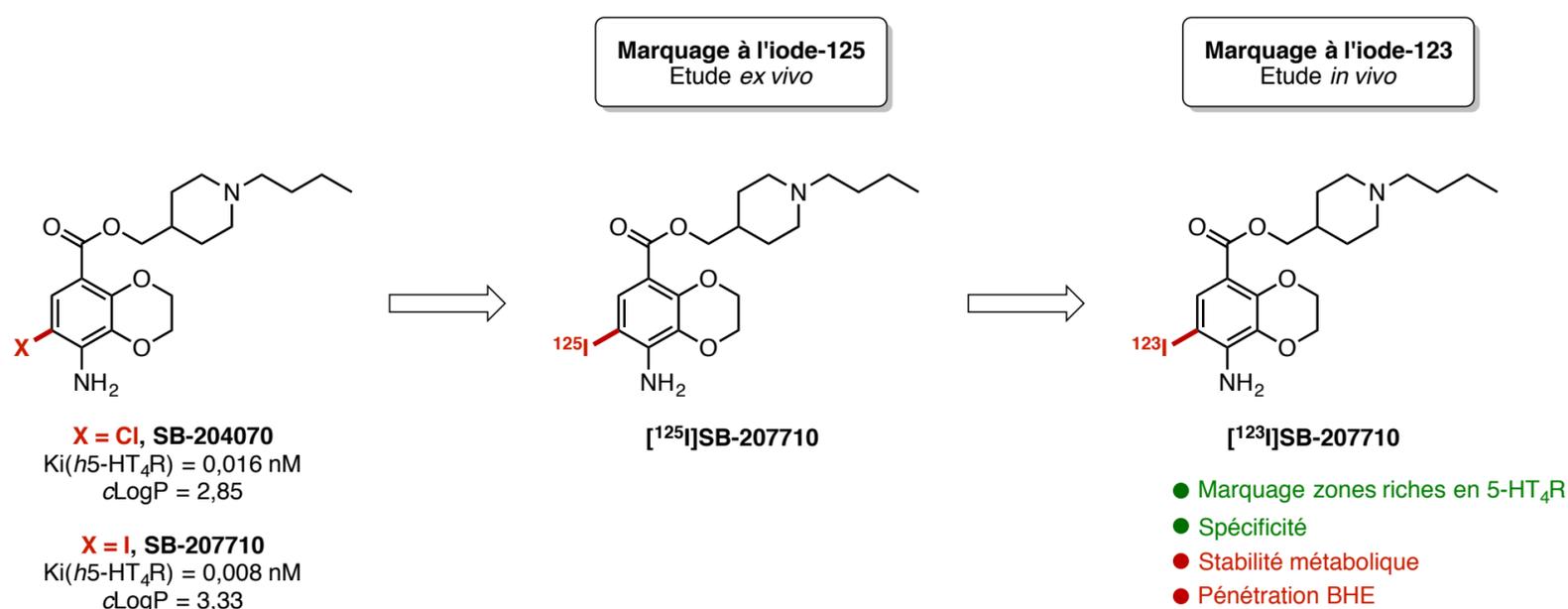


Figure 18 : Développement et évaluation du SB-207710, radiotracteur iodé pour l'imagerie TEMP des 5-HT₄R

D'un usage limité en raison de la difficulté à franchir la BHE due à une lipophilie trop élevée, le [¹²³I]SB-207710 a néanmoins montré sa capacité à marquer les zones riches en 5-HT₄R. L'introduction de l'atome d'iode pour l'imagerie est aussi responsable de l'augmentation de la lipophilie du radioligand. Ainsi, plusieurs groupes se sont penchés sur l'utilisation d'autres radioisotopes faisant appel à une seconde technique d'imagerie médicale.

⁶⁶ Pike, V. W.; Halldin, C.; Nobuhara, K.; Hiltunen, J.; Mulligan, R. S.; Swahn, C.-G.; Karlsson, P.; Olsson, H.; Hume, S. P.; Hirani, E.; Whalley, J.; Pilowsky, L. S.; Larsson, S.; Schnell, P.-O.; Ell, P. J.; Farde, L. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2003**, *30*, 1520–1528.

⁶⁷ Kaumann, A. J.; Gaster, L. M.; King, F. D.; Brown, A. M. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1994**, *349*, 546–548.

⁶⁸ Waeber, C.; Sebben, M.; Bockaert, J.; Dumuis, A. *Behav. Brain Res.* **1995**, *73*, 259–262.

2.4. La Tomographie par Emission de Positrons (TEP)

2.4.1. Description et principes physiques

La Tomographie par Emission de Positrons (TEP) dite aussi PET en anglais (Positron Emission Tomography) est une technique d'imagerie nucléaire fondée sur le phénomène d'annihilation caractéristique des isotopes radioactifs émetteurs β^+ . Comme pour l'imagerie TEMP, le radionucléide est introduit sur une molécule vectrice afin d'obtenir un radioligand injecté *in vivo*. Par désintégration le radioisotope émet une particule β^+ , un positron, avec une certaine énergie. Après dissipation d'une partie de cette énergie (on appelle le chemin parcouru par cette particule, libre parcours moyen) le positron est capable d'interagir avec son antiparticule, un électron constitutif de la matière environnante. La collision entre ces deux particules génère deux photons γ , de même énergie ($E_c = 511$ keV), de même direction mais de sens opposés détectables par une couronne de caméras TEP entourant le patient. Ainsi lorsqu'une caméra détecte un signal il est possible de reconstruire le lieu de la désintégration par coïncidence lorsque la caméra TEP située à l'opposé reçoit le signal après un intervalle de temps adéquat. Les paires de photons détectées sont alors analysées et suite à un traitement informatique, une image tridimensionnelle peut être recrée (**Figure 19**).

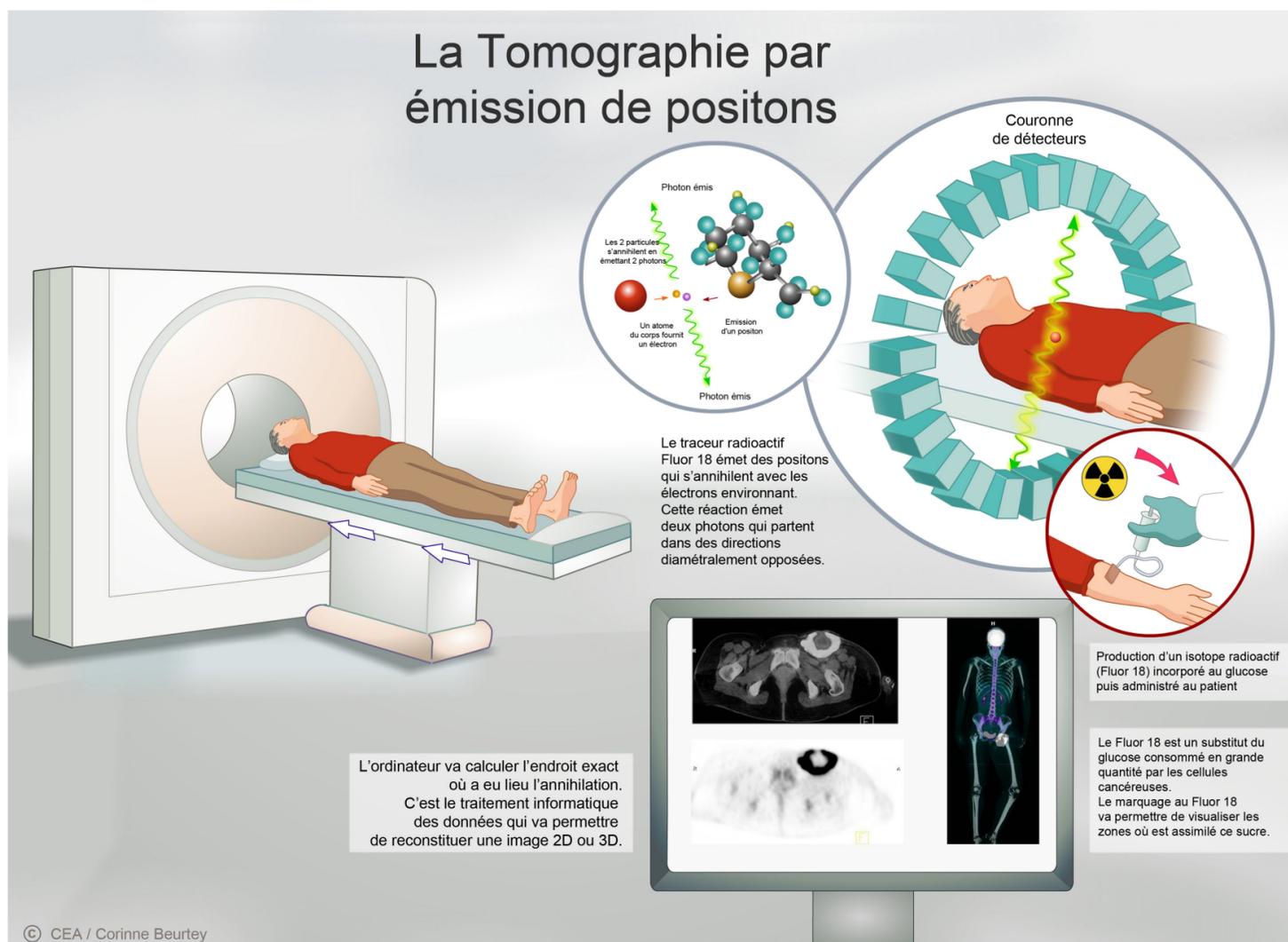


Figure 19 : Schéma et fonctionnement de l'imagerie TEP

Plus sensible mais plus chère qu'une analyse TEMP, la TEP est actuellement très utilisée dans le domaine de l'oncologie en clinique. Son utilisation dans le domaine des neurosciences reste

aujourd'hui réservée à la recherche. Afin d'obtenir une image de meilleure qualité, une analyse TEP est couplée à un scanner pour corriger un certains nombres de phénomènes physiques (diffusion, atténuation, coïncidences simultanées) responsables de la création de faux-positifs après traitement informatique.

Les radionucléides émetteurs β^+ ont une durée de demi-vie beaucoup plus courte que les émetteurs γ . Ces radioisotopes sont préparés à l'aide d'un cyclotron, un accélérateur de particules. Ce cyclotron est constitué de deux demi cercles où à l'intérieur un champ magnétique est exercé et à l'interface s'applique un champ électrique alternatif de fréquence constante. Ainsi la particule prend une trajectoire circulaire sous l'action du champ magnétique et est accélérée progressivement par le champ électrique après chaque passage à l'interface des deux demi-cercles. A la sortie du cyclotron, la particule est dirigée vers une source contenant le matériau cible pour la réaction nucléaire et obtenir le radionucléide désiré. Le **Tableau 2** recense les radionucléides utilisés aujourd'hui dans la littérature ainsi que leurs propriétés physico-chimiques. ^[55]

Radionucléide	Temps demi-vie ($t_{1/2}$)	Source	Réaction nucléaire	Produit
^{11}C	20,4 minutes	$^{14}\text{N}_2$	$^{14}\text{N}(p,n)^{11}\text{C}$	$^{11}\text{CO}_2$
^{13}N	9,97 minutes	H_2O	$^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$	$^{13}\text{NH}_4^+$
^{15}O	2,04 minutes	$^{15}\text{N}_2$	$^{14}\text{N}(d,n)^{15}\text{O}$	C^{15}O_2
^{18}F	1,83 heures	H_2^{18}O	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	$^{18}\text{F}^-$

p = proton, n = neutron, d = deutérium, α = particule α (noyau d'Hélium)

Tableau 2 : Principaux radionucléides utilisés pour l'imagerie TEP

2.4.2. Radio-pharmaceutiques dans la littérature

Bien que la demi-vie des radionucléides émetteurs β^+ soit plus courte, le développement de radiotraceurs pour l'imagerie TEP est plus fréquent et plus facile que pour l'imagerie TEMP. En effet, les isotopes stables correspondant aux radionucléides précédent cités sont des éléments très communs en chimie organique et constituent à plus de 85% le corps humain. ^[69] L'oxygène-15 et l'azote-11, de part leur demi-vie très faible, sont essentiellement utilisés pour l'analyse du débit sanguin, en cardiologie et pour l'observation fonctionnelle du cerveau.

En France, seulement 7 composés radio-pharmaceutiques ont une AMM pour un usage diagnostique en imagerie TEP. ^[56] Si un radiotraceur devait être cité pour l'imagerie TEP, le [^{18}F]FDG (fluorodeoxyglucose) serait sans aucun doute le composé en tête de liste. Découvert au début des années 1970, cet analogue du glucose est prioritairement capté par les organes dont l'apport en glucose est important (le cerveau, le foie) mais aussi par les cellules cancéreuses. ^[70] Le radiotraceur pénètre

⁶⁹ Chang, R. *Chemistry, Ninth Edition*, McGraw-Hill, 2007, pp. 52.

⁷⁰ Som, P.; Atkins, H. L.; Bandoypadhyay, D.; Fowler, J. S.; MacGregor, R. R.; Matsui, K.; Oster, Z. H.; Sacker, D. F.; Shiue, C. Y.; Turner, H.; Wan, C. N.; Wolf, A. P.; Zabinski, S. V. *J. Nucl. Med.* **1980**, 21, 670–675.

dans la cellule par l'action d'un transporteur membranaire où il est phosphorylé. La substitution du groupement hydroxy en position 2 par l'atome de fluor empêche la métabolisation de la molécule suivant la voie naturelle de glycolyse. Le radioligand s'accumule dans la cellule cancéreuse ce qui permet de détecter un tissu tumoral (grâce aux principes physiques précédemment exposés). Après désintégration du radionucléide en oxygène-18, la métabolisation suivant la voie naturelle est de nouveau possible. D'autres radioligands fluorés ont été développés plus récemment et approuvés par la FDA. Le **Florbetaben** ^[71] et le **Flutemetamol** ^[72] sont deux radiotraceurs utilisés pour la détection de plaques amyloïdes dans la Maladie d'Alzheimer (**Figure 20**).

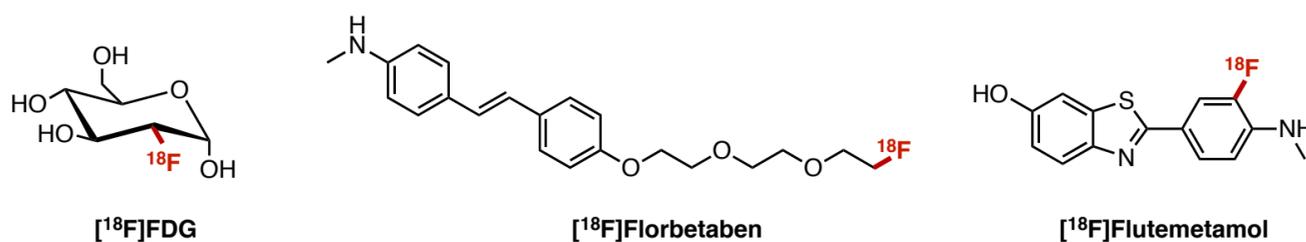


Figure 20 : Exemple de radioligands au Fluor-18 pour l'imagerie TEP

L'utilisation du carbone-11 en imagerie TEP est tout aussi importante bien que réservée à la recherche à l'heure actuelle en France. Le développement de la [¹¹C]Méthionine, un acide aminé, a permis la détection des tumeurs cérébrales là où le [¹⁸F]FDG ne pouvait donner d'image. ^[73] La [¹¹C]Choline est le seul marqueur au carbone-11 à avoir été approuvé par la FDA en 2012. Il est principalement utilisé en oncologie dans la détection des cancers de la prostate. ^[74] Parmi les autres radioligands au carbone-11 décrits dans la littérature, le [¹¹C]DASB a montré son intérêt dans le domaine des neurosciences en étant capable de se fixer sur les transporteurs de la sérotonine (SERT) (**Figure 21**). ^[75]

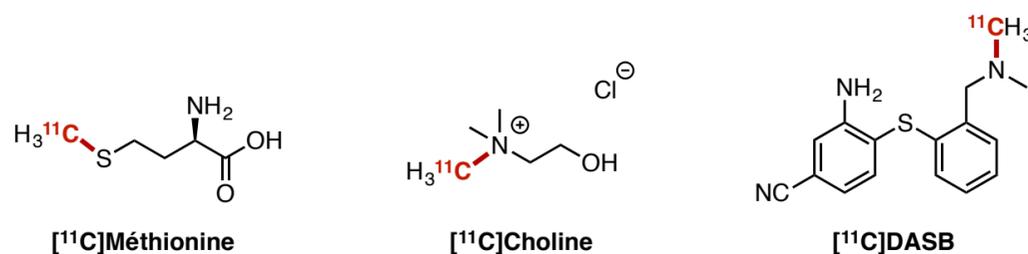


Figure 21 : Exemple de radioligands au Carbone-11 pour l'imagerie TEP

2.4.3. Radiotraceurs pour l'imagerie TEP des récepteurs 5-HT₄

Les résultats *in vivo* encourageants obtenus en imagerie TEMP par le [¹²³I]SB-207710 en 2003 ont amenés plusieurs études dans le cadre du développement de radioligands pour l'imagerie TEP.

⁷¹ Zhang, W.; Oya, S.; Kung, M.-P.; Hou, C.; Maier, D. L.; Kung, H. F. *Nucl. Med. Biol.* **2005**, *32*, 799–809.

⁷² Wong, D. F.; Moghekar, A. R.; Rigamonti, D.; Brašić, J. R.; Rousset, O.; Willis, W.; Buckley, C.; Smith, A.; Gok, B.; Sherwin, P.; Grachev, I. D. *Mol. Imaging Biol.* **2013**, *15*, 230–237.

⁷³ Gludemans, A. W. J. M.; Enting, R. H.; Heesters, M. A. A. M.; Dierckx, R. A. J. O.; van Rheenen, R. W. J.; Walenkamp, A. M. E.; Slart, R. H. J. A. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2013**, *40*, 615–635.

⁷⁴ Castellucci, P.; Fuccio, C.; Rubello, D.; Schiavina, R.; Santi, I.; Nanni, C.; Allegri, V.; Montini, G. C.; Ambrosini, V.; Boschi, S.; Martorana, G.; Marzola, M. C.; Fanti, S. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2011**, *38*, 55–63.

⁷⁵ Houle, S.; Ginovart, N.; Hussey, D.; Meyer, J. H.; Wilson, A. A. *Eur. J. Nucl. Med.* **2000**, *27*, 1719–1722.

Courant 2008, un analogue marqué au carbone-11, le [¹¹C]SB-207145, a été testé simultanément chez le porc et chez l'humain.^{[76],[77]} Les expériences *in vivo* chez l'Homme ont notamment pu permettre la mesure de densité des 5-HT₄R chez un patient sain ou atteint de la Maladie d'Alzheimer. Néanmoins l'utilisation pour l'imagerie médicale reste très limitée en raison d'une durée de vie *in vivo* très courte.^[78] De plus, par saponification de la fonction ester, les métabolites radiomarqués sur la chaîne alcool correspondante s'éliminent plus difficilement créant un signal parasite (**Figure 22**). Afin d'augmenter la stabilité métabolique de ces radioligands, une nouvelle étude de pharmacomodulation a été effectuée en 2010. Par ouverture du cycle dioxane et transfert du radionucléide sur le motif aromatique, deux nouveaux radioligands ont été obtenus [¹¹C]RX-1 et [¹⁸F]RX-2.^[79] L'étude *in vivo* réalisée chez le primate quelques années plus tard confirmera la meilleure élimination des radiométabolites mais montrera finalement de moins bonnes caractéristiques *in vivo* de ces composés par rapport à ceux développés dans la littérature.^[80] En 2013, afin d'obtenir une durée de vie *in vivo* plus importante, une nouvelle série analogue a vu le jour avec la synthèse de deux nouveaux radioligands fluorés le [¹⁸F]MNI-698 et [¹⁸F]MNI-699.^[81] D'abord évalués *in vitro* sur le rat puis *in vivo* chez le primate, ces radioligands se sont montrés spécifiques et capable de franchir plus facilement la BHE grâce à une lipophilie plus adéquate. Cependant, la faible durée de vie métabolique de ces radioligands empêche une nouvelle fois une étude approfondie de ces récepteurs en conditions fonctionnelles. Cette même année, le marquage au carbone-11 du **Prucalopride** (§ 1.3.4) a été investigué mais les résultats ont indiqué que ce radioligand pouvait potentiellement interagir avec la glycoprotéine P (P-GP) rendant son utilisation inappropriée.^[82]

⁷⁶ Kornum, B. R.; Lind, N. M.; Gillings, N.; Marnier, L.; Andersen, F.; Knudsen, G. M. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2009**, *29*, 186–196.

⁷⁷ Gee, A.; Martarello, L.; Passchier, J.; Wishart, M.; Parker, C.; Matthews, J.; Comley, R.; Hopper, R.; Gunn, R. *Curr. Radiopharm.* **2008**, *1*, 110–114.

⁷⁸ Marnier, L.; Gillings, N.; Comley, R. A.; Baaré, W. F. C.; Rabiner, E. A.; Wilson, A. A.; Houle, S.; Hasselbalch, S. G.; Svarer, C.; Gunn, R. N.; Laruelle, M.; Knudsen, G. M. *J. Nucl. Med.* **2009**, *50*, 900–908.

⁷⁹ Xu, R.; Hong, J.; Morse, C. L.; Pike, V. W. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7035–7047.

⁸⁰ Lohith, T. G.; Xu, R.; Tsujikawa, T.; Morse, C. L.; Anderson, K. B.; Gladding, R. L.; Zoghbi, S. S.; Fujita, M.; Innis, R. B.; Pike, V. W. *Synapse* **2014**, *68*, 613–623.

⁸¹ Caillé, F.; Morley, T. J.; Tavares, A. A. S.; Papin, C.; Twardy, N. M.; Alagille, D.; Lee, H. S.; Baldwin, R. M.; Seibyl, J. P.; Barret, O.; Tamagnan, G. D. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6243–6247.

⁸² Buiter, H. J.; Windhorst, A. D.; Huisman, M. C.; De Maeyer, J. H.; Schuurkes, J. A.; Lammertsma, A. A.; Leysen, J. E. *EJNMMI Res.* **2013**, *3*, 24.

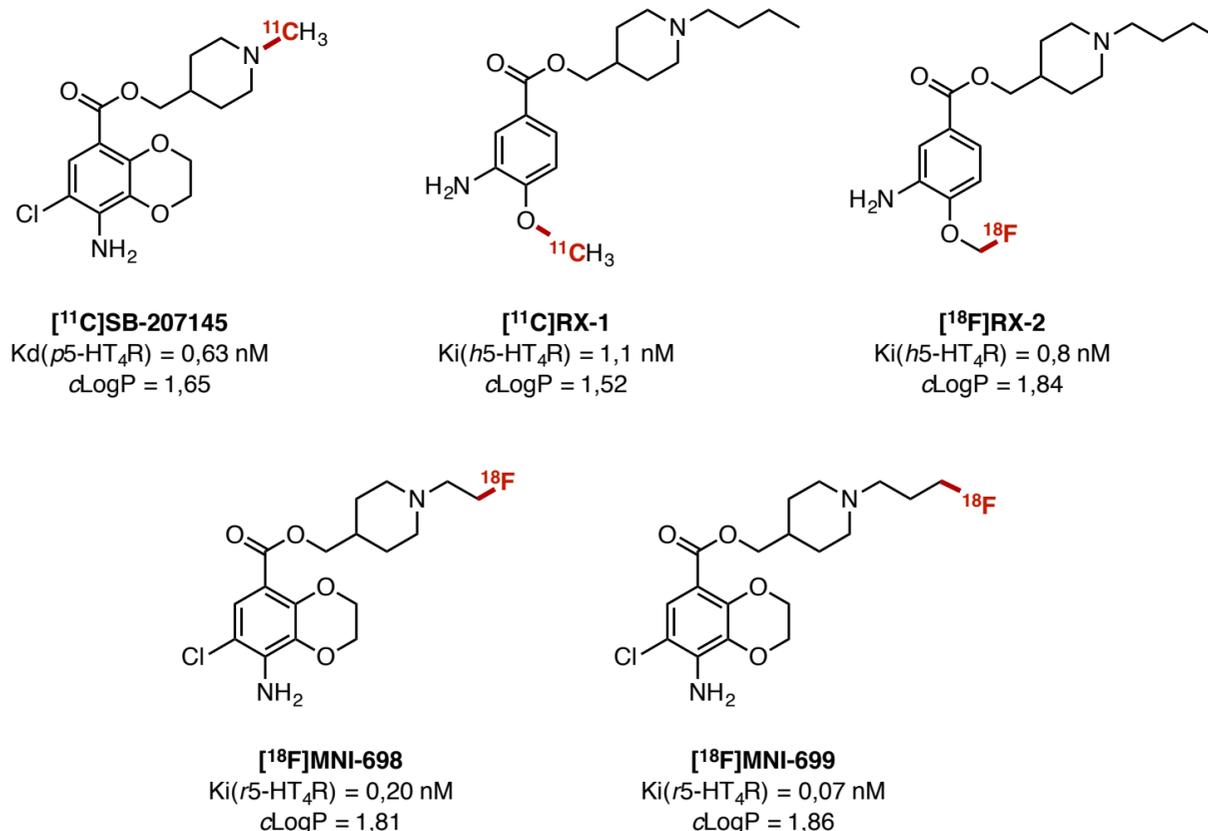


Figure 22 : Radioligands développés pour l'imagerie TEP des récepteurs 5-HT₄

Ces dernières années, plusieurs radioligands pour l'imagerie des récepteurs 5-HT₄ ont été évalués *in vivo* aussi bien pour l'imagerie TEMP que pour l'imagerie TEP. Si le noyau (piperidin-4-yl)méthyl-2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxine-5-carboxylate fonctionnalisé a montré sa capacité à être affiné et spécifique du récepteur 5-HT₄, l'utilisation *in vivo* des analogues radiomarqués reste très restreinte. La faible stabilité métabolique, la demi-vie relativement courte de certains radionucléides et la haute lipophilie limitant le franchissement de la BHE sont les principaux paramètres responsables de la brève durée de vie *in vivo* de ces radioligands. L'ajustement de ces facteurs s'avère indispensable pour développer un composé radiomarqué réunissant les critères adéquats pour l'obtention d'un nouveau radiotracteur.

La conception d'un radiotracteur pour l'imagerie des 5-HT₄R constitue l'une des thématiques de recherche historique au sein du laboratoire. En collaboration avec l'équipe de Philippe Millet des Hôpitaux Universitaires de Genève, la synthèse de nouveaux radioligands iodés pour l'imagerie TEMP a fait l'objet de nombreux travaux au sein du laboratoire.

3. Travaux antérieurs et présentation des objectifs de recherche de la thèse

Le développement de nouveaux outils thérapeutiques ou à visée diagnostique dans le domaine des neurosciences est un des axes de recherche principal du Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie. La conception de nouveaux ligands sélectifs des 5-HT₄R est un fil conducteur du laboratoire depuis une vingtaine d'années ou plusieurs générations de ligands se sont succédées dans l'optique d'aboutir à la synthèse d'un potentiel agent thérapeutique. En s'appuyant sur ces résultats, le développement d'un agent diagnostique a été investigué.

3.1. Première génération : découverte d'un système tricyclique prometteur (2003-2009)

C'est au début des années 2000 que commence une longue étude de pharmacomodulation pour le développement de nouveaux ligands 5-HT₄. Les premiers travaux simultanés de Hirschberger *et al.*,^[83] et Lemaître *et al.*^[84] se sont focalisés sur la conception de systèmes tricycliques. Le choix d'un tel système repose sur plusieurs idées. D'une part certains squelettes tricycliques sont fréquemment rencontrés dans les antidépresseurs et les neuroleptiques : il a été indiqué précédemment (§ 1.2) que les 5-HT_{1A}R, en raison du rôle de la sérotonine dans le contrôle de l'humeur, étaient la cible de nombreuses substances médicamenteuses dont les antidépresseurs et les neuroleptiques. D'autre part, plusieurs ligands 5-HT₃ tels que le **Zacopride**, le **Renzapride** ou le **Métaclopramide** se sont aussi montrés affins vis-à-vis du 5-HT₄R.^[40] Le récent développement au laboratoire d'un agoniste partiel pour 5-HT₃R en série pyrrolo[1,3-*a*]thieno[3,2-*e*]pyrazine, le **S-21007** a donc été le point de départ de ces travaux.^[85] En s'appuyant sur les études pharmacophoriques publiées pour 5-HT₄R, les ligands 5-HT₄ développés dans la littérature ainsi que la modulation du **S-21007** pour la conception de nouveaux ligands 5-HT₄, deux composés présentant une bonne affinité ont été obtenus : **MR-21366** (K_i(c5-HT₄R) = 2,89 nM) et **MR-23234** (K_i(h5-HT₄R) = 2,00 nM) (**Figure 23**).

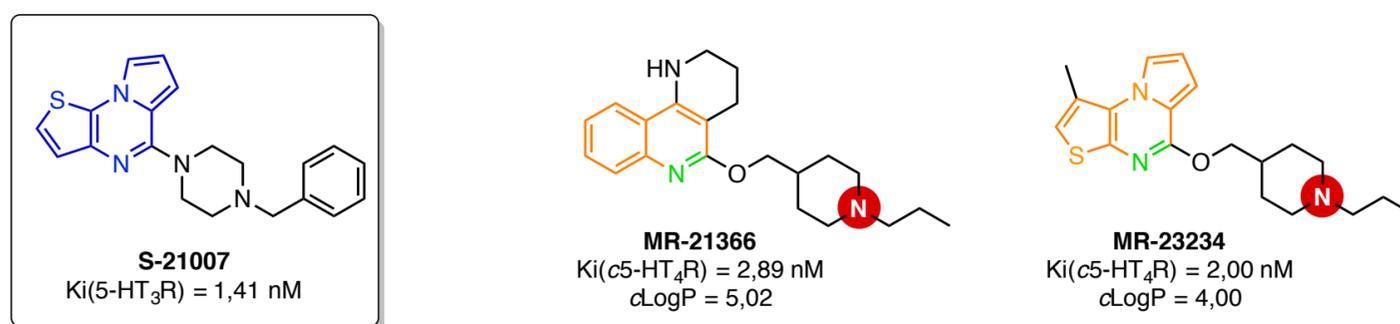


Figure 23 : Ligands affins des 5-HT₄R issus de la première génération

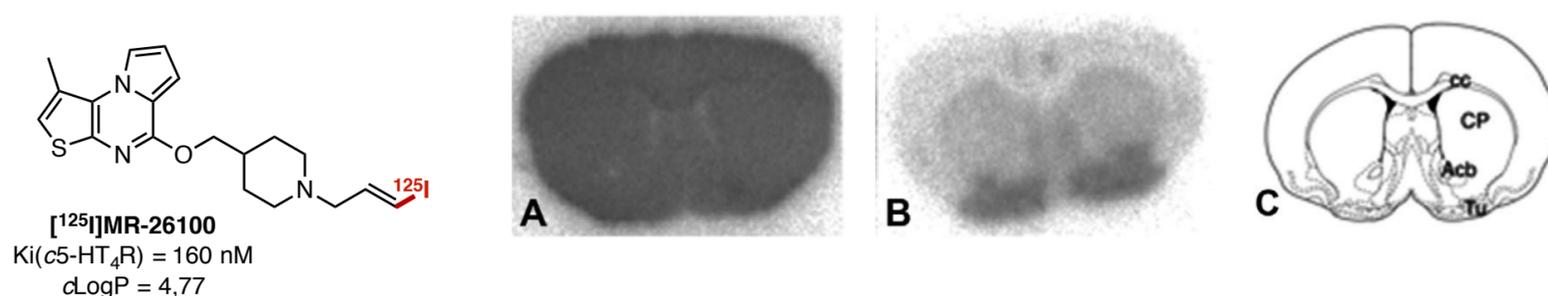
Ces composés, montrant une très bonne affinité vis-à-vis du récepteur, les premiers travaux vers l'obtention d'un radiotracer ont été réalisés. L'insertion d'un atome d'iode a été investiguée pour l'obtention d'un premier radioligand pour l'imagerie TEMP. Celui-ci a été introduit par la chaîne 3-iodoallyl avec la synthèse du **MR-26100** (K_i(h5-HT₄R) = 160 nM) dont l'analogue radiomarqué à l'iode-125 a été évalué *in vitro* (**Figure 24**).^[86]

⁸³ Hirschberger, A.; Butt, S.; Lelong, V.; Boulouard, M.; Dumuis, A.; Dauphin, F.; Bureau, R.; Pfeiffer, B.; Renard, P.; Rault, S. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 138–147.

⁸⁴ Lemaître, S.; Lepailleur, A.; Bureau, R.; Butt-Gueulle, S.; Lelong-Boulouard, V.; Duchatelle, P.; Boulouard, M.; Dumuis, A.; Daveu, C.; Lezoualc'h, F.; Pfeiffer, B.; Dauphin, F.; Rault, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2607–2622.

⁸⁵ Rault, S.; Lancelot, J.-C.; Prunier, H.; Robba, M.; Renard, P.; Delagrangé, P.; Pfeiffer, B.; Caignard, D.-H.; Guardiola-Lemaitre, B.; Hamon, M. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2068–2080.

⁸⁶ Cailly, T.; Dumas, N.; Millet, P.; Lemaître, S.; Fabis, F.; Charnay, Y.; Rault, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5465–5467.



A : marquage *in vitro* du [¹²⁵I]MR-26100 sur coupe de cerveau de souris
B : marquage *in vitro* du [¹²⁵I]SB-207710 sur coupe de cerveau de souris
C : section coronale théorique de la souris
Acb = noyau accumbens, *cc* = corps calleux, *CP* = putamen et noyau caudé de striatum, *Tu* = tubercules olfactifs.

Figure 24 : Marquage *in vitro* des 5-HT₄R par le radioligand issu de la première génération

L'évaluation biologique a montré une importante diminution de l'affinité envers le récepteur en substituant le propyl par la chaîne 3-iodoallyl. Les résultats d'imagerie ont quant à eux indiqué une absence totale de spécificité du signal. Si le squelette tricyclique semble effectivement apporter l'affinité pour les 5-HT₄R, l'introduction de l'atome d'iode a, quant à lui, mené à une perte de l'affinité vis-à-vis du récepteur conduisant à une nouvelle étude de pharmacomodulation.

3.2. Seconde génération : obtention de la sélectivité par le noyau phénanthridine (2009-2012)

Ces nouveaux travaux de synthèse ont été réalisés par Dubost *et al.* à partir de l'année 2009.^[87] En conservant un système tricyclique cette fois-ci en série phénanthridine, les auteurs ont dans un premier temps étudié l'impact du substituant en fonction de la position et des effets électroniques. Puis une seconde étude a été menée en introduisant un atome d'azote sur le cycle phénanthridine pour optimiser les résultats. Des travaux de *docking* ont montré la capacité de ces nouvelles molécules à interagir avec le récepteur et ont mis en avant l'importance de l'introduction d'un nouvel atome d'azote capable de créer une nouvelle interaction avec le récepteur. Un nouveau composé a été obtenu, le **MR-26107** ($K_i(h5\text{-HT}_4\text{R}) = 0,04 \text{ nM}$), possédant une excellente affinité envers 5-HT₄R (**Figure 25**).

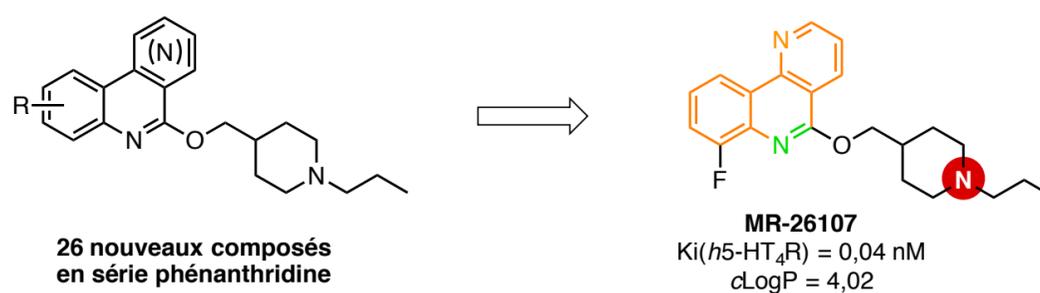
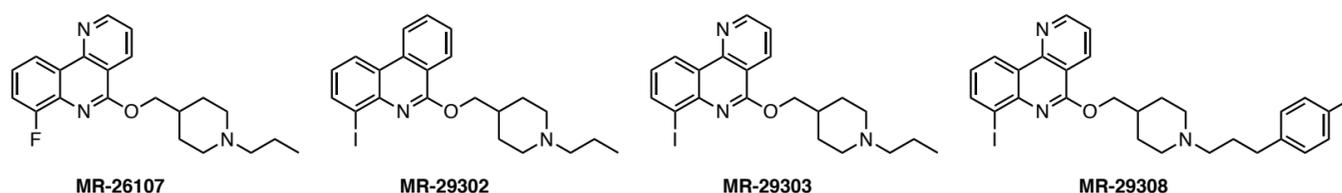


Figure 25 : Ligand « hit » issu de la seconde génération

Les mesures de sélectivités effectuées vis-à-vis des autres 5-HTR sur les composés possédant les meilleures affinités pour 5-HT₄R ont indiqué que cette nouvelle modulation apporte la sélectivité recherchée (**Tableau 3**).

⁸⁷ Dubost, E.; Dumas, N.; Fossey, C.; Magnelli, R.; Butt-Gueulle, S.; Ballandonne, C.; Caignard, D. H.; Dulin, F.; Sopkova de-Oliveira Santos, J.; Millet, P.; Charnay, Y.; Rault, S.; Cailly, T.; Fabis, F. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9693–9707.



Ligands	MR-26107	MR-29302	MR-29303	MR-29308
<i>h5</i> -HT _{1A}	4967 nM	*	5629 nM	620 nM
<i>h5</i> -HT _{1B}	*	*	*	*
<i>h5</i> -HT _{1D}	*	*	*	*
<i>h5</i> -HT _{1E}	*	*	*	*
<i>h5</i> -HT _{2A}	*	1019 nM	1825 nM	810 nM
<i>h5</i> -HT _{2B}	136 nM	162 nM	*	340 nM
<i>h5</i> -HT _{2C}	492 nM	772 nM	341 nM	400 nM
<i>h5</i> -HT ₃	641 nM	1314 nM	*	410 nM
<i>h5</i> -HT ₄	0,04 nM	1,20 nM	0,26 nM	0,23 nM
<i>h5</i> -HT _{5A}	*	5805 nM	*	1700 nM
<i>h5</i> -HT ₆	*	*	*	*
<i>h5</i> -HT ₇	1945 nM	153 nM	1018 nM	150 nM

* = constante d'affinité supérieure à 10000 nM

Tableau 3 : Evaluation de la sélectivité vis-à-vis des autres 5-HTR

Un ligand peut être considéré comme sélectif d'une cible par rapport à une autre lorsque la différence d'affinité entre ces deux cibles est supérieure à 100 nM. Le meilleur composé issu de l'étude de pharmacomodulation (**MR-26107**) ainsi que trois ligands iodés dérivés de ce composé, **MR-29302**, **MR-29303** et **MR-29308** ont montré une sélectivité pour le récepteur 5-HT₄ vis-à-vis des autres 5-HTR. Cependant, réaliser *in vitro* ces expériences de sélectivité est coûteux, long et limité. Pour la conception d'un radiotracer TEMP, les études d'imagerie, faciles d'accès, sont dans un premier temps suffisantes pour étudier la sélectivité d'un composé. Dans le cas où le signal n'est pas spécifique deux cas de figures sont à envisager : la non spécificité peut provenir soit d'interactions hydrophobes avec le milieu environnement (des membranes par exemple) soit d'un manque de sélectivité du radioligand vis-à-vis du récepteur ciblé. Dans le second cas, des études de sélectivité *in vitro* sur différents récepteurs de la famille des 5-HTR ou proches de cette famille peuvent être menées pour identifier les cibles incriminées.

Les trois nouveaux ligands iodés ont été radiomarqués : le [¹²⁵I]**MR-29302** et le [¹²⁵I]**MR-29303** en substituant l'atome de fluor par l'atome d'iode respectivement sur le noyau phénanthridine et benzonaphtyridine ainsi que le [¹²⁵I]**MR-29308** où l'atome d'iode est introduit par une chaîne 3-(4-iodophenyl)propyl. (**Figure 26**).

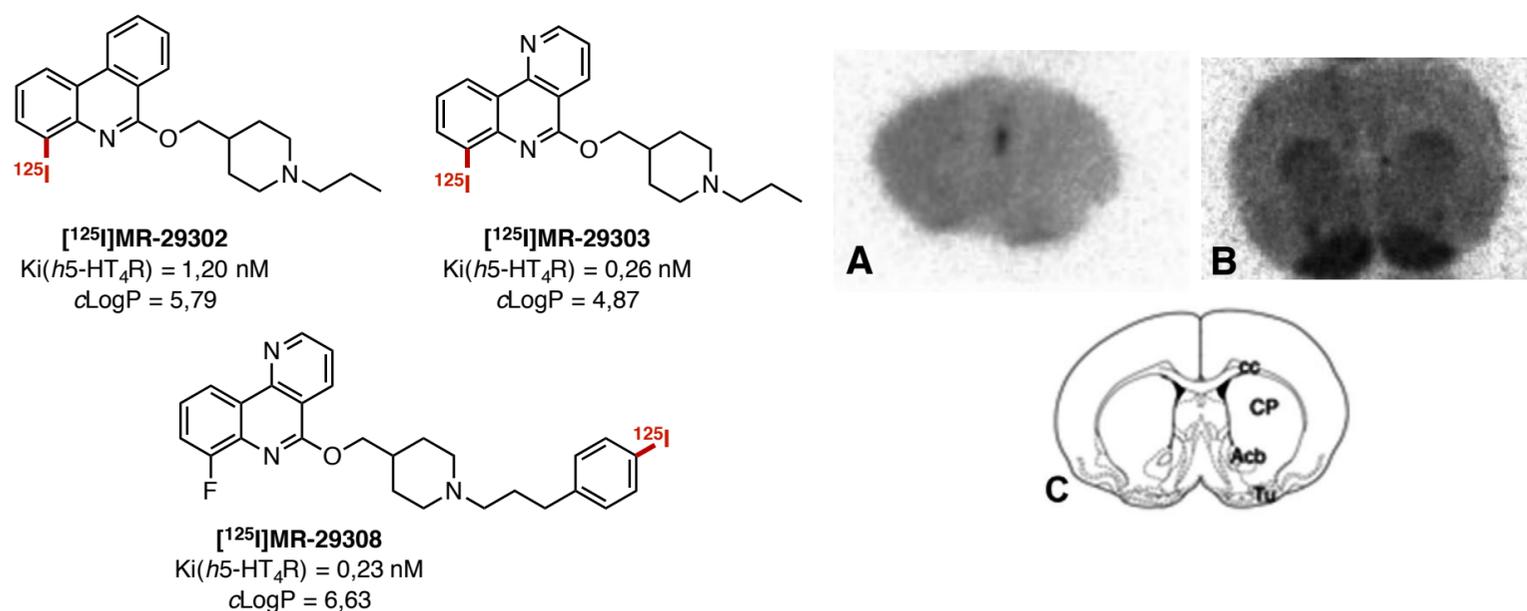
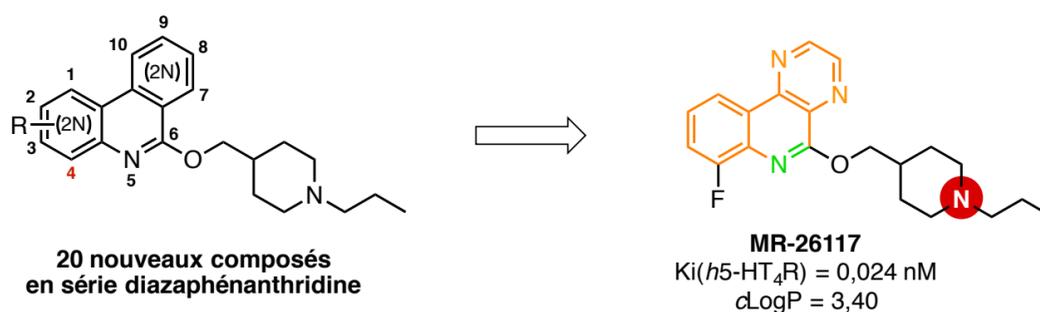


Figure 26 : Marquage *ex vivo* des 5-HT₄R par les radioligands issus de la seconde génération

Une nouvelle fois les résultats d'imagerie s'avèrent décevants. L'injection des radioligands n'a pas abouti à un marquage des zones riches en 5-HT₄R. Cependant, les études de déplacement du [¹²⁵I]SB-207710 par le ligand non radioactif MR-29308 ont indiqué la capacité de cette nouvelle génération à se fixer sur les zones riches en 5-HT₄ *in vitro*. En effet avec une concentration de 1nM en MR-29308, plus aucun signal n'est observé lors de l'autoradiographie. L'absence de marquage *ex vivo* peut alors s'expliquer par une lipophilie trop élevée rendant le passage de la BHE délicate.

3.3. Troisième génération : contrôle de la lipophilie par la série diazaphénanthridine (2012-2015)

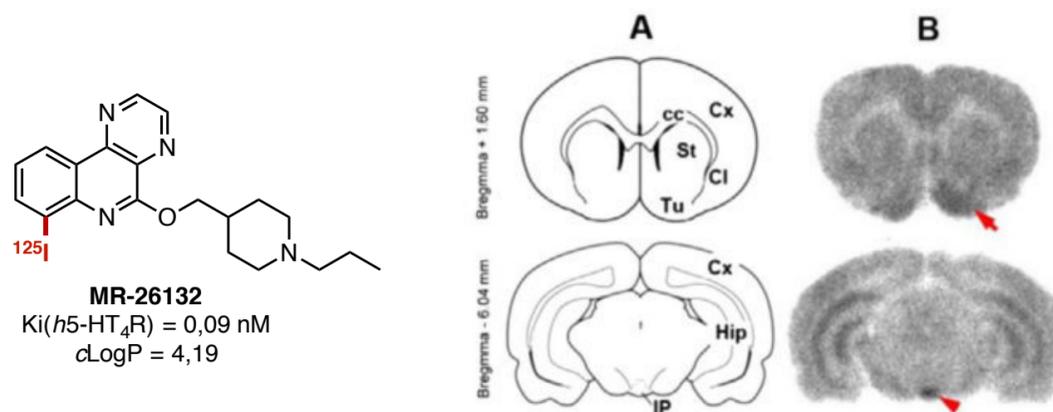
Cette étude a été menée par Fresneau *et al.* à partir de 2012.^[88] Afin de diminuer la lipophilie de ces nouveaux composés, l'introduction d'un autre atome d'azote a été étudiée sur le motif aromatique. Les travaux de synthèse se sont d'abord focalisés sur la conception de différents noyaux diazaphénanthridines et il s'est avéré que l'enchaînement pyrazino[2,3-*c*]quinoline apportait les meilleurs résultats. Puis la substitution de ce système tricyclique a ensuite été étudiée. En prenant en considération les résultats des précédentes générations, la modulation de la position 4 du squelette aromatique a abouti à la synthèse d'un nouveau composé très affin le MR-26117 présentant une affinité de l'ordre du picomolaire ($Ki(h5-HT_4R) = 0,024 \text{ nM}$) (Figure 27).



⁸⁸ Fresneau, N.; Dumas, N.; Tournier, B. B.; Fossey, C.; Ballandonne, C.; Lesnard, A.; Millet, P.; Charnay, Y.; Cailly, T.; Bouillon, J.-P.; Fabis, F. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 386–396.

Figure 27 : Ligand « hit » issu de la troisième génération

L'affinité envers 5-HT₄ a été améliorée, la sélectivité conservée et la lipophilie a été diminuée. La substitution du fluor par un atome d'iode a donné lieu à la synthèse du **MR-26132** (Ki(h5-HT₄R) = 0,09 nM), dont l'analogue radiomarqué a été évalué *in vivo* (**Figure 28**).



A : section coronale théorique de la souris
B : marquage *ex vivo* du [¹²⁵I]MR-26132 sur coupe de cerveau de rat
 cc = corps calleux, Cl = claustrum, Cx = cortex, Hip = hippocampe, IP = noyau interpedonculaire, St = striatum, Tu = tubercule olfactif

Figure 28 : Marquage *ex vivo* des 5-HT₄R par le radioligand issu de la troisième génération

Malgré la substitution de l'atome de fluor par un atome d'iode, l'affinité envers le récepteur reste excellente et pour la première fois, un radioligand a pu marquer les zones riches en 5-HT₄R *ex vivo*. En effet on observe une forte activité radioactive au niveau du noyau interpedonculaire ainsi que dans le tubercule olfactif. Néanmoins, le manque de spécificité du signal a été relevé par les auteurs avec notamment un important marquage au niveau du claustrum, région dans laquelle la densité des 5-HT₄R n'est pas élevée. Par ailleurs après déplacement du radioligand par l'antagoniste **RS-39604**, les mesures de quantification se sont révélées très faibles au niveau de l'hippocampe, région pourtant très dense en 5-HT₄R. Bien que non spécifique, le marquage reste très encourageant car l'observation de régions riches en 5-HT₄R signifie que le radioligand a pu franchir la BHE. Si l'introduction de l'atome d'iode n'a pas affecté l'affinité du ligand envers le récepteur, il a cependant eu une grande influence sur la lipophilie de la molécule.

Dans l'optique d'obtenir un signal plus spécifique une nouvelle étude de pharmacomodulation a été menée afin de diminuer la lipophilie de ces molécules. C'est dans ce cadre que s'inscrit une partie des travaux réalisés au cours de cette thèse.

3.4. Présentation des objectifs pour le développement d'une quatrième génération de radioligands

Au cours des 15 dernières années, plus d'une centaine de ligands basés sur un système tricyclique ont été synthétisés et évalués biologiquement au laboratoire. L'essentiel des modulations ayant eu lieu sur la nature du squelette tricyclique, une relation structure-activité entre le noyau pyrazino[2,3-c]quinoline et le récepteur 5-HT₄ a pu être suggérée. La lipophilie étant à l'heure actuelle le principal paramètre défaillant dans la conception de nouveaux radioligands, cette nouvelle génération a pour

objectif de faire diminuer cette valeur. Contrairement aux précédentes études réalisées, où la stratégie consistait à développer un ligand « hit » puis à y introduire un atome d'iode pour le radiomarquage, cet atome sera introduit en amont. La lipophilie sera ensuite ajustée par une nouvelle étude de pharmacomodulation sur la chaîne latérale substituant la pipéridine (**Figure 29**).

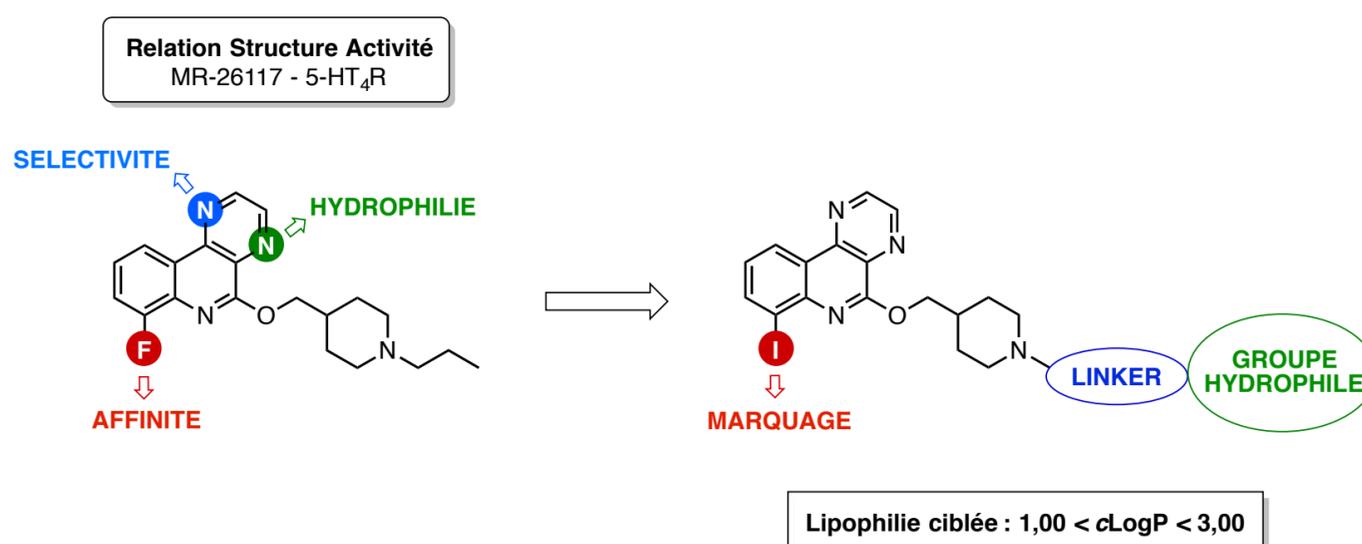


Figure 29 : travaux de synthèse pour le développement de la quatrième génération de molécules

Il a été établi précédemment (Chapitre 1, § 2.3.3) que les ligands possédant une lipophilie modérée, c'est à dire un $\text{LogP} < 3,5$ étaient plus à même de franchir la BHE. Les valeurs de lipophilie des ligands ciblés ayant été simulées par le logiciel MarvinSketch, il a été décidé de sélectionner des composés avec un $c\text{LogP} < 3,0$. En s'inspirant de la littérature, une large gamme de groupements hydrophiles a ainsi été déterminée. L'affinité de ces nouveaux ligands a été évaluée *in vitro* et les composés présentant les meilleurs résultats biologiques ont été marqués à l'iode-125 par nos collaborateurs en Suisse pour l'imagerie TEMP.

Au cours du prochain chapitre sera exposé la démarche suivie, séquencée en 6 étapes, pour aboutir à la synthèse de ces nouveaux radioligands. Dans ce même chapitre, deux autres études seront présentées résultant de deux collaborations développées au cours de ces années de thèse. En collaboration avec l'équipe du Dr. Bertrand Kuhnast du CEA d'Orsay, la conception d'un radiotraceur pour l'imagerie TEP sera évoquée. Puis issue d'une autre collaboration avec l'équipe du Dr. Sylvie Claeysen de l'Institut Génomique Fonctionnelle de Montpellier, la synthèse de ligands pour l'imagerie par fluorescence des 5-HT₄ sera exposée.

Chapitre 2 :

**Développement de nouveaux agents diagnostiques pour l'imagerie
des récepteurs 5-HT₄**

1. Evaluation de nouveaux ligands iodés pour l'imagerie TEMP des 5-HT₄R

1.1. Structuration du projet de recherche.

Dans l'optique d'accéder au développement d'un nouveau radiotraceur, une méthodologie de travail convergente a été établie. Ainsi, le travail à réaliser a pu être séquencé en six étapes (**Figure 30**).

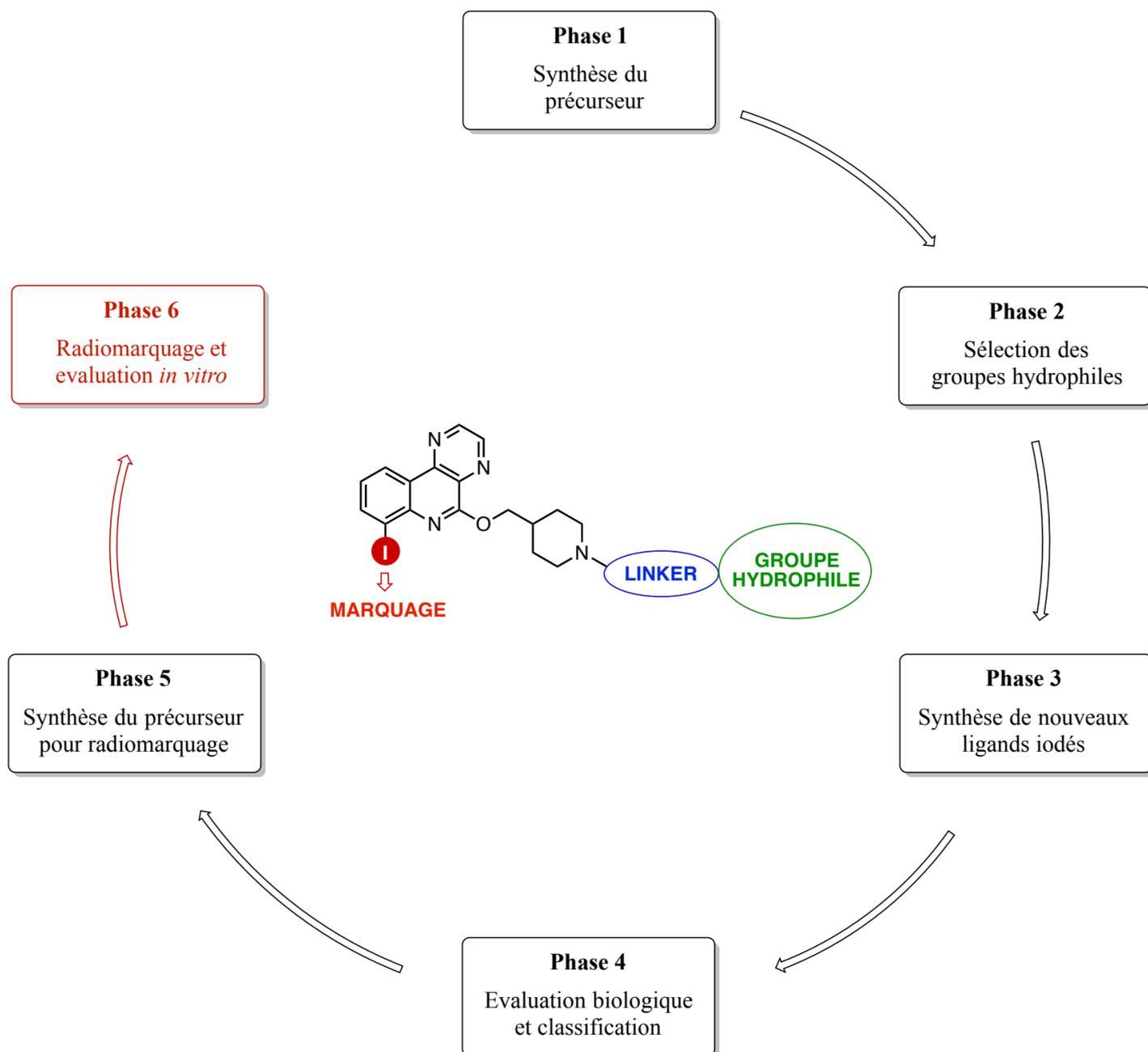


Figure 30 : Séquençage du projet de recherche pour le développement de nouveaux ligands iodés

La première étape consiste à déterminer et synthétiser un précurseur commun à tous les futurs ligands iodés. Celui-ci identifié, la seconde étape est dédiée à la sélection de groupements hydrophiles en s'inspirant de la littérature et en simulant la lipophilie obtenue. La combinaison des phases 1 et 2 permet d'aboutir à la phase 3 où les ligands ciblés sont synthétisés. En phase 4, ces ligands seront évalués biologiquement et les ligands présentant les meilleurs critères pour le radiomarquage sont sélectionnés. Le précurseur pour introduire l'iode radioactif est préparé en phase 5 puis envoyé à nos

collaborateurs en Suisse. Finalement en phase 6, la molécule est radiomarquée et évaluée *in vitro*. L'ensemble de cette démarche est décrit étape par étape dans la suite de cette partie.

1.2. Phase 1 : Synthèse du précurseur chimique commun

La pharmacomodulation de cette nouvelle génération de ligands se concentrant sur la nature des groupements hydrophiles substituant l'azote de la pipéridine, l'identification du précurseur commun s'est faite assez aisément. Le système tricyclique ainsi que la présence d'un motif pipéridine sont des éléments structuraux communs à tous les ligands de cette quatrième génération. Cela permet d'aboutir au composé **10**, précurseur commun, où l'azote de la pipéridine est protégé par un groupement -Boc (**Figure 31**).

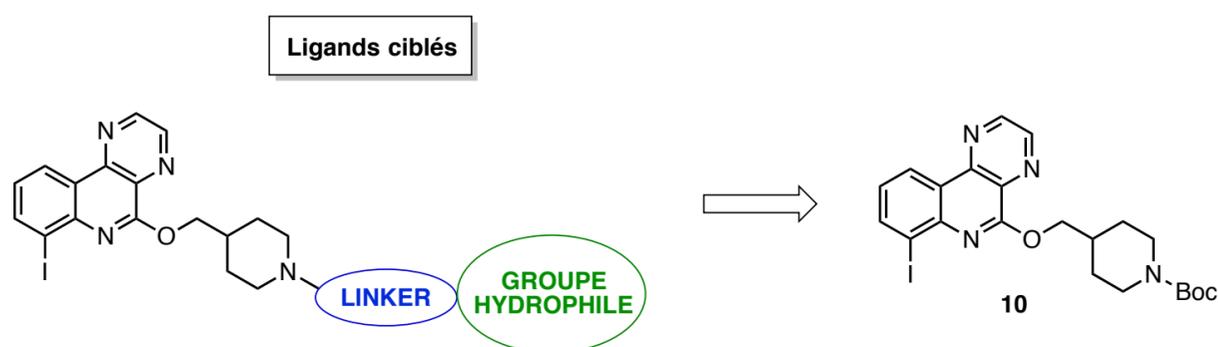


Figure 31 : Identification du précurseur commun **10**

En s'appuyant sur l'expérience du laboratoire acquise pour la synthèse d'un tel système tricyclique lors des précédentes étapes de pharmacomodulation, une voie de synthèse multi-étape a été développée en se basant sur le schéma rétrosynthétique suivant (**Figure 32**).

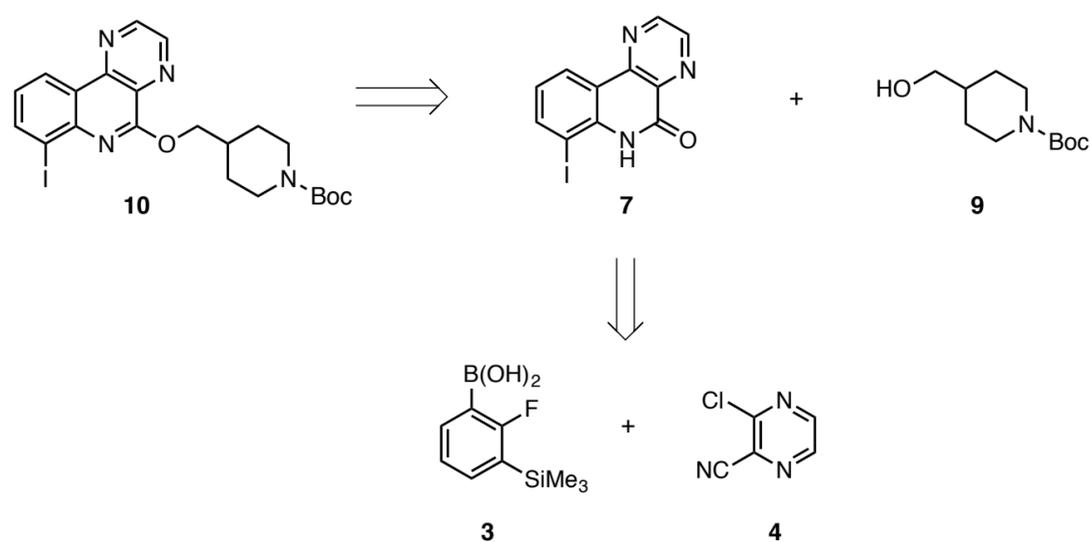


Figure 32 : Schéma rétrosynthétique pour l'obtention du précurseur **10**

Le composé **10** peut être obtenu à partir du lactame **7** et de la pipéridine **9**. L'obtention du précurseur **7** nécessite au préalable la synthèse du précurseur **3** suivant la voie de synthèse décrite ci-dessous (**Figure 33**).

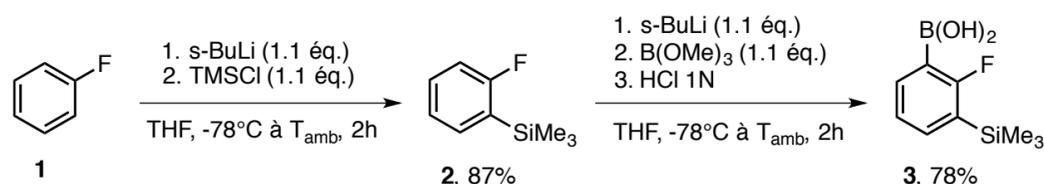


Figure 33 : Synthèse du précurseur 3

La formation de l'acide boronique **3** repose sur une silylation,^[89] puis une borylation successive du fluorobenzène **1**. Isolé avec un rendement de 68%, ce précurseur peut ensuite être engagé avec la pyrazine substituée **4** afin d'aboutir à la synthèse du précurseur **7** (Figure 34).

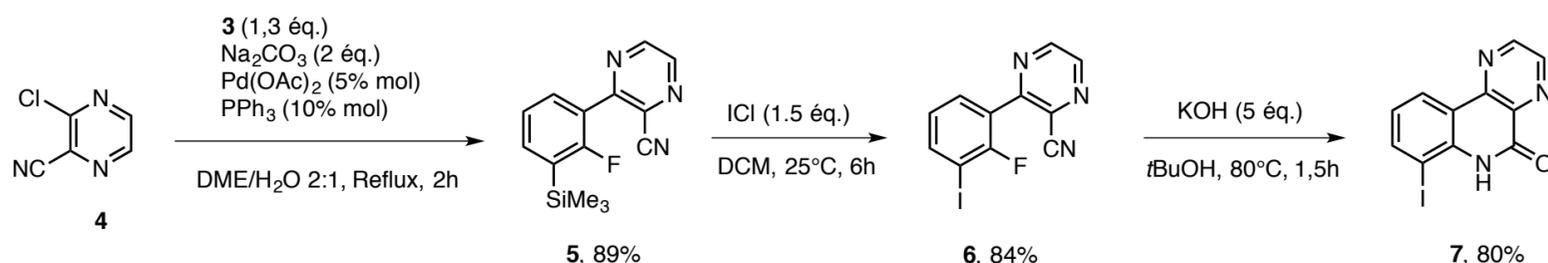


Figure 34 : Synthèse du précurseur 7

Le composé biarylé **5** est obtenu par couplage de type Suzuki-Miyaura entre les précurseurs **3** et **4**. Bien que précédemment réalisée au laboratoire,^[88] cette étape a dû être adaptée afin de permettre la synthèse du composé **5** sur plus grande quantité (à l'échelle du gramme). Initialement, le S-Phos été utilisé comme ligand dans cette réaction de couplage. Le prix relativement élevé de ce réactif a été le principal obstacle pour pouvoir appliquer ces conditions expérimentales à l'échelle du gramme. C'est pourquoi ce dernier a été remplacé par la triphénylphosphine, ligand beaucoup moins coûteux et tout aussi efficace. L'atome d'iode a ensuite été introduit par un échange silicium/iode pour aboutir au composé **6**. L'étape de cyclisation pour obtenir le précurseur **7** a, elle aussi, été réétudiée. Cette réaction de cyclisation, développée au laboratoire, nécessite des conditions dures au micro-ondes^[90] ou en tube scellé.^[91] L'utilisation d'un tel matériel n'est pas adapté pour une production à l'échelle du gramme. Il s'est alors avéré que réaliser cette réaction dans un ballon au volume adéquat à 80°C pendant 90 minutes permettait d'obtenir le produit de cyclisation avec un rendement de 80%. Le précurseur **7** a finalement été isolé avec un rendement de 60% sur 3 étapes.

En parallèle, la pipéridine **9** a été préparée à partir de l'isonipecotate d'éthyle **8** (Figure 35).

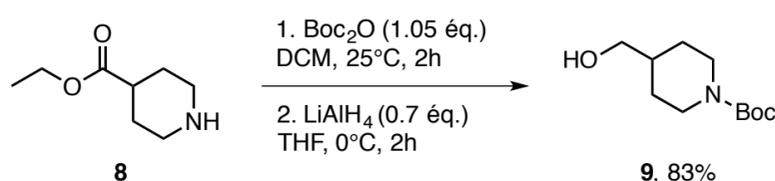


Figure 35 : Synthèse du précurseur 9

⁸⁹ Heiss, C.; Marzi, E.; Mongin, F.; Schlosser, M. *European J. Org. Chem.* **2007**, 669–675.

⁹⁰ Cailly, T.; Fabis, F.; Rault, S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5862–5867.

⁹¹ Fresneau, N.; Cailly, T.; Fabis, F.; Bouillon, J.-P. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 5393–5400.

La pipéridine **8** est dans un premier temps protégée par un groupement -Boc, puis dans une seconde étape la fonction ester est réduite par ajout de LiAlH₄ pour obtenir le précurseur **9** avec un rendement de 83%.

Enfin, les précurseurs **7** et **9** sont engagés afin d'aboutir au précurseur **10** (Figure 36).

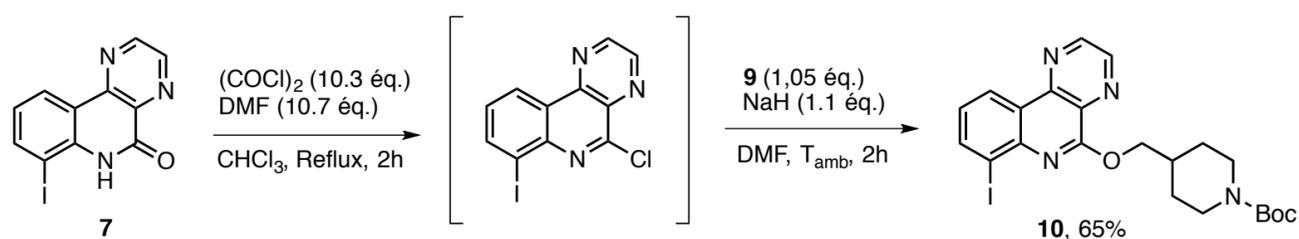


Figure 36 : Synthèse du composé **10** à partir des précurseurs **7** et **9**

Dans une première étape le δ -lactame **7** est transformé en chlorimine par l'intermédiaire d'un sel de Vilsmeier lors d'une réaction de chlorodeshydroxylation. Le précurseur **10** est finalement obtenu par substitution nucléophile aromatique de la pipéridine **9** sur la chlorimine précédemment préparée avec un rendement de 65%.

Cette voie de synthèse en 7 étapes a permis d'obtenir le précurseur **10** avec un rendement global de 26%. De plus, une structure cristalline de ce composé a été obtenue après solubilisation dans le chloroforme et évaporation lente du solvant (Figure 37).

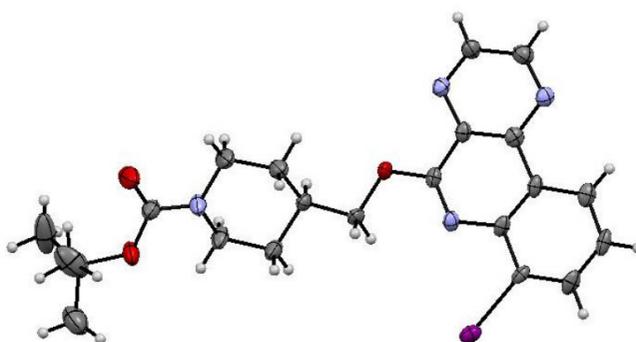


Figure 37 : Structure RX du précurseur **10**

1.3. Phase 2 : Sélection des groupements hydrophiles

La lipophilie est un paramètre physicochimique crucial à prendre en considération dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques ou diagnostiques. Elle définit la capacité d'un composé à se distribuer entre une phase organique et une phase aqueuse et peut être mesurée expérimentalement suivant deux modèles mathématiques :

- **le LogP** : assimilable à un coefficient de partage, cette constante est exprimée par le rapport entre la concentration du composé en milieu organique (C_{org}) sur la concentration du même composé en milieu aqueux (C_{aq}) (**6**). Généralement, le solvant organique choisi est l'octanol.

$$\log P = \frac{C_{\text{org}}}{C_{\text{aq}}} \quad (6)$$

- **le LogD_{pH}** : assimilable à un coefficient de distribution, cette expression, plus précise, fait intervenir les formes ionisables d'un composé au pK_A défini. Dépendante du pH, les mesures seront néanmoins réalisées à pH physiologique (c'est à dire pH = 7,4), et deux formules distinctes ont été établies en fonction de la forme acide (7a) ou basique (7b) du composé.

$$\log D_{\text{pH}} = \log P + \log \left(\frac{1}{(1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_A})} \right) \quad (7a)$$

$$\log D_{\text{pH}} = \log P + \log \left(\frac{1}{(1 + 10^{\text{pK}_A - \text{pH}})} \right) \quad (7b)$$

On définit ainsi un composé lipophile lorsque son log P ou log D est supérieur à 0 et inversement hydrophile lorsque cette valeur est inférieure à 0.

Plusieurs techniques existent pour déterminer expérimentalement ces valeurs. La plus classique et reconnue par la Pharmacopée se nomme la méthode du flacon agité (*shake-flask*) où une quantité connue de soluté à analyser est dissoute dans un mélange eau/octanol. Le flacon est remué pendant une trentaine de minutes puis chaque phase est ensuite analysée par HPLC pour déterminer la distribution du soluté.^[92] D'autres méthodes analytiques ont été développées pour la détermination de la lipophilie comme la pH-métrie, la chromatographie^[93] ou plus récemment l'utilisation de la RMN.^[94]

De nombreux travaux ont montré une corrélation entre la lipophilie et la pharmacocinétique d'un principe actif au travers d'études ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination, Toxicologie).^[95] Pour la conception d'un agent thérapeutique ou diagnostique, on retrouve dans la littérature une certaine gamme de valeur de lipophilie à respecter. Cette gamme peut néanmoins varier en fonction du site d'action et du mode d'action du médicament. Parmi les différents paramètres pharmacocinétiques, l'absorption, la distribution et le métabolisme sont particulièrement influencés par la lipophilie de la molécule. Ainsi premièrement, les études d'absorption ont notamment montré qu'une valeur de lipophilie comprise entre 1 et 3 était idéale afin d'optimiser la perméabilité cellulaire

⁹² Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 525–616.

⁹³ Valkó, K. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1037*, 299–310.

⁹⁴ Stéen, E. J. L.; Nyberg, N.; Lehel, S.; Andersen, V. L.; Di Pilato, P.; Knudsen, G. M.; Kristensen, J. L.; Herth, M. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 319–322.

⁹⁵ Waring, M. J. *Expert Opin. Drug Discov.* **2010**, *5*, 235–248.

et la solubilité d'un composé.^{[96], [97]} Un composé à tendance hydrophile franchit plus difficilement les barrières membranaires. En effet, les membranes cellulaires sont constituées d'une bicouche lipidique hydrophobe, ce qui exerce des forces répulsives vis-à-vis du principe actif, entravant sa pénétration cellulaire par diffusion. Inversement, un composé hydrophobe passera plus facilement les membranes, mais aura tendance à s'accumuler dans les tissus hydrophobes, (tissus, membranes) augmentant, dans le cadre du développement d'un radioligand, le risque de marquage non spécifique. Deuxièmement, les études de distribution, primordiales pour la conception de composé ciblant le SNC, ont stipulé qu'une lipophilie située entre 1 et 3 était optimale pour franchir la BHE.^[65] Troisièmement, au niveau du métabolisme et de l'élimination, les études ont indiqué une gamme adéquate de lipophilie entre 0 et 3.^{[98], [99]} Au dessus de cette valeur, la molécule injectée est rapidement métabolisée par les enzymes du foie alors qu'une molécule plus hydrophile est quant à elle prématurément éliminée par les reins.

Enfin les études toxicologiques ont établi un lien important entre la lipophilie et l'activité sur le canal potassique codé par le gène hERG (human Ether-à go-go Related Gene).^[100] Dans les études de toxicité, l'interaction avec ce canal est très importante à évaluer. En effet, il a été montré une corrélation entre l'apparition d'effets indésirables cardiaques (trouble du rythme) et l'antagonisme de ces canaux potassiques. Ainsi, connaître précocement cette valeur permet d'anticiper d'éventuels effets indésirables cardiaques d'un principe actif. Afin de minimiser le risque d'interaction de la molécule avec ce canal, une valeur maximale de lipophilie de 3,3 a été fixée.

En tenant compte de tous ces paramètres, il semble alors judicieux d'adapter la gamme de lipophilie entre 1 et 3 (**Figure 38**).

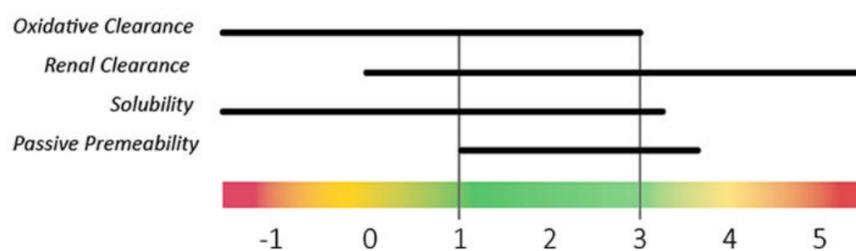


Figure 38 : Plage de lipophilie à cibler en fonction des paramètres pharmacocinétiques^[101]

Pour les études menées sur la lipophilie, il est très fréquent d'utiliser un logiciel capable d'estimer les valeurs de logP (ou logD). Lors du développement de radioligands de troisième génération, les valeurs de lipophilie ont été simulées (Logiciel MarvinSketch version 5.2.6) puis mesurées sur 13 composés possédant une homogénéité structurale.^[88] Les résultats ont indiqué une sous-évaluation de la lipophilie par le logiciel en utilisant le $c\text{LogD}_{7,4}$ et une surévaluation de la lipophilie en utilisant le $c\text{LogP}$ (**Figure 39**).

⁹⁶ Waring, M. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2844–2851.

⁹⁷ Kramer, C.; Heinisch, T.; Fligge, T.; Beck, B.; Clark, T. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 1529–1536.

⁹⁸ Nassar, A.-E. F.; Kamel, A. M.; Clarimont, C. *Drug Discov. Today* **2004**, *9*, 1020–1028.

⁹⁹ Lewis, D. F. ; Dickins, M. *Drug Discov. Today* **2002**, *7*, 918–925.

¹⁰⁰ Waring, M. J.; Johnstone, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1759–1764.

¹⁰¹ Johnson, T. W.; Gallego, R. A.; Edwards, M. P. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 6401–6420.

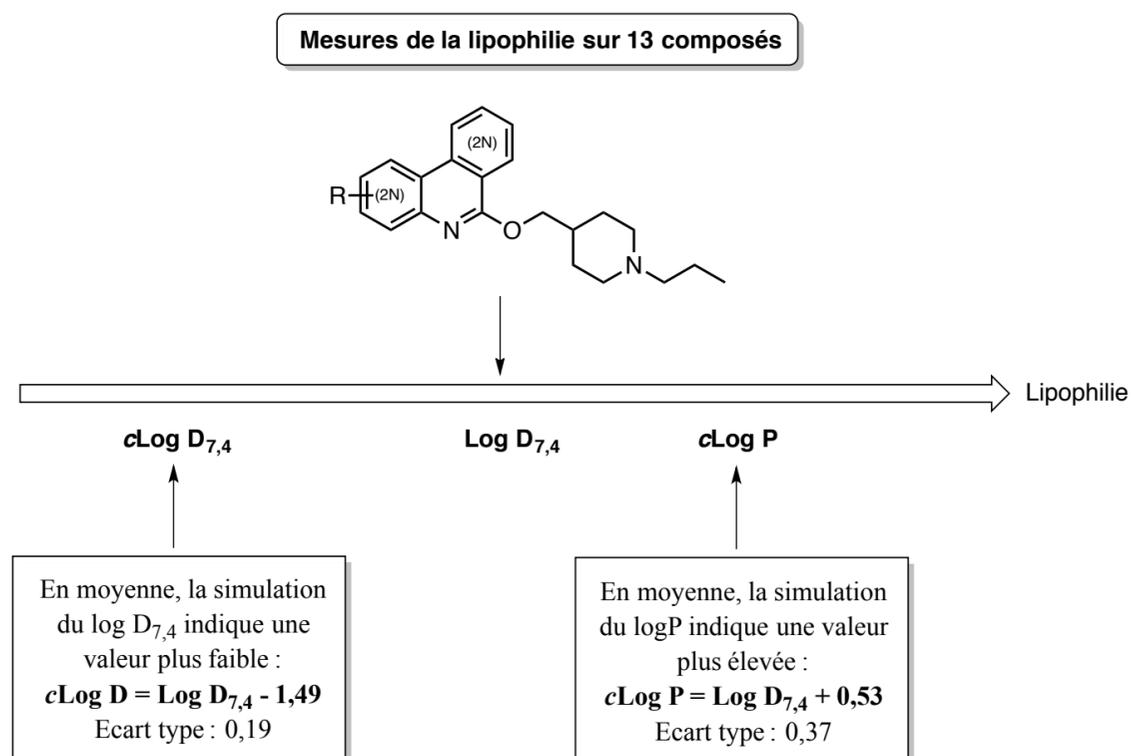


Figure 39 : Comparaison lipophilie simulée / lipophilie mesurée sur un lot de 13 ligands

Cette constatation purement empirique ne permet en aucun cas d'établir une corrélation mathématique entre la lipophilie simulée par le logiciel et la lipophilie mesurée expérimentalement, mais elle permet d'envisager un ordre de grandeur de la lipophilie des nouveaux composés ciblés par extrapolation.

L'une des stratégies envisageables pour diminuer la lipophilie consiste à introduire des groupements hydrophiles capables de former des liaisons hydrogènes (donneurs ou accepteurs). Parmi les fonctions chimiques hydrophiles, le motif sulfonamide est assez fréquemment retrouvé sur les ligands 5-HT₄ (Figure 39).

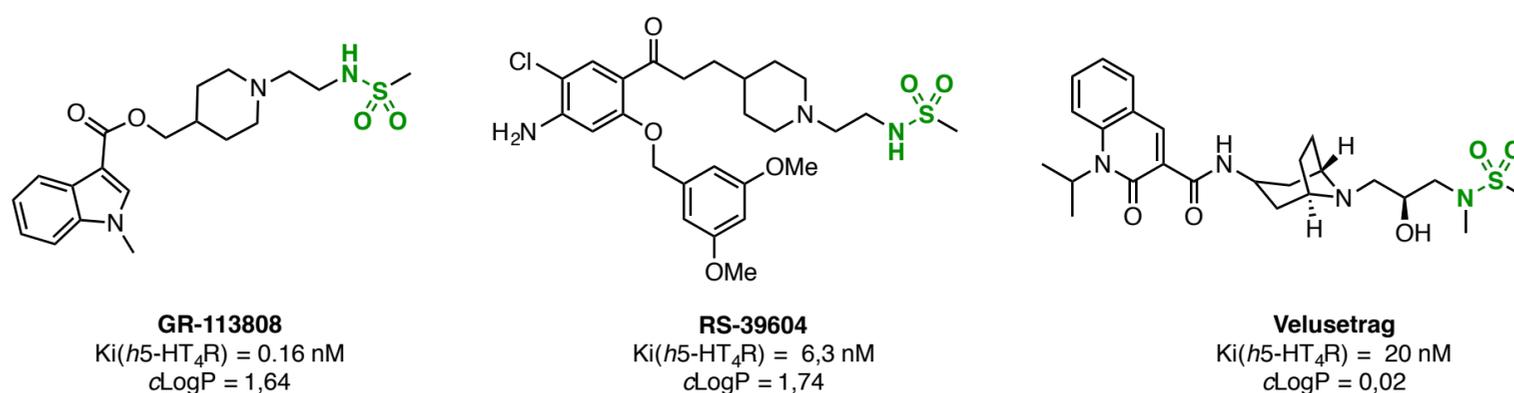


Figure 40 : Ligands 5-HT₄ présentant le motif sulfonamide

Le groupement sulfonamide présent sur la chaîne substituant la pipéridine du **GR-113808** et du **RS-39604** contribue grandement à la faible valeur du $clogP$. A titre indicatif, la substitution de la chaîne *N*-(ethyl)methanesulfonamide par la chaîne carbonée de même longueur (pentyle) triple la valeur de la lipophilie (4,55 au lieu de 1,64 pour le **GR-113808** et 4,65 au lieu de 1,74 pour le **RS-**

39604). Le Velusetrag, ligand agoniste des 5-HT₄R possède une lipophilie encore plus basse grâce à la combinaison du motif sulfonamide et d'une fonction alcool. ^[102]

Un large panel de groupements hydrophiles peut donc être envisagé. Ainsi, des dérivés alcools, aminés et soufrés ont été sélectionnés et introduits sur la chaîne substituant la pipéridine, *via* un linker constitué d'une chaîne carbonée linéaire plus ou moins longue (**Figure 41**).

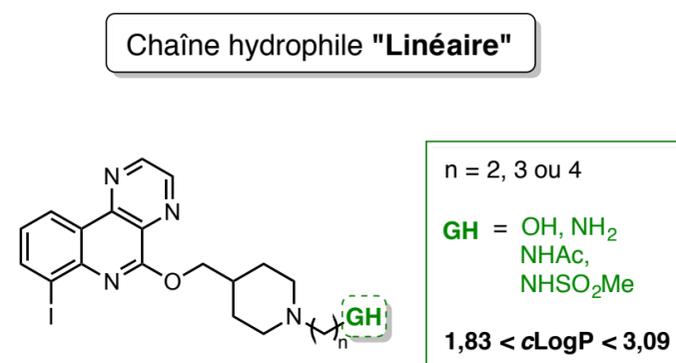


Figure 41 : Ligands ciblés à chaîne hydrophile linéaire

Plus récemment, le design d'un nouveau type de ligands agonistes des 5-HT₄R a émergé dans la littérature, *via* l'introduction d'un cycloalcane possédant un hétéroatome (**Figure 42**).

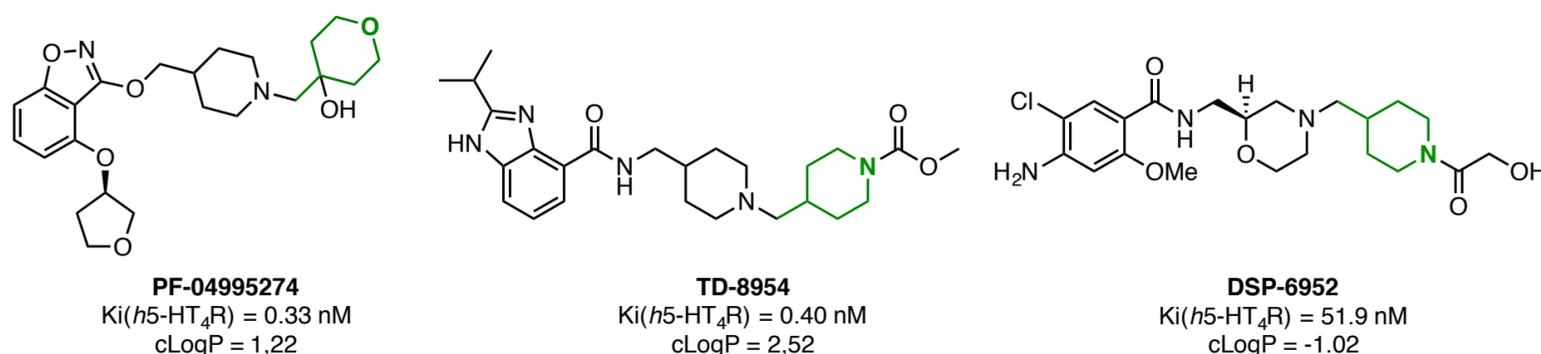


Figure 42 : Ligands agonistes des 5-HT₄R possédant un double motif cycloalcane

Le **TD-8954** ^[103] et le **DSP-6952** ^[104] sont des agonistes des 5-HT₄R au même titre que le **PF-04995274**. ^[52] Les cycles pipéridine ou oxane ont apporté la sélectivité vis-à-vis des autres 5-HTR tout en conservant clogP adéquate. L'introduction d'un motif pipéridine permet par ailleurs d'envisager une nouvelle modulation fonctionnelle sur l'atome d'azote pour ainsi décroître la lipophilie si nécessaire.

En s'inspirant de ces données, l'introduction de chaînes hydrophiles cycliques a été envisagée (**Figure 43**).

¹⁰² Smith, J. A. M.; Beattie, D. T.; Marquess, D.; Shaw, J.-P.; Vickery, R. G.; Humphrey, P. P. A. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.* **2008**, 378, 125–137.

¹⁰³ McKinnell, R. M.; Armstrong, S. R.; Beattie, D. T.; Fatheree, P. R.; Long, D. D.; Marquess, D. G.; Shaw, J.-P.; Vickery, R. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 4210–4215.

¹⁰⁴ Tsubouchi, T.; Kunimatsu, T.; Tsujimoto, S.; Kiyoshi, A.; Katsura, Y.; Oku, S.; Chihara, K.; Mine, Y.; Yamada, T.; Shimizu, I.; Bando, K. *Eur. J. Pharmacol.* **2018**, 826, 96–105.

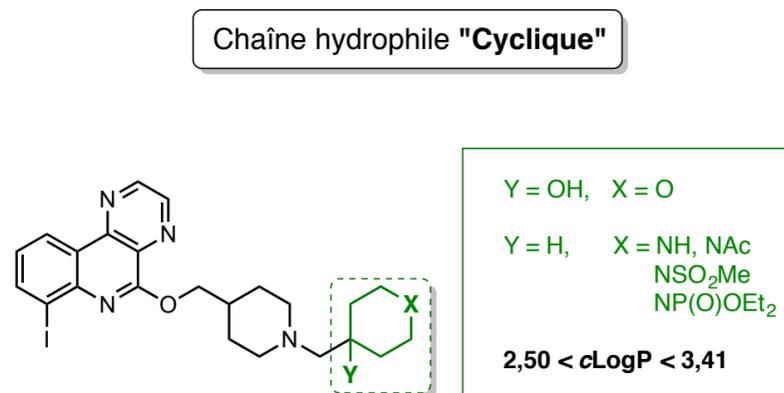


Figure 43 : Ligands ciblés à chaîne hydrophile cyclique

En s'inspirant de la littérature, deux catégories de ligands ont été définies : les ligands à chaîne hydrophile dite linéaire et ceux à chaîne hydrophile dite cyclique. Une simulation de la lipophilie pour chaque ligand envisagé a été réalisée en amont à partir du logiciel MarvinSketch avant d'entamer la synthèse afin de confirmer si l'ajout du groupement sélectionné engendrait bien une diminution de celle-ci.

1.4. Phase 3 : Synthèses de nouveaux ligands iodés

1.4.1. Mise en place d'une stratégie de synthèse convergente

Dans l'optique d'obtenir les ligands désirés à partir du précurseur **10** précédemment synthétisé, la mise en place d'une stratégie de synthèse efficace et convergente a été nécessaire. Une première approche a été envisagée où après déprotection de la piperidine, l'ensemble linker-groupement hydrophile serait introduit par substitution nucléophile (**Figure 44**).

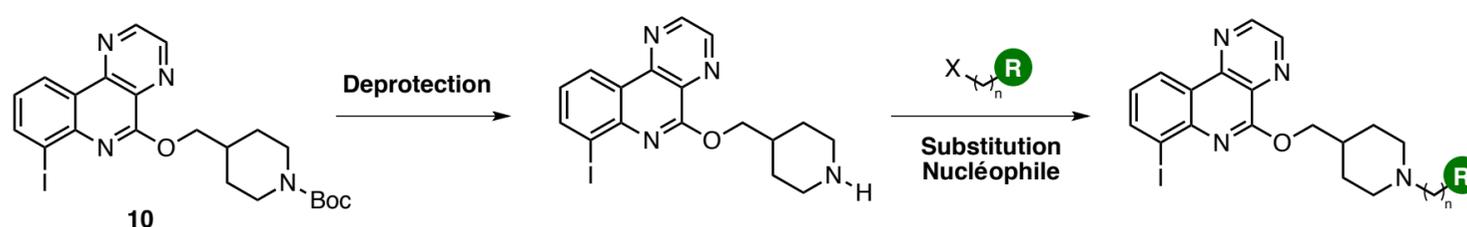


Figure 44 : Première approche envisagée pour la synthèse des ligands ciblés.

Le suivi de ce schéma réactionnel n'a malheureusement pas permis d'obtenir les ligands désirés. En effet, les expériences réalisées ont révélés deux points clés à améliorer. Premièrement, la nécessité de protéger les groupements hydrophiles où un hétéroatome est directement lié à un proton (-OH, -NHR). En effet, lors de l'étape de substitution nucléophile les sous-produits de O-alkylation ou de N-alkylation ont été observés en mélange avec le produit attendu. Deuxièmement, lors de cette même étape de substitution nucléophile il s'est avéré que l'utilisation d'une base carbonatée engendrait la formation de sous-produits type carbamate (**Figure 45**).

Il a été montré dans la littérature qu'à partir de carbonate de potassium ou d'une source de CO₂, d'une amine primaire ou secondaire et d'un halogénoalcane, la synthèse d'un carbamate était possible bien que généralement défavorisée sans additif. [105], [106]

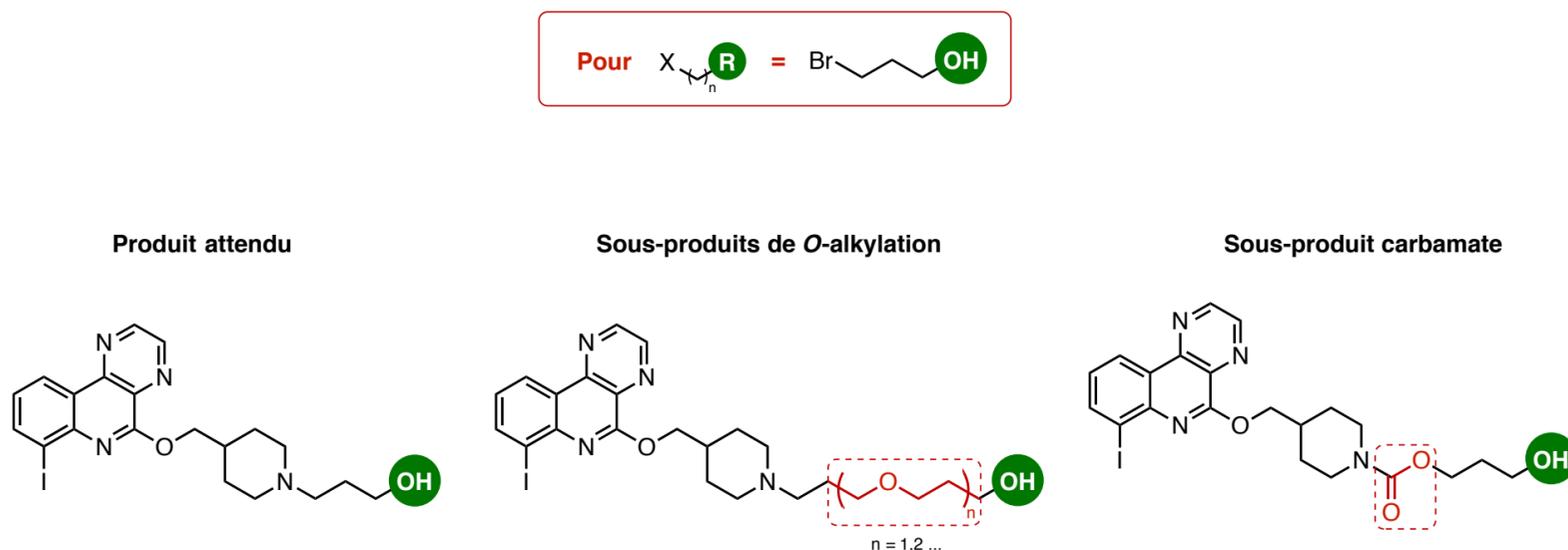


Figure 45 : Sous-produits observés suivant la première approche envisagée

En prenant en considération ces observations, une nouvelle approche a été suggérée (Figure 46).

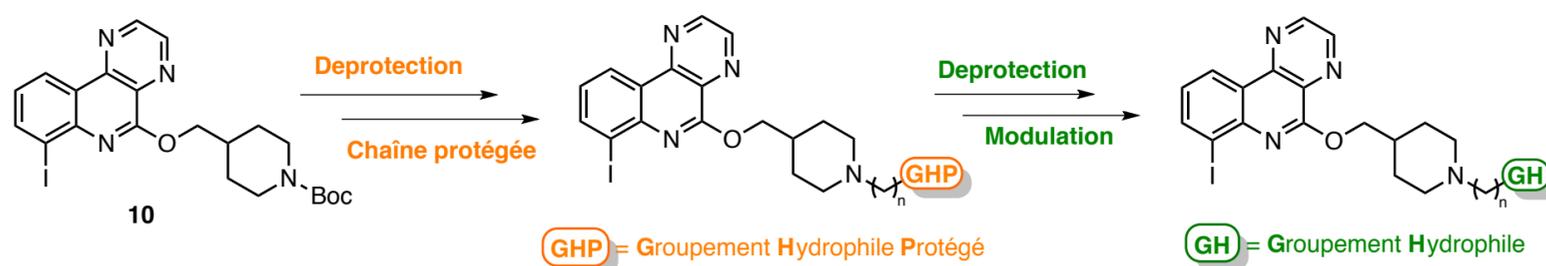


Figure 46 : Seconde approche envisagée pour la synthèse des ligands ciblés

En se basant sur ce nouveau schéma synthétique, les ligands ciblés ont pu être synthétisés aussi bien pour la série à chaîne dite linéaire que la série à chaîne dite cyclique.

1.4.2. Synthèse de ligands iodés à chaîne hydrophile dite linéaire

Le précurseur **10** en main, la première étape consiste à déprotéger l'azote basique de la piperidine par traitement acide (Figure 47).

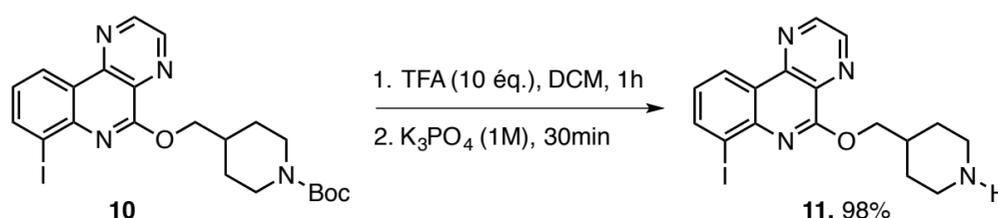


Figure 47 : Déprotection du précurseur **10**

Solubilisé dans le dichlorométhane le composé **10** est déprotégé par ajout d'acide trifluoroacétique. Après évaporation du milieu réactionnel, celui-ci est traité par une solution basique

¹⁰⁵ Yoshida, M.; Hara, N.; Okuyama, S. *Chem. Commun.* **2000**, 0, 151–152.

¹⁰⁶ Gomez-Parra, V.; Sanchez, F.; Torres, T. *Synthesis (Stuttg)*. **1985**, 1985, 282–285.

de phosphate tripotassium (K₃PO₄) à 1M afin de déplacer le sel de TFA formé et obtenir le composé **11** avec un rendement de 98%.

Une fois déprotégé, le composé **11** peut être fonctionnalisé par ajout de la chaîne latérale possédant l'hétéroatome protégé. L'atome d'azote par exemple sera apporté par un motif phtalimide lui même introduit sur une chaîne halogénoalkyl, préparée en amont. Seule la chaîne *N*-(4-bromobutyl)phtalimide **12** a été synthétisée, les équivalents ethyl et propyl étant disponibles au laboratoire (**Figure 48**).

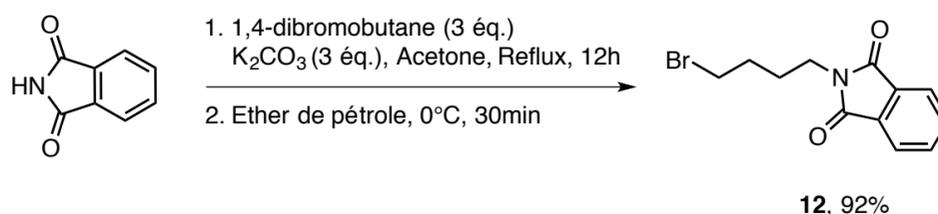


Figure 48 : Préparation de la chaîne **12**

La chaîne **12** est préparée par substitution nucléophile du phtalimide sur le 1,4-dibromobutane. Après traitement, extraction de la phase organique et évaporation du milieu réactionnel, ce dernier est ensuite agité dans une solution d'éther de pétrole à 0°C jusqu'à précipitation. Le précipité filtré correspondant à la chaîne **12** est isolé avec un rendement de 92%.

Ces chaînes *N*-bromoalkylphtalimide sont ensuite insérées sur le composé **11** (**Figure 49**).

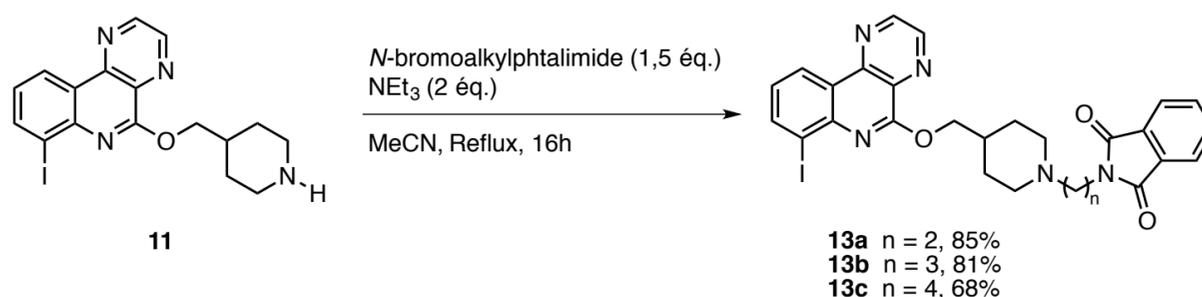


Figure 49 : Synthèse des ligands **13a-c** possédant un motif phtalimide

Les ligands **13a**, **13b** et **13c** ont été obtenus après substitution nucléophile du composé **11** sur les chaînes *N*-bromoalkylphtalimide correspondantes et isolés respectivement avec des rendements de 85%, 81% et 68%. Le groupement phtalimide est ensuite clivé par action de l'hydrazine afin de libérer la fonction amine primaire (**Figure 50**).

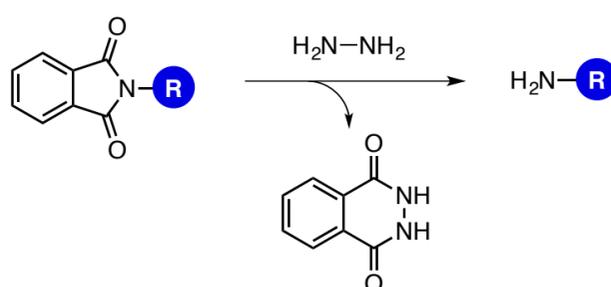
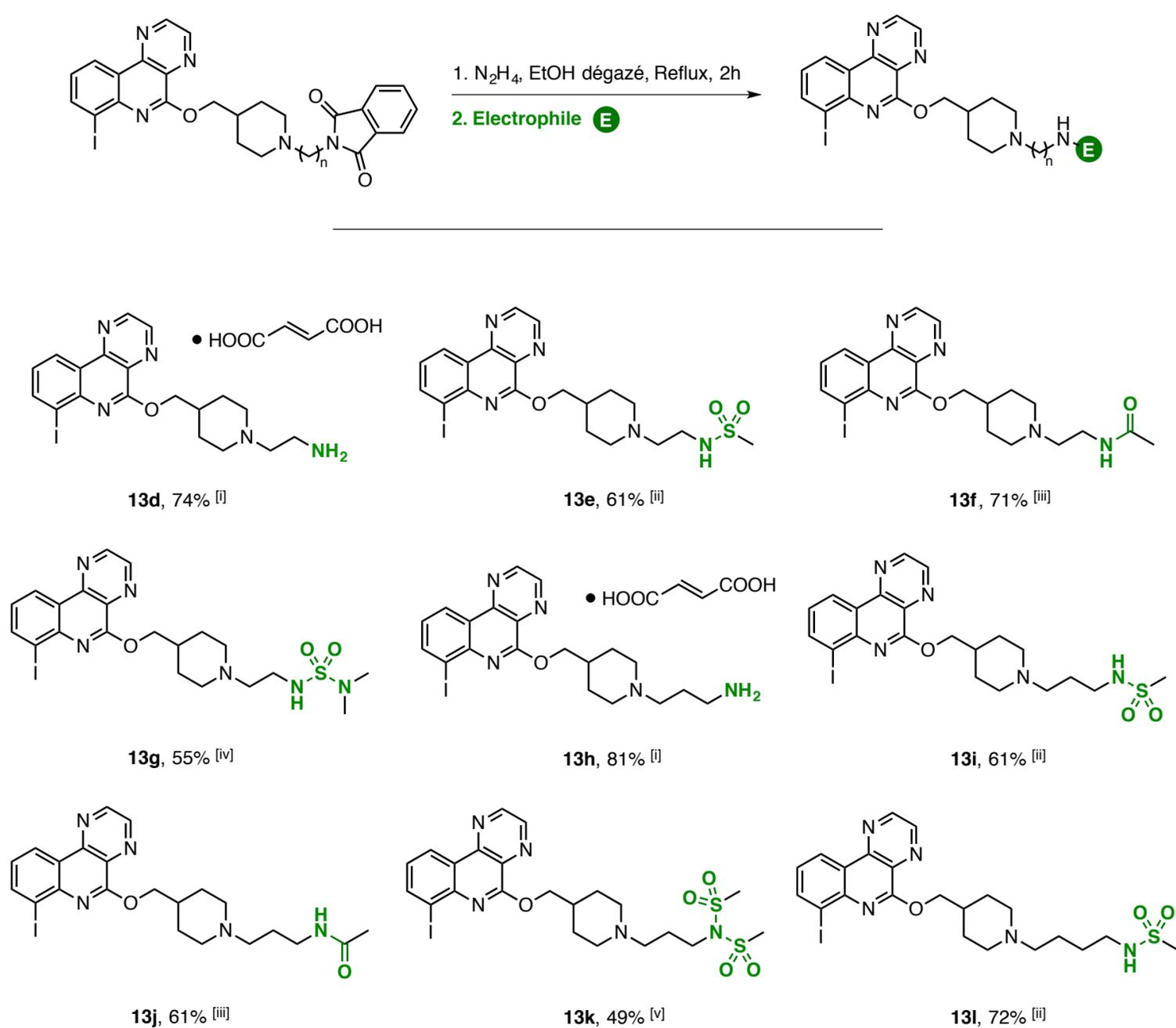


Figure 50 : Clivage du groupe phtalimide par action de l'hydrazine

Expérimentalement, le composé phtalimide **13a-c** est ajouté dans une solution d'éthanol dégazée en présence d'un excès d'hydrazine. Le milieu réactionnel est porté à reflux jusqu'à solubilisation du mélange synonyme du clivage du groupe phtalimide. Le solvant est ensuite évaporé et le résidu est repris dans du dichlorométhane. L'ajout de ce solvant permet de solubiliser l'amine primaire obtenue et d'éliminer par filtration le sous produit phtalalhydrazine, insoluble dans le dichlorométhane. Après une nouvelle évaporation du solvant l'amine primaire obtenue peut être isolée ou modulée pour accéder à une variété de dérivés azotés.

Suivant ce protocole opératoire, neuf nouveaux ligands iodés ont été synthétisés possédant différents groupements hydrophiles azotés tels que les amides, les sulfonamides ou encore sulfamate.

(Figure 51).



- [i] acide fumarique (1 éq.), *i*PrOH, Reflux, 30min
 [ii] chlorure de mésyle (1 éq.), NEt₃ (2 éq.), DCM, 25°C, 10min
 [iii] anhydride acétique (1 éq.), DCM, 25°C, 10min
 [iv] chlorure de N,N-dimethylsulfamoyl (1 éq.), NEt₃ (2 éq.), DCM, 25°C, 10min
 [v] chlorure de mésyle (2 éq.), NEt₃ (3 éq.), DCM, 25°C, 10min

Figure 51 : Synthèse des ligands **13d-l**

Après clivage du groupement phtalimide sur les ligands **13a-c**, l'amine primaire résultante a été substituée par différents groupements. La fonction amide a été obtenue par ajout d'anhydride acétique **13f** et **13j**, le motif sulfonamide **13e**, **13i** et **13l** a été synthétisé à partir d'un équivalent de chlorure de mesyle alors que la fonction disulfonimide **13k** a été obtenue à partir de deux équivalents de ce même électrophile. La fonction sulfamate (**13g**), bioisostère de nombreuses fonctions chimiques (urée, carbamate, amide), ^[107] a été isolée à partir du chlorure de sulfamoyl correspondant. A noter que pour des raisons de stabilité, les amines primaires **13d** et **13h** ont été isolées sous la forme fumarate d'ammonium.

Parallèlement à la synthèse de ces composés, la préparation de la chaîne « propanol » protégée a été réalisée (**Figure 52**).

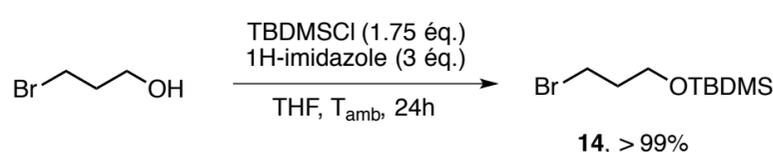


Figure 52 : Préparation de la chaîne « propanol » protégée

Le 3-bromopropanol est mis en solution en présence de l'agent de protection silylé, le chlorure de *tert*-butyl-dimethylsilyle. ^[108] Après 24 heures à température ambiante, le composé **14** est isolé avec un rendement quantitatif et peut être engagé avec le composé **11** (**Figure 53**).

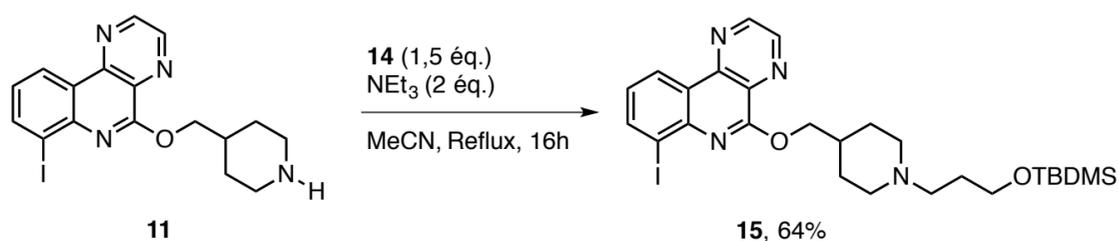


Figure 53 : Synthèse du ligand **15**

Le groupement silylé est ensuite clivé en présence d'une source d'ion fluorure, le TBAF pour ainsi libérer la fonction alcool (**Figure 54**). Il est à signaler que le ligand **16** a été isolé sous la forme d'un sel de formiate car la purification suivant l'étape de déprotection s'est faite sur phase inverse avec un mélange eau/acétonitrile en présence d'acide formique comme additif.

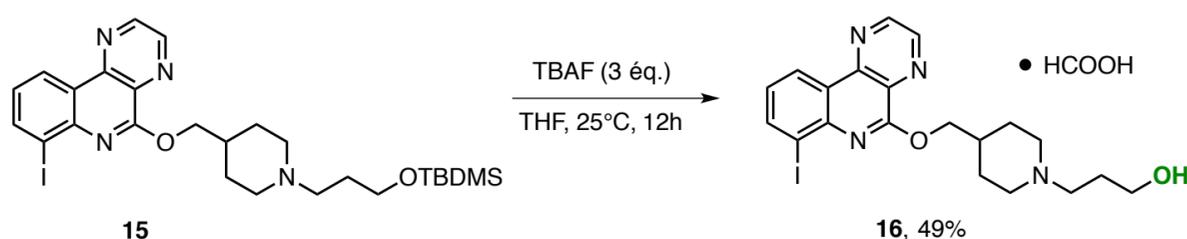


Figure 54 : Clivage du groupement protecteur silylé pour l'obtention du ligand **16**

¹⁰⁷ Reitz, A. B.; Smith, G. R.; Parker, M. H. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2009**, *19*, 1449–1453.

¹⁰⁸ Maeda, Y.; Saito, K.; Akamatsu, N.; Chiba, Y.; Ohno, S.; Okui, Y.; Yamada, M.; Hasegawa, T.; Kako, M.; Akasaka, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18101–18108.

Enfin, l'introduction de dérivés soufrés a été investiguée. La faible disponibilité de chaînes alkyl soufrées, réactives et commerciales, a été un frein au développement de ligands dans cette série. Finalement, le motif 3-(méthylthio)propyl a pu être introduit par amination réductrice du 3-(méthylthio)propionaldéhyde en présence du composé **11** (Figure 55).

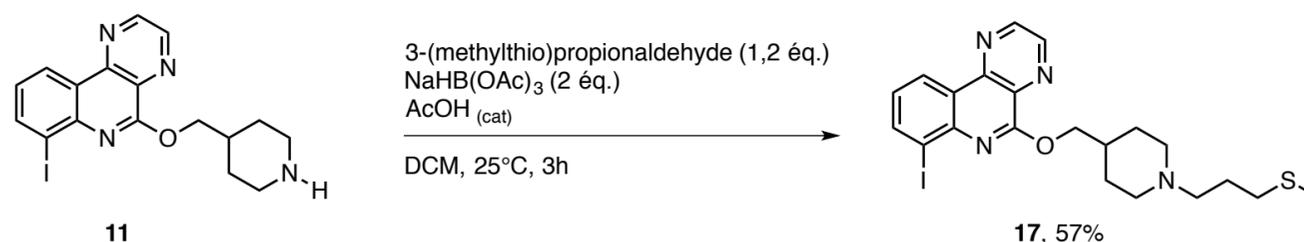


Figure 55 : Synthèse du ligand **17** par amination réductrice

L'hétéroatome introduit, différents dérivés ont été synthétisés par oxydation du soufre (Figure 56).

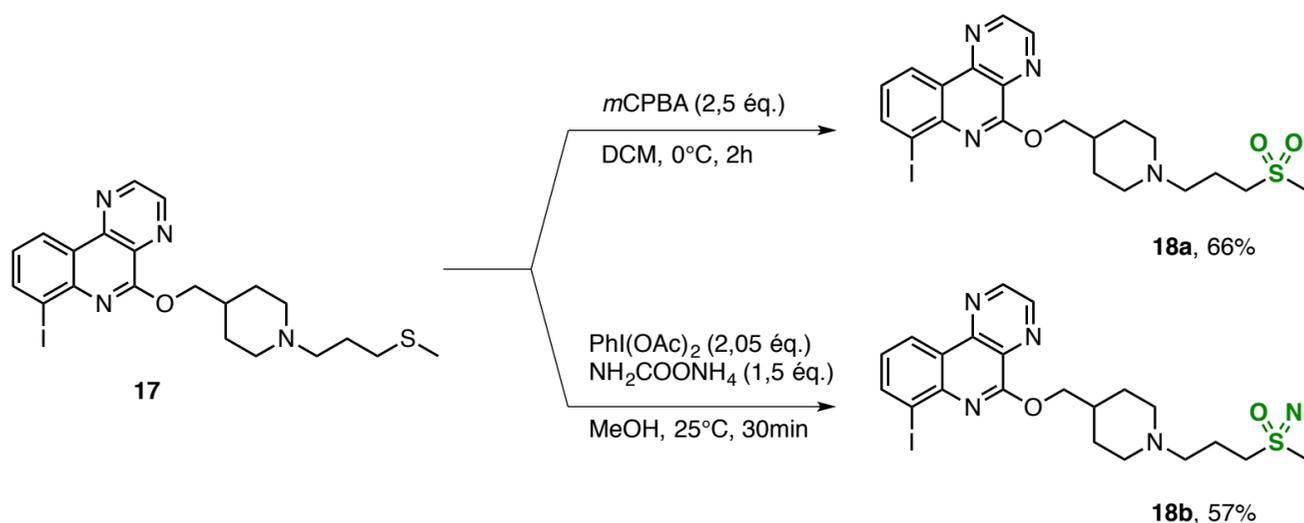


Figure 56 : Synthèse des ligands **18a** et **18b** par oxydation du soufre

La fonction sulfone présente sur le composé **18a** a été obtenue par oxydation du soufre en présence d'acide métachloroperbenzoïque (*mCPBA*) et isolée avec un rendement de 66%.^[109] Le composé **18b** fonctionnalisé par un groupe sulfoximine a été synthétisé par une stratégie « *one pot* » récemment décrite.^[110] Les études mécanistiques réalisées ont montré que dans un premier temps l'azote était introduit à partir du carbamate d'ammonium pour obtenir une sulfonylimine intermédiaire puis par action du couple PIDA/MeOH, l'atome d'oxygène était ensuite apporté.

Pour cette famille de ligands à chaîne hydrophile dite linéaire, 17 nouveaux composés ont été synthétisés. La longueur du linker alkyl ainsi que la nature du groupement hydrophile ont été les paramètres variables de ces premiers travaux.

¹⁰⁹ Hossain, M.; Das, U.; Umemura, N.; Sakagami, H.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Kawase, M.; Dimmock, J. R. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 2206–2214.

¹¹⁰ Lohier, J.-F.; Glachet, T.; Marzag, H.; Gaumont, A.-C.; Reboul, V. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 2064–2067.

1.4.3. Synthèse de ligands iodés à chaîne hydrophile dite cyclique

La seconde famille de ligands ciblés pour cette étude se porte sur l'introduction d'un second motif cycloalcane capable de faire diminuer la lipophilie. Les synthèses chimiques se sont focalisés sur l'introduction de motif oxane et pipéridine et ont nécessité au préalable la préparation de précurseurs protégés. La chaîne 4-méthylloxan-4-ol présente sur le ligand PF-04995274 provient de l'ouverture de l'époxyde obtenu à partir la cétone correspondante, oxan-4-one (**Figure 57**).^[111]

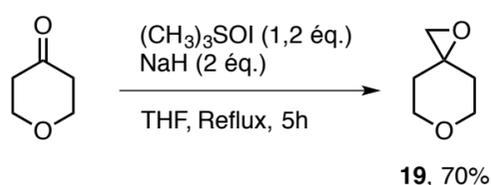


Figure 57 : Synthèse du précurseur **19**

En milieu basique la déprotonation de l'un des méthyl présent sur l'ylure de soufre (l'iodure de trimethylsulfoxonium) conduit à l'addition nucléophile du composé soufré sur le carbonyle puis à la formation de l'époxyde occasionnant le départ d'une molécule de DMSO. L'époxyde **19** isolé avec un rendement de 70% est ensuite engagé en présence du composé **11** pour obtenir la chaîne désirée (**Figure 58**).^[112]

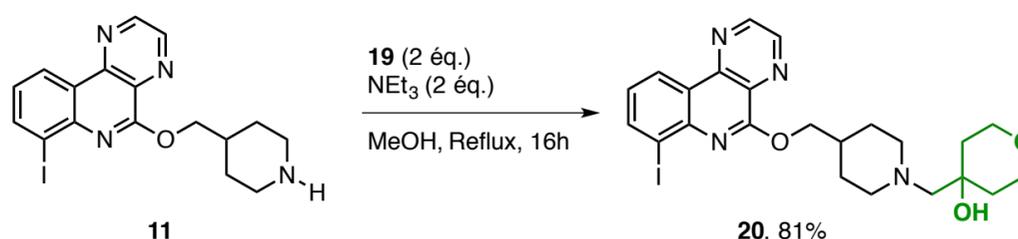


Figure 58 : Synthèse du ligand **20**

L'introduction du motif pipéridine pour l'obtention de nouveaux ligands iodés s'est faite à partir du précurseur **9** (**Figure 59**).^[113]

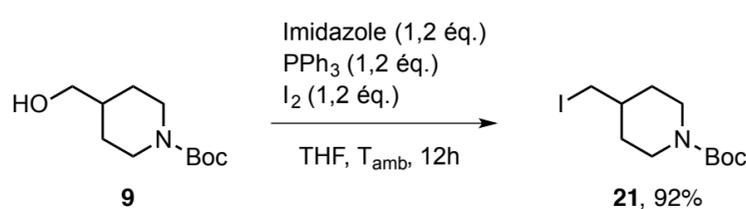


Figure 59 : Préparation du précurseur **21**

En présence de triphénylphosphine et d'une source d'iode nucléophile l'alcool **9** est transformé en halogénoalcane **21** suivant une réaction analogue de la réaction d'Appel.^[114] Ce précurseur est ensuite mis en présence du composé **11** pour obtenir un premier ligand possédant un double motif pipéridine (**Figure 60**).

¹¹¹ Gensini, M.; Altamura, M.; Dimoulas, T.; Fedi, V.; Giannotti, D.; Giuliani, S.; Guidi, A.; Harmat, N.; Meini, S.; Nannicini, R.; Pasqui, F.; Tramontana, M.; Triolo, A.; Maggi, C. A. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 65–78

¹¹² Widlicka, D. W.; Murray, J. C.; Coffman, K. J.; Xiao, C.; Brodney, M. A.; Rainville, J. P.; Samas, B. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 233–241.

¹¹³ Sutton, J. C.; Bolton, S. A.; Davis, M. E.; Hartl, K. S.; Jacobson, B.; Mathur, A.; Ogletree, M. L.; Slusarchyk, W. A.; Zahler, R.; Seiler, S. M.; Bisacchi, G. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2233–2239.

¹¹⁴ Appel, R. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1975**, *14*, 801–811.

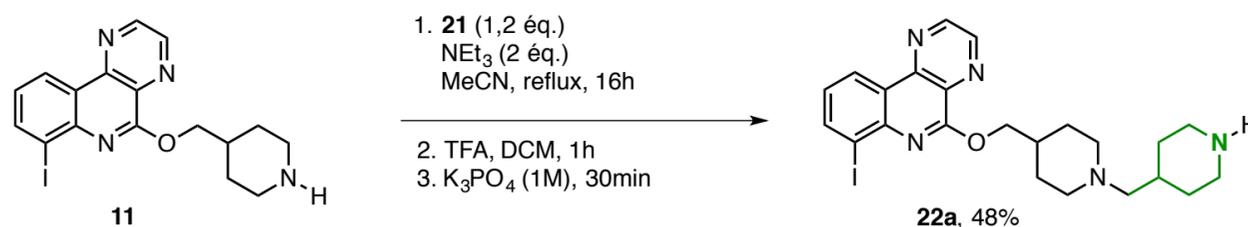
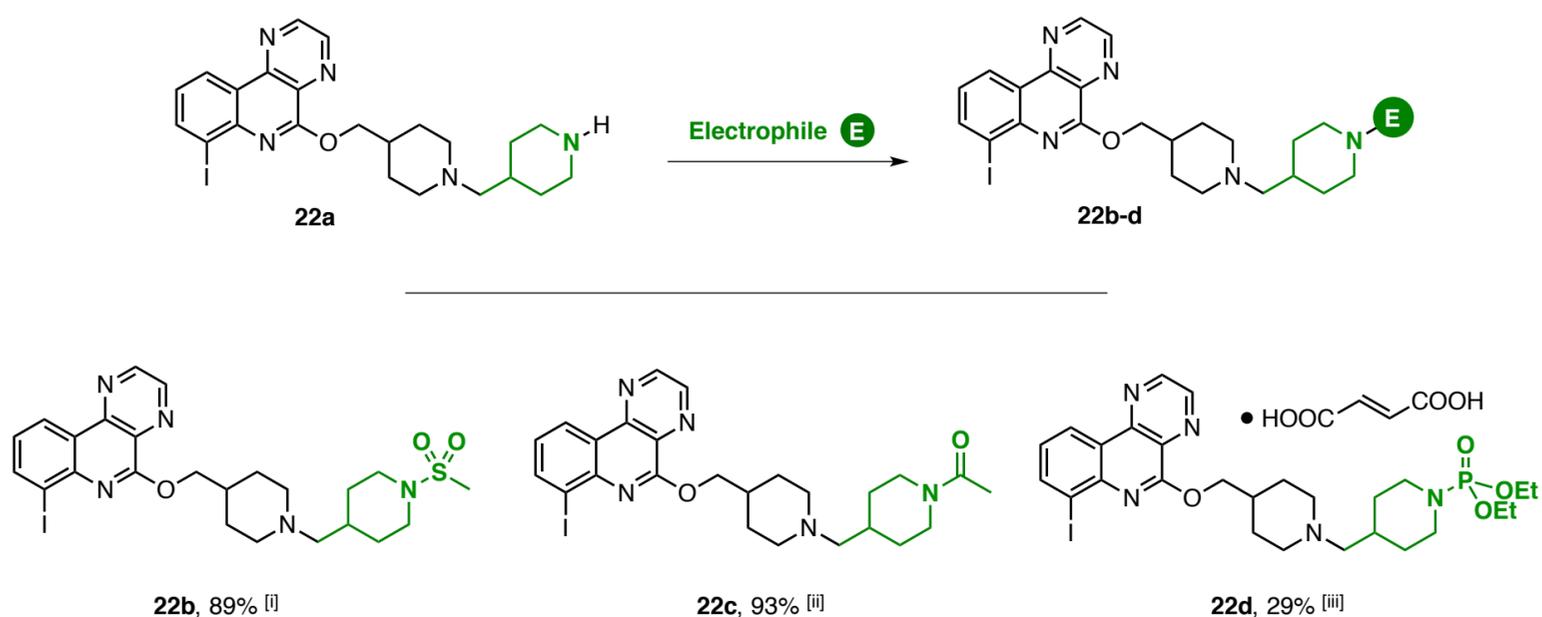


Figure 60 : Synthèse du ligand **22a**

Le ligand **22a** a été obtenu en deux étapes et isolé avec un rendement de 48%. Premièrement, le motif pipéridine protégée est introduit par substitution nucléophile du composé **11** sur le précurseur **21** puis dans une seconde étape l'azote de la pipéridine est déprotégée suivant la méthode précédemment décrite : clivage du groupement –Boc en présence de TFA puis déplacement du sel de TFA par une solution basique de K₃PO₄. L'amine secondaire peut alors être modulée pour accéder à un plus grand nombre de ligands (**Figure 61**).



[i] chlorure de mésyle (1 éq.), NEt₃ (2 éq.), DCM, 25°C, 10min
 [ii] anhydride acétique (1 éq.), DCM, 25°C, 10min
 [iii] Diethyl chlorophosphate (1 éq.), NEt₃ (2 éq.), DCM, 25°C, 10min ; acide fumarique (1 éq.), *i*PrOH, Reflux, 30min

Figure 61 : Synthèse des ligands **22b-d**

Comme précédemment pour la modulation des chaînes linéaires aminées, différents électrophiles ont été utilisés pour substituer l'azote de la pipéridine. Trois nouveaux ligands ont été synthétisés, les dérivés sulfonamide (**22b**) et amide (**22c**) ont été obtenus suivant les mêmes conditions opératoires qu'auparavant alors que le dérivé phosphonate (**22d**) a été préparé à partir du diethyl chlorophosphate et isolé sous la forme d'un sel d'acide fumarique.

En appliquant cette méthodologie de synthèse, 23 nouveaux ligands iodés ont été synthétisés pendant cette phase 3 du projet. L'étape suivante consiste à évaluer biologiquement ces ligands et à sélectionner les meilleurs d'entre eux suivant plusieurs critères pour le radiomarquage.

1.5. Phase 4 : Evaluation biologique et sélection des meilleurs ligands pour le radiomarquage

1.5.1. Définitions et présentation des tests biologiques réalisées

L'affinité des composés synthétisés vis-à-vis des 5-HT₄R a été évaluée selon un test de compétition avec un ligand de référence radiomarké, le [³H]GR-113808. Les expériences sont menées sur des préparations membranaires de récepteurs humains clonés 5-HT_{4b} et peuvent être divisées en 3 étapes. Préalablement aux études de compétitions, une première étape consiste à déterminer les 3 grandeurs définies par la théorie de la liaison d'un ligand à son récepteur que sont, la liaison totale, la liaison non-spécifique et la liaison spécifique. Un radioligand **L*** est capable de se fixer à son récepteur **R** (ou site spécifique) mais aussi à des sites non-spécifiques que peuvent être des protéines présentes dans le milieu d'incubation. La somme de ces liaisons spécifiques et non spécifiques permet de déterminer la liaison totale. Expérimentalement, on réalise différentes expériences à concentration fixe en récepteur membranaire et en faisant varier la concentration du radioligand **L***. Après filtration et rinçage, une mesure de la radioactivité permet de déterminer la quantité de **L*** fixé. On détermine ainsi la liaison totale en fonction de la concentration en **L***. Afin de déterminer la liaison non-spécifique, les récepteurs membranaires sont incubés en présence d'un ligand froid sélectif des récepteurs (dans notre cas de figure, la sérotonine) à une concentration très supérieure au radioligand **L***. Le ligand se lie à tous les sites du récepteur **R** laissant au radioligand **L*** l'unique possibilité de se fixer sur les sites non-spécifiques. Une fois encore par mesure de radioactivité il sera possible de déterminer la liaison non-spécifique. On en déduit alors la liaison spécifique comme étant la différence entre la liaison totale et la liaison non-spécifique. Cela permet la détermination de deux paramètres importants : **B_{max}** le nombre de site spécifique sur la membrane lorsque la différence entre la liaison totale et la liaison non spécifique devient constante, et **K_d** la concentration de radioligand nécessaire à l'occupation de 50% des sites spécifiques ($B_{max}/2$).

Ces paramètres déterminés, les expériences de compétition peuvent débuter. Les 5-HT₄R membranaires sont incubés en présence du radioligand à une concentration fixée et du composé à tester. Deux expériences sont menées à deux concentrations différentes de la molécule à tester, 10⁻⁶ M puis à 10⁻⁸ M. Après filtration et rinçage on peut alors mesurer la quantité de radioligand déplacé par le composé à analyser. On appelle cette expérience pourcentage d'inhibition à une certaine concentration, plus celui-ci est élevé, plus le composé est affin vis-à-vis du récepteur (**Figure 62**).

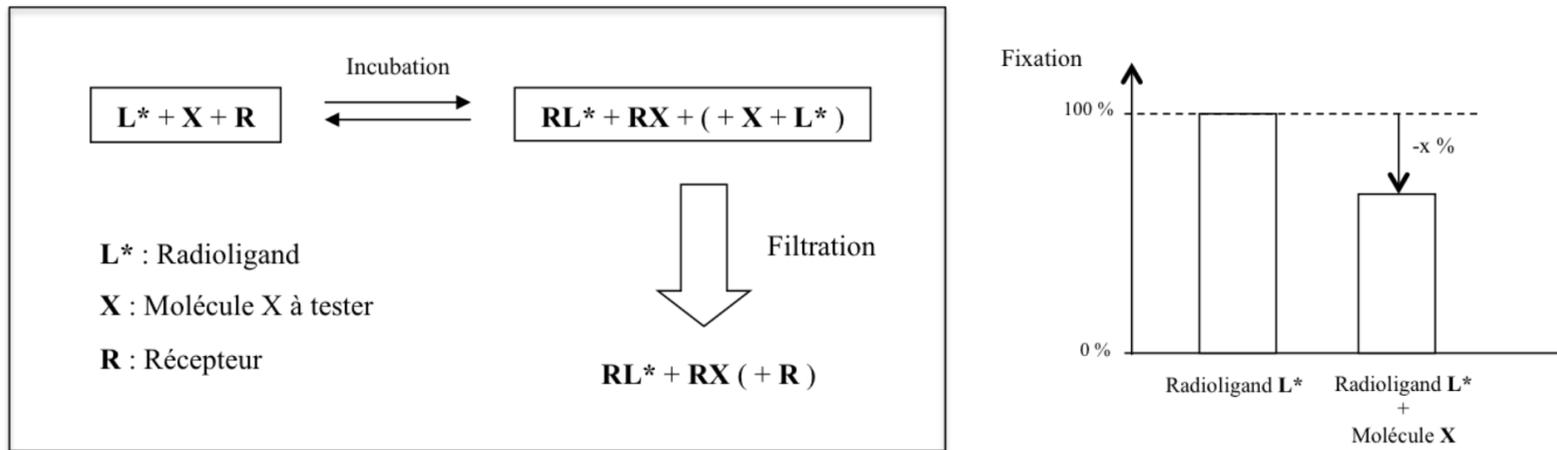


Figure 62 : Principe du test de compétition entre un radioligand L^* et une molécule X à tester

Si les résultats obtenus lors des expériences de pourcentage d'inhibition s'avèrent satisfaisants (pourcentage d'inhibition à la concentration de 10^{-8} M supérieur à 50) une étude plus précise est réalisée. Les expériences de compétition entre la molécule à tester et le radioligand L^* sont menées à concentration croissante de la molécule à tester. Une courbe de compétition est alors obtenue et il est possible de déterminer la concentration inhibitrice médiane IC_{50} (concentration nécessaire de la molécule à tester qui induit 50% d'inhibition de la fixation du radioligand sur sa cible.) (**Figure 63**).

Cette valeur étant dépendante de la concentration, une valeur indépendante nommée constante d'affinité K_i est généralement utilisée dans la littérature. Elle peut être déterminée à partir d'une équation établie suite aux travaux de Cheng et Prusoff et permet de comparer les affinités entre les différents ligands. ^[115]

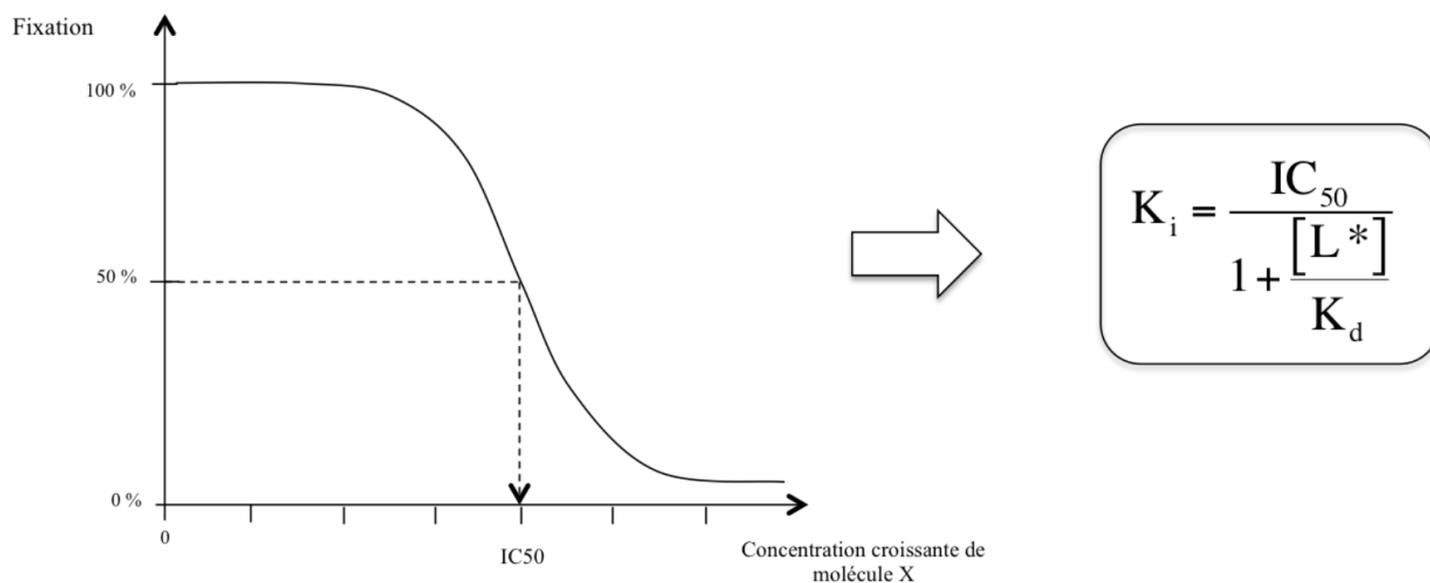


Figure 63 : Courbe expérimentale permettant la détermination de l' IC_{50} puis de la constante d'affinité K_i

¹¹⁵ Yung-Chi, C.; Prusoff, W. H. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099–3108.

1.5.2. *Evaluation biologique des composés synthétisés*

Les tests précédemment décrits ont permis l'évaluation biologique des 23 ligands synthétisés. Les pourcentages d'inhibitions ont été déterminés pour l'ensemble des ligands tandis que la mesure de la constante d'affinité a été réalisée uniquement sur les ligands possédant les meilleurs résultats.

Afin de comparer les résultats biologiques sur une base identique, le ligand **MR-26132**, référence froide du radiotracer développé lors de la troisième génération, a été une nouvelle fois synthétisé. Evalué initialement *in vitro* sur 5-HT_{4e}R par les laboratoires de la CEREP, il a été testé sur 5-HT_{4b}R par une équipe du laboratoire (**Figure 64**).

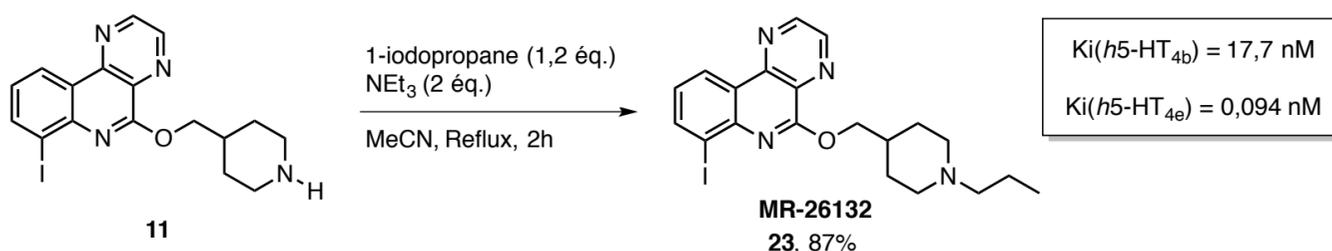
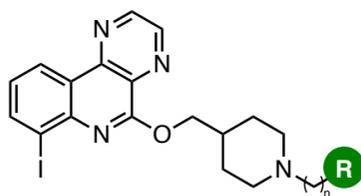


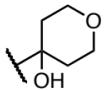
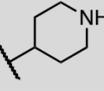
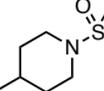
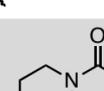
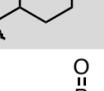
Figure 64 : Synthèse du composé **23** (**MR-26132**) et évaluation biologique

Le composé **23** a été obtenu à partir du composé **11** en présence de 1-iodopropane et isolé avec un rendement 87%. La nouvelle évaluation biologique de ce composé sur 5-HT_{4b}R a apporté des résultats inattendus. En effet, l'affinité envers 5-HT_{4b} par rapport à l'isoforme 5-HT_{4e} a drastiquement chuté en étant divisée par 200. La différence structurale entre ces isoformes se situant uniquement sur la longueur de la terminaison intracellulaire, aucune explication biologique ne permet d'expliquer le résultat observé. Les mesures effectuées, basées sur les mêmes expériences, ont cependant été réalisées dans deux laboratoires différents par deux expérimentateurs distincts. Dans la suite de ce projet, et pour avoir une base commune à tous les ligands évalués, la valeur d'affinité conservée sera celle obtenue en utilisant les récepteurs membranaires humains 5-HT_{4b}.

Le **Tableau 4** recense l'ensemble des tests biologiques effectués sur les ligands synthétisés ainsi que les valeurs de logP simulé. Les mesures des constantes d'affinités ainsi que le simulation du logP ont permis de déterminer un nouveau paramètre, la Ligand Lipophilicity Efficiency (**LLE**) dont l'utilisation en *drug design* sera développée dans la suite de cette partie. La LLE d'un ligand se définit comme la différence entre le pKi (échelle logarithmique de la constante d'affinité : **pKi = - log Ki**) de ce ligand envers son récepteur et son clogP (**8**).

$$\text{LLE} = \text{pKi} - \text{clogP} \quad (8)$$



Ligand	n	R	% inh (10 ⁻⁶ M/10 ⁻⁸ M)*	Ki (5-HT _{4b})*	cLogP	LLE
MR-26132	3	H	100/68	17,7 ± 4,1 nM	4,19	3,56
11	0	H	100/39	36,8 ± 4,7 nM	2,93	4,50
13a	2	Nphth	100/37	543 ± 195 nM	4,06	2,21
13b	3	Nphth	100/18	312 ± 57 nM	4,12	2,38
13c	4	Nphth	100/56	n.m.	4,63	n.m.
13d	2	NH ₂	100/84	18,3 ± 9,4 nM	2,51	5,23
13e	2	NHSO ₂ Me	100/100	8,5 ± 6,8 nM	1,83	6,24
13f	2	NHAc	100/95	15,4 ± 2,3 nM	2,33	5,48
13g	2	NHSO ₂ NMe ₂	100/84	22,6 ± 4,7 nM	1,82	5,83
13h	3	NH ₂	100/76	9,7 ± 1,7 nM	2,57	5,44
13i	3	NHSO ₂ Me	100/68	17,7 ± 2,4 nM	1,89	5,86
13j	3	NHAc	100/94	3,9 ± 1,3 nM	2,39	6,02
13k	3	N(SO ₂ Me) ₂	100/49	56,7 ± 10,8 nM	1,37	5,87
13l	4	NHSO ₂ Me	100/96	11,2 ± 4,6 nM	2,40	5,86
15	3	OTBDMS	100/62	21,4 ± 8,8 nM	5,32	2,36
16	3	OH	100/93	8,4 ± 3,9 nM	2,68	5,40
17	3	SMe	100/100	19,7 ± 2,3 nM	4,32	3,39
18a	3	SO ₂ Me	100/93	12,4 ± 10,3 nM	1,79	6,11
18b	3	S(O)(NH)Me	100/82	9,5 ± 1,5 nM	2,82	5,20
20	1		100/84	17,0 ± 2,0 nM	2,50	5,27
22a	1		100/94	10,5 ± 3,3 nM	3,41	4,57
22b	1		100/76	28,0 ± 5,4 nM	2,52	5,03
22c	1		100/93	22,6 ± 4,7 nM	3,02	4,42
22d	1		100/53	n.m.	3,93	n.m.

* Expérience réalisée 3 fois (n=3) ; n.m = non mesuré

Tableau 4 : Evaluation biologique des ligands synthétisés

Les résultats biologiques ont indiqué que sur les 23 composés synthétisés, la moitié (12) possède une affinité envers 5-HT₄R supérieure au radiotracer précédemment développé (**MR-26132**). Mis à part les intermédiaires de synthèse type phtalimide (**13a-c**) et le composé phosphoré **22d** dont l'affinité n'a pas été mesurée, la moyenne de l'affinité de cette nouvelle génération se situe aux

alentours de 20 nM. Parmi les 12 composés, 5 ligands ont présenté une affinité inférieure à 10 nM et un nouveau hit a été obtenu avec l'introduction d'une chaîne 3-propylacétamide (**13j**, $K_i = 3,9 \pm 1,3$ nM). Pour un groupement hydrophile fixé (sulfonamide) la longueur du linker carboné impact peu sur l'affinité du ligand. En effet la différence d'affinité en présence d'une chaîne ethyl (**13e**, $K_i = 8,5 \pm 1,3$ nM), propyl (**13i**, $K_i = 17,7 \pm 2,4$ nM) ou butyl (**13l**, $K_i = 11,2 \pm 4,6$ nM) n'est pas significative.

La simulation du logP a montré une importante diminution de celui-ci. Les intermédiaires de synthèse mis à part une nouvelle fois (phtalimide **13a-c**, alcool protégé **15**, précurseur soufré **17**) le logP moyen de cette nouvelle génération a pratiquement été divisé par 2 par rapport au **MR-26132** ($\log P_{\text{moy}} = 2,40$). L'ensemble des ligands ciblés possèdent un clogP compris entre 1 et 3 excepté pour le **22a** ($\text{clogP} = 3,41$) où l'introduction du motif pipéridine seul conduit à un clogP légèrement supérieur à 3. Pour une longueur de chaîne fixée (propyl), les fonctions disulfonimide (**13k**, $\text{clogP} = 1,37$) et sulfone (**18a**, $\text{clogP} = 1,79$) ont apporté la plus forte diminution du clogP. Pour un groupement hydrophile fixé (sulfonamide) le clogP augmente logiquement en fonction de la chaîne carbonée, ethyl (**13e**, $\text{clogP} = 1,83$), propyl (**13i**, $\text{clogP} = 1,87$), butyl (**13l**, $\text{clogP} = 2,40$) avec une différence significative lors de l'introduction d'une chaîne butyl.

L'analyse des résultats d'affinité envers le récepteur et du clogP ont permis d'identifier un certains nombres de composés possédant une bonne affinité envers le récepteur ainsi qu'une lipophilie adéquate. Afin d'optimiser les chances de réussite dans la sélection de nouveaux radioligands, le paramètre de Ligand Lipophilicity Efficiency a été introduit.

1.5.3. Sélection des meilleurs composés pour le radiomarquage

La Ligand Lipophilicity Efficiency ou LLE est un concept apparu récemment en *drug design*.^[116] Dérivé de la Ligand Efficiency (LE), paramètre permettant d'estimer l'interaction d'un ligand avec son récepteur en fonction de sa masse et de son affinité envers celui-ci, la LLE se distingue en faisant intervenir la lipophilie du ligand au lieu de la masse. A l'heure actuelle, elle est principalement utilisée dans les programmes d'optimisation visant l'obtention d'un composé « hit ».

En se basant sur les données issues de la littérature sur la conception de ligands, à savoir répondre aux critères $\text{clogP} \approx 2,5$ et une constante d'affinité $K_i \approx 1-10$ nM, il a été établi que statistiquement, la LLE devait être comprise entre 5 et 7 pour la recherche d'un composé « hit ».^[116] Afin de visualiser plus simplement les résultats obtenus, une cartographie des différents ligands synthétisés lors de cette nouvelle étude a été réalisée en fonction de leur affinité et leur lipophilie théorique pour pouvoir ainsi comparer les résultats par rapport aux ligands synthétisés lors de la 2^{nde} et 3^{ème} générations (**Figure 65**)

¹¹⁶ Leeson, P. D.; Springthorpe, B. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6*, 881–890.

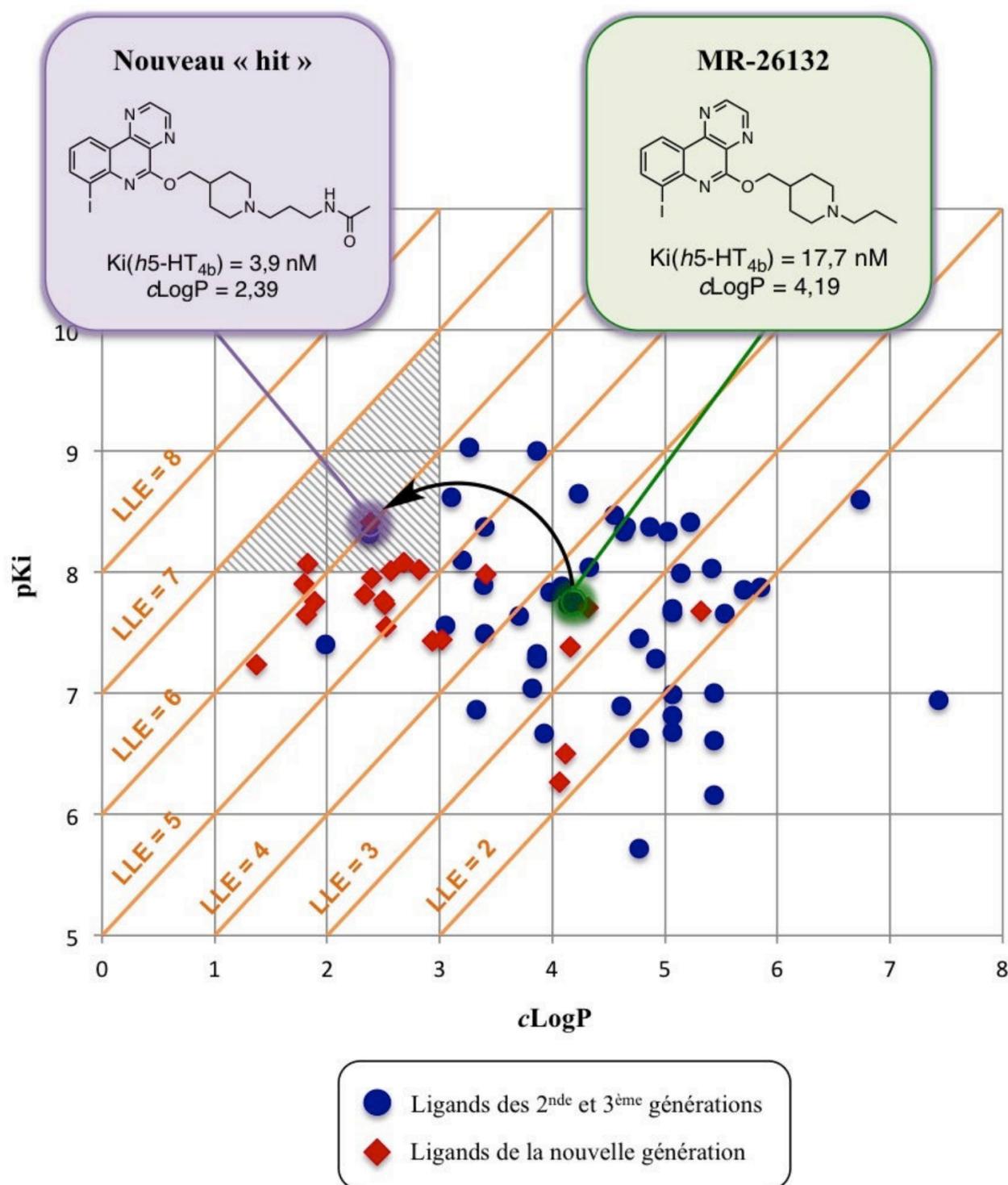


Figure 65 : Cartographie des ligands synthétisés en fonction du pKi, du clogP et de la LLE

L'introduction de ce nouveau paramètre qu'est la LLE permet d'établir une zone dite « idéale » pour la conception d'un potentiel radiotraceur définie par le système d'inéquations suivant (9).

$$\begin{cases} 1 \leq c \log P \leq 3 \\ pK_i \geq 8 \\ 5 \leq LLE \leq 7 \end{cases} \quad (9)$$

En utilisant le système (9), un triangle a permis de délimiter une zone sur la Figure 65 dans laquelle les ligands développés respectaient l'ensemble des critères empiriques. L'analyse de cette cartographie indique que 5 composés synthétisés dans cette nouvelle génération figure à l'intérieur de ce triangle. La localisation du composé 13j au centre de ce triangle corrobore l'identification de ce ligand comme nouveau « hit ». Par ailleurs, 7 nouveaux composés iodés flirtent avec la zone définie

par le système (9) en raison d'une affinité envers le récepteur légèrement inférieure aux conditions suggérées ($pK_i \geq 8$).

L'ensemble de ces données a permis de sélectionner 5 composés pour le radiomarquage présenté dans la **Figure 66**.

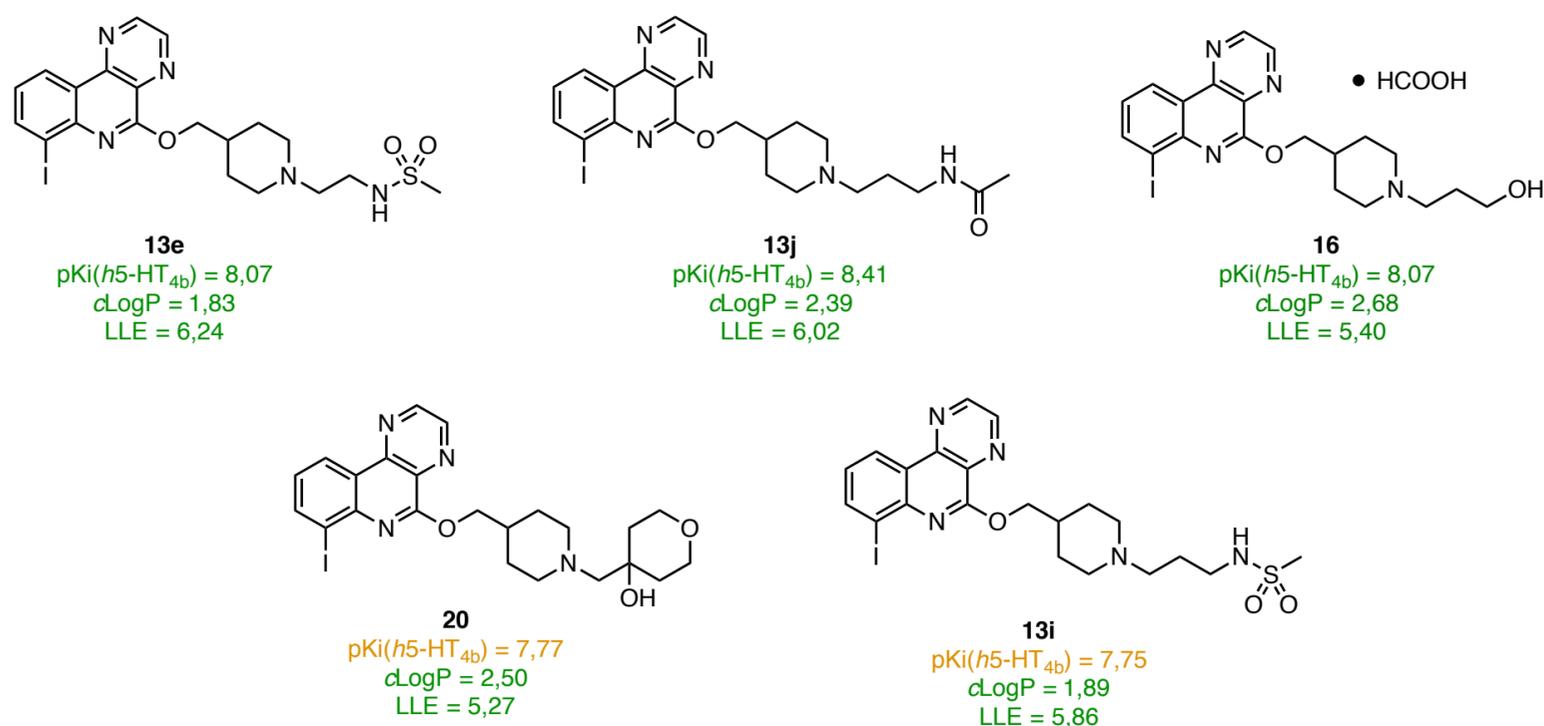


Figure 66 : Sélection des 5 ligands pour le radiomarquage

Les composés **13e**, **13j** et **16** ont été logiquement sélectionnés, répondant aux 3 critères précédemment établis. Les composés **13i** et **20**, bien que localisés légèrement à l'extérieur de la zone ont aussi été choisis. En plus de présenter une affinité vis-à-vis des 5-HT₄R semblable au **MR-26132** ($pK_i(h5-HT_{4b}) = 7,75$), l'influence d'une chaîne cyclique et de la longueur de la chaîne carbonée ont voulu être évaluées.

1.6. Phase 5 : Préparation des précurseurs pour le radiomarquage

A partir de iodure de sodium, unique source commerciale génératrice d'iode-125, plusieurs techniques ont été développées pour l'incorporation de cet isotope radioactif et seront présentées dans une autre section de ce manuscrit (Chapitre 3).^[117] L'une d'entre elles, sans doute la plus utilisée pour sa sélectivité, consiste à synthétiser un précurseur stannylé (**Figure 67**).

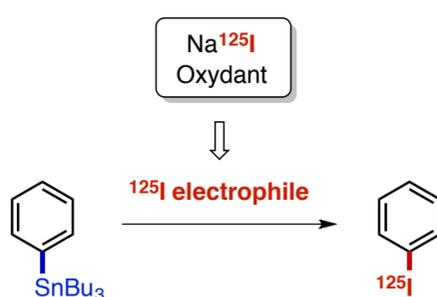


Figure 67 : Technique de radio-iodation à partir d'un dérivé stannylé.

¹¹⁷ Mushtaq, S.; Jeon, J.; Shaheen, A.; Jang, B. S.; Park, S. H. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2016**, *309*, 859–889.

Après oxydation de l'iode radioactif, l'espèce électrophile générée est capable de réagir en *isop* du dérivé stannylé. Cette réaction de iodo-déstannylation est effectuée *via* addition électrophile de l'espèce radioactive puis élimination du dérivé métallique. L'introduction d'un groupement stannylé sur les 5 composés sélectionnés a été investiguée. Les expériences ont été menées sur le composé **13i**, disponible en plus grande quantité.

Dans un premier temps, les conditions de couplage classiques pour l'introduction d'un dérivé stannylé ont été testées (**Figure 68**).^[118]

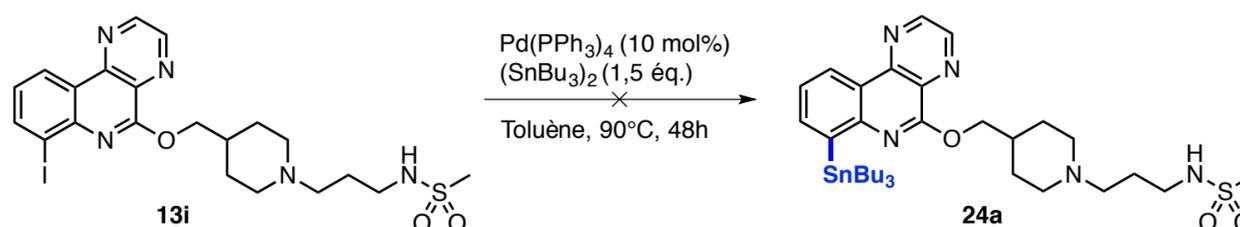


Figure 68 : Stannylation par couplage au palladium tétrakis

Malheureusement le produit stannylé n'a pu être observé suivant ces conditions. La matière première et quelques traces de produits de dégradation ont été observés. L'augmentation de la quantité de catalyseur (20 mol%) ou la génération *in situ* de celui-ci (Pd(OAc)₂ + PPh₃) n'ont pas apporté de meilleurs résultats.

Dans un deuxième temps, les réactions d'échange halogène-métal ont été envisagées. Récemment, Uchiyama *et al.*, ont décrit une stratégie de stannylation par génération de l'espèce R₃Sn-Li puis ajout de l'halogénure d'aryl correspondant pour transférer le groupement stannylé sur le cycle aromatique (**Figure 69**).^[119]

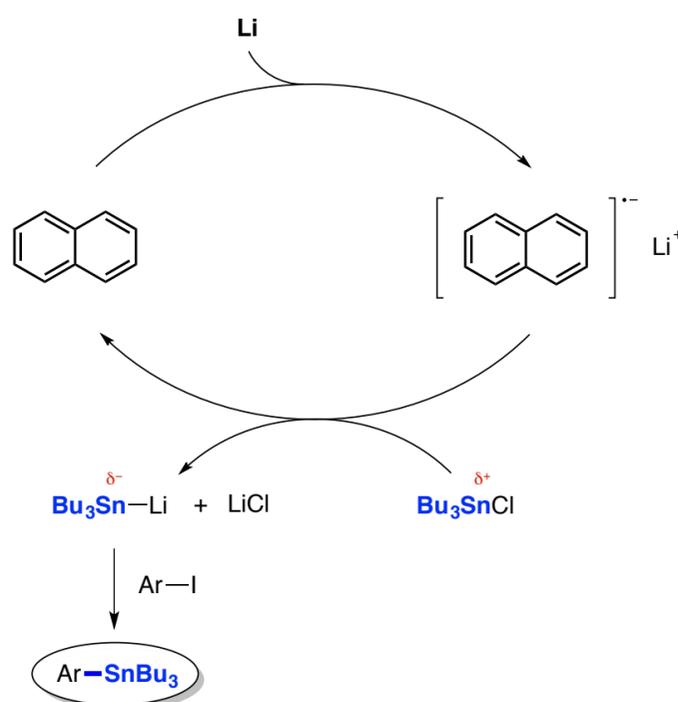


Figure 69 : Mécanisme de stannylation par génération de l'espèce nucléophile Bu₃SnLi

¹¹⁸ Donohue, S. R.; Varnäs, K.; Jia, Z.; Gulyás, B.; Pike, V. W.; Halldin, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6209–6212.

¹¹⁹ Wang, D.-Y.; Wang, C.; Uchiyama, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 10488–10491.

Les auteurs supposent que le système naphthalène-lithium est obtenu par transfert mono-électronique permettant par la suite la génération de l'espèce active Bu₃SnLi. Suffisamment nucléophile, le groupement stannyl est ensuite introduit par addition nucléophile puis élimination. Ces conditions expérimentales ont été appliquées à la stannylation du composé **13i** (**Figure 70**).

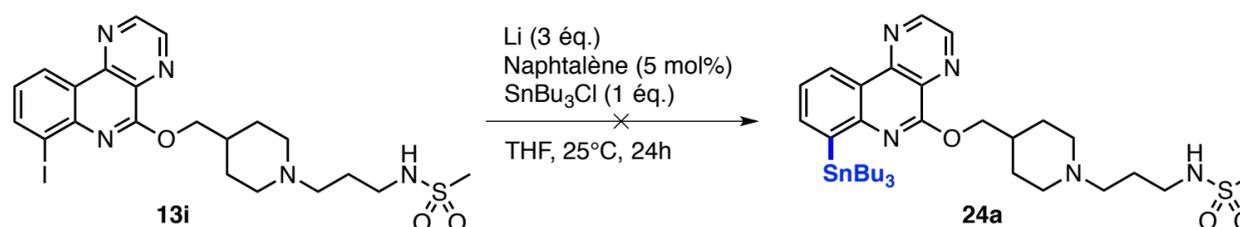


Figure 70 : Stannylation du composé **13i** par génération de l'espèce Bu₃SnLi

Une nouvelle fois le produit attendu n'a pas été observé. La faible solubilité de la matière première ainsi que la possible oxydation du métal sont des facteurs pouvant expliquer l'absence du produit de stannylation. La génération d'espèce Bu₃SnLi a été testée suivant deux autres techniques : traitement de l'hexabutyldiétain (SnBu₃)₂ en présence de *n*-butyllithium (*n*-BuLi) et par déprotonation de l'hydruure de tributylétain (Bu₃SnH) en présence de diisopropylamidure de lithium (LDA).^[120] Si les résultats se sont montrés encourageants sur de petites structures, l'application sur la molécule **13i** n'a pas abouti à l'obtention du dérivé **24a**

Une autre stratégie d'échange halogène-métal a été étudiée. Le composé **13i** est mis en présence d'*i*PrMgCl.LiCl puis l'électrophile Bu₃SnCl est ajouté (**Figure 71**).^[121]

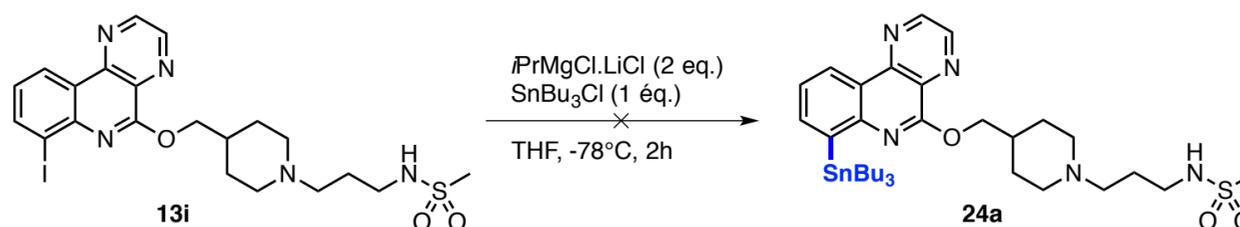


Figure 71 : Stannylation du composé **13i** par échange halogène-métal avec *i*PrMgCl

Les résultats se sont montrés une nouvelle fois décevants et un mélange complexe a été observé. Finalement le composé stannylé a pu être isolé en utilisant des conditions de couplage différentes de celles précédemment exposées (**Figure 72**).^[122]

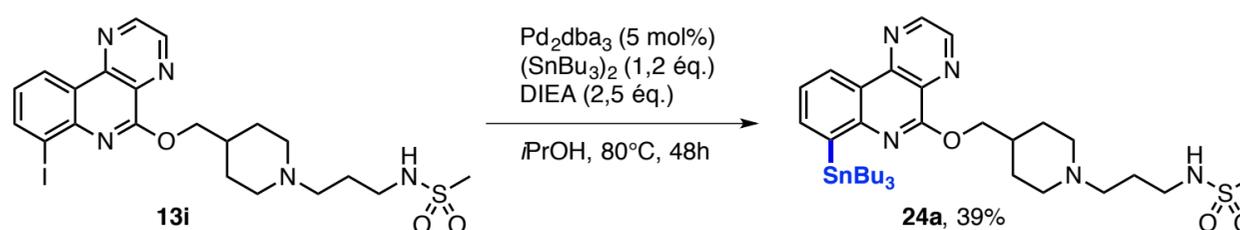


Figure 72 : Stannylation du composé **13i** par couplage au tris(dibenzylideneacétone)dipalladium(0)

¹²⁰ Linderman, R. J. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, **2001**

¹²¹ Morita, T.; Fuse, S.; Nakamura, H. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2016**, *55*, 13580–13584.

¹²² Pickett, J. E.; Váradí, A.; Palmer, T. C.; Grinnell, S. G.; Schrock, J. M.; Pasternak, G. W.; Karimov, R. R.; Majumdar, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 1761–1764.

Les conditions expérimentales proposées par les auteurs s'appliquent aux cycles aromatiques appauvris. Essentiellement en mélange avec le produit de deshalogénéation, le composé stannylé **24a** a été isolé avec un rendement de 39%. En utilisant cette méthodologie, les quatre autres analogues stannylés ont été obtenus (**Figure 73**).

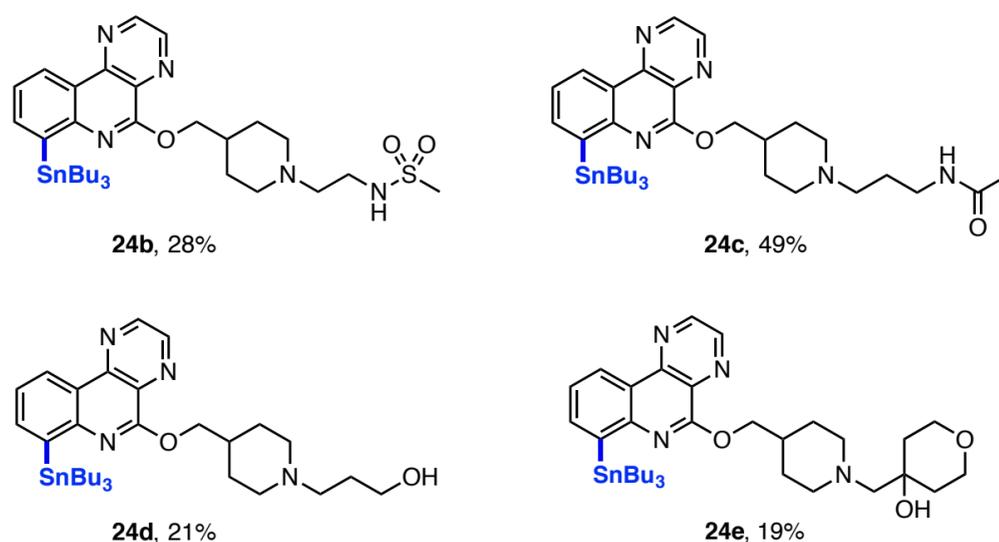


Figure 73 : Stannylation des composés

Ces 5 précurseurs ont ensuite été envoyés chez nos collaborateurs pour le marquage à l'iode-125 puis l'étude *ex vivo* chez le rat et *in vitro* sur des coupes de cerveaux humains disponibles à la cervéauthèque des Hôpitaux Universitaires de Genève.

1.7. Phase 6 : Radiomarquage et évaluation préliminaire *in vitro*

Dans un premier temps, nos collaborateurs ont réalisé le marquage des cinq molécules envoyées par iododéstannylation (**Figure 74**).

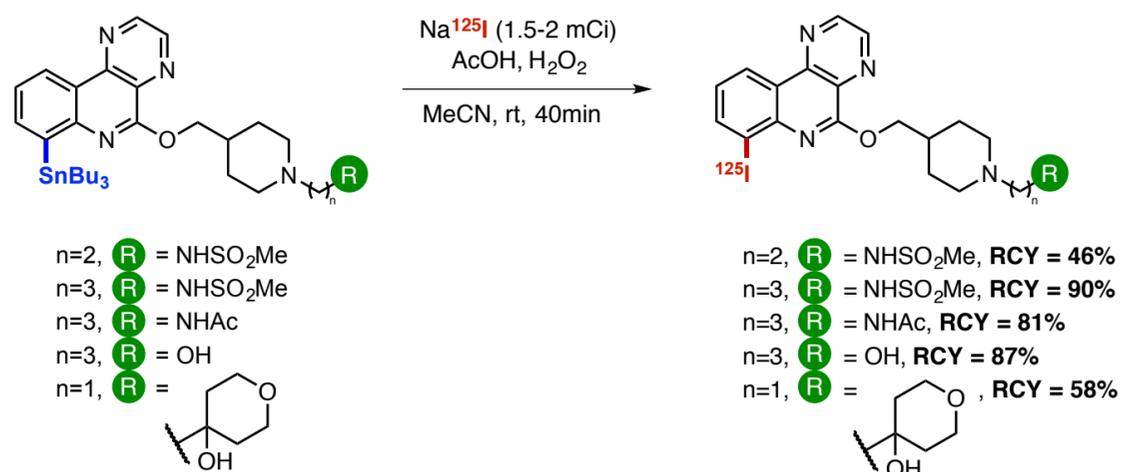


Figure 74 : Radiomarquage à l'iode-125 des précurseurs

Ces expériences ont été réalisées à de très faibles concentrations (à partir de 50 µg de précurseur). Après oxydation des ions iodure [¹²⁵I]I⁻ pour générer l'espèce [¹²⁵I]I₂, l'atome d'iode radioactif est ensuite introduit par substitution électrophile aromatique. Après 40min d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est purifié par radiochromatographie HPLC et les produits sont isolés avec des rendements radiochimiques (RCY) compris entre 46% et 90%. Le vocabulaire

spécifique au radiomarquage ainsi que les techniques de purifications seront développés plus en détail dans une autre section de ce manuscrit (Chapitre 3 § 2.1). En amont, les cerveaux de 3 rats ont été extraits après euthanasie et différentes coupes sur six régions, plus ou moins riches en récepteurs 5-HT₄, que sont le Cortex Frontal (CF), l'Hippocampe (Hipp), le noyaux du Raphé (Raphé), le Caudé/Putamen (Cpu), la Substance Noire (SN) et le Cervelet (Cerv ou Ce) ont été effectuées.

Pour chaque région, 20 coupes séparées de 30 micromètres ont été effectuées et réparties sur cinq lames différentes pour chacune des cinq molécules radiomarquées (**Figure 75**).

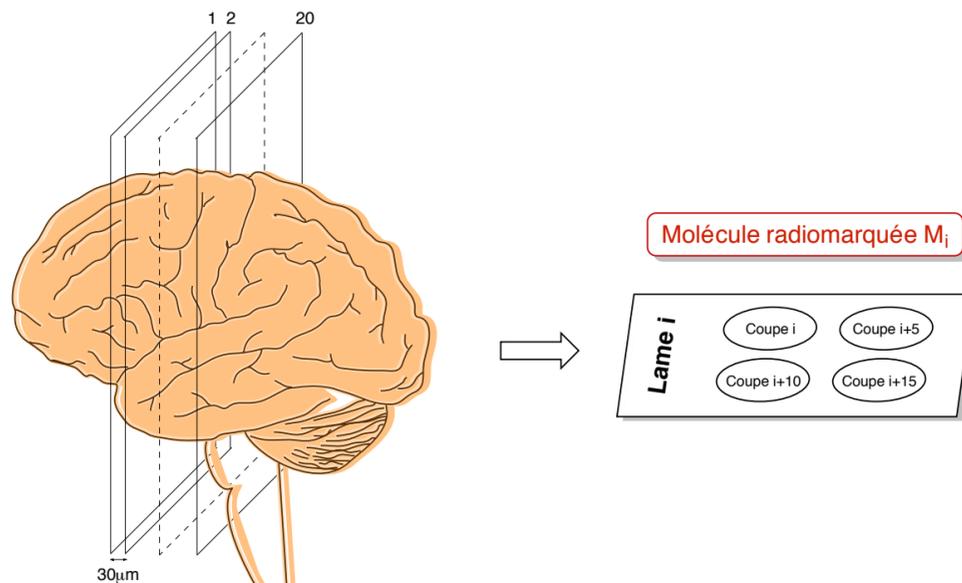
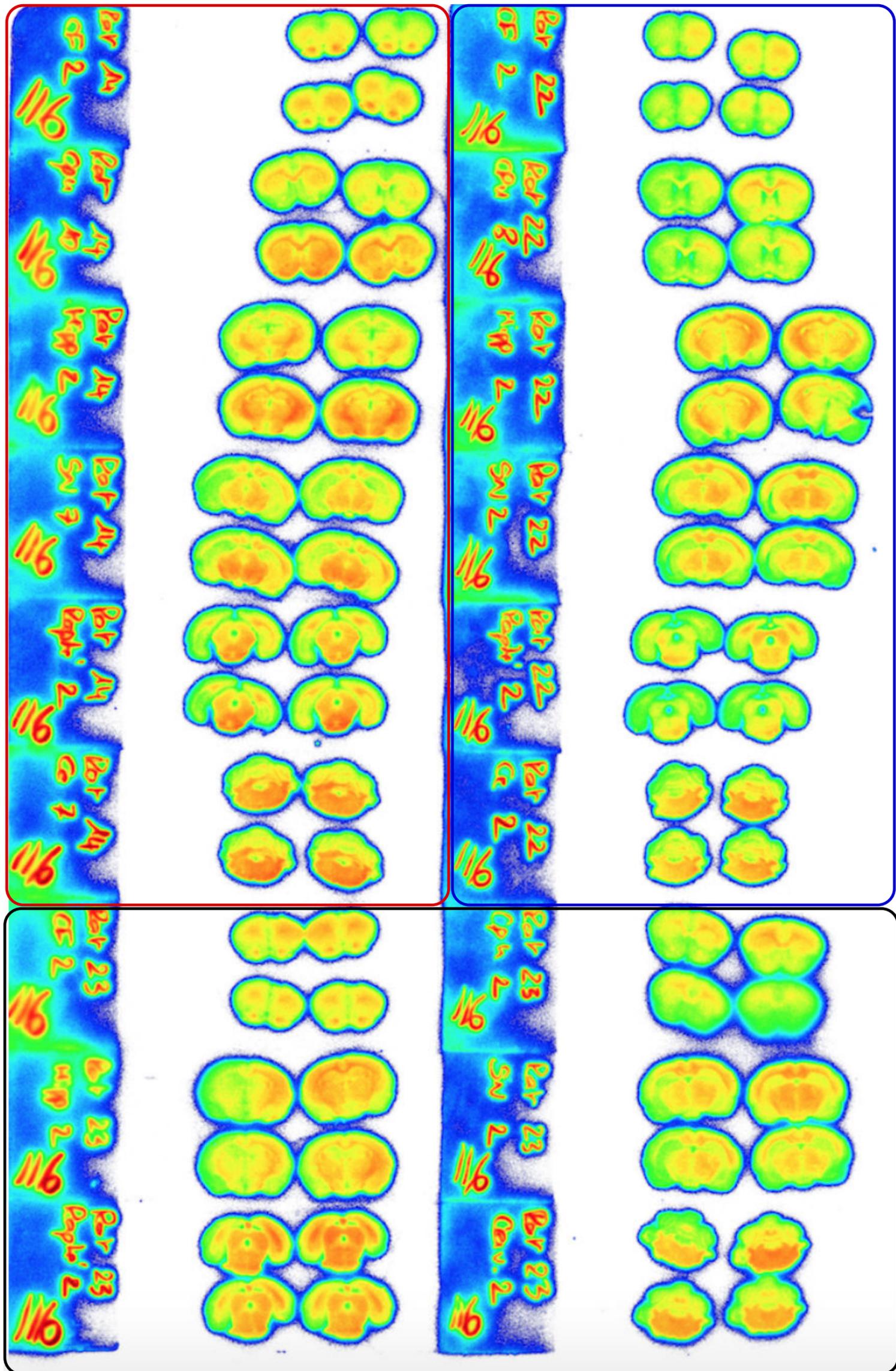


Figure 75 : Répartition des coupes de cerveau pour une région pour l'autoradiographie

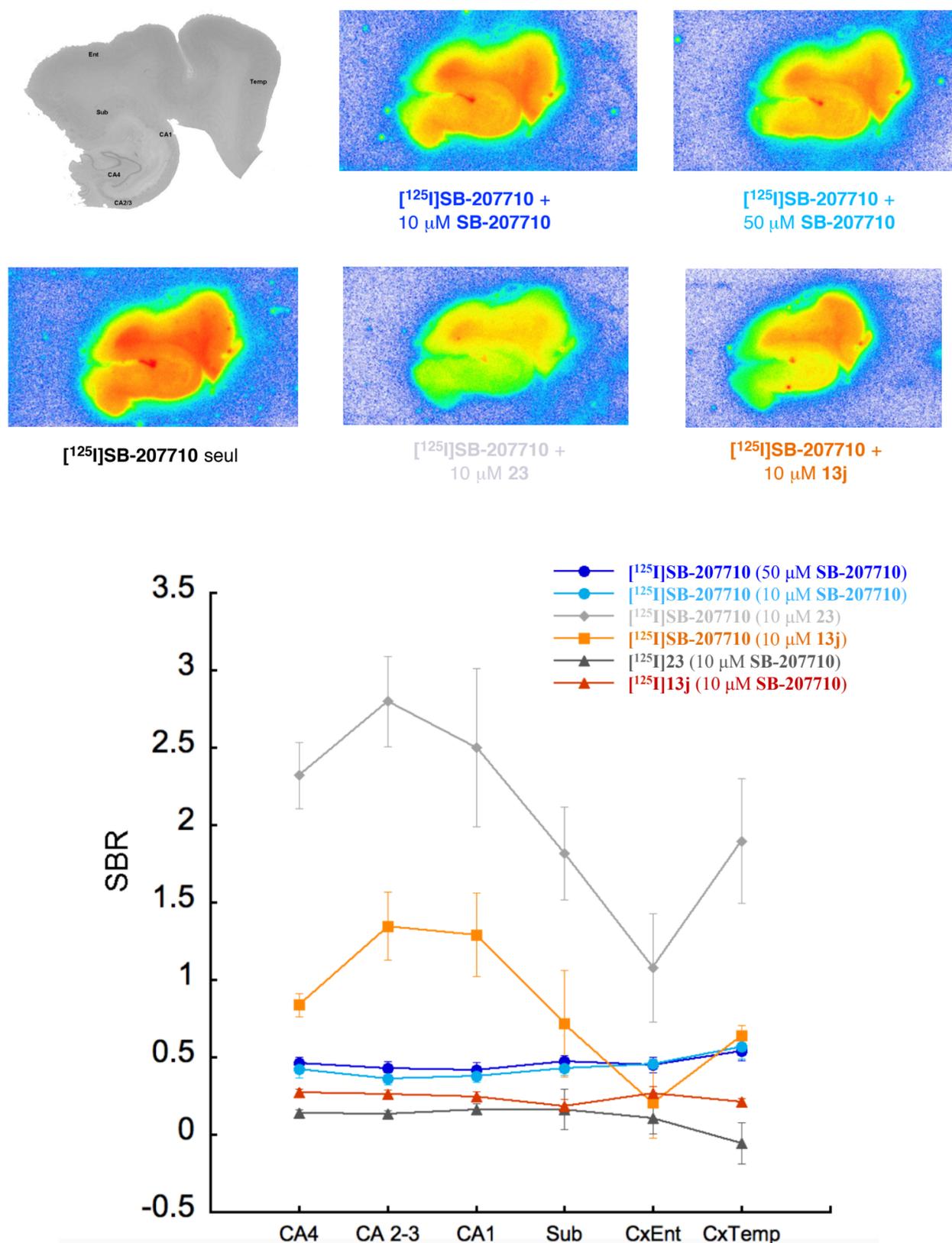
Ces préparations sont réalisées pour chacune des six régions et sur chacun des trois rats. Au total, 90 lames ont été préparées et divisées en cinq groupes, soit 18 lames, pour chacune des molécules radiomarquées à tester. Initialement, les lames sont immergées dans un tampon de binding une quinzaine de minutes puis dans un second récipient contenant le même tampon ainsi que le radiotracer, à une concentration de 3 $\mu\text{Ci/mL}$, pendant 90 minutes. Ces lames sont ensuite lavées 2 fois 3 minutes par immersion une nouvelle fois dans la solution de tampon de binding à 4°C, rincées à l'eau à 4°C puis séchées à l'air libre avant d'être utilisées pour l'autoradiographie. Suivant ce protocole, cinq planches de 18 lames sont obtenues (**Figure 76**). L'analyse des résultats obtenus montre une absence totale de spécificité du signal sur l'ensemble des cinq molécules. L'intensité du marquage n'est pas plus importante au niveau des régions riches en récepteurs 5-HT₄ telles que le putamen et noyau caudé de striatum (tubercule olfactif), l'hippocampe (noyau interpédonculaire) et la substance noire par rapport aux autres zones du cerveau comme le cervelet ou le cortex frontal. La répartition et la densité des isoformes du récepteur 5-HT₄ étant différentes entre le rat et l'Homme, de nouvelles expériences ont été menées *in vitro* sur l'hippocampe issu de coupes de cerveaux humains.



CF = Cortex Frontal, Hipp = Hippocampe, Raphé = Noyau du Raphé, Cpu = Caudate/Putamen, SN = Substance Noire, Ce/Cerv. = Cervelet

Figure 76 : Planche obtenue par autoradiographie *in vitro* sur le rat (molécule [¹²⁵I]13j)

La préparation des coupes de cerveau humain pour réaliser des expériences d'autoradiographie est beaucoup plus complexe et longue par rapport au rat. Près d'un mois de traitement est nécessaire avant de pouvoir débiter les expériences d'imagerie. Cette nouvelle étude a été menée sur huit patients différents sur lesquels des expériences de déplacement de ligands ont été effectuées en comparant trois radioligands : [¹²⁵I]SB-207710 radioligand référence de la littérature pour l'imagerie TEMP des 5-HT₄R, [¹²⁵I]23, radioligand développé au laboratoire issu de la pharmacomodulation des 2^{nde} et 3^{eme} générations de ligands et [¹²⁵I]13j nouveau ligands « hit » provenant de la nouvelle étude effectuée pour diminuer la lipophilie. Ces expériences ont été réalisées sur six zones distinctes de l'hippocampe humain ou pour chaque zone, le Specific Binding Ratio (SBR) a été évalué (Figure 77).



CA = Champ ammonien, Sub = Subiculum, CxEnt = Cortex Entorhinal, CxTemp = Cortex Temporal

Figure 77 : Autoradiographie après déplacement de ligand sur l'hippocampe humain

Sur une zone délimitée, le Specific Binding Ratio, est un index relatif qui représente la densité de récepteur 5-HT₄. En effet, pour les expériences de déplacement réalisées *in vitro*, il est impossible d'avoir accès directement au marquage spécifique. Pour le déterminer, on réalise une première expérience pour mesurer le marquage total du radioligand en injectant uniquement le composé radioactif. Puis on mesure ensuite le marquage non spécifique en déplaçant le radioligand par un ligand froid. A partir de ces données, il est ensuite possible de remonter au marquage spécifique et ainsi déterminer le SBR d'une molécule défini comme le rapport du marquage total sur le marquage non spécifique auquel on retranche 1.

Les premières manipulations réalisées ont consisté à déterminer une concentration de saturation pour mener ces expériences de binding. Ainsi, après injection du radiotracer [¹²⁵I]SB-207710, celui-ci a été déplacé par son analogue froid à 10 μM et 50 μM (courbes bleues). Les valeurs de SBR, identiques aux deux concentrations, indiquent qu'une concentration de 10 μM est suffisante pour être saturante. Ces expériences de déplacement ont ensuite été réalisées en présence du composé **13j** et **23** et les résultats ont montré de bien meilleurs SBR (courbes grise et orange) pour ces deux molécules par rapport au SB-207710. Cela signifie que l'affinité *in vitro* de ces molécules est supérieur au SB-207710 et que le composé **23** est lui même plus affiné que le composé **13j**.

Enfin, ces expériences ont été reconduites dans l'autre sens, c'est à dire que les radioligands [¹²⁵I]**13j** et [¹²⁵I]**23** ont été déplacés cette fois-ci par le SB-207710. Les mesures de SBR (courbes rouge et noire) se sont révélées être très en deça des attentes par rapport aux premières conclusions précédemment établies. En effet, les expériences de déplacement du radioligand de référence par ces deux molécules ont mis en avant une bien meilleure affinité des composés **13j** et **23**, synthétisés au laboratoire, par rapport au SB-207710. Ce résultat laissait donc suggérer que les SBR calculés, en réalisant les expériences de déplacement dans l'autre sens, devaient être supérieurs à l'expérience de déplacement du [¹²⁵I]SB-207710 par son analogue froid. Or ces valeurs de SBR se sont avérées être inférieures à celle mesurées pour cette expérience (courbe bleue). Pour expliquer ce résultat, il est possible d'envisager la présence d'un marquage non spécifique trop important de ces nouveaux radioligands.

Les expériences *in vitro* réalisées sur coupe de cerveau humain de patient sain ont montré la capacité de ces nouvelles molécules à marquer les zones riches en récepteur 5-HT₄, à être plus affines que le radioligand de référence, le SB-207710, mais ont aussi mis en avant la présence d'un marquage non spécifique encore trop important. Des expériences complémentaires sont actuellement en cours pour comme la comparaison de ces résultats avec des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Enfin des expériences *in vivo* chez le rat sont sur le point d'être réalisées afin d'étudier l'impact de la lipophilie entre les composés **13j** et **23**.

Parallèlement à cette étude, une nouvelle génération de ligands fluorescents a été synthétisée suite à une collaboration avec l'Institut de Génétique Fonctionnelle de Montpellier.

2. Synthèse et évaluation de nouveaux ligands pour l'imagerie par fluorescence

2.1. Généralités autour de la fluorescence

2.1.1. Principe physique

Le phénomène de fluorescence, observé pour la première fois en 1845 après émission d'une lueur bleue provenant d'une solution de quinine exposée à la lumière du soleil, a été développé au début des années 1920 par Jablonski. Sous l'action d'une source lumineuse, une molécule est capable d'absorber un photon, lors d'une interaction lumière-matière, se retrouvant ainsi dans un état excité. Afin de retrouver un état stable, cette molécule peut réémettre l'énergie absorbée sous différentes formes. Le changement conformationnel, le transfert d'électron et notamment la fluorescence font parties d'une liste non exhaustive de processus observés suivant l'excitation d'une molécule.

La fluorescence est liée à une autre forme de luminescence qu'est la phosphorescence. La différence entre ces deux phénomènes s'explique par la chimie quantique au travers du diagramme de Jablonsky (**Figure 78**).

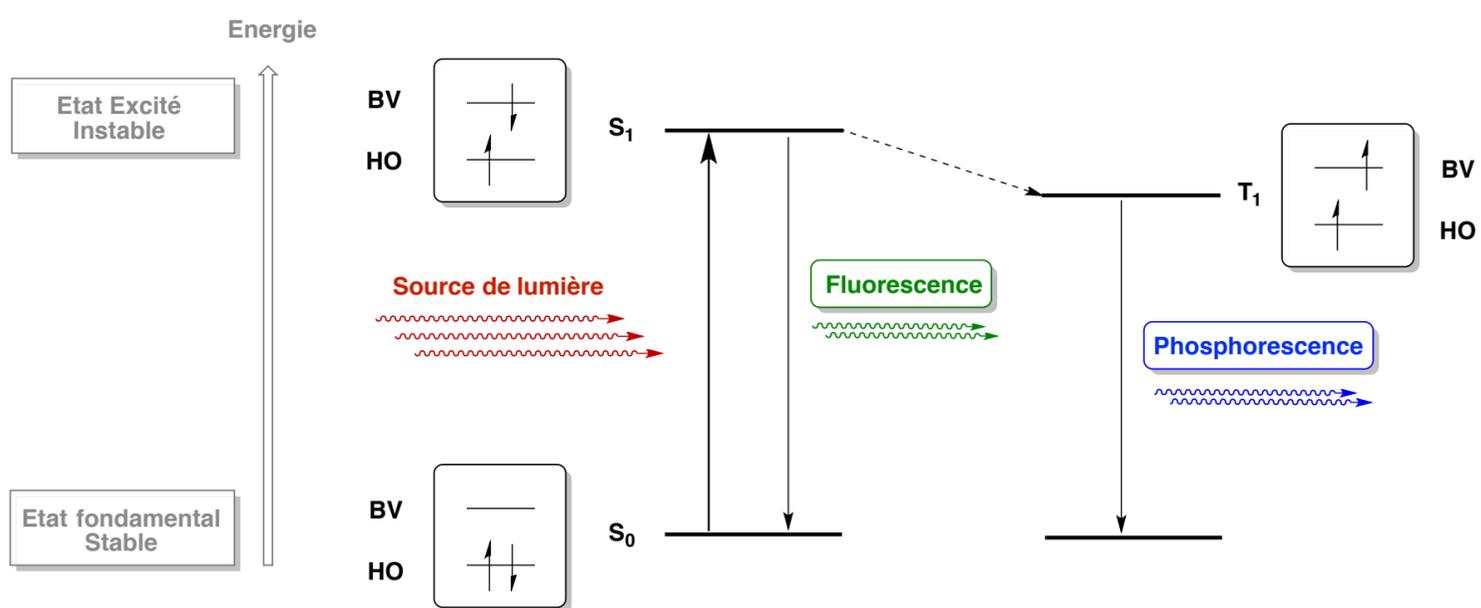


Figure 78 : Diagramme simplifié de Jablonsky pour les phénomènes de luminescence

Par définition, une molécule est dite stable lorsqu'elle se trouve dans son état fondamental. L'orbitale moléculaire occupée de plus haute énergie, appelée Haute Occupée (**HO**), possède un système de 2 électrons appariés car selon le principe d'exclusion de Pauli, un maximum de deux électrons de spin opposé peuvent occuper une même orbitale. Le spin global de la molécule est donc nul et par conséquent l'état fondamental est un état dit « Singulet » de repos (**S₀**). Lorsque une source de photons est dirigée sur la molécule, le rayonnement électromagnétique est absorbé par cette molécule et l'énergie apportée se traduit par le passage d'un électron de la **HO** vers une autre orbitale de plus haute énergie mais initialement vide, la Basse Vacance (**BV**). La molécule se trouve alors dans un état dit « Singulet » excité, instable (**S₁**). La durée de vie d'un électron dans cet état de Singulet étant très faible (inférieur à la nano-seconde), deux manifestations sont possibles, fluorescence ou

phosphorescence. Dans le premier cas de figure, l'électron retourne instantanément à l'état « Singulet » stable (**S**₀) en émettant un photon d'une certaine énergie caractéristique. Le phénomène de phosphorescence est un peu plus complexe. La molécule se retrouve dans un premier temps dans un état dit « Triplet » métastable (**T**₁) après inversion de spin de l'électron présent dans la **BV**. Puis elle retrouve son état fondamental (**S**₀) après une nouvelle inversion de spin et émission d'un photon d'énergie caractéristique.

Expérimentalement, la différence entre ces deux phénomènes de luminescence se fait par rapport au temps nécessaire à la réémission du photon caractéristique. Dès lors que la molécule est excitée, le phénomène de fluorescence est instantané et s'arrête au moment où la source lumineuse est coupée. Contrairement à la fluorescence, le phénomène de phosphorescence peut se manifester après arrêt de l'exposition. L'énergie emmagasinée peut être conservée un certain temps et réémise sous forme de lumière quelques minutes voire quelques heures après excitation. L'intensité lumineuse émise lors de ces phénomènes peut être caractérisée par plusieurs paramètres physico-chimiques.

2.1.2. Caractérisation de la fluorescence

On appelle fluorophore tous composés chimiques capables de générer le phénomène de fluorescence après excitation. Chaque fluorophore est caractérisé par un spectre d'absorption et un spectre d'émission qui lui est propre. L'analyse de ces spectres permet de fournir la longueur d'onde optimale d'absorption $[\lambda_{ab}]_{max}$ ainsi que le maxima de la longueur d'onde émission $[\lambda_{em}]_{max}$. On définit alors le déplacement de Stokes $\Delta\lambda$ d'un fluorophore comme la différence entre les maxima du spectre d'émission et du spectre d'absorption. Expérimentalement, pour détecter plus facilement le phénomène de fluorescence, il est préférable d'utiliser des fluorophores dont le déplacement de Stokes est supérieur à 20 nm. D'autres paramètres sont utilisés pour caractériser la fluorescence. Le rendement quantique ϕ , défini comme le rapport du nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés indique la capacité d'une molécule à fluorescer. Le coefficient d'extinction molaire ϵ , que l'on retrouve notamment dans la loi de Beer-Lambert, traduit l'efficacité avec laquelle un fluorophore absorbe dans un solvant donné. Enfin l'intensité de fluorescence **I** est définie comme le produit du rendement quantique par le coefficient d'extinction molaire.

Ces paramètres, propre de la fluorescence d'un composé, peuvent être ajustés par l'expérimentateur en assemblant judicieusement des éléments chimiques, et peuvent être influencés par des facteurs environnementaux.

2.1.3. Facteurs influençant la fluorescence

Les propriétés de fluorescence exposées précédemment sont dépendantes de nombreux facteurs qui peuvent être classés en deux catégories, les facteurs moléculaires et les facteurs environnementaux.

La conception moléculaire d'un fluorophore repose sur des enchaînements aromatiques ou des systèmes π délocalisés. D'une manière générale, l'extension de la conjugaison modifie les spectres d'absorption et d'émission vers l'infrarouge visible et augmente le rendement quantique.^[123] La substitution de tels systèmes par des groupements électro-attracteurs ou électro-donneurs permet d'ajuster la fluorescence en jouant sur la différence énergétique des orbitales moléculaires frontières (**HO** et **BV**). L'introduction d'hétérocycles azotés diminue la fluorescence en raison d'une transition énergétique entre les orbitales frontières (**OF**) plus faible. Cependant, en présence de solvant protique, la création de liaisons hydrogène intramoléculaire permet d'augmenter le rendement quantique en modifiant une nouvelle fois l'écart énergétique des OFs.

D'autres facteurs environnementaux que la nature du solvant peuvent influencer la fluorescence. La température a un impact indirect sur la fluorescence en modifiant la viscosité du solvant dans lequel l'expérience se déroule ce qui engendre une modification du rendement quantique. Des études sur la fluorescéine, un fluorophore très fréquemment utilisé, ont montré l'influence du pH sur la fluorescence de ce composé.^[124] Les spectres d'absorption et d'émission du composé sont sensibles à la variation du pH entraînant des variations parfois très significatives du rendement quantique.

La liste des facteurs environnementaux susceptibles d'influencer la fluorescence est grande. La polarité, la pression font parties des paramètres non énumérés mais pour autant capable de modifier les propriétés de fluorescence d'une molécule.

Au vu des généralités exposées, le développement de composés fluorescents s'avère être une alternative intéressante à l'utilisation de la radioactivité pour l'imagerie.

2.2. Imagerie médicale et fluorescence

L'utilisation de la fluorescence pour l'imagerie médicale est en plein essor ces dernières années, offrant plusieurs techniques de diagnostics. L'ophtalmologie a été la première discipline à employer la fluorescence pour visualiser dans le cas d'angiographies rétiniennes certaines structures vasculaires de l'œil. Un agent de contraste fluorescent (fluorescéine ou vert d'indocyanine) est injecté dans le système sanguin du patient et des clichés de l'œil sont réalisés à l'aide d'une caméra spécifique. Une telle analyse permet notamment d'établir un diagnostic de certaines maladies de l'œil.

En oncologie, la fluorescence peut être utilisée de différentes manières pour détecter des cellules cancéreuses. Certains tissus pouvant posséder une fluorescence naturelle voient apparaître une distinction des propriétés physico-chimiques de fluorescence entre tissu sain et tissu cancéreux. Il est aussi possible d'administrer une substance fluorescente extérieure susceptible de se fixer spécifiquement sur le type de tissus à analyser. Enfin, en exploitant les modifications physico-chimiques de l'environnement d'un tissu cancéreux, on peut utiliser des marqueurs fluorescents

¹²³ Valeur, B. *Invitation à la fluorescence moléculaire*; De Boeck, 2004.

¹²⁴ Martin, M. M.; Lindqvist, L. *J. Lumin.* 1975, 10, 381–390.

dépendant de ces paramètres. Par exemple, des images *in vivo* de tissus cancéreux chez la souris ont été obtenues à partir du 5,6-carboxylfluorescein en exploitant la différence de pH, plus faible aux abords des cellules cancéreuses, modifiant ainsi les propriétés de fluorescence du fluorophore.^[125]

La conception de ligand pour l'imagerie par fluorescence s'avère être une thématique prometteuse au vu des nombreuses utilisations possibles pour le diagnostic précoce de certaines pathologies. Cependant à l'heure actuelle l'imagerie par fluorescence se focalise uniquement sur de l'imagerie *in vitro* chez l'homme, ou *in vivo* chez de petits animaux. L'énergie du rayonnement émis par ce phénomène, trop faible, serait atténuée par le franchissement des tissus.

2.3. L'imagerie par fluorescence des 5-HT₄R

La conception de sondes fluorescentes pour les RCPG a fait l'objet de nombreuses études ces dernières années.^[126] Au même titre que l'utilisation des radiotraceurs, ces composés fluorescents permettent d'imager les interactions récepteurs-ligands en utilisant un large panel de techniques de fluorescence. De plus, le développement du marquage d'acides aminés ou de protéines par l'introduction d'un fluorophore offre des perspectives d'imageries novatrices par rapport à la médecine nucléaire. Le marquage de ces oligomères a ainsi permis de réaliser des études de cinétiques mais aussi d'interactions protéine-protéine au sein des RCPG pouvant expliquer l'origine de certaines pathologies.

Le développement de ligand fluorescent pour l'imagerie de ces récepteurs s'appuie sur une stratégie très simple. A partir d'un ligand « hit » où une Relation Structure-Activité a été établie, le fluorophore est introduit au moyen d'un linker le reliant au corps susceptible d'interagir avec le récepteur. Le choix du fluorophore repose sur ses propriétés physico-chimiques et notamment les longueurs d'onde d'excitation et d'émission de manière à minimiser la génération de signaux parasites pouvant provenir de la fluorescence propre des tissus environnants. Aujourd'hui, une seule étude sur la synthèse de ligands fluorescents pour les récepteurs 5-HT₄ a été réalisée.^[127] A partir de l'antagoniste **ML10302**, développé par la même équipe,^[128] différents analogues substitués par trois fluorophores différents ont été synthétisés (**Figure 79**).

¹²⁵ Mordon, S.; Devoisselle, J. M.; Maunoury, V. *Photochem. Photobiol.* **1994**, *60*, 274–279.

¹²⁶ Ma, Z.; Du, L.; Li, M. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8187–8203.

¹²⁷ Berque-Bestel, I.; Soulier, J.-L.; Giner, M.; Rivail, L.; Langlois, M.; Sicsic, S. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2606–2620.

¹²⁸ Yang, D.; Soulier, J.-L.; Sicsic, S.; Mathé-Allainmat, M.; Brémont, B.; Croci, T.; Cardamone, R.; Aureggi, G.; Langlois, M. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 608–621.

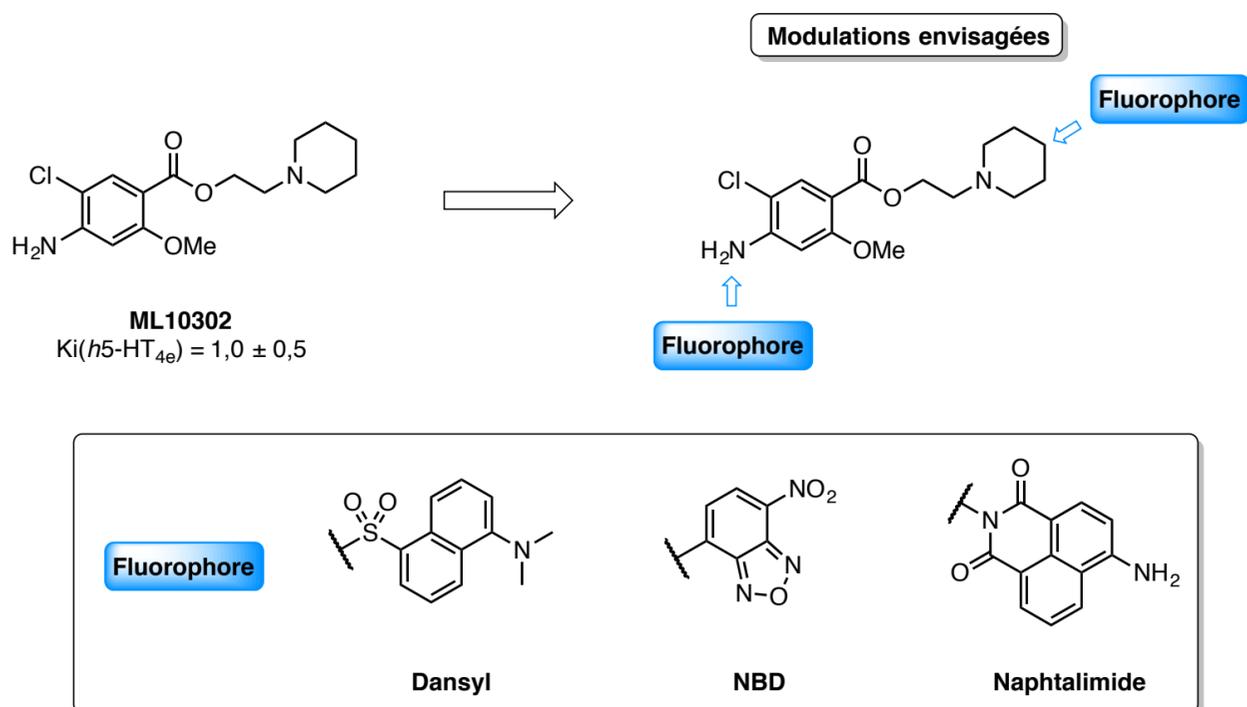
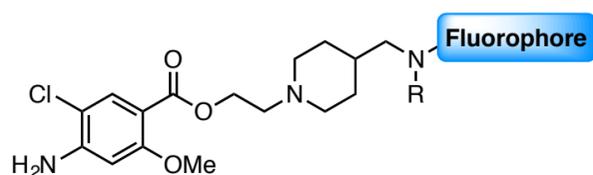


Figure 79 : Synthèse de ligands fluorescents à partir du ML10302

Après avoir évalué l'affinité de ces nouveaux ligands envers le récepteur, les auteurs ont ensuite déterminé les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de chacun des composés. Les résultats se sont montrés homogènes : pour un fluorophore fixé la nature du linker et la position du fluorophore n'ont pas influencé les maximas d'excitation et d'émission d'une molécule à l'autre. Ainsi trois molécules ont été sélectionnées à partir de leurs propriétés biologiques et physico-chimiques. (Tableau 5).



Fluorophore	Ki(5-HT _{4e})	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)
Dansyl	7,0 ± 5,0 nM	315	540
NBD	7,5 ± 3,0 nM	440-450	538
Naphtalimide	64 ± 12 nM	470	545

Tableau 5 : Evaluation biologique et propriétés physico-chimiques des ligands choisis pour l'étude

L'analyse *in vitro* sur des membranes 5-HT₄R a indiqué que le ligand possédant le fluorophore naphtalimide, bien que moins affiné que les deux autres, apportait les meilleurs résultats de fluorescence. Des tests *in vitro* sur des cellules exprimant l'isoforme e des récepteurs 5-HT₄ ont alors été effectués et ont confirmé la capacité de ce ligand à imager par fluorescence ces cellules. Néanmoins, à l'heure actuelle aucune autre utilisation de ce composé n'a été relevée dans la littérature.

Cette étude, datant de 2003, a montré qu'il était possible d'imager par fluorescence des cellules exprimant le récepteur sérotoninergique 5-HT₄. En s'inspirant du travail effectué par ce groupe, la conception d'une famille de ligands fluorescents a été envisagée à partir du ligand « hit » obtenu lors

de la 3^{ème} génération le **MR-26117** après évaluation des propriétés de fluorescence de ce ligand (**Figure 80**).

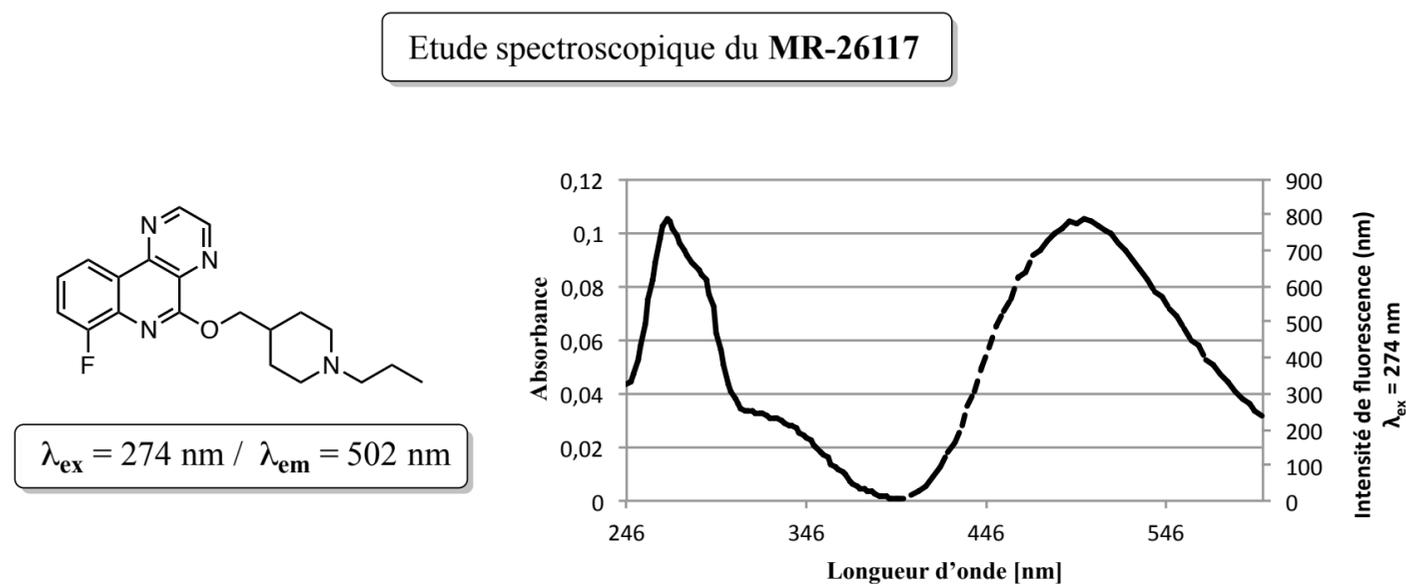


Figure 80 : Etude spectroscopique du **MR-26117**

En effet, les résultats obtenus ne permettent pas d'utiliser ce composé pour cette étude. Les propriétés physico-chimiques de fluorescence ne sont pas exploitables en raison de l'autofluorescence des cellules qui en résulte.

2.4. Conception d'une nouvelle famille de ligands fluorescents

Afin d'accéder à cette nouvelle famille de ligands, la stratégie de synthèse adoptée s'est inspirée des travaux réalisés pour le développement de ligands iodés pour l'imagerie TEMP. En premier lieu, le précurseur commun de cette nouvelle génération **29** a été synthétisé puis différents fluorophores issus de la littérature ou disponibles au laboratoire ont été introduits *via* une chaîne carbonée plus ou moins longue (**Figure 81**).

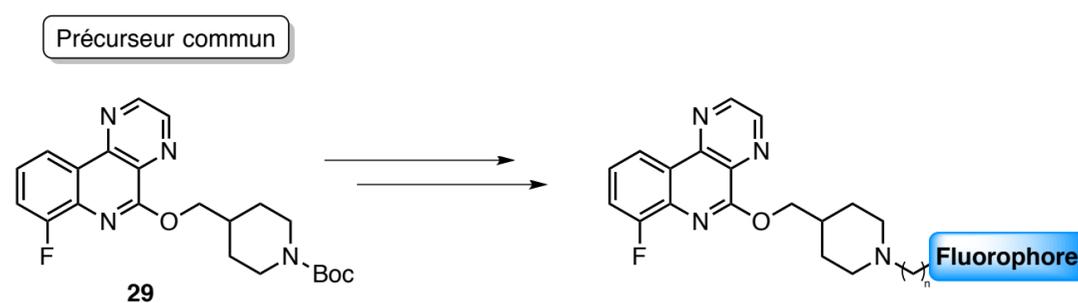


Figure 81 : Stratégie de synthèse pour l'obtention de nouveaux ligands fluorescents

Le précurseur **29** a été obtenu après une voie de synthèse multi-étapes similaire à celle décrite précédemment pour l'obtention du précurseur iodé **10** (**Figure 82**).

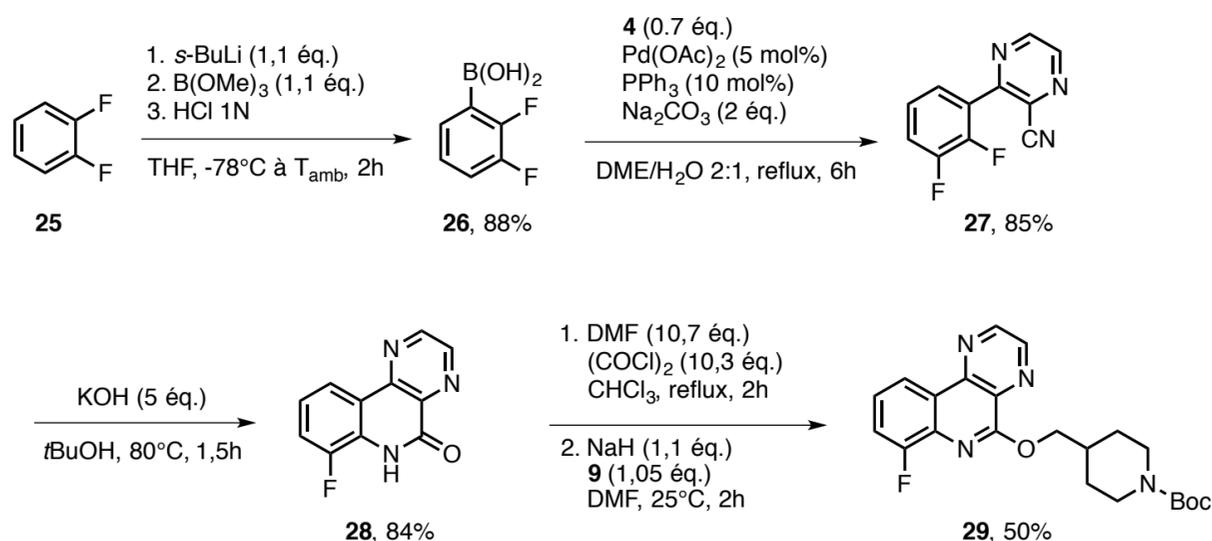


Figure 82 : voie de synthèse du précurseur **29**

Dans un premier temps, l'acide boronique **26** est obtenu après borylation du composé difluoré **25**. Cet acide boronique est ensuite engagé dans un couplage de type Suzuki-Miyaura afin d'isoler le motif biaryl **27**. Après cyclisation pour aboutir au δ -lactame **28**, le précurseur **29** est obtenu après une séquence chlorodeshydroxylation/Substitution nucléophile aromatique du précurseur **9** avec un rendement de 32% sur 4 étapes.

Ce précurseur en main, l'étape suivante consiste à introduire les différents fluorophores. L'insertion des motifs dansyl, nitrobenzofurasane et naphthalimide nécessite au préalable l'introduction d'une chaîne phtalimide. Trois longueurs de chaînes carbonées ont été sélectionnées : propyle, butyle et hexyle, la dernière citée ayant été synthétisée suivant le même mode opératoire que la chaîne **12** (Figure 83)

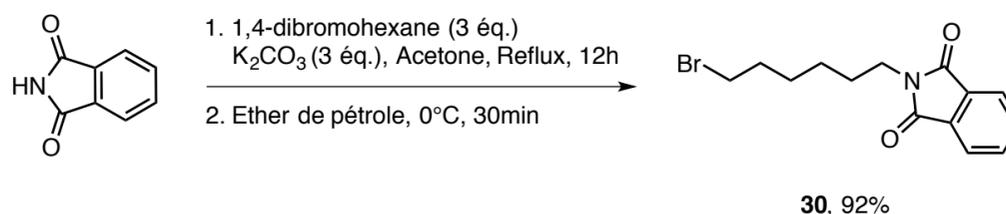


Figure 83 : Synthèse de la chaîne **30**

Les trois chaînes halogénées ont ensuite été introduites sur le précurseur **29** après déprotection de celui-ci (Figure 84).

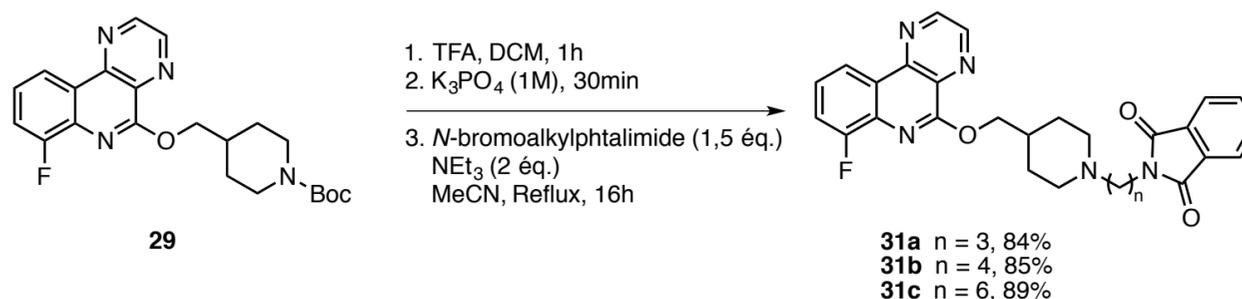


Figure 84 : Synthèse des composés **31a-c**

Une fois déprotégé par traitement acide au TFA, le précurseur **29** est mis en contact avec la chaîne *N*-bromoalkylphthalimide afin d'aboutir par substitution nucléophile au composé désiré.

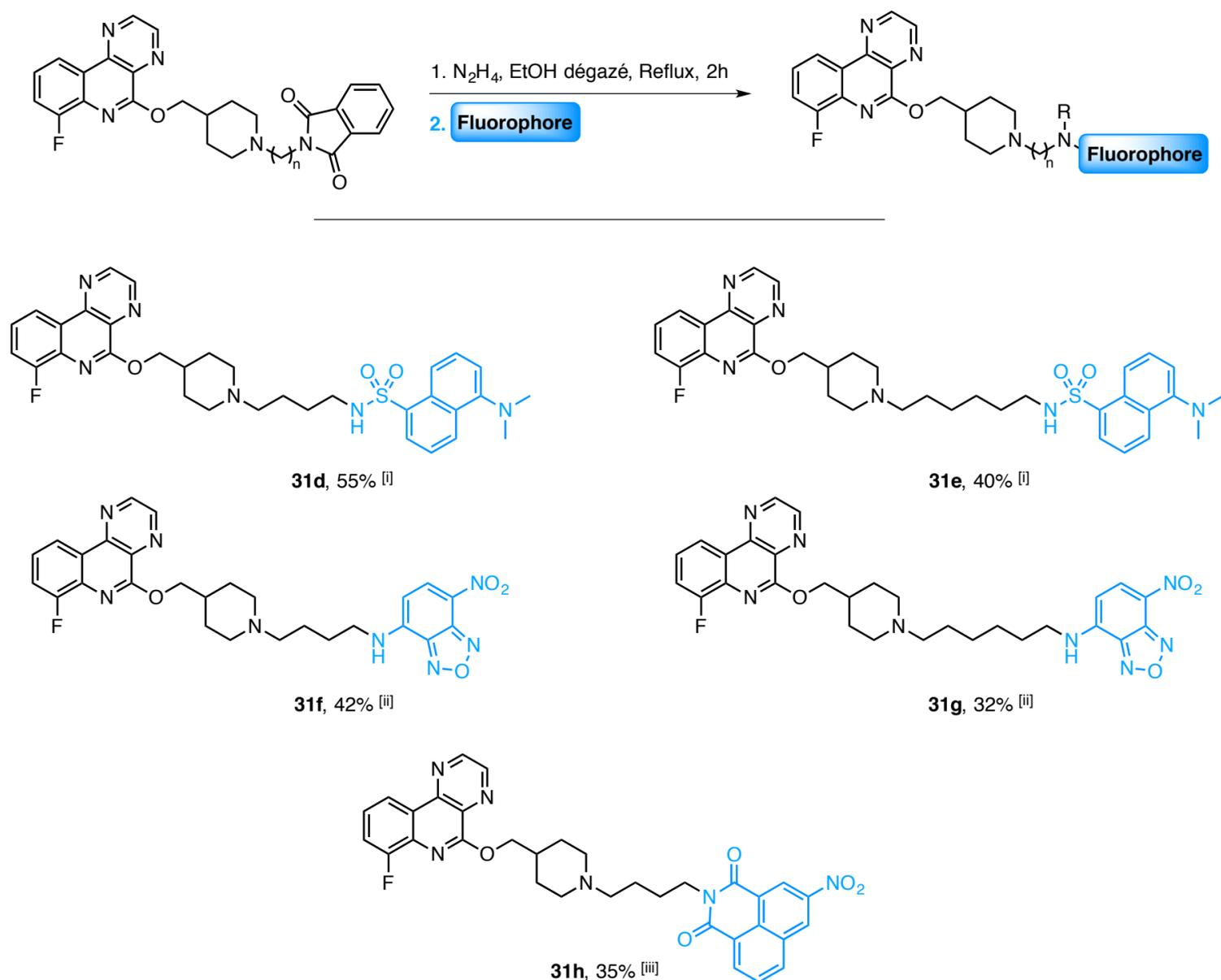
L'introduction du motif phtalimide a montré lors de l'étude réalisée sur les ligands iodés une importante diminution de l'affinité, sans doute dû à l'encombrement stérique. Afin d'envisager l'impact de l'insertion d'un fluorophore, plus volumineux que le motif phtalimide, sur l'affinité des nouveaux ligands, celle-ci a été évaluée au préalable sur les composés **31a-c** pour étudier l'influence de la chaîne carbonée (**Tableau 6**).

Ligand	n	% inh (10 ⁻⁶ M/10 ⁻⁸ M)	Ki(5-HT _{4b})
31a	3	100/43	178 ± 55 nM
31b	4	100/100	12,4 ± 2,6 nM
31c	6	100/63	29,3 ± 3,0 nM

Tableau 6 : Evaluation biologique des composés **31a-c**

L'analyse des résultats biologiques montre une réelle influence de la chaîne carbonée sur l'affinité envers le récepteur. L'introduction d'une chaîne 3-propylphtalimide fait très largement décroître l'affinité du ligand (**31a**) vis-à-vis des 5-HT₄R tandis que pour les chaînes équivalentes butyle (**31b**) et hexyle (**31c**) conservent une bonne affinité vis-à-vis du récepteur. L'introduction des fluorophores s'est focalisée sur les composés **31b** et **31c** après déprotection du motif phtalimide.

Comme précédemment exposé, le groupement phtalimide est clivé en présence d'une solution d'hydrazine puis l'amine libre obtenue peut être modulée par ajout du fluorophore adéquat. L'obtention des ligands **31d-h** s'est faite par substitution nucléophile de l'azote sur le fluorophore sélectionné. Ainsi, le dérivé dansyle a été introduit à partir du chlorure de dansyle correspondant pour aboutir aux composés **31d** et **31e** isolés avec des rendements respectifs de 55% et 45%. De la même manière le motif nitrobenzofurazane (appelé aussi NBD pour Nitro-1,2,3-BenzoxaDiazole) a été obtenu à partir du 4-chloro-7-nitrobenzofurazane et les ligands **31f** et **31g** ont été isolés avec des rendements de 42% et 32% respectivement. Enfin, le dérivé naphtalimide a été synthétisé à partir de l'anhydride correspondant pour aboutir au composé **31h** avec un rendement de 35% (**Figure 85**).



- [i] Chlorure de dansyle (1 éq.), NEt₃ (2 éq.), DCM, 25°C, 10min
[ii] 4-chloro-7-nitrobenzofurazane (1 éq.), THF, 0°C, 3h
[iii] anhydride 3-nitro-1,8-naphtalique (1 éq.), AcOH, reflux, 12h

Figure 85 : Synthèse des ligands **31d-h**

L'introduction du motif coumarine a nécessité la préparation de la chaîne halogénée pour être directement introduite sur le précurseur **29** déprotégé (**Figure 86**).

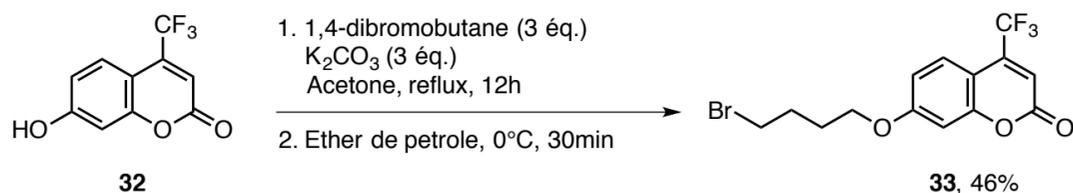


Figure 86 : Synthèse de la chaîne coumarine **33**

Le groupement hydroxy de la coumarine **32** est déprotoné pour substituer un brome du 1,4-dibromobutane. La chaîne halogénée **33** est ensuite mise en solution avec le précurseur **29** déprotégé pour aboutir au nouveau ligand **34** (**Figure 87**).

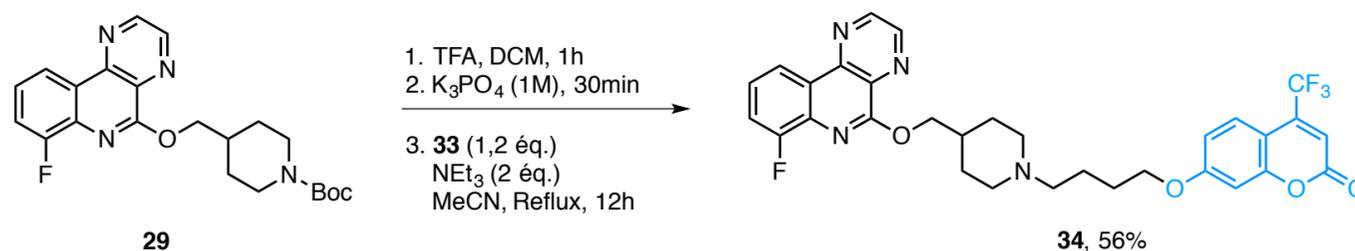
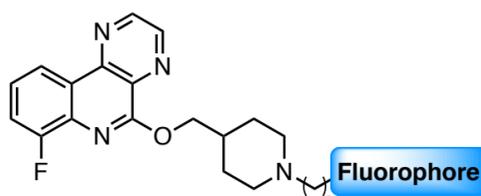


Figure 87 : Synthèse du ligand 34

Ces six ligands synthétisés, les propriétés biologiques et physico-chimiques de ces composés ont été évaluées en collaboration avec l'équipe du docteur Sylvie Claeysen de l'Institut de Génétique Fonctionnelle de Montpellier.

2.5. Evaluation *in vitro* des propriétés biologiques et de fluorescence

Les constantes d'affinités de ces composés envers le récepteur 5-HT₄ ont été déterminées de la même manière que précédemment (Chapitre 2 § 1.5.1) avec déplacement de l'antagoniste de référence [³H]GR-113808. Les résultats obtenus semblent corrélés avec les observations établies lors de l'introduction du motif phtalimide avec, en moyenne, une affinité plus importante lorsque le fluorophore est introduit sur une chaîne butyl. Ces résultats déterminés, les caractéristiques de fluorescence ont ensuite été mesurées et seules les valeurs obtenues pour les ligands possédant un motif NBD ou dansyl ont été retenues en raison de la trop faible solubilité des deux autres ligands (31h et 34) (Tableau 7).



Ligand	Fluorophore	n	% inh (10 ⁻⁶ M/10 ⁻⁸ M)	λ _{excitation}	λ _{émission}	Ki(5-HT _{4b})
31d		4	100/79	340 nm	535 nm	16,3 ± 6,9 nM
31e		6	100/63			29,3 ± 3,0 nM
31f		4	100/89	464 nm	512 nm	9,2 ± 3,3 nM
31g		6	100/94			24,8 ± 17,1 nM
31h		4	100/83	n.m	n.m	18,2 ± 11,1 nM
34		4	100/97	n.m	n.m	47,2 ± 13,8 nM

Tableau 7 : Evaluation biologique des ligands fluorescents

Pour compléter les études biologiques menées sur cette nouvelle famille, les profils pharmacologiques des composés **31e** (MR-35135) et **31g** (MR-35136) ont été évalués. L'analyse des résultats indique que ces deux composés présentent un profil d'agoniste inverse. En effet, les mesures d'AMPC en fonction de la concentration du ligand décroissent lorsque celle-ci augmente et atteignent des valeurs inférieures à l'antagoniste de référence **GR-113808** à haute concentration (**Figure 88**).

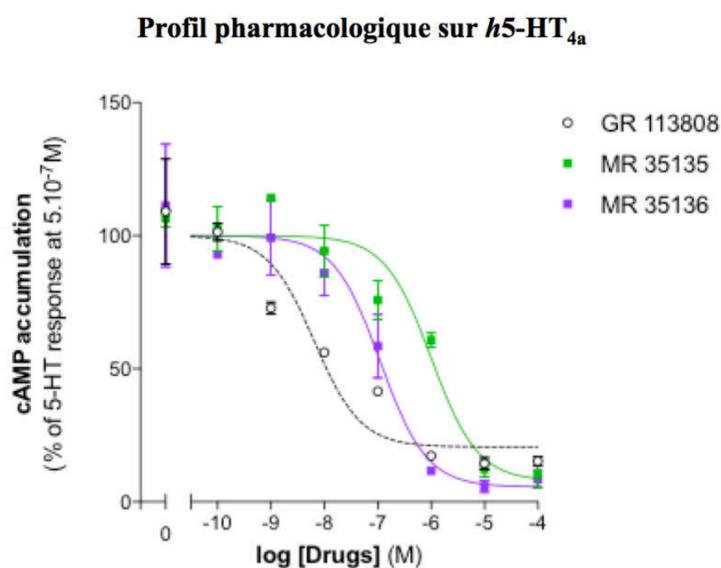
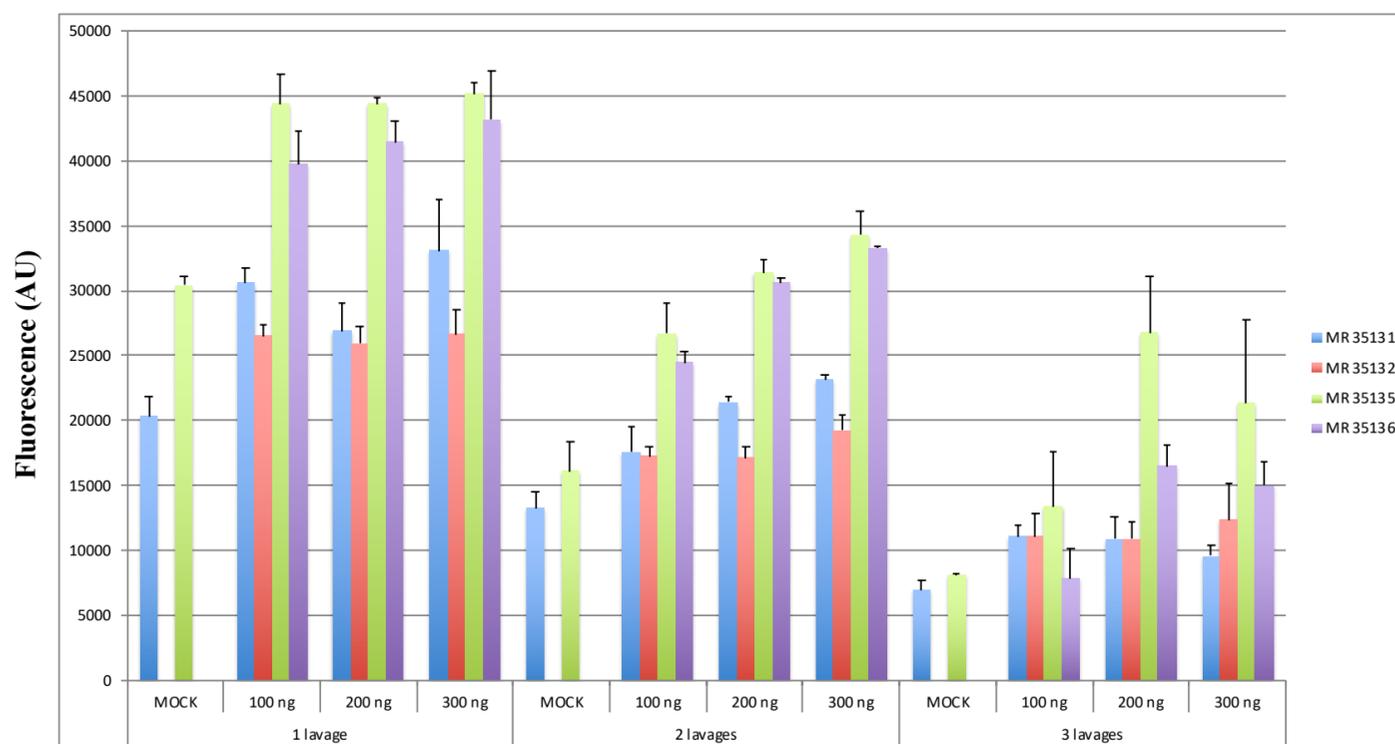


Figure 88 : Détermination du profil pharmacologique des ligands **31e** et **31g**

Afin d'estimer la capacité *in vitro* de ces molécules à se fixer sélectivement dans le milieu d'incubation sur les récepteurs 5-HT₄, un test ELISA sur des cellules HEK exprimant le récepteur 5-HT_{4a} a été effectué pour chacun de ces ligands. Ces cellules, n'exprimant initialement pas ce récepteur, ont été modifiées en y insérant le gène codant le récepteur 5-HT₄ *via* une technique d'électroinduction, où un plasmide possédant les propriétés génétiques désirées est ainsi introduit. Pour réaliser ce test, une plaque 96 puits a été préparée où, préalablement, des cellules témoins appelées MOCK et n'exprimant pas le récepteur, ont été déposées ainsi que les cellules HEK à 3 différentes concentrations (100 ng, 200 ng et 300 ng). Le ligand testé est ensuite introduit à une concentration de 10 μM en présence d'une solution tampon dans chacun des puits et la plaque est mise à incuber à 37°C pendant 10 min. La suspension est ensuite aspirée et les puits sont lavés une deux ou trois fois, fixés et séchés avant la lecture de la plaque au Spark à la longueur d'onde d'émission du ligand. (**Figure 89**).

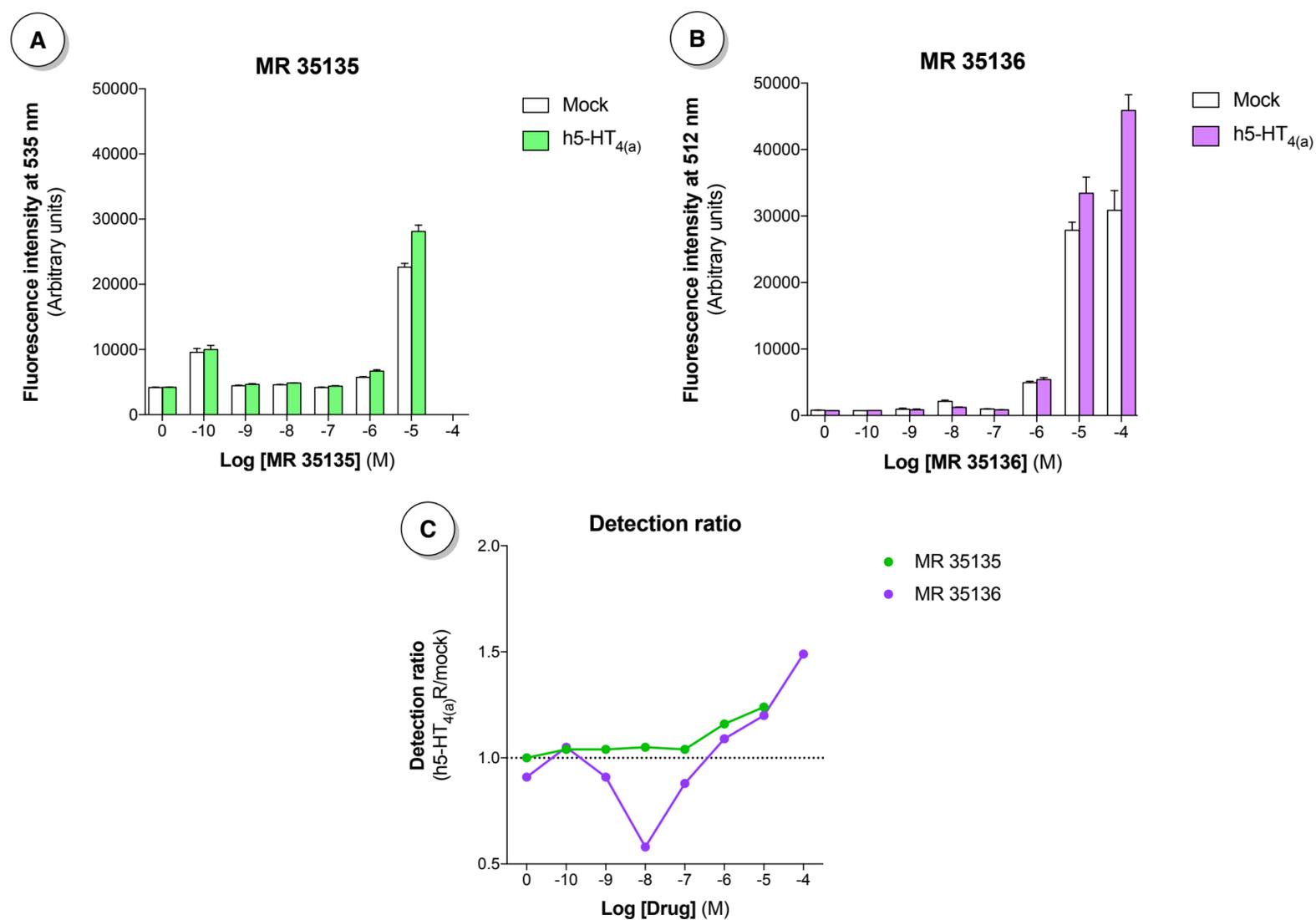
Test ELISA sur cellules HEK exprimant le récepteur h5-HT_{4a}



MR 35131 = **31f**, MR 35132 = **31d**, MR 35135 = **31e**, MR 35136 = **31g**.

Figure 89 : Résultats du test ELISA pour les composés **31d-g**

La première conclusion qui se dessine après analyse du graphique est la présence d'une fixation non spécifique des différents ligands. En effet, une fluorescence significative est détectée sur les puits possédant les cellules MOCK, et ce quelque soit le nombre de lavage effectué. Néanmoins, les résultats observés sur les composés **31e** et **31g** se sont avérés être les plus encourageants et des tests complémentaires ont été menés sur ces deux molécules. De nouvelles expériences ELISA ont été réalisées avec cette fois-ci une concentration fixe en cellules HEK et un nombre de lavage fixé à deux, comme usuellement rencontré dans la littérature. L'évolution de la fluorescence en fonction de la concentration en ligand a été suivie et un graphique illustrant le ratio de fluorescence observé après traitement entre cellules HEK exprimant 5-HT_{4a} et cellules MOCK a été obtenu (Figure 90).



A : Résultats du test ELISA du ligand **31e**

B : Résultats du test ELISA du ligand **31g**

C : Evolution du ratio de fluorescence HEK/MOCK en fonction de la concentration

Figure 90 : Test ELISA sur cellules HEK des composés **31e** et **31g** en fonction de la concentration du ligand

Comme précédemment, les résultats ont indiqué une fixation non spécifique des molécules testées. L'évolution du ratio de fluorescence pour la molécule **31e** est globalement resté constant avec une valeur se situant autour de 1, signifiant que la molécule testée s'est fixée de manière similaire en présence ou non du récepteur 5-HT₄ dans le milieu d'incubation. Concernant la molécule **31g**, l'analyse des résultats est plus complexe en raison de la non linéarité des résultats. Néanmoins, à une concentration de 10⁻⁴ M en ligand, le ratio de fluorescence s'est avéré être le plus élevé. Afin de réaliser une étude complète, des images au microscope par fluorescence ont été obtenues (**Figure 91**).

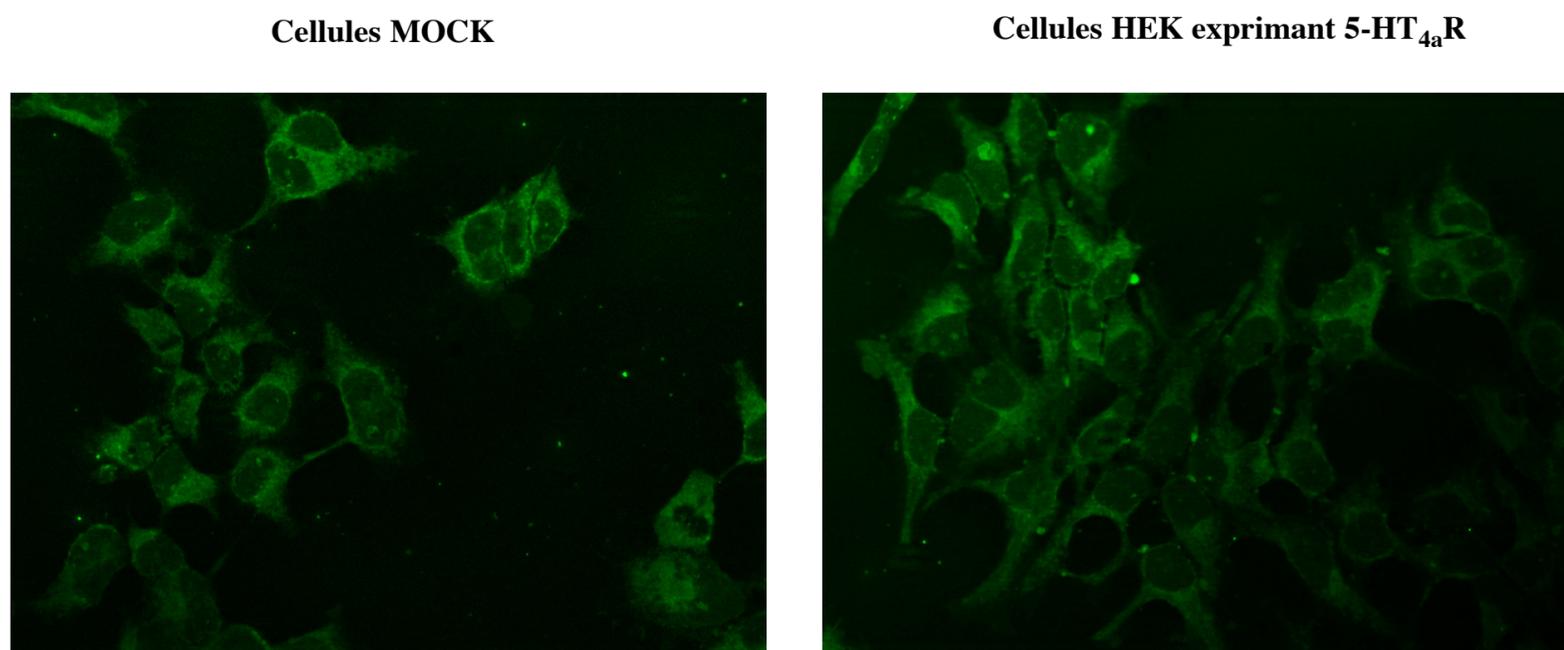


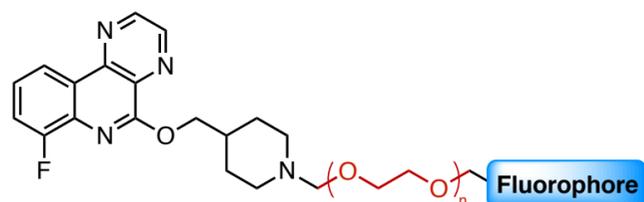
Figure 91 : Immunofluorescence sur cellules HEK (grossissement x40)

Les images réalisées corrélerent les précédentes affirmations concernant la non spécificité des molécules testées vis-à-vis du récepteurs 5-HT₄. Le cliché réalisé du ligand en présence des cellules MOCK met en évidence l'aptitude du composé à se fixer sur les parois membranaires des cellules.

Bien qu'indiquant rapidement un marquage non spécifique, les résultats obtenus dans cette partie ont permis de présenter l'approche biologique à réaliser pour aboutir à des images *in vitro* des récepteurs 5-HT₄ par immunifluorescence des cellules. Pour expliquer cette absence de spécificité, l'une des hypothèses plausibles serait une nouvelle fois une lipophilie trop élevée de ces molécules. En effet, sur les clichés obtenus, on observe une fixation membranaire du ligand sur ces cellules n'exprimant pas le récepteur 5-HT₄ laissant suggérer des interactions hydrophobes. Plusieurs modulations chimiques peuvent être envisagées dans l'optique d'améliorer les résultats d'imagerie.

Premièrement, la chaîne carbonnée, reliant le fluorophore au site actif du ligand, peut être remplacée par une chaîne polyéthylenglycol, permettant une diminution de la lipophilie. Deuxièmement, le choix d'un fluorophore plus hydrophile, conduirait à une diminution de la lipophilie. Différentes espèces chargées comme la sulforhodamine B ou cyanine3 pourraient être introduites afin d'augmenter l'hydrophilie de ces molécules. L'Oregon Green 488, fluorophore dérivé de la fluorescein aux caractéristiques de fluorescence proches de celles utilisées dans cette étude, serait aussi un candidat crédible pour une diminution de la lipophilie. Enfin, la synthèse des équivalents salifiés des ligands à tester (sel de fumarate par exemple) permettrait d'améliorer la solubilité de ces composés dans le DMSO, solvant utilisé pour la plupart des expériences biologiques, et ainsi obtenir des données plus précises et sur un plus grand nombre de fluorophore (**Figure 92**).

■ Insertion d'une chaîne PEG



■ Introduction d'un fluorophore plus hydrophile

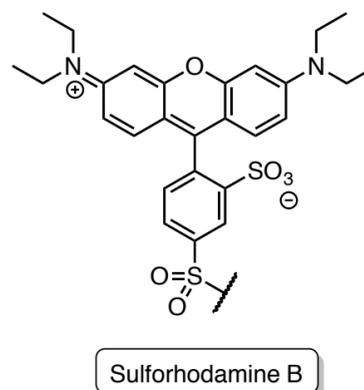
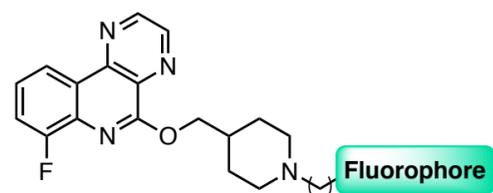


Figure 92 : Perspectives chimiques pour l'imagerie par fluorescence des récepteurs 5-HT₄

3. Perspectives sur la conception d'outils diagnostiques pour les 5-HT₄R

La conception de ligands sélectifs vis-à-vis du récepteur 5-HT₄ a fait l'objet d'un grand nombre de travaux depuis une vingtaine d'années au sein du laboratoire. Plusieurs familles de ligands ont ainsi été synthétisées suivant différents modèles. L'une des familles de ligands, basée sur un système tricyclique et initialement conçue à visée thérapeutique, s'est progressivement tournée vers le développement d'agents diagnostiques, essentiellement pour l'imagerie TEMP. En effet, le profil pharmacologique de ces ligands, antagonistes vis-à-vis du récepteur 5-HT₄, a amené l'équipe à synthétiser des molécules iodées dans l'optique de développer un radiotracer. Trois générations de ligands se sont ainsi succédées et un radioligand capable de marquer *ex vivo* les zones riches en récepteurs 5-HT₄ a été obtenu, mais le marquage s'est avéré non spécifique sans doute dû à une trop haute lipophilie. (Figure 93)

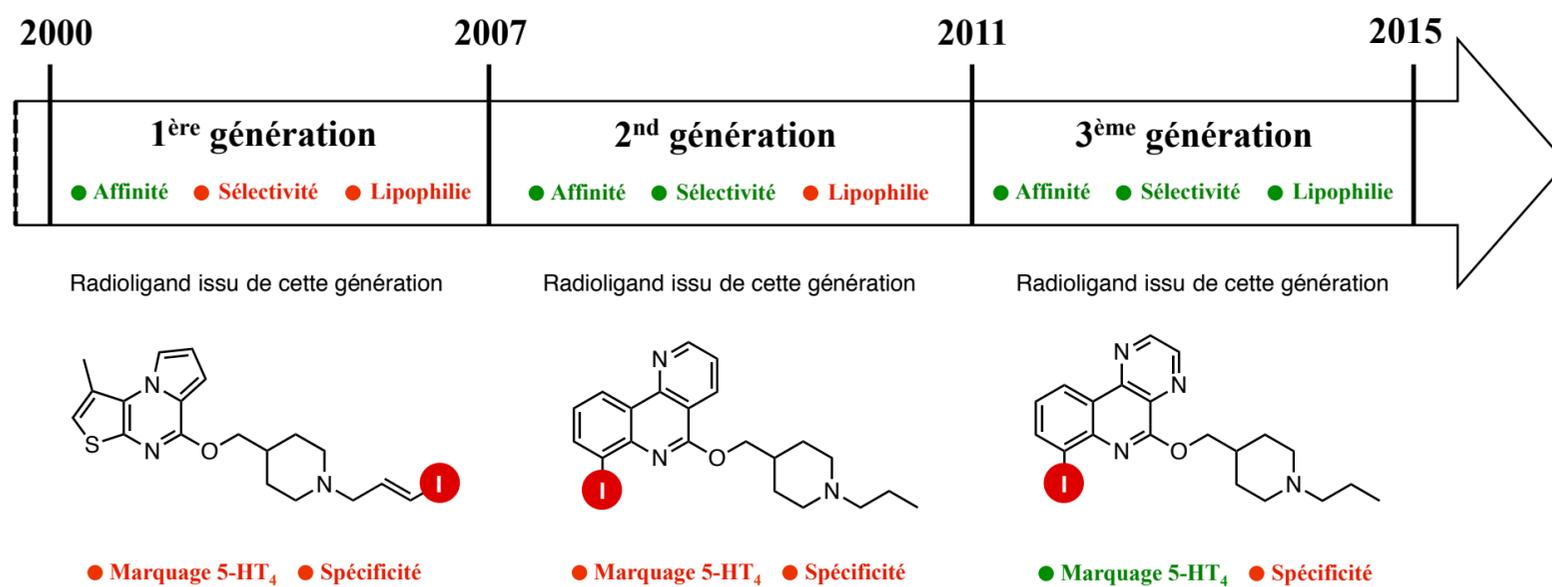


Figure 93 : Evolution des radioligands développés au laboratoire à partir d'un squelette tricyclique

C'est pourquoi, une quatrième génération de ligands a été synthétisée et présentée dans ce manuscrit. L'atome d'iode a, cette fois-ci, été directement incorporé et la lipophilie de ces molécules a été ajustée par pharmacomodulation de la chaîne substituant la pipéridine. La conception de cette nouvelle famille de ligand a permis la synthèse d'un nouveau composé « hit » dont les propriétés physico-chimiques et biologiques ($1 < \text{clogP} < 3 / \text{pKi} > 8 / 5 < \text{LLE} < 7$) semblent plus adéquates pour le développement d'un nouveau radioligand (**Figure 94**).

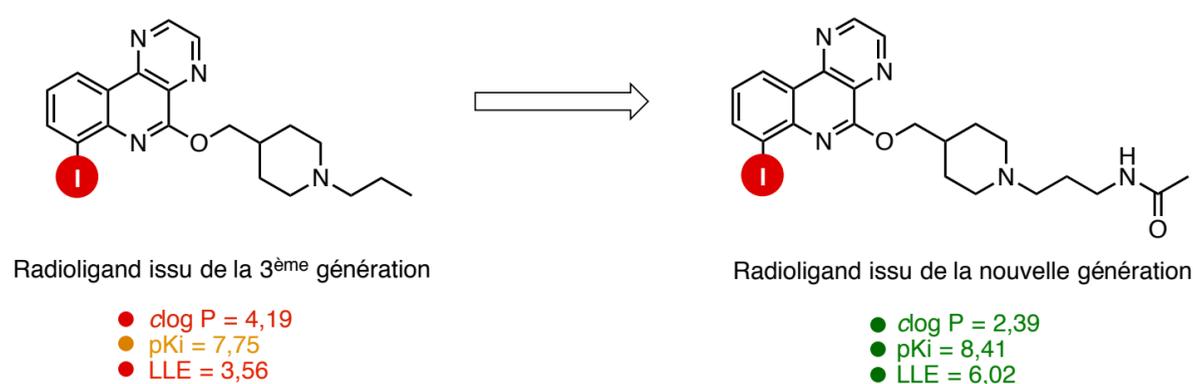


Figure 94 : Nouveau composé "hit" synthétisé

L'évaluation de ce nouveau radioligand a nécessité la préparation d'un précurseur stannylé afin d'incorporer l'atome d'iode radioactif par iododestannylation, manipulation réalisée par nos collaborateurs des Hôpitaux Universitaire de Genève. Si les expériences réalisées *in vitro* chez le rat ont montré une absence totale de spécificité du signal, les expériences menées sur coupe de cerveau humaine *in vitro* ont relevé la capacité de radioligand à déplacer le radioligand de référence, le **SB-207710**. Les quantifications mesurées sur différentes régions de l'hippocampe humain ont indiqué une meilleure affinité *in vitro* du nouveau radioligand par rapport à la référence. Des expériences sont actuellement en cours sur des coupes de cerveau humain de patient atteint de la maladie d'Alzheimer et de Parkinson afin de réaliser d'autres mesures de quantification et ainsi comparer les résultats avec ceux obtenus sur un patient sain.

En parallèle de ce travail mené sur le développement d'un nouveau radioligand pour l'imagerie TEMP des récepteurs 5-HT₄, une étude a été menée pour la conception d'agents diagnostiques envers ce même récepteur faisant appel à l'imagerie par fluorescence. A partir du composé « hit » synthétisé parmi toutes les générations, le **MR-26117**, une nouvelle famille de ligands a été développée. En s'inspirant de la littérature, plusieurs fluorophores ont été introduits et ces composés ont été envoyés à Montpellier en collaboration avec l'équipe du docteur Sylvie Claeysen de l'Institut de Génomique Fonctionnelle. Un grand nombre d'expériences biologiques ont été menées afin de déterminer la capacité de ces molécules à réaliser des clichés au microscope par fluorescence de cellules exprimant le récepteur et les résultats ont montré un manque de spécificité de l'ensemble de cette famille. Plusieurs hypothèses sont envisageables dont notamment une lipophilie trop élevée responsable d'interactions hydrophobes entre la membrane de cellules et le ligand fluorescent. C'est pourquoi la

synthèse de molécules plus hydrophiles en introduisant une chaîne PEG ou un fluorophore plus hydrophile est actuellement à l'étude.

Enfin, toujours en s'appuyant sur le ligand de référence synthétisé au laboratoire possédant un atome de fluor, le **MR-26117**, la réalisation d'image du récepteur 5-HT₄ faisant appel à l'imagerie TEP a été envisagée en partenariat avec l'équipe du Docteur Bertrand Kuhnast du CEA d'Orsay. Dans un premier temps, le composé **MR-26117** a été envoyé afin de réaliser l'échange isotopique fluor-19/fluor-18 dans des conditions drastiques. Deux expériences ont été menées mais les résultats obtenus se sont avérés peu concluants (**Figure 95**).

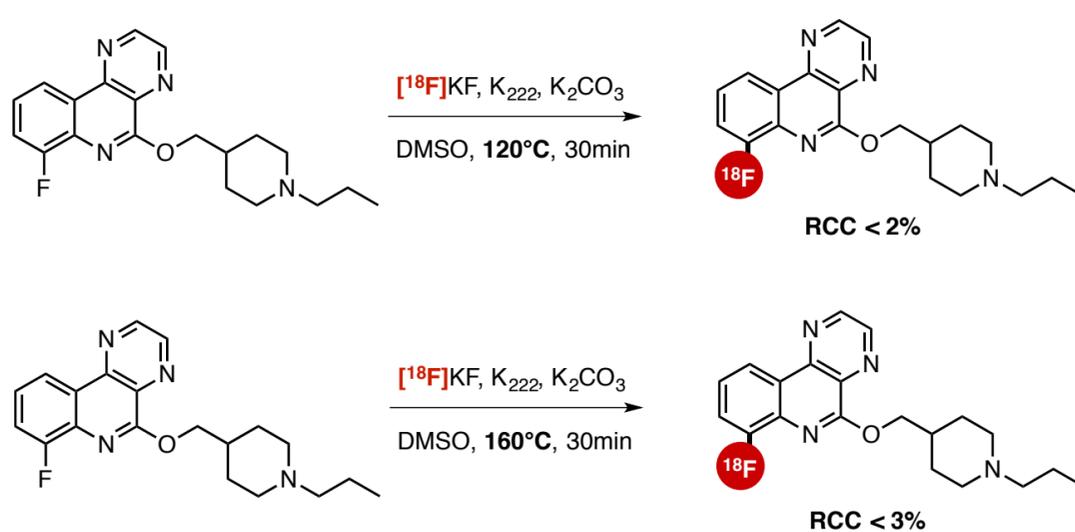


Figure 95 : Radiomarquage au fluor-18 par échange isotopique

Les très faibles conversions radiochimiques observées ont nécessité l'utilisation d'une autre technique afin d'incorporer l'isotope radioactif. Ainsi, comme pour l'iode radioactif, la synthèse d'un précurseur boronique ou stannylé est actuellement en cours pour introduire plus facilement l'atome radioactif. En fonction des résultats observés, l'introduction de chaîne ayant apportées les meilleurs résultats pour l'imagerie TEMP seront introduite afin de comparer les images obtenus en imagerie à partir de l'imagerie TEP.

Au cours de ces travaux, la principale difficulté chimique rencontrée s'est avérée être l'introduction d'un motif stannylé pour la synthèse du précurseur pour l'imagerie. Les dérivés de l'étain, en plus d'être toxiques, sont souvent instables et la purification de ces dérivés est souvent délicate. Néanmoins, à l'heure actuelle, la radioiododestannylation constitue la méthode la plus efficace pour introduire un atome d'iode radioactif. C'est pourquoi, le laboratoire s'est intéressé à développer une nouvelle stratégie de radiomarquage par activation C-H, stratégie qui n'a jamais été appliquée à la radioiodation dans la littérature.

Chapitre 3 :

Etat de l'art autour de la radioiodation

1. L'iode : un élément aux propriétés physico-chimiques à exploiter

1.1. Généralités autour de l'iode

53^{ème} élément du tableau périodique de Mendeleïev, cet atome de la famille des halogènes a été découvert au début du XIX^e siècle par le chimiste français Bernard Courtois. L'iode est un oligoélément clé pour le bon fonctionnement de l'organisme. Il est nécessaire à la production des hormones thyroïdiennes T3 et T4 qui ont un rôle important dans le métabolisme cellulaire. ^[129] Plus généralement, il semblerait que cet élément possède des propriétés anti-oxydantes dans les organes où des concentrations importantes d'iode sont détectées (glandes salivaires, estomac ou thyroïde par exemple). ^[130] Outre le domaine biologique où son apport est indispensable, l'iode est employé dans des secteurs divers et variés. Dans l'industrie, il est utilisé comme catalyseur dans la production d'acide acétique. La présence d'iode est détectée dans les lampes halogènes pour prolonger la durée de vie des filaments de tungstène. En météorologie, l'iodure d'argent est utilisé pour déclencher artificiellement une pluie mais sa principale utilisation se trouve dans le secteur de l'imagerie médicale grâce aux différentes caractéristiques physico-chimiques des isotopes de cet élément.

1.2. Les isotopes radioactifs de l'iode

Naturellement présent sous la forme iode-127 ($^{127}_{53}\text{I}$) on dénombre 36 isotopes dont 4 possèdent des caractéristiques radioactives exploitables pour l'imagerie médicale (**Tableau 8**).

Isotope	Demi-vie $t_{1/2}$	Emetteur	Energie	Application
Iode-123	13,2 heures	γ	159 keV	TEMP
Iode-124	4,2 jours	β^+	1532 keV	TEP
Iode-125	59,4 jours	γ et X	35,5 keV	Autoradiographie
Iode-131	8,02 jours	β^- et γ	606 keV	Radiothérapie ciblée

Tableau 8 : Isotopes radioactifs de l'iode utilisés en imagerie médicale

Précédemment cité, l'iode-123 est un radioisotope émetteur γ utilisé en imagerie TEMP (Chapitre 1 § 2.3.2). Bien qu'émetteur γ également, l'iode-125 est lui employé pour réaliser des études d'autoradiographies du fait que l'énergie émise par son rayonnement γ soit trop faible. L'iode-124, émetteur β^+ peut être utilisé pour l'imagerie TEP même si à l'heure actuelle les radiotraceurs développés restent réservés à la recherche. Enfin l'iode-131 émetteur β^- est utilisé pour la radiothérapie ciblée. Introduit sur une molécule vectrice, cet isotope émet un électron par désintégration. Ce rayonnement, peu pénétrant mais énergétique, est capable de provoquer l'apoptose

¹²⁹ Cavina, L.; van der Born, D.; Klaren, P. H. M.; Feiters, M. C.; Boerman, O. C.; Rutjes, F. P. J. T. *European J. Org. Chem.* **2017**, 2017, 3387–3414.

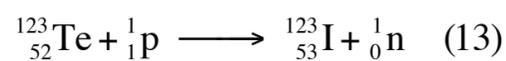
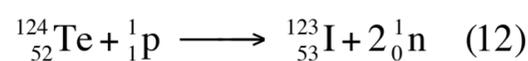
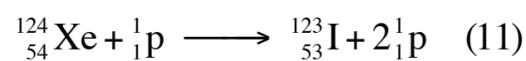
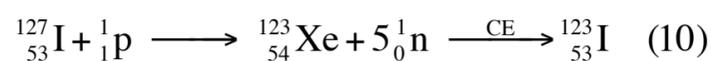
¹³⁰ Venturi, S.; Venturi, M. *Nutr. Health* **2009**, 20, 119–134.

des cellules cancéreuses environnantes. Par ailleurs, un rayonnement γ ($E_c = 364$ keV) est aussi émis par désintégration pouvant permettre un contrôle sur la localisation de cet isotope. Il est à noter que 2 autres isotopes radioactifs émetteurs β^+ , l'iode-120 ($t_{1/2} = 1,4$ heures) et l'iode-122 ($t_{1/2} = 3,6$ minutes), possèdent des caractéristiques radioactives potentiellement exploitables pour une utilisation en imagerie TEP.

Indispensables pour réaliser un diagnostic en imagerie médicale, ces quatre isotopes n'existent cependant pas à l'état naturel. En effet, ils possèdent une radioactivité artificielle, c'est à dire provoquée par l'Homme. Ils sont donc générés par différentes réactions nucléaires à partir d'un accélérateur de particule ou au sein d'un réacteur nucléaire.

1.2.1. Production d'iode-123

Plus de 25 réactions nucléaires ont été proposées pour la synthèse d'iode-123, cependant seulement quatre d'entre elles sont essentiellement utilisées pour obtenir ce radioisotope. ^[131]



Les quatre réactions décrites nécessitent la présence d'un accélérateur de particules pour la production d'iode-123. La particule accélérée, ici un proton (${}_1^1\text{p}$), est dirigée vers trois sources différentes pour aboutir au radioisotope désiré. Par bombardement de protons d'une source d'iode-127 **(10)**, du xénon-123 ($t_{1/2} = 2,08$ heures) est obtenu dans un premier temps puis par capture électronique (CE), c'est à dire émission d'un électron, l'iode-123 est généré par filiation. Le principal inconvénient de cette synthèse repose sur la génération de sous-produit potentiel comme l'iode-125 d'une demi-vie beaucoup plus longue. La seconde source employée est le xénon-124, stable, qui par bombardement de protons mène à l'iode-123 **(11)**. Cependant, cette voie nucléaire est minoritaire (moins de 10%). Majoritairement, le bombardement de xénon conduit à la génération de césium-123 ($t_{1/2} = 5,9$ minutes) qui par filiation (capture électronique) génère dans un premier temps du xénon-123 puis finalement l'iode-123. ^[132] Enfin le tellure est la dernière source employée pour aboutir à la production d'iode-

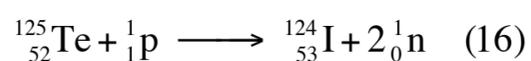
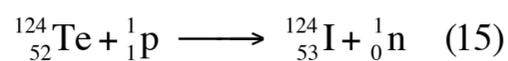
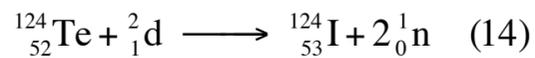
¹³¹ Qaim, S. M.; Stöcklin, G. *Radiochim. Acta* **1983**, *34*, 25–40.

¹³² Tárkányi, F.; Qaim, S. M.; Stöcklin, G.; Sajjad, M.; Lambrecht, R. M.; Schweickert, H. *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part A. Appl. Radiat. Isot.* **1991**, *42*, 221–228.

123. Le dioxyde de tellure-124 **(12)** ou le dioxyde de tellure-123 **(13)** sous un flux de protons est transformé en iode-123 avec émission de 2 ou 1 neutrons respectivement.

1.2.2. Production d'iode-124

Moins utilisé que l'iode-123, trois types de réactions nucléaires existent pour l'obtention d'iode-124 à partir de l'élément tellure.



La production d'iode-124 nécessite une nouvelle fois la présence d'un cyclotron. Deux types de particules peuvent être accélérés pour aboutir au radionucléide. Par bombardement d'atomes de deutérium (${}^2_1\text{d}$) sur une source de tellure-124, l'iode-124 est généré **(14)**.^[133] Cette même source, bombardée par des protons aboutit aussi à la production d'iode-124 avec émission simultanée d'un neutron **(15)**. Le bombardement d'une source de tellure-125 par un flux de protons conduit au même résultat que précédemment avec émission cette fois-ci de deux neutrons **(16)**.^[134]

1.2.3. Production d'iode-125

Contrairement au deux premiers radioisotopes produit à partir d'un cyclotron, l'iode-125 est aujourd'hui obtenu industriellement en réacteur nucléaire à partir d'une source de xénon-124 gazeuse.



Par bombardement neutronique de la source gazeuse, plusieurs isotopes radioactifs du xénon sont obtenus mais seul le xénon-125 permet la production de l'iode-125 par filiation après capture électronique **(17)**.^[135] La désintégration des autres isotopes du xénon conduit essentiellement aux césium-135 et césium-137, isotopes radioactifs de longue vie, qui peuvent être séparés à l'aide d'une colonne échangeuse de cations.

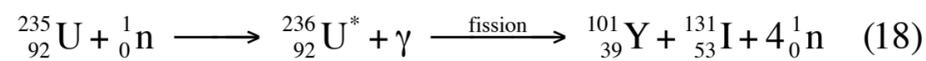
¹³³ Lambrecht, R. M.; Sajjad, M.; Qureshi, M. A.; Al-Yanbawi, S. J. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett.* **1988**, *127*, 143–150.

¹³⁴ Karpuz, N.; Akkurt, İ.; Mavi, B. *Ann. Nucl. Energy* **2013**, *60*, 341–343.

¹³⁵ Myers, W. G. *J. Nucl. Med.* **1984**, *25*, 1389–1391.

1.2.4. Production d'iode-131

Le dernier des quatre isotopes radioactifs de l'iode utilisés en imagerie médicale, l'iode-131, peut être obtenu suivant deux techniques différentes en réacteur nucléaire :



La première méthode fait intervenir une source d'uranium-235 (UAl_3) qui subit un bombardement neutronique. L'uranium excité se décompose par fission en plusieurs éléments fils dont l'yttrium-101 et l'iode-131 (18). La seconde stratégie employée pour produire l'iode-131 repose sur un bombardement neutronique de tellure-130 (TeO_2) conduisant à l'isotope radioactif instable tellure-131. Par capture électronique, le tellure se désintègre ensuite en iode-131 (19).

1.2.5. Conditionnement des isotopes radioactifs

Plusieurs stratégies synthétiques plus ou moins énergétiques ont été mises en place pour la production de ces radionucléides. Les isotopes du xénon et du tellure s'avèrent être les sources les plus communes pour aboutir aux radioisotopes de l'iode. Différentes techniques de purification ont été développées s'adaptant aux propriétés physiques des noyaux impliqués dans les réactions nucléaires. Ainsi, l'iode radioactif sera purifié par distillation lorsque le tellure, sous la forme TeO_2 est engagé. Lorsque le xénon est utilisé, un système de flux d'hélium permettra de séparer les noyaux gazeux du milieu. Cette étape de purification réalisée, le radionucléide est ensuite dilué dans une solution de NaOH pour être récupéré et conservé sous forme de iodure. C'est pourquoi, commercialement, l'unique source disponible d'iode radioactif se trouve être une solution d'iodure de sodium dissoute dont le coût varie en fonction de l'isotope, du client et de l'activité.

C'est donc à partir de la forme iodure que différentes techniques de radiomarquage ont été développées pour créer une liaison carbone-iode.

1.3. La liaison carbone-iode

La stabilité métabolique *in vivo* d'un radiopharmaceutique se doit d'être optimale dans l'optique de réaliser des études d'imagerie médicale. Plusieurs considérations structurales ont été énumérées dans les précédents chapitres pour augmenter cette stabilité. Cibler une lipophilie adéquate et éviter les fonctions chimiques facilement clivable par les enzymes (les fonctions ester par les estérases par exemple) ont notamment été mis en avant. Un autre paramètre primordial à considérer dans le cadre du développement d'un radioligand est la robustesse de la liaison engendrée pour incorporer le radionucléide. Dans le cas de l'iode, une liaison covalente entre la molécule vectrice et l'isotope

radioactif est créée. Plusieurs paramètres physiques ont été évalués sur différentes liaisons $C(sp^x)$ -I afin de déterminer le type de liaison le plus stable.

La longueur de liaison C-I est dépendante de l'hybridation du carbone. Si les rayons atomiques de ces deux atomes ont été mesurés à $r_C = 1,70 \text{ \AA}$ et $r_I = 2,15 \text{ \AA}$, les études ont montré que la distance entre ces deux atomes augmente avec l'hybridation du carbone. Ainsi, pour un carbone aliphatique hybridé sp^3 , C-I = 2,13 Å, pour un carbone sp^2 en série alcène, C-I = 2,09 Å alors qu'en série aromatique C-I = 2,05 Å, enfin pour un carbone sp en série alcyne, C-I = 1,99 Å. En parallèle, les énergies de dissociation homolytique et hétérolytique nécessaires pour cliver une liaison $C(sp^x)$ -I ont été mesurées. Les résultats ont montré que la liaison C-I était plus forte pour les carbones hybridés sp^2 et plus faible pour les carbones hybridés sp^3 .^[136] Ces données s'expliquent par la présence de trois orbitales 2p parallèles pouvant se recouvrir pour les liaisons C-I des carbones hybridés sp et sp^2 . Cela augmente l'énergie de liaison en diminuant la distance entre les deux atomes.

Une autre propriété de la liaison C-I à prendre en considération est la liaison halogène, une interaction analogue à la liaison hydrogène. L'origine de cette interaction provient d'une anisotropie de la densité électronique autour du noyau de l'halogène. Cela génère une zone appauvrie en électrons appelée σ -hole dans l'axe de la liaison C-I susceptible de réagir avec une base de Lewis (**Figure 96**).

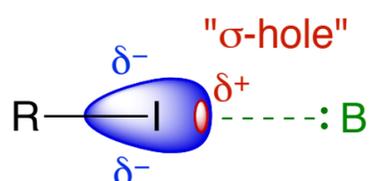


Figure 96 : Schématisation de la liaison halogène^[129]

La force de cette liaison halogène, dépendante de la nature du groupement R, peut conduire à la déiodation du composé. Il a notamment été montré que la liaison $C(sp)$ -I était plus sensible à ce phénomène du à une anisotropie δ^+ plus élevée.^[129]

Les résultats présentés dans cette section indiquent que la liaison $C(sp^x)$ -I la plus stable *in vivo* semble être en présence d'un atome de carbone hybridé sp^2 , de nature vinylique ou aromatique. C'est pourquoi, l'essentiel des techniques de radiomarquage dans la littérature se focalise sur la création d'une liaison $C(sp^2)$ -I.

2. Les techniques de radioiodation

2.1. Définitions

Pour simplifier, une réaction chimique faisant intervenir l'iode-127, l'isotope classique utilisé en chimie organique, sera qualifiée de réaction froide alors qu'une réaction chimique faisant intervenir un

¹³⁶ Coenen, H. H.; Mertens, J.; Mazière, B. *Radioiodination reactions for radiopharmaceuticals: compendium for effective synthesis strategies*; Springer, 2006. pp 17-28.

isotope radioactif sera quant à elle qualifiée de chaude. De la même manière, une molécule iodée à l'iode-127 sera surnommée molécule froide tandis que cette même molécule radiomarquée sera appelée molécule chaude.

Si, dans l'ensemble, les méthodes de iodation développées à froid peuvent s'appliquer à chaud, elles doivent cependant s'adapter aux conditions particulières du radiomarquage. Ainsi, il est indispensable que le temps de réaction soit compatible avec le temps de demi-vie du radioisotope à introduire et de vérifier qu'une réaction fonctionnant à l'échelle millimolaire soit reproductible à l'échelle de la nanomole, gamme de concentration spécifique des réactions de radiomarquage.

Contrairement à la version froide, le suivi cinétique de la version chaude par les méthodes analytiques classiques est beaucoup plus délicat. L'utilisation de la radio-HPLC est aujourd'hui la technique employée la plus facile d'accès pour suivre une réaction radiochimique. Un prélèvement du milieu à analyser est injecté au sommet d'une colonne chromatographique. Après élution, les différents composants du mélange réactionnel sont séparés en fonction de leur polarité et sont analysés dans un premier temps par un détecteur UV puis par un radiodétecteur. Deux chromatogrammes permettant d'évaluer l'avancée de la réaction sont alors obtenus : un chromatogramme UV et un radiochromatogramme. En injectant au préalable l'analogue froid du produit radiochimique attendu, la référence chromatographique UV est obtenue permettant ainsi de déterminer sur le radiochromatogramme le pic correspondant au produit chaud par comparaison des temps de rétention.

(Figure 97).

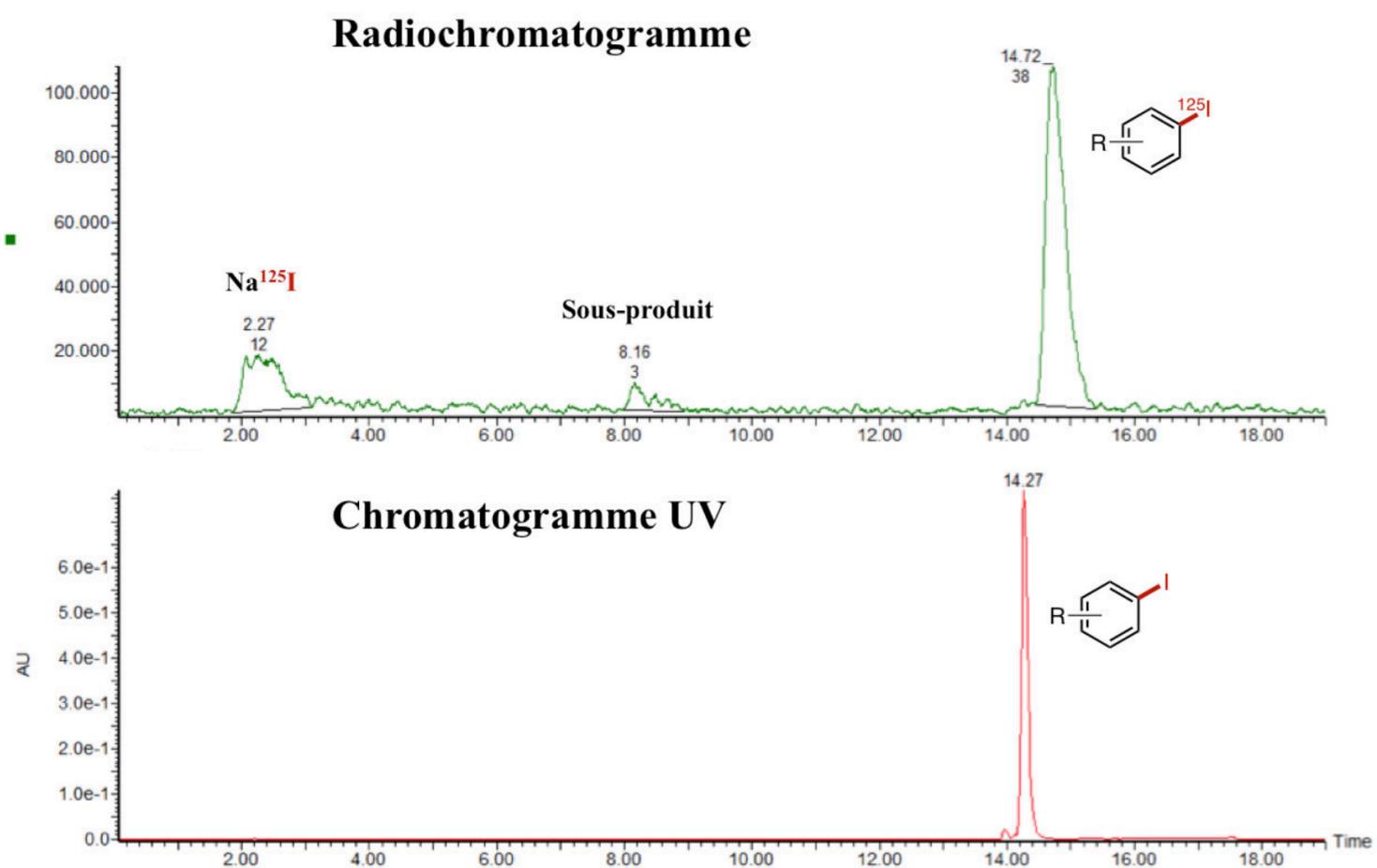


Figure 97 : Radiochromatogramme et Chromatogramme UV d'une réaction chimique

Pour caractériser une réaction radiochimique, trois paramètres peuvent être utilisés :

- **La Conversion Radiochimique** : notée RCC pour RadioChemical Conversion. A partir du radiochromatogramme, elle est définie par le rapport de l'aire du pic du produit radiomarqué attendu sur la somme des aires de tous les produits radiomarqués. C'est le paramètre le plus facile d'accès et le plus souvent utilisé pour démontrer l'efficacité d'une voie de radio-synthèse.
- **Le Rendement Radiochimique** : noté RCY pour RadioChemical Yield. Pour le mesurer, il faut avoir accès au préalable à une radiochromatographie capable de séparer les différents composés radiomarqués afin d'isoler le produit d'intérêt et d'un activimètre. L'activité récupérée est mesurée et on définit ainsi le RCY comme le rapport de l'activité récupérée sur l'activité initialement engagée.
- **L'activité Spécifique** : noté SA pour Specific Activity, elle est exprimée en Bq.g^{-1} . Elle définit la pureté isotopique d'un composé radiomarqué en mesurant le nombre de désintégrations par unité de temps et de masse. Plus l'activité spécifique est élevée, plus la concentration de molécule radiomarquée est élevée par rapport à son analogue froid.

Comparée à la version froide, l'élaboration d'une réaction de radioiodation nécessite donc l'adaptation de certains paramètres comme le suivi réactionnel, la gamme de concentration ou le champ lexical employé pour qualifier une réaction radiochimique. A partir de ces remarques, il existe, d'un point de vue chimique, trois grandes familles de réactions permettant l'incorporation d'un atome d'iode radioactif.

2.2. La substitution nucléophile aromatique

La Substitution Nucléophile Aromatique ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$) apparaît comme la technique la plus évidente pour radiomarquer une molécule. La solution de iodure de sodium radiomarquée étant la seule source commerciale disponible, le radioisotope à introduire possède déjà un caractère nucléophile. Celui-ci est directement engagé en présence d'un précurseur qui a été synthétisé au préalable pour incorporer l'atome radioactif (**Figure 98**).

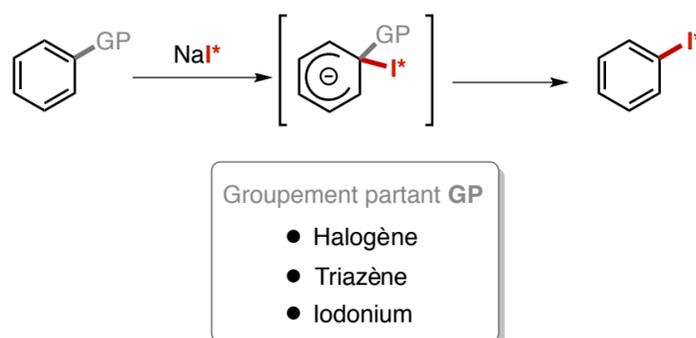


Figure 98 : Radioiodation par substitution nucléophile aromatique

L'une des techniques de substitution nucléophile utilisée est basée sur un échange isotopique I/I*.^[137] Si cette méthode possède l'avantage de ne pas nécessiter la synthèse d'un précurseur les conditions expérimentales drastiques (chauffage à plus de 150°C) ainsi qu'une activité spécifique mesurée souvent très faible limitent son utilisation. Le passage par un précurseur triazène, groupement plus stable qu'un sel de diazonium, permet de réaliser cette S_NAr dans des conditions plus douces.^[138] A température ambiante, l'atome d'iode est introduit *via* une réaction de Sandmeyer-Wallach. La stabilité de ce précurseur (sensible à la lumière) ainsi que sa purification rendent parfois son utilisation délicate. La synthèse d'un sel d'iodonium comme précurseur peut aussi conduire à l'introduction d'iode radioactif.^[139] Cependant, le choix du contre-ion ainsi que le second motif aromatique doivent être judicieusement sélectionnés pour éviter la formation de sous-produits indésirables (**Figure 99**).

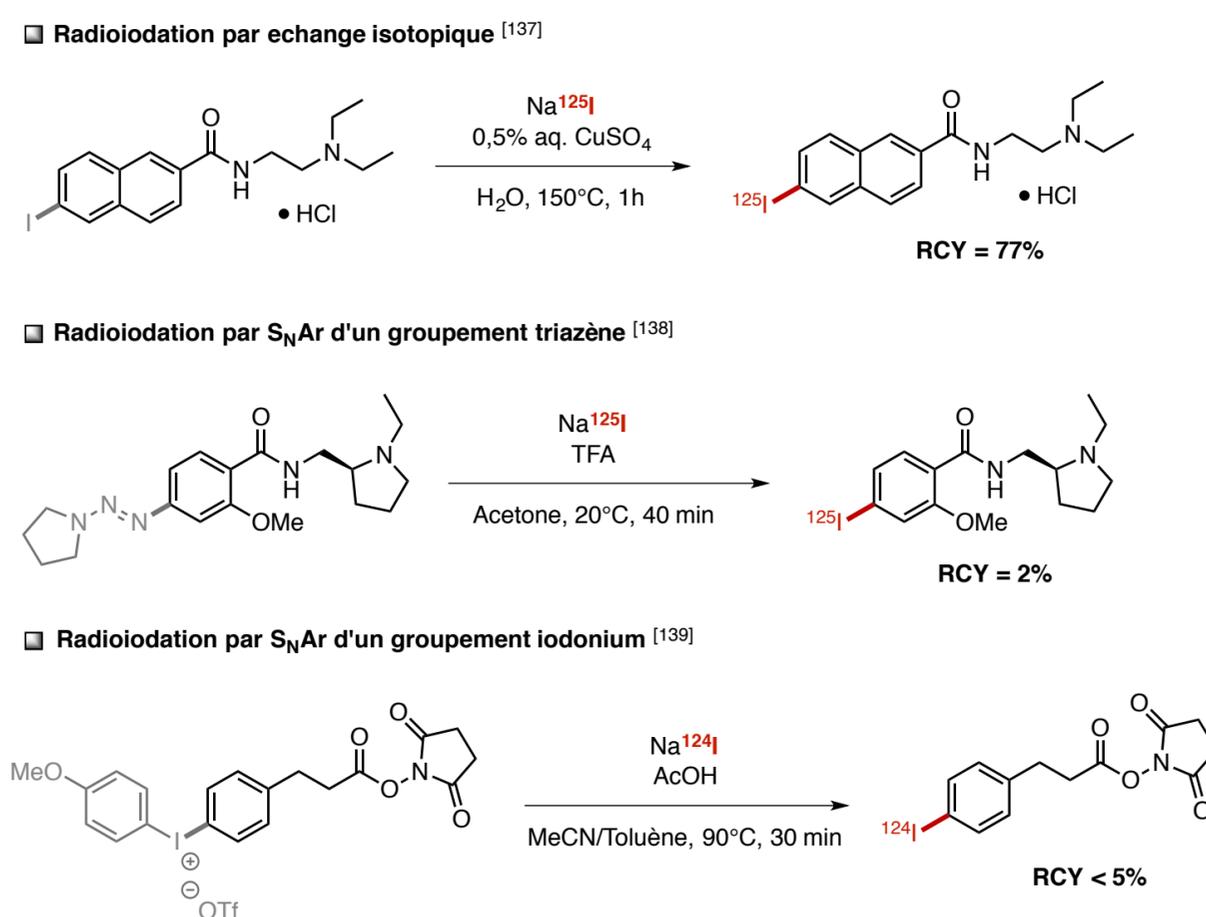


Figure 99 : Exemples de radioiodation par Substitution Nucléophile Aromatique

Si la radioiodation par Substitution Nucléophile Aromatique s'avère une technique judicieuse à la vue de la disponibilité du radioisotope, de nombreux inconvénients subsistent à l'utilisation de cette réaction. C'est pourquoi, d'autres alternatives de radioiodation existent dont notamment la Substitution Electrophile Aromatique (S_EAr), préférentiellement utilisée dans la littérature.

¹³⁷ Chezal, J.-M.; Papon, J.; Labarre, P.; Lartigue, C.; Galmier, M.-J.; Decombat, C.; Chavignon, O.; Maublant, J.; Teulade, J.-C.; Madelmont, J.-C.; Moins, N. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3133–3144.

¹³⁸ De Paulis, T.; Janowsky, A.; Kessler, R. M.; Clanton, J. A.; Smith, H. E. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2027–2033.

¹³⁹ Kothari, P.; De, B. P.; He, B.; Chen, A.; Chiuchiolo, M. J.; Kim, D.; Nikolopoulou, A.; Amor-Coarasa, A.; Dyke, J. P.; Voss, H. U.; Kaminsky, S. M.; Foley, C. P.; Vallabhajosula, S.; Hu, B.; DiMagno, S. G.; Sondhi, D.; Crystal, R. G.; Babich, J. W.; Ballon, D. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 39594.

2.3. La substitution électrophile aromatique

Tout comme la substitution nucléophile aromatique, la S_EAr requiert la synthèse d'un précurseur (**Figure 100**). De plus, il faut au préalable transformer la source d'iode nucléophile en iode électrophile par ajout d'un oxydant. Plusieurs familles d'oxydants sont utilisées pour le radiomarquage de molécules telles que les peracides, ^[140] les *N*-chloroamides, ^[141] les *N*-halosuccinimides ^[142] ou encore des sels inorganiques de métaux comme le thallium. ^[143]

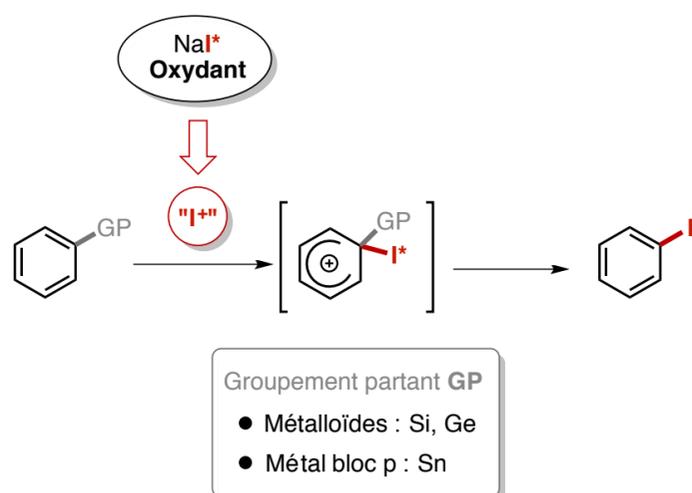


Figure 100 : Radioiodation par substitution électrophile aromatique

Si les mécanismes pour générer l'espèce « I^+ » à partir des peracides (réaction d'oxydoréduction pour obtenir I_2) ou des sels inorganiques (synthèse d'un sel d'arylthallium $ArTlX_2$ puis libération des espèces ArX et TlX) ont été établis, le mécanisme de l'obtention de cette espèce à partir des *N*-chloroamides ou de la *N*-halosuccinimides reste encore à démontrer. En se basant sur l'oxydant *N*-chlorosuccinimide, certains travaux avancent l'hypothèse de la génération de l'espèce NIS (*N*-iodosuccinimide), ^[144] tandis que d'autres proposent un passage par l'agent ICl . ^[145]

Les précurseurs préparés pour la S_EAr nécessitent l'incorporation d'un atome issu de la XIV^e colonne du tableau périodique de Mendeleïev. Cette colonne, où l'on retrouve notamment l'élément carbone, est complétée par des dérivés métalloïdes tels que le silicium ou le germanium, mais aussi de métaux du bloc p tel que l'étain. Le choix de ces éléments n'est pas anodin, sachant que sur une même colonne, l'électronégativité décroît ($\chi_C > \chi_{Si} > \chi_{Ge} > \chi_{Sn}$), le caractère électropositif du métal induit une polarisation de la liaison C-M créée diminuant ainsi l'énergie de liaison ce qui favorisera la substitution électrophile aromatique. Dans la littérature, la très grande majorité des précurseurs synthétisés sont des dérivés stannylés. Les organo-germanium, ^[146] plus stables, les dérivés silylés, ^[147] employés uniquement pour les cycles enrichis en électrons, sont beaucoup moins fréquemment

¹⁴⁰ Xu, Y.-P.; Yang, M.; Pan, D.-H.; Wang, L.-Z. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2011**, *288*, 157–161.

¹⁴¹ Bapat, K.; Chintalwar, G. J.; Pandey, U.; Thakur, V. S.; Sarma, H. D.; Samuel, G.; Pillai, M. R. A.; Chattopadhyay, S.; Venkatesh, M. *Appl. Radiat. Isot.* **2005**, *62*, 389–393.

¹⁴² Paul M. Herrinton, P. M.; Owen, C. E.; Gage, J. R. *Org. Process Res. Dev.* **2001**, *5*, 80–83.

¹⁴³ Joyal, J. L.; Barrett, J. A.; Marquis, J. C.; Chen, J.; Hillier, S. M.; Maresca, K. P.; Boyd, M.; Gage, K.; Nimmagadda, S.; Kronauge, J. F.; Friebe, M.; Dinkelborg, L.; Stubbs, J. B.; Stabin, M. G.; Mairs, R.; Pomper, M. G.; Babich, J. W. *Cancer Res.* **2010**, *70*, 4045–4053.

¹⁴⁴ Racys, D. T.; Sharif, S. A. I.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 772–780.

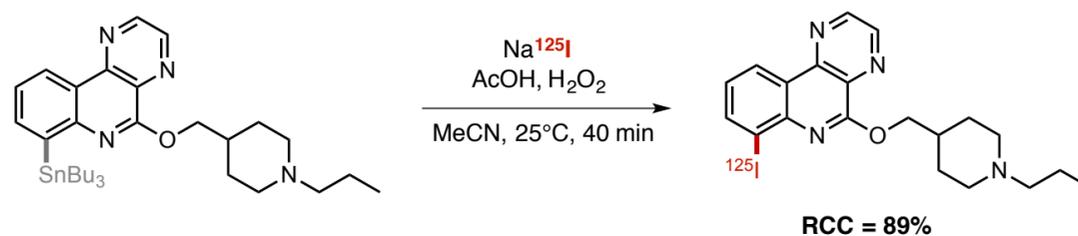
¹⁴⁵ Yamamoto, T.; Toyota, K.; Morita, N. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1364–1366.

¹⁴⁶ Moerlein, S. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, *0*, 1687–1692.

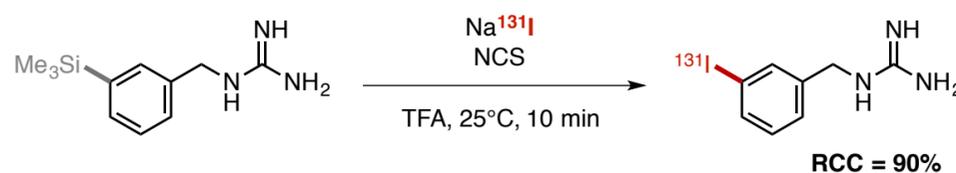
¹⁴⁷ Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R. *Appl. Radiat. Isot.* **1993**, *44*, 621–628.

rencontrés. Comme présenté précédemment, l'obtention des dérivés stannylés est souvent délicate en raison des difficultés de purification et de la toxicité de l'étain. Dans certains cas de figure, il reste possible de s'affranchir de la synthèse de précurseur et de réaliser la iodation électrophile sur le noyau aromatique lorsque l'impact des effets électroniques des divers substituants convergent vers une même position. ^[148] Néanmoins la faible sélectivité observée dans ce type de réaction justifie le passage par un précurseur (**Figure 101**).

■ Radioiodation par S_EAr d'un dérivé stannylé ^[88]



■ Radioiodation par S_EAr d'un dérivé silylé ^[147]



■ Radioiodation par S_EAr dirigée par effets électroniques ^[148]

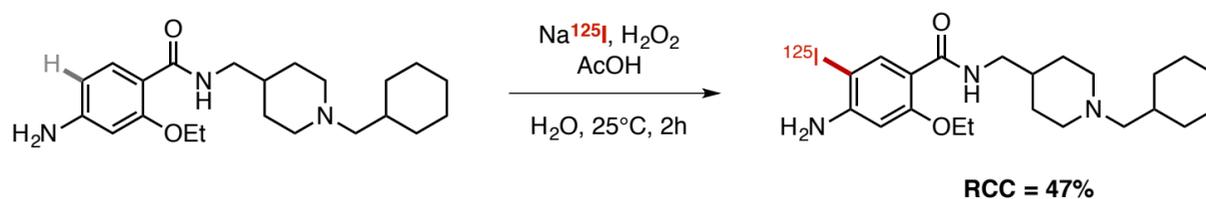


Figure 101 : Exemples de radioiodation par Substitution Electrophile Aromatique

Préférentiellement utilisée pour incorporer un isotope radioactif, plusieurs inconvénients persistent dans la réaction de S_EAr. C'est pourquoi, plus récemment dans la littérature, différents groupes de recherche ont proposé des méthodes métallocatalysées.

2.4. Iodation catalysée par les métaux de transitions

Deux grandes techniques utilisant les métaux de transitions ont vu le jour ces dernières années. En 2013, Sutherland *et al.* développent une nouvelle méthode basée sur une radio-iododé bromation catalysée au Nickel (**Figure 102**). ^[149] Après insertion oxydante du Nickel (0), le bis(1,5-cyclooctadiène)nickel (Ni(COD)₂), dans la liaison C(sp²)-Br, les auteurs suggèrent un échange halogène-halogène puis, par élimination réductrice, l'obtention du produit radiomarqué. Cependant, les conditions expérimentales drastiques avec notamment un chauffage à plus de 180°C, sont un frein à l'utilisation de cette technique.

¹⁴⁸ Lalut, J.; Tournier, B. B.; Cailly, T.; Lecoutey, C.; Corvaisier, S.; Davis, A.; Ballandonne, C.; Since, M.; Millet, P.; Fabis, F.; Dallemagne, P.; Rochais, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *116*, 90–101.

¹⁴⁹ Cant, A. A.; Champion, S.; Bhalla, R.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52* (30), 7829–7832.

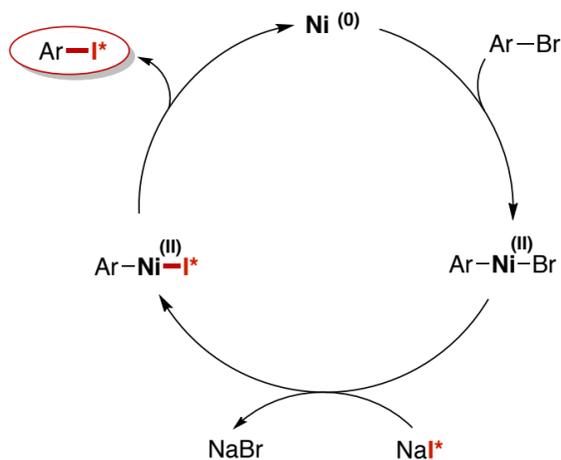


Figure 102 : Mécanisme de radio-iododé bromation catalysé au Nickel

En 2014, Gouverneur *et al.* décrivent une nouvelle méthode de marquage au fluor-18 par fluorodé bromation catalysée au cuivre.^[150] Une version pour le radiomarquage à l'iode sera proposée deux ans plus tard par ce même groupe.^[151] Cette nouvelle voie de radiomarquage, analogue de la réaction de Chan-Lam permet d'obtenir le composé radioiodé dans des conditions plus douces que la précédente mais nécessite la synthèse d'un précurseur boré (Figure 103).

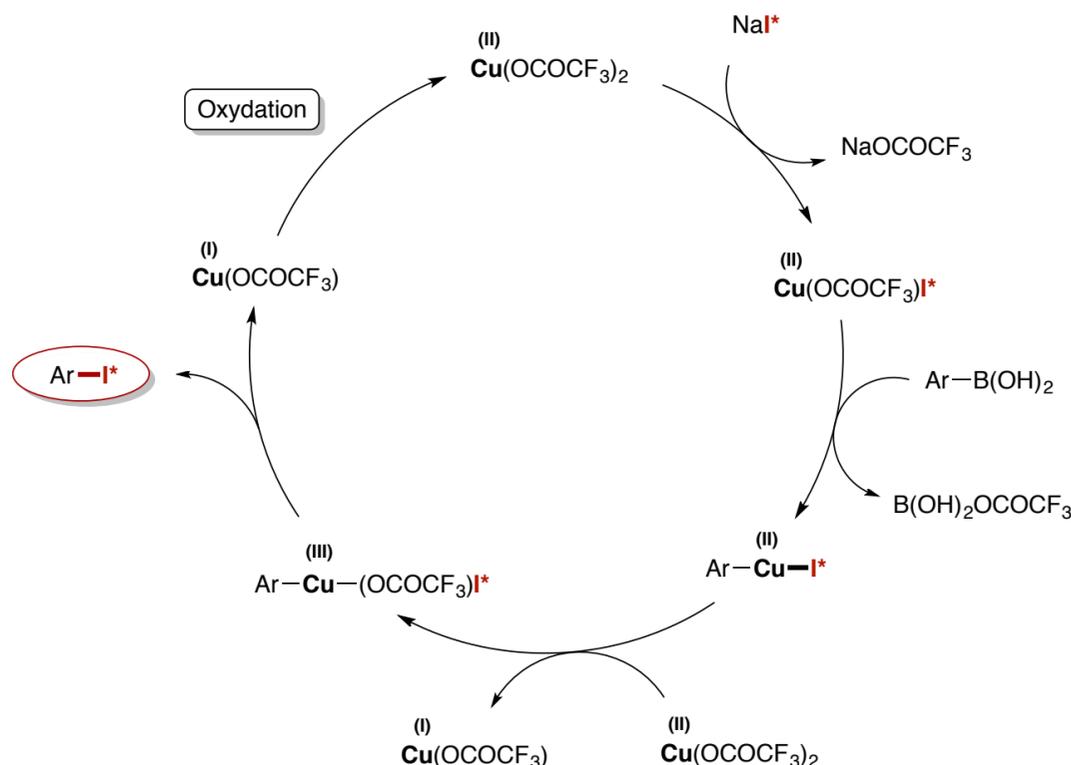


Figure 103 : Mécanisme de radio-iododé bromation catalysé au Cuivre

Début 2018, Lee *et al.* propose une nouvelle version de la radio-iododeboration catalysée à l'or par génération de l'espèce « I⁺ » suivant la méthode précédemment exposée (NCS + NaI).^[152] Enfin cette même année, Mach *et al.* repirent les travaux de iodo-radiodeboration de Gouverneur *et al.* pour appliquer cette technique à l'astate-211.^[153] L'optimisation des conditions expérimentales a nécessité l'emploi d'iode-125 afin d'extrapoler pour l'astate-211 car aucun isotope stable de cet élément existe à

¹⁵⁰ Tredwell, M.; Preshlock, S. M.; Taylor, N. J.; Gruber, S.; Huiban, M.; Passchier, J.; Mercier, J.; Génicot, C.; Gouverneur, V. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, *53*, 7751–7755.

¹⁵¹ Wilson, T. C.; McSweeney, G.; Preshlock, S.; Verhoog, S.; Tredwell, M.; Cailly, T.; Gouverneur, V. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 13277–13280.

¹⁵² Webster, S.; O'Rourke, K. M.; Fletcher, C.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A.; Lee, A.-L. *Chem. - A Eur. J.* **2018**, *24*, 937–943.

¹⁵³ Reilly, S. W.; Makvandi, M.; Xu, K.; Mach, R. H. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 1752–1755.

l'état naturel.

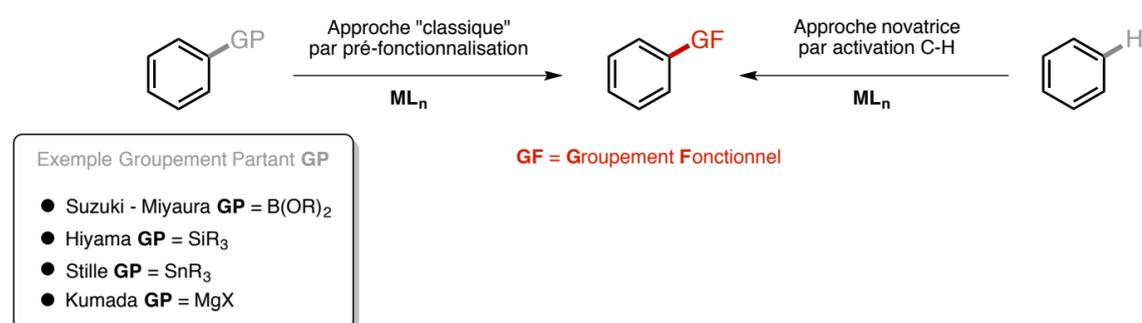
Aujourd'hui, l'investigation de nouvelles stratégies de radiomarquage est encore d'actualité dans la littérature. Plusieurs travaux de radiomarquage ont d'ailleurs été publiés au cours de ces trois années de thèse. S'ajoutant aux nouvelles études de radioiododeboration, le groupe de Sutherland *et al.* décrit début 2016, une méthode de iodation électrophile aromatique catalysée par un sel d'argent applicable en radiomarquage.^[144] Courant 2017, ce même groupe réinvestigue la radioiodation *via* la réaction de Sandmeyer.^[154] A partir d'un précurseur aniline et d'une source de nitrite supportée sur une résine polymère, le groupe a généré *in situ* l'intermédiaire diazo, s'affranchissant ainsi des problèmes de stabilité. Cet intermédiaire, non isolé, est ensuite radiomarké par substitution nucléophile de l'iode radioactif à température ambiante.

Si, à l'heure actuelle, il est possible de radioioder un cycle aromatique quelque soit la nature des substituants, l'ensemble des techniques exposées nécessite au préalable la synthèse d'un précurseur pour le radiomarquage. Généralement stannylé ou boré, leurs synthèses s'avèrent souvent complexe, leurs purifications délicates et fréquemment peu stables pour les dérivés stannylés. C'est pourquoi la recherche d'une nouvelle stratégie de marquage permettant de s'affranchir de la synthèse d'un précurseur, ou du moins de l'isolement et la purification de celui-ci, constitue un réel intérêt dans le domaine du radiomarquage. La découverte il y a maintenant quelques décennies de la réaction d'activation C-H semble apporter les conditions requises. En exploitant la structure d'une molécule, il serait possible d'*ortho* diriger la réaction d'activation C-H et d'y introduire l'élément radioactif.

3. La réaction d'activation C-H comme alternative à la synthèse de précurseurs en radiomarquage

3.1. Généralités sur la réaction d'activation C(sp²)-H

En raison de sa haute énergie de dissociation, la liaison C-H a longtemps été considérée comme chimiquement inerte. Depuis bientôt trois décennies, la réactivité de cette liaison a été investiguée et d'énormes progrès ont été effectués au travers de deux notions : l'activation et la fonctionnalisation de cette liaison. Aujourd'hui la réaction d'activation C-H est considérée à part entière comme une réaction de couplage (**Figure 104**).



¹⁵⁴ Sloan, N. L.; Luthra, S. K.; McRobbie, G.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A. *Chem. Commun.* **2017**, 53, 11008–11011.

Figure 104 : Réaction de couplage avec et sans pré-fonctionnalisation

Le terme d'activation, d'un point de vue chimique, fait référence à la réactivité de la liaison C-H. Contrairement aux techniques classiques de couplage faisant appel à la pré-fonctionnalisation du substrat, l'approche par activation C-H consiste à rendre réactive cette liaison sans passage par un intermédiaire pré-fonctionnalisé. L'objectif est donc d'abaisser la barrière d'énergie d'activation de cette liaison à partir des conditions expérimentales. Pour ce faire, l'utilisation de métaux de transitions (M) couplé à différents ligands (L_n) permet la génération d'un complexe (ML_n) capable de réagir avec une liaison C-H par un processus appelé « activation C-H ». Il en résulte alors la formation d'une liaison carbone-métal, plus réactive. (Figure 105).

Le principal défi chimique consiste alors à élaborer des réactions régio et chimiosélectives. Si le design de complexes ML_n peut, dans certains cas de figure, engendrer une sélectivité sur l'activation d'une liaison C-H,^[155] la stratégie plus couramment employée consiste à utiliser un cycle aromatique substitué par un groupement directeur. La présence d'un groupement possédant un hétéroatome capable de se coordonner au métal permet de diriger et de faciliter la réaction d'activation C-H en position *ortho* de ce groupement *via* la formation d'un métallacycle.^[156] La liaison carbone-métal générée peut être ensuite fonctionnalisée par divers substituants.

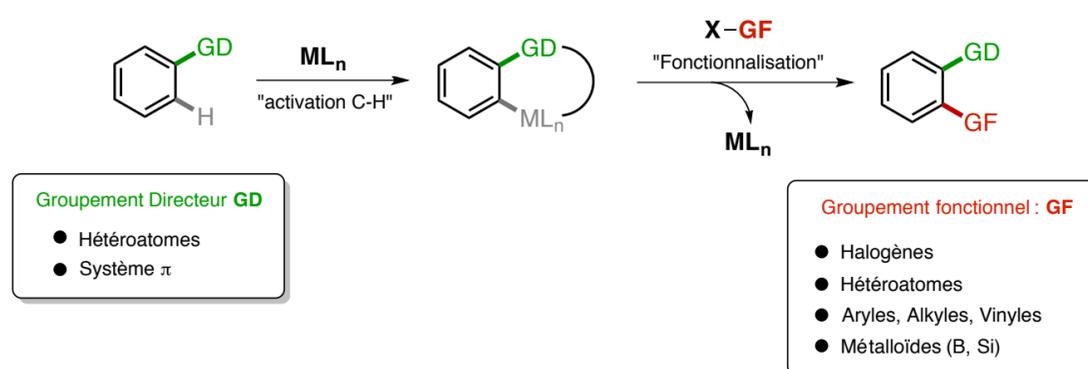


Figure 105 : Principe de la réaction d'activation C-H

Suivant ce concept, de nombreux travaux de fonctionnalisation par activation C-H ont été menés dans la littérature en utilisant une quantité catalytique de métal. En effet le champ d'investigation pour le développement de nouvelles techniques d'activation C-H est extrêmement large au travers notamment de trois paramètres. Premièrement, différents métaux de transitions peuvent être employés tels que le palladium, le rhodium, l'iridium, le cobalt, le ruthénium, le fer...^[157] Par association avec des ligands judicieusement sélectionnés, les complexes générés peuvent s'avérer plus réactifs et aboutir à l'obtention de réactions énantiosélectives.^[158] Deuxièmement, la liste des groupements fonctionnels capables d'*ortho* diriger une réaction d'activation C-H est très large et ne cesse d'augmenter.^[159] Une récente étude a ainsi présenté pour la première fois l'utilisation du thiophène

¹⁵⁵ Yuan, K.; Doucet, H. *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 392–396.

¹⁵⁶ Dupont, J.; Consorti, C. S.; Spencer, J. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2527–2572.

comme groupement directeur.^[160] Enfin, la fonctionnalisation d'un substrat après activation C-H est tout aussi vaste. Il est aujourd'hui possible de créer des liaisons carbone-carbone sp^2 - sp^2 par arylation C-H ou vinylation C-H,^[161] mais aussi sp^2 - sp^3 par alkylation C-H,^[162] des liaisons carbone-hétéroatome par amination C-H^[163] ou alcoylation C-H,^[164] des liaisons carbone-métalloïde par borylation C-H ou silylation C-H,^[165] et enfin des liaisons carbone-halogène.^[166]

Aujourd'hui, les catalyseurs au palladium font parti des complexes les plus employés pour la réaction d'activation C-H. Compatibles avec un grand nombre de groupements directeurs, ces catalyseurs sont capables de générer l'ensemble des liaisons précédemment décrites et ces réactions pallado-catalysées peuvent ne pas être nécessairement menées sous atmosphère inerte. En s'appuyant sur ces résultats, plusieurs études mécanistiques ont été suggérées dans la littérature et trois mécanismes distincts sont décrits. Le plus couramment observé, appelé système Pd^(II)/Pd^(IV), est basé sur un cycle catalytique en 4 étapes. (**Figure 106**).

La première étape de ce mécanisme repose sur la coordination du groupement directeur GD sur le complexe métallique. Une fois chélaté, le complexe peut alors réagir avec la liaison C-H se trouvant en *ortho* de ce groupement directeur et ainsi créer la liaison carbone-métal. Aujourd'hui encore, le mécanisme d'activation C-H n'est toujours pas clairement établi. Certaines hypothèses reposent sur un la formation d'une interaction agostique, un mécanisme de métathèse σ ou encore une substitution électrophile aromatique, mais l'hypothèse la plus étudiée se base sur une déprotonation-métallation concertée.^[167] Le palladacycle créé s'insère ensuite dans la liaison GF-X lors d'une étape d'insertion oxydante, augmentant ainsi le degré d'oxydation du palladium à IV. Enfin, après élimination réductrice, le substrat fonctionnalisé est libéré et le palladium, retrouvant un état d'oxydation de II, peut être engagé dans un nouveau cycle catalytique.

¹⁵⁷ Gensch, T.; Hopkinson, M. N.; Glorius, F.; Wencel-Delord, J. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 2900–2936.

¹⁵⁸ Engle, K. M.; Yu, J.-Q. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 8927–8955.

¹⁵⁹ Chen, Z.; Wang, B.; Zhang, J.; Yu, W.; Liu, Z.; Zhang, Y. *Org. Chem. Front.* **2015**, *2*, 1107–1295.

¹⁶⁰ Hu, J.; Li, G.; Huang, Z.-B.; Zhang, J.; Shi, D.-Q.; Zhao, Y. *Org. Chem. Front.* **2017**, *4*, 1503–1507.

¹⁶¹ She, Z.; Shi, Y.; Huang, Y.; Cheng, Y.; Song, F.; You, J. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 13914–13916.

¹⁶² Wang, X.; Ji, X.; Shao, C.; Zhang, Y.; Zhang, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 5616–5624.

¹⁶³ Park, Y.; Kim, Y.; Chang, S. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 9247–9301.

¹⁶⁴ Lu, W.; Xu, H.; Shen, Z. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 1261–1267.

¹⁶⁵ Murai, M.; Nishinaka, N.; Takai, K. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 5843–5847.

¹⁶⁶ Das, R.; Kapur, M. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 1114–1126.

¹⁶⁷ Ackermann, L. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1315–1345.

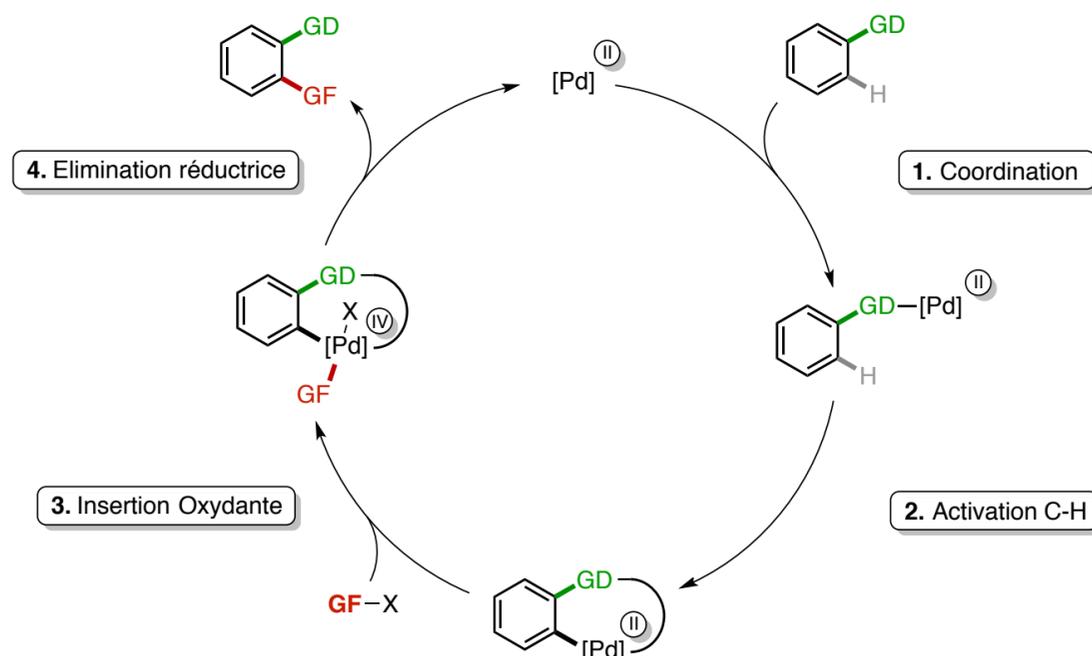


Figure 106 : Réaction d'activation C-H par un mécanisme Pd^(II)/Pd^(IV)

Deux autres mécanismes ont été proposés l'un basé sur un système Pd^(II)/Pd⁽⁰⁾ nécessitant l'ajout d'un oxydant pour régénéré l'espèce Pd^(II), [168] l'autre sur un système Pd^(II)/Pd^(III)/Pd^(I), similaire au système Pd^(II)/Pd^(IV), mais reposant sur la formation d'un complexe bimétallique observé notamment à l'aide d'études cristallographiques. [169]

Permettant la création de nombreuses liaisons, dont notamment carbone-halogène, sans préfonctionnalisation du substrat, la réaction d'activation C-H apparaît comme une méthode prometteuse et novatrice dans le cadre du radiomarquage de molécules. En s'appuyant sur les propriétés structurales d'un composé, il serait alors possible de réaliser la radioiodation *ortho*-dirigée, s'affranchissant ainsi de la synthèse des précurseurs et des difficultés de purification.

3.2. Etude de faisabilité sur une nouvelle stratégie de radiomarquage par activation C-H

Appliquer la réaction d'activation C-H au radiomarquage nécessite au préalable de vérifier deux conditions nécessaires : le développement d'une technique dont le temps de réaction est adéquat par rapport au temps de demi-vie du radionucléide à incorporer et la génération de l'espèce radioactive sous la forme nécessaire pour la fonctionnalisation après activation C-H.

A l'heure actuelle, le tritium (³H) est le seul radioisotope ayant été incorporé par activation C-H, généralement catalysée à l'iridium. [170] Un exemple de tritiation par activation C-H catalysée au palladium a très récemment été publié début 2018 (Figure 107). [171]

¹⁶⁸ Lyons, T. W.; Sanford, M. S. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1147–1169.

¹⁶⁹ Powers, D. C.; Geibel, M. A. L.; Klein, J. E. M. N.; Ritter, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17050–17051.

¹⁷⁰ Brown, J. A.; Cochrane, A. R.; Irvine, S.; Kerr, W. J.; Mondal, B.; Parkinson, J. A.; Paterson, L. C.; Reid, M.; Tuttle, T.; Andersson, S.; Nilsson, G. N. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 3551–3562.

¹⁷¹ Yang, H.; Dormer, P. G.; Rivera, N. R.; Hoover, A. J. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 1883–1887.

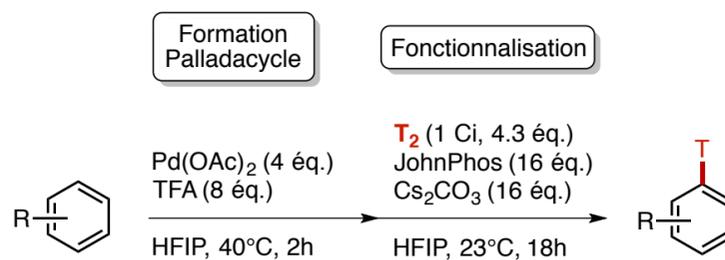


Figure 107 : Tritiation par activation C-H décrit par Hoover *et al.*

Cette étude, la première à décrire l'incorporation d'un atome radioactif après activation C-H au palladium, a permis aux auteurs de radiomarquer plusieurs molécules biologiquement actives grâce à divers groupements directeurs. Après formation du palladacycle puis introduction d'un ligand phosphoré, du tritium gazeux T_2 est ajouté afin de fonctionnaliser la liaison désirée. Ces travaux ont néanmoins montré certaines limites notamment au niveau de la sélectivité du marquage où pour chaque molécule sélectionnée, plusieurs sites de tritiation ont été observés. De plus, l'activité spécifique mesurée après purification s'est avérée être relativement faible.

Afin d'étudier la faisabilité de la réaction de radioiodation par activation C-H, les premiers travaux se sont focalisés sur une précédente étude réalisée au laboratoire (Figure 108).^[172]

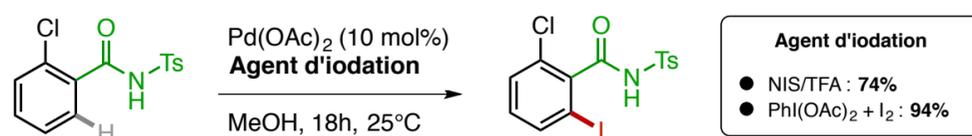


Figure 108 : Iodation pallado-catalysé par activation C-H de *N*-tosylbenzamide

3.2.1. Discussion autour de la cinétique de la réaction

Une partie des travaux menés par Péron *et al.* au laboratoire sur la fonctionnalisation pallado-catalysée par activation C-H de *N*-tosylbenzamides s'est intéressée à la iodation. En présence d'une source d'iode électrophile, la 2-chloro-*N*-tosylbenzamide a été *ortho* iodée à température ambiante après 18h de réaction. Les études cinétiques réalisées en RMN du proton ont alors montré que l'étape cinétiquement déterminante était la formation du palladacycle (Figure 109).

¹⁷² Péron, F.; Fossey, C.; Sopkova-de Oliveira Santos, J.; Cailly, T.; Fabis, F. *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, 7507–7513.

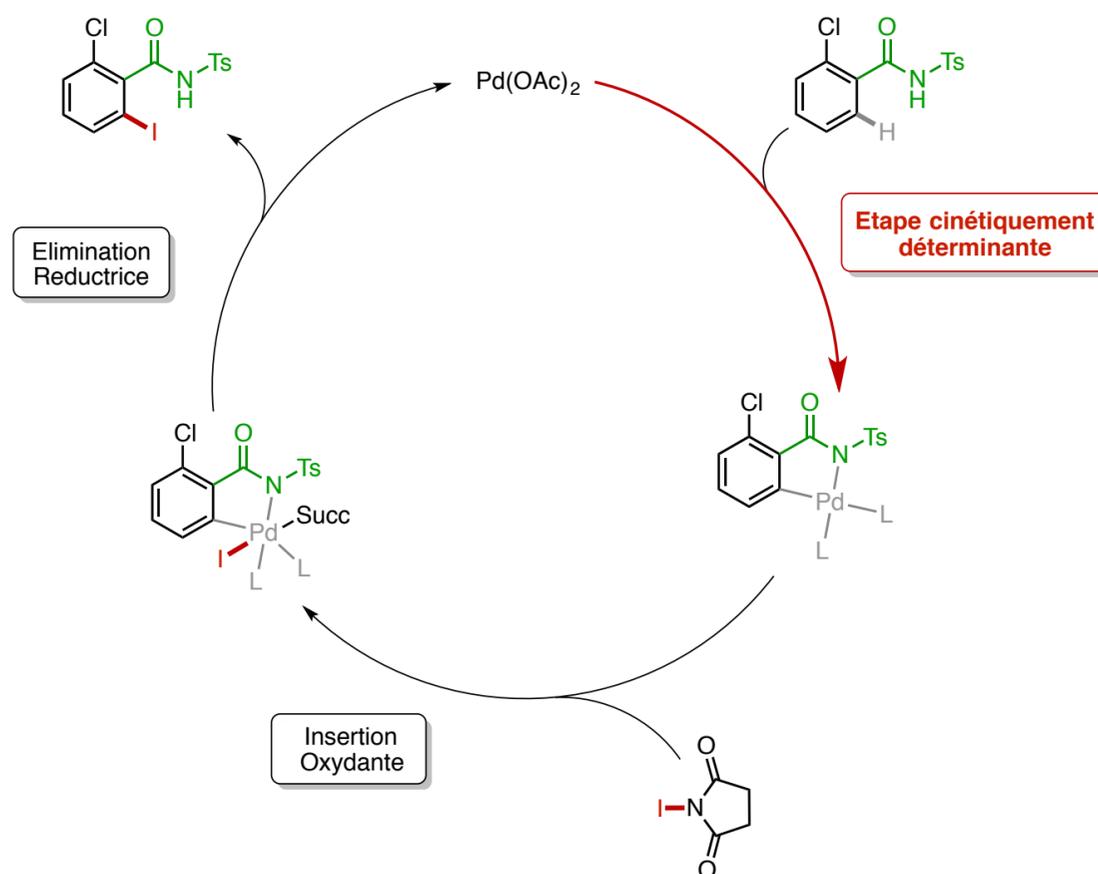


Figure 109 : Mécanisme de iodation pallado-catalysé par activation C-H

Pour adapter ce concept à la radioiodation, la première difficulté consiste à réduire le temps de réaction de l'agent de iodation (ici NIS) afin de minimiser la décroissance radioactive lors d'une potentielle application en radiochimie. En effet, un temps de réaction de 18h n'est pas compatible avec un radiomarquage à l'iode-123, radioisotope au temps de demi-vie d'environ 13h. Au regard du cycle catalytique, ce réactif n'intervient qu'une fois le palladacycle formé. Les cinétiques des étapes d'insertion oxydante et élimination réductrice ont été évaluées en engageant l'agent de iodation sur le palladacycle déjà formé (Figure 110).

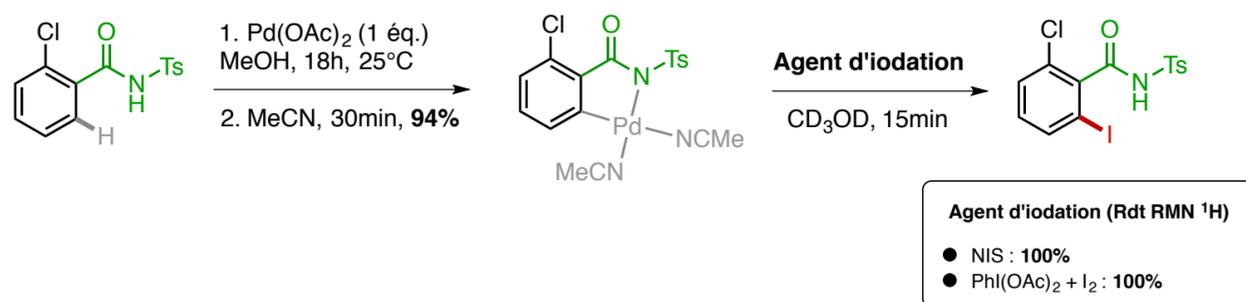


Figure 110 : Iodation par activation C-H à partir d'un palladacycle isolé

Le palladacycle, isolé, caractérisé et dont une structure RX a été obtenue, a été dissous dans une solution de méthanol- d_4 en présence d'un agent d'iodation. Après un quart d'heure de réaction, l'analyse RMN du proton indique la formation du produit iodé avec un rendement quantitatif. Ces résultats montrent que le transfert d'halogène de l'agent d'iodation vers le substrat s'effectue très rapidement à travers les étapes d'insertion oxydante et d'élimination réductrice. Au final, quinze minutes sont donc nécessaires entre l'incorporation de l'agent de iodation et la iodation du substrat, un temps de réaction en adéquation pour une potentielle utilisation en radiomarquage.

Pour finir, afin de s'affranchir de l'isolement du palladacycle, cette expérience a été reproduite, en conditions stœchiométriques, en conservant cette fois-ci le complexe en solution. (**Figure 111**). La solution de palladacycle est obtenue en introduisant un équivalent de 2-chloro-*N*-tosylbenzamide et un équivalent d'acétate de palladium dans du méthanol. Après 18h d'agitation à température ambiante, la *N*-iodosuccinimide est ajoutée puis, suite à une légère optimisation, le produit iodé a été observé avec un rendement RMN calculé à 85%.

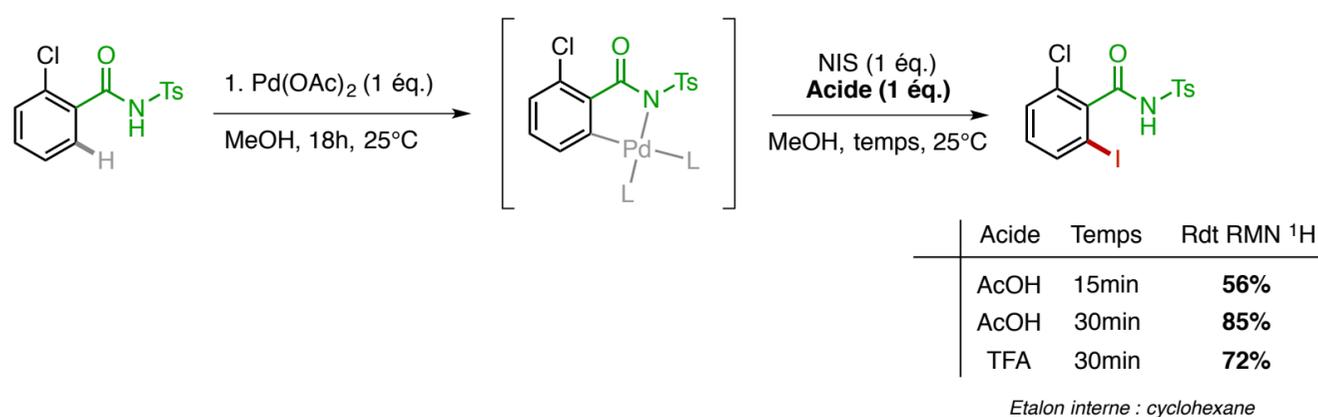


Figure 111 : Iodation par activation C-H après formation d'un palladacycle en solution

A la vue des résultats présentés, l'utilisation de la réaction d'activation C-H, en conditions stœchiométriques, répond parfaitement aux critères nécessaires pour une application en radioiodation. Après formation du palladacycle, étape cinétiquement déterminante, l'ajout de l'agent d'iodation permet l'obtention du produit attendu dans une fenêtre temporelle en accord avec le temps de demi-vie des radioisotopes de l'iode. Néanmoins, le temps nécessaire à la génération de l'agent d'iodation électrophile, à partir de la source de [¹²⁵I]NaI, doit aussi être pris en considération.

3.2.2. Discussion autour de l'agent d'iodation

La seconde difficulté consiste à générer un agent iodé électrophile compatible en radiomarquage. Décrit pour la première fois en 2005 pour la iodation par activation C-H par le groupe de Yu *et al.* le couple $\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{I}_2$ fait aujourd'hui partie des agents de iodation les plus efficaces pour cette réaction.^[173] Par génération, hypothétique, *in situ* de l'espèce AcOI, plusieurs travaux d'*ortho* halogénéation par activation C-H pallado-catalysée ont été décrits sur l'acide benzoïque,^[174] l'acide phénylacétique,^[175] ou à partir de groupements directeurs azotés comme des dérivés aminés^[176] ou oxazoline.^[177] Cependant, cet agent d'iodation reste, à l'heure actuelle, inexploitable en radiochimie. Si il est possible générer l'espèce [¹²⁵I]I₂ à partir de [¹²⁵I]NaI, l'association avec l'espèce $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ n'a, pour le moment, jamais abouti à l'observation de résultats concluants en radiochimie. Une récente étude a néanmoins décrit une nouvelle méthode de iodation par activation C-H, *ortho* dirigée par des

¹⁷³ Giri, R.; Chen, X.; Yu, J.-Q. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44*, 2112–2115.

¹⁷⁴ Mei, T.; Giri, R.; Maugel, N.; Yu, J.-Q. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 5215–5219.

¹⁷⁵ Mei, T.-S.; Wang, D.-H.; Yu, J.-Q. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3140–3143.

¹⁷⁶ Li, J.-J.; Mei, T.-S.; Yu, J.-Q. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 6452–6455.

¹⁷⁷ Giri, R.; Chen, X.; Hao, X.-S.; Li, J.-J.; Liang, J.; Fan, Z.-P.; Yu, J.-Q. *Tetrahedron Asymmetry* **2005**, *16*, 3502–3505.

hétérocycles azotés, *via* le couple $\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{NaI}$ catalysée au rhodium.^[178] Ce couple n'a, pour le moment, jamais été investigué en radiochimie.

Bien que peu décrit, le diiode seul peut être employé comme agent d'halogénéation dans la réaction d'activation C-H. Les travaux de Yu sur la iodation de benzamide ou d'amide phénylacétique pallado-catalysé ont notamment souligné le double rôle du diiode comme agent d'halogénéation mais aussi d'oxydation.^[179] Plus récemment, la iodation au diiode de benzamides substituées par un groupement quinoléine ont été décrites par catalyse au nickel^[180] puis au cobalt.^[181] Si il s'avère possible de générer le diiode comme agent d'halogénéation en radiochimie, son utilisation restera cependant limitée dans la réaction d'activation C-H dû à son faible pouvoir électrophile comparé aux autres réactifs.

De la famille des *N*-halosuccinimide, la *N*-iodosuccinimide (NIS) est sans doute l'agent d'iodation le plus rencontré dans les réactions d'activation C-H. L'un des premiers exemples d'halogénéation par activation C-H a été décrit par Sanford *et al.* en 2004 après chloration et bromation régiosélective pallado-catalysée de benzo[*h*]quinoline en présence respectivement de NCS (*N*-chlorosuccinimide) et de NBS (*N*-bromosuccinimide).^[182] Cette méthode a permis quelques années plus tard au même groupe de réaliser la iodation *ortho* dirigée de phénylpyridine à partir de NIS,^[183] puis d'élargir la liste de groupements directeurs à d'autres hétérocycles azotés, aux dérivés benzamides et anilides.^[184] Depuis ces travaux, le NIS a été fréquemment employé dans les réactions de iodation pallado-catalysées *ortho* dirigées, par des groupements carbamates,^[185] nitrile^[186] ou encore azobenzène^[187] par exemple.

En radiochimie, la génération de $[\text{}^{125}\text{I}]\text{NIS}$ a été décrite de deux manières dans la littérature : à partir succinimide d'argent^[188] ou *N*-chlorosuccinimide (Figure 112).^[144]

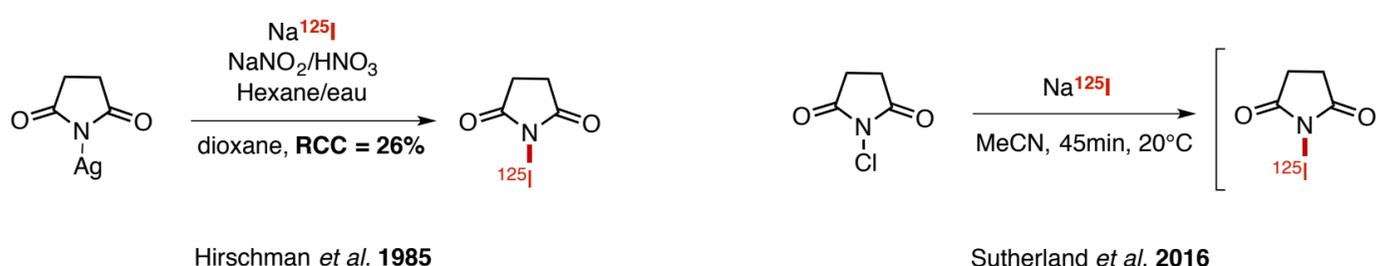


Figure 112 : Génération de $[\text{}^{125}\text{I}]\text{NIS}$ dans la littérature

En 1985, Hirschman *et al.* publie la première méthode pour synthétiser l'agent radioiodé $[\text{}^{125}\text{I}]\text{NIS}$. Dans un premier temps, le iodure de sodium $[\text{}^{125}\text{I}]\text{NaI}$ est oxydé en présence d'un mélange d'acide

¹⁷⁸ Zhang, P.; Hong, L.; Li, G.; Wang, R. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 345–349.

¹⁷⁹ Wang, X.-C.; Hu, Y.; Bonacorsi, S.; Hong, Y.; Burrell, R.; Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10326–10329.

¹⁸⁰ Aihara, Y.; Chatani, N. *ACS Catal.* **2016**, *6*, 4323–4329.

¹⁸¹ Kommagalla, Y.; Yamazaki, K.; Yamaguchi, T.; Chatani, N. *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 1359–1362.

¹⁸² Allison R. Dick; Kami L. Hull, A.; Sanford, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2300–2301.

¹⁸³ Kalyani, D.; Dick, A. R.; Anani, W. Q.; Sanford, M. S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2523–2526.

¹⁸⁴ Kalyani, D.; Dick, A. R.; Anani, W. Q.; Sanford, M. S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11483–11498.

¹⁸⁵ Moghaddam, F. M.; Tavakoli, G.; Saeednia, B.; Langer, P.; Jafari, B. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 3868–3876.

¹⁸⁶ Du, B.; Jiang, X.; Sun, P. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 2786–2791.

¹⁸⁷ Ma, X.-T.; Tian, S.-K. *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 337–340.

¹⁸⁸ Hartig, P. R.; Krohn, A. M.; Hirschman, S. A. *Anal. Biochem.* **1985**, *144*, 441–446.

nitrique et de nitrite de sodium pour générer l'espèce $[^{125}\text{I}]\text{I}_2$. Le diiode est extrait du mélange réactionnel par traitement dans l'hexane et est ensuite engagé en présence du succinimide d'argent pour obtenir l'espèce $[^{125}\text{I}]\text{NIS}$ avec un rendement radiochimique de 26%. Cette technique, permettant d'isoler l'agent de radioiodation, possède néanmoins de nombreux inconvénients comme la nécessité d'évaporer les solvants du mélange réactionnel ainsi que le faible rendement radiochimique. Trois décennies plus tard, en 2016, Sutherland *et al.* propose la génération, *in situ*, de l'espèce $[^{125}\text{I}]\text{NIS}$ à partir de NCS. En présence d'une solution de $[^{125}\text{I}]\text{NaI}$ dans l'acétonitrile, les auteurs suggèrent un échange halogène chlore-iodo pour obtenir l'espèce radioactive en solution. Celle-ci peut être ensuite engagée directement sur le substrat à marquer sans évaporation préalable du solvant.

Bien que d'autres agents d'iodation pour la fonctionnalisation par activation C-H aient été décrits dans la littérature, la *N*-iodosuccinimide semble être un candidat idéal pour une utilisation en radiomarquage. Très fréquemment employé dans les réactions d'*ortho* iodation par activation C-H pallado-catalysées, l'analogue radioiodé $[^{125}\text{I}]\text{NIS}$, a été décrit et utilisé dans un certains nombres de réactions radiochimiques. La préparation de l'agent de radioiodation en solution permet donc d'envisager par combinaison avec la solution de palladacycle, une méthode de radiomarquage par activation C-H.

3.3. Structuration du projet de recherche

L'objectif des travaux présentés dans la prochaine section de ce manuscrit consiste à développer un nouvelle technique de radioiodation par activation C-H. Pour ce faire, le projet de recherche a été séquencé en 3 phases (**Figure 113**).

La première étape de ce projet de recherche consiste à démontrer la faisabilité de la méthode de radioiodation par activation C-H où des expériences d'optimisation ont été menées sur des *N*-tosylbenzamides diversement substitués. Dans un second temps, des molécules d'intérêts biologiques possédant le squelette *N*-acylsulfonamide ont été synthétisées afin de tester les conditions de radiomarquage sur des molécules plus complexes. Enfin, un large panel de groupement directeur a été sélectionné afin de tester les conditions de radioiodation.

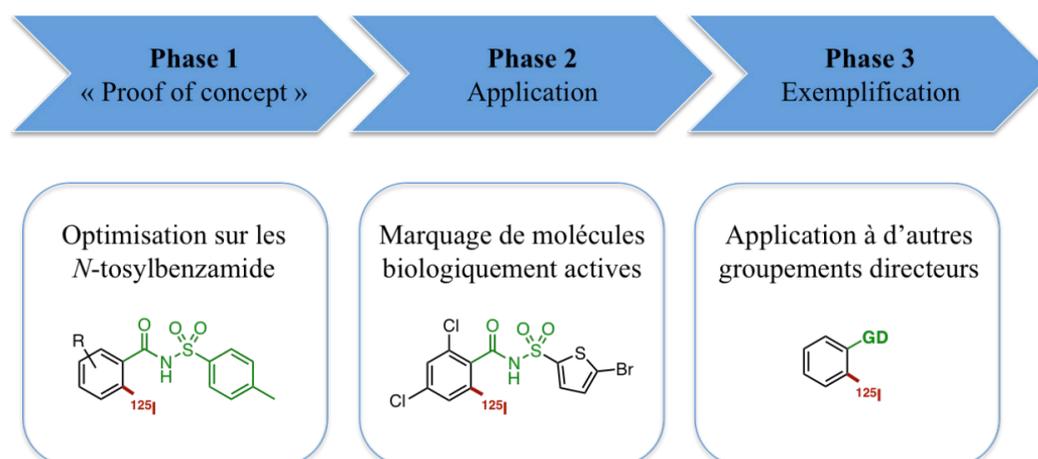


Figure 113 : Développement d'une nouvelle stratégie de radioiodation en 3 phases

Chapitre 4 :
**Développement d'une nouvelle méthodologie de radioiodatation
par activation C-H**

1. Mise au point d'une nouvelle méthodologie de radioiodation par activation CH

1.1. Optimisation des conditions expérimentales sur la 2-chloro-*N*-tosylbenzamide

L'adaptation de la réaction d'activation C-H à la radiochimie nécessite au préalable l'ajustement d'un certain nombre de paramètres (**Figure 114**). Les expériences de radioiodation menées peuvent être séquencées en trois étapes. Tout d'abord, l'espèce radioactive électrophile « $^{125}\text{I}^+$ » est générée par ajout d'un oxydant en présence de $^{125}\text{I}]\text{NaI}$. Lors de cette première phase, le temps de mise en contact entre les deux réactifs (t_1), le choix du solvant (**S**) ainsi que la concentration de l'oxydant (C_1) ont été évalués. Dans un deuxième temps, le palladacycle est ajouté afin de réaliser l'*ortho* radioiodation. Au cours de cette étape, trois paramètres ont été étudiés : le volume (V_1) de la solution de palladacycle ajouté, la nature et le volume (V_2) de l'additif introduit (acide acétique ou trifluoroacétique) ainsi que le temps (t_2) d'agitation du mélange réactionnel. Enfin, la nature de l'agent réducteur (**R**), indispensable pour régénérer l'espèce $^{125}\text{I}]\text{NaI}$ et ainsi déterminer des conversions radiochimiques, puis le système de dilution avant analyse par radio-HPLC ont été analysés.

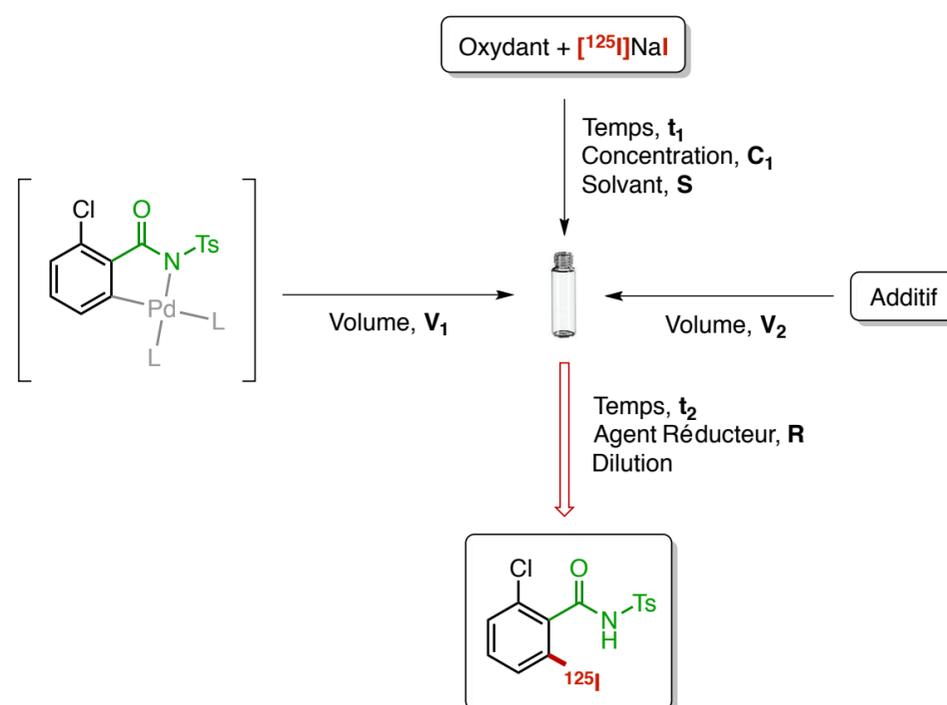
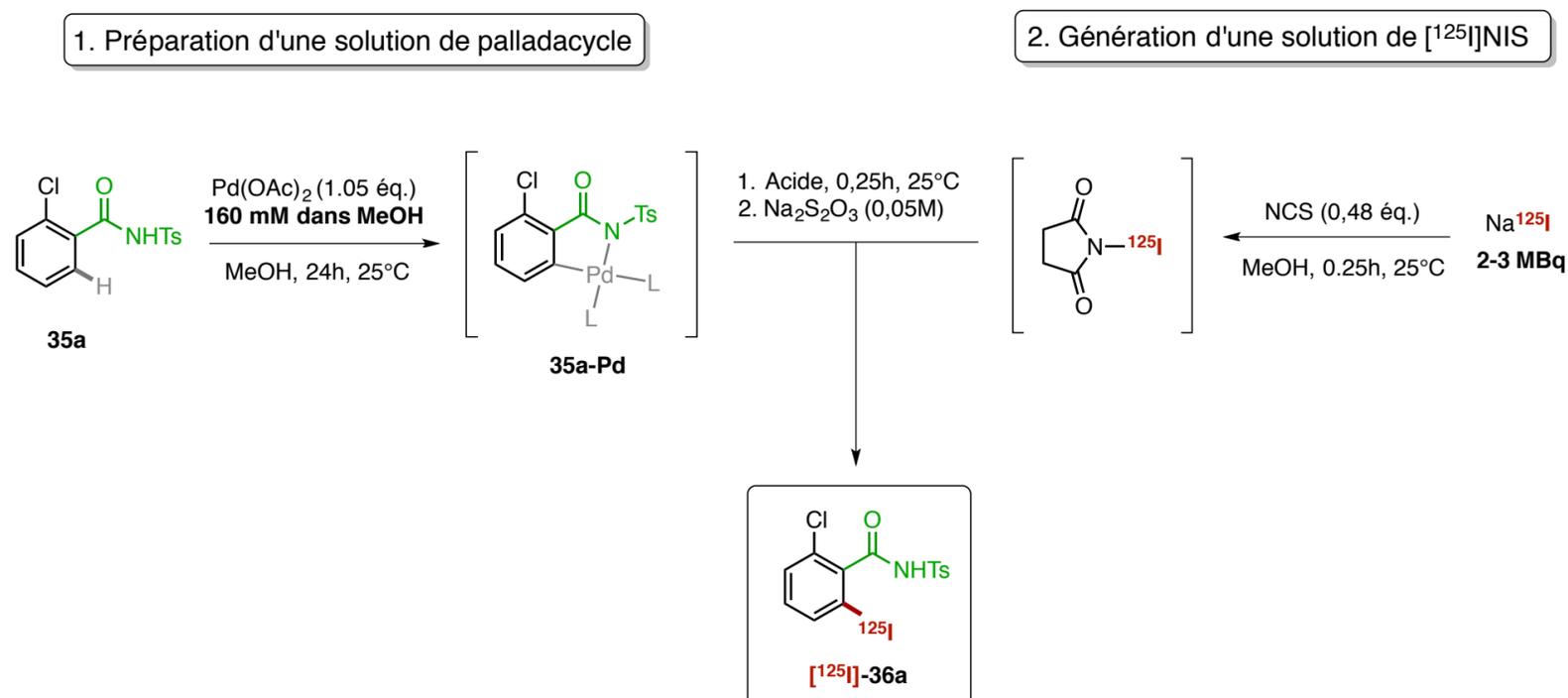


Figure 114 : Paramètres variables lors des expériences d'optimisations

A partir de 2 à 3 MBq de $^{125}\text{I}]\text{NaI}$, soit quelques nanomoles, plus d'une centaine d'expériences ont été réalisées en large défaut de $^{125}\text{I}]\text{NaI}$ par rapport aux autres réactifs. Après évaluation successive des différents paramètres, les résultats ont montré que le NCS conduisait à la génération de l'agent d'iodation électrophile, comme décrit dans la littérature, et que l'ajout d'acide catalysait la réaction. A partir de ces constatations, trois conditions expérimentales ont été retenues pour la suite de l'étude (**Figure 115**).



	NCS	35a-Pd	Acide	RCC % (n=2)
A	50 µl, 30 mM	20 µl	50 µl TFA	82±0
B	50 µl, 30 mM	20 µl	50 µl AcOH	76±6
C	95 µl, 16 mM	20 µl	20 µl TFA	71±2
D		20 µl	20 µl TFA	0
E	95 µl, 16 mM		20 µl TFA	0

Figure 115 : Résultats des expériences d'optimisation

En fonction de la concentration des réactifs, les RCC observés ont oscillé entre 71% et 82%. Les expériences témoins **D** et **E** indiquent qu'en l'absence de NCS ou d'acétate de palladium, aucun produit radioiodé n'est observé. Ces résultats sont en corrélation avec le mécanisme d'activation C-H où la génération d'une espèce électrophile est indispensable (**D**) et élimine la possibilité d'un marquage par S_EAr (**E**). Ces conditions en main, le radiomarquage de divers *N*-tosylbenzamides a été réalisé.

1.2. Exemple sur divers *N*-tosylbenzamides

1.2.1. Synthèse des références iodées froides

Avant de débiter les expériences d'exemplification sur le radiomarquage, les premiers travaux consistent à synthétiser les divers *N*-tosylbenzamides fonctionnalisés. Pour ce faire, le chlorure de benzoyle, fonctionnalisé, est mis en présence du *para*-toluènesulfonamide pour aboutir aux composés désirés **35a-l** (Figure 116).

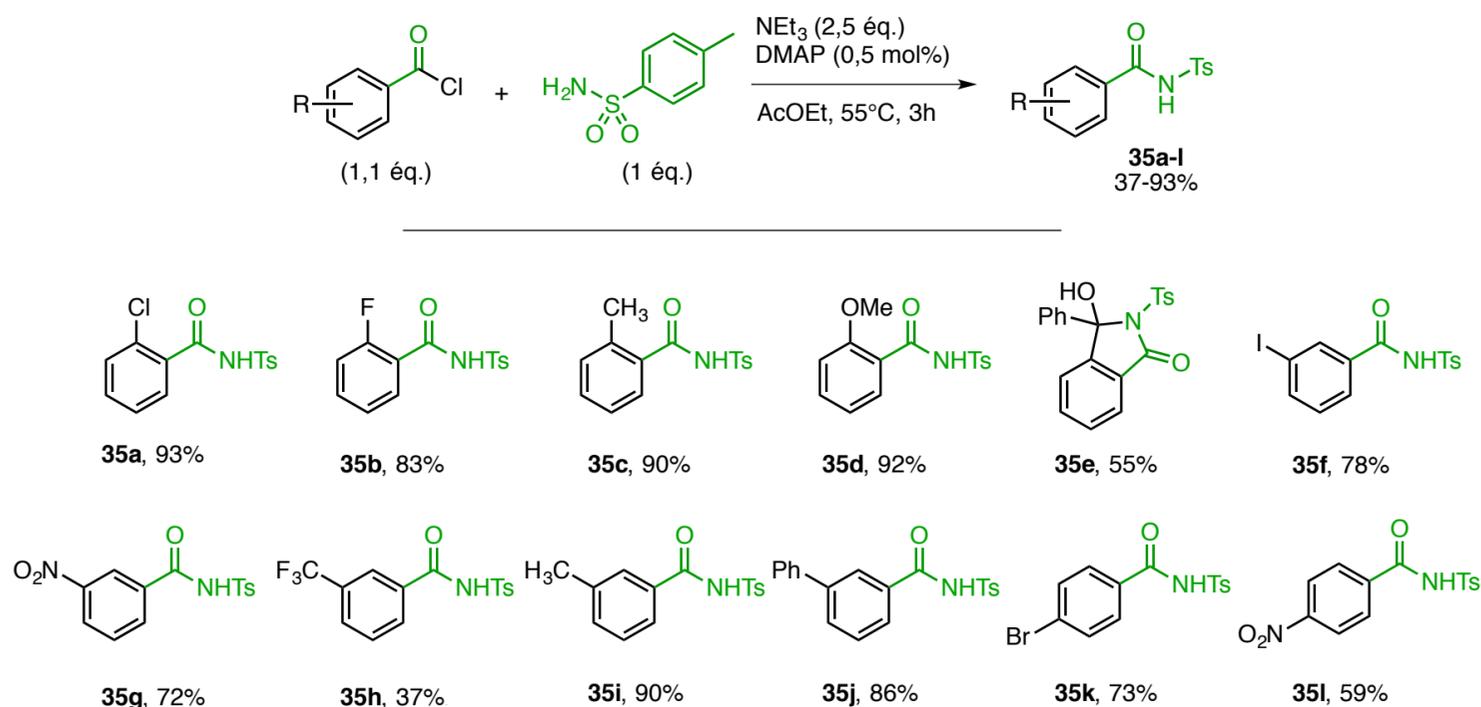


Figure 116 : Synthèse de diverses *N*-tosylbenzamides fonctionnalisés

Suivant ce schéma réactionnel, 12 *N*-tosylbenzamides, fonctionnalisés par des groupements électroattracteurs et électrodonneurs en position *ortho*, *meta* et *para* ont été synthétisés avec des rendements compris entre 37% et 93%. Après évaluation de la formation du palladacycle en RMN du ^1H sur chacun des substrats, ces molécules ont été *ortho*-iodées après activation C-H (Figure 117).

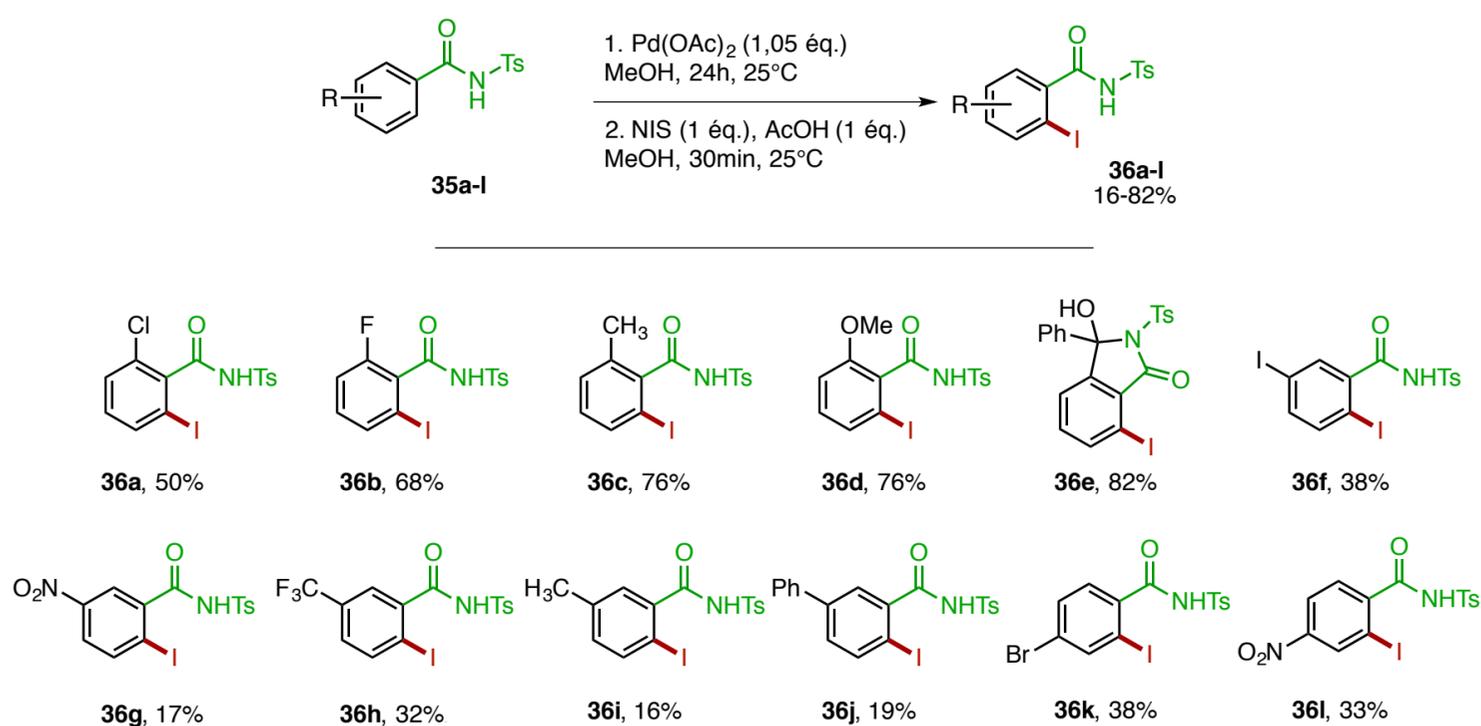


Figure 117 : *Ortho* iodation des *N*-tosylbenzamides

Les douze références iodées ont été isolées avec des rendements très variables oscillant entre 16% et 82%. Plusieurs explications peuvent être avancées pour les faibles rendements observés comme la difficulté à former le palladacycle **36g** ou encore l'observation de plusieurs sous-produits, dont celui de di-iodation notamment, rendant de plus la purification délicate de **36i** et **36j**. Ces références ont été injectées sur la radio-HPLC afin d'obtenir le chromatogramme UV, avant de réaliser la radioiodation comme présenté précédemment (Chapitre 3, § 2.1).

1.2.2. Radioiodation des *N*-tosylbenzamides

Après formation du palladacycle sur les composés **35a-l**, les conditions **A**, **B** et **C**, précédemment déterminées, ont été testées successivement. Il s'est alors avéré que, mis à part pour le composé **35a** utilisé pour les expériences d'optimisation, les conditions **C** apportaient les meilleurs résultats. Par ailleurs dans certains cas de figure, la dilution du palladacycle a permis une augmentation de la conversion radiochimique (**Figure 118**). Après avoir réalisé au minimum deux fois chaque expérience, les conversions radiochimiques observées se sont situées entre 44% et 91%. L'analyse des résultats indique que l'*ortho* radioiodation fonctionne aussi bien sur des cycles aromatiques appauvris par un groupement électroattracteur ($[^{125}\text{I}]\mathbf{36h}$, RCC = $81 \pm 2\%$) que sur des cycles enrichis par un groupement électrodonneur ($[^{125}\text{I}]\mathbf{36d}$, RCC = $81 \pm 2\%$). De plus, pour un substituant choisi, la position de celui-ci ne semble pas modifier la réactivité qu'il soit électrodonneur (Pour R = -CH₃, en position *ortho* : $[^{125}\text{I}]\mathbf{36c}$, RCC = $83 \pm 1\%$, en position *meta* $[^{125}\text{I}]\mathbf{36i}$, RCC = $71 \pm 2\%$) ou électroattracteur (Pour R = -NO₂, en position *meta* : $[^{125}\text{I}]\mathbf{36g}$, RCC = $56 \pm 5\%$, en position *para* $[^{125}\text{I}]\mathbf{36l}$, RCC = $44 \pm 4\%$).

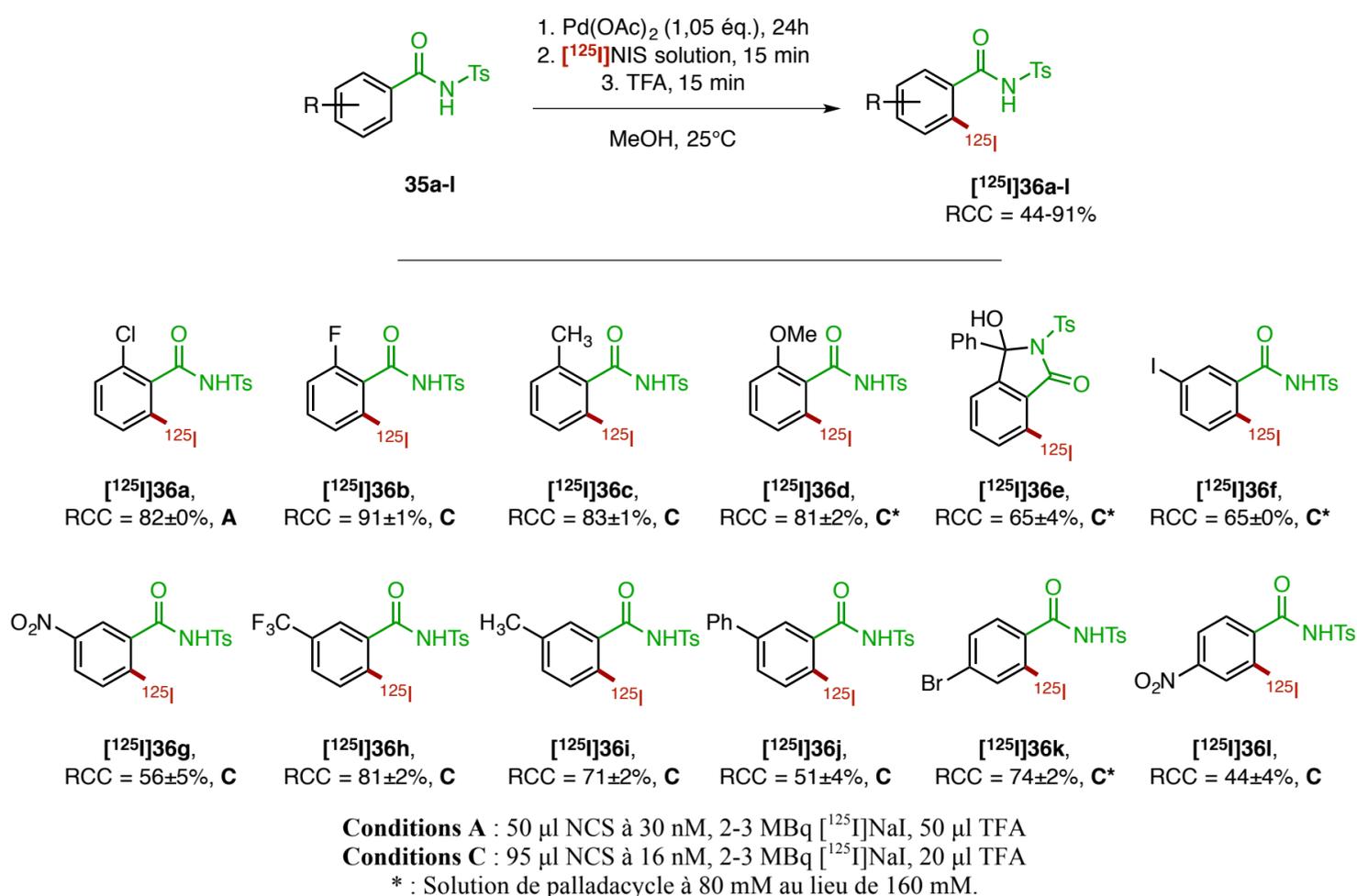


Figure 118 : Radioiodation \u00e0 l'iode-125 des *N*-tosylbenzamides

Ces premiers travaux sur les *N*-tosylbenzamides ont montr\u00e9 qu'il \u00e9tait possible d'utiliser la r\u00e9action d'activation C-H pour r\u00e9aliser l'*ortho*-radioiodation de diff\u00e9rents *N*-tosylbenzamides substitu\u00e9s. L'objectif, \u00e0 pr\u00e9sent, est de d\u00e9montrer la faisabilit\u00e9 de cette r\u00e9action sur des mol\u00e9cules biologiquement actives plus complexes afin d'acc\u00e9der \u00e0 l'avenir \u00e0 de potentiels radiotraceurs ou agents radioth\u00e9rapeutiques.

1.3. Radiomarquage de molécules biologiquement actives

1.3.1. Synthèse des molécules possédant le motif *N*-acylsulfonamide

Le motif *N*-acylsulfonamide est retrouvé dans diverses molécules biologiquement actives comme les anti-cancéreux, les antibactériens ou encore les antiviraux.^[189] Parmi toutes les molécules possédant ce motif, trois molécules ont été choisies : deux agents antiprolifératifs, le **LY-32262**^[190] et le **Tasisulam**,^[191] ainsi qu'un inhibiteur Bcl-x_L/Mcl-1, **37c**^[192] pour être dans un premier temps iodées par activation C-H *ortho* dirigée par le groupement *N*-acylsulfonamide puis radioiodées. (Figure 119).

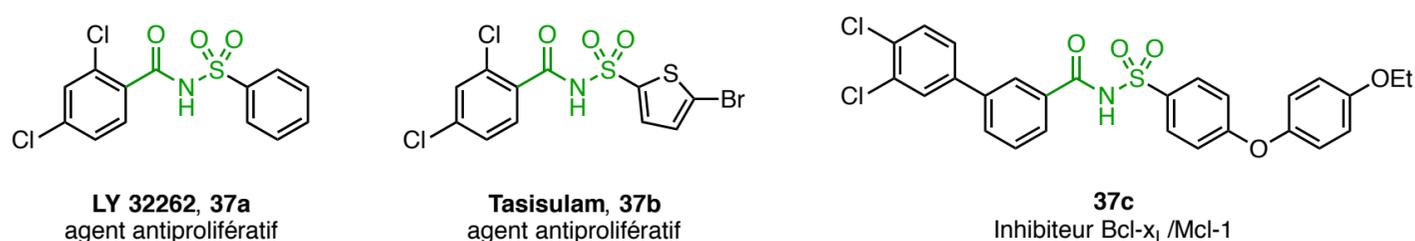


Figure 119 : Molécules biologiquement actives possédant le motif *N*-acylsulfonamide

Ces trois molécules ont été synthétisées au sein de l'équipe suivant le même schéma réactionnel que précédemment en préparant en amont le chlorure de benzoyle ainsi que le sulfonamide correspondant. Après formation du palladacycle, ces composés ont été iodés par activation C-H *ortho* dirigée afin d'obtenir les références froides (Figure 120).

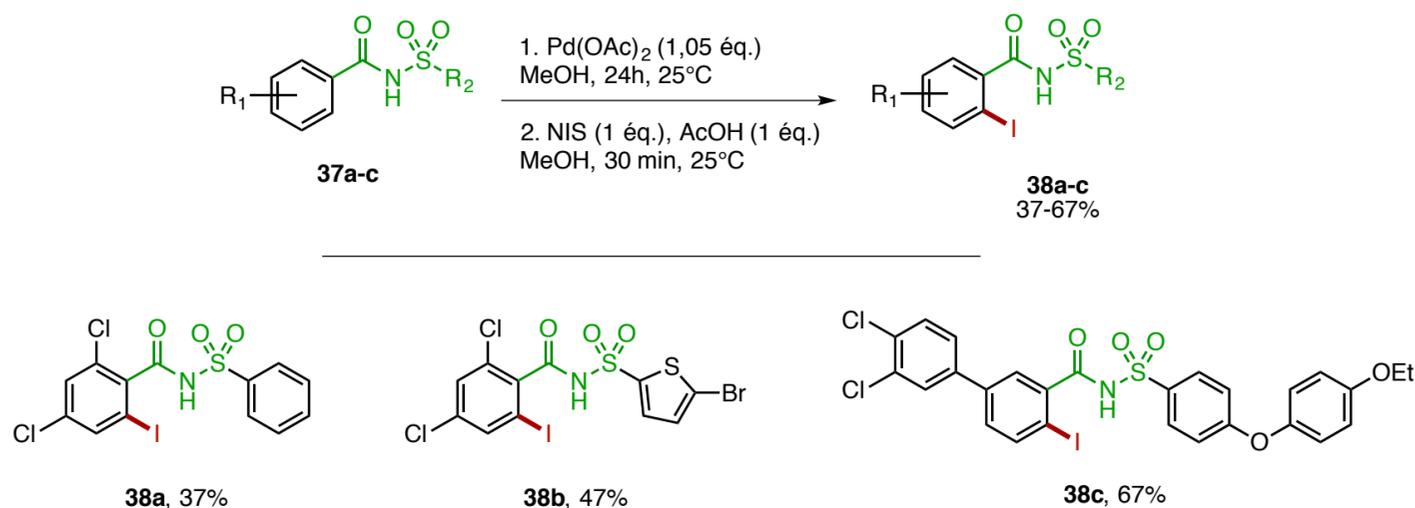


Figure 120 : Iodation par activation C-H *ortho* dirigée des molécules **37a-c**

Les composés iodés **38a-c** ont été isolés avec des rendements compris entre 37 et 67%. Comme précédemment avec les divers *N*-tosylbenzamides, ces molécules iodées ont été injectées sur radio-HPLC afin d'obtenir les références pour le radiomarquage.

¹⁸⁹ Ammazalorso, A.; De Filippis, B.; Giampietro, L.; Amoroso, R. *Chem. Biol. Drug Des.* **2017**, *90*, 1094–1105.

¹⁹⁰ Lobb, K. L.; Hipskind, P. A.; Aikins, J. A.; Alvarez, E.; Cheung, Y.-Y.; Considine, E. L.; De Dios, A.; Durst, G. L.; Ferritto, R.; Grossman, C. S.; Giera, D. D.; Hollister, B. A.; Huang, Z.; Iversen, P. W.; Law, K. L.; Li, T.; Lin, H.-S.; Lopez, B.; Lopez, J. E.; Martin Cabrejas, L. M.; McCann, D. J.; Molero, V.; Reilly, J. E.; Richett, M. E.; Shih, C.; Teicher, B.; Wikel, J. H.; White, W. T.; Mader, M. M. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5367–5380.

¹⁹¹ Meier, T.; Uhlik, M.; Chintharlapalli, S.; Dowless, M.; Van Horn, R.; Stewart, J.; Blosser, W.; Cook, J.; Young, D.; Ye, X.; Evans, G.; Credille, K.; Ballard, D.; Huber, L.; Capen, A.; Chedid, M.; Ilaria, R.; Smith, M. C.; Stancato, L. *Mol. Cancer Ther.* **2011**, *10* (11), 2168–2178.

¹⁹² Rega, M. F.; Wu, B.; Wei, J.; Zhang, Z.; Cellitti, J. F.; Pellecchia, M. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 6000–6013.

1.3.2. Radioiodation de molécules biologiquement actives

Suivant le même procédé que lors de la phase d'optimisation, les 3 molécules présentées ont été radioiodées et de très bons RCCs, compris entre 71% et 88%, ont été observés. Enfin, pour la molécule [¹²⁵I]38a, le rendement radiochimique a été mesuré à 42 et en utilisant une gamme étalon UV, l'activité spécifique a pu être mesurée par chromatographie et calculée à 32,9 GBq.μmol⁻¹. Ces résultats sont en accord avec une potentielle application à l'iode-123 pour réaliser des expériences d'imagerie (**Figure 121**).

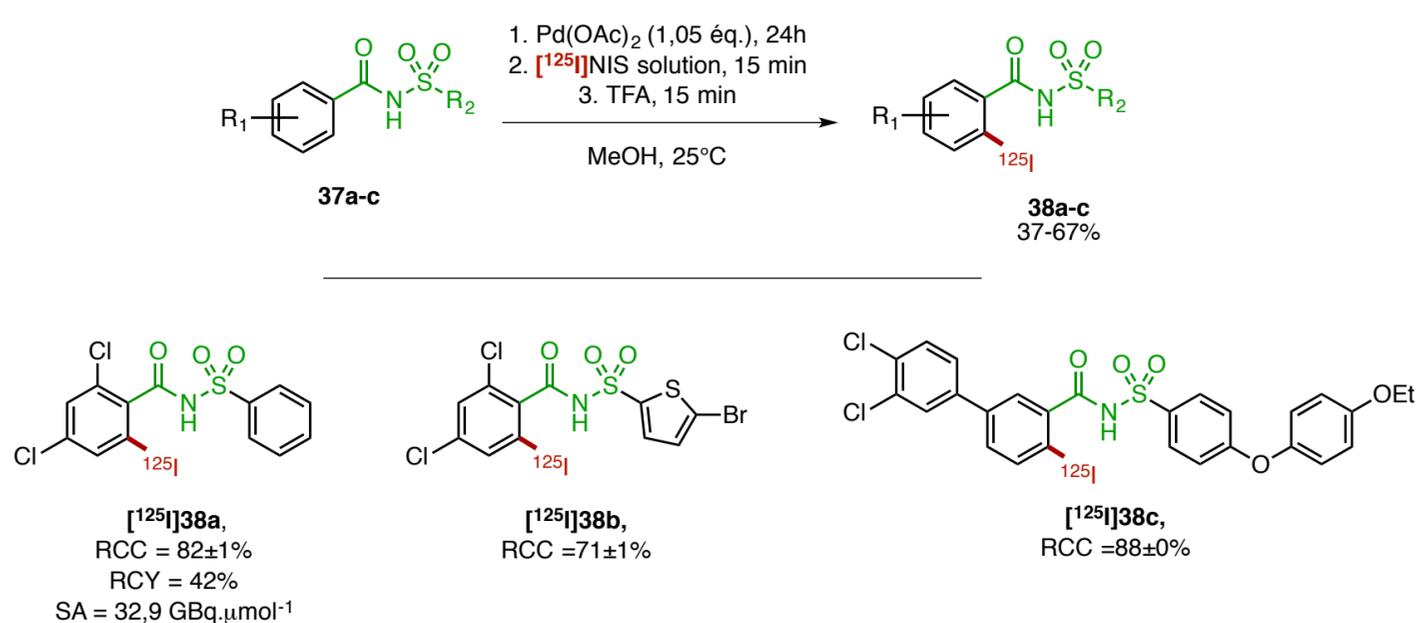


Figure 121 : Radioiodation par activation C-H *ortho* dirigée des molécules 37a-c

Les expériences de radioiodation réalisées dans cette section ont successivement montré qu'il était possible d'incorporer l'atome d'iode radioactif par activation C-H *ortho* dirigée par un groupement *N*-acylsulfonamide, d'élargir la méthode sur des substrats enrichis ou appauvris en électrons et de l'appliquer sur des molécules biologiquement actives plus complexes. Afin d'étendre cette méthodologie de marquage à d'autres molécules biologiquement actives, l'emploi de nouveaux groupements directeurs utilisés en réaction d'activation C-H a été investigué (**Figure 122**).

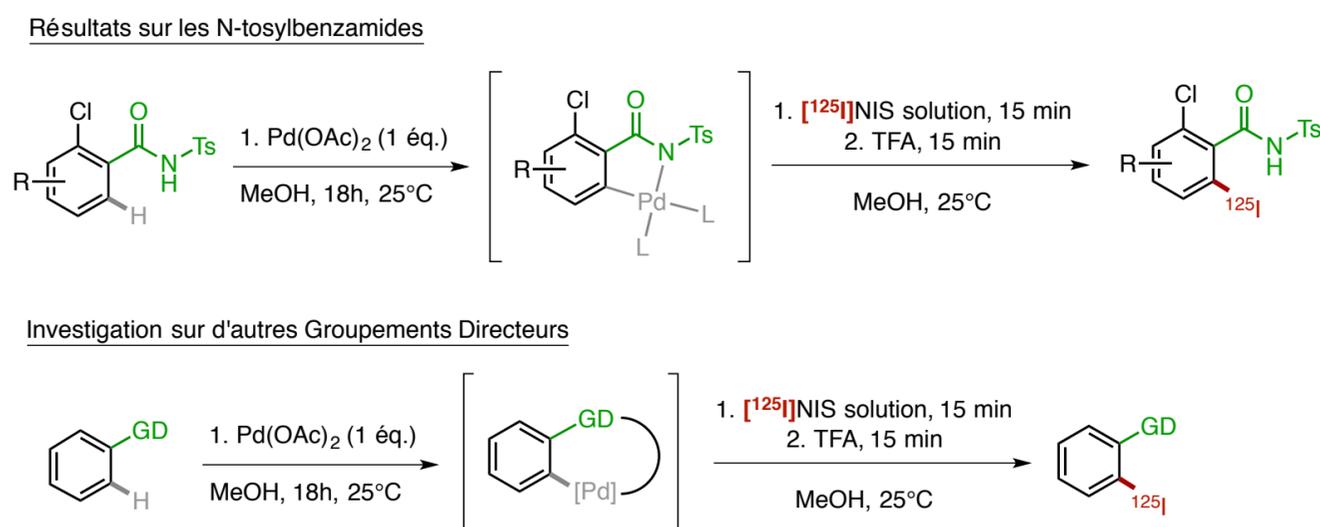


Figure 122 : Travaux réalisés et envisagés autour de la radioiodation par activation C-H

2. Exemplification de la méthodologie à d'autres groupements directeurs

En s'appuyant sur les résultats obtenus à partir des *N*-acylsulfonamides, plus d'une quarantaine de groupements directeurs ont été sélectionnés et analysés. Trois étapes ont été successivement suivies pour chaque groupement directeur afin d'étudier la faisabilité de la réaction de radioiodation :

- **Etape 1** : Formation du palladacycle par analyse RMN du proton
- **Etape 2** : Iodation froide par analyse RMN du proton
- **Etape 3** : Iodation chaude par analyse radio HPLC

En appliquant les conditions expérimentales précédemment établies pour la formation du palladacycle à l'ensemble des groupements directeurs à étudier, celui-ci ne s'est formé que dans le cas d'une minorité de groupements et parmi eux, seul un a abouti à l'observation du produit radioiodé. La formation du palladacycle étant une condition nécessaire pour l'obtention du composé radiomarqué, trois nouvelles conditions expérimentales ont été déterminées après investigation de l'ensemble des groupements afin d'élargir la liste des fonctions chimiques potentiellement *ortho* directrices. Ainsi, pour chaque groupement directeur testé, une carte, comme présenté ci-dessous, a été obtenue après évaluation de la formation du palladacycle (PdC), de la iodation froide (^{127}I) et enfin la radioiodation (^{125}I) pour chacune des conditions (I-IV) (**Figure 123**).

	PdC	^{127}I	^{125}I
I	0	-	-
II	100	90	89±1
III	CM	CM	0
IV	0	-	-

Rendement RMN pour PdC ou ^{127}I
Etalon Interne : MTBE
Expérience non réalisée

Mélange complexe en RMN
Conversion radiochimique
Expérience réalisée 2 fois

Conditions I : Pd(OAc)₂ (1 éq.), CD₃OD, 25°C, 24h.
Conditions II : Pd(OAc)₂, APTS (2 éq.), CD₃OD, 25°C, 24h.
Conditions III : PdCl₂ (1 éq.), CD₃CN, 80°C, 24h.
Conditions IV : Pd(OAc)₂ (1 éq.), APTS (2 éq.), CDCl₃, 60°C, 24h.

Figure 123 : Expériences réalisées pour l'exemplification de la méthodologie

En appliquant ces nouvelles conditions expérimentales aux groupements directeurs précédemment sélectionnés, un grand nombre de palladacycles ont pu être observés par RMN du proton. Cela a permis d'étudier la méthode de radioiodation par activation C-H sur un large panel de groupements directeurs et les résultats ont alors montré qu'il était possible de regrouper ces motifs par famille pour cette réaction (**Figure 124**).

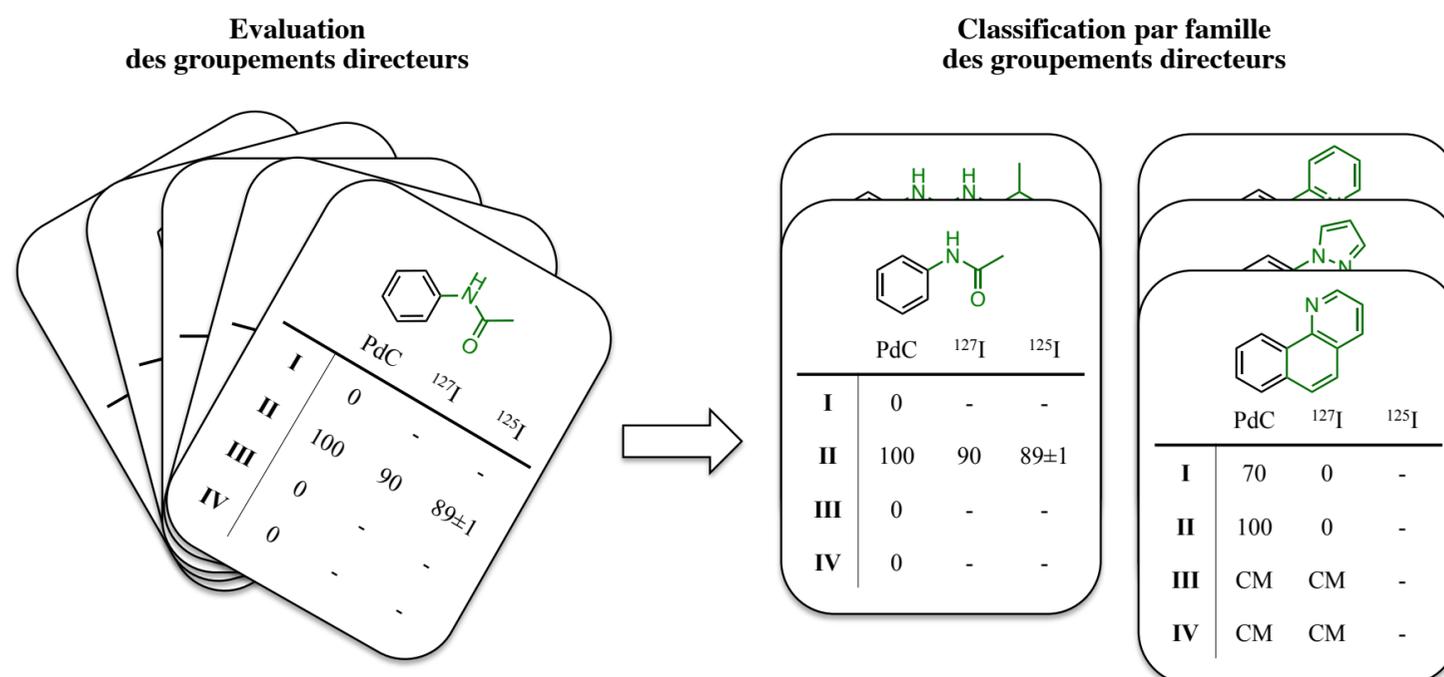


Figure 124 : Cartographie des groupements directeurs pour la réaction de radioiodation par activation C-H

2.1. La famille « anilide »

Cette première famille regroupe un certain nombre de fonctions chimiques comme les anilides, les carbamates ou encore les urées. Différents substrats ont donc été sélectionnés afin d'étudier la réactivité de cette famille envers la radioiodation par activation C-H. Les premiers essais sur l'acétanilide, se concentrant sur l'utilisation des conditions I établie pour les *N*-tosylbenzamides ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$, CD_3OD , 25°C , 24h), se sont avérés infructueux du fait de l'absence de formation du palladacycle. Les études réalisées dans la littérature sur la fonctionnalisation par activation C-H *ortho* dirigée d'acétanilide ont mis en avant l'importance de l'ajout d'acide, plus particulièrement l'APTS. [193], [194] Les auteurs supposent un échange de ligand sur le palladium rendant le complexe plus réactif pour réaliser l'activation C-H *ortho* dirigée par le groupement carbonyle (**Figure 125**).

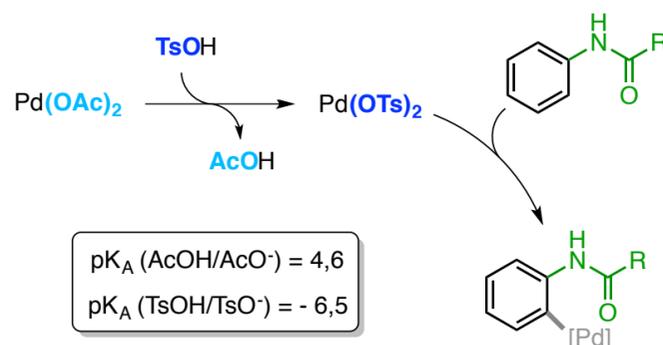


Figure 125 : Echange de ligand sur le centre métallique permettant la formation du palladacycle

En effet, en utilisant les conditions II ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$, APTS, CD_3OD , 25°C , 24h), l'ajout de l'acide a permis d'observer la formation du palladacycle. L'application des conditions III et IV, employées plutôt pour d'autres groupements directeurs qui seront présentés dans la suite de ce manuscrit (Chapitre 4, § 2.6), n'a pas abouti à l'observation du palladacycle. La iodation par activation C-H

¹⁹³ Giri, R.; Lam, J. K.; Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 686–693.

¹⁹⁴ Bedford, R. B.; Haddow, M. F.; Mitchell, C. J.; Webster, R. L. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2011**, *50*, 5524–5527.

ortho dirigée des différents dérivés anilides a ainsi pu être réalisée et les références iodées on pu être isolées en utilisant les conditions II (**Figure 126**).

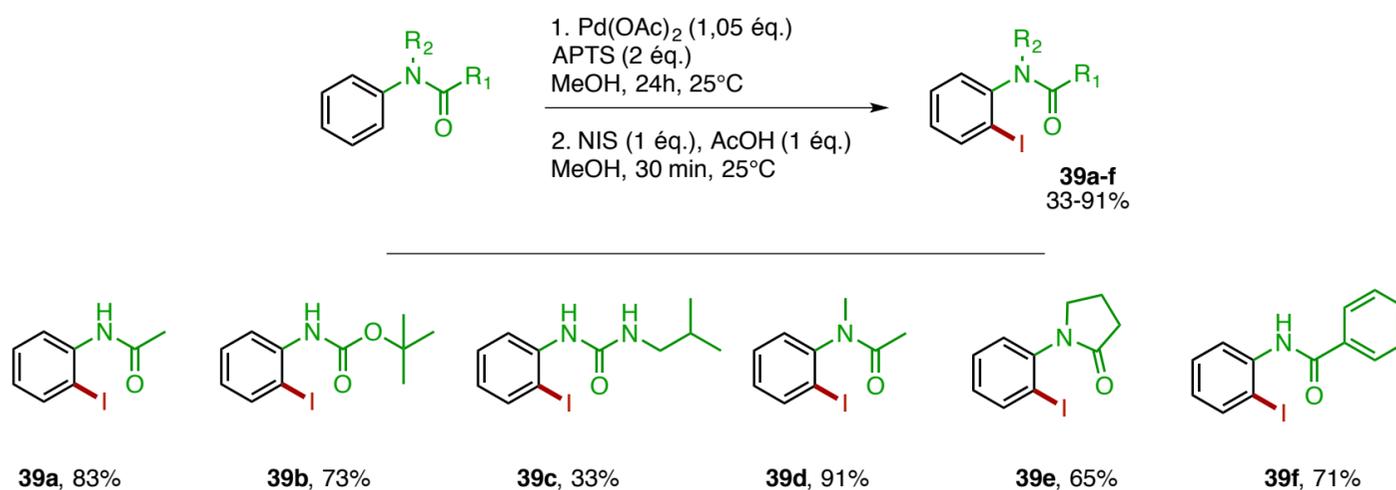


Figure 126 : Références froides iodées de différentes anilides

En parallèle des différentes fonctions chimiques citées **39a-c**, des anilides iodés plus ou moins encombrés ont été synthétisés **39d-f** afin d'étudier l'impact stérique sur la radioiodation. Le marquage à l'iode-125 de ces six molécules a ainsi été effectué (**Figure 127**).

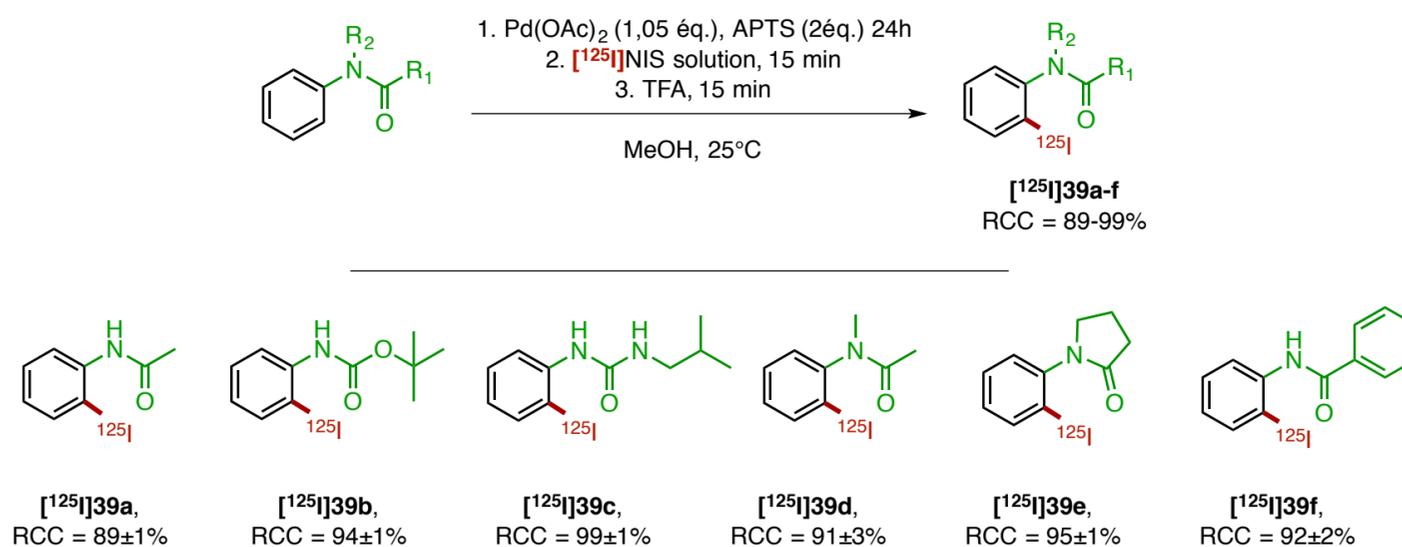
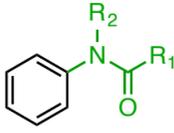


Figure 127 : Radioiodation de divers dérivés anilides

D'excellentes conversions radiochimiques ont été obtenues pour cette famille et parmi ces composés, deux exemples peuvent être mis en avant. Tout d'abord, la fonction carbamate présente sur le composé **39b** a permis d'*ortho* diriger la radioiodation. Il serait alors envisageable d'utiliser temporairement ce groupement sur une molécule d'intérêt pour réaliser l'*ortho* fonctionnalisation puis de le cliver pour libérer l'aniline. Deuxièmement, il est à noter que l'enchaînement *N*-phenylbenzamide présent sur la molécule **39f** a donné lieu à un marquage régiosélectif. En effet, les dérivés benzamides peuvent être aussi utilisés pour *ortho* diriger la réaction d'activation C-H (Chapitre 4, § 2.2) mais seul le produit [¹²⁵I]**39f** a été observé. Ces résultats permettent d'établir une cartographie de la famille anilide sur la compatibilité envers la réaction de radioiodation par activation C-H (**Figure 128**).

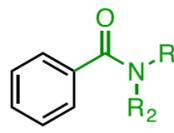
			
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	X	X	X
II	✓	✓	✓
III	X	X	X
IV	X	X	X

Conditions I : Pd(OAc)₂ (1 éq.), CD₃OD, 25°C, 24h.
Conditions II : Pd(OAc)₂, APTS (2 éq.), CD₃OD, 25°C, 24h.
Conditions III : PdCl₂ (1 éq.), CD₃CN, 80°C, 24h.
Conditions IV : Pd(OAc)₂ (1 éq.), APTS (2 éq.), CDCl₃, 60°C, 24h.

Figure 128 : Cartographie de la famille « anilide »

2.2. La famille « benzamide »

Suivant le même modèle que la famille des anilides, une cartographie de la famille des benzamides a été effectuée (**Figure 129**).

			
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	X*	X*	X*
II	✓	✓	✓
III	X	X	X
IV	X	X	X

* fonctionne sur certaines benzamides secondaires

Figure 129 : Cartographie de la famille « benzamides »

Les études réalisées sur différents substrats de cette famille ont montré que dans l'ensemble, seules les conditions II permettait d'aboutir à l'obtention du palladacycle puis au produit de radioiodation sur les dérivés benzamides testés (**Figure 130**).

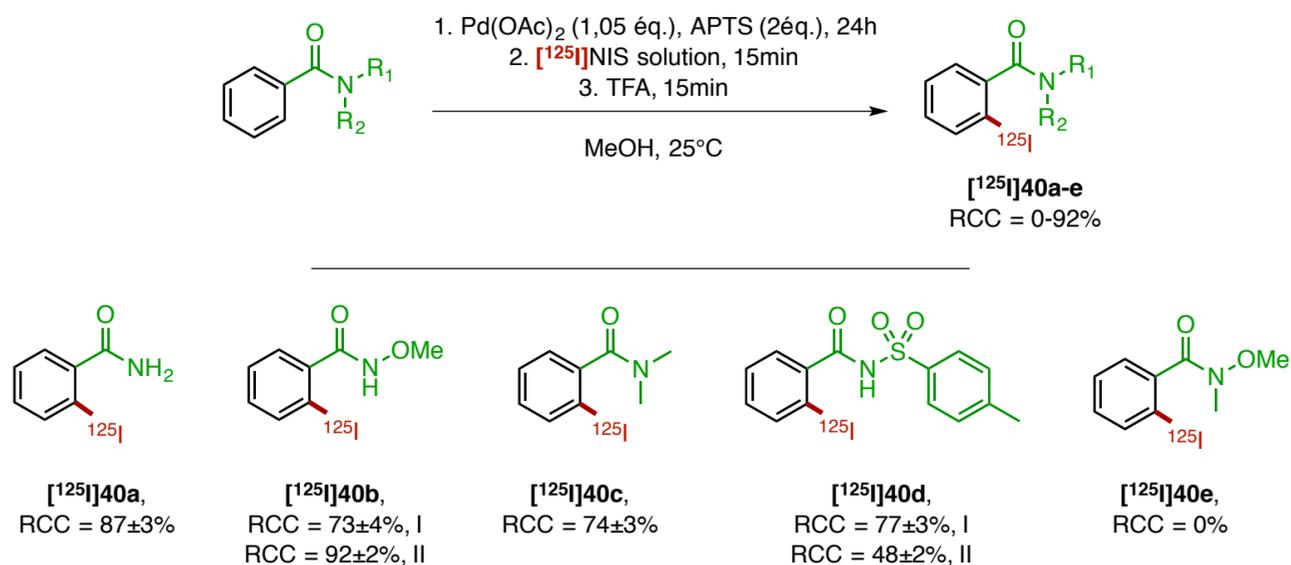


Figure 130 : Radioiodation de divers dérivés benzamides

Les résultats obtenus indiquent que la radioiodation par activation C-H fonctionne aussi bien sur les benzamides primaires, secondaires que tertiaires et de très bons RCCs ont été obtenus. Par ailleurs, les conditions I peuvent être appliquées pour l'*ortho* radioiodation de benzamides secondaires **40b**, **40d**. Néanmoins, la benzamide tertiaire portant le motif amide de Weinreb n'a pu être radiomarquée en raison de la difficulté à obtenir le palladacycle.

2.3. La famille « acide carboxylique »

Pour cette famille, l'acide benzoïque, phénylacétique et hydrocinnamique ont été sélectionnés en vue de tester la méthodologie de radioiodation. En appliquant l'ensemble des conditions I à IV sur ces molécules, aucun palladacycle n'a été observé. Cela s'explique par une coordination κ^2 du palladium favorisée par rapport à une coordination κ^1 empêchant le complexe de correctement s'orienter spatialement en vue d'une réaction d'activation C-H.^[195] Afin de privilégier une coordination κ^1 du palladium, un cation métallique (Na^+ , K^+ , Cs^+) capable de réaliser une coordination κ^2 est généralement utilisé. Cela favorise la coordination κ^1 du palladium, chélaté par un doublet électronique présent sur l'un des atomes d'oxygène grâce à un effet CIPE (Complex Induced Proximity Effect) (Figure 131).

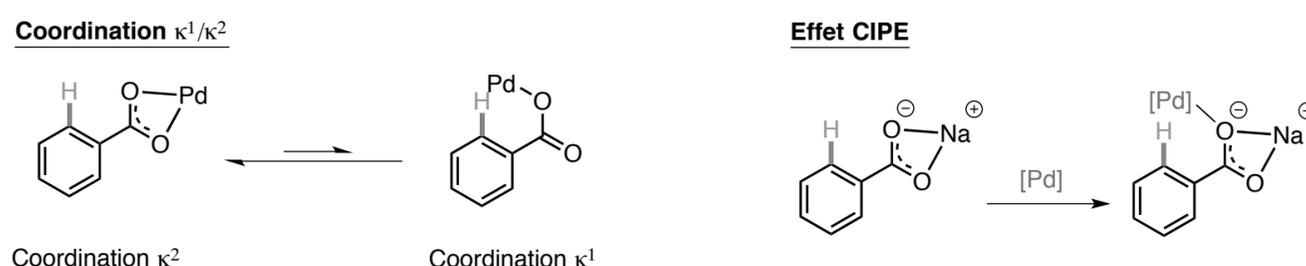


Figure 131 : Modes de coordination du palladium *ortho* dirigé par une fonction acide carboxylique

¹⁹⁵ Engle, K. M.; Mei, T.-S.; Wasa, M.; Yu, J.-Q. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 788–802.

En prenant en considération ces nouvelles données, les sels de sodium des différents acides présentés précédemment ont été préparés et la cartographie des acides carboxyliques a été effectuée (**Figure 132**).

	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	X	X	X
II	X	X	X
III	✓	✓	✓
IV	✓	✓	X

Figure 132 : Cartographie de la famille « acide carboxylique »

Pour cette famille, les conditions III se sont avérées être les plus adaptées pour réaliser l'*ortho* radioiodation par activation C-H. Les palladacycles à 5 et 6 chaînons (respectivement pour l'acide benzoïque et phénylacétique) ont pu être observés et conduire à la radioiodation. (**Figure 133**). L'absence de résultat pour l'acide hydrocinnamique peut s'expliquer par la difficulté à obtenir un palladacycle à 7 chaînons, thermodynamiquement non favorisé.

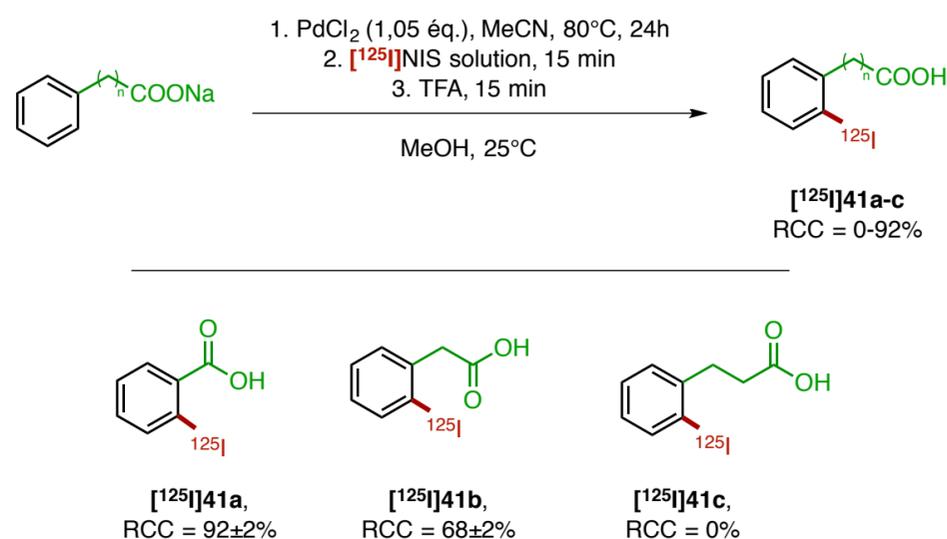


Figure 133 : Radioiodation de divers acides carboxylique.

L'application de cette technique a permis l'*ortho* radioiodation de l'acide benzoïque et phénylacétique avec de très bons RCCs (92% et 68% respectivement). Aucun résultat n'a cependant pu être obtenu pour l'acide hydrocinnamique même en changeant la nature du cation métallique (K⁺ au lieu de Na⁺).

2.4. La famille « nitrile »

Peu décrits dans la littérature, les nitriles peuvent néanmoins être utilisés comme groupement *ortho* directeur en exploitant le système π de la triple liaison C≡N. Deux substrats ont été

sélectionnés pour cette famille et de la même manière la cartographie de cette famille a été réalisée (Figure 134).

	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	X	X	X
II	✓	✓	✓
III	X	X	X
IV	✓	✓	X

Figure 134 : Cartographie de la famille « nitrile »

En appliquant les conditions II et IV, l'*ortho* iodation a pu être réalisée sur le benzonitrile et sur le phénylacétonitrile avant d'investiguer la radioiodation par activation C-H sur ces deux substrats (Figure 135).

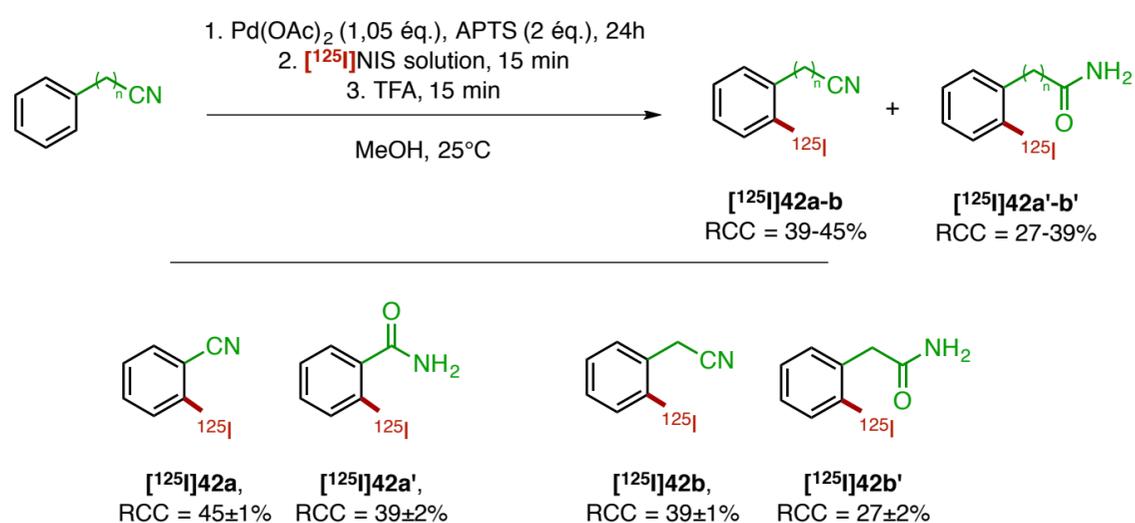


Figure 135 : Radioiodation de divers dérivés nitriles

Suivant cette technique, les deux produits ont pu être radioiodés mais les RCCs obtenus se sont avérés plus faibles que précédemment. Cela s'explique par la formation d'un sous-produit radioiodé au cours de la réaction qui, après analyse, se trouve être l'amide correspondante provenant de l'hydrolyse du groupement nitrile.

2.5. La famille « hétérocycle azoté »

Les hétérocycles azotés sont très fréquemment employés pour *ortho* fonctionnaliser un substrat par activation C-H. La cartographie de cette famille a été effectuée en s'appuyant sur divers hétérocycles azotés (pyridine, pyrimidine, pyrazole et benzo[*h*]quinoléine) (Figure 136).

	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	✓	✓	✗
II	✓	✓	✗
III	✓	✓	✗
IV	✓	✓	✗

Figure 136 : Cartographie de la famille « hétérocycle azoté »

Si l'ensemble des conditions I à IV a permis l'observation des palladacycles dont certaines structures RX ont été obtenues (Figure 137), la iodation froide par activation C-H a nécessité une phase d'optimisation. En s'appuyant sur les structures RX déterminées, plusieurs investigations ont été menées sur la phénylpyridine essentiellement.

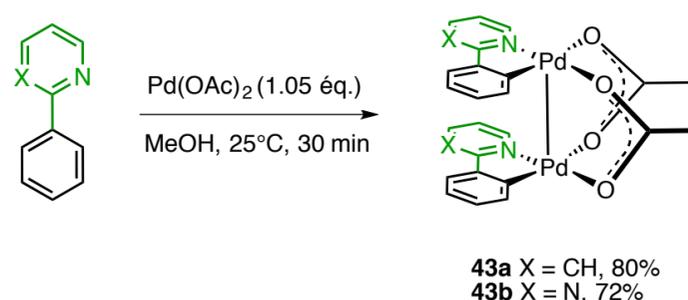


Figure 137 : Structures RX de palladacycles *ortho* dirigés par un hétérocycle azoté obtenue suivant les conditions I

L'analyse de ces cristaux montre la formation d'un complexe bimétallique lors de l'étape d'activation C-H, résultats déjà observés par d'autres équipes.^[169] Placés dans les conditions de iodation précédemment établies, ces complexes relativement stables n'ont pas permis d'obtenir le produit iodé. Les études réalisées dans la littérature sur l'activation C-H *ortho* dirigée par un hétérocycle azoté en quantité stœchiométrique ont montré la nécessité d'employer en fin de réaction un ligand L, tel que la pyridine, afin de favoriser l'élimination réductrice. Si l'ajout de pyridine a en effet abouti à l'observation du produit iodé en froid, le produit radiomarqué attendu n'a quant à lui jamais été observé (Figure 138).

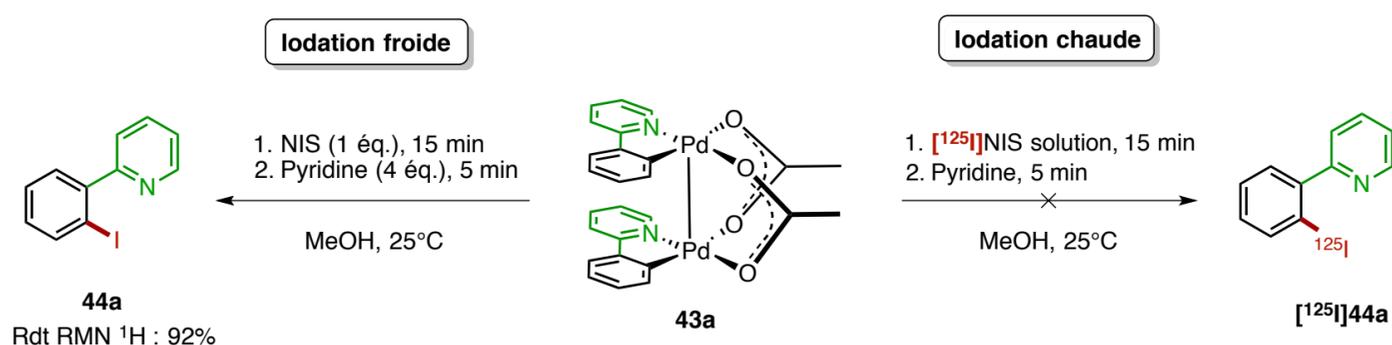


Figure 138 : Iodation à l'iode-125 et 127 par activation C-H de la phénylpyridine en quantité stœchiométrique

Contrairement à la version froide où le NIS est introduit en quantité stœchiométrique, le $[^{125}\text{I}]\text{NIS}$ généré *in situ* est introduit en large défaut par rapport au complexe bimétallique. Possédant deux sites réactifs par complexe, le défaut d'agent d'oxydation par rapport au palladacycle peut être une explication à l'absence de réactivité en radiochimie. C'est pourquoi, de nouveaux travaux se sont penchés sur le clivage du complexe bimétallique afin d'obtenir un complexe monométallique, plus réactif. Pour ce faire la pyridine est cette fois-ci introduite en solution avec le palladacycle avant d'être engagée sur la solution de $[^{125}\text{I}]\text{NIS}$. Comme précédemment, le complexe métallique a conduit au produit iodé froid mais pas au produit radiomarqué (**Figure 139**).

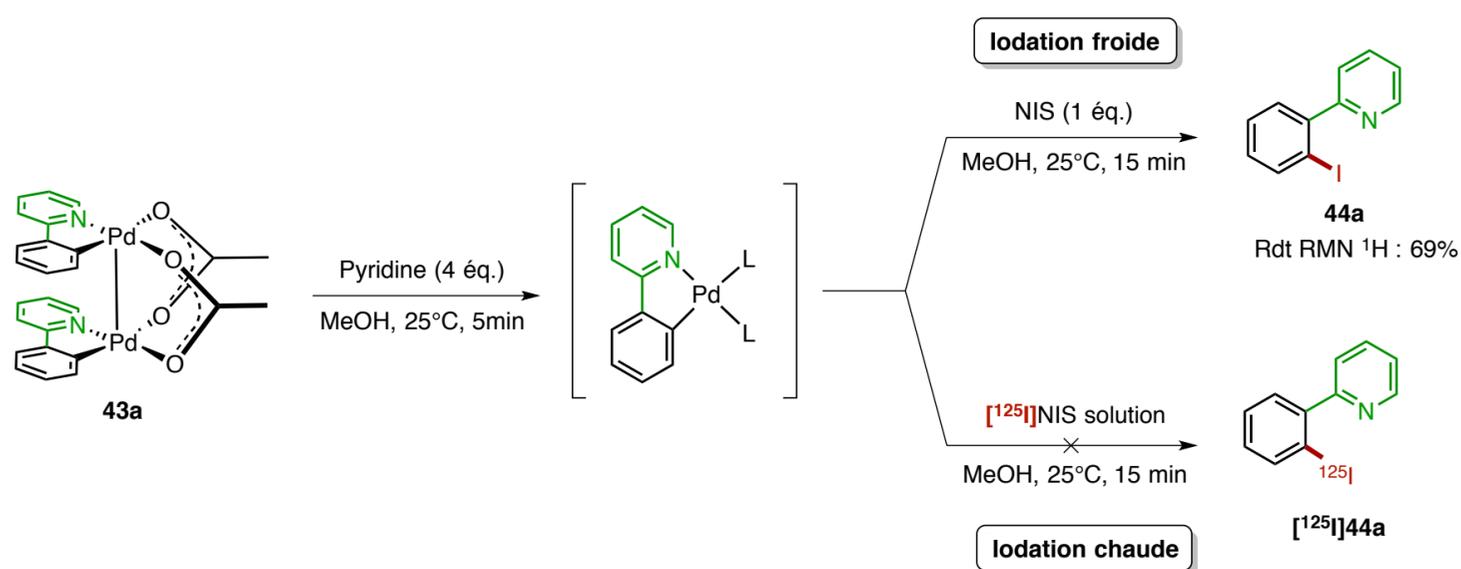


Figure 139 : Clivage du complexe bimétallique en complexe monométallique et iodation à l'iode-125 et 127

Bien que la génération de NIS à partir de NCS et NaI ait été réalisée en froid et aboutit à l'obtention du produit iodé **44a**, aucune de ces conditions expérimentales n'a pu être reproduite en radiochimie pour le moment.

2.6. La famille « amine »

2.6.1. Etude des benzylamines

Pour commencer l'étude de cette famille, les premiers travaux se sont focalisés sur le motif « benzylamine » dans l'optique d'observer un palladacycle à 5 chaînons. Ainsi la benzylamine, une benzylamine secondaire, la *N*-methylbenzylamine, et une benzylamine tertiaire, la *N,N*-diméthylbenzylamine ont tout d'abord été investiguées. (**Figure 140**).

	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	X	X	X
II	X	X	X
III	✓	X	X
IV	X	X	X

Figure 140 : Cartographie de la famille « amine » motif benzylamine

La formation du palladacycle s'est avérée être dépendante de la nature de l'amine. En s'appuyant sur la littérature, les conditions III (PdCl₂, CD₃CN, 80°C, 24h) ont permis l'observation du palladacycle sur la *N,N*-diméthylbenzylamine.^[196] L'application de ces conditions sur la benzylamine, ou la *N*-méthylbenzylamine a néanmoins conduit à un mélange complexe, difficilement analysable en RMN du proton. Cependant, l'application des conditions de iodation froide sur les trois composés cités n'a jamais abouti à l'obtention du produit attendu. L'hypothèse la plus probable pour justifier cette absence de réactivité provient de la capacité de l'azote à chélater le métal et ainsi à former de nouveaux complexes (Figure 141).

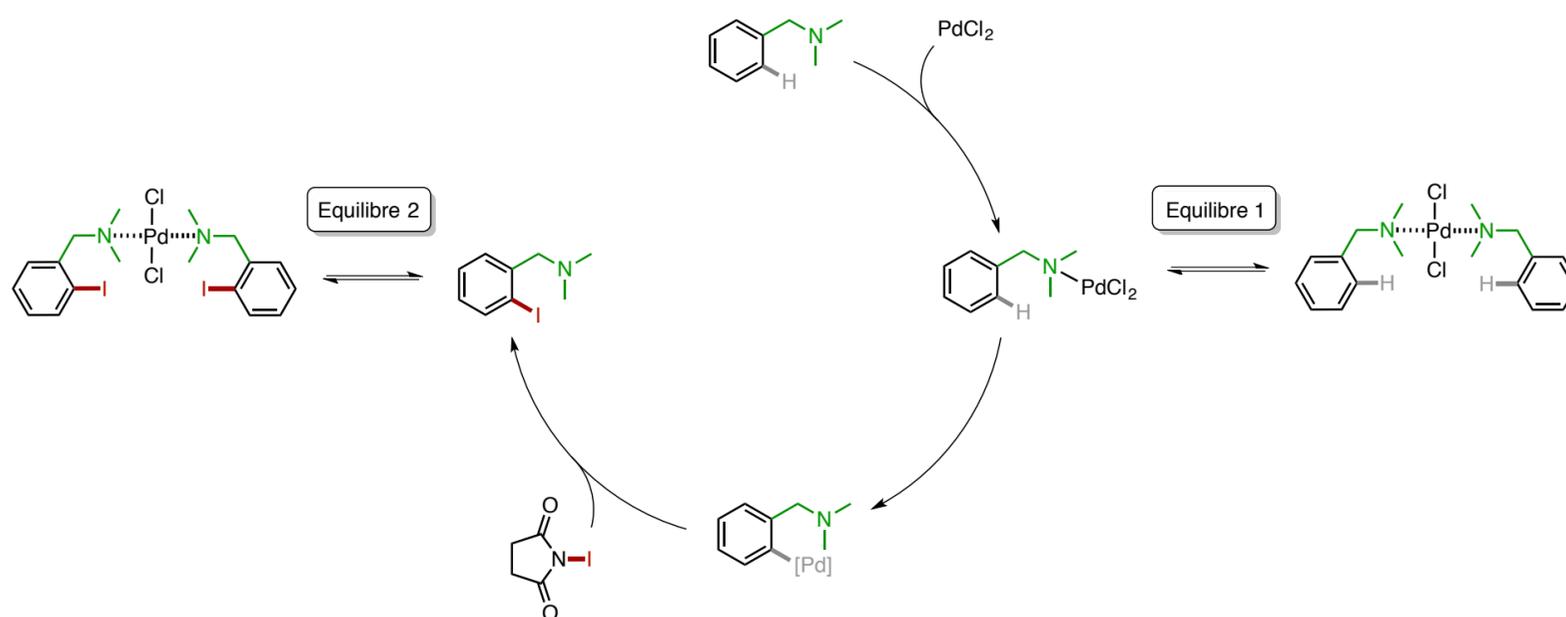


Figure 141 : Suggestion mécanistique pour la iodation de la *N,N*-diméthylbenzylamine^[197]

A la vue du mécanisme réactionnel en quantité stœchiométrique, deux équilibres peuvent être suggérés pour justifier l'absence de réactivité. Tout d'abord, une fois le palladium chélaté par l'azote du substrat, une nouvelle molécule peut venir à son tour se fixer sur le centre métallique pour former un nouveau complexe rendant l'activation C-H impossible (Equilibre 1). Dans ce cas de figure, la fonction amine du substrat joue le rôle de ligand L et non de groupement *ortho* directeur. Les études

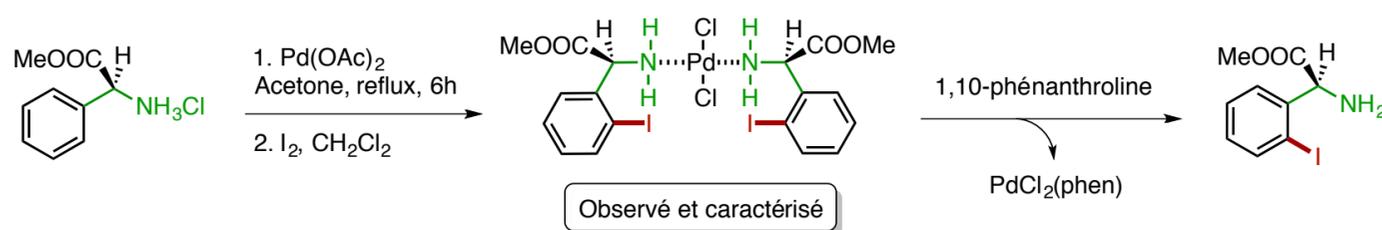
¹⁹⁶ Kantchev, E. A. B.; Ying, J. Y. *Organometallics* **2009**, *28*, 289–299.

¹⁹⁷ Smalley, A. P.; Gaunt, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 10632–10641.

¹⁹⁸ McNally, A.; Haffemayer, B.; Collins, B. S. L.; Gaunt, M. J. *Nature* **2014**, *510*, 129–133.

menées par le groupe de Gaunt ont notamment montré que l'utilisation d'une amine tertiaire encombrée favorisait le déplacement de l'équilibre vers le complexe monosubstitué, indispensable pour réaliser l'activation C-H.^[198] Cette analyse est en adéquation avec les résultats observés sur la série benzylamine où, seule la formation du palladacycle de la *N,N*-diméthylbenzylamine a clairement pu être établie par RMN ¹H. L'absence du produit *ortho* iodé, notamment pour la *N,N*-diméthylbenzylamine en fin de réaction, peut se justifier par la formation d'un second complexe, similaire au premier précédemment cité (Equilibre 2). Après insertion oxydante du NIS et élimination réductrice, le produit *ortho*-iodé est libéré et l'azote est de nouveau capable de chélater le centre métallique engendrant la formation du complexe 2. En s'inspirant de la littérature, l'ajout d'un ligand phosphoré, type phosphine,^[199] ou azoté, type 1,10-phénanthroline,^[200] a été investigué afin d'effectuer un échange de ligands L mais les résultats n'ont pas abouti à l'obtention du produit attendu (Figure 142).

Urriolabeitia *et al.* 2009



Urriolabeitia *et al.* 2013

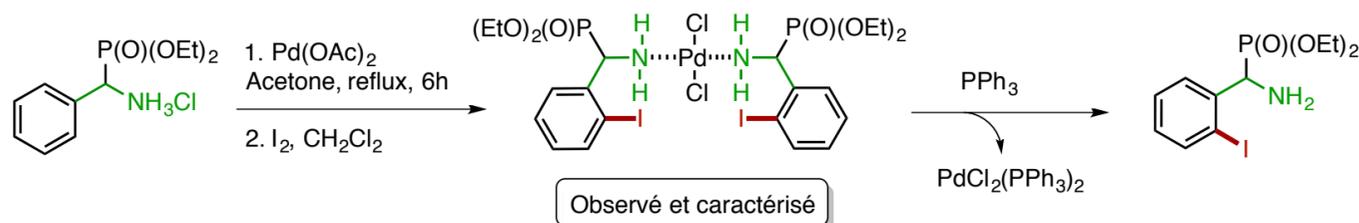


Figure 142 : Clivage des complexes dans la littérature par ajout d'un ligand L

Malgré de multiples tentatives en radiochimie, aucun chromatogramme n'a pu apporter la preuve de la radioiodation de la *N,N*-diméthylbenzylamine. Si la présence d'un produit radioiodé apparaît sur le radiochromatogramme, le temps de rétention n'est pas corrélable avec le temps de rétention de la référence froide présente sur le spectre chromatogramme UV (Figure 143).

¹⁹⁹ Nieto, S.; Arnau, P.; Serrano, E.; Navarro, R.; Soler, T.; Cativiela, C.; Urriolabeitia, E. P. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 11963–11975.

²⁰⁰ Laga, E.; García-Montero, A.; Sayago, F. J.; Soler, T.; Moncho, S.; Cativiela, C.; Martínez, M.; Urriolabeitia, E. P. *Chem. - A Eur. J.* **2013**, *19*, 17398–17412.

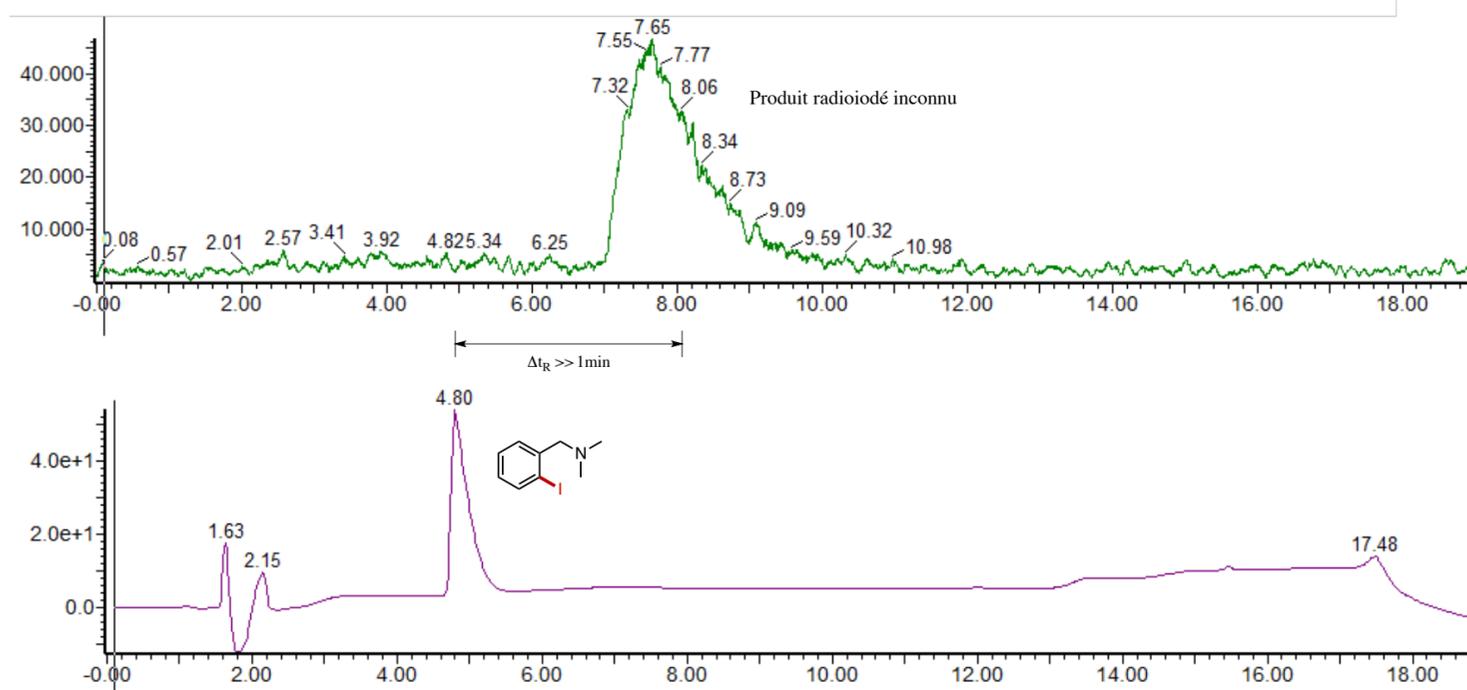


Figure 143 : Radiochromatogramme observé avec la *N,N*-diméthylbenzylamine

2.6.2. Etude sur le motif phényléthylamine

Le choix de ce motif n'est pas anodin. Tout d'abord, il permet d'étudier la possibilité d'observer ou non la formation d'un palladacycle à 6 chaînons mais surtout, cet enchaînement structural permettrait de radiomarquer des acides aminés, tel que la phénylalanine, éléments primordiaux au fonctionnement de l'organisme. La cartographie de ce motif a été effectuée suivant le même modèle que précédemment (Figure 144).

	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	X	X	X
II	✓	X	X
III	X	X	X
IV	X	X	X

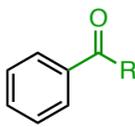
Figure 144 : Cartographie de la famille « amine » motif phényléthylamine

Les études RMN ¹H réalisées sur la formation du palladacycle ont indiqué la présence de ce dernier lorsque les conditions II étaient appliquées avec de bons rendements RMN calculés autour de 70%. Néanmoins, comme lors de l'étude réalisée sur les benzylamines, aucune trace du produit iodé n'a été observée sans doute dû, une nouvelle fois, à la complexation du produit sur le centre métallique. Plusieurs traitements ont une nouvelle fois été testés : l'ajout de nouveaux ligands azotés tels que la pyridine ou le TMEDA ou encore la basification du milieu par ajout d'une solution de soude mais sans succès.

Un screening de nouveaux ligands et de nouvelles conditions expérimentales doit donc être effectué afin de pouvoir appliquer la technique d'*ortho* radioiodation en utilisant les amines comme groupement directeur.

2.7. La famille « carbonyle »

Cette septième famille s'est concentrée sur 3 fonctions chimiques différentes (cétone, aldéhyde et ester) retrouvées respectivement sur l'acétophénone, le benzaldéhyde ainsi que le benzoate de méthyle (Figure 145).



	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	X	X	X
II	X	X	X
III	X	X	X
IV	X	X	X

Figure 145 : Cartographie de la famille « carbonyle »

L'application des 4 conditions expérimentales n'a jamais abouti à la formation du palladacycle. Si certains travaux ont décrits l'utilisation de ces groupements directeurs au moyen de conditions rudes^[201] ou par ajout d'un superacide,^[202] l'emploi d'un ligand azoté afin de générer *in situ* l'imine correspondante est la technique habituellement rencontrée pour diriger la réaction d'activation C-H. De cette manière, divers dérivés acétophénones,^[203] ou benzaldéhydes^[204] ont été *ortho* fonctionnalisés. Les travaux autour de cette famille doivent donc s'orienter vers la sélection de différents composés aminés afin de réaliser des expériences de radioiodation sur ces dérivés.

2.8. Les autres groupements directeurs testés

Durant cette étude, plusieurs autres groupements directeurs ont été testés. Par exemple, l'*ortho* radioiodation dirigée par des dérivés soufrés tels que le thiophène et la fonction thioamide a été investiguée mais aucune trace de palladacycle n'a été détectée après application des 4 conditions (Figure 146).

²⁰¹ Gandeepan, P.; Parthasarathy, K.; Cheng, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8569–8571.

²⁰² Sun, X.; Shan, G.; Sun, Y.; Rao, Y. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52*, 4440–4444.

²⁰³ Wang, J.; Dong, C.; Wu, L.; Xu, M.; Lin, J.; Wei, K. *Adv. Synth. Catal.* **2018**. 10.1002/adsc.201

²⁰⁴ Chen, X.-Y.; Ozturk, S.; Sorensen, E. *J. Org. Lett.* **2017**, *19*, 6280–6283.

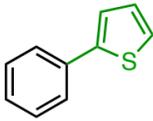
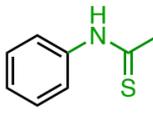
							
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I		PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	0	-	-	I	0	-	-
II	0	-	-	II	0	-	-
III	0	-	-	III	-	-	-
IV	0	-	-	IV	-	-	-

Figure 146 : Cartographie des groupements directeurs soufrés testés

D'autres groupements directeurs azotés tels que l'oxazoline ou l'azobenzène ont aussi été testés. En utilisant les conditions II, la formation du palladacycle a été observé avec de très bons rendement RMN ¹H (quantitatif et 72% respectivement) et le produit iodé a aussi été obtenu (21% et 32% respectivement). Néanmoins le radiomarquage n'a, pour le moment, jamais fonctionné. A la vue des structures testées, il est probable d'envisager un comportement similaire à la 2-phénylpyridine précédemment étudiée (Chapitre 4, § 2.5) (Figure 147).

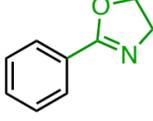
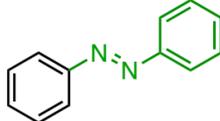
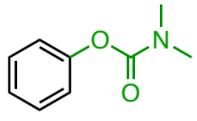
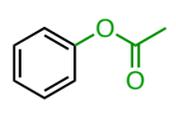
							
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I		PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	0	-	-	I	0	-	-
II	100	21	0	II	72	32	0
III	0	-	-	III	0	-	-
IV	0	-	-	IV	0	-	-

Figure 147 : Cartographie de différents groupements azotés

La chélation du centre métallique par une fonction carbonylée pour diriger la réaction d'activation C-H a de nouveau été explorée en se basant cette fois-ci sur les fonctions diméthylcarbamate et acetate. Seule la première citée a donné lieu a des résultats positifs pour la formation du palladacycle (85%) et du produit iodé (75%) mais le produit radiomarké n'a pu être observé. Les études menées sur l'*ortho* fonctionnalisation dirigée par ces fonctions chimiques après activation C-H ont montré la nécessité d'ajouter un superacide, en l'occurrence l'acide triflique.^[205] Cet additif, déjà suggéré pour les travaux réalisés sur les carbonyles, pourrait permettre de la même manière, l'*ortho* fonctionnalisation *via* la fonction sulfonamide où l'application des quatre conditions expérimentales n'a jamais abouti à l'observation du palladacycle (Figure 148).

²⁰⁵ Xiao, B.; Fu, Y.; Xu, J.; Gong, T.-J.; Dai, J.-J.; Yi, J.; Liu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 468–469.

			
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	0	-	-
II	0	-	-
III	0	-	-
IV	85	75	0

			
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	0	-	-
II	0	-	-
III	0	-	-
IV	0	-	-

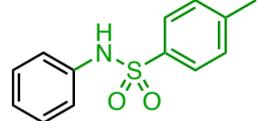
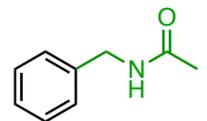
			
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	0	-	-
II	0	-	-
III	0	-	-
IV	0	-	-

Figure 148 : Cartographie de groupements directeurs par une liaison X=O (X = C ou S)

Enfin, les fonctions methylacetamide et methylsulfonamide ont été expérimentées. Si la première citée n'a pas apporté de résultats exploitables, la formation du palladacycle (75%) et du produit iodé (45%) a été possible à partir des conditions IV dans le cas de la methylsulfonamide. Cependant, une nouvelle fois le produit radioiodé n'a pas été observé (Figure 149).

			
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	0	-	-
II	0	-	-
III	0	-	-
IV	0	-	-

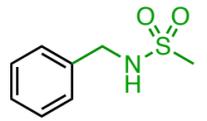
			
	PdC	¹²⁷ I	¹²⁵ I
I	0	-	-
II	0	-	-
III	0	-	-
IV	75	45	0

Figure 149 : Cartographie des groupements methylacetamide et methylsulfonamide

En partant de 4 conditions expérimentales pour la formation des palladacycles, une quarantaine de groupements directeurs ont donc été explorés pour appliquer la méthodologie de radioiodation par activation C-H. A l'heure actuelle, une quinzaine de groupements directeurs issus de diverses familles ont permis l'*ortho* radioiodation. Ce nombre est amené à augmenter après résolution de certains problèmes mécanistiques, en cherchant de nouvelles conditions expérimentales pour la formation du palladacycle, ou en encore en continuant l'étude sur de nouveaux groupements directeurs. Néanmoins, avec les données obtenues par cette étude, il est possible d'élargir la liste des molécules biologiquement actives possédant d'autres groupements directeurs et notamment d'étudier la faisabilité de cette méthodologie de radiomarquage aux molécules développées dans la première partie de ce manuscrit.

3. Application de la méthodologie à diverses molécules biologiquement actives

3.1. Application aux ligands 5-HT₄ développés au laboratoire

3.1.1. Approche envisagée

En amont des travaux réalisés sur l'*ortho* radioiodation par activation C-H, une nouvelle famille de ligands iodés, basée sur le même modèle que l'étude de pharmacomodulation réalisée, a été synthétisée. Précédemment introduit en position 7 du noyau pyrazino[2,3-*c*]quinoline, l'atome d'iode a cette fois-ci été ajouté en position 10 de ce système tricyclique, position non explorée en raison des difficultés de synthèse et qu'il serait possible d'atteindre par activation C-H dirigée par l'azote en position 1 (**Figure 150**).

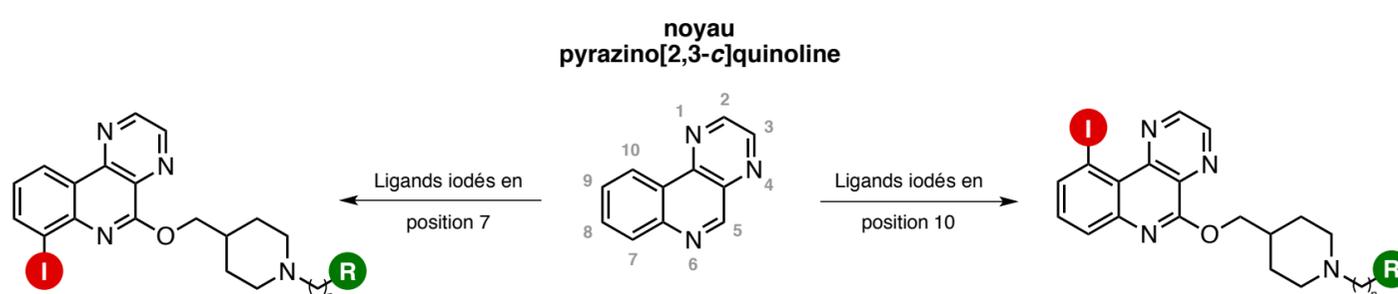


Figure 150 : Familles de ligands iodées 5-HT₄ synthétisées à partir du noyau pyrazino[2,3-*c*]quinoline

Afin d'étudier l'impact de l'atome d'iode en position 10 sur l'affinité envers le récepteur, trois nouveaux ligands ont dans un premier temps été synthétisés.

3.1.2. Synthèse et évaluation biologique des ligands ciblés

Comme lors des deux premières études sur la synthèse d'agents diagnostiques pour l'imagerie TEMP et l'imagerie par fluorescence, la première étape consiste à obtenir le précurseur **48** (**Figure 151**).

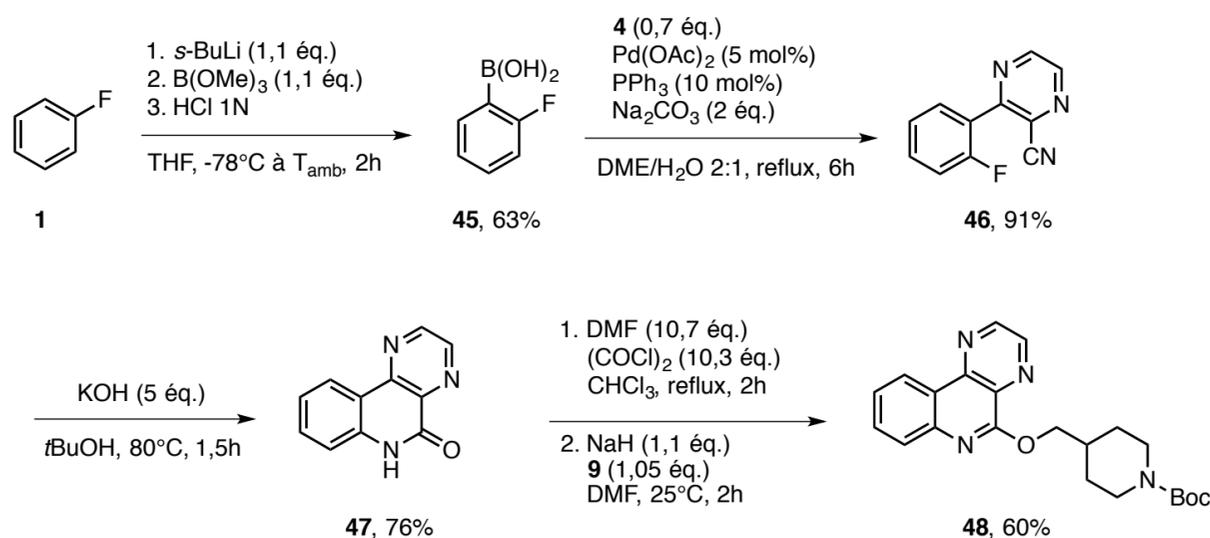


Figure 151 : Synthèse du composé **48**

L'acide boronique **45**, obtenu après *ortho* borylation du fluorobenzène, est engagé dans un couplage de type Suzuki-Miyaura en présence de la 3-chloro-2-cyanopyrazine **4**. Après cyclisation du

composé **46**, le précurseur **48** est finalement obtenu après une séquence de chlorodeshydroxylation du lactame **47** et substitution nucléophile aromatique de la pipéridine **9**. L'introduction de l'atome d'iode en position 10 a ensuite été réalisée par activation C-H en condition stœchiométrique sur le précurseur **48**. En s'inspirant de la littérature,^[182] le palladacycle **49** a été isolé et une structure RX a été obtenue (**Figure 152**).

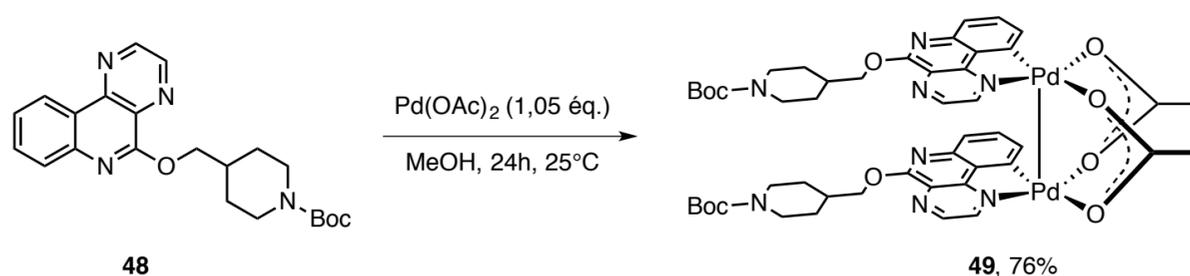


Figure 152 : Structure du palladacycle **49**

Comme pour la phenylpyridine et la phenylpyrimidine, un complexe bimétallique a été obtenu avec un rendement de 76%. La iodation en position 10 du squelette tricyclique a été ensuite évaluée par ajout de NIS dans une solution de palladacycle et le produit attendu a été observé avec un rendement RMN ¹H de 90% (**Figure 153**).

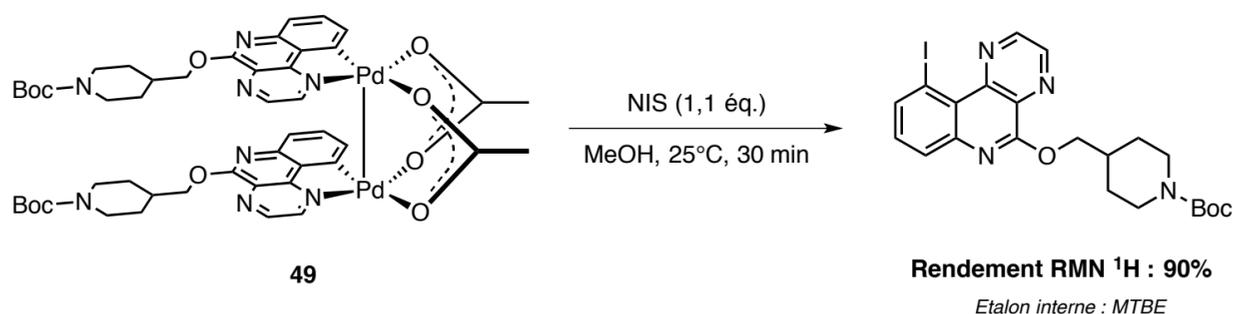


Figure 153 : Iodation en position 10 du système tricyclique par activation C-H

Fort de ces résultats, un premier ligand a été synthétisé en introduisant une chaîne *N*-(2-ethyl)methanesulfonamide sur la pipéridine de la même manière que précédemment (Chapitre 2, § 1.4.2). Après iodation du palladacycle, le groupement protecteur présent sur la pipéridine est clivé par traitement acide. L'azote est ensuite substitué par une chaîne *N*-ethylphtalimide puis après une nouvelle déprotection afin de libérer l'amine primaire, la fonction sulfonamide est obtenue par ajout de chlorure de mesyle (**Figure 154**).

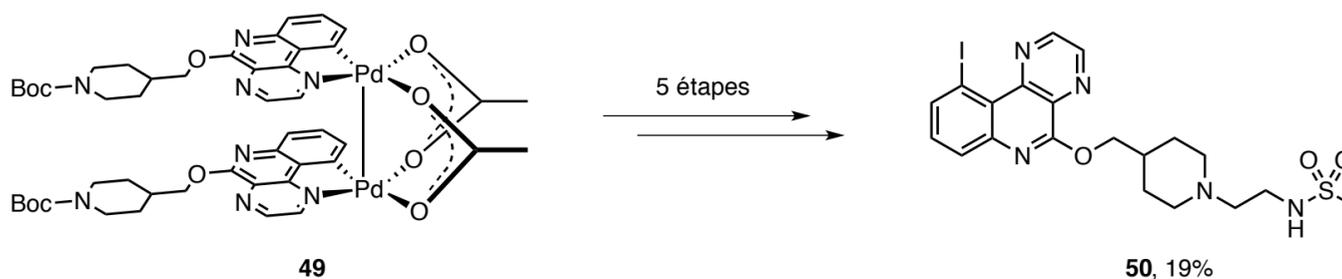


Figure 154 : Synthèse du ligand **50**

Le ligand **50** a été isolé avec un rendement global de 19% sur 5 étapes et a ensuite été évalué biologiquement. Les résultats se sont avérés nettement moins bons que ceux précédemment obtenus (Chapitre 2, § 1.5.2) (**Tableau 9**).

Ligand	% inh (10^{-6} M/ 10^{-8} M)	Ki(5-HT _{4b})
50	100/35	118 ± 20 nM

Tableau 9 : Résultats biologique du ligand 50

En effet, la constante d'affinité pour ce composé a été mesurée à 118 nM tandis que, pour la molécule équivalente **13e** iodée en position 7, la constante d'affinité est de 8,5 nM. Cette différence significative peut s'expliquer par la présence de l'atome d'halogène en position 7 du squelette tricyclique comme suggérée par la Relation Structure Activité issue des études de pharmacomodulation réalisées (Chapitre 1, § 3.4). C'est pourquoi, de nouvelles molécules ont été synthétisées à partir du précurseur **29** substitué par un atome de fluor en position 7. De la même manière, le palladacycle a été obtenu sous la forme d'un complexe bimétallique (**Figure 155**).

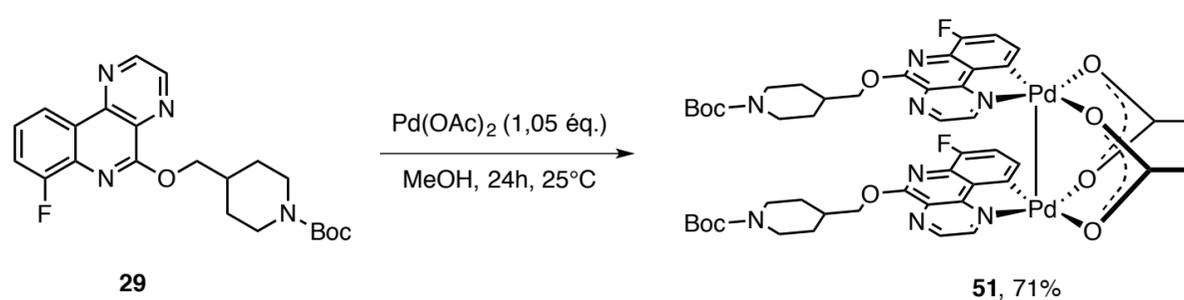


Figure 155 : Structure du palladacycle 51

Isolé avec un rendement de 71%, la iodation du complexe bimétallique **51** a ensuite été évaluée par RMN du proton et le produit iodé a été observé avec un rendement de 63%. Suivant le même modèle que le ligand **50**, un second ligand **52**, fonctionnalisé par un atome de fluor en position 7 a été synthétisé et isolé avec un rendement de 26% (**Figure 156**).

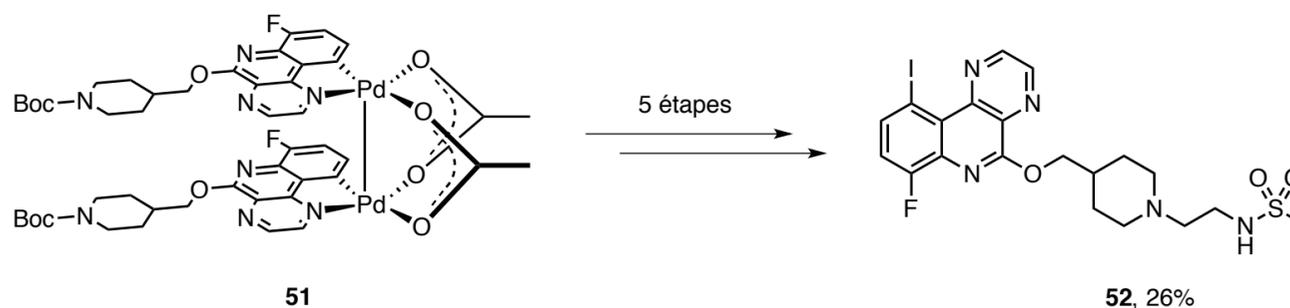


Figure 156 : Synthèse du ligand 52

Enfin, la iodation en position 10 du ligand jusqu'ici le plus affin parmi toutes les générations synthétisées, le **MR-26117**, a été réalisée. Après iodation au NIS du palladacycle **51**, le motif carbamate est clivé par traitement acide et l'azote est substitué par une chaîne propyl pour accéder au composé **53**, isolé avec un rendement de 69% (**Figure 157**).

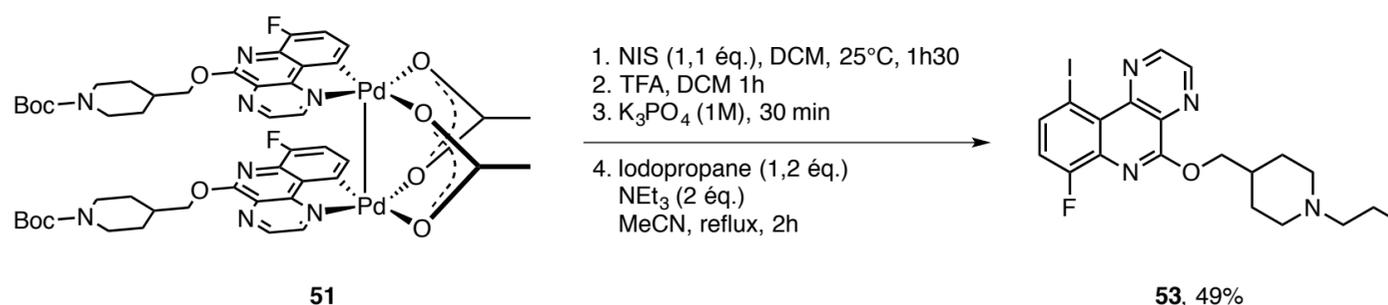


Figure 157 : Synthèse du ligand 53

Ces deux nouveaux ligands ont à leur tour été évalué biologiquement et malgré l'introduction de l'atome d'halogène en position 7 du système tricyclique, les résultats ne se sont guère montrés plus encourageants (**Tableau 10**).

Ligand	% inh (10^{-6} M/ 10^{-8} M)	Ki(5-HT _{4b})
52	100/84	34,9 ± 5,2 nM
53	100/54	93,7 ± 44 nM

Tableau 10: Evaluation biologique des ligands 52 et 53

Les constantes d'affinités, plus faibles, peuvent une nouvelle fois s'expliquer par la relation structure activité suggérée. Les études de docking réalisées ont notamment montré l'importance de l'atome d'azote en position 1, capable de générer une nouvelle interaction entre la molécule et le récepteur (Chapitre 1, § 3.2). L'introduction de l'atome d'iode, volumineux, en position 10 peut perturber cette interaction engendrant une diminution de l'affinité de ces molécules envers le récepteur. C'est pourquoi, seules trois molécules ont été synthétisées pour cette famille. Cependant, ces molécules conservent un intérêt pour l'application de la technique de radioiodation développée ainsi que pour l'obtention de systèmes tricycliques substitués en position 10 (**Figure 158**).

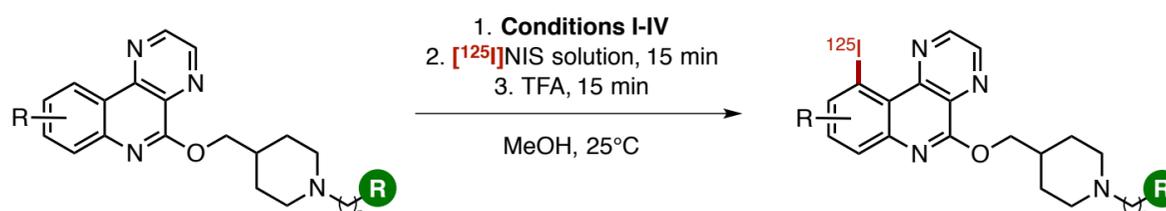


Figure 158 : Application de la méthodologie de radioiodation sur des ligands 5-HT_{4R}

3.1.3. Tentatives de radioiodation par activation C-H

Pour réaliser les tests de radioiodation par activation C-H, les analogues non iodés des trois molécules 50, 52 et 53 ont été synthétisés. A partir des précurseurs 29 et 48, la chaîne N-(2-ethyl)methanesulfonamide a été introduite en 4 étapes pour conduire aux composés 54 et 55 isolés avec des rendements respectifs de 65% et 61% (**Figure 159**).

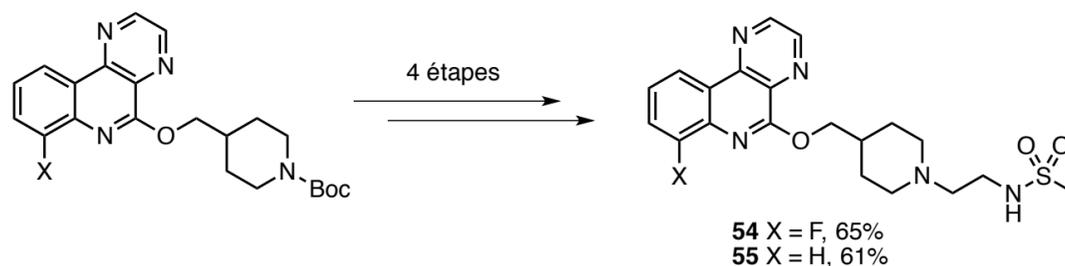


Figure 159 : Synthèse des ligands 54 et 55

Enfin de la même manière, le composé **MR-26117** a été synthétisé une nouvelle fois à partir du précurseur **29** suivant le même modèle précédemment décrit (**Figure 160**)

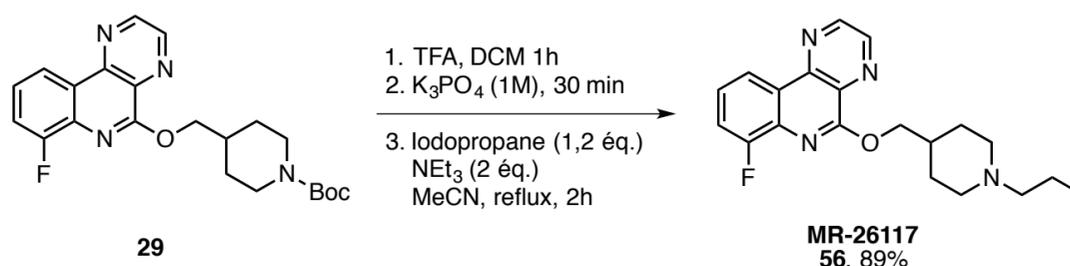


Figure 160 : Synthèse du ligand 56 (MR-26117)

Avant d'être utilisées pour réaliser les tests de radioiodation par activation C-H, ces trois molécules ont été testées biologiquement et les résultats ont montré qu'en l'absence de l'atome d'iode, l'affinité envers le récepteur était beaucoup plus importante (**Tableau 11**).

Ligand	% inh (10 ⁻⁶ M/10 ⁻⁸ M)	Ki(5-HT _{4b})
54	100/98	2,3 ± 0 nM
55	100/82	5,7 ± 1,2 nM
56	100/100	3,8 ± 2,1 nM

Tableau 11: Evaluation biologique des ligands 54, 55 et 56

Ces molécules synthétisées, la technique de radioiodation a pu être évaluée. Les premières expériences ont été réalisées sur le composé **56**, disponible en plus grande quantité. L'application des conditions I à IV pour la formation du palladacycle a conduit, pour chacune de ces conditions, à un mélange complexe non interprétable en RMN du proton. Néanmoins, pour des raisons de solubilité, les conditions IV semblent être plus appropriées pour cette famille de ligands. Après ajout de l'agent de iodation, les analyses effectuées n'ont pas permis d'affirmer avec certitude la formation du produit attendu. Si les déplacements chimiques semblent corrélés avec la référence en RMN du proton, l'analyse par chromatographie HPLC n'a pas montré de correspondance avec la référence précédemment synthétisée. La radioiodation par activation C-H a tout de même été investiguée mais aucune trace du produit marqué n'a été observée (**Figure 161**).

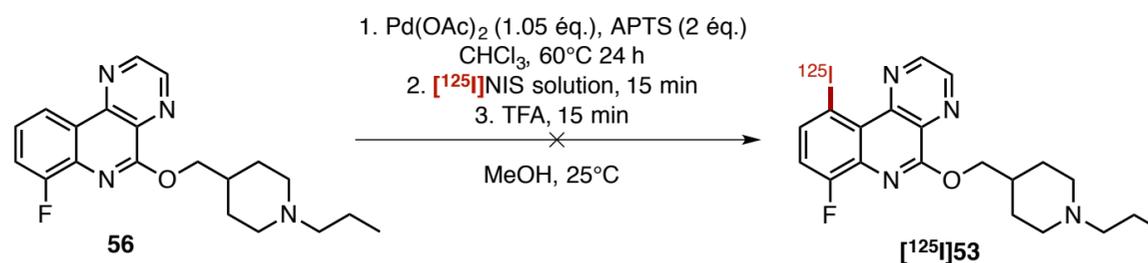


Figure 161 : Tentative de radioiodation par activation C-H sur le ligand 56

A la vue de ces résultats et en s'appuyant sur la cartographie des groupements directeurs précédemment réalisée, l'application de cette méthodologie de radiomarquage a été testée sur d'autres molécules d'intérêt biologique.

3.2. Evaluation sur d'autres molécules d'intérêt

3.2.1. Le Sorafénib

Le Sorafénib est un anticancéreux, inhibiteur multikinase, utilisé pour lutter contre les cancers du foie et du sein.^[206] Possédant une fonction chimique urée, le radiomarquage de cette molécule a donc été envisagé (Figure 162).

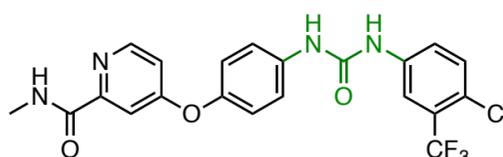
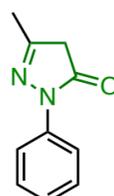


Figure 162 : Structure du Sorafénib

La formation du palladacycle a, dans un premier temps, été évalué. En s'appuyant sur la cartographie réalisée, la formation du palladacycle *ortho* dirigée par un groupement urée nécessite l'application des conditions II. En appliquant ces conditions, aucune trace de palladacycle n'a été observée. A l'heure actuelle, malgré une vingtaine d'expériences en ayant fait varier le nombre d'équivalents de palladium, la température ou en ayant ajouté un additif, la formation du palladacycle sur le Sorafénib n'a pu être clairement établie.

3.2.2. L'Edaravone

L'Edaravone est un agent neuroprotecteur possédant des propriétés antioxydantes et capable de capter des radicaux libres possédant un motif pyrazolin-5-one (Figure 163).^[207]



²⁰⁶ Hingorani, S. R.; Jacobetz, M. A.; Robertson, G. P.; Herlyn, M.; Tuveson, D. A.; Rong, H.; Chen, C.; Zhang, X.; Vincent, P.; McHugh, M.; Cao, Y.; Shujath, J.; Gawlak, S.; Eveleigh, D.; Rowley, B.; Liu, L.; Adnane, L.; Lynch, M.; Auclair, D.; Taylor, I.; Gedrich, R.; Voznesensky, A.; Riedl, B.; Post, L. E.; Bollag, G.; Trail, P. A. *Cancer Res.* **2003**, *63*, 5198–5202.

²⁰⁷ Yoshida, H.; Yanai, H.; Namiki, Y.; Fukatsu-Sasaki, K.; Furutani, N.; Tada, N. *CNS Drug Rev.* **2006**, *12*, 9–20.

Figure 163 : Structure de l'Edaravone

D'après la cartographie réalisée, les conditions II peuvent être appliquées pour réaliser l'*ortho* fonctionnalisation dirigée par un groupement pyrrolidone. En employant ces conditions, l'analyse RMN du proton a effectivement montré la disparition de la matière première et l'apparition de nouveaux produits. Cependant après ajout du NIS, le produit iodé n'a jamais été observé et malgré plusieurs autres tentatives, le produit attendu n'a pas pu être isolé.

3.2.3. Le Flutamide

Le Flutamide est un agent anti-androgène non stéroïdien utilisé notamment contre le cancer de la prostate constitué d'un motif anilide (Figure 164).^[208]

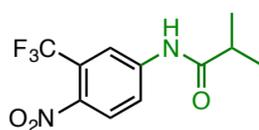


Figure 164 : Structure du Flutamide

En s'appuyant une nouvelle fois sur la cartographie réalisée, la formation du palladacycle a été évaluée en appliquant les conditions II. Une nouvelle fois, celui-ci n'a pas été observé malgré un temps de réaction plus long ou en augmentant la température. La gêne stérique ou encore la présence d'un cycle très appauvri peuvent d'être à l'origine du manque de réactivité.

3.2.4. L'Hippuran

L'Hippuran, ou l'*ortho*-iodohippurate, est un agent iodé utilisé pour faire de la scintigraphie rénale donc le squelette organique comporte une fonction benzamide (Figure 165).

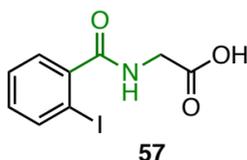


Figure 165 : Structure de l'Hippuran 57

En se reportant à l'étude précédemment réalisée, les conditions II peuvent être utilisées pour réaliser l'*ortho* fonctionnalisation par activation C-H. En partant de l'acide hippurique, analogue non iodé de l'Hippuran, le palladacycle a été observé et l'Hippuran a été obtenu après iodation avec un rendement RMN ¹H de 80%. Ces deux premières étapes validées, la radioiodation a finalement été évaluée. En appliquant les conditions de radioiodation, [¹²⁵I]Hippuran a été obtenu avec un RCC de 17% en mélange avec un autre produit radiomarqué non identifié très majoritaire (RCC = 62%) (Figure 166).

²⁰⁸ Barqawi, A.; Akduman, B.; Abouelfadel, Z.; Robischon, M.; Crawford, E. D. *BJU Int.* **2003**, *92*, 695–698.

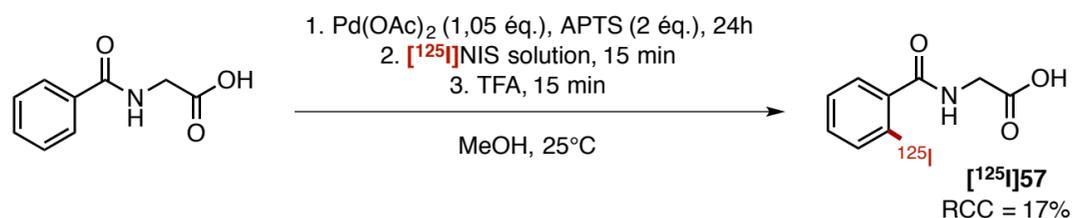


Figure 166 : *Ortho* radioiodation de l'acide hippurique par activation C-H

Plusieurs expériences ont été menées afin d'augmenter le RCC du produit attendu mais sans résultats concluants. En remplaçant le TFA par l'acide acétique, le RCC a chuté à 8% et en l'absence d'acide le produit n'a pas été observé. En substituant le méthanol par le *tert*-butanol dans l'optique d'éviter la formation la réaction d'estérification, le produit radiomarqué n'a pas été formé. Cette expérience est actuellement réalisée en froid afin de déterminer la nature du sous-produit observé.

L'application des conditions de radioiodation sur des molécules biologiquement actives plus complexes en s'inspirant de la cartographie réalisée s'est avérée délicate. Seule une molécule sur les cinq présentées a été radiomarquée. Plusieurs études doivent donc être menées afin d'optimiser les conditions de formation des différents palladacycles ainsi que la iodation de ces molécules.

Les travaux réalisés et les résultats obtenus ont démontré la faisabilité d'utiliser la réaction d'activation C-H comme nouvelle technique de radioiodation. En se basant sur des travaux antérieurs réalisés au laboratoire sur les *N*-tosylbenzamides, les expériences menées en radiochimie ont montré la capacité de cette réaction à incorporer l'isotope radioactif. L'application de cette méthodologie à des substrats appauvris ou enrichis en électrons et sur des molécules plus complexes a conduit à de très bons RCCs. L'exemplification de cette réaction à d'autres familles de fonctions chimiques a permis d'augmenter le nombre de groupements directeurs capable d'*ortho* diriger la réaction de radioiodation. Cependant, plusieurs travaux doivent être encore menés afin d'appliquer cette méthodologie à un plus grand nombres de molécules d'intérêts de structures complexes.

Conclusion et Perspectives

La conception d'agents diagnostiques pour la détection précoce de la Maladie d'Alzheimer est un enjeu majeur pour une meilleure compréhension de cette pathologie et aboutir au développement d'un traitement efficace. L'une des cibles incriminées dans cette maladie, le récepteur sérotoninergique 5-HT₄ a fait l'objet de nombreuses études et trois radiotraceurs ont été décrits dans la littérature. Cependant leur usage reste exclusivement limité à la recherche en raison notamment de la faible stabilité métabolique *in vivo*. Depuis une vingtaine d'années, les travaux réalisés au laboratoire ont vu se succéder trois générations de ligands basées sur un système tricyclique visant à interagir avec ce récepteur. En s'appuyant sur ces composés, quelques radioligands ont été successivement évalués chez la souris par Tomographie d'Emission MonoPhotonique (TEMP) et les résultats ont indiqué la capacité à marquer les zones riches en récepteurs 5-HT₄. Néanmoins le signal observé s'est avéré non spécifique du à une trop haute lipophilie.

Dans ce contexte, les premiers travaux synthétiques réalisés durant cette thèse se sont focalisés sur la conception de nouveaux agents iodés plus hydrophiles pour l'imagerie TEMP des récepteurs 5-HT₄. En s'inspirant de la littérature, plus d'une vingtaine de nouveaux ligands ont été obtenus après introduction de divers groupement hydrophiles de type alcool, amine ou soufre avant d'être évalués biologiquement. Ainsi, un nouveau composé hit issu de cette génération a été synthétisé (**Figure 167**).

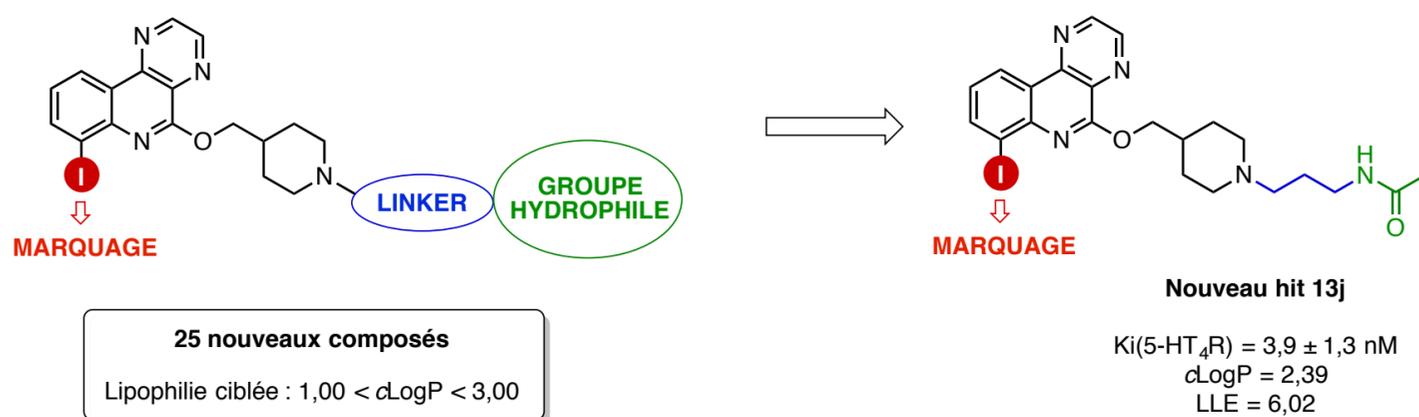


Figure 167 : Synthèse d'une nouvelle génération de ligands plus hydrophiles

A partir des résultats observés, cinq composés répondant au cahier des charges imposés pour le développement de radioligands ont été sélectionnés afin d'être radiomarqués à l'iode-125 par nos collaborateurs des Hôpitaux Universitaires de Genève. Pour cela, les analogues stannylés des molécules iodées ont été synthétisés par couplage afin d'introduire l'isotope radioactif par substitution électrophile aromatique. Les images obtenues *ex vivo* sur le rat ont montré une absence totale de spécificité du signal tandis que les expériences de déplacement de ligands réalisés *in vitro* sur l'hippocampe humain ont mis en avant la capacité du composé hit **13j** à déplacer le radioligand de référence [¹²⁵I]SB-207710. Les mesures de quantification ont par ailleurs montré de meilleurs résultats en présence du composé **13j** par rapport au ligand de référence SB-207710 (**Figure 168**).

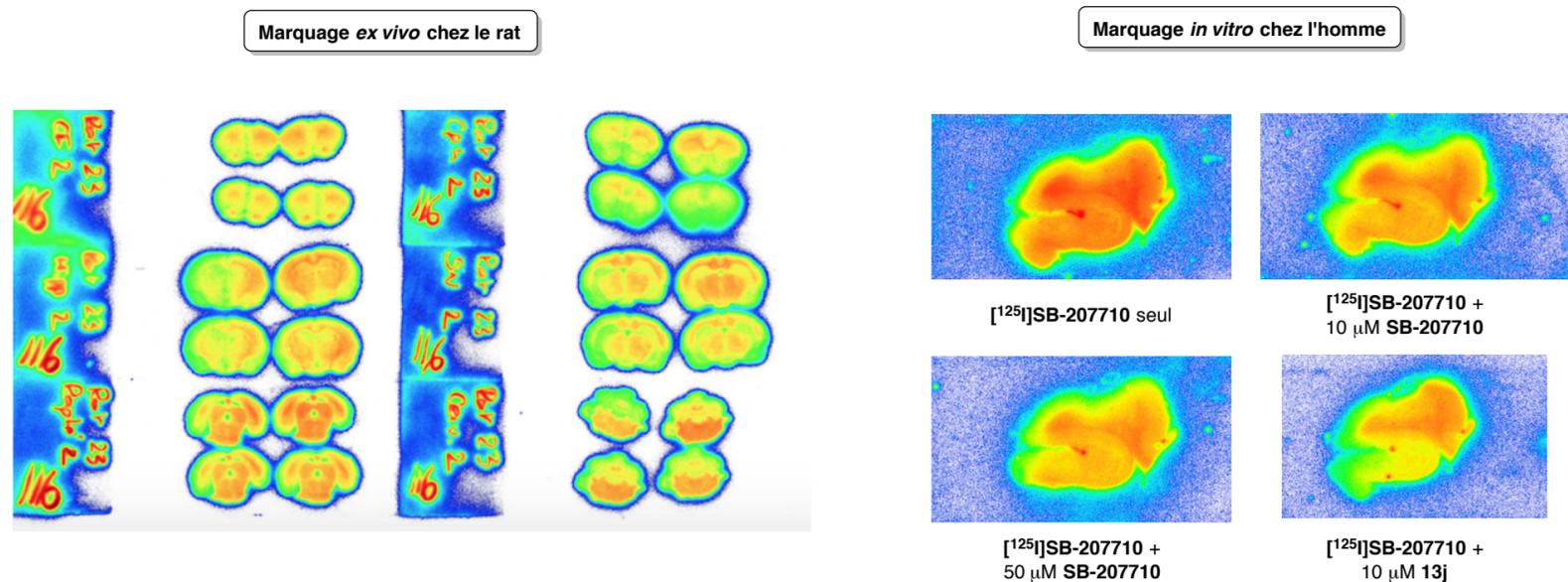


Figure 168 : Résultats des autoradiographies liées au ligand 13j

Plusieurs autres expériences d'imagerie sont actuellement en cours afin de comparer les résultats obtenus sur un hippocampe humain sain avec des patients atteints de la Maladie d'Alzheimer ou de la Maladie de Parkinson. D'autres études d'imagerie ont été envisagées comme l'imagerie TEP, plus sensible que l'imagerie TEMP et l'imagerie par fluorescence, dont quelques composés ont déjà été évalués. Une publication est actuellement en préparation pour être soumise dans un journal de Chimie Médicinale.

Suite aux difficultés rencontrées pour synthétiser les précurseurs stannylés nécessaires pour incorporer l'atome d'iode radioactif, l'investigation d'une nouvelle stratégie de radiomarquage par activation C-H a été menée. En s'appuyant sur des travaux précédemment réalisés au laboratoire sur les *N*-tosylbenzamides, la mise au point des conditions expérimentales pour la C-H radioiodation a été effectuée sur la 2-chloro-*N*-tosylbenzamide. Cette méthodologie a ensuite été appliquée à divers *N*-arylbzamidés plus ou moins complexes et au total, une quinzaine de molécules ont été radiomarquées suivant cette technique avec des RCCs oscillant entre 44% et 91% (Figure 169).

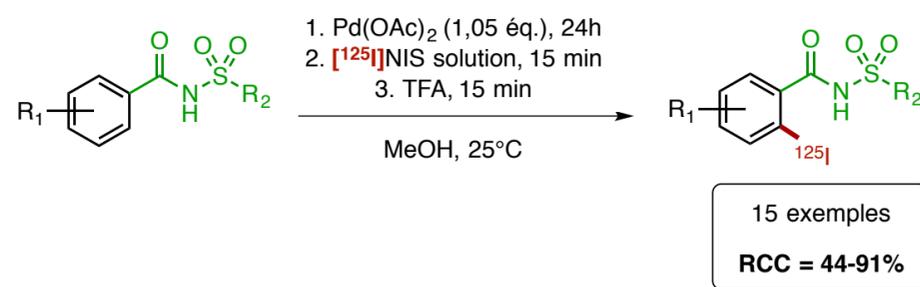


Figure 169 : Radioiodation par activation C-H de divers *N*-arylbzamidés

Enfin, cette méthodologie a été exemplifiée sur un large panel de groupements directeurs. A partir de 4 conditions expérimentales judicieusement sélectionnées pour la formation du palladacycle, la méthode de radioiodation par activation C-H a été évaluée. Ainsi pour chaque groupement directeur sélectionné, une cartographie a été réalisée et les différentes fonctions chimiques ont pu être classées par famille. Pour le moment, la radioiodation par activation C-H a été réalisé avec succès sur une

quinzaine de groupements directeurs (**Figure 170**). Ces travaux ont été récemment publiés dans le journal *Organic Letters*.

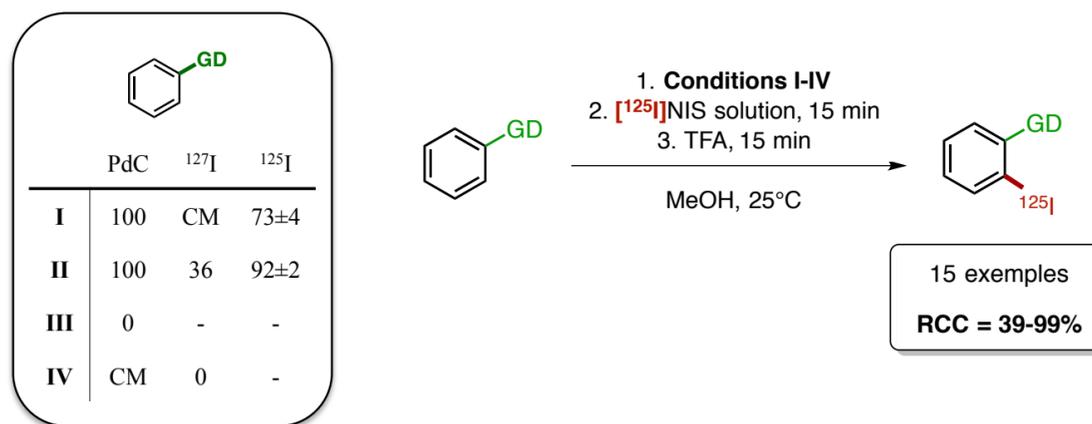


Figure 170 : Radioiodation de divers groupements directeurs par activation C-H

L'application de ces conditions expérimentales aux molécules d'intérêts plus complexes n'a pas apporté de résultats concluants. Plusieurs mises aux points doivent être encore effectuées afin d'accéder à un plus large panel de groupements directeurs et réussir à radiomarquer différentes molécules biologiquement actives.

Néanmoins, les premiers résultats, très encourageants, pourraient laisser envisager dans un avenir proche l'exemplification de cette technique de radioiodation à d'autres radioisotopes tels que la carbone-11, le fluor-18, utilisé pour l'imagerie TEP ou encore le tritium (**Figure 171**).

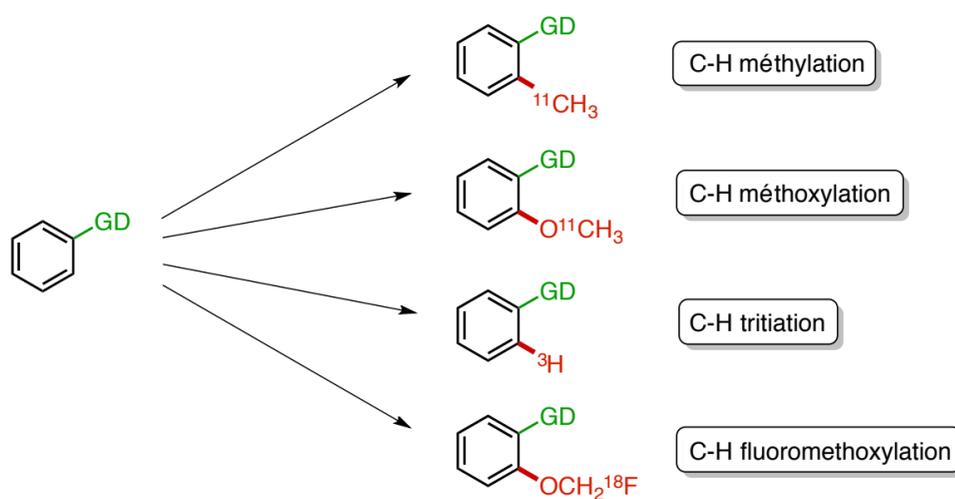


Figure 171 : Application de la méthode de radioiodation à d'autres radioisotopes

Experimental Section

MATERIALS AND METHODS

- Reactants and reagents

Chemical reagents were obtained from commercial sources and used without further purification, unless stated otherwise. Anhydrous solvents were distilled prior to use, with the exception of anhydrous DMF and THF which were purchased in sealed containers from commercial sources. Water or air sensitive reactions were performed under inert atmosphere, using dry solvents and all glassware were flame-dried under vacuum and flushed under N₂ prior to use. Column chromatography was performed on silica gel (60 Å, particle size 35-70 µm) or RP-18 (50 µm). All reported solvent mixture are volume measures.

- ¹H, ¹³C, ¹⁹F NMR spectrometer

¹H and ¹³C spectra were recorded, respectively, at 400 MHz and 100 MHz with a Jeol Lambda 400 MHz NMR spectrometer and a Bruker Advance 400 MHz spectrometer. ¹⁹F NMR spectra were recorded at 282 MHz with a Bruker Advance 400 spectrometer. CDCl₃ or DMSO-d₆ or CD₃OD or CD₃CN were used as solvents. ¹H and ¹³C chemical shift (δ) are quoted in parts per million (ppm) relative to residual solvent peaks as appropriate. ¹⁹F spectra were externally referenced to CFCl₃. The coupling constants (*J*) are given in Hertz (Hz). The NMR signals were designated as follows: br s (broad singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet), or a combination of the above.

- Melting Point and Infra-Red apparatus

Melting points were determined on a Kofler melting point apparatus or measured on a Stuart Automatic Melting point SMP-50 apparatus. IR spectra were recorded on KBr discs with Perkin Elmer BX FT-IR. Absorptions are reported in wavenumbers (cm⁻¹) and only peaks of interest are reported.

- Mass spectrometer

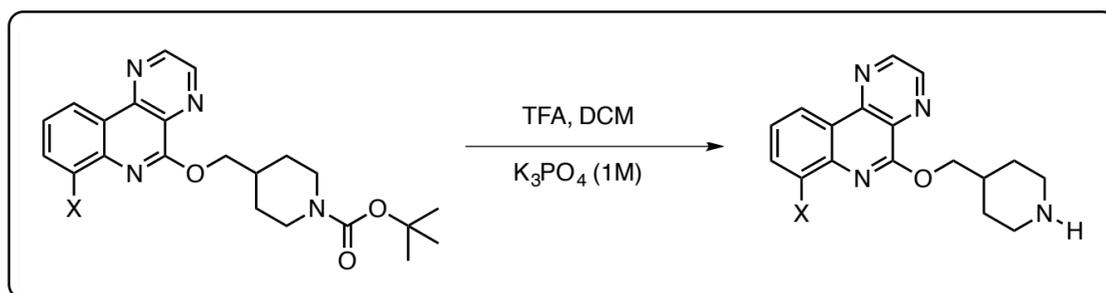
High resolution mass spectra were recorder on a Waters Acquity UPLC H-ClassXevo G2-XS spectrometer using positive electrospray ionization (ESI).

- Radiochemical experiments

Sodium [¹²⁵I]iodide was purchased from Perkin Elmer as none carrier added [¹²⁵I]sodium iodide in 1x10⁻⁵ M NaOH. In each case, this solution was diluted in water prior to use. HPLC analysis were performed with a Waters Alliance HPLC system equipped with an autosampler, a Waters 2996 Photodiode Array UV-detector and LB 500 HERM GAMMA radiodetector. Radiochemical conversions are determined by integration of the observed peaks on the radio-chromatogram. Identity of the radio-iodinated molecules was assessed by comparison of retention times of standards on the UV detector. The activities of [¹²⁵I]radiolabeled samples were determined using a radioisotope dose calibrator CRC-15R (Capintec) and standardized with a calibration source of ¹³³Ba (9.402 MBq from Eckert & Ziegler).

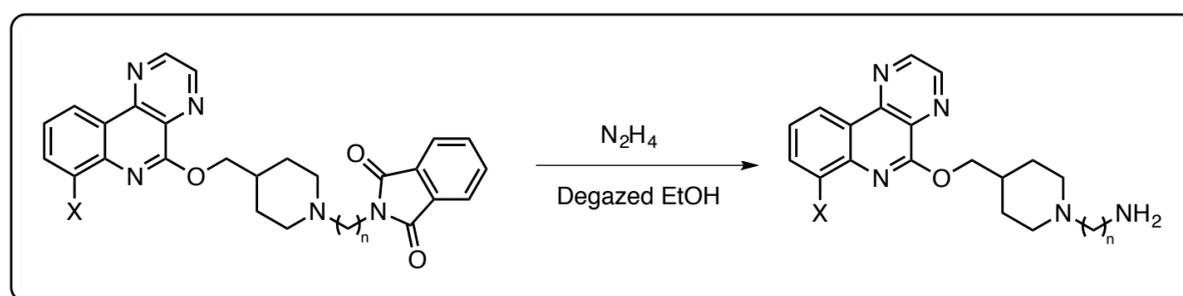
GENERAL PROCEDURES

General procedure A : Boc deprotection



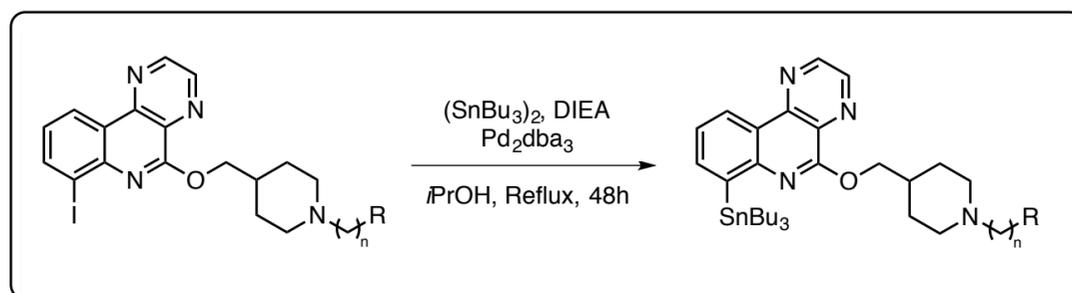
In a round bottom flask, the precursor **10**, **29** or **48** (**1.00 equiv.**), was dissolved in dichloromethane (20 mL/mmol of precursor). Trifluoroacetic acid (**15.0 equiv.**) was added and the solution was stirred at room temperature. After 2 hours the solvent was evaporated *in vacuo* and the crude product was dissolved in a saturated solution of K_3PO_4 (20 mL/mmol of precursor). The solution was stirred 30 min at room temperature and the resulting mixture was extracted three times with dichloromethane (15 mL/mmol or precursor). The combined organics layers were dried over $MgSO_4$, filtrated and evaporated to obtain the expected product without further purification.

General procedure B : Phthalimide deprotection



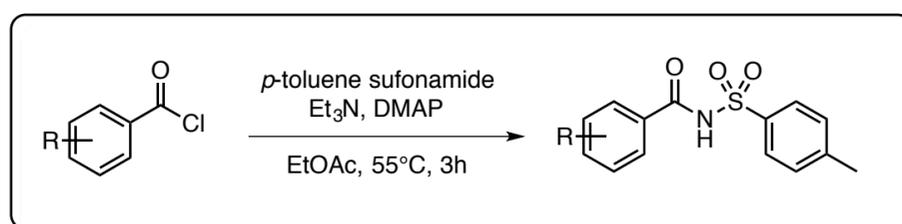
In a round bottom flask to a suspension of phthalimide (**1.00 equiv.**) in ethanol (15 mL/mmol of ligand), hydrazine monohydrate (**15.0 equiv.**) was added and the solution was stirred under reflux until the solubilisation of the mixture. The solution was cooled down to room temperature and was filtrated. The precipitate was washed with dichloromethane (10 mL/mmol of ligand) and the filtrate was evaporated. The crude mixture was dissolved one more time in dichloromethane (10 mL/mmol of ligand), was filtrated and the filtrate was dried over $MgSO_4$, filtrated and was evaporated in order to obtain the primary amine.

General procedure C : Tin derivative synthesis



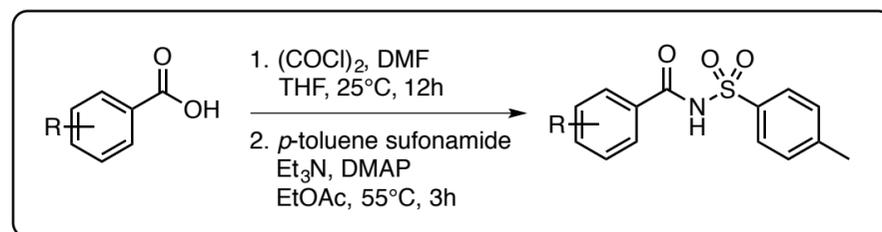
In a sealed tube placed under argon, the iodinated ligand (**1.00 equiv.**) and tris(benzylideneacetone)dipalladium(0) (**0.05 equiv.**) were dissolved in propan-2-ol (5 mL/mmol of ligand). Hexa-*n*-butylditin (**1.2 equiv.**) and *N,N*-diisopropylethylamine (**2.5 equiv.**) were added and the solution was stirred at 70°C for 48h. The solution was cooled down to room temperature, diluted with ethyl acetate (15 mL/mmol of ligand) and filtrated through a pad of celite[®]. The organic layer was washed with with water (15 mL/mmol of ligand), dried over MgSO₄, filtrated and concentrated.

General procedure D : *N*-tosylbenzamide synthesis starting from acyl chloride



A round-bottom flask placed under N₂ was filled with *p*-toluene sulfonamide (**1 equiv.**), EtOAc (2 mL/mmol), Et₃N (**2.5 equiv.**) and DMAP (**0.5 mol %**). A solution of acyl chloride (**1.1 equiv.**) in dried toluene (0.8 mL/mmol) was added via a syringe over 15 minutes. The mixture was stirred for 3 hours at 55 °C under N₂, cooled to room temperature and quenched with a 0.5 M aqueous HCl solution (3 mL/mmol). The resulting mixture was extracted with EtOAc (3 times). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel chromatography using AcOH/EtOAc/cyclohexane (5/15/85) as eluent.

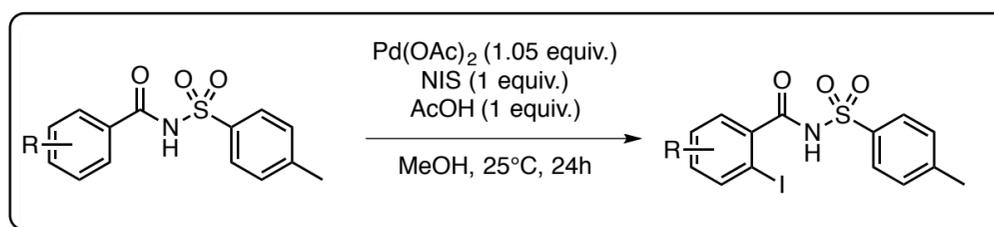
General procedure E : *N*-tosylbenzamide synthesis starting from carboxylic acid



In a round bottom flask placed under N₂, were introduced respectively carboxylic acid (**1 equiv.**) in dried THF (8 mL/mmol), a catalytic amount of DMF and oxalyl chloride (**2 equiv.**). The resulting mixture was stirred overnight. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure to obtain acyl chloride.

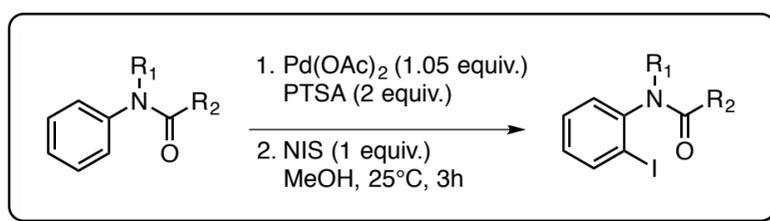
A round-bottom flask under N₂ was filled with *p*-toluene sulfonamide (**1 equiv.**), EtOAc (2 mL/mmol), Et₃N (**2.5 equiv.**) and DMAP (**0.5 mol %**). A solution of acyl chloride previously prepared (**1.2 equiv.**) in dried toluene (0.8 mL/mmol) was added via a syringe over 15 minutes. The mixture was stirred for 3 hours at 55 °C under N₂, cooled to room temperature and quenched with a 0.5 M aqueous HCl solution (3 mL/mmol). The resulting mixture was extracted with EtOAc (3 times). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel chromatography using AcOH/EtOAc/cyclohexane (5/15/85) as eluent.

General procedure F : Iodination of *N*-tosylbenzamide



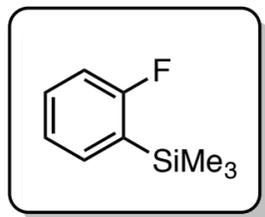
A round bottom flask was filled with *N*-tosylbenzamides (0.60 mmol), MeOH (8 mL) and Pd(OAc)₂ (150 mg, 0.66 mmol). The reaction mixture was stirred for 24 hours at room temperature. To the resulting mixture was added with AcOH (35 μL, 0.60 mmol), NIS (140 mg, 0.60 mmol) and MeOH (2 mL). The reaction mixture was stirred for 30 min at room temperature. The resulting mixture was diluted with water, quenched with saturated aqueous Na₂S₂O₃ solution (12 mL) and extracted with EtOAc (3x50 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure.

General procedure G : Iodination of anilide derivatives



A round bottom flask was filled with the anilide (**1.00 equiv.**), Pd(OAc)₂ (**1.05 equiv.**), PTSA (**2 equiv.**) and MeOH (6 mL/mmol). The reaction mixture was stirred for 2 hours at room temperature. NIS (**1.00 equiv.**) was added and the reaction mixture was stirred for 30 minutes at room temperature. The resulting mixture was diluted with water, quenched with saturated aqueous Na₂S₂O₃ solution and extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure.

2-(Fluorophenyl)trimethylsilane **2**



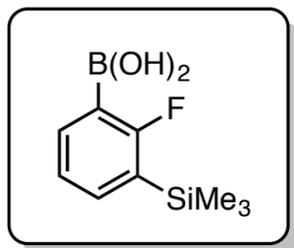
Chemical Formula: C₉H₁₃FSi
Molecular Weight: 168.29 g.mol⁻¹
Appearance: colorless oil
Yield: 87%

Starting from fluorobenzene (4.90 mL, 52.0 mmol), 2-(fluorophenyl)trimethylsilane was prepared according to the literature procedure and was obtained as a colorless oil (7.50 g, 44.6 mmol).^[89]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.42-7.31 (m, 2H), 7.12 (tt, J = 7.2, 0.9 Hz, 1H), 6.98 (td, J = 8.6, 0.9 Hz, 1H), 0.32 (d, J = 0.9 Hz, 9H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 167.6 (d, J = 241 Hz), 135.2 (d, J = 12 Hz), 131.3 (d, J = 8 Hz, 1H), 126.4 (d, J = 30 Hz), 123.9 (d, J = 3 Hz), 114.8 (d, J = 26 Hz), -0.9 (3C).

2-Fluoro-3-(trimethylsilyl)phenylboronic acid **3**



Chemical Formula: C₉H₁₄BFO₂Si

Molecular Weight: 212.10 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

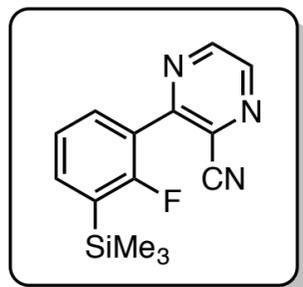
Yield: 78%

Starting from 2-(fluorophenyl)trimethylsilane **2** (7.00 g, 41.6 mmol), 2-Fluoro-3-(trimethylsilyl)phenylboronic acid was prepared according to the literature procedure and was obtained as a white solid (6.90 g, 32.4 mmol). Data are consistent with literature values. ^[87]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.84 (td, J = 7.2, 1.9 Hz, 1H), 7.52 (ddd, J = 6.0, 1.9, 1.9 Hz, 1H), 7.20 (td, J = 7.2, 1.5 Hz, 1H), 5.18 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 0.32 (d, J = 1.0 Hz, 9H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 172.9 (d, J = 237 Hz), 139.1 (d, J = 14 Hz), 138.4 (d, J = 8 Hz), 125.8 (d, J = 36 Hz), 124.4 (d, J = 3 Hz), -0.8 (3C) (Signal to the carbon bounded to the boron is missing).

2-Cyano-3-(2-fluoro-3-trimethylsilylphenyl)pyrazine **4**



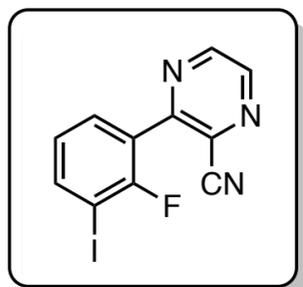
Chemical Formula: C₁₄H₁₄FN₃Si
Molecular Weight: 271.37 g.mol⁻¹
Appearance: yellow oil
Yield: 89%

In a degazed solution of DME/water 2:1 (150 mL), was introduced PPh₃ (570 mg, 2.18 mmol) and Pd(OAc)₂ (245 mg, 1.09 mmol). The solution was heated at 50°C for 15 minutes and sodium carbonate (4.60 g, 43.5 mmol), 2-fluoro-3-(trimethylsilyl)phenylboronic **3** (6.00 g, 28.3 mmol) and 3-chloropyrazine-2-carbonitrile (3.02 g, 21.8 mmol) were added. The solution was then refluxed for 2 hours. The resulting solution was filtrated on celite, the organic layer was extracted with ethyl acetate (50 mL) and was washed with water (50 mL). The aqueous layer was then extracted 3 times with ethyl acetate (3 x 50 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated to dryness. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/AcOEt (90/10) as eluent affording 2-cyano-3-(2-fluoro-3-trimethylsilylphenyl)pyrazine (5.26 g, 19.4 mmol) as a yellow oil. Data are consistent with literature values.^[88]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.87 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.69 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.64-7.59 (m, 2H), 7.34 (dd, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 1H), 0.38 (d, *J* = 1.0 Hz, 9H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 164.0 (d, *J* = 246 Hz), 154.2 (d, *J* = 1 Hz), 146.4, 143.3, 138.2 (d, *J* = 12 Hz), 132.5 (d, *J* = 2 Hz), 130.8 (d, *J* = 1 Hz), 127.9 (d, *J* = 32 Hz), 124.5 (d, *J* = 3 Hz), 122.2 (d, *J* = 18 Hz), 115.3 (d, *J* = 1 Hz), -1.1 (d, *J* = 2 Hz, 3C).

2-Cyano-3-(2-fluoro-3-iodophenyl)pyrazine **6**



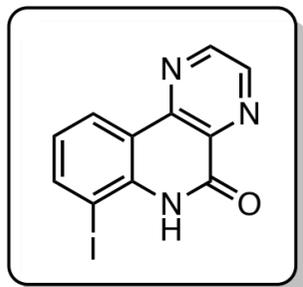
Chemical Formula: C₁₁H₅FIN₃
Molecular Weight: 325.08 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 80%

Starting from 2-cyano-3-(2-fluoro-3-trimethylsilylphenyl)pyrazine **5** (5.00 g, 18.4 mmol), 2-cyano-3-(2-fluoro-3-iodo)pyrazine was prepared according to the literature procedure and was obtained as a white solid (4.78 g, 14.7 mmol). Data are consistent with literature values.^[88]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.87 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.73 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.96 (ddd, *J* = 7.7, 6.3, 1.6 Hz, 1H), 7.57 (ddd, *J* = 7.7, 6.3, 1.6 Hz, 1H), 7.11 (td, ³*J* = 7.7 Hz, *J* = 0.5 Hz, 1H)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.7 (d, *J* = 250 Hz), 152.9 (d, *J* = 2 Hz), 146.7, 144.0, 142.3 (d, *J* = 2 Hz), 131.6 (d, *J* = 2 Hz), 130.5, 126.4 (d, *J* = 4 Hz), 123.5 (d, *J* = 16 Hz), 115.0, 82.5 (d, *J* = 26 Hz).

7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one **7**



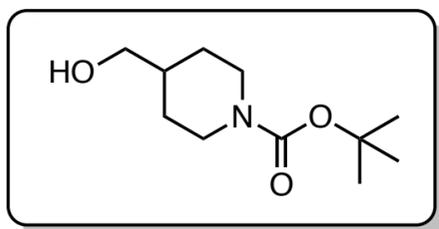
Chemical Formula: C₁₁H₆IN₃O
Molecular Weight: 323.09 g.mol⁻¹
Appearance: yellow solid
Yield: 84%

Starting from 2-Cyano-3-(2-fluoro-3-iodophenyl)pyrazine **6** (2.50 g, 7.74 mmol), 7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one was prepared according to the literature procedure and was obtained as a yellow solid (2.10 g, 6.50 mmol).^[88]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.93 (br s, 1H), 9.14 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 9.02 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.65 (dd, *J* = 1.4, 7.8 Hz, 1H), 8.18 (dd, *J* = 1.4, 7.8 Hz, 1H), 7.17 (dd, *J* = 7.8, 7.8 Hz, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 159.9, 149.4, 146.6, 146.4, 142.6, 137.9, 125.3, 125.1, 119.6, 70.2.

Tert-butyl-4-(hydroxymethyl)piperidine-1-carboxylate **9**



Chemical Formula: C₁₁H₂₁NO₃
Molecular Weight: 215.29 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 83%

In a round bottom flask were introduced ethyl isonipecotate (1.96 mL, 12.7 mmol) and di-*tert*-butyl dicarbonate (2.90 g, 13.3 mmol) in dichloromethane (40 mL). The solution was stirred at room temperature and the reaction was monitoring by TLC. After 2 hours the mixture was diluted with water (40 mL) and the aqueous layer was extracted several times with dichloromethane (3 x 40 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo* affording 1-*tert*-butyl-4-ethylpiperidine-1,4-dicarboxylate as a yellow oil.

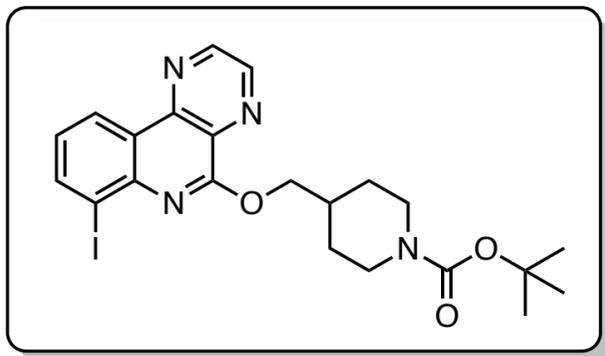
1-*Tert*-butyl-4-ethylpiperidine-1,4-dicarboxylate was diluted in dry THF (30 mL) and cooled to 0°C. Lithium alumine hydride (0.340 g, 8.90 mmol) was slowly added and the solution was stirred for 2 hours at 0°C. Water was carefully added (0.5 mL) and an aqueous solution of NaOH (1M) (1 mL) followed by water (1 mL) were added. The reaction mixture was warmed to room temperature and MgSO₄ was added. The solution was stirred 10 minutes and was filtrated and evaporated to dryness. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/EtOAc (100/0 to 70/30) as eluent affording the expected product (4.90 g, 10.5 mmol) as a white solid. Data are consistent with literature values.^[209]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.10 (m, 2H), 3.48 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.68 (m, 2H), 1.69 (m, 2H), 1.63 (m, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.12 (m, 2H). (Signal to the OH is missing).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 154.9, 79.4, 67.2, 43.7 (2C), 38.7, 28.6 (2C), 28.4 (3C).

²⁰⁹ Pisani, L.; Farina, R.; Catto, M.; Iacobazzi, R. M.; Nicolotti, O.; Cellamare, S.; Mangiatordi, G. F.; Denora, N.; Soto-Otero, R.; Siragusa, L.; Altomare, C. D.; Carotti, A. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 6791–6806.

Tert-butyl 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **10**



Chemical Formula: C₂₂H₂₅IN₄O₃
Molecular Weight: 520.37 g.mol⁻¹
Appearance: light orange solid
Yield: 65%

In a round bottom flask, oxalyl chloride (2.20 mL, 25.5 mmol) and DMF (2.0 mL, 26.4 mmol) were added to chloroform (20 mL) at 0°C and the solution was stirred during 3 hours at room temperature. 7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one **7** (800 mg, 2.47 mmol) was added to the mixture and the solution was refluxed for 2 hours. The resulting mixture was carefully hydrolysed with water and the pH was adjusted to 10 using an aqueous ammonia solution (28%). The resulting solution was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated affording the expected chlorimine.

In a round bottom flask, NaH (108 mg, 2.72 mmol) was added to a solution of *tert*-butyl-4-(hydroxymethyl)piperidine-1-carboxylate **9** (585 mg, 2.72 mmol) in dry DMF (30 mL) under N₂ at 0°C. The reaction mixture was stirred for 15 min, warmed to room temperature and was stirred for 15 min. The chlorimine previously obtained above was added and the reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Water (30 mL) was carefully added and the resulting mixture was extracted with ethyl acetate (3 x 30 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The crude product was then purified by silica gel chromatography using CH₂Cl₂/AcOEt (100/0 to 80/20) as eluent affording the expected product (835 mg, 1.61 mmol) as a light orange solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.09 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.91 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.35 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.32 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.72 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 4.26-4.07 (m, 2H), 2.85-2.70 (m, 2H), 2.49-2.36 (m, 1H), 2.00-1.93 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.46-1.34 (m, 2H).

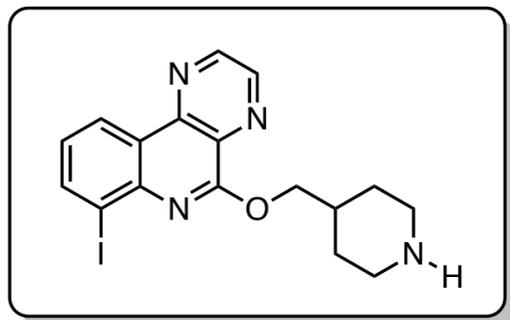
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.6, 155.0, 147.9, 145.9, 145.5, 143.8, 141.6, 131.1, 126.7, 124.8, 123.4, 100.7, 79.5, 72.4, 43.8 (2C), 35.6, 29.2 (2C), 28.6 (3C).

IR (KBr): ν = 2969, 2936, 1692, 1423, 1139, 1047 cm⁻¹.

MP: 174°C

HMRS/ESI: calculated for C₂₂H₂₅IN₄NaO₃ [M+Na]⁺ 543.0869, found 543.0870.

4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine **11**



Chemical Formula: C₁₇H₁₇IN₄O
Molecular Weight: 420.25 g.mol⁻¹
Appearance: yellow solid
Yield: 98%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **10** (50 mg, 0.10 mmol) and following the **general procedure A**. The expected compound was isolated as a yellow solid (39 mg, 0.09 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.04 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.97 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.84 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.30 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.26 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.68 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.18-3.09 (m, 2H), 2.74-2.60 (m, 2H), 2.42-2.30 (m, 1H), 1.99-1.88 (m, 3H), 1.45-1.33 (m, 2H).

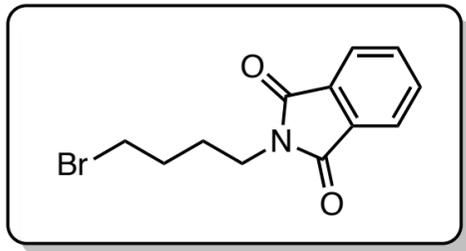
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.6, 147.8, 145.8, 145.4, 143.7, 141.4, 131.1, 126.5, 124.6, 123.2, 100.7, 73.0, 46.4 (2C), 35.7 (2C), 30.5.

IR (KBr): ν = 3435, 3392, 2910, 1592, 1452, 1349, 1178, 1045 cm⁻¹.

mp: 178°C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₇H₁₈IN₄O [M+H]⁺ 421.0525, found 421.0525.

2-(4-Bromobutyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **12**



Chemical Formula: C₁₂H₁₂BrNO₂

Molecular Weight: 282.14 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 92%

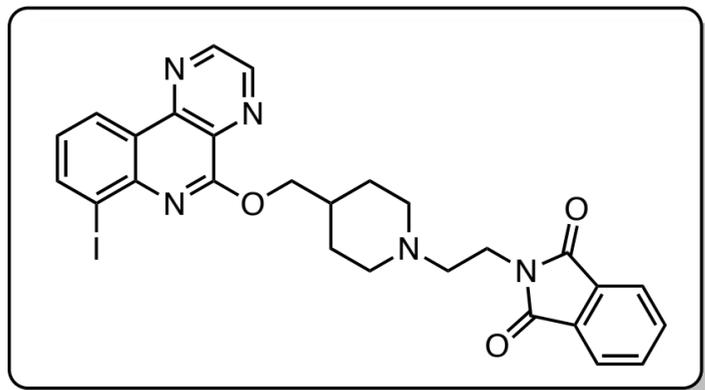
In a round bottom flask, phthalimide (2.00 g, 13.6 mmol), potassium carbonate (4.32 g, 40.8 mmol) and 1,4-dibromobutane (4.87 mL, 40.8 mmol) were dissolved in acetone (40 mL). The solution was refluxed overnight and cooled down to room temperature. The solution was evaporated and water (50 mL) was added. The solution was extracted with dichloromethane (3 x 50 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. Petroleum ether (20 mL) was added in the crude product and the mixture was stirred at 0°C until precipitation. The white precipitate was filtrated and washed with petroleum ether (2 x 20 mL) affording 2-(4-bromobutyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione (3.50 g, 12.5 mmol) as a white solid. Data are consistent with literature values.^[210]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.88 (m, 2H), 7.80 (m, 2H), 3.73 (t, ³J = 6.4 Hz, 2H), 3.44 (t, ³J = 6.7 Hz, 2H), 1.96-1.79 (m, 4H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.5 (2C), 134.1 (2C), 132.2 (2C), 123.4 (2C), 37.1, 33.0, 30.0, 27.4.

²¹⁰ Kong, X.; He, Z.; Zhang, Y.; Mu, L.; Liang, C.; Chen, B.; Jing, X.; Cammidge, A. N. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 764–767.

2-(3-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13a**



Chemical Formula: C₂₇H₂₄IN₅O₃
Molecular Weight: 593.43 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 85%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **10** (900 mg, 1.73 mmol) and following the **general procedure A**.

The crude product was dissolved in acetonitrile (50 mL) and *N*-(2-bromoethyl)phthalimide (526 mg, 2.08 mmol) and triethylamine (0.45 mL, 3.50 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 24 hours and the white precipitate formed was filtered, washed with acetonitrile (2 x 20 mL) affording the expected product without further purification as a white solid (875 mg, 1.47 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.33 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.87-7.81 (m, 2H), 7.73-7.68 (m, 2H), 7.29 (t, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 4.68 (d, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 3.84 (t, ³*J* = 7.0 Hz, 2H), 3.10-3.00 (m, 2H), 2.70-2.59 (m, 2H), 2.32-2.18 (m, 1H), 2.17-2.05 (m, 2H), 2.00-1.89 (m, 2H), 1.54-1.39 (m, 2H).

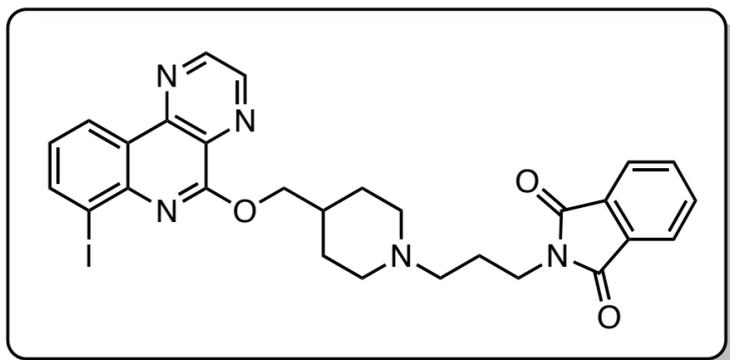
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.5 (2C), 158.6, 147.8, 145.9, 145.5, 143.9, 141.5, 134.0 (2C), 132.3 (2C), 131.1, 126.6, 124.7, 123.3, 123.3 (2C), 100.7, 72.9, 56.1, 53.5 (2C), 35.6, 35.1, 29.4 (2C).

IR (KBr): ν = 2939, 1714, 1592, 1431, 1393, 1329, 1177, 1046 cm⁻¹.

mp: 206-208 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₇H₂₅IN₅O₃ [M+H]⁺ 594.1008, found 594.1002.

2-(3-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13b**



Chemical Formula: C₂₈H₂₆IN₅O₃
Molecular Weight: 607.45 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 81%

Starting from *tert*-butyl 4-[[[(7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl]piperidine-1-carboxylate **10** (300 mg, 0.58 mmol) and following the **general procedure A**.

The crude product was dissolved in acetonitrile (20 mL) and *N*-(3-bromopropyl)phthalimide (185 mg, 0.70 mmol) and triethylamine (0.19 mL, 1.4 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 12 hours and the white precipitate formed was filtered, washed with acetonitrile (2 x 20 mL) affording the expected product without further purification as a white solid (284 mg, 0.47 mmol)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.34 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.87-7.81 (m, 2H), 7.71-7.67 (m, 2H), 7.31 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.59 (d, ³*J* = 7.0 Hz, 2H), 3.76 (t, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 2.95-2.87 (m, 2H), 2.41 (t, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 2.24-2.11 (m, 1H), 1.95-1.83 (m, 6H), 1.33-1.20 (m, 2H).

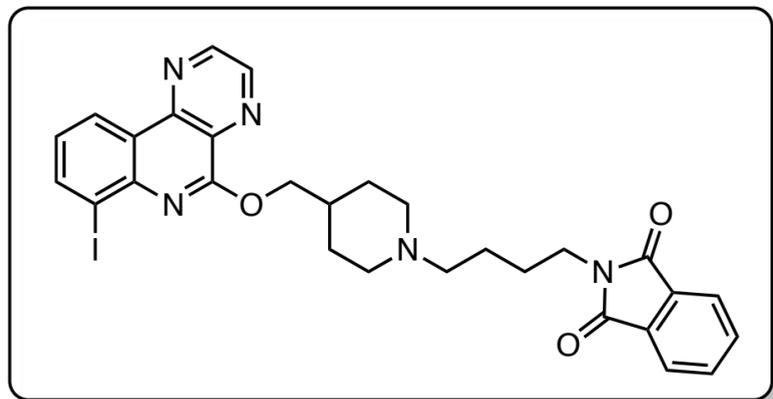
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.6 (2C), 158.6, 147.8, 145.9, 145.5, 143.9, 141.5, 134.0 (2C), 132.5 (2C), 131.1, 126.6, 124.7, 123.4, 123.3 (2C), 100.7, 72.9, 56.7, 53.5 (2C), 37.0, 35.1, 29.4 (2C), 25.6.

IR (KBr): ν = 2942, 1716, 1576, 1432, 1382, 1330, 1053 cm⁻¹.

mp: 204-205 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₈H₂₇IN₅O₃ [M+H]⁺ 608.1159, found 608.1164.

2-(3-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)butyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13c**



Chemical Formula: C₂₉H₂₈IN₅O₃
Molecular Weight: 621.48 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 68%

Starting from *tert*-butyl 4-[[[(7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl]piperidine-1-carboxylate **10** (390 mg, 0.71 mmol) and following the **general procedure A**.

The crude product was dissolved in acetonitrile (20 mL) and *N*-(4-bromopbutyl)phthalimide (240 mg, 0.85 mmol) and triethylamine (0.19 mL, 1.4 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 24 hours and the white precipitate formed was filtered, washed with acetonitrile (2 x 20 mL) affording the expected product without further purification as a white solid (300 mg, 0.48 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.99 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.87 (dd, ⁴*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.31 (dd, ⁴*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.84-7.78 (m, 2H), 7.72-7.65 (m, 2H), 7.26 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.70 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.70 (t, ³*J* = 7.1 Hz, 2H), 3.01-2.93 (m, 2H), 2.41-2.33 (m, 2H), 2.30-2.18 (m, 1H), 2.04-1.91 (m, 4H), 1.74-1.64 (m, 2H), 1.60-1.46 (m, 4H).

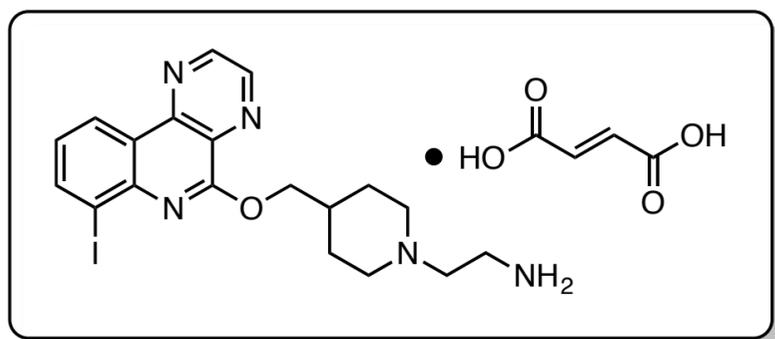
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.5 (2C), 158.6, 147.8, 145.8, 145.4, 143.8, 141.5, 134.0 (2C), 132.2 (2C), 131.1, 126.6, 124.7, 123.3, 123.3 (2C), 100.7, 72.7, 58.6, 53.6 (2C), 38.0, 35.2, 29.3 (2C), 26.8, 24.5

IR (KBr): ν = 2930, 1708, 1592, 1400, 1351, 1176, 719 cm⁻¹.

mp: 154-158 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₉H₂₉IN₅O₃ [M+H]⁺ 622.1323, found 622.1315.

2-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethan-1-amine, fumaric salt **13d**



Chemical Formula: C₂₃H₂₆IN₅O₅
Molecular Weight: 579.40 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 81%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13a** (90 mg, 0.15 mmol) and following the **general procedure B**. The residue was dissolved in propan-2-ol (10 mL) and fumaric acid (17 mg, 0.15 mmol) was added. The solution was stirred at 40°C for 1 hour and the beige precipitate formed was filtered, washed with propan-2-ol (3 x 5 mL) affording the expected product without further purification as a beige solid (71 mg, 0.12 mmol).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.24 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.12 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.80 (dd, ⁴*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.36 (dd, ⁴*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.37 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 6.41 (s, 2H), 4.57 (d, ³*J* = 6.4 Hz, 2H), 2.95-2.85 (m, 4H), 2.52-2.48 (m, 2H), 2.09-1.94 (m, 3H), 1.88-1.78 (m, 2H), 1.51-1.39 (m, 2H). (Signals to the OH and NH₂ are missing)

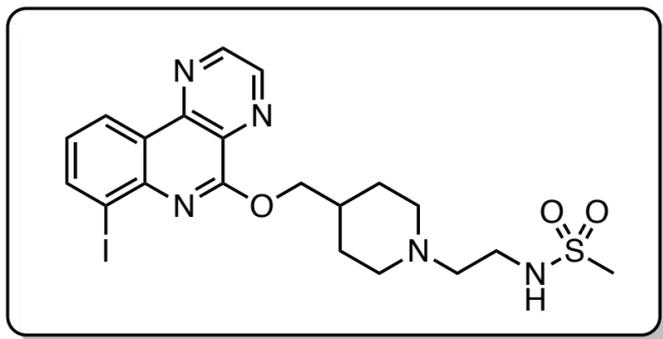
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.2 (2C), 158.5, 148.8, 146.4, 144.6, 142.9, 141.0, 135.3 (2C), 130.3, 126.8, 124.1, 122.9, 100.9, 71.4, 55.0, 52.8 (2C), 35.9, 34.9, 28.6 (2C).

IR (KBr): ν = 3434, 2928, 1594, 1461, 1370, 1310, 1174, 843 cm⁻¹.

mp: 173-175°C.

HRMS: *in progress*

N-(2-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)ethyl) methanesulfonamide **13e**



Chemical Formula: C₂₀H₂₄IN₅O₃S

Molecular Weight: 541.41 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 61%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13a** (280 mg, 0.47 mmol) and following **the general procedure B**.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (15 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Triethylamine (0.13 mL, 0.94 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.03 mL, 0.47 mmol) were added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a white solid (155 mg, 0.29 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.09 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.02 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.34 (dd, ⁴*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.31 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.73 (d, ³*J* = 6.6 Hz, 2H), 3.22-3.19 (m, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.95–2.91 (m, 2H), 2.57–2.54 (m, 2H), 2.28–2.17 (m, 1H), 2.14–2.11 (m, 2H), 2.09–1.96 (m, 2H), 1.57–1.49 (m, 2H). (Signal to the NH is missing).

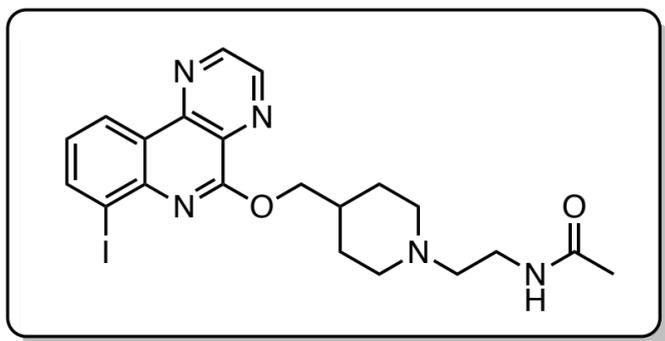
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.6, 147.9, 145.9, 145.5, 143.8, 141.5, 131.1, 126.7, 124.7, 123.4, 100.7, 72.5, 57.0, 53.2 (2C), 40.2, 39.9, 35.2, 29.4 (2C).

IR (KBr): ν = 3265, 2924, 2826, 1596, 1314, 1112, 780 cm⁻¹.

mp: 147-149 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₀H₂₅IN₅O₃S [M+H]⁺ 542.0723, found 542.0723.

(2-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)acetamide **13f**



Chemical Formula: C₂₁H₂₄IN₅O₂
Molecular Weight: 505.36 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 71%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13a** (190 mg, 0.32 mmol) and following **the general procedure B**.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (15 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Acetic anhydride (0.03 mL, 0.32 mmol) was added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), extracted twice with dichloromethane (2 x 15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a white solid (100 mg, 0.20 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.99 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.86 (dd, ⁴*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 1.5 Hz, 1H), 8.31 (dd, ⁴*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 1.5 Hz, 1H), 7.28 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 6.21 (br s, 1H), 4.71 (d, ³*J* = 6.7 Hz, 2H), 3.38-3.31 (m, 2H), 2.99-2.92 (m, 2H), 2.52-2.45 (m, 2H), 2.34-2.21 (m, 1H), 2.11-2.02 (m, 2H), 1.99 (s, 3H), 1.99-1.94 (m, 2H), 1.59-1.47 (m, 2H).

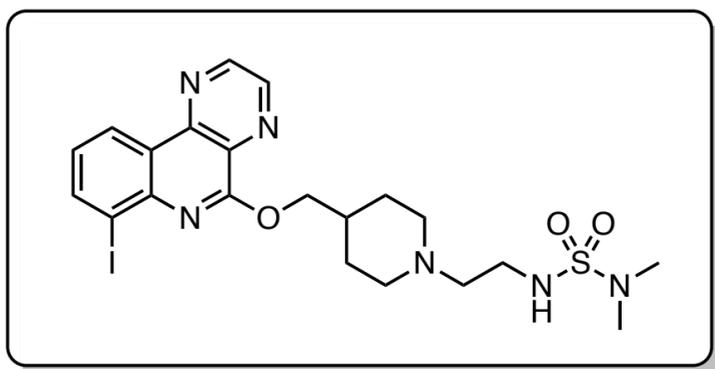
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 170.3, 158.5, 147.9, 145.8, 145.4, 143.7, 141.5, 131.0, 126.6, 124.7, 123.3, 100.7, 72.6, 57.0, 53.3 (2C), 36.2, 35.1, 29.2 (2C), 23.5.

IR (KBr): ν = 3278, 2909, 1647, 1590, 1455, 1346, 1180 cm⁻¹.

mp: 209-211 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₁H₂₅IN₅O₂ [M+H]⁺ 506.1061, found 506.1053.

((2-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)sulfamoyl)dimethylamine **13g**



Chemical Formula: C₂₁H₂₇IN₆O₃S

Molecular Weight: 570.43 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 55%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13a** (195 mg, 0.33 mmol) and following **the general procedure B**.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (15 mL) and the solution was cooled down to 0°C. *N,N* dimethylsulfamoyl chloride (0.03 mL, 0.33 mmol) and triethylamine (0.09 mL, 0.66 mmol) were added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), extracted twice with dichloromethane (2 x 15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a white solid (105 mg, 0.18 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.34 (dd, ⁴*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.31 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.73 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.15-3.08 (m, 2H), 2.97-2.89 (m, 2H), 2.81 (s, 6H), 2.55-2.50 (m, 2H), 2.33-2.21 (m, 1H), 2.13-2.03 (m, 2H), 2.02-1.93 (m, 2H), 1.57-1.44 (m, 2H). (Signal to the NH is missing)

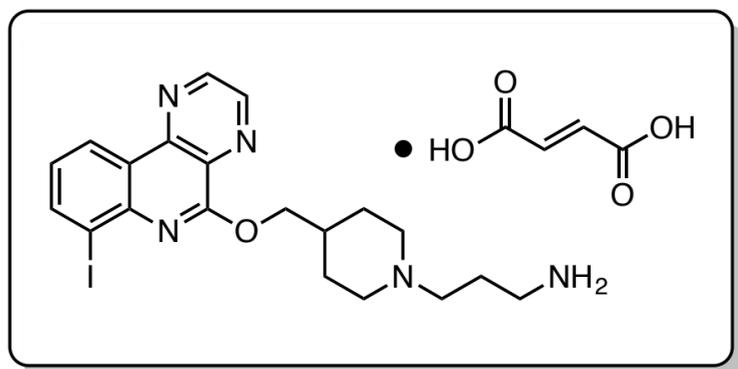
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.6, 147.9, 145.9, 145.5, 143.8, 141.6, 131.1, 126.7, 124.8, 123.4, 100.7, 72.5, 56.6, 53.2 (2C), 40.1, 38.2 (2C), 35.3, 29.4 (2C).

IR (KBr): ν = 3293, 2937, 2800, 1595, 1427, 1334, 1156, 945 cm⁻¹.

mp: 141-142 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₁H₂₈IN₆O₃ [M+H]⁺ 571.0985, found 571.0988.

3-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propan-1-amine, fumaric salt **13h**



Chemical Formula: C₂₄H₂₈IN₅O₅
Molecular Weight: 593.42 g.mol⁻¹
Appearance: Beige solid
Yield: 74%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)-2,3-dihydro-*1H*-isoindole-1,3-dione **13b** (75 mg, 0.15 mmol) and following **the general procedure B**.

The residue was dissolved in propan-2-ol (10 mL) and fumaric acid (17 mg, 0.15 mmol) was added. The solution was stirred at 40°C for 1 hour and the beige precipitate formed was filtered, washed with propan-2-ol (3 x 5 mL) affording the expected product without further purification as a beige solid (54 mg, 0.11 mmol).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.24 (d, ³*J* = 2.1 Hz, 1H), 9.12 (d, ³*J* = 2.1 Hz, 1H), 8.81 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.37 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.37 (t, ³*J* = 7.7 Hz, 1H), 6.43 (s, 2H), 4.57 (d, ³*J* = 6.6 Hz, 2H), 2.97-2.90 (m, 2H), 2.82 (d, ³*J* = 7.2 Hz, 2H), 2.38 (d, ³*J* = 6.7 Hz, 2H), 2.10-1.98 (m, 1H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.89-1.81 (m, 2H), 1.77-1.66 (m, 2H), 1.49-1.35 (m, 2H). (Signals to the OH and the NH₂ are missing).

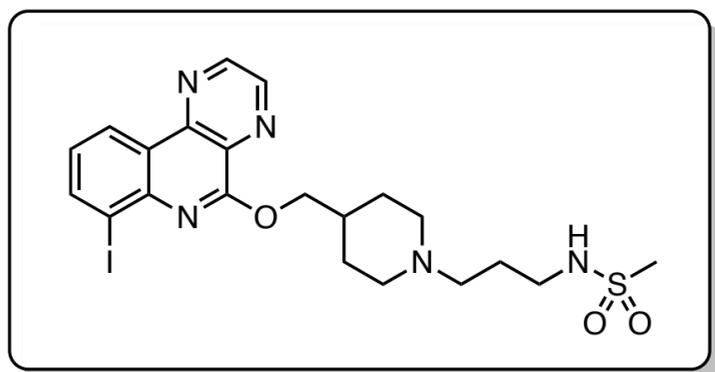
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 168.0 (2C), 158.5, 148.8, 146.4, 144.6, 142.9, 141.0, 135.3 (2C), 130.3, 126.8, 124.1, 122.9, 100.9, 71.4, 55.2, 52.7 (2C), 37.6, 35.0, 28.6 (2C), 24.1.

IR (KBr): ν = 3426, 2934, 1592, 1474, 1461, 1370, 1174 cm⁻¹.

mp: 177-180 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₀H₂₅IN₅O [M+H]⁺ 478.1098, found 478.1104.

N-(3-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl) methanesulfonamide **13i**



Chemical Formula: C₂₁H₂₆IN₅O₃S

Molecular Weight: 555.44 g.mol⁻¹

Appearance: beige solid

Yield: 61%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13b** (150 mg, 0.25 mmol) and following **the general procedure B**. The primary amine was dissolved in dichloromethane (20 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Triethylamine (0.07 mL, 0.50 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.01 mL, 0.25 mmol) were added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a beige solid (83 mg, 0.15 mmol).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.19 (d, ³*J* = 1.9 Hz, 1H), 9.08 (d, ³*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.72 (dd, ⁴*J* = 1.3 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.31 (dd, ⁴*J* = 1.3 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.31 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 7.02 (br s, 1H), 4.52 (d, ³*J* = 6.5 Hz, 2H), 3.00-2.91 (m, 4H), 2.89 (s, 3H), 2.42-2.35 (m, 2H), 2.09-2.95 (m, 3H), 1.89-1.81 (m, 2H), 1.69-1.59 (m, 2H), 1.49-1.36 (m, 2H).

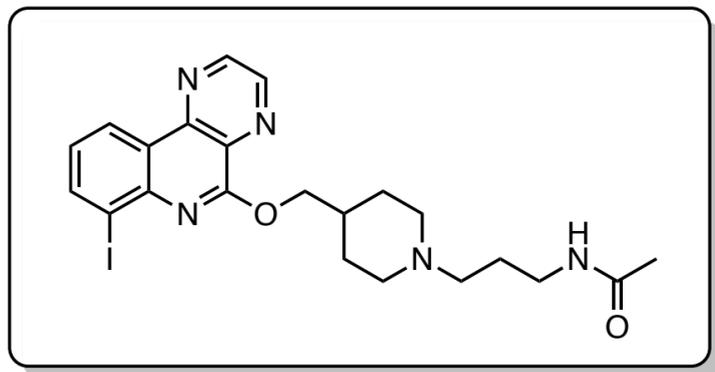
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 158.3, 148.7, 146.3, 144.5, 142.8, 140.9, 130.2, 126.7, 124.0, 122.8, 100.9, 71.3, 55.3, 52.8 (2C), 40.9, 39.2, 34.8, 28.6 (2C), 26.5.

IR (KBr): ν = 3243, 2919, 1592, 1456, 1309, 1143, 781 cm⁻¹.

mp: 176-178 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₁H₂₇IN₅O₃S [M+H]⁺ 556.0879, found 556.0881.

N-(3-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)-acetamide **13j**



Chemical Formula: C₂₂H₂₆IN₅O₂
Molecular Weight: 519.39 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 61%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13b** (250 mg, 0.41 mmol) and following **the general procedure B**. The primary amine was dissolved in dichloromethane (20 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Acetic anhydride (0.04 mL, 0.41 mmol) was added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), extracted with dichloromethane (2 x 15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a beige solid (151 mg, 0.29 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.98 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.32 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.39 (br s, 1H), 7.30 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.73 (d, ³*J* = 6.6 Hz, 2H), 3.36-3.30 (m, 2H), 3.07-3.00 (m, 2H), 2.49 (t, ³*J* = 6.2 Hz, 2H) 2.35-2.22 (m, 1H), 2.07-1.98 (m, 4H), 1.95 (s, 3H), 1.72-1.64 (m, 2H), 1.58-1.46 (m, 2H).

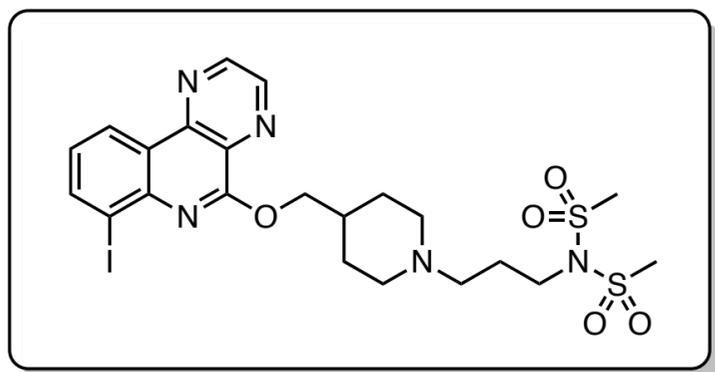
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 170.0, 158.5, 147.8, 145.8, 145.4, 143.6, 141.4, 130.9, 126.6, 124.7, 123.3, 100.6, 72.3, 57.9, 53.5 (2C), 39.8, 35.1, 29.5 (2C), 25.1, 23.5.

IR (KBr): ν = 3273, 2913, 1642, 1592, 1466, 1346, 1180, 853 cm⁻¹.

mp: 135-138 °C

HRMS/ESI: calculated for C₂₂H₂₇IN₅O₂ [M+H]⁺ 520.1212, found 520.1209.

N-(3-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl) methanesulfonylmethanesulfonamide **13k**



Chemical Formula: C₂₂H₂₈IN₅O₅S₂

Molecular Weight: 633.52 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 49%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13b** (115 mg, 0.19 mmol) and following **the general procedure B**.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (15 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Methanesulfonyl chloride (0.03 mL, 0.38 mmol) was added dropwise and the mixture was stirred 15 min at 0°C and 30 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a white solid (59 mg, 0.09 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.99 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.87 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.32 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.29 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.59 (d, ³*J* = 7.0 Hz, 2H), 3.80 (t, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 3.29 (s, 6H), 3.05-2.94 (m, 2H), 2.47-2.36 (m, 2H), 2.33-2.20 (m, 1H), 2.07-1.90 (m, 6H), 1.62-1.46 (m, 2H).

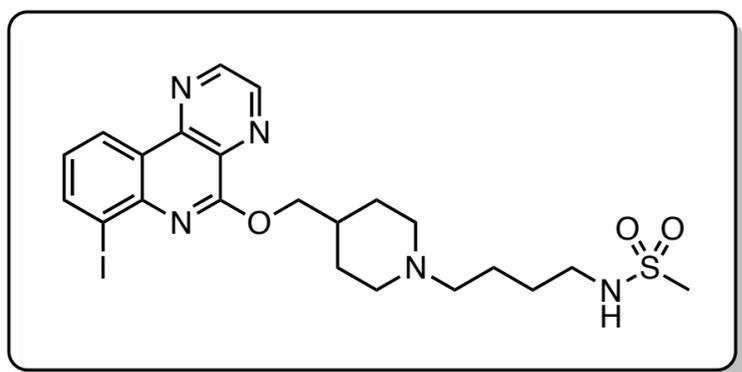
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.9, 147.8, 145.8, 146.6, 143.8, 141.5, 131.1, 126.6, 124.7, 123.3, 100.7, 72.6, 55.4, 53.4 (2C), 47.5, 43.8 (2C), 35.1, 29.2 (2C), 27.8.

IR (KBr): ν = 2923, 1594, 1456, 1360, 1323, 1151, 511 cm⁻¹.

mp: 176-178 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₂H₂₉IN₅O₃S₂ [M+H]⁺ 634.0655, found 634.0666.

N-(4-(4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)butyl) methanesulfonamide **13l**



Chemical Formula: C₂₂H₂₈IN₅O₃S

Molecular Weight: 569.46 g.mol⁻¹

Appearance: beige solid

Yield: 72%

Starting from 2-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)butyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **13c** (170 mg, 0.30 mmol) and following **the general procedure B**.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (15 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Triethylamine (0.08 mL, 0.60 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.02 mL, 0.30 mmol) were added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a beige solid (112 mg, 0.22 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.34 (dd, ⁴*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.31 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.74 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.13-3.02 (m, 4H), 2.91 (s, 3H), 2.45-2.39 (m, 2H), 2.37-2.25 (m, 1H), 2.13-1.98 (m, 4H), 1.75-1.60 (m, 6H). (Signal to the NH is missing)

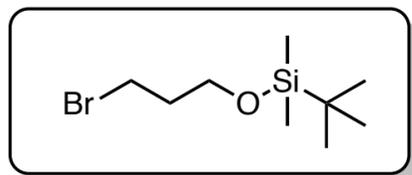
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.6, 147.9, 145.9, 145.5, 143.8, 141.6, 131.1, 126.7, 124.7, 123.4, 100.7, 72.5, 58.4, 53.3 (2C), 43.4, 40.2, 35.1, 29.1, 28.7 (2C), 25.0.

IR (KBr): ν = 3273, 2921, 2772, 1594, 1313, 1137, 784 cm⁻¹.

mp: 139-140 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₂H₂₉IN₅O₃S [M+H]⁺ 570.1047, found 570.1036.

(3-Bromopropoxy)-*tert*-butyldimethylsilane **14**



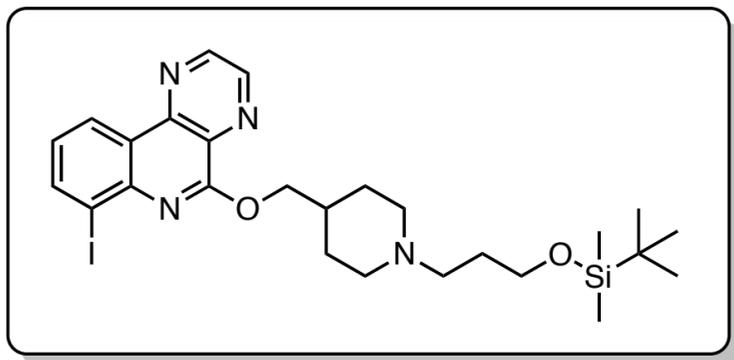
Chemical Formula: C₉H₂₁BrOSi
Molecular Weight: 253.26 g.mol⁻¹
Appearance: colorless oil
Yield: > 99%

Starting from 3-bromopropanol (0.50 mL, 5.53 mmol), (3-bromopropoxy)-*tert*-butyldimethylsilane was prepared according to the literature procedure and was obtained as a colorless oil (1.40 g, 5.53 mmol). Data are consistent with literature. ^[108]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.73 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 3.51 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.07-2.00 (m, 2H), 0.90 (s, 9H), 0.07 (s, 6H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 60.5, 35.7, 30.8, 26.0, 18.4, -5.3 (3C).

1-(3-((*Tert*-butyldimethylsilyl)oxy)propyl)-4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine **15**



Chemical Formula: C₂₆H₃₇IN₄O₂Si

Molecular Weight: 592.60 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 63%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate (150 mg, 0.29 mmol) and following **the general procedure A**.

The crude product was dissolved in acetonitrile (25 mL) and (3-bromopropoxy)-*tert*-butyldimethylsilane **14** (88 mg, 0.35 mmol) and triethylamine (0.08 mL, 0.58 mmol) were added. The solution was stirred at reflux for 16 hours. Water was added (20 mL) and the organic layer was extracted with ethyl acetate (3 x 20 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a white solid (108 mg, 0.18 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.34 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.31 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.74 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.67 (t, ³*J* = 6.1 Hz, 2H), 3.29-3.11 (m, 2H), 2.72-2.55 (m, 2H), 2.43-2.19 (m, 3H), 2.14-2.01 (m, 2H), 1.95-1.68 (m, 4H), 0.87 (s, 9H), 0.04 (s, 6H).

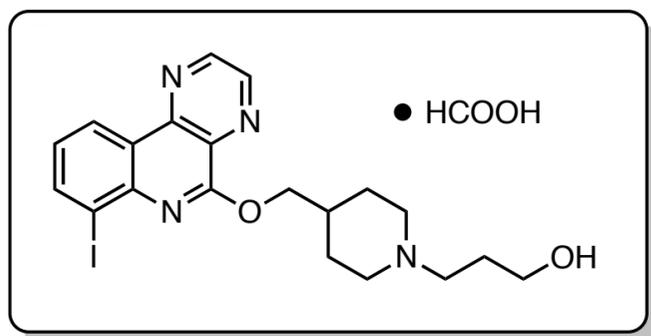
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.5, 147.9, 145.9, 145.5, 143.7, 141.6, 131.0, 126.7, 124.7, 123.4, 100.7, 72.2, 61.3, 55.8, 53.3 (2C), 34.6, 29.3, 28.4 (2C), 26.1 (2C), 18.4, -5.2 (3C).

IR (KBr): ν = 2927, 2858, 1591, 1472, 1351, 1110, 835, 778 cm⁻¹.

mp: 102-105°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₆H₃₈IN₄O₂Si [M+H]⁺ 593.1809, found 593.1813.

4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-(3-hydroxy)propyl)piperidine, formiate salt **16**



Chemical Formula: C₂₁H₂₅IN₄O₄
Molecular Weight: 524.36 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 49%

In a round bottom flask, 1-(3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)propyl)-4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine **15** (150 mg, 0.25 mmol) and TBAF 1M in THF (0.75 mL, 0.75 mmol) were added in THF (10 mL). The solution was stirred 16 hours at room temperature and THF was evaporated. The residue was purified by reverse gel chromatography using water/acetonitrile (80/20 to 50/50) and formic acid (2%) as eluent affording the expected product as a white solid (64 mg, 0.12 mmol).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.25 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.13 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.83 (dd, ⁴*J* = 1.2 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.38 (dd, ⁴*J* = 1.2 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 8.33 (br s, 1H), 7.39 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.58 (d, ³*J* = 6.4 Hz, 2H), 3.40 (t, ³*J* = 6.3 Hz, 2H), 3.01-2.90 (m, 2H), 2.39 (t, ³*J* = 6.3 Hz, 2H), 2.01-1.92 (m, 3H), 1.90-1.81 (m, 2H), 1.64-1.54 (m, 2H), 1.49-1.37 (m, 2H). (Signals to the OH are missing)

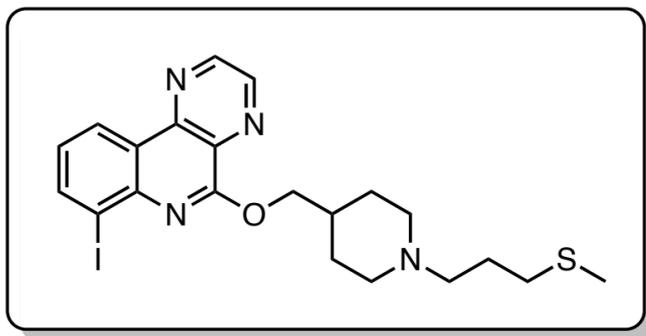
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 165.0, 158.4, 148.8, 146.4, 144.6, 142.8, 141.0, 130.3, 126.8, 124.0, 122.9, 100.9, 71.2, 59.2, 55.0, 52.4 (2C), 34.4, 28.9 (2C), 27.9.

IR (KBr): ν = 3430, 2929, 1597, 1353, 1117 cm⁻¹.

mp: > 250°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₀H₂₄IN₄O₂ [M+H]⁺ 479.0944, found 479.0944.

4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-(3-methylsulfanyl)propyl)piperidine
17



Chemical Formula: C₂₁H₂₅IN₄OS
Molecular Weight: 508.42 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 57%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **10** (400 mg, 0.76 mmol) and following **the general procedure A**.

The crude product was dissolved in dichloromethane (8 mL) and 3-(methylthio)propionaldehyde (0.07 mL, 0.91 mmol) and some drops of acetic acid were added. The solution was stirred for 2 hours at room temperature and sodium triacetoxyborohydride (240 mg, 1.52 mmol) was added. The reaction was stirred at room temperature and monitored by TLC. The solution was carefully hydrolysed with a solution of NaOH 1M (10 mL), extracted with dichloromethane (3 x 15 mL) dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a beige solid (285 mg, 0.43 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.33 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.30 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.73 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.12-3.02 (m, 2H), 2.56-2.46 (m, 4H), 2.36-2.24 (m, 1H), 2.17-2.06 (m, 5H), 2.05-1.98 (m, 2H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.69-1.55 (m, 2H).

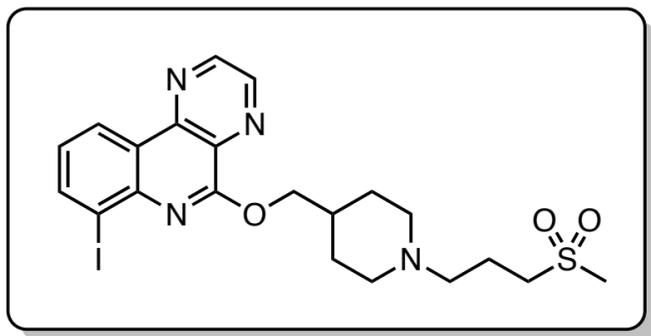
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.5, 147.8, 145.8, 145.4, 143.7, 141.4, 131.0, 126.6, 124.7, 123.3, 100.7, 72.5, 57.8, 53.5 (2C), 35.0, 32.3 (2C), 29.0, 26.3, 15.6.

IR (KBr): ν = 2912, 1591, 1454, 1349, 1176, 1142 cm⁻¹.

mp: 108-110 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₁H₂₆IN₄OS [M+H]⁺ 509.0874, found 509.0872.

4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-(3-methylsulfonyl)propyl)piperidine
18a



Chemical Formula: C₂₁H₂₅IN₄O₃S

Molecular Weight: 540.42 g.mol⁻¹

Appearance: beige solid

Yield: 66%

In a round bottom flask 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-(3-methylsulfonyl)propyl)piperidine **17** (100 mg, 0.20 mmol) was dissolved in dichloromethane (2 mL) at 0°C. 3-Chloroperoxybenzoic acid (85 mg, 0.49 mmol) was slowly added and the reaction mixture was stirred at room temperature for two hours. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous Na₂S₂O₃ solution (5 mL) and extracted with dichloromethane (2 x 5 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a beige solid (71 mg, 0.13 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.09 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.91 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.35 (dd, ⁴*J* = 1.7 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.31 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.72 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.15-3.08 (m, 2H), 3.00-2.93 (m, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.50 (t, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 2.34-2.20 (m, 1H), 2.10-1.94 (m, 6H), 1.58-1.46 (m, 2H).

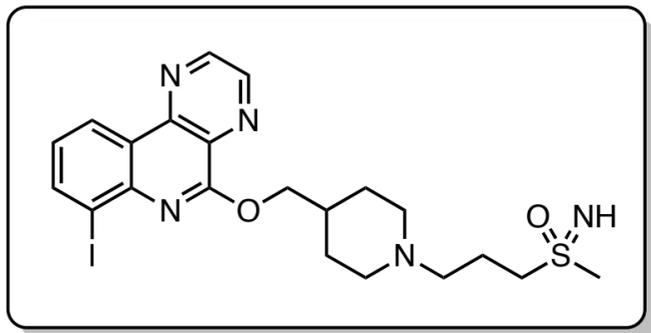
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.5, 147.8, 145.8, 145.4, 143.7, 141.5, 131.0, 126.5, 124.6, 123.2, 100.6, 72.5, 56.4, 53.2 (2C), 52.8, 40.7, 35.1, 29.2 (2C), 20.0

IR (KBr): ν = 2919, 1637, 1595, 1475, 1281, 1136 cm⁻¹.

mp: 115-116°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₁H₂₆IN₄O₃S [M+H]⁺ 541.0768, found 541.0770.

Imino(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)propyl)methyl- λ^6 -sulfanone **18b**



Chemical Formula: C₂₁H₂₆IN₅O₂S

Molecular Weight: 539.44 g.mol⁻¹

Appearance: brown foam

Yield: 57%

In a round bottom flask 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-(3-methylsulfanyl)propyl)piperidine **17** (125 mg, 0.25 mmol) was dissolved in methanol (1.5 mL) and ammonium carbamate (29 mg, 0.38 mmol) and PIDA (165 mg, 0.51 mmol) were added. The solution was stirred at room temperature for 16 hours. The reaction mixture was evaporated under vacuum then the crude mixture was purified by filtration on silica using dichloromethane/methanol (70/30) as eluent affording the expected product as a brown foam (77 mg, 0.14 mmol).

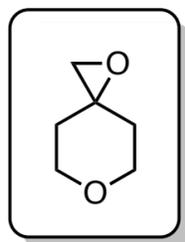
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.33 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.30 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.73 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.12-3.02 (m, 2H), 2.56-2.46 (m, 4H), 2.36-2.24 (m, 1H), 2.17-2.06 (m, 5H), 2.05-1.98 (m, 2H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.69-1.55 (m, 2H). (Signal to the NH is missing).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.5, 147.8, 145.8, 145.4, 143.7, 141.4, 131.0, 126.6, 124.7, 123.3, 100.7, 72.5, 57.8, 53.5 (2C), 35.0, 32.3 (2C), 29.0, 26.3, 20.8.

IR (KBr): ν = 2912, 1591, 1454, 1349, 1176, 1142 cm⁻¹.

HRMS/ESI: calculated for C₂₁H₂₇IN₅O₂S [M+H]⁺ 540.0931, found 540.0930.

1,6-Dioxaspiro[2,5]octane **20**



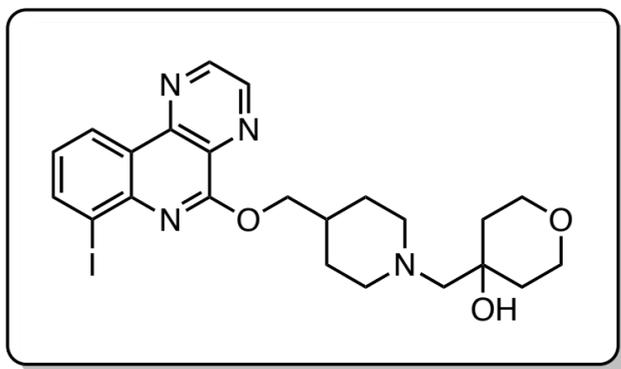
Chemical Formula: C₆H₁₀O₂
Molecular Weight: 114.14 g.mol⁻¹
Appearance: colorless oil
Yield: 70%

Starting from tetrahydro-4*H*-pyran-4-one (1.82 mL, 20.0 mmol), 1,6-dioxaspiro[2,5]octane was prepared according to the literature procedure and was obtained as a colorless oil (1.60 g, 14.0 mmol). Data are consistent with literature.^[111]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.89-3.76 (m, 4H), 2.68 (s, 2H), 1.90-1.81 (m, 2H), 1.56-1.48 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 66.7 (2C), 56.6, 54.0, 34.0 (2C).

4-((4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)methyl)oxan-4-ol **20**



Chemical Formula: C₂₃H₂₇IN₄O₃
Molecular Weight: 534.40 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 81%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **10** (130 mg, 0.25 mmol) and following the **general procedure A**.

The crude product was dissolved in methanol (25 mL) and 1,6-dioxaspiro[2,5]octane (60.0 mg, 0.50 mmol) and triethylamine (0.07 mL, 0.50 mmol) were added. The solution was stirred under reflux for 16 hours. Methanol was evaporated and the resulting mixture was dissolved in ethyl acetate (25 mL). The organic layer was washed with brine (25 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a white solid (108 mg, 0.20 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.32 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.29 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.70 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.83-3.71 (m, 4H), 2.96-2.88 (m, 2H), 2.46-2.37 (m, 2H), 2.33 (s, 2H), 2.30-2.18 (m, 1H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.62-1.42 (m, 6H). (Signal to the OH is missing).

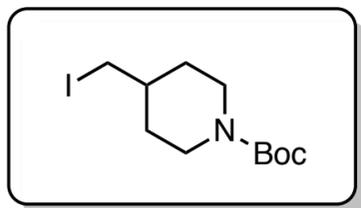
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.6, 147.9, 145.9, 145.5, 143.8, 141.5, 131.1, 126.6, 124.7, 123.4, 100.7, 72.6, 69.6, 68.4, 67.4, 64.1, 56.3, 53.9, 37.2, 34.7, 31.9, 29.9, 29.4.

IR (KBr): ν = 3442, 2936, 1677, 1591, 1425, 1349, 1177, 1111 cm⁻¹.

mp: 169-170°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₃H₂₈IN₄O₃ [M+H]⁺ 535.1206, found 535.1201.

Tert-butyl-4-(iodomethyl)piperidine-1-carboxylate **21**



Chemical Formula: C₁₁H₂₀INO₂
Molecular Weight: 325.19 g.mol⁻¹
Appearance: colorless oil
Yield: 92%

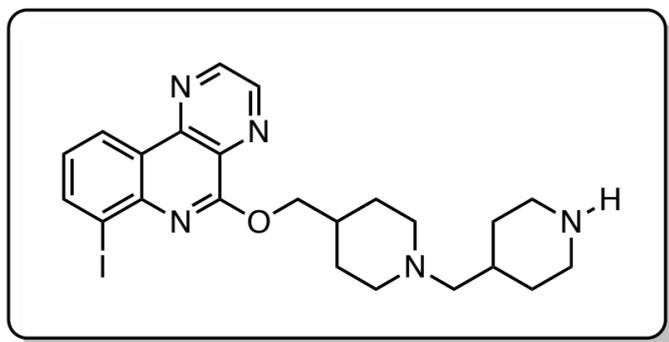
Starting from *tert*-butyl-4-(hydroxymethyl)piperidine-1-carboxylate **9** (2.00 g, 9.30 mmol), *Tert*-butyl-4-(iodomethyl)piperidine-1-carboxylate was prepared according to the literature procedure and was obtained as a colorless oil (2.78 g, 8.56 mmol). Data are consistent with literature.^[211]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.25-4.00 (m, 2H), 3.10 (d, ³J = 6.9 Hz, 2H), 2.76-2.60 (m, 2H), 1.87-1.78 (m, 2H), 1.67-1.54 (m, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.20-1.07 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 154.8, 79.7, 43.3 (2C), 38.8, 32.7 (2C), 28.6 (3C), 13.7.

²¹¹ Ashford, M. E.; Nguyen, V. H.; Greguric, I.; Pham, T. Q.; Keller, P. A.; Katsifis, A. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 783–794.

4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-((piperidin-4-yl)methyl)piperidine
22a



Chemical Formula: C₂₃H₂₈IN₅O
Molecular Weight: 517.42 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 48%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **10** (250 mg, 0.48 mmol) and following the **general procedure A**.

The crude product was dissolved in acetonitrile (20 mL) and triethylamine (0.14 mL, 0.96 mmol) and *tert*-butyl-4-(iodomethyl)piperidine-1-carboxylate (190 mg, 0.58 mmol) were added. The solution was stirred under reflux for 16 hours and was cooled down to room temperature. The beige precipitate was filtrated, washed with acetonitrile (2 x 5 mL) affording the expected intermediate without further purification.

In a round bottom flask *tert*-butyl-4-(((4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)methyl)-piperidine-1-carboxylate intermediate was dissolved in dichloromethane (15 mL). Trifluoroacetic acid (0.35 mL, 2.5 mmol) was added and the solution was stirred at room temperature. After 2 hours, the solvent was evaporated *in vacuo* and the crude product was dissolved in a saturated solution of K₃PO₄ (15 mL). The solution was stirred 30 minutes at room temperature and the resulting mixture was extracted with dichloromethane (3 x 20 mL). The combined organics layers were dried over MgSO₄, filtrated and evaporated affording the expected product without further purification as a beige solid (142 mg, 0.23 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (d, ³J = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³J = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (dd, ⁴J = 1.4 Hz, ³J = 8.0 Hz, 1H), 8.32 (dd, ⁴J = 1.4 Hz, ³J = 7.6 Hz, 1H), 7.29 (t, ³J = 7.8 Hz, 1H), 4.71 (d, ³J = 6.8 Hz, 2H), 3.16-3.08 (m, 2H), 2.93-2.86 (m, 2H), 2.67-2.58 (m, 2H), 2.29-2.18 (m, 1H), 2.16 (d, ³J = 7.1 Hz, 2H), 1.99-1.88 (m, 4H), 1.81-1.74 (m, 2H), 1.70-1.58 (m, 1H), 1.57-1.43 (m, 2H), 1.22-1.10 (m, 2H). (Signal to the NH is missing).

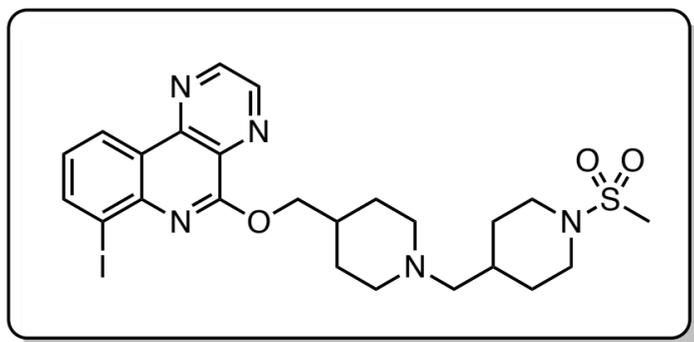
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.7, 147.8, 145.9, 145.4, 143.8, 141.5, 131.1, 100.7, 126.6, 124.7, 123.3, 72.9, 65.6, 54.1 (2C), 46.3 (2C), 35.4, 33.8, 31.6 (2C), 29.5 (2C).

IR (KBr): ν = 3422, 2927, 2898, 1610, 1354, 1173, 778 cm⁻¹.

mp: 140-143°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₃H₂₉IN₅O [M+H]⁺ 518.1419, found 518.1417.

4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-((1-methanesulfonylpiperidin-4-yl)methyl)piperidine **22b**



Chemical Formula: C₂₄H₃₀IN₅O₃S

Molecular Weight: 595.50 g.mol⁻¹

Appearance: beige solid

Yield: 89%

In a round bottom flask 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-((piperidin-4-yl)methyl)piperidine **22a** (90 mg, 0.17 mmol) was dissolved in dichloromethane (10 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Triethylamine (0.03 mL, 0.25 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.01 mL, 0.17 mmol) were added and the solution was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (20 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a beige solid (100 mg, 0.15 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.99 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.87 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.32 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.29 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.70 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.81-3.74 (m, 2H), 2.95-2.87 (m, 2H), 2.75 (s, 3H), 2.67-2.59 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 1H), 2.21 (d, ³*J* = 7.1 Hz, 2H), 2.05-1.91 (m, 4H), 1.91-1.83 (m, 2H), 1.69-1.55 (m, 1H), 1.59-1.46 (m, 2H), 1.34-1.21 (m, 2H).

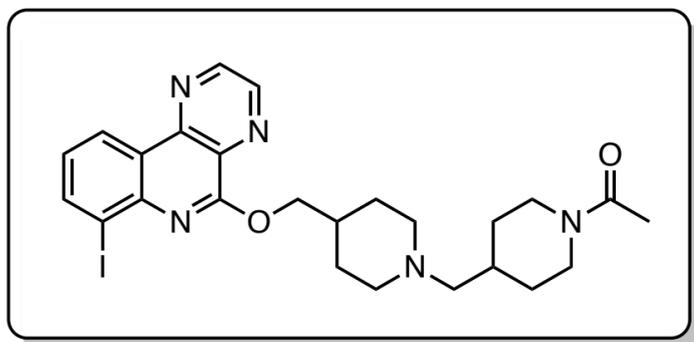
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.6, 147.9, 145.8, 145.4, 143.8, 141.5, 131.1, 126.6, 124.7, 123.3, 100.7, 72.7, 64.6, 54.1 (2C), 46.3 (2C), 35.2, 34.6, 33.3, 30.5 (2C), 29.3 (2C).

IR (KBr): ν = 2918, 2855, 1592, 1318, 1147, 781 cm⁻¹.

mp: 173-175°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₄H₃₁IN₅O₃S [M+H]⁺ 596.1192, found 596.1194.

1-(4-((4-((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)methyl)piperidin-1-yl)ethan-1-one **22c**



Chemical Formula: C₂₅H₃₀IN₅O₂
Molecular Weight: 559.45 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 93%

In a round bottom flask 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-((piperidin-4-yl)methyl)piperidine **22a** (100 mg, 0.19 mmol) was dissolved in dichloromethane (10 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Acetic anhydride (0.02 mL, 0.19 mmol) was added and the solution was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (10 mL) and extracted with dichloromethane (2 x 10 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product (84 mg, 0.18 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.32 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.29 (t, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 4.71 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 4.62-4.54 (m, 1H), 3.82-3.74 (m, 1H), 3.06-2.96 (m, 1H), 2.96-2.85 (m, 2H), 2.58-2.48 (m, 1H), 2.31-2.20 (m, 1H), 2.20-2.13 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.04-1.90 (m, 4H), 1.88-1.80 (m, 1H), 1.79-1.68 (m, 2H), 1.60-1.45 (m, 2H), 1.16-1.00 (m, 2H).

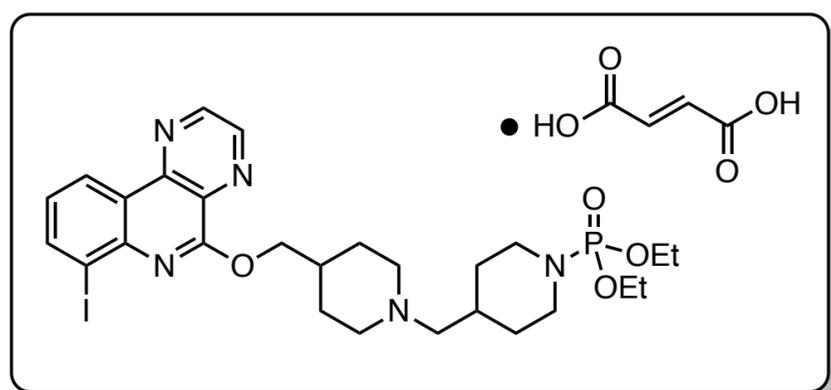
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.9, 158.6, 147.8, 145.9, 145.5, 143.8, 141.5, 131.1, 126.6, 124.7, 123.3, 100.7, 72.8, 64.9, 54.4, 53.9, 46.7, 41.8, 35.3, 34.0, 31.6, 30.7, 29.4 (2C), 21.7.

IR (KBr): ν = 2937, 1624, 1590, 1454, 1424, 1348, 1178, 1048, 981 cm⁻¹.

mp: 165-167°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₅H₃₁IN₅O₂ [M+H]⁺ 560.1517, found 560.1522.

Diethyl (4-((4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)methyl)piperidine-1-yl)phosphonate, fumaric salt **22d**



Chemical Formula: C₃₁H₄₁IN₅O₈P
Molecular Weight: 769.57 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 29%

In a round bottom flask 4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-((piperidin-4-yl)methyl)piperidine (150 mg, 0.29 mmol) was dissolved in dichloromethane (15 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Diethyl chlorophosphate (0.04 mL, 0.29 mmol) and triethylamine (0.08 mL, 0.58 mmol) were added and the solution was stirred 5 min at 0°C and 12 hours at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL) and extracted with dichloromethane (2 x 15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording diethyl (4-((4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)methyl)piperidine-1-yl)phosphonate as a beige solid.

In a round bottom flask, the beige solide (50 mg, 0.08 mmol) was dissolved in propan-2-ol (15 mL) and fumaric acid (9 mg, 0.08 mmol) was added. The solution was stirred at 40°C for 30 minutes and the beige precipitate formed was filtered, washed with propan-2-ol (3 x 5 mL) affording the expected product without further purification as a beige solid (65 mg, 0.08 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 9.16 (d, ³J = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³J = 2.0 Hz, 1H), 8.85 (dd, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 1H), 8.33 (dd, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 1H), 7.32 (t, ³J = 7.8 Hz, 1H), 6.69 (s, 2H), 4.73 (d, ³J = 6.1 Hz, 2H), 4.07-3.97 (m, 4H), 3.69-3.62 (m, 2H), 3.59-3.49 (m, 2H), 3.09-2.99 (m, 4H), 2.86-2.76 (m, 2H), 2.54-2.42 (m, 1H), 2.28-2.20 (m, 2H), 2.12-2.00 (m, 1H), 1.96-1.86 (m, 2H), 1.85-1.76 (m, 2H), 1.31 (td, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, ⁴J_{H-P} = 0.7 Hz, 6H), 1.30-1.20 (m, 2H). (Signals to the OH are missing).

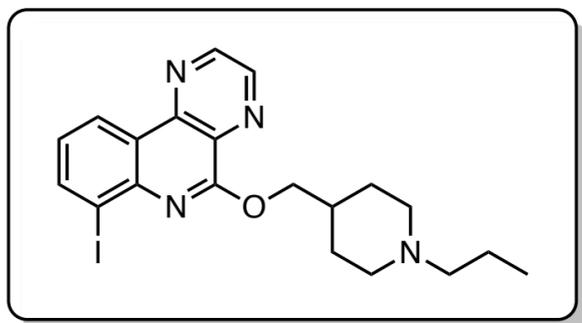
¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ = 171.2 (2C), 159.4, 150.0, 146.9, 144.7, 142.7, 136.2 (2C), 131.4, 127.8, 125.6, 124.5, 101.1, 71.9, 63.9 (d, J = 6.0 Hz, 2C), 63.3, 54.0 (2C), 45.1 (d, J = 2.6 Hz, 2C), 34.1, 32.6, 31.2 (d, J = 4.9 Hz, 2C), 27.3 (2C), 16.5 (d, J = 6.8 Hz, 2C).

IR (KBr): ν = 3429, 2944, 1710, 1594, 1458, 1353, 1177, 1137, 1035 cm⁻¹.

mp: 133-136 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₇H₃₈IN₅O₄P [M+H]⁺ 654.1705, found 654.1706.

4-(((7-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-propylpiperidine **23**



Chemical Formula: C₂₀H₂₃IN₄O
Molecular Weight: 462.34 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 87%

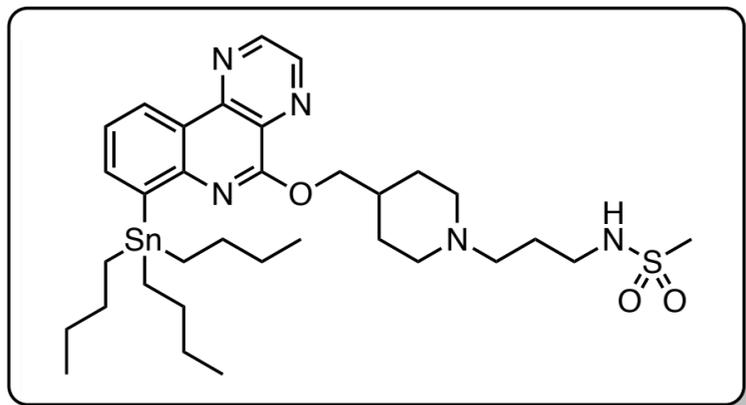
Starting from *tert*-butyl 4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **29** (200 mg, 0.38 mmol) and following the **general procedure A**.

The resulting mixture was dissolved in acetonitrile (15 mL) and triethylamine (0.10 mL, 0.77 mmol) and 1-iodopropane (0.04 mL, 0.46 mmol) were added. The reaction mixture was stirred under reflux for 3 hours. The resulting mixture was diluted with water (10 mL) and extracted with ethyl acetate (2 x 15 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 85/15) as eluent, affording the expected compound as a yellow solid (153 mg, 0.33 mmol). Data are consistent with literature values.^[88]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 9.20 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.02 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.92 (dd, ⁴*J* = 1.4 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.37 (dd, ⁴*J* = 1.3 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.36 (t, ³*J* = 7.7 Hz, 1H), 4.76 (t, ³*J* = 6.1 Hz, 2H), 3.70-3.61 (m, 2H), 3.15-3.02 (m, 4H), 2.58-2.46 (m, 1H), 2.33-2.23 (m, 2H), 1.92-1.73 (m, 4H), 1.04 (t, ³*J* = 7.4 Hz, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ = 161.2, 146.2, 145.9, 145.4, 144.0, 141.8, 131.4, 126.7, 125.0, 123.6, 100.9, 72.2, 61.4, 53.7 (2C), 36.1, 29.2 (2C), 20.3, 12.3.

N-(3-(4-(((7-(Tributylstannyl)pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)methanesulfonamide **24a**



Chemical Formula: C₃₃H₅₃N₅O₃SSn

Molecular Weight: 718.59 g.mol⁻¹

Appearance: Light brown oil

Yield: 39%

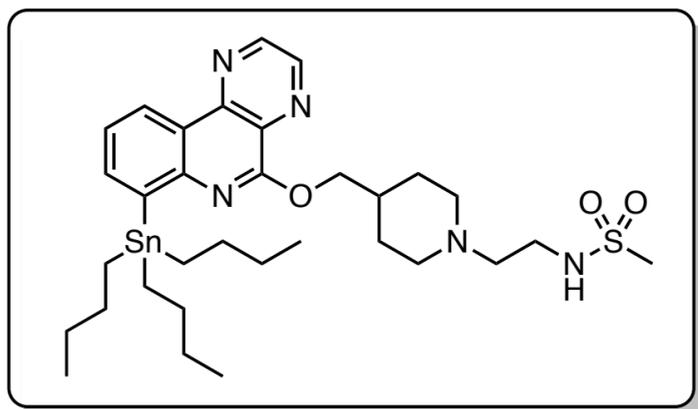
Starting from *N*-(3-(4-(((7-(iodo)pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)methanesulfonamide **13i** (80 mg, 0.15 mmol) and following **the general procedure C**. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a light brown oil (42 mg, 0.06 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.05 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.95 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.87 (dd, ⁴*J* = 1.6 Hz, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.99-7.85 (m, 1H), 7.59-7.53 (m, 1H), 4.57 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.26 (t, ³*J* = 5.9 Hz, 2H), 3.10 (d, ³*J* = 11.4 Hz, 2H), 2.93 (s, 3H), 2.60 (t, ³*J* = 6.1 Hz, 2H), 2.22-2.10 (m, 3H), 2.10-2.01 (m, 2H), 1.86-1.77 (m, 2H), 1.60-1.49 (m, 8H), 1.37-1.27 (m, 6H), 1.24-1.17 (m, 6H), 0.85 (t, ³*J* = 7.3 Hz, 9H). (Signals to the NH is missing).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 157.1, 149.3, 147.5, 146.5, 144.7, 143.4, 139.8, 131.0, 125.3, 124.3, 122.2, 71.4, 57.8, 53.3 (2C), 43.6, 40.0, 35.0, 29.4 (3C), 29.0 (2C), 27.6 (3C), 25.3, 13.9 (3C), 10.4 (3C)

HRMS/ESI: calculated for C₃₃H₅₄N₅O₃SSn [M+H]⁺ 720.2969, found 720.2976.

N-(3-(4-(((7-(Tributylstannyl)pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)methanesulfonamide **24b**



Chemical Formula: C₃₂H₅₁N₅O₃SSn

Molecular Weight: 704.56 g.mol⁻¹

Appearance: Light brown oil

Yield: 28%

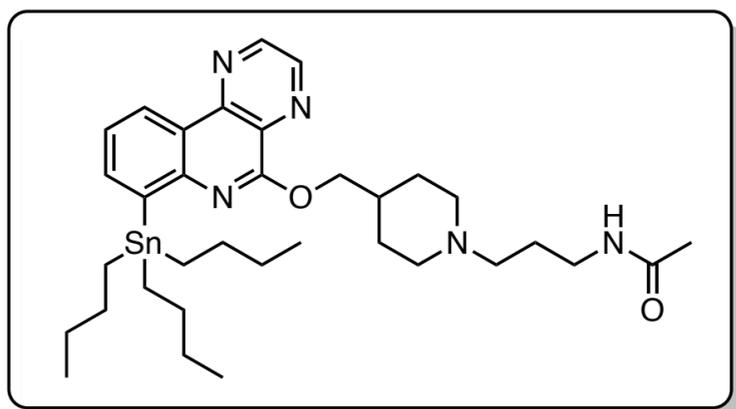
Starting from *N*-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)ethyl)methanesulfonamide **13e** (120 mg, 0.20 mmol) and following **the general procedure C**. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a light brown oil (39 mg, 0.06 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.97 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (dd, ⁴*J* = 1.6 Hz, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 8.00-7.84 (m, 1H), 7.61-7.53 (m, 1H), 5.07 (br s, 1H), 4.57 (d, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 3.32 (t, ³*J* = 5.7 Hz, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.97-2.91 (m, 2H), 2.56 (t, ³*J* = 5.7 Hz, 2H), 2.20-2.07 (m, 3H), 2.04-1.96 (m, 2H), 1.67-1.52 (m, 6H), 1.51-1.40 (m, 2H), 1.39-1.27 (m, 6H), 1.28-1.17 (m, 6H), 0.86 (t, ³*J* = 7.3 Hz, 9H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 157.2, 149.3, 147.5, 146.6, 144.7, 143.4, 139.8, 131.0, 125.4, 124.4, 122.2, 71.7, 57.1, 53.2 (3C), 40.2, 39.9, 35.3 (3C), 29.4 (2C), 27.6 (3C), 13.9 (3C), 10.4 (3C).

HRMS/ESI: calculated for C₃₂H₅₂N₅O₃SSn [M+H]⁺ 702.2812, found 702.2808.

N-(3-(4-(((7-(Tributylstannyl)pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)acetamide **24c**



Chemical Formula: C₃₄H₅₃N₅O₂Sn

Molecular Weight: 682.54 g.mol⁻¹

Appearance: Light brown oil

Yield: 47%

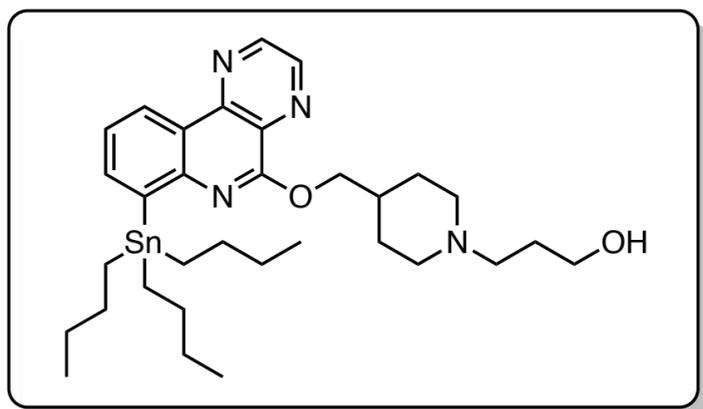
Starting from *N*-(3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)acetamide **13j** (70 mg, 0.13 mmol) and following **the general procedure C**. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a light brown oil (42 mg, 0.06 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.05 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.95 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (dd, ⁴*J* = 1.6 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 7.99-7.84 (m, 1H), 7.61-7.54 (m, 1H), 7.38 (br s, 1H), 4.57 (d, ³*J* = 6.7 Hz, 2H), 3.39-3.31 (m, 2H), 3.15-3.07 (m, 2H), 2.60-2.52 (m, 2H), 2.22-2.04 (m, 5H), 1.96 (s, 3H), 1.78-1.70 (m, 2H), 1.61-1.48 (m, 8H), 1.37-1.27 (m, 6H), 1.26-1.16 (m, 6H), 0.85 (t, ³*J* = 7.3 Hz, 9H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 170.1, 157.2, 149.3, 147.5, 146.6, 144.7, 143.4, 139.8, 131.0, 125.4, 124.4, 122.2, 71.6, 57.7, 53.3 (2C), 39.6, 35.1, 29.4 (3C), 29.3 (2C), 27.6 (3C), 25.0, 23.5, 13.9 (3C), 10.4 (3C).

HRMS/ESI: calculated for C₂₄H₅₄IN₅O₂Sn [M+H]⁺ 680.3308, found 680.3295.

3-(4-(((7-(Tributylstannyl)pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propan-1-ol **24d**



Chemical Formula: C₃₂H₅₀N₄O₂Sn

Molecular Weight: 641.49 g.mol⁻¹

Appearance: Light brown oil

Yield: 21%

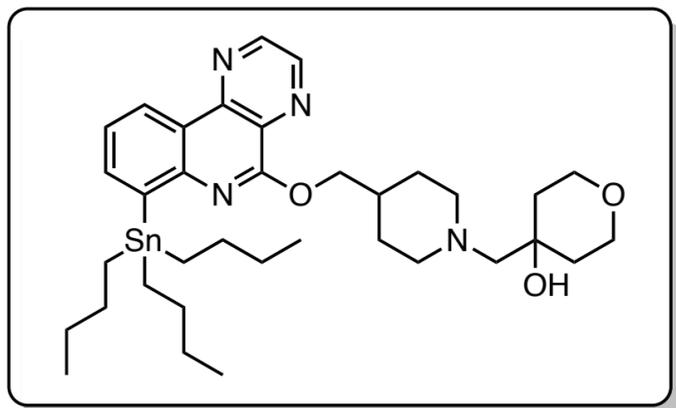
Starting from 3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propan-1-ol **16** (90 mg, 0.19 mmol) and following **the general procedure C**. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a light brown oil (26 mg, 0.04 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.96 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (dd, ⁴*J* = 1.6 Hz, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.99-7.85 (m, 1H), 7.60-7.53 (m, 1H), 4.56 (d, ³*J* = 6.7 Hz, 2H), 3.83 (t, ³*J* = 5.2 Hz, 2H), 3.29-3.20 (m, 2H), 2.78-2.70 (m, 2H), 2.26-2.13 (m, 3H), 2.12-2.04 (m, 2H), 1.84-1.76 (m, 2H), 1.64-1.49 (m, 8H), 1.36-1.28 (m, 6H), 1.24-1.15 (m, 6H), 0.85 (t, ³*J* = 7.3 Hz, 9H). (Signals to the OH is missing).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 157.2, 149.3, 147.5, 146.6, 144.7, 143.5, 139.8, 131.0, 125.4, 124.4, 122.2, 71.5, 63.9, 58.8, 53.5 (2C), 35.0, 29.4 (3C), 28.9 (2C), 27.6 (3C), 27.0, 13.9 (3C), 10.4 (3C).

HRMS/ESI: calculated for C₃₂H₅₁N₄O₂Sn [M+H]⁺ 639.3006, found 639.3029.

3-(4-(((7-(Tributylstannyl)pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)methyl)oxan-4-ol **24e**



Chemical Formula: C₃₅H₅₄N₄O₃Sn

Molecular Weight: 697.55 g.mol⁻¹

Appearance: Light brown oil

Yield: 19%

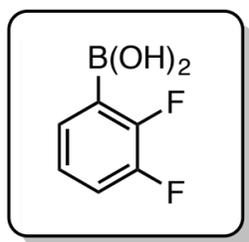
Starting from 3-(4-(((7-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)methyl)oxan-4-ol (100 mg, 0.19 mmol) and following **the general procedure C**. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a light brown oil (25 mg, 0.04 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.97 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (dd, ⁴*J* = 1.6 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 8.00-7.85 (m, 1H), 7.61-7.55 (m, 1H), 4.58 (d, ³*J* = 7.1 Hz, 2H), 3.86-3.72 (m, 4H), 3.00-2.89 (m, 2H), 2.51-2.40 (m, 2H), 2.36 (s, 2H), 2.18-2.07 (m, 1H), 2.01-1.92 (m, 2H), 1.66-1.42 (m, 12H), 1.39-1.27 (m, 6H), 1.26-1.17 (m, 6H), 0.86 (t, ³*J* = 7.3 Hz, 9H). (Signal to the OH is missing).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 157.3, 149.3, 147.5, 146.6, 144.7, 143.4, 139.8, 131.1, 125.4, 124.4, 122.2, 71.7, 68.5, 67.5, 64.1 (2C), 56.2 (2C), 37.2 (2C), 34.9, 29.9 (2C), 29.5 (3C), 27.6 (3C), 13.9 (3C), 10.4 (3C).

HRMS/ESI: calculated for C₃₅H₅₅N₄O₃Sn [M+H]⁺ 695.3304, found 695.3292.

(2,3-Difluorophenyl)boronic acid **26**



Chemical Formula: C₆H₅BF₂O₂
Molecular Weight: 157.91 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 88%

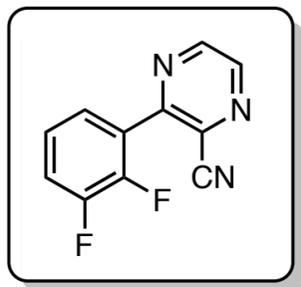
Starting from 1,2-difluorobenzene **25** (3.87 mL, 39.3 mmol), (2,3-difluorophenyl)boronic acid was prepared according to the literature procedure and was obtained as a white solid (5.54 g, 35.1 mmol).^[212]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 8.42 (s, 2H), 7.44-7.36 (m, 1H), 7.35-7.30 (m, 1H), 7.19-7.13 (m, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 152.3 (dd, *J* = 245 Hz, *J* = 11.3 Hz), 149.5 (dd, *J* = 246 Hz, *J* = 14.8 Hz), 130.0 (dd, *J* = 8.4 Hz, *J* = 4.0 Hz), 124.6 (dd, *J* = 6.2 Hz, *J* = 4.0 Hz), 118.4 (d, *J* = 16.9 Hz, 1C). (Carbon bounded to the boron atom missing).

²¹² Dubost, E.; Magnelli, R.; Cailly, T.; Legay, R.; Fabis, F.; Rault, S. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5008–5016.

2-Cyano-3-(2,3-difluorophenyl)pyrazine **27**



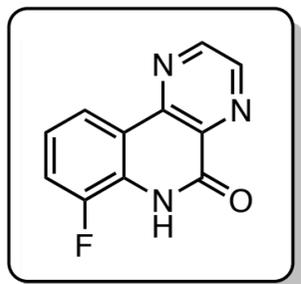
Chemical Formula: C₁₁H₅F₂N₃
Molecular Weight: 217.18 g.mol⁻¹
Appearance: brown oil
Yield: 85%

In a degazed solution of DME/water 2:1 (90 mL), was introduced PPh₃ (514 mg, 1.96 mmol) and Pd(OAc)₂ (219 mg, 0.98 mmol). The solution was heated at 50°C for 15 min and sodium carbonate (4.13 g, 39.0 mmol), (2,3-difluorophenyl)boronic acid **26** (4.00 g, 25.3 mmol) and 3-chloropyrazine-2-carbonitrile (2.70 g, 19.5 mmol) were added. The solution was refluxed for 2 hours. The resulting solution was filtrated on celite, the organic layer was extracted with ethyl acetate (50 mL) and was washed with water (50 mL). The aqueous layer was extracted 3 times with ethyl acetate (3 x 50 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated to dryness. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/AcOEt (80/20) as eluent affording 2-cyano-3-(2-fluoro-3-trimethylsilylphenyl)pyrazine (3.60 g, 16.6 mmol) as a brown oil. Data are consistent with literature values.^[91]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.90 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.75 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.44-7.26 (m, 2H), 7.33-7.26 (m, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 159.9, 151.3 (dd, *J* = 250 Hz, *J* = 11 Hz), 144.9, 143.4 (dd, *J* = 252 Hz, *J* = 14 Hz), 140.3 (dd, *J* = 10 Hz, *J* = 2 Hz), 140.1, 124.0 (dd, *J* = 8 Hz, *J* = 6 Hz), 119.4, 118.7 (d, *J* = 4 Hz), 115.5 (d, *J* = 17 Hz), 113.4.

7-Fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one **28**



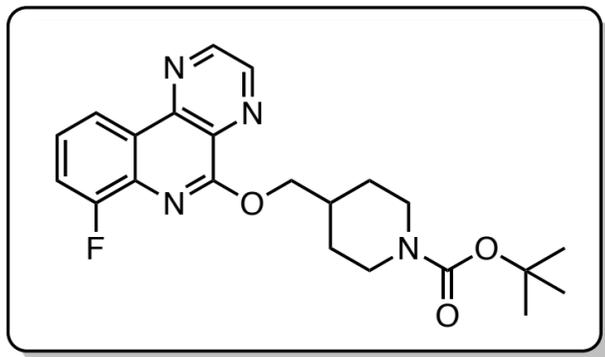
Chemical Formula: C₁₁H₆FN₃O
Molecular Weight: 215.19 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 84%

Starting from 2-cyano-3-(2,3-difluorophenyl)pyrazine **28** (2.40 g, 9.71 mmol), 7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one was prepared according to the literature procedure and was obtained as a beige solid (1.75 g, 8.16 mmol). Data are consistent with literature values. ^[91]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.09 (s, 1H), 9.11 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.38 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.56 (ddd, *J* = 1.2 Hz, *J* = 8.0 Hz and *J* = 10.9 Hz, 1H), 7.33 (td, *J* = 8.0 Hz and *J* = 5.0 Hz, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 160.7, 149.3 (d, *J* = 245 Hz), 146.8, 146.4 (d, *J* = 4Hz), 146.3, 138.0, 126.9 (d, *J* = 11 Hz), 122.8 (d, *J* = 8 Hz), 119.7 (d, *J* = 2 Hz), 119.5 (d, *J* = 4 Hz), 116.8 (d, *J* = 20 Hz).

Tert-butyl 4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **29**



Chemical Formula: C₂₂H₂₅FN₄O₃
Molecular Weight: 412.47 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 63%

In a round bottom flask, oxalyl chloride (9.6 mL, 0.12 mol) and DMF (10.3 mL, 0.12 mol) were added to chloroform (20 mL) at 0°C and the solution was stirred during 3 hours at room temperature. 7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one **28** (2.15 g, 11.6 mmol) was added to the mixture and the solution was refluxed for 2 hours. The resulting mixture was carefully hydrolysed with water and the pH was adjusted to 10 using an aqueous ammonia solution (28%). The resulting solution was extracted with dichloromethane (3 x 50 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated affording the expected chlorimine.

In a round bottom flask, NaH (512 mg, 12.8 mmol) was added to a solution of *tert*-butyl-4-(hydroxymethyl)piperidine-1-carboxylate **9** (2.75 g, 12.8 mmol) in dry DMF (50 mL) under N₂ at 0°C. The reaction mixture was stirred for 15 minutes, warmed to room temperature and was stirred for 15 minutes. The chlorimine obtained above was added and the reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Water (30 mL) was carefully added and the resulting mixture was extracted with ethyl acetate (3 x 50 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The crude product was then purified by silica gel chromatography using CH₂Cl₂/AcOEt (100/0 to 80/20) as eluent affording the expected product (3.01 g, 7.31 mmol) as a beige solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.67-8.63 (m, 1H), 7.53-7.45 (m, 2H), 4.63 (d, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 4.24-4.09 (m, 2H), 2.86-2.70 (m, 2H), 2.34-2.21 (m, 1H), 1.99-1.89 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.44-1.31 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.3, 157.0 (d, *J* = 253 Hz), 155.0, 147.9, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 133.7 (d, *J* = 11 Hz), 131.4, 125.4 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 119.7 (d, *J* = 4 Hz), 116.7 (d, *J* = 20 Hz), 79.5, 71.7, 43.4 (2C), 35.8, 29.1 (2C), 28.6 (3C).

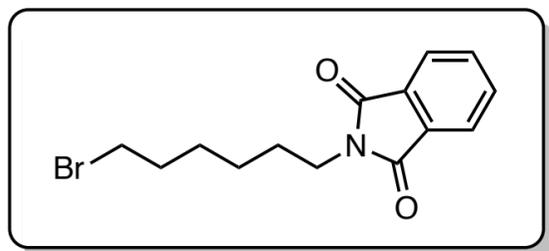
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.2 (t, ³*J* = 7.6 Hz).

IR (KBr): ν = 2946, 2845, 1694, 1594, 1477, 1235, 1145, 786 cm⁻¹.

mp: 174-176°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₂H₂₅FN₄NaO₃ [M+Na]⁺ 435.1805, found 435.1808.

2-(4-Bromohexyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **30**



Chemical Formula: C₁₄H₁₆BrNO₂

Molecular Weight: 310.19 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 92%

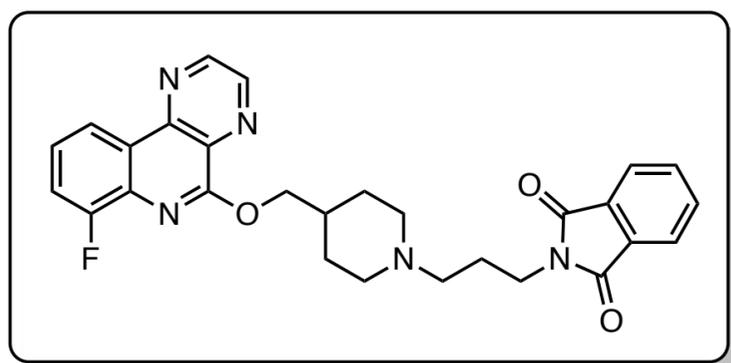
In a round bottom flask, phthalimide (2.00 g, 13.6 mmol), potassium carbonate (4.32 g, 40.8 mmol) and 1,4-dibromohexane (6.30 mL, 40.8 mmol) were dissolved in acetone (40 mL). The solution was refluxed overnight and cooled down to room temperature. The solution was evaporated and water (50 mL) was added. The solution was extracted with dichloromethane (3 x 50 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. Petroleum ether (20 mL) was added in the crude product and the mixture was stirred at 0°C until precipitation. The white precipitate was filtrated and washed with petroleum ether (2 x 20 mL) affording the expected product as a white solid. Data are consistent with literature values.
[213]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.86-7.78 (m, 2H), 7.74-7.68 (m, 2H), 3.68 (t, ³J = 6.9 Hz, 2H), 3.39 (t, ³J = 6.7 Hz, 2H), 1.89-1.79 (m, 2H), 1.74-1.63 (m, 2H), 1.53-1.43 (m, 2H), 1.41-1.31 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.6 (2C), 134.0 (2C), 132.3 (2C), 123.3 (2C), 38.0, 33.9, 32.7, 28.6, 27.9, 26.2.

²¹³ Sang, Z.; Wang, K.; Wang, H.; Yu, L.; Wang, H.; Ma, Q.; Ye, M.; Han, X.; Liu, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 5053–5059.

2-(3-(4-(((7-Fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)propyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **31a**



Chemical Formula: C₂₈H₂₆FN₅O₃
Molecular Weight: 499.55 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 84%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **29** (208 mg, 0.50 mmol) and following the **general procedure A**.

The crude product was then dissolved in acetonitrile (15 mL) and *N*-(3-bromopropyl)phthalimide (155 mg, 0.58 mmol) and triethylamine (0.16 mL, 1.2 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 12 hours and the white precipitate formed was filtered, washed with acetonitrile (2 x 20 mL) affording the expected product without further purification as a white solid (284 mg, 0.47 mmol)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.70-8.64 (m, 1H), 7.87-7.81 (m, 2H), 7.74-7.68 (m, 2H), 7.54-7.46 (m, 2H), 4.51 (d, ³*J* = 7.0 Hz, 2H), 3.76 (t, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 2.96-2.86 (m, 2H), 2.42 (t, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 2.10-1.97 (m, 1H), 1.95-1.81 (m, 6H), 1.30-1.14 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.7 (2C), 158.4, 157.1 (d, *J* = 254 Hz), 147.9, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 134.0 (2C), 133.9 (d, *J* = 8 Hz), 132.5 (2C), 131.6, 125.3 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 123.3 (2C), 119.7 (d, *J* = 4 Hz), 116.7 (d, *J* = 20 Hz), 72.1, 56.7, 53.3 (2C), 37.0, 35.4, 29.3 (2C), 25.6.

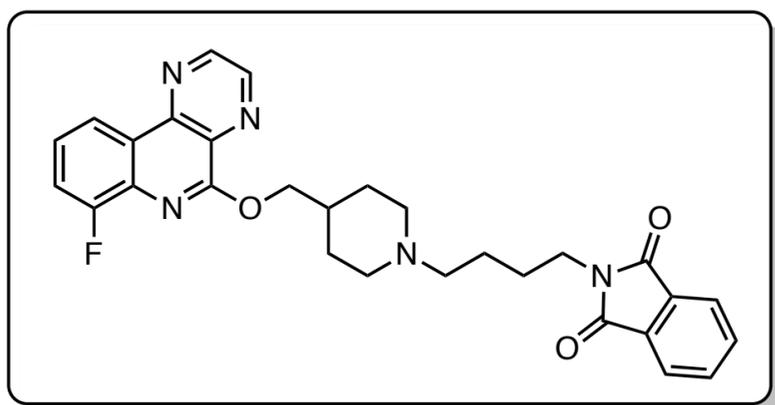
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.1 (t, ³*J* = 7.7 Hz).

IR (KBr): ν = 2944, 1714, 1593, 1332, 1235, 718 cm⁻¹.

mp: 195-197 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₈H₂₇FN₅O₃ [M+H]⁺ 500.2101, found 500.2098.

2-(3-(4-(((7-Fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)butyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **31b**



Chemical Formula: C₂₉H₂₈FN₅O₃
Molecular Weight: 513.57 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 85%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **29** (500 mg, 1.15 mmol) and following the **general procedure A**.

The crude product was then dissolved in acetonitrile (20 mL) and *N*-(3-bromobutyl)phthalimide (486 mg, 1.73 mmol) and triethylamine (0.31 mL, 2.3 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 12 hours and the white precipitate formed was filtered, washed with acetonitrile (2 x 20 mL) affording the expected product without further purification as a white solid (502 mg, 0.98 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.69-8.63 (m, 1H), 7.86-7.80 (m, 2H), 7.73-7.67 (m, 2H), 7.54-7.46 (m, 2H), 4.64 (d, ³*J* = 6.5 Hz, 2H), 3.70 (t, ³*J* = 6.9 Hz, 1H), 3.14-3.01 (m, 2H), 2.52-2.42 (m, 2H), 2.22-2.04 (m, 4H), 2.04-1.95 (m, 2H), 1.76-1.67 (m, 2H), 1.66-1.53 (m, 4H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.6 (2C), 158.3, 157.1 (d, *J* = 253 Hz), 147.9, 145.7, (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 134.1 (2C), 133.8 (d, *J* = 11 Hz), 132.2 (2C), 131.5, 125.4 (d, *J* = 8 Hz), 125.0 (d, *J* = 2 Hz), 123.3 (2C), 119.7 (d, *J* = 4 Hz), 116.8 (d, *J* = 19 Hz), 71.9, 58.3, 53.2 (2C), 37.8, 35.2, 28.8 (2C), 26.8, 23.9.

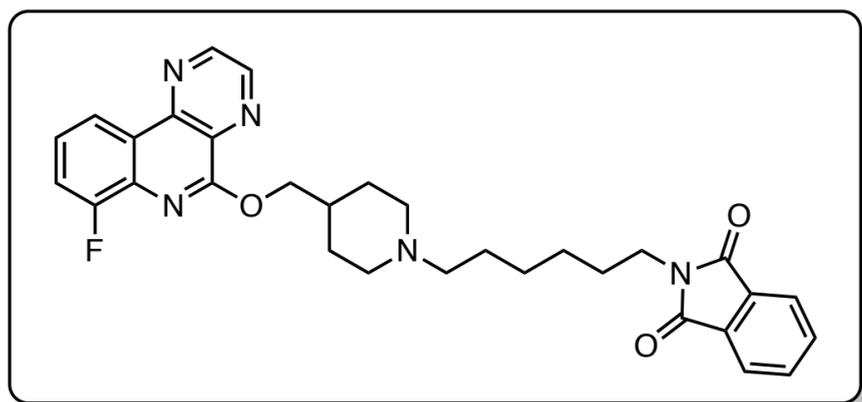
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.1 (t, ³*J* = 7.6 Hz).

IR (KBr): ν = 2932, 1712, 1595, 1365, 1221, 723 cm⁻¹.

mp: 136-138 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₉H₂₉FN₅O₃ [M+H]⁺ 514.2251, found 514.2254.

2-(3-(4-(((7-Fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)hexyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione **31c**



Chemical Formula: C₃₁H₃₂FN₅O₃
Molecular Weight: 541.63 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 89%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **29** (485 mg, 1.2 mmol) and following the **general procedure A**.

The crude product was then dissolved in acetonitrile (20 mL) and *N*-(3-bromohexyl)phthalimide (415 mg, 1.4 mmol) and triethylamine (0.32 mL, 2.4 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 12 hours and the white precipitate formed was filtered, washed with acetonitrile (2 x 20 mL) affording the expected product without further purification as a white solid (578 mg, 1.07 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.69-8.63 (m, 1H), 7.86-7.80 (m, 2H), 7.72-7.67 (m, 2H), 7.54-7.45 (m, 2H), 4.65 (d, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 3.70-3.63 (m, 2H), 3.14-2.98 (m, 2H), 2.50-2.32 (m, 2H), 2.24-1.92 (m, 5H), 1.74-1.49 (m, 6H), 1.42-1.29 (m, 4H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.6 (2C), 158.3, 157.0 (d, *J* = 253 Hz), 147.9, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 134.0 (2C), 133.8 (d, *J* = 11 Hz), 132.2 (2C), 131.5, 125.4 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 123.3 (2C), 119.6 (d, *J* = 4 Hz), 116.8 (d, *J* = 20 Hz), 71.8, 58.8, 53.3 (2C), 38.0, 35.1, 32.3, 28.6 (2C), 27.2, 26.8, 26.4.

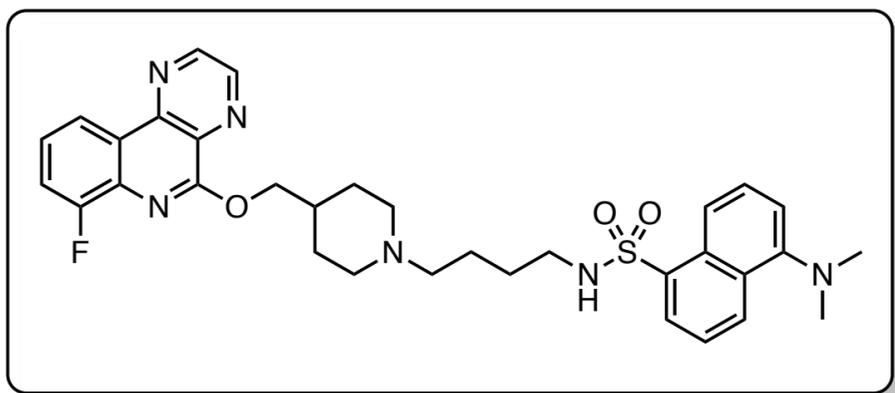
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.0 (t, ³*J* = 7.6 Hz).

IR (KBr): ν = 2928, 1707, 1593, 1433, 1237, 719 cm⁻¹.

mp: 137-140 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₃₁H₃₃FN₅O₃ [M+H]⁺ 542.2567, found 542.2567.

5-(Dimethylamino)-*N*-(4-(4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)butyl)naphthalene-1-sulfonamide **31d**



Chemical Formula: C₃₃H₃₇FN₆O₃S

Molecular Weight: 616.76 g.mol⁻¹

Appearance: beige foam

Yield: 55%

Starting from 2-(3-4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)butyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione (225 mg, 0.44 mmol) **31b** and following the **general procedure B**. The crude product was dissolved in dichloromethane (10 mL) and dansyl chloride (113 mg, 0.42 mmol) and triethylamine (0.12 mL, 0.90 mmol) were added. The solution was stirred at room temperature for 15 minutes. The organic layer was washed with water (15 mL), extracted with dichloromethane (2 x 15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a beige solid (142 mg, 0.23 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.70-8.65 (m, 1H), 8.52-8.47 (m, 1H), 8.42-8.37 (m, 1H), 8.24 (dd, ³*J* = 7.3 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.57 (dd, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 7.53-7.47 (m, 3H), 7.16 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H), 4.67 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.05-2.97 (m, 2H), 2.96-2.91 (m, 2H), 2.87 (s, 6H), 2.34-2.26 (m, 2H), 2.25-2.11 (m, 1H), 2.07-1.96 (m, 4H), 1.75-1.59 (m, 2H), 1.58-1.42 (m, 4H). (Signal to the NH is missing).

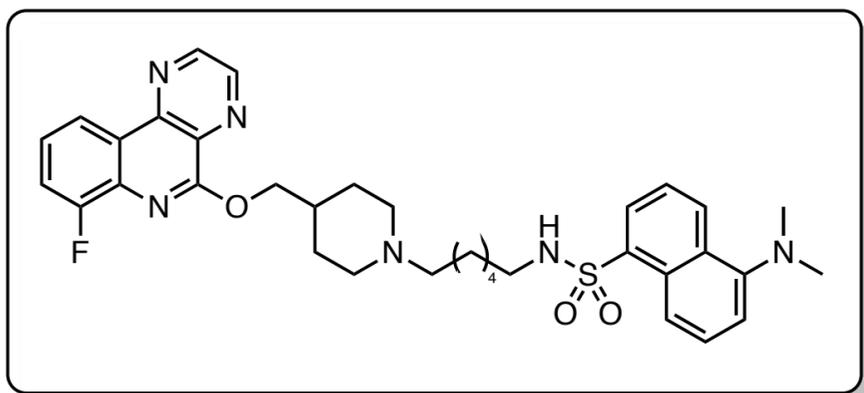
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.4, 157.1 (d, *J* = 253 Hz), 151.9, 147.9, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 135.9, 133.9 (d, *J* = 11 Hz), 131.6, 130.1, 130.0, 130.0, 129.4, 128.0, 125.3 (d, *J* = 8 Hz), 124.9, (d, *J* = 2 Hz), 123.3, 119.6 (d, *J* = 4 Hz), 119.4, 116.7 (d, *J* = 20 Hz), 115.1, 72.1, 58.4, 53.3 (2C), 45.6 (2C), 43.2, 35.4, 28.8 (2C), 28.8, 24.9.

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -125.8 (t, *J* = 7.6 Hz).

IR (KBr): ν = 3431, 2928, 1591, 1466, 1331, 1137 cm⁻¹.

HRMS/ESI: calculated for C₃₃H₃₈FN₆O₃S [M+H]⁺ 617.2706, found 617.2710.

5-(dimethylamino)-*N*-(4-(4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)hexyl)naphthalene-1-sulfonamide **31e**



Chemical Formula: C₃₅H₄₁FN₆O₃S

Molecular Weight: 644.81 g.mol⁻¹

Appearance: beige foam

Yield: 40%

Starting from 2-(3-4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)hexyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione (145 mg, 0.27 mmol) **31c** and following the **general procedure B**. The crude product was dissolved in dichloromethane (7 mL) and dansyl chloride (62 mg, 0.23 mmol) and triethylamine (0.07 mL, 0.54 mmol) were added. The solution was stirred at room temperature for 15 minutes. The organic layer was washed with water (10 mL), extracted with dichloromethane (2 x 10 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a beige solid (59 mg, 0.09 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.02 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.70-8.65 (m, 1H), 8.56-8.51 (m, 1H), 8.30-8.36 (m, 1H), 8.24 (dd, ³*J* = 7.3 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.59-7.47 (m, 3H), 7.18 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 4.64 (d, ³*J* = 6.7 Hz, 2H), 4.60 (br s, 1H), 3.00-2.92 (m, 2H), 2.91-2.84 (m, 8H), 2.30-2.19 (m, 2H), 2.17-2.06 (m, 1H), 2.01-1.90 (m, 4H), 1.60-1.46 (m, 2H), 1.42-1.31 (m, 4H), 1.21-1.07 (m, 4H). (Signal to the NH is missing)

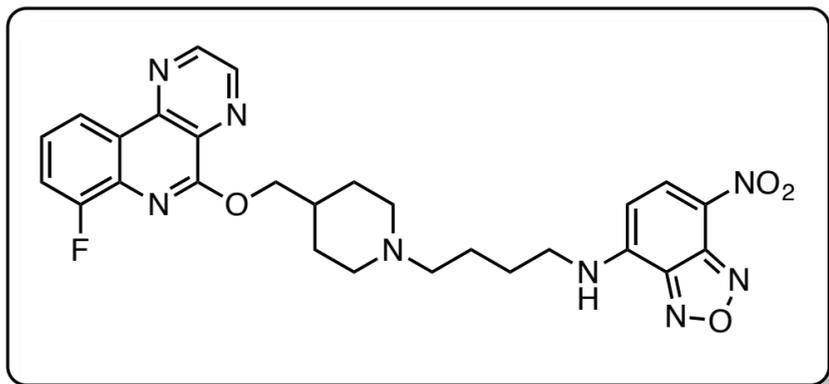
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.4, 157.0 (d, *J* = 254 Hz), 152.2, 147.9, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 134.9, 133.9 (d, *J* = 11 Hz), 131.6, 130.5, 130.0, 129.8, 129.8, 128.5, 125.3 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 123.3, 119.7 (d, *J* = 4 Hz), 118.8, 116.8 (d, *J* = 20 Hz), 115.3, 72.1, 59.0, 53.6 (2C), 45.6 (2C), 43.4, 35.5, 29.6, 29.2 (2C), 27.1, 26.8, 26.4.

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.0 (t, *J* = 7.7 Hz)

IR (KBr): ν = 3422, 2932, 1595, 1477, 1327, 1141, 789 cm⁻¹.

HRMS/ESI: calculated for C₃₅H₄₂FN₆O₃S [M+H]⁺ 645.3019, found 645.3023.

N-(4-(4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)butyl)-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-amine **31f**



Chemical Formula: C₂₇H₂₇FN₈O₄
Molecular Weight: 546.56 g.mol⁻¹
Appearance: brown solid
Yield: 42%

Starting from 2-(3-4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)butyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione (250 mg, 0.50 mmol) **31b** and following the **general procedure B**. The crude product was then dissolved in THF (8 mL) and cooled down to 0°C. 4-Chloro-7-nitrofurazan (90 mg, 0.45 mmol) in THF (2 mL) was slowly added and the mixture was stirred at room temperature and monitored by TLC. THF was evaporated and the residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a brown solid (103 mg, 0.19 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.00 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.68-8.62 (m, 1H), 8.45 (d, ³*J* = 8.7 Hz, 1H), 7.54-7.44 (m, 2H), 6.11 (d, ³*J* = 8.7 Hz, 1H), 4.67 (d, ³*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.57-3.42 (m, 2H), 3.15-3.03 (m, 2H), 2.57-2.47 (m, 2H), 2.27-2.11 (m, 3H), 2.08-1.99 (m, 2H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.84-1.66 (m, 4H). (Signal to the NH is missing)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.3, 157.0 (d, *J* = 253 Hz), 147.9, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 144.5, 144.4, 144.2, 136.8, 133.7 (d, *J* = 12 Hz), 131.4, 125.4 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 123.1, 119.7 (d, *J* = 4 Hz), 116.8 (d, *J* = 20 Hz), 98.5, 71.8, 57.1, 53.3 (2C), 44.2, 35.4, 28.6 (2C), 25.9, 24.6.

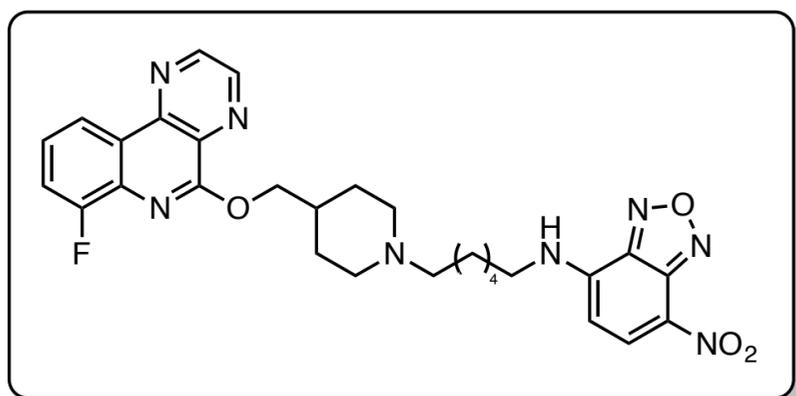
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.1 (t, *J* = 7.6 Hz).

IR (KBr): ν = 3421, 2926, 1590, 1303, 1233, 1038 cm⁻¹.

mp: 185-187 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₇H₂₈FN₈O₄ [M+H]⁺ 547.2219, found 547.2218.

N-(4-(4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)hexyl)-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-amine **31g**



Chemical Formula: C₂₉H₃₁FN₈O₄
Molecular Weight: 574.62 g.mol⁻¹
Appearance: brown solid
Yield: 32%

Starting from 2-(3-4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)hexyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione (145 mg, 0.27 mmol) **31c** and following the **general procedure B**. The crude product was then dissolved in THF (7 mL) and cooled down to 0°C. 4-Chloro-7-nitrofurazan (45 mg, 0.23 mmol) in THF (1 mL) was slowly added and the mixture was stirred at room temperature and monitored by TLC. THF was then evaporated and the residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a brown solid (42 mg, 0.07 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, ³*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.98 (d, ³*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.66-8.58 (m, 1H), 8.39 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.54-7.51 (m, 2H), 6.15 (br s, 1H), 4.67 (d, ³*J* = 6.4 Hz, 2H), 3.61-3.40 (m, 4H), 2.96-2.81 (m, 2H), 2.80-2.60 (m, 2H), 2.44-2.30 (m, 1H), 2.28-2.16 (m, 2H), 2.11-1.96 (m, 2H), 1.93-1.77 (m, 4H), 1.58-1.44 (m, 4H). (Signal to the NH is missing)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 157.9, 156.9 (d, *J* = 253 Hz), 148.1, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 144.5, 144.3, 144.2, 136.8, 133.5 (d, *J* = 11 Hz), 131.1, 125.5 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 123.1, 119.7 (d, *J* = 4 Hz), 116.8 (d, *J* = 20 Hz), 98.6, 70.7, 57.4, 52.6 (2C), 43.7, 33.8, 28.0, 26.7 (2C), 26.3, 26.2, 24.3.

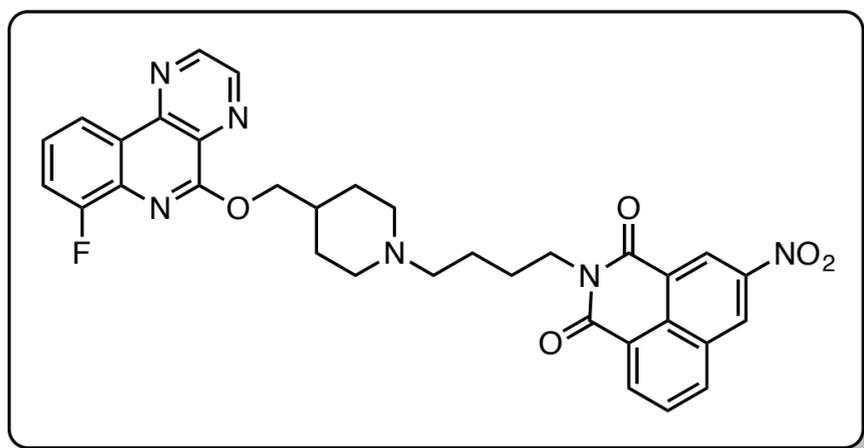
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.2 (t, *J* = 7.8 Hz).

IR (KBr): ν = 3428, 2937, 1592, 1308, 1227, 1134, 1040 cm⁻¹.

mp: 164-166 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₉H₃₂FN₈O₄ [M+H]⁺ 575.2533, found 575.2531.

3-(4-(4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)butyl)-11-nitro-3-azatricyclo[7.3.1.0^{5,13}]trideca-1(13)11-pentaene-2,4-dione **31h**



Chemical Formula: C₃₃H₂₉FN₆O₅
Molecular Weight: 608.63 g.mol⁻¹
Appearance: red solid
Yield: 35%

Starting from 2-(3-4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)butyl)-2,3-dihydro-1*H*-isoindole-1,3-dione (150 mg, 0.29 mmol) **31b** and following the **general procedure B**. The crude product was dissolved in AcOH (5 mL) and 3-nitro-1,8-naphthalic anhydride (70 mg, 0.28 mmol) was added. The solution was heated at 120°C for 12 hours and cooled down to room temperature. AcOH was evaporated and the residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a red solid (62 mg, 0.10 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.30 (d, ³*J* = 2.2 Hz, 1H), 9.13 (d, ³*J* = 2.2 Hz, 1H), 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.77 (dd, ³*J* = 7.3 Hz and ⁴*J* = 1.0 Hz, 1H), 8.69-8.64 (m, 1H), 8.41 (dd, ³*J* = 8.3 Hz and ⁴*J* = 1.0 Hz, 1H), 7.94 (dd, ³*J* = 8.3 Hz and ³*J* = 7.0 Hz, 1H), 7.54-7.46 (m, 2H), 4.63 (d, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 4.27-4.19 (m, 2H), 3.09-2.98 (m, 2H), 2.52-2.39 (m, 2H), 2.21-1.91 (m, 5H), 1.84-1.73 (m, 2H), 1.72-1.62 (m, 2H), 1.61-1.47 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.2, 162.6, 158.4, 157.0 (d, *J* = 253 Hz), 147.9, 146.5, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 135.7, 134.6, 133.8 (d, *J* = 11 Hz), 131.5, 131.1, 130.3, 129.2, 129.1, 125.3 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 124.8, 124.4, 123.3, 119.7 (d, *J* = 4 Hz), 116.8, (d, *J* = 20 Hz), 72.0, 58.7, 53.5 (2C), 40.7, 35.5, 29.2 (2C), 26.3, 24.5.

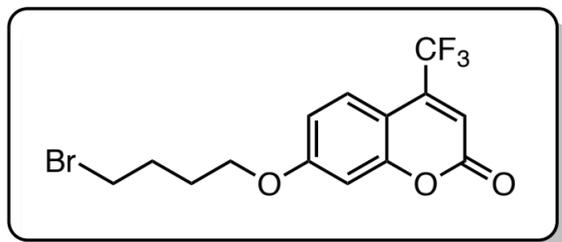
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.1 (t, *J* = 7.8 Hz).

IR (KBr): ν = 3434, 2936, 1708, 1667, 1594, 1330, 1086 cm⁻¹.

mp: 193-195 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₃₃H₂₀FN₆O₅ [M+H]⁺ 609.2269, found 609.2262.

7-(4-Bromobutoxy)-4-(trifluoromethyl)-2*H*-chromen-2-one **33**



Chemical Formula: C₁₄H₁₂BrF₃O₃

Molecular Weight: 365.15 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 46%

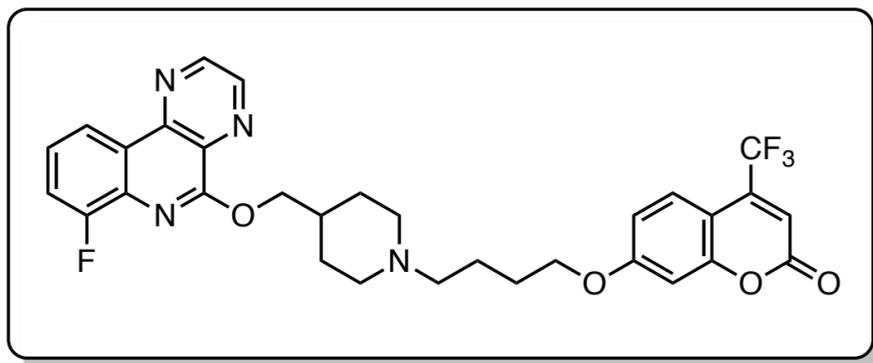
Starting from 7-hydroxy-4-(trifluoromethyl)-2*H*-chromen-2-one **32** (200 mg, 0.87 mmol), 7-(4-bromobutoxy)-4-(trifluoromethyl)-2*H*-chromen-2-one was prepared according to the literature procedure and was obtained as a white solid (146 mg, 0.40 mmol). Data are consistent with literature.^[214]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.65-7.69 (m, 1H), 6.90 (dd, ³*J* = 9.1 Hz and ⁴*J* = 2.4 Hz, 1H), 6.86 (d, ⁴*J* = 2.4 Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 4.09 (t, ³*J* = 6.1 Hz, 2H), 3.50 (t, ³*J* = 6.1 Hz, 2H), 2.13-1.97 (m, 4H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 162.9, 159.5, 156.5, 141.7 (q, *J* = 33 Hz), 126.5 (q, *J* = 2 Hz), 121.7 (q, *J* = 276 Hz), 113.8, 112.4 (q, *J* = 6 Hz), 107.2, 102.0, 67.9, 33.2, 29.4, 27.7.

²¹⁴ Chen, Y.; Wang, S.; Xu, X.; Liu, X.; Yu, M.; Zhao, S.; Liu, S.; Qiu, Y.; Zhang, T.; Liu, B.-F.; Zhang, G. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 4671–4690.

7-(4-(4-(((7-Fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidin-1-yl)butoxy)-4-(trifluoromethyl)-2*H*-chromen-2-one **34**



Chemical Formula: C₃₁H₂₈F₄N₄O₄

Molecular Weight: 596.58 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 56%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate (100 mg, 0.24 mmol) **29** and following the **general procedure A**.

The crude product was dissolved in acetonitrile (12 mL) and 7-(4-bromobutoxy)-4-(trifluoromethyl)-2*H*-chromen-2-one (106 mg, 0.29 mmol) **33** and triethylamine (0.06 mL, 0.48 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 18 hours and acetonitrile was evaporated. The resulting mixture was dissolved in ethyl acetate (15 mL), washed with water (10 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a white solid (80 mg, 0.123 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.09 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.01 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.70-8.65 (m, 1H), 8.64-8.58 (m, 1H), 7.55-7.47 (m, 2H), 6.90 (dd, ³*J* = 9.1 Hz, ⁴*J* = 2.6 Hz, 1H), 6.85 (d, ⁴*J* = 2.6 Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 4.68 (d, ³*J* = 6.7 Hz, 2H), 4.12-4.04 (m, 2H), 3.30-3.16 (m, 2H), 2.72-2.58 (m, 2H), 2.39-2.18 (m, 3H), 2.15-2.04 (m, 2H), 1.92-1.84 (m, 4H), 1.83-1.70 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.0, 159.6, 158.2, 157.2 (d, *J* = 253 Hz), 156.4, 148.0, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 141.7 (q, *J* = 33 Hz), 133.7 (d, *J* = 11 Hz), 131.4, 126.5 (q, *J* = 2 Hz), 125.5 (d, *J* = 8 Hz), 125.0 (d, *J* = 2 Hz), 121.7 (q, *J* = 273 Hz), 119.7 (d, *J* = 4 Hz), 116.8 (d, *J* = 20 Hz), 113.7, 112.3 (q, *J* = 6 Hz), 107.2, 102.0, 71.5, 68.4, 58.1, 53.2 (2C), 34.8, 28.3 (2C), 27.0, 27.8.

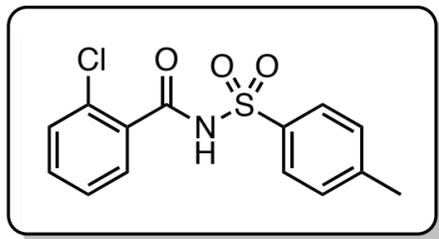
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -64.7, -126.1.

IR (KBr): ν = 3451, 2945, 1743, 1614, 1278, 1140, 1086 cm⁻¹.

mp: 158-160 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₃₁H₂₉F₄N₄O₄ [M+H]⁺ 597.2117, found 597.2125.

2-Chloro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35a**



Chemical Formula: C₁₄H₁₂ClNO₃S

Molecular Weight: 309.76 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 93%

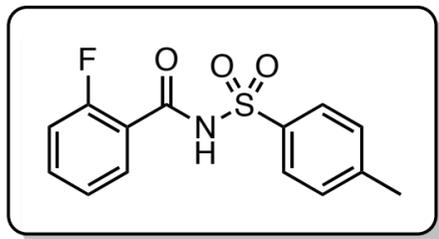
Starting from 2-chlorobenzoyl chloride (4.2 mL, 33 mmol) and following the **general procedure D**, 2-Chloro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (9.4 g, 30.6 mmol). Data are consistent with literature values. ^[215]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.89 (bs, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.72 (dd, *J* = 1.6 Hz, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.46-7.32 (m, 5H), 2.45 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.1, 145.4, 135.2, 133.2, 131.5, 131.2, 130.9, 130.6, 129.6 (2C), 128.7 (2C), 127.5, 21.8.

²¹⁵ Péron, F.; Fossey, C.; Cailly, T.; Fabis, F. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1827–1829.

2-Fluoro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35b**



Chemical Formula: C₁₄H₁₂FNO₃S

Molecular Weight: 293.31 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

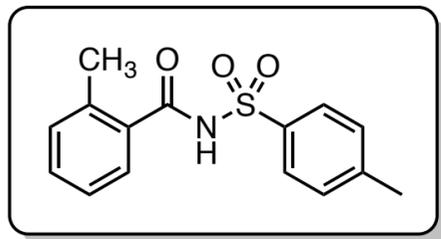
Yield: 83%

Starting from 2-fluorobenzoyl chloride (4.0 mL, 34 mmol) and following the **general procedure D**, 2-Fluoro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (7.1 g, 28.2 mmol). Data are consistent with literature values. ^[172]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.99 (bs, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.00 (td, *J* = 1.8 Hz, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.59-7.53 (m, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.26 (td, *J* = 0.9 Hz, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.19-7.14 (m, 1H), 2.44 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 160.8 (d, *J* = 249 Hz), 160.2 (d, *J* = 3 Hz), 145.3, 135.6 (d, *J* = 10Hz), 135.4, 132.4, 129.6 (2C), 128.8 (2C), 125.4 (d, *J* = 3 Hz), 118.5 (d, *J* = 11 Hz), 116.4 (d, *J* = 24 Hz).

2-Methyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35c**



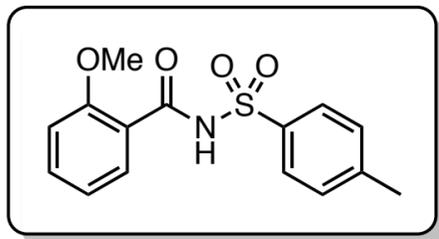
Chemical Formula: C₁₅H₁₅NO₃S
Molecular Weight: 289.35 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 90%

Starting from 2-methylbenzoic acid (1.0 g, 7.3 mmol) and following the **general procedure E**, 2-Methyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (1.6 g, 5.53 mmol). Data are consistent with literature values. ^[215]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.72 (bs, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.49-7.30 (m, 4H), 7.18 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.34 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 166.2, 145.2, 138.0, 135.5, 132.1, 131.8, 131.7, 129.6 (2C), 128.5 (2C), 127.3, 126.0, 21.7, 20.1.

2-Methoxy-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35d**



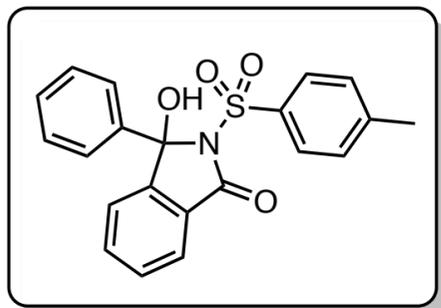
Chemical Formula: C₁₅H₁₅NO₄S
Molecular Weight: 305.35 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 92%

Starting from 2-methoxybenzoyl chloride (4.0 mL, 23 mmol) and following the **general procedure D**, 2-Methoxy-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (6.6 g, 21.2 mmol). Data are consistent with literature values. ^[215]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 10.37 (bs, 1H), 8.09-8.03 (m, 3H), 7.52 (td, J = 1.8 Hz, J = 7.8 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.06 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.05 (s, 3H), 2.43 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 162.3, 157.8, 144.8, 136.0, 135.1, 132.8, 129.5 (2C), 128.7 (2C), 121.8, 118.8, 111.7, 56.5, 21.7.

3-Hydroxy-3-phenyl-2-(*p*-tolylsulfonyl)isoindolin-1-one **35e**



Chemical Formula: C₂₁H₁₇NO₄S
Molecular Weight: 379.43 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 55%

Starting from 2-benzoylbenzoic acid (2.0 g, 10.8 mmol) and following the **general procedure E**, 3-Hydroxy-3-phenyl-2-(*p*-tolylsulfonyl)isoindolin-1-one was isolated as a white solid (1.1 g, 2.90 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.79 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.57 (td, *J* = 7.6, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.50-7.40 (m, 3H), 7.37-7.29 (m, 4H), 7.23 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 5.12 (bs, 1H), 2.40 (s, 3H).

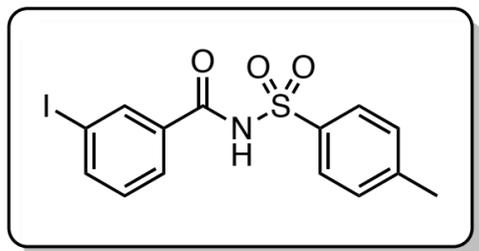
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 165.5, 148.0, 145.2, 139.9, 135.6, 134.9, 130.1 (2C), 129.3 (2C), 129.0, 128.9 (2C), 128.6 (2C), 127.0, 125.4, 124.7, 123.2, 94.7, 21.7.

IR (KBr): ν = 3245, 1701, 1696, 1597, 1454, 1362, 1267 cm⁻¹.

mp: 174-176°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₁H₁₇NNaO₄S [M+Na]⁺ 402.0776, found 402.0778.

3-Iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35f**



Chemical Formula: C₁₄H₁₂INO₃S
Molecular Weight: 401.22 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 78%

Starting from 3-iodobenzoic acid (1.0 g, 3.3 mmol) and following the **general procedure E**, 3-Iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (1.0 g, 2.50 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.42 (bs, 1H), 8.15 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.15 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 2.44 (s, 3H).

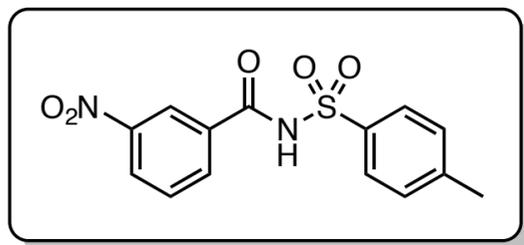
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.0, 145.5, 142.2, 136.9, 135.2, 133.0, 130.5, 129.7 (2C), 128.7 (2C), 126.9, 94.3, 21.8.

IR (KBr): ν = 3291, 3065, 1693, 1597, 1438, 1343, 1163 cm⁻¹.

mp: 146-148°C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₄H₁₃INO₃S [M+H]⁺ 401.9661, found 402.9659.

3-Nitro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35g**



Chemical Formula: C₁₄H₁₂N₂O₅S

Molecular Weight: 320.32 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

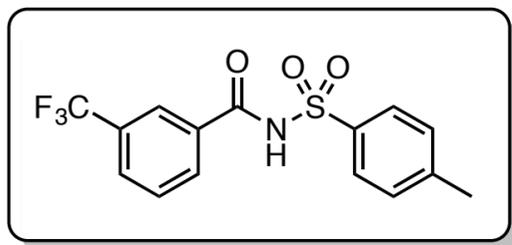
Yield: 72%

Starting from 3-nitrobenzoyl chloride (1.2 g, 6.4 mmol) and following the **general procedure D**, 3-Nitro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (1.4 g, 4.61 mmol). Data are consistent with literature values. ^[215]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.36 (bs, 1H), 8.68 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.45-8.37 (m, 1H), 8.17 (dt, *J* = 7.8, *J* = 1.4 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.67 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H), 2.46 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 162.2, 149.5, 148.3, 134.9, 133.6, 133.0, 130.3, 129.8 (2C), 128.8 (2C), 127.8, 122.9, 21.8.

3-(Trifluoromethyl)-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35h**



Chemical Formula: C₁₅H₁₂F₃NO₃S

Molecular Weight: 343.32 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

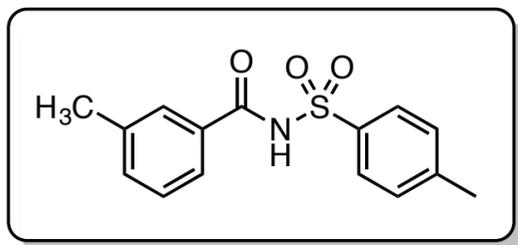
Yield: 37%

Starting from 3-(trifluoromethyl)benzoyl chloride (1.0 mL, 7.3 mmol) and following the **general procedure D**, 3-(Trifluoromethyl)-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (0.7 g, 2.1 mmol). Data are consistent with literature values. ^[215]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.18 (bs, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.99 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 2.45 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 162.9, 145.6, 135.0, 132.1, 131.5 (q, *J* = 31 Hz), 130.9, 129.9 (q, *J* = 4 Hz), 129.7 (2C), 129.6, 128.8 (2C), 125.0 (q, *J* = 4 Hz), 121.1 (q, *J* = 263 Hz), 21.8.

3-Methyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35i**



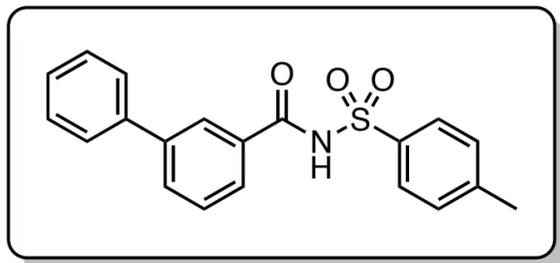
Chemical Formula: C₁₅H₁₅NO₃S
Molecular Weight: 289.35 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 90%

Starting from 3-methylbenzoyl chloride (1.7 mL, 12.9 mmol) and following the **general procedure D**, 3-methyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (3.0 g, 10.0 mmol). Data are consistent with literature values. ^[215]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.96 (bs, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.60-7.56 (m, 2H), 7.38 - 7.30 (m, 4H), 2.44 (s, 3H), 2.36 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 164.2, 145.2, 139.0, 135.5, 134.3, 131.2, 129.6 (2C), 128.9, 128.7 (2C), 128.3, 124.7, 21.7, 21.3.

3-Phenyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35j**



Chemical Formula: C₂₀H₁₇NO₃S
Molecular Weight: 351.42 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 86%

In a degassed solution of DME/water 1:1 (10 mL), was introduced PPh₃ (15 mg, 0.06 mmol) and Pd(OAc)₂ (7.0 mg, 0.03 mmol). The solution was heated at 50°C for 15 min and sodium carbonate (260 mg, 2.5 mmol), 3-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (200 mg, 0.5 mmol), phenylboronic acid (90 mg, 0.8 mmol) were added. The solution was then refluxed for 21 hours. The resulting solution was filtrated on celite, the organic layer was extracted with ethyl acetate (50 mL) and was washed with water (50 mL). The aqueous layer was neutralized with a 1 M aqueous HCl solution (5 mL) was then extracted 3 times with ethyl acetate (3 x 50 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated to dryness. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/AcOEt (80/20) as eluent affording 3-Phenyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (150 mg, 0.43 mmol) as a white powder.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.03 (bs, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.01 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.76 (dd, *J* = 14.9, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.58-7.53 (m, 2H), 7.51 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.1, *J* = 6.5 Hz, 2H), 7.39-7.32 (m, 3H), 2.44 (s, 3H).

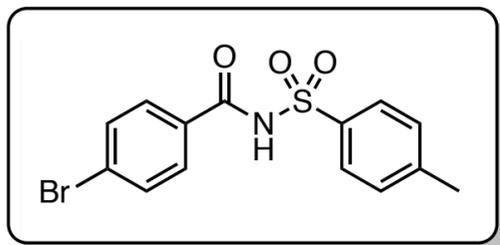
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 164.8, 145.2, 141.9, 139.4, 135.5, 131.9, 131.8, 129.7, 129.4, 128.9, 128.6, 128.0, 127.1, 126.8, 126.6, 21.7.

IR (KBr): ν = 3436, 3240, 1704, 1595, 1482, 1410, 1335, 1157 cm⁻¹.

mp: 156-158°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₀H₁₈NO₃S [M+H]⁺ 352.1007, found 352.1004.

4-Bromo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **35k**



Chemical Formula: C₁₄H₁₂BrNO₃S

Molecular Weight: 354.22 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

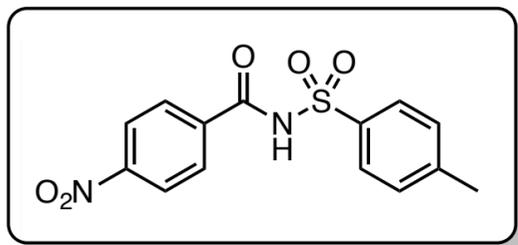
Yield: 73%

Starting from 4-bromobenzoyl chloride (1.8 g, 8.3 mmol) and following the **general procedure D**, 4-bromo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (1.5 g, 4.23 mmol). Data are consistent with literature values. ^[215]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.06 (bs, 1H), 8.04 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H), 7.67 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 7.37 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H), 2.45 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.4, 163.3, 145.5, 135.2, 132.3 (2C), 130.0, 129.7 (2C), 129.3 (2C), 128.7 (2C), 21.8.

4-Nitro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **351**



Chemical Formula: C₁₄H₁₂N₂O₅S

Molecular Weight: 320.32 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

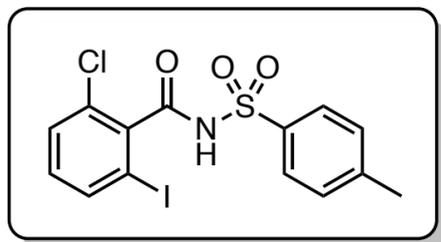
Yield: 59%

Starting from 4-nitrobenzoyl chloride (2.4 g, 12.9 mmol) and following the **general procedure D**, 4-Nitro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide was isolated as a white solid (2.2 g, 6.90 mmol). Data are consistent with literature values. ^[172]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.39 (bs, 1H), 8.25 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 8.13 – 7.87 (m, 4H), 7.36 (m, 2H), 2.45 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.7, 150.6, 145.9, 137.5, 136.0, 129.8 (2C), 129.0 (2C), 128.7 (2C), 124.1 (2C), 21.7.

2-Chloro-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36a**



Chemical Formula: C₁₄H₁₁ClINO₃S

Molecular Weight: 435.66 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

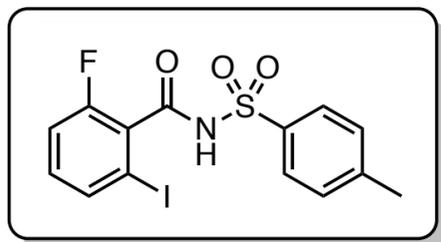
Yield: 50%

Starting from 2-chloro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (190 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/diethylether (60/40) as eluent affording the expected product as a white solid (130 mg, 0.30 mmol). Data are consistent with literature values. ^[172]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.62 (bs, 1H), 8.02 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.66 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.02 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.47 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.7, 145.6, 138.9, 137.7, 134.68, 132.3, 131.2, 129.6 (2C), 129.4, 128.9 (2C), 92.0, 21.8.

2-Fluoro-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36b**



Chemical Formula: C₁₄H₁₁FINO₃S

Molecular Weight: 419.21 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

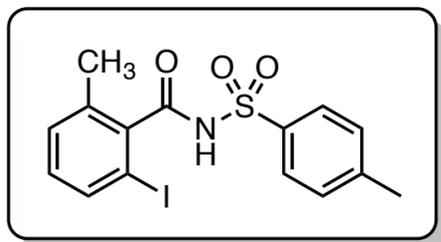
Yield: 68%

Starting from 2-fluoro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (180 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/diethylether (60/40) as eluent affording the expected product as a white solid (170 mg, 0.41 mmol). Data are consistent with literature values. ^[172]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.50 (bs, 1H), 8.01 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.60 (dd, *J* = 6.8, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.15-7.05 (m, 2H), 2.47 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 161.9, 158.7 (d, *J* = 255 Hz), 145.6, 135.2 (d, *J* = 4 Hz), 134.9, 133.2 (d, *J* = 9 Hz), 129.6 (2C), 128.8 (2C), 128.1 (d, *J* = 20 Hz), 115.9 (d, *J* = 21 Hz), 92.4 (d, *J* = 2 Hz), 21.9.

2-Methyl-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36c**



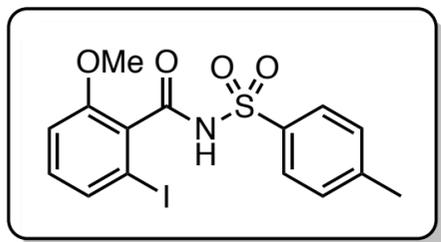
Chemical Formula: C₁₅H₁₄INO₃S
Molecular Weight: 415.25 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 76%

Starting from 2-methyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (173 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/diethylether (60/40) as eluent affording the expected product as a white solid (190 mg, 0.46 mmol). Data are consistent with literature values. ^[172]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.03 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.56 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.97 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.27 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 166.7, 145.4, 139.9, 137.0, 136.5, 134.9, 131.4, 130.1, 129.5 (2C), 128.9 (2C), 91.1, 21.8, 19.6.

2-Methoxy-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36d**



Chemical Formula: C₁₅H₁₄INO₄S
Molecular Weight: 431.24 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 76%

Starting from 2-methoxy-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (173 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by reverse gel chromatography using water/acetonitrile (80/20 to 50/50) as eluent affording the expected product as a white solid (190 mg, 0.44 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.56 (bs, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.33 (dd, *J* = 8.3, 8.2 Hz, 3H), 7.01 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.44 (s, 3H).

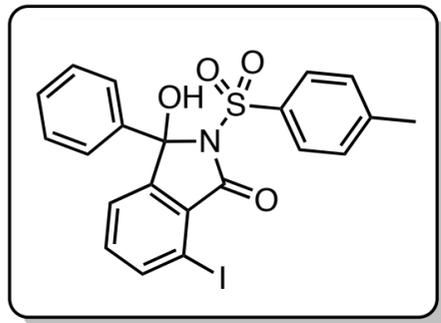
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 164.6, 157.0, 145.2, 135.3, 132.7, 131.6, 129.5 (2C), 128.9, 128.8 (2C), 111.0, 93.0, 56.2, 21.9.

IR (KBr): ν = 3222, 1715, 1585, 1566, 1459, 1429, 1166 cm⁻¹.

mp: 86-88°C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₅H₁₅INO₄S [M+H]⁺ 431.9766, found 431.9769.

3-Hydroxy-7-iodo-3-phenyl-2-(*p*-tolylsulfonyl)isoindolin-1-one **36e**



Chemical Formula: C₂₁H₁₆INO₄S

Molecular Weight: 505.33 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 82%

Starting from 3-Hydroxy-3-phenyl-2-(*p*-tolylsulfonyl)isoindolin-1-one (227 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/diethylether (60/40) as eluent affording the expected product as a white solid (250 mg, 0.50 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.91 (dd, *J* = 7.6, *J* = 0.8 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.45-7.39 (m, 2H), 7.37-7.31 (m, 3H), 7.31-7.27 (m, 1H), 7.26-7.20 (m, 3H), 5.09 (s, 1H), 2.42 (s, 3H).

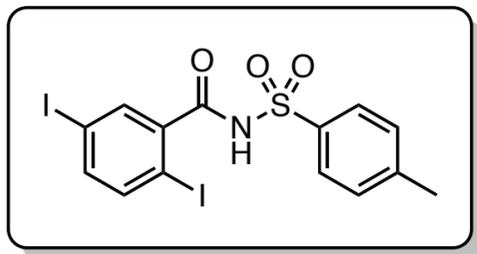
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.9, 150.5, 145.4, 141.7, 139.5, 135.5, 135.3, 129.4 (2C), 129.0, 128.9 (2C), 128.8 (2C), 127.2, 125.4 (2C), 123.1, 92.3, 90.4, 21.7.

IR (KBr): ν = 3444, 1738, 1598, 1452, 1366, 1238, 1168 cm⁻¹.

mp: 118-120°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₁H₁₇INO₄S [M+H]⁺ 505.9923, found 505.9925.

3,6-Diiodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36f**



Chemical Formula: C₁₄H₁₁I₂NO₃S

Molecular Weight: 527.11 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 38%

Starting from 3-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (240 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (80/20) as eluent affording the expected product as a white solid (120 mg, 0.23 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.59 (bs, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.65 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.3, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 2.46 (s, 3H).

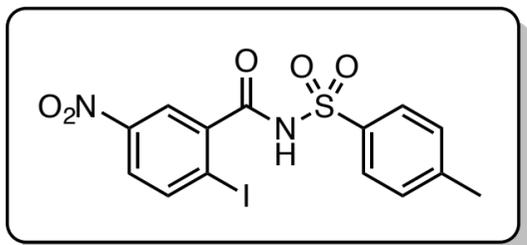
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 164.1, 145.6, 141.7, 141.4, 140.4, 137.4, 134.9, 129.7 (2C), 128.9 (2C), 93.5, 90.8, 21.8.

IR (KBr): ν = 3438, 3238, 1675, 1595, 1443, 1344, 1162. cm⁻¹.

mp: 202-204°C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₄H₁₂I₂NO₃S [M+H]⁺ 527.8627, found 527.8636.

3-Nitro-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36g**



Chemical Formula: C₁₄H₁₁IN₂O₅S
Molecular Weight: 446.22 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 17%

Starting from 3-nitro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (193 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (80/20) as eluent affording the expected product as a white solid (45 mg, 0.10 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.18 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.07-7.99 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.38 (bs, 1H), 2.50 (s, 3H).

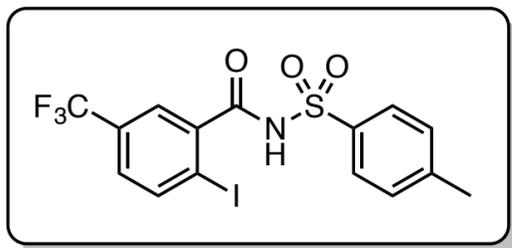
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 166.4, 147.7, 145.0, 141.89, 141.3, 136.2, 129.2 (2C), 128.2 (2C), 125.1, 122.0, 99.8, 20.2.

IR (KBr): ν = 3270, 1678, 1598, 1522, 1447, 1346, 1164 cm⁻¹.

mp: 234-236°C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₄H₁₂INO₃S [M+H]⁺ 446.9512, found 446.9514.

3-(Trifluoromethyl)-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36h**



Chemical Formula: C₁₅H₁₁F₃INO₃S

Molecular Weight: 469.22 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

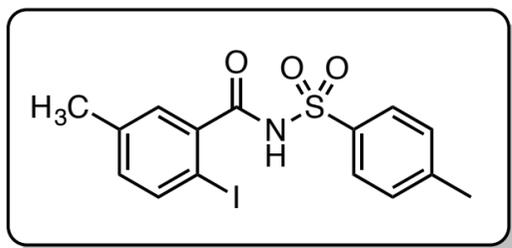
Yield: 32%

Starting from 3-(trifluoromethyl)-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (206 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (80/20) as eluent affording the expected product as a white solid (90 mg, 0.19 mmol). Data are consistent with literature values.^[172]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.81 (bs, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.69 (s, 1H), 7.52 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 2.40 (s, 3H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 166.8, 144.1, 141.5, 140.9, 137.1, 129.6 (2C), 128.7 (q, *J* = 33 Hz), 127.9 (3C), 124.9, 123.8 (q, *J* = 271 Hz), 99.0, 21.2.

3-Methyl-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36i**



Chemical Formula: C₁₅H₁₄INO₃S

Molecular Weight: 415.25 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

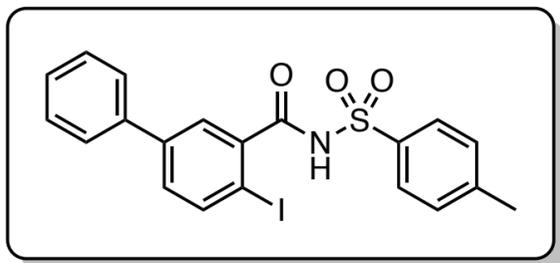
Yield: 16%

Starting from 3-methyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (173 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using toluene/TFA (98/2) as eluent affording the expected product as a white solid (40 mg, 0.10 mmol). Data are consistent with literature values.^[172]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.39 (bs, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.69 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.24 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 6.96 (dd, *J* = 8.1, *J* = 1.7 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.30 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 165.5, 145.4, 140.1, 138.9, 138.3, 135.1, 133.6, 129.6 (2C), 128.9 (2C), 87.3, 21.8, 20.8.

3-Phenyl-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36j**



Chemical Formula: C₂₀H₁₆INO₃S

Molecular Weight: 477.32 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 19%

Starting from 3-Phenyl-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (210 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/diethylether (80/20) as eluent affording the expected product as a white solid (54 mg, 0.11 mmol)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.67 (bs, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.45-7.41 (m, 2H), 7.40-7.37 (m, 1H), 7.37-7.32 (m, 3H), 2.45 (s, 3H).

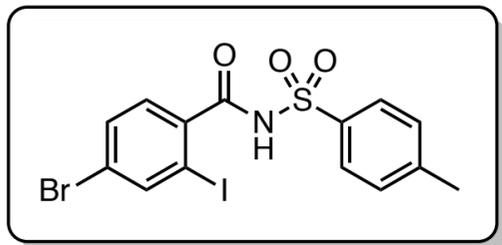
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 165.6, 145.5, 141.7, 140.7, 139.0, 138.4, 135.0, 131.0, 129.6, 129.1, 128.9, 128.4, 127.6, 126.9, 90.0, 21.8.

IR (KBr): ν = 3439, 3212, 1713, 1593, 1467, 1448, 1420, 1334, 1162. cm⁻¹.

mp: 188-190°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₀H₁₇INO₃S [M+H]⁺ 477.9974, found 477.9973.

4-Bromo-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **36k**



Chemical Formula: C₁₄H₁₁BrINO₃S

Molecular Weight: 480.11 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 38%

Starting from 4-Bromo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (212 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by reverse gel chromatography using water/acetonitrile (80/20 to 50/50) as eluent affording the expected product as a white solid (110 mg, 0.23 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.92 (bs, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.97 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 8.2, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.26 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H).

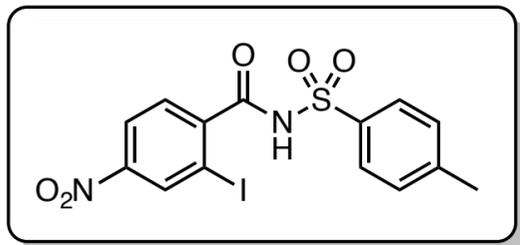
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 165.1, 145.6, 142.4, 137.3, 134.9, 131.6, 129.8, 129.7 (2C), 128.8 (2C), 126.1, 92.4, 21.8.

IR (KBr): ν = 3482, 3216, 1690, 1569, 1435, 1347, 1168, 1084.cm⁻¹.

mp: 82-84°C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₄H₁₂BrINO₃S [M+H]⁺ 479.8766, found 479.8770.

4-Nitro-6-iodo-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide **361**



Chemical Formula: C₁₄H₁₁IN₂O₅S

Molecular Weight: 446.22 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

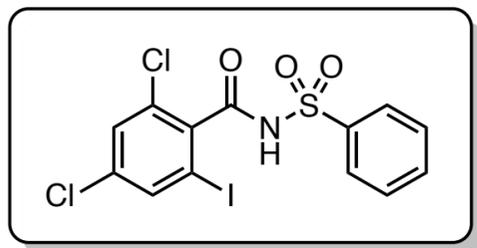
Yield: 33%

Starting from 4-Nitro-*N*-(4-methylbenzenesulfonyl)benzenecarboxamide (193 mg, 0.60 mmol) and following the **general procedure F**. The residue was purified by reverse gel chromatography using water/acetonitrile (80/20 to 50/50) as eluent affording the expected product as a white solid (110 mg, 0.23 mmol). Data consistent with literature values.^[172]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.85 (bs, 1H), 8.61 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.20 (dd, *J* = 8.4, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 2.48 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 164.5, 148.7, 146.0, 144.3, 134.8, 134.5, 129.8 (2C), 129.2, 128.8 (2C), 123.3, 91.4, 21.8.

2,4-Dichloro-6-iodo-*N*-(benzenesulfonyl)benzenecarboxamide **38a**



Chemical Formula: C₁₃H₈Cl₂INO₃S

Molecular Weight: 456.08 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 37%

In a round bottom flask, were introduced respectively *N*-(benzenesulfonyl)-2,4-dichlorobenzenecarboxamide (100 mg, 0.3 mmol), MeOH (4 mL), TFA (230 μL, 3.0 mmol), NIS (81 mg, 0.4 mmol) and Pd(OAc)₂ (7 mg, 0.03 mmol). The reaction mixture was stirred 48 hours at room temperature. The reaction mixture was diluted with EtOAc (6 mL), filtered through a pad of celite and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by silica gel chromatography using EtOAc/cyclohexane (10/90) as eluent affording the expected product as a white powder (50 mg, 0.11 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.16 (d, *J* = 7.8 Hz, 3H), 7.74-7.65 (m, 2H), 7.59 (dd, *J* = 8.5, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.38 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H).

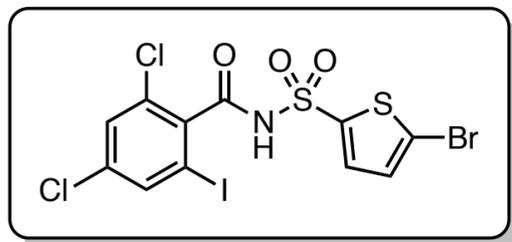
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.3, 137.6, 137.5, 137.4, 137.2, 134.5, 131.6, 129.5, 129.0 (2C), 128.8 (2C), 92.0.

IR (KBr): ν = 3256, 1684, 1569, 1538, 1360, 1179 cm⁻¹.

mp : 178-180 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₃H₉Cl₂INO₃S [M+H]⁺ 455.8725, found 455.8728.

2,4-Dichloro-6-iodo-*N*-[(5-bromo-2-thienyl)sulfonyl]benzenecarboxamide **38b**



Chemical Formula: C₁₁H₅BrCl₂INO₃S₂

Molecular Weight: 540.99 g.mol⁻¹

Appearance: brown solid

Yield: 47%

A round bottom flask was filled with 2,4-dichloro-*N*-[(5-bromo-2-thienyl)sulfonyl]benzenecarboxamide (100 mg, 0.24 mmol), MeOH (5 mL) and Pd(OAc)₂ (60 mg, 0.26 mmol). The reaction mixture was stirred for 24 hours at room temperature. The resulting mixture was filled with AcOH (14 μL, 0.24 mmol), NIS (54 mg, 0.24 mmol) and MeOH (1 mL). The reaction mixture was stirred for 30 min at room temperature. The resulting mixture was diluted with water (2 mL), quenched with saturated aqueous Na₂S₂O₃ solution (4 mL) and extracted with EtOAc (3x6 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by reverse phase gel chromatography using water/acetonitrile (95/5 to 5/95) as eluent affording the expected product as a brown powder (62 mg, 0.11 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.88 (bs, 1H), 7.74 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H).

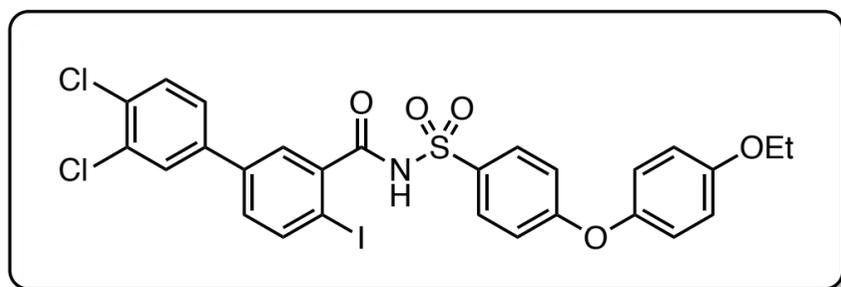
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.3, 137.9, 137.4, 137.4, 137.1, 136.3, 131.66, 130.7, 129.5, 123.3, 92.0.

IR (KBr): ν = 3443, 3205, 3100, 1693, 1568, 1537, 1451, 1419, 1396, 1365, 1170 cm⁻¹.

mp : 70-72 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₁H₅BrCl₂INO₃S₂ [M+H]⁺ = 537.7238, found 537.7242

5-(3,4-dichlorophenyl)-*N*-[4-(4-ethoxyphenoxy)phenyl]sulfonyl-2-iodo-benzamide **38c**



Chemical Formula: C₂₇H₂₀BrCl₂INO₅S

Molecular Weight: 668.32 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 60%

In a flask, palladium acetate (4.14 mg, 0.018 mmol) was added to a solution of 3,4-dichloro-*N*-(4-(4-ethoxyphenoxy)phenyl)sulfonyl-(1,1'-biphenyl)-3-carboxamide (10 mg, 0.018 mmol) in MeOH (250 μL) and the reaction mixture was stirred at room temperature for 6h. *N*-Iodosuccinimide (5 mg, 0.022 mmol) and trifluoroacetic acid (14 μL, 0.18 mmol) were added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 4 hours. The crude mixture was diluted in EtOAc, filtered through a pad of celite and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by preparative chromatography using EtOAc/cyclohexane (80/20) and acetic acid (5%) as eluent affording the expected product as a white powder (7 mg, 0.011 mmol).

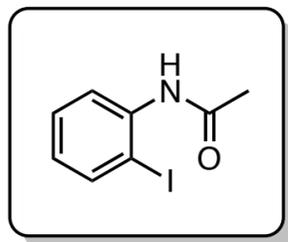
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.03 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.84 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.32 (dd, *J* = 8.3, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.24 (dd, *J* = 8.3, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.01-6.94 (m, 4H), 6.94-6.89 (m, 2H), 4.04 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.43 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 165.9, 163.8, 156.4, 147.7, 140.9, 139.4, 139.1, 138.4, 133.3, 132.7, 131.1, 131.1, 130.6, 130.5, 128.6, 127.4, 126.1, 121.8, 116.5, 115.8, 91.3, 63.9, 14.9.

mp: 94-96 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₇H₂₁BrCl₂INO₅S [M+H]⁺ = 667.9562, found 667.9669.

N-(2-Iodophenyl)acetamide **39a**



Chemical Formula: C₈H₈INO
Molecular Weight: 261.06 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 83%

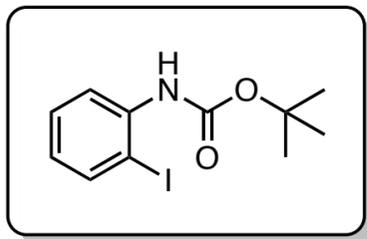
Starting from acetanilide (100 mg, 0.74 mmol), and following the **general procedure G**. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/diethylether (90/10) as eluent affording the expected product as a white solid (160 mg, 0.61 mmol). Data are consistent with literature values.^[216]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.19 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.77 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.34 (ddd, *J* = 8.4 Hz, *J* = 7.4 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.43 (bs, 1H), 6.90-6.78 (m, 1H), 2.24 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 168.4, 138.9, 138.3, 129.4, 126.1, 122.2, 90.1, 25.0.

²¹⁶ Kathiravan, S.; Nicholls, I. A. *Chem. - A Eur. J.* **2017**, *23*, 7031–7036.

Tert-butyl *N*-(2-iodophenyl)carbamate **39b**



Chemical Formula: C₁₁H₁₄INO₂
Molecular Weight: 319.14 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 73%

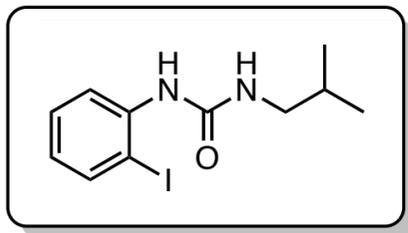
Starting from *tert*-butyl *N*-phenylcarbamate (150 mg, 0.78 mmol), and following the **general procedure G**. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/diethylether (90/10) as eluent affording the expected product as a white solid (180 mg, 0.57 mmol). Data are consistent with literature values.^[217]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.05 (dd, *J* = 8.3 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.31 (td, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H), 6.82 (bs, 1H), 6.77 (td, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.3 Hz, 1H), 1.54 (s, 9H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 152.7, 139.0, 129.3, 124.8, 120.3, 88.9, 81.2, 28.4 (3C).

²¹⁷ Song, H.; Liu, Y.; Liu, Y.; Wang, Q. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3240–3243.

1-(2-Iodophenyl)-3-(3-methylpropyl)urea **39c**



Chemical Formula: C₁₁H₁₅IN₂O
Molecular Weight: 318.16 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 33%

Starting from 3-(3-methylpropyl)-1-phenylurea (200 mg, 0.78 mmol), and following the **general procedure G**. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/diethylether (90/10) as eluent affording the expected product as a white solid (110 mg, 0.26 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.89 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.75 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.29 (ddd, *J* = 8.5 Hz, *J* = 7.3 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 6.78 (ddd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 7.3 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H), 5.13 (bt, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.08 (dd, *J* = 6.9 Hz, *J* = 5.9 Hz, 2H), 1.80 (nonu, *J* = 6.7 Hz, 1H), 0.93 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

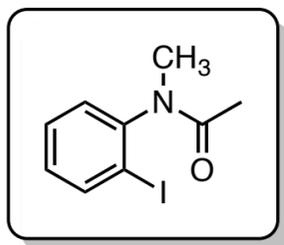
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 155.5, 139.5, 139.1, 129.3, 125.4, 122.9, 91.7, 48.2, 29.0, 20.3 (2C).

IR (KBr): ν = 3322, 2957, 1641, 1577, 1435, 1251, 737. cm⁻¹.

mp : 120-122 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₁₁H₁₆IN₂O [M+H]⁺ = 319.0307 found 319.0314.

N-(2-Iodophenyl)-*N*-methylacetamide **39d**



Chemical Formula: C₉H₁₀INO

Molecular Weight: 275.09 g.mol⁻¹

Appearance: yellow solid

Yield: 91%

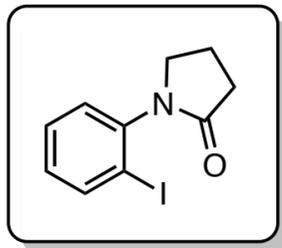
Starting from *N*-methyl-*N*-phenylacetamide (200 mg, 1.34 mmol), and following the **general procedure G**. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/diethylether (90/10) as eluent affording the expected product as a white solid (336 mg, 1.22 mmol). Data are consistent with literature values ^[218]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.91 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.41 (td, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.26 (dd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.06 (td, *J* = 7.7 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H), 3.15 (s, 1H), 1.77 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 170.2, 146.6, 140.2, 130.0, 129.8, 99.5, 35.8, 22.5.

²¹⁸ Ladziata, U.; Kuposov, A. Y.; Lo, K. Y.; Willging, J.; Nemykin, V. N.; Zhdankin, V. V. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44*, 7127–7131.

1-(2-Iodophenyl)pyrrolidin-2-one **39e**



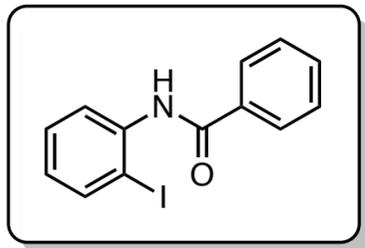
Chemical Formula: C₁₀H₁₀INO
Molecular Weight: 287.10 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 65%

Starting from 1-Phenyl-2-pyrrolidinone (180 mg, 1.13 mmol), and following the **general procedure G**. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/diethylether (90/10) as eluent affording the expected product as a white solid (210 mg, 0.73 mmol). Data are consistent with literature values ^[218]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.90 (dd, J = 8.0 Hz, J = 1.4 Hz, 1H), 7.40 (td, J = 7.6 Hz, J = 1.4 Hz, 1H), 7.24 (dd, J = 7.8 Hz, J = 1.6 Hz, 1H), 7.05 (td, J = 7.7 Hz, J = 1.6 Hz, 1H), 3.76 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.59 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 2.26 (pentet, J = 7.5 Hz, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 174.5, 141.5, 140.0, 129.9, 129.7, 129.0, 98.1, 50.4, 31.5, 19.3.

N-(2-Iodophenyl)benzamide **39f**



Chemical Formula: C₁₃H₁₀INO
Molecular Weight: 323.13 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 71%

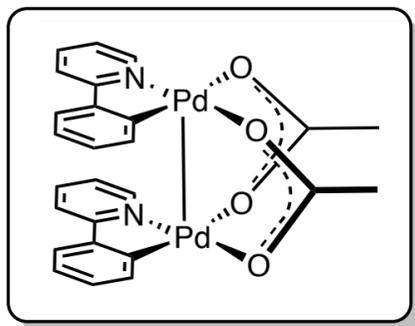
Starting from *N*-phenylbenzamide (200 mg, 1.01 mmol), and following the **general procedure G**. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/diethylether (80/20) as eluent affording the expected product as a white solid (210 mg, 0.73 mmol). Data are consistent with literature values.^[219]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.46 (dd, *J* = 8.3 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.30 (bs, 1H), 8.00-7.96 (m, 2H), 7.82 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.62-7.50 (m, 3H), 7.43-7.38 (m, 1H), 6.89 (ddd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 7.4 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 165.4, 138.9, 138.4, 134.7, 132.3, 129.6, 129.1 (2C), 127.3 (2C), 126.2, 121.9, 90.4.

²¹⁹ Ahmed, A.; Singha, R.; Ray, J. K. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 2167–2171.

Complex 43a



Chemical Formula: C₂₆H₂₂N₂O₄Pd₂

Molecular Weight: 639.31 g.mol⁻¹

Appearance: yellow solid

Yield: 80%

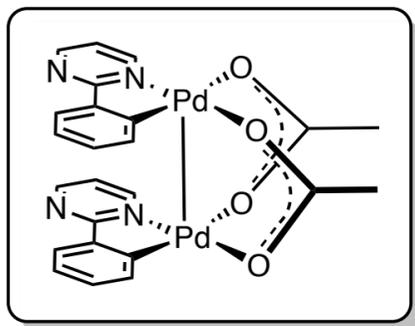
A round bottom flask was filled with 2-phenylpyridine (32 μL, 0.22 mmol), MeOH (2 mL) and Pd(OAc)₂ (50 mg, 0.22 mmol). The reaction mixture was stirred for 30 minutes at room temperature and the yellow precipitate was filtrated and washed with methanol (2 x 5 mL) affording the expected complex as a yellow solid (56 mg, 0.09 mmol). Data are consistent with literature values.^[220]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.84 (dd, ⁴J = 0.9 Hz, ³J = 5.7 Hz, 1H), 7.36 (td, ⁴J = 1.6 Hz, ³J = 8.0 Hz, 1H), 7.07 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H), 6.93-6.77 (m, 4H), 6.48-6.40 (m, 1H), 2.26 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 181.8, 164.2, 151.8, 150.1, 144.6, 137.6, 131.8, 128.5, 124.0, 122.4, 121.1, 117.2, 24.9.

²²⁰ Chaitanya, M.; Anbarasan, P. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 3362–3366.

Complex 43b



Chemical Formula: C₂₄H₂₀N₄O₄Pd₂

Molecular Weight: 641.29 g.mol⁻¹

Appearance: yellow solid

Yield: 72%

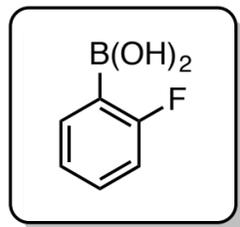
A round bottom flask was filled with 2-phenylpyrimidine (35 mg, 0.22 mmol), MeOH (2 mL) and Pd(OAc)₂ (50 mg, 0.22 mmol). The reaction mixture was stirred for 30 minutes at room temperature and the yellow precipitate was filtrated and washed with methanol (2 x 5 mL) affording the expected complex as a yellow solid (51 mg, 0.08 mmol). Data consistent with literature values.^[221]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.36 (dd, ⁴J = 2.2 Hz, ³J = 4.7 Hz, 1H), 7.95 (dd, ⁴J = 2.2 Hz, ³J = 5.6 Hz, 1H), 7.31 (dd, ⁴J = 1.2 Hz, ³J = 7.6 Hz, 1H), 6.99-6.88 (m, 3H), 6.37 (t, ³J = 5.2 Hz, 1H), 2.24 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 182.2, 171.1, 157.6, 156.3, 150.2, 141.6, 131.0, 130.7, 136.6, 124.7, 117.3, 24.8.

²²¹ Song, B.; Zheng, X.; Mo, J.; Xu, B. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 329–335.

(2-Fluorophenyl)boronic acid **45**



Chemical Formula: C₆H₆BFO₂
Molecular Weight: 139.92 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 63%

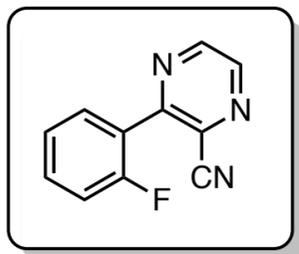
Starting from fluorobenzene **1** (mL, mmol), (2,3-difluorophenyl)boronic acid was prepared according to the literature procedure and was obtained as a white solid (g, mmol).^[212] Data are consistent with literature values^[222]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.84-7.77 (m, 1H), 7.46-7.37 (m, 1H), 7.20-7.14 (m, 1H), 7.11-7.03 (m, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 165.4 (d, *J* = 243 Hz), 135.2 (d, *J* = 9 Hz), 131.5 (d, *J* = 8 Hz), 123.6 (d, *J* = 3 Hz), 114.7 (d, *J* = 20 Hz). (missing the carbon bounded to the boron atom)

²²⁰ Hafner, A.; Meisenbach, M.; Sedelmeier, J. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 3630–3633.

2-cyano-3-(2-fluorophenyl)pyrazine **46**



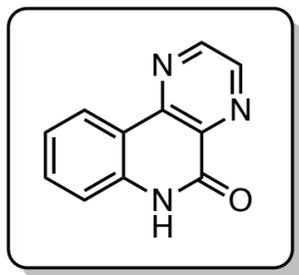
Chemical Formula: C₁₁H₆FN₃
Molecular Weight: 199.19 g.mol⁻¹
Appearance: yellow oil
Yield: 91%

In a degassed solution of DME/water 2:1 (90 mL), was introduced PPh₃ (514 mg, 1.96 mmol) and Pd(OAc)₂ (219 mg, 0.98 mmol). The solution was heated at 50°C for 15 min and sodium carbonate (4.13 g, 39.0 mmol), (2-fluorophenyl)boronic acid **26** (4.00 g, 25.3 mmol) and 3-chloropyrazine-2-carbonitrile (2.70 g, 19.5 mmol) were added. The solution was then refluxed for 2 hours. The resulting solution was filtrated on celite, the organic layer was extracted with ethyl acetate (50 mL) and was washed with water (50 mL). The aqueous layer was then extracted 3 times with ethyl acetate (3 x 50 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated to dryness. The residue was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/AcOEt (80/20) as eluent affording 2-cyano-3-(2-fluoro-3-trimethylsilylphenyl)pyrazine (3.60 g, 16.6 mmol) as a yellow oil. Data are consistent with literature values.^[91]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.87 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.70 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.66-7.60 (m, 1H), 7.59-7.52 (m, 1H), 7.38-7.31 (m, 1H), 7.31-7.24 (m, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 159.9 (d, *J* = 254 Hz), 153.6, 146.7, 143.6, 133.1 (d, *J* = 8 Hz), 131.5 (d, *J* = 2 Hz), 130.7, 124.9 (d, *J* = 4 Hz), 123.0 (d, *J* = 14 Hz), 116.6 (d, *J* = 21 Hz), 115.4.

Pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one **47**



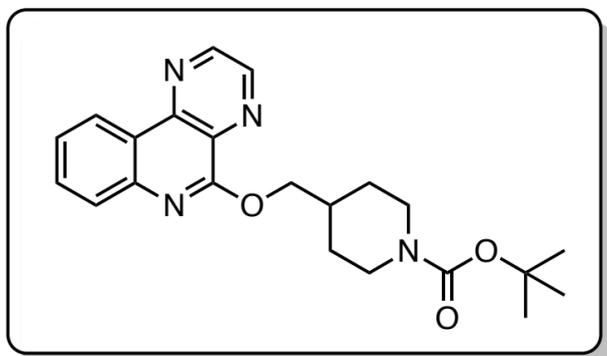
Chemical Formula: C₁₁H₇N₃O
Molecular Weight: 197.20 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 76%

Starting from 2-Cyano-3-(2-fluorophenyl)pyrazine **46** (2.40 g, 9.71 mmol), Pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one was prepared according to the literature procedure and was obtained as a white solid (1.75 g, 8.16 mmol). Data are consistent with literature values. ^[91]

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.10 (br s, 1H), 9.09 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.97 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.55 (dd, *J* = 1.3, 8.0 Hz, 1H), 7.66-7.59 (m, 1H), 7.43-7.39 (m, 1H), 7.37-7.30 (m, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 159.7, 148.5, 146.6, 145.4, 137.9, 137.1, 132.0, 124.2, 122.6, 117.8, 116.0.

Tert-butyl 4-(pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **48**



Chemical Formula: C₂₂H₂₆N₄O₃
Molecular Weight: 394.48 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 60%

In a round bottom flask, oxalyl chloride (11.2 mL, 0.13 mol) and DMF (10.2 mL, 0.13 mol) were added to chloroform (50 mL) at 0°C and the solution was stirred during 3 hours at room temperature. 7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5(6*H*)-one **28** (2.5 g, 12.6 mmol) was added to the mixture and the solution was refluxed for 2 hours. The resulting mixture was carefully hydrolysed with water and the pH was adjusted to 10 using an aqueous ammonia solution (28%). The resulting solution was extracted with dichloromethane (3 x 50 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated affording the expected chlorimine.

In a round bottom flask, NaH (550 mg, 13.9 mmol) was added to a solution *Tert*-butyl-4-(hydroxymethyl)piperidine-1-carboxylate **9** (3.0 g, 13.9 mmol) in dry DMF (50 mL) under N₂ at 0°C. The reaction mixture was stirred for 15 min, warmed to room temperature and was stirred for 15 min. The chlorimine obtained above was added and the reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Water (30 mL) was carefully added and the resulting mixture was extracted with ethyl acetate (3 x 50 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The crude product was then purified by silica gel chromatography using CH₂Cl₂/AcOEt (100/0 to 80/20) as eluent affording the expected product (3.00 g, 7.6 mmol) as a beige solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.04 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.95 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.86 (ddd, ³*J* = 8.1 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H), 7.87 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, ⁴*J* = 0.6 Hz, 1H), 7.74 (ddd, ³*J* = 8.3 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.56 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ³*J* = 7.1 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, 1H), 4.58 (d, ²*J* = 6.9 Hz, 2H), 4.16 (br s, 2H), 2.81-2.74 (m, 2H), 2.30-2.22 (m, 1H), 1.97-1.91 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.45-1.33 (m, 2H).

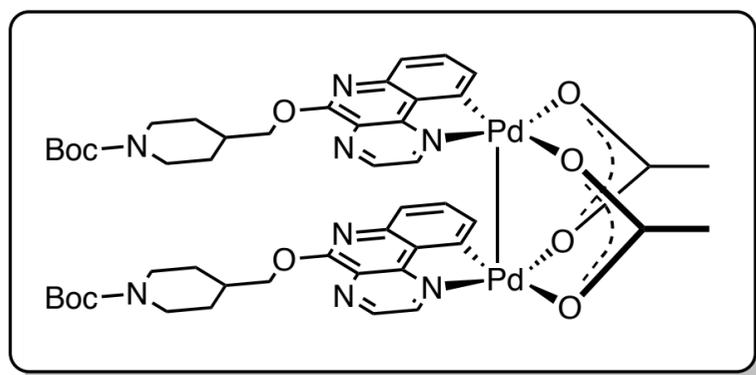
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.0, 155.0, 147.6, 146.0, 144.8, 144.4, 131.4, 131.2, 127.4, 125.4, 124.1, 122.8, 79.5, 71.3, 43.7 (2C), 35.8, 29.1 (2C), 28.6 (3C).

IR (KBr): ν = 2926, 1685, 1592, 1426, 1328, 1135, 770 cm⁻¹.

mp: 174-176°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₂H₂₇N₄O₃ [M+H]⁺ 395.2085, found 395.2083.

Complex 49



Chemical Formula: C₄₈H₅₆N₈O₁₀Pd₂

Molecular Weight: 1117.86 g.mol⁻¹

Appearance: red solid

Yield: 76%

In a vial *tert*-butyl 4-(pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate (50 mg, 0.13 mmol) and palladium acetate (29 mg, 0.13 mmol) was dissolved in acetonitrile (1 mL). The mixture was stirred a room temperature for 4 hours and filtrated. The precipitate was washed with acetonitrile (2 x 1 mL) to afford the expected complex as a red solid (55 mg, 0.10 mmol).

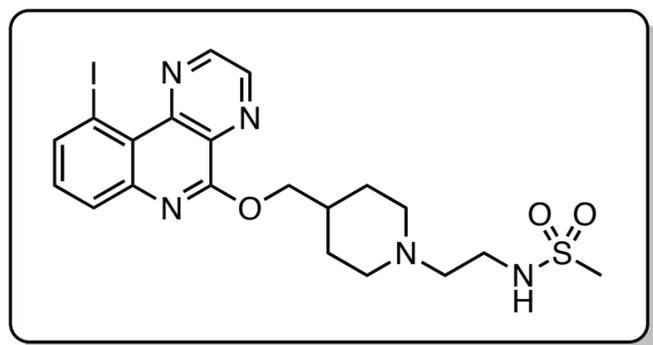
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.32 (d, ³*J* = 2.7 Hz, 1H), 7.97 (d, ³*J* = 2.7 Hz, 1H), 7.18-7.09 (m, 2H), 6.72 (dd, ³*J* = 6.9 Hz, ⁴*J* = 1.0 Hz, 1H), 4.62 (dd, ²*J* = 10.5 Hz, ³*J* = 7.4 Hz, 1H), 4.28 (dd, ²*J* = 10.5 Hz, ³*J* = 6.6 Hz, 1H), 4.25-4.03 (m, 2H), 2.89-2.64 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.25-2.11 (m, 1H), 1.95-1.84 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.42-1.19 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 183.1, 157.0, 155.0, 151.7, 148.3, 145.5, 145.0, 142.1, 131.7, 131.0, 130.7, 127.3, 121.8, 79.6, 72.2, 44.2 (2C), 35.7, 29.2 (2C), 28.6 (3C), 24.9.

IR (KBr): ν = 3505, 3464, 2919, 1696, 1682, 1558, 1421, 1337, 1137, 977, 814 cm⁻¹.

HRMS/ESI : *in progress*

N-(2-(4-(((10-Iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)ethyl) methanesulfonamide **50**



Chemical Formula: C₂₀H₂₄IN₅O₃S

Molecular Weight: 541.41 g.mol⁻¹

Appearance: beige solid

Yield: 19%

A round bottom flask was filled with **49** (500 mg, 0.45 mmol) and NIS (221 mg, 0.98 mmol) in dichloromethane (25 mL). The reaction mixture was stirred 2 hours at room temperature and the resulting mixture was diluted with water (10 mL), quenched with saturated aqueous Na₂S₂O₃ solution (20 mL) and extracted with dichloromethane (2 x 20 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure.

The crude mixture previously prepared was dissolved in dichloromethane (25 mL) and trifluoroacetic acid (0.77 mL, 10.0 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 2 hours at room temperature and concentrated under reduced pressure. Saturated aqueous K₃PO₄ solution (10 mL) was added and the resulting suspension was stirred 30 min at room temperature. The solution was extracted with dichloromethane (2 x 20 mL) and the combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure.

The resulting crude mixture was dissolved in acetonitrile (15 mL) and NEt₃ (0.23 mL, 1.7 mmol) and *N*-ethylphthalimide (305 mg, 1.2 mmol) were added. The reaction mixture was stirred under reflux for 24 hours, was cooled down to room temperature and the white precipitate formed was filtered and dissolved in ethanol (20 mL). Hydrazine monohydrate (0.73 mL, 15 mmol) was added and the solution was stirred under reflux until the solubilisation of the mixture. Ethanol was evaporated and the residue was dissolved in dichloromethane (20 mL) at 0°C, filtered and concentrated under reduced pressure.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (20 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Triethylamine (0.1 mL, 1.2 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.05 mL, 0.7 mmol) were added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a white solid (72 mg, 0.13 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.20 (d, ³*J* = 1.9 Hz, 1H), 9.04 (d, ³*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.33 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, 1H), 7.95 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, 1H), 7.39 (t, ³*J* = 6.8 Hz, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.60 (d, ²*J* = 6.8 Hz, 2H), 3.25-3.18 (m, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.94-2.89 (m, 2H), 2.58-2.51 (m, 2H), 2.17-2.06 (m, 3H), 2.01-1.95 (m, 2H), 1.47-1.39 (m, 2H).

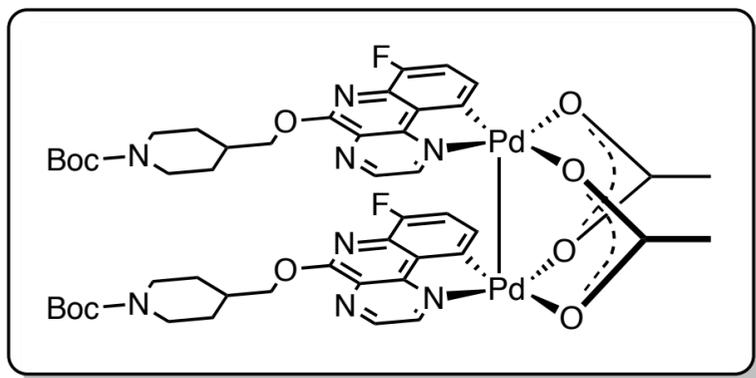
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 157.9, 145.9, 144.9, 144.6, 144.5, 141.2, 131.5, 130.8, 128.9, 121.6, 88.1, 71.6, 56.9, 53.2 (2C), 40.2, 39.9, 35.5, 29.4 (2C).

IR (KBr): ν = 3436, 2919, 1584, 1457, 1427, 1340, 1305, 1142, 983 cm⁻¹.

mp: 174-176°C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₀H₂₅IN₅O₃S [M+H]⁺ 542.0719, found 542.0723.

Complex 51



Chemical Formula: C₄₈H₅₄F₂N₈O₁₀Pd₂

Molecular Weight: 1155.86 g.mol⁻¹

Appearance: red solid

Yield: 71%

In a vial *tert*-butyl 4-(pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate (50 mg, 0.13 mmol) and palladium acetate (29 mg, 0.13 mmol) was dissolved in acetonitrile (1 mL). The mixture was stirred a room temperature for 4 hours and filtrated. The precipitate was washed with acetonitrile (2 x 1 mL) to afford the expected complex as a red solid (55 mg, 0.10 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.57 (d, ³*J* = 2.6 Hz, 1H), 8.06 (d, ³*J* = 2.7 Hz, 1H), 6.78 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 11.4 Hz, 1H), 6.47 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 4.0 Hz, 1H), 4.57 (dd, ²*J* = 10.6 Hz, ³*J* = 7.3 Hz, 1H), 4.42 (dd, ²*J* = 10.6 Hz, ³*J* = 6.5 Hz, 1H), 4.31-4.05 (m, 2H), 2.90-2.70 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.30-2.16 (m, 1H), 2.00-1.89 (m, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.46-1.22 (m, 2H).

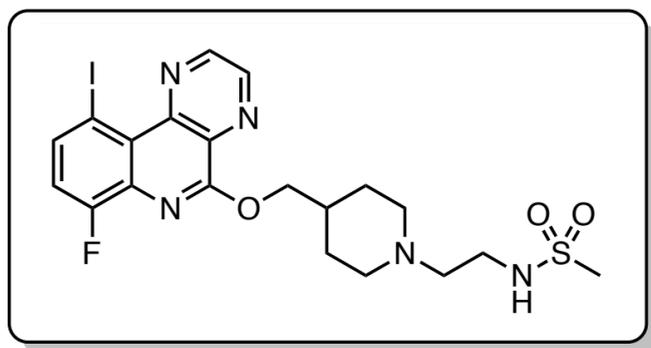
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 183.2, 157.4, 155.0, 153.4 (d, *J* = 254 Hz), 151.5 (d, *J* = 4 Hz), 145.7, 145.6, 141.0 (d, *J* = 4 Hz), 132.5, 131.9 (d, *J* = 4 Hz), 130.6 (d, *J* = 11 Hz), 127.2 (d, *J* = 6 Hz), 115.9 (d, *J* = 19 Hz), 79.6, 72.7, 44.0 (2C), 35.7, 29.1 (2C), 28.7 (3C), 24.8.

¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -131.8

IR (KBr): ν = 3437, 2922, 2849, 1615, 1562, 1420, 1333, 1131 cm⁻¹.

HRMS/ESI: *in progress*

N-(2-(4-(((7-Fluoro-10-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)ethyl) methanesulfonamide **52**



Chemical Formula: C₂₀H₂₃FIN₅O₃S

Molecular Weight: 559.40 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 26%

A round bottom flask was filled with **51** (520 mg, 0.45 mmol) and NIS (221 mg, 0.98 mmol) in dichloromethane (25 mL). The reaction mixture was stirred 2 hours at room temperature and the resulting mixture was diluted with water (10 mL), quenched with saturated aqueous Na₂S₂O₃ solution (20 mL) and extracted with dichloromethane (2 x 20 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure.

The crude mixture previously prepared was dissolved in dichloromethane (25 mL) and following **the general procedure A**.

The resulting crude mixture was dissolved in acetonitrile (15 mL) and NEt₃ (0.23 mL, 1.7 mmol) and *N*-ethylphthalimide (305 mg, 1.2 mmol) were added. The reaction mixture was stirred under reflux for 24 hours, was cooled down to room temperature and the white precipitate formed was filtered and dissolved in ethanol (20 mL). Hydrazine monohydrate (0.73 mL, 15 mmol) was added and the solution was stirred under reflux until the solubilisation of the mixture. Ethanol was evaporated and the residue was dissolved in dichloromethane (20 mL) at 0°C, filtered and concentrated under reduced pressure.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (20 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Triethylamine (0.1 mL, 1.2 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.05 mL, 0.7 mmol) were added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 95/5) as eluent affording the expected product as a white solid (102 mg, 0.18 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.22 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 9.07 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.25 (dd, *J* = 8.5 Hz, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.19 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.24-3.18 (m, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.96-2.89 (m, 2H), 2.59-2.53 (m, 2H), 2.21-2.06 (m, 3H), 2.00-1.92 (m, 2H), 1.55-1.42 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 157.7, 157.7 (d, *J* = 254 Hz), 145.0, 144.8, 144.5 (d, *J* = 4 Hz), 140.3 (d *J* = 8 Hz), 135.5 (d, *J* = 11 Hz), 131.1, 123.1, 117.4 (d, *J* = 20 Hz), 80.8 (d, *J* = 5 Hz), 72.0, 57.0, 53.2 (2C), 40.2, 39.8, 35.4, 29.2 (2C).

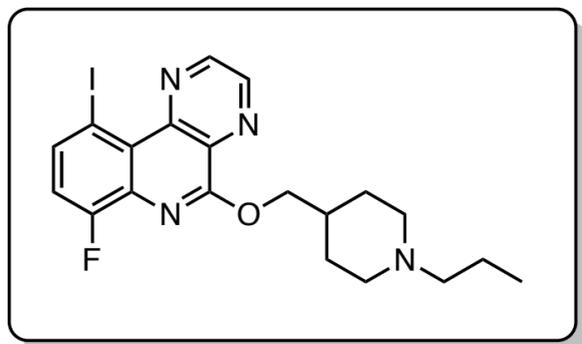
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -124.0 (dd, *J* = 9.6 Hz, *J* = 5.2 Hz).

IR (KBr): ν = 3432, 2924, 1607, 1591, 1343, 1142, 978 cm⁻¹.

mp: 174-176°C.

HRMS/ESI :

4-(((7-Fluoro-10-iodopyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-propylpiperidine **53**



Chemical Formula: C₂₀H₂₂FIN₄O
Molecular Weight: 480.31 g.mol⁻¹
Appearance: yellow solid
Yield: 49%

A round bottom flask was filled with **29** (350 mg, 0.85 mmol), Pd(OAc)₂ (190 mg, 0.85 mmol) and MeOH (7 mL). The reaction mixture was stirred for 4 hours at room temperature and was filtered. The red precipitate was washed with acetonitrile (2 x 5 mL) and dissolved in CH₂Cl₂ (7 mL). NIS (191 mg, 0.88 mmol) and acetic acid (0.05 mL, 0.85 mmol) were added and the reaction mixture was stirred 1 hours at room temperature. The resulting mixture was diluted with water (5 mL), quenched with saturated aqueous Na₂S₂O₃ solution (5 mL) and extracted with dichloromethane (2 x 10 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure.

The crude mixture previously prepared was dissolved in dichloromethane (7 mL) and trifluoroacetic acid (0.65 mL, 8.5 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 2 hours at room temperature and concentrated under reduced pressure. Saturated aqueous K₃PO₄ solution (10 mL) was added and the resulting suspension was stirred 30 min at room temperature. The solution was extracted with dichloromethane (2 x 10 mL) and the combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure.

The resulting crude mixture was dissolved in acetonitrile (7 mL) and NEt₃ (0.23 mL, 1.7 mmol) and 1-iodopropane (0.08 mL, 0.85 mmol) were added. The reaction mixture was stirred under reflux for 3 hours. The resulting mixture was diluted with water (10 mL) and extracted with ethyl acetate (2 x 15 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/Methanol (100/0 to 85/15) as eluent, affording the expected compound as a yellow solid (200 mg, 0.42 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.20 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 9.06 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.23 (dd, *J* = 8.5 Hz, *J* = 5.1 Hz, 1H), 7.17 (dd, *J* = 9.4 Hz, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.12-3.02 (m, 2H), 2.43-2.34 (m, 2H), 2.22-2.03 (m, 3H), 2.03-1.93 (m, 2H), 1.69-1.52 (m, 2H), 0.91 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 157.7 (d, *J* = 254 Hz), 158.1, 145.0, 144.8, 144.5 (d, *J* = 4 Hz), 140.2 (d *J* = 7 Hz), 135.5 (d, *J* = 11 Hz), 131.1, 123.0, 117.4 (d, *J* = 20 Hz), 80.8 (d, *J* = 5 Hz), 72.0, 61.1, 53.4 (2C), 35.4, 29.0 (2C), 20.0, 12.1.

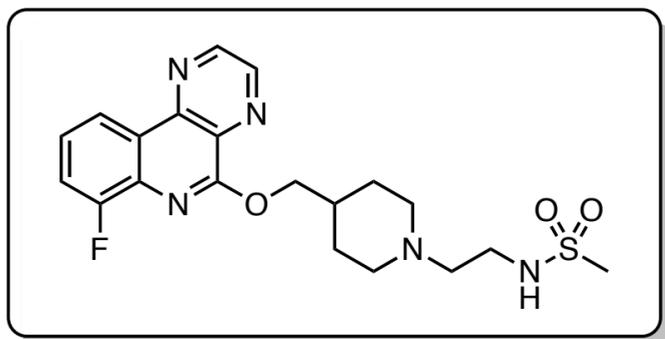
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -123.9 (dd, *J* = 9.4 Hz, *J* = 5.2 Hz).

mp: 170-171 °C.

IR (KBr): ν = 2923, 1607, 1591, 1456, 1343, 1233, 1143 cm⁻¹.

HRMS-ESI: calculated for C₂₀H₂₃FIN₄O [M+H]⁺ = 481.0901 found 481.0393

N-(2-(4-(((7-Fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)ethyl)methanesulfonamide **54**



Chemical Formula: C₂₀H₂₄FN₅O₃S

Molecular Weight: 433.50 g.mol⁻¹

Appearance: white solid

Yield: 65%

Starting from *Tert*-butyl 4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **29** (150 mg, 0.36 mmol) and following **the general procedure A**.

The crude product was then dissolved in acetonitrile (10 mL) and *N*-(2-bromoethyl)phthalimide (110 mg, 0.44 mmol) and triethylamine (0.10 mL, 0.72 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 24 hours and the white precipitate formed was filtered, washed with acetonitrile (2 x 10 mL).

The precipitate was dissolved in ethanol (15 mL) and following **the general procedure B**.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (10 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Triethylamine (0.10 mL, 0.72 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.02 mL, 0.30 mmol) were added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a white solid (85 mg, 0.20 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.09 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 9.02 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.71-8.64 (m, 1H), 7.56-7.46 (m, 2H), 5.05 (br s, 1H), 4.65 (d, ³*J* = 6.9 Hz, 2H), 3.24-3.17 (m, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.95–2.89 (m, 2H), 2.57–2.53 (m, 2H), 2.21–2.05 (m, 3H), 2.02–1.92 (m, 2H), 1.56–1.40 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.3, 157.0 (d, *J* = 254 Hz), 147.9, 145.6 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 133.7 (d *J* = 11 Hz), 131.4, 135.3 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 119.6 (d, *J* = 4 Hz), 116.7 (d, *J* = 20 Hz), 71.7, 57.0, 53.2 (2C), 40.1, 39.8, 35.3, 29.1 (2C).

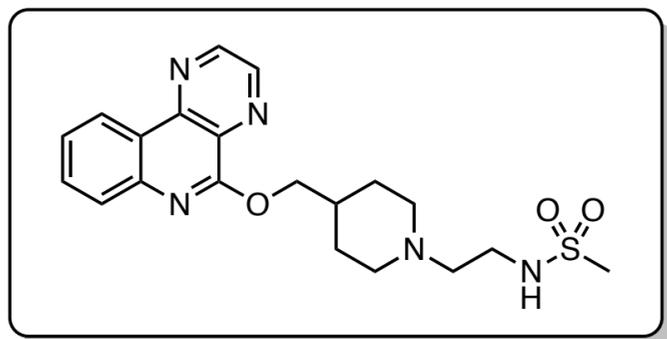
¹⁹F NMR (376.5 MHz, CDCl₃): δ = -126.2.

IR (KBr): ν = 3379, 2935, 1591, 1330, 1145, 980, 789 cm⁻¹.

mp: 181-183 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₀H₂₅FN₅O₃ [M+H]⁺ 434.1658, found 434.1662.

N-(2-(4-(((7-Pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-yl)ethyl) methanesulfonamide **55**



Chemical Formula: C₂₀H₂₅N₅O₃S
Molecular Weight: 415.51 g.mol⁻¹
Appearance: beige solid
Yield: 61%

Starting from *Tert*-butyl 4-(((7-pyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate **48** (200 mg, 0.48 mmol) and following **the general procedure A**.

The crude product was then dissolved in acetonitrile (15 mL) and *N*-(2-bromoethyl)phthalimide (144 mg, 0.58 mmol) and triethylamine (0.13 mL, 0.96 mmol) were added. The solution was stirred at 80°C for 24 hours and the white precipitate formed was filtered, washed with acetonitrile (2 x 10 mL).

The precipitate was dissolved in ethanol (20 mL) and following **the general procedure B**.

The primary amine was dissolved in dichloromethane (15 mL) and the solution was cooled down to 0°C. Triethylamine (0.13 mL, 0.96 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.03 mL, 0.41 mmol) were added to the solution and the mixture was stirred 5 min at 0°C and 5 min at room temperature. The organic layer was washed with water (15 mL), dried over MgSO₄, filtrated and evaporated. The residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/methanol (100/0 to 90/10) as eluent affording the expected product as a beige solid (104 mg, 0.25 mmol).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.08 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.99 (d, ³*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.90 (ddd, ³*J* = 8.1 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H), 7.92 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, ⁴*J* = 0.6 Hz, 1H), 7.78 (ddd, ³*J* = 8.3 Hz, ³*J* = 7.1 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.60 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ³*J* = 7.1 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.61 (d, ²*J* = 6.9 Hz, 2H), 3.25-3.17 (m, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.94-2.89 (m, 2H), 2.58-2.51 (m, 2H), 2.17-2.07 (m, 3H), 2.01-1.95 (m, 2H), 1.51-1.42 (m, 2H).

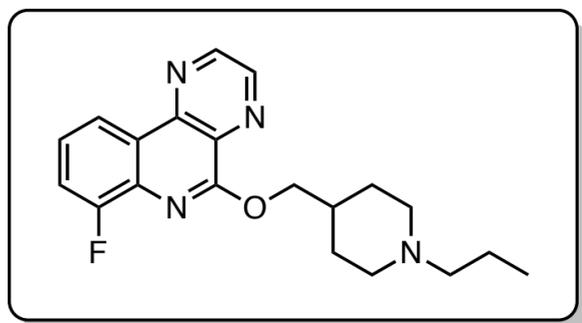
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.2, 147.6, 146.1, 144.9, 144.5, 131.5, 131.3, 127.5, 125.5, 124.2, 122.9, 71.5, 57.0, 53.2 (2C), 40.2, 39.9, 35.5, 29.4 (2C).

IR (KBr): ν = 3353, 2940, 2825, 1589, 1460, 1317, 1140, 771 cm⁻¹.

mp: 180-182 °C.

HRMS/ESI: calculated for C₂₀H₂₆N₅O₃S [M+H]⁺ 416.1754, found 416.1756.

4-(((7-Fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl)-1-propylpiperidine **56**



Chemical Formula: C₂₀H₂₃FN₄O
Molecular Weight: 354.43 g.mol⁻¹
Appearance: white solid
Yield: 89%

Starting from *tert*-butyl 4-(((7-fluoropyrazino[2,3-*c*]quinolin-5-yl)oxy)methyl]piperidine-1-carboxylate **29** (200 mg, 0.49 mmol) and following the **general procedure A**.

The resulting mixture was dissolved in acetonitrile (15 mL) and NEt₃ (0.13 mL, 0.98 mmol) and 1-iodopropane (0.06 mL, 0.64 mmol) were added. The reaction mixture was stirred under reflux for 3 hours. The resulting mixture was diluted with water (10 mL) and extracted with ethyl acetate (2 x 15 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The obtained crude residue was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/Methanol (100/0 to 85/15) as eluent, affording the expected compound as a yellow solid (149 mg, 0.42 mmol). Data are consistent with literature values.^[88]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 9.07 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 9.00 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.68-8.62 (m, 1H), 7.53-7.44 (m, 2H), 4.64 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.08-2.99 (m, 2H), 2.39-2.30 (m, 2H), 2.21-2.01 (m, 1H), 2.00-1.94 (m, 4H), 1.65-1.49 (m, 4H), 0.90 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 158.4, 157.0 (d, *J* = 254 Hz), 147.9, 145.7 (d, *J* = 4 Hz), 145.4, 133.8 (d, *J* = 11 Hz), 131.5, 125.3 (d, *J* = 8 Hz), 124.9 (d, *J* = 2 Hz), 119.6 (d, *J* = 4 Hz), 116.7 (d, *J* = 20 Hz), 72.0, 61.1, 53.5 (2C), 35.4, 29.1 (2C), 20.1, 12.1.

Bibliography

- (1) Filip, M.; Bader, M. *Pharmacol. Reports* **2009**, *61*, 761–777.
- (2) Mohammad-Zadeh, L. F.; Moses, L.; Gwaltney-Brant, S. M. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **2008**, *31*, 187–199.
- (3) Linder, A. E.; Ni, W.; Diaz, J. L.; Szasz, T.; Burnett, R.; Watts, S. W. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *323*, 415–421.
- (4) Ursin, R. *Sleep Med. Rev.* **2002**, *6*, 55–67.
- (5) Blundell, J. E.; Lawton, C. L.; Halford, J. C. *Obes. Res.* **1995**, *3*, 471–476.
- (6) Buhot, M.-C.; Martin, S.; Segu, L. *Ann. Med.* **2000**, *32*, 210–221.
- (7) Young, S. N.; Leyton, M. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2002**, *71*, 857–865.
- (8) Hoyer, D.; Clarke, D. E.; Fozard, J. R.; Hartig, P. R.; Martin, G. R.; Mylecharane, E. J.; Saxena, P. R.; Humphrey, P. P. *Pharmacol. Rev.* **1994**, *46*, 157–203.
- (9) Masson, J.; Emerit, M. B.; Hamon, M.; Darmon, M. *Wiley Interdiscip. Rev. Membr. Transp. Signal.* **2012**, *1*, 685–713.
- (10) Lummis, S. C. R. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 40239–40245.
- (11) Bockaert, J.; Pin, J. P.; Zuker, C. *EMBO J.* **1999**, *18*, 1723–1729.
- (12) Wall, M. A.; Coleman, D. E.; Lee, E.; IAiguez-Lluhi, J. A.; Posner, B. A.; Gilman, A. G.; Ft Sprang, S. *Cell* **1995**, *83*, 1047–1058.
- (13) Denis, C.; Saulière, A.; Galandrin, S.; Sénard, J.-M.; Galés, C. *Curr. Pharm. Des.* **2012**, *18*, 128–144.
- (14) Conn, P. J.; Sanders-Bush, E. *Neuropharmacology* **1984**, *23*, 993–996.
- (15) Maillet, M.; Robert, S.; Lezoualc'h, F. *Curr. Alzheimer Res.* **2004**, *1*, 79–85.
- (16) Dumuis, A.; Bouhelal, R.; Sebben, M.; Bockaert, J. *Eur. J. Pharmacol.* **1988**, *146*, 187–188.
- (17) Bockaert, J.; Claeysen, S.; Compan, V.; Dumuis, A. *Curr. Drug Targets. CNS Neurol. Disord.* **2004**, *3*, 39–51.
- (18) Beattie, D. T.; Smith, J. A. M. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2008, pp 181–203.
- (19) Qvigstad, E.; Brattelid, T.; Sjaastad, I.; Andressen, K.; Krobert, K. W.; Birkland, J. A.; Sejersted, O.; Kaumann, A. J.; Skomedal, T.; Osnes, J. B.; Levy, F. O. *Cardiovasc. Res.* **2005**, *65*, 869–878.
- (20) Eglen, R. M.; Wong, E. H.; Dumuis, A.; Bockaert, J. *Trends Pharmacol. Sci.* **1995**, *16*, 391–398.
- (21) Manabe, N.; Wong, B. S.; Camilleri, M. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2010**, *19*, 765–775.
- (22) Kaumann, A. J. *Trends Pharmacol. Sci.* **1994**, *15*, 451–455.
- (23) Tonini, M.; Candura, S. M. *Trends Pharmacol. Sci.* **1996**, *17*, 314–316.
- (24) Jean, A.; Conductier, G.; Manrique, C.; Bouras, C.; Berta, P.; Hen, R.; Charnay, Y.; Bockaert, J.; Compan, V. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, *104*, 16335–16340.
- (25) Lucas, G.; Rymar, V. V.; Du, J.; Mnie-Filali, O.; Bisgaard, C.; Manta, S.; Lambas-Senas, L.; Wiborg, O.; Haddjeri, N.; Piñeyro, G.; Sadikot, A. F.; Debonnel, G. *Neuron* **2007**, *55*, 712–725.
- (26) Matsumoto, M.; Togashi, H.; Mori, K.; Ueno, K.; Ohashi, S.; Kojima, T.; Yoshioka, M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *296*.
- (27) Meneses, A.; Hong, E. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1997**, *56*, 347–351.
- (28) Reynolds, G. P.; Mason, S. L.; Meldrum, A.; De Keczser, S.; Parnes, H.; Eglen, R. M.; Wong,

- E. H. *Br. J. Pharmacol.* **1995**, *114*, 993–998.
- (29) Wong, E. H. F.; Reynolds, G. P.; Bonhaus, D. W.; Hsu, S.; Eglen, R. M. *Behav. Brain Res.* **1995**, *73*, 249–252.
- (30) Dickson, D. W. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **1997**, *56*, 321–339.
- (31) Gandy, S. *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 1121–1129.
- (32) Gralle, M.; Botelho, M. G.; Wouters, F. S. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 15016–15025.
- (33) Harkany, T.; Abrahám, I.; Kónya, C.; Nyakas, C.; Zarándi, M.; Penke, B.; Luiten, P. G. *Rev. Neurosci.* **2000**, *11*, 329–382.
- (34) Cochet, M.; Donneger, R.; Cassier, E.; Gaven, F.; Lichtenthaler, S. F.; Marin, P.; Bockaert, J.; Dumuis, A.; Claeysen, S. *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 130–140.
- (35) Maillet, M.; Robert, S. J.; Cacquevel, M.; Gastineau, M.; Vivien, D.; Bertoglio, J.; Zugaza, J. L.; Fischmeister, R.; Lezoualc'h, F. *Nat. Cell Biol.* **2003**, *5*, 633.
- (36) Zaldua, N.; Gastineau, M.; Hoshino, M.; Lezoualc'h, F.; Zugaza, J. L. *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 5814–5818.
- (37) Robert, S. J.; Zugaza, J. L.; Fischmeister, R.; Gardier, A. M.; Lezoualc'h, F. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 44881–44888.
- (38) Cho, S.; Hu, Y. *Exp. Neurol.* **2007**, *203*, 274–278.
- (39) Lezoualc'h, F. *Exp. Neurol.* **2007**, *205*, 325–329.
- (40) Bureau, R.; Boulouard, M.; Dauphin, F.; Lezoualc'h, F.; Rault, S. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10*, 527–553.
- (41) Gaster, L. M.; King, F. D. *Med. Res. Rev.* **1997**, *17* (2), 163–214.
- (42) López-Rodríguez, M. L.; Morcillo, M. J.; Benhamú, B.; Rosado, M. L. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **1997**, *11*, 589–599.
- (43) Bureau, R.; Daveu, C.; Lemaître, S.; Dauphin, F.; Landelle, H.; Lancelot, J.-C.; Rault, S. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42* (4), 962–967.
- (44) Gale, J. D.; Grossman, C. J.; Whitehead, J. W.; Oxford, A. W.; Bunce, K. T.; Humphrey, P. P. *Br. J. Pharmacol.* **1994**, *111*, 332–338.
- (45) Gaster, L. M.; Jennings, A. J.; Joiner, G. F.; King, F. D.; Mulholland, K. R.; Rahman, S. K.; Starr, S.; Wyman, P. A.; Wardle, K. A. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 4121–4123.
- (46) Gaster, L. M.; Joiner, G. F.; King, F. D.; Wyman, P. A.; Sutton, J. M.; Bingham, S.; Ellis, E. S.; Sanger, G. J.; Wardle, K. A. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4760–4763.
- (47) Kjekshus, J. K.; Torp-Pedersen, C.; Gullestad, L.; Køber, L.; Edvardsen, T.; Olsen, I. C.; Sjaastad, I.; Qvigstad, E.; Skomedal, T.; Osnes, J.-B.; Levy, F. O. *Eur. J. Heart Fail.* **2009**, *11*, 771–778.
- (48) Buchheit, K.-H.; Gamse, R.; Giger, R.; Hoyer, D.; Klein, F.; Kloeppner, E.; Pfannkuche, H.-J.; Mattes, H. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2326–2330.
- (49) Iskander, M. N.; Coupar, I. M.; Winkler, D. A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, *0*, 153–158.
- (50) Bureau, R.; Varin, T.; Lepailleur, A.; Daveu, C.; Lemaitre, S.; Lancelot, J.-C.; Lesnard, A.; Butt-Gueulle, S.; Dauphin, F.; Rault, S. *Curr. Comput. Aided-Drug Des.* **2008**, *4*, 199–208.
- (51) Tack, J.; Camilleri, M.; Chang, L.; Chey, W. D.; Galligan, J. J.; Lacy, B. E.; Müller-Lissner, S.; Quigley, E. M. M.; Schuurkes, J.; De Maeyer, J. H.; Stanghellini, V. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2012**, *35*, 745–767.
- (52) Brodney, M. A.; Johnson, D. E.; Sawant-Basak, A.; Coffman, K. J.; Drummond, E. M.; Hudson, E. L.; Fisher, K. E.; Noguchi, H.; Waizumi, N.; McDowell, L. L.; Papanikolaou, A.;

- Pettersen, B. A.; Schmidt, A. W.; Tseng, E.; Stutzman-Engwall, K.; Rubitski, D. M.; Vanase-Frawley, M. A.; Grimwood, S. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9240–9254.
- (53) Webb, S. *Acta Oncol. (Madr)*. **2009**, *48*, 169–177.
- (54) Anger, H. O. *J. Nucl. Med.* **1964**, *5*, 515–531.
- (55) Delacroix, D.; Guerre, J.-P.; Leblanc, P. *Guide pratique radionucléides et radioprotection : manuel pour la manipulation de substances radioactives dans les laboratoires de faible et moyenne activité*; EDP Sciences, **2006**.
- (56) Thériaque http://www.theriaque.org/apps/recherche/rch_simple.php (accessed May 3, **2018**).
- (57) Sharp, S. E.; Trout, A. T.; Weiss, B. D.; Gelfand, M. J. *RadioGraphics* **2016**, *36*, 258–278.
- (58) Djang, D. S. W.; Janssen, M. J. R.; Bohnen, N.; Booij, J.; Henderson, T. A.; Herholz, K.; Minoshima, S.; Rowe, C. C.; Sabri, O.; Seibyl, J.; Van Berckel, B. N. M.; Wanner, M. *J. Nucl. Med.* **2012**, *53*, 154–163.
- (59) Newberg, A. B.; Wintering, N. A.; Plössl, K.; Hochold, J.; Stabin, M. G.; Watson, M.; Skovronsky, D.; Clark, C. M.; Kung, M.-P.; Kung, H. F. *J. Nucl. Med.* **2006**, *47*, 748–754.
- (60) Ono, M.; Saji, H. *Int. J. Mol. Imaging* **2011**, *2011*, 543267.
- (61) Kung, H. F.; Kim, H.-J.; Kung, M.-P.; Meegalla, S. K.; Plössl, K.; Lee, H.-K. *Eur. J. Nucl. Med.* **1996**, *23*, 1527–1530.
- (62) Moretti, J.-L.; Defer, G.; Cinotti, L.; Cesaro, P.; Degos, J.-D.; Vigneron, N.; Ducassou, D.; Holman, B. L. *Eur. J. Nucl. Med.* **1990**, *16*, 17–22.
- (63) Demedts, M.; De Roo, M.; Devos, P.; Billiet, L.; Cosemans, J. *Eur. J. Nucl. Med.* **1977**, *2*, 9–12.
- (64) Paterson, L. M.; Kornum, B. R.; Nutt, D. J.; Pike, V. W.; Knudsen, G. M. *Med. Res. Rev.* **2013**, *33*, 54–111.
- (65) Waterhouse, R. N. *Mol. Imaging Biol.* **2003**, *5*, 376–389.
- (66) Pike, V. W.; Halldin, C.; Nobuhara, K.; Hiltunen, J.; Mulligan, R. S.; Swahn, C.-G.; Karlsson, P.; Olsson, H.; Hume, S. P.; Hirani, E.; Whalley, J.; Pilowsky, L. S.; Larsson, S.; Schnell, P.-O.; Ell, P. J.; Farde, L. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2003**, *30*, 1520–1528.
- (67) Kaumann, A. J.; Gaster, L. M.; King, F. D.; Brown, A. M. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* **1994**, *349*, 546–548.
- (68) Waeber, C.; Sebben, M.; Bockaert, J.; Dumuis, A. *Behav. Brain Res.* **1995**, *73*, 259–262.
- (69) Chang, R. *Chemistry, Ninth Edition*; McGraw-Hill, 2007.
- (70) Som, P.; Atkins, H. L.; Bandoypadhyay, D.; Fowler, J. S.; MacGregor, R. R.; Matsui, K.; Oster, Z. H.; Sacker, D. F.; Shiue, C. Y.; Turner, H.; Wan, C. N.; Wolf, A. P.; Zabinski, S. V. *J. Nucl. Med.* **1980**, *21*, 670–675.
- (71) Zhang, W.; Oya, S.; Kung, M.-P.; Hou, C.; Maier, D. L.; Kung, H. F. *Nucl. Med. Biol.* **2005**, *32*, 799–809.
- (72) Wong, D. F.; Moghekar, A. R.; Rigamonti, D.; Brašić, J. R.; Rousset, O.; Willis, W.; Buckley, C.; Smith, A.; Gok, B.; Sherwin, P.; Grachev, I. D. *Mol. Imaging Biol.* **2013**, *15*, 230–237.
- (73) Glaudemans, A. W. J. M.; Enting, R. H.; Heesters, M. A. A. M.; Dierckx, R. A. J. O.; van Rheenen, R. W. J.; Walenkamp, A. M. E.; Slart, R. H. J. A. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2013**, *40*, 615–635.
- (74) Castellucci, P.; Fuccio, C.; Rubello, D.; Schiavina, R.; Santi, I.; Nanni, C.; Allegri, V.; Montini, G. C.; Ambrosini, V.; Boschi, S.; Martorana, G.; Marzola, M. C.; Fanti, S. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2011**, *38*, 55–63.
- (75) Houle, S.; Ginovart, N.; Hussey, D.; Meyer, J. H.; Wilson, A. A. *Eur. J. Nucl. Med.* **2000**, *27*, 1719–1722.

- (76) Kornum, B. R.; Lind, N. M.; Gillings, N.; Marner, L.; Andersen, F.; Knudsen, G. M. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2009**, *29*, 186–196.
- (77) Gee, A.; Martarello, L.; Passchier, J.; Wishart, M.; Parker, C.; Matthews, J.; Comley, R.; Hopper, R.; Gunn, R. *Curr. Radiopharm.* **2008**, *1*, 110–114.
- (78) Marner, L.; Gillings, N.; Comley, R. A.; Baaré, W. F. C.; Rabiner, E. A.; Wilson, A. A.; Houle, S.; Hasselbalch, S. G.; Svarer, C.; Gunn, R. N.; Laruelle, M.; Knudsen, G. M. *J. Nucl. Med.* **2009**, *50*, 900–908.
- (79) Xu, R.; Hong, J.; Morse, C. L.; Pike, V. W. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7035–7047.
- (80) Lohith, T. G.; Xu, R.; Tsujikawa, T.; Morse, C. L.; Anderson, K. B.; Gladding, R. L.; Zoghbi, S. S.; Fujita, M.; Innis, R. B.; Pike, V. W. *Synapse* **2014**, *68*, 613–623.
- (81) Caillé, F.; Morley, T. J.; Tavares, A. A. S.; Papin, C.; Twardy, N. M.; Alagille, D.; Lee, H. S.; Baldwin, R. M.; Seibyl, J. P.; Barret, O.; Tamagnan, G. D. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6243–6247.
- (82) Buitter, H. J.; Windhorst, A. D.; Huisman, M. C.; De Maeyer, J. H.; Schuurkes, J. A.; Lammertsma, A. A.; Leysen, J. E. *EJNMMI Res.* **2013**, *3*, 24.
- (83) Hirschberger, A.; Butt, S.; Lelong, V.; Boulouard, M.; Dumuis, A.; Dauphin, F.; Bureau, R.; Pfeiffer, B.; Renard, P.; Rault, S. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 138–147.
- (84) Lemaître, S.; Lepailleur, A.; Bureau, R.; Butt-Gueulle, S.; Lelong-Boulouard, V.; Duchatelle, P.; Boulouard, M.; Dumuis, A.; Daveu, C.; Lezoualc'h, F.; Pfeiffer, B.; Dauphin, F.; Rault, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2607–2622.
- (85) Rault, S.; Lancelot, J.-C.; Prunier, H.; Robba, M.; Renard, P.; Delagrangé, P.; Pfeiffer, B.; Caignard, D.-H.; Guardiola-Lemaitre, B.; Hamon, M. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2068–2080.
- (86) Cailly, T.; Dumas, N.; Millet, P.; Lemaître, S.; Fabis, F.; Charnay, Y.; Rault, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5465–5467.
- (87) Dubost, E.; Dumas, N.; Fossey, C.; Magnelli, R.; Butt-Gueulle, S.; Ballandonne, C.; Caignard, D. H.; Dulin, F.; Sopkova de-Oliveira Santos, J.; Millet, P.; Charnay, Y.; Rault, S.; Cailly, T.; Fabis, F. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9693–9707.
- (88) Fresneau, N.; Dumas, N.; Tournier, B. B.; Fossey, C.; Ballandonne, C.; Lesnard, A.; Millet, P.; Charnay, Y.; Cailly, T.; Bouillon, J.-P.; Fabis, F. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 386–396.
- (89) Heiss, C.; Marzi, E.; Mongin, F.; Schlosser, M. *European J. Org. Chem.* **2007**, No. 4, 669–675.
- (90) Cailly, T.; Fabis, F.; Rault, S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5862–5867.
- (91) Fresneau, N.; Cailly, T.; Fabis, F.; Bouillon, J.-P. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 5393–5400.
- (92) Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 525–616.
- (93) Valkó, K. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1037*, 299–310.
- (94) Stéen, E. J. L.; Nyberg, N.; Lehel, S.; Andersen, V. L.; Di Pilato, P.; Knudsen, G. M.; Kristensen, J. L.; Herth, M. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 319–322.
- (95) Waring, M. J. *Expert Opin. Drug Discov.* **2010**, *5*, 235–248.
- (96) Waring, M. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2844–2851.
- (97) Kramer, C.; Heinisch, T.; Fligge, T.; Beck, B.; Clark, T. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 1529–1536.
- (98) Nassar, A.-E. F.; Kamel, A. M.; Clarimont, C. *Drug Discov. Today* **2004**, *9*, 1020–1028.
- (99) Lewis, D. F. .; Dickins, M. *Drug Discov. Today* **2002**, *7*, 918–925.
- (100) Waring, M. J.; Johnstone, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1759–1764.
- (101) Johnson, T. W.; Gallego, R. A.; Edwards, M. P. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 6401–6420.
- (102) Smith, J. A. M.; Beattie, D. T.; Marquess, D.; Shaw, J.-P.; Vickery, R. G.; Humphrey, P. P. A. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* **2008**, *378*, 125–137.

- (103) McKinnell, R. M.; Armstrong, S. R.; Beattie, D. T.; Fatheree, P. R.; Long, D. D.; Marquess, D. G.; Shaw, J.-P.; Vickery, R. G. *Discovery of TD-8954, a clinical stage 5-HT₄ receptor agonist with gastrointestinal prokinetic properties*; 2013; Vol. 23.
- (104) Tsubouchi, T.; Kunimatsu, T.; Tsujimoto, S.; Kiyoshi, A.; Katsura, Y.; Oku, S.; Chihara, K.; Mine, Y.; Yamada, T.; Shimizu, I.; Bando, K. *Eur. J. Pharmacol.* **2018**, *826*, 96–105.
- (105) Gomez-Parra, V.; Sanchez, F.; Torres, T. *Synthesis (Stuttg.)*. **1985**, *1985*, 282–285.
- (106) Yoshida, M.; Hara, N.; Okuyama, S. *Chem. Commun.* **2000**, *0*, 151–152.
- (107) Reitz, A. B.; Smith, G. R.; Parker, M. H. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2009**, *19*, 1449–1453.
- (108) Maeda, Y.; Saito, K.; Akamatsu, N.; Chiba, Y.; Ohno, S.; Okui, Y.; Yamada, M.; Hasegawa, T.; Kako, M.; Akasaka, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18101–18108.
- (109) Hossain, M.; Das, U.; Umemura, N.; Sakagami, H.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Kawase, M.; Dimmock, J. R. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 2206–2214.
- (110) Lohier, J.-F.; Glachet, T.; Marzag, H.; Gaumont, A.-C.; Reboul, V. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 2064–2067.
- (111) Gensini, M.; Altamura, M.; Dimoulas, T.; Fedi, V.; Giannotti, D.; Giuliani, S.; Guidi, A.; Harmat, N.; Meini, S.; Nannicini, R.; Pasqui, F.; Tramontana, M.; Triolo, A.; Maggi, C. A. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 65–78.
- (112) Widlicka, D. W.; Murray, J. C.; Coffman, K. J.; Xiao, C.; Brodney, M. A.; Rainville, J. P.; Samas, B. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 233–241.
- (113) Sutton, J. C.; Bolton, S. A.; Davis, M. E.; Hartl, K. S.; Jacobson, B.; Mathur, A.; Ogletree, M. L.; Slusarchyk, W. A.; Zahler, R.; Seiler, S. M.; Bisacchi, G. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2233–2239.
- (114) Appel, R. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1975**, *14*, 801–811.
- (115) Yung-Chi, C.; Prusoff, W. H. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099–3108.
- (116) Leeson, P. D.; Springthorpe, B. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6*, 881–890.
- (117) Mushtaq, S.; Jeon, J.; Shaheen, A.; Jang, B. S.; Park, S. H. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2016**, *309*, 859–889.
- (118) Donohue, S. R.; Varnäs, K.; Jia, Z.; Gulyás, B.; Pike, V. W.; Halldin, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6209–6212.
- (119) Wang, D.-Y.; Wang, C.; Uchiyama, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 10488–10491.
- (120) Linderman, R. J. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, **2001**; pp 1–4.
- (121) Morita, T.; Fuse, S.; Nakamura, H. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2016**, *55*, 13580–13584.
- (122) Pickett, J. E.; Váradi, A.; Palmer, T. C.; Grinnell, S. G.; Schrock, J. M.; Pasternak, G. W.; Karimov, R. R.; Majumdar, S. *Mild, Pd-catalyzed stannylation of radioiodination targets*; **2015**; Vol. 25.
- (123) Valeur, B. *Invitation à la fluorescence moléculaire*; De Boeck, 2004.
- (124) Martin, M. M.; Lindqvist, L. *J. Lumin.* **1975**, *10*, 381–390.
- (125) Mordon, S.; Devoisselle, J. M.; Maunoury, V. *Photochem. Photobiol.* **1994**, *60*, 274–279.
- (126) Ma, Z.; Du, L.; Li, M. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8187–8203.
- (127) Berque-Bestel, I.; Soulier, J.-L.; Giner, M.; Rivail, L.; Langlois, M.; Sicsic, S. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2606–2620.
- (128) Yang, D.; Soulier, J.-L.; Sicsic, S.; Mathé-Allainmat, M.; Brémont, B.; Croci, T.; Cardamone, R.; Aureggi, G.; Langlois, M. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 608–621.
- (129) Cavina, L.; van der Born, D.; Klaren, P. H. M.; Feiters, M. C.; Boerman, O. C.; Rutjes, F. P. J.

- T. *European J. Org. Chem.* **2017**, 2017, 3387–3414.
- (130) Venturi, S.; Venturi, M. *Nutr. Health* **2009**, 20, 119–134.
- (131) Qaim, S. M.; Stöcklin, G. *Radiochim. Acta* **1983**, 34, 25–40.
- (132) Tárkányi, F.; Qaim, S. M.; Stöcklin, G.; Sajjad, M.; Lambrecht, R. M.; Schweickert, H. *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part A. Appl. Radiat. Isot.* **1991**, 42, 221–228.
- (133) Lambrecht, R. M.; Sajjad, M.; Qureshi, M. A.; Al-Yanbawi, S. J. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett.* **1988**, 127, 143–150.
- (134) Karpuz, N.; Akkurt, İ.; Mavi, B. *Ann. Nucl. Energy* **2013**, 60, 341–343.
- (135) Myers, W. G. *J. Nucl. Med.* **1984**, 25, 1389–1391.
- (136) Coenen, H. H.; Mertens, J.; Mazière, B. *Radioionidation reactions for radiopharmaceuticals : compendium for effective synthesis strategies*; Springer, **2006**.
- (137) Chezal, J.-M.; Papon, J.; Labarre, P.; Lartigue, C.; Galmier, M.-J.; Decombat, C.; Chavignon, O.; Maublant, J.; Teulade, J.-C.; Madelmont, J.-C.; Moins, N. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 3133–3144.
- (138) De Paulis, T.; Janowsky, A.; Kessler, R. M.; Clanton, J. A.; Smith, H. E. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 2027–2033.
- (139) Kothari, P.; De, B. P.; He, B.; Chen, A.; Chiuchiolo, M. J.; Kim, D.; Nikolopoulou, A.; Amor-Coarasa, A.; Dyke, J. P.; Voss, H. U.; Kaminsky, S. M.; Foley, C. P.; Vallabhajosula, S.; Hu, B.; DiMagno, S. G.; Sondhi, D.; Crystal, R. G.; Babich, J. W.; Ballon, D. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 39594.
- (140) Xu, Y.-P.; Yang, M.; Pan, D.-H.; Wang, L.-Z. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2011**, 288, 157–161.
- (141) Bapat, K.; Chintalwar, G. J.; Pandey, U.; Thakur, V. S.; Sarma, H. D.; Samuel, G.; Pillai, M. R. A.; Chattopadhyay, S.; Venkatesh, M. *Appl. Radiat. Isot.* **2005**, 62, 389–393.
- (142) Paul M. Herrinton, P. M.; Owen, C. E.; Gage, J. R. *Org. Process Res. Dev.* **2001**, 5, 80–83.
- (143) Joyal, J. L.; Barrett, J. A.; Marquis, J. C.; Chen, J.; Hillier, S. M.; Maresca, K. P.; Boyd, M.; Gage, K.; Nimmagadda, S.; Kronauge, J. F.; Friebe, M.; Dinkelborg, L.; Stubbs, J. B.; Stabin, M. G.; Mairs, R.; Pomper, M. G.; Babich, J. W. *Cancer Res.* **2010**, 70, 4045–4053.
- (144) Racys, D. T.; Sharif, S. A. I.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A. *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 772–780.
- (145) Yamamoto, T.; Toyota, K.; Morita, N. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 1364–1366.
- (146) Moerlein, S. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, 0, 1687–1692.
- (147) Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R. *Appl. Radiat. Isot.* **1993**, 44, 621–628.
- (148) Lalut, J.; Tournier, B. B.; Cailly, T.; Lecoutey, C.; Corvaisier, S.; Davis, A.; Ballandonne, C.; Since, M.; Millet, P.; Fabis, F.; Dallemagne, P.; Rochais, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 116, 90–101.
- (149) Cant, A. A.; Champion, S.; Bhalla, R.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, 52, 7829–7832.
- (150) Tredwell, M.; Preshlock, S. M.; Taylor, N. J.; Gruber, S.; Huiban, M.; Passchier, J.; Mercier, J.; Génicot, C.; Gouverneur, V. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, 53, 7751–7755.
- (151) Wilson, T. C.; McSweeney, G.; Preshlock, S.; Verhoog, S.; Tredwell, M.; Cailly, T.; Gouverneur, V. *Chem. Commun.* **2016**, 52, 13277–13280.
- (152) Webster, S.; O'Rourke, K. M.; Fletcher, C.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A.; Lee, A.-L. *Chem. - A Eur. J.* **2018**, 24, 937–943.
- (153) Reilly, S. W.; Makvandi, M.; Xu, K.; Mach, R. H. *Org. Lett.* **2018**, 20, 1752–1755.
- (154) Sloan, N. L.; Luthra, S. K.; McRobbie, G.; Pimlott, S. L.; Sutherland, A. *Chem. Commun.* **2017**, 53, 11008–11011.

- (155) Yuan, K.; Doucet, H. *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 392–396.
- (156) Dupont, J.; Consorti, C. S.; Spencer, J. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2527–2572.
- (157) Gensch, T.; Hopkinson, M. N.; Glorius, F.; Wencel-Delord, J. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 2900–2936.
- (158) Engle, K. M.; Yu, J.-Q. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 8927–8955.
- (159) Chen, Z.; Wang, B.; Zhang, J.; Yu, W.; Liu, Z.; Zhang, Y. *Org. Chem. Front.* **2015**, *2*, 1107–1295.
- (160) Hu, J.; Li, G.; Huang, Z.-B.; Zhang, J.; Shi, D.-Q.; Zhao, Y. *Org. Chem. Front.* **2017**, *4*, 1503–1507.
- (161) She, Z.; Shi, Y.; Huang, Y.; Cheng, Y.; Song, F.; You, J. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 13914–13916.
- (162) Wang, X.; Ji, X.; Shao, C.; Zhang, Y.; Zhang, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 5616–5624.
- (163) Park, Y.; Kim, Y.; Chang, S. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 9247–9301.
- (164) Lu, W.; Xu, H.; Shen, Z. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 1261–1267.
- (165) Murai, M.; Nishinaka, N.; Takai, K. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 5843–5847.
- (166) Das, R.; Kapur, M. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 1114–1126.
- (167) Ackermann, L. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1315–1345.
- (168) Lyons, T. W.; Sanford, M. S. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1147–1169.
- (169) Powers, D. C.; Geibel, M. A. L.; Klein, J. E. M. N.; Ritter, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17050–17051.
- (170) Brown, J. A.; Cochrane, A. R.; Irvine, S.; Kerr, W. J.; Mondal, B.; Parkinson, J. A.; Paterson, L. C.; Reid, M.; Tuttle, T.; Andersson, S.; Nilsson, G. N. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 3551–3562.
- (171) Yang, H.; Dormer, P. G.; Rivera, N. R.; Hoover, A. J. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 1883–1887.
- (172) Péron, F.; Fossey, C.; Sopkova-de Oliveira Santos, J.; Cailly, T.; Fabis, F. *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, 7507–7513.
- (173) Giri, R.; Chen, X.; Yu, J.-Q. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44*, 2112–2115.
- (174) Mei, T.; Giri, R.; Maugel, N.; Yu, J. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 5215–5219.
- (175) Mei, T.-S.; Wang, D.-H.; Yu, J.-Q. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3140–3143.
- (176) Li, J.-J.; Mei, T.-S.; Yu, J.-Q. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 6452–6455.
- (177) Giri, R.; Chen, X.; Hao, X.-S.; Li, J.-J.; Liang, J.; Fan, Z.-P.; Yu, J.-Q. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 3502–3505.
- (178) Zhang, P.; Hong, L.; Li, G.; Wang, R. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 345–349.
- (179) Wang, X.-C.; Hu, Y.; Bonacorsi, S.; Hong, Y.; Burrell, R.; Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10326–10329.
- (180) Aihara, Y.; Chatani, N. *ACS Catal.* **2016**, *6*, 4323–4329.
- (181) Kommagalla, Y.; Yamazaki, K.; Yamaguchi, T.; Chatani, N. *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 1359–1362.
- (182) Allison R. Dick; Kami L. Hull, A.; Sanford, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2300–2301.
- (183) Kalyani, D.; Dick, A. R.; Anani, W. Q.; Sanford, M. S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2523–2526.
- (184) Kalyani, D.; Dick, A. R.; Anani, W. Q.; Sanford, M. S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11483–11498.
- (185) Moghaddam, F. M.; Tavakoli, G.; Saeednia, B.; Langer, P.; Jafari, B. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*,

3868–3876.

- (186) Du, B.; Jiang, X.; Sun, P. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 2786–2791.
- (187) Ma, X.-T.; Tian, S.-K. *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 337–340.
- (188) Hartig, P. R.; Krohn, A. M.; Hirschman, S. A. *Anal. Biochem.* **1985**, *144*, 441–446.
- (189) Ammazalorso, A.; De Filippis, B.; Giampietro, L.; Amoroso, R. *Chem. Biol. Drug Des.* **2017**, *90*, 1094–1105.
- (190) Lobb, K. L.; Hipskind, P. A.; Aikins, J. A.; Alvarez, E.; Cheung, Y.-Y.; Considine, E. L.; De Dios, A.; Durst, G. L.; Ferritto, R.; Grossman, C. S.; Giera, D. D.; Hollister, B. A.; Huang, Z.; Iversen, P. W.; Law, K. L.; Li, T.; Lin, H.-S.; Lopez, B.; Lopez, J. E.; Martin Cabrejas, L. M.; McCann, D. J.; Molero, V.; Reilly, J. E.; Richett, M. E.; Shih, C.; Teicher, B.; Wikel, J. H.; White, W. T.; Mader, M. M. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5367–5380.
- (191) Meier, T.; Uhlik, M.; Chintharlapalli, S.; Dowless, M.; Van Horn, R.; Stewart, J.; Blosser, W.; Cook, J.; Young, D.; Ye, X.; Evans, G.; Credille, K.; Ballard, D.; Huber, L.; Capen, A.; Chedid, M.; Ilaria, R.; Smith, M. C.; Stancato, L. *Mol. Cancer Ther.* **2011**, *10*, 2168–2178.
- (192) Rega, M. F.; Wu, B.; Wei, J.; Zhang, Z.; Cellitti, J. F.; Pellicchia, M. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 6000–6013.
- (193) Giri, R.; Lam, J. K.; Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 686–693.
- (194) Bedford, R. B.; Haddow, M. F.; Mitchell, C. J.; Webster, R. L. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2011**, *50*, 5524–5527.
- (195) Engle, K. M.; Mei, T.-S.; Wasa, M.; Yu, J.-Q. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 788–802.
- (196) Kantchev, E. A. B.; Ying, J. Y. *Organometallics* **2009**, *28*, 289–299.
- (197) Smalley, A. P.; Gaunt, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 10632–10641.
- (198) McNally, A.; Haffemayer, B.; Collins, B. S. L.; Gaunt, M. J. *Nature* **2014**, *510*, 129–133.
- (199) Laga, E.; García-Montero, A.; Sayago, F. J.; Soler, T.; Moncho, S.; Cativiela, C.; Martínez, M.; Urriolabeitia, E. P. *Chem. - A Eur. J.* **2013**, *19*, 17398–17412.
- (200) Nieto, S.; Arnau, P.; Serrano, E.; Navarro, R.; Soler, T.; Cativiela, C.; Urriolabeitia, E. P. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 11963–11975.
- (201) Gandeepan, P.; Parthasarathy, K.; Cheng, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8569–8571.
- (202) Sun, X.; Shan, G.; Sun, Y.; Rao, Y. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52*, 4440–4444.
- (203) Wang, J.; Dong, C.; Wu, L.; Xu, M.; Lin, J.; wei, kun. *Adv. Synth. Catal.* **2018**.
- (204) Chen, X.-Y.; Ozturk, S.; Sorensen, E. J. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 6280–6283.
- (205) Xiao, B.; Fu, Y.; Xu, J.; Gong, T.-J.; Dai, J.-J.; Yi, J.; Liu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 468–469.
- (206) Hingorani, S. R.; Jacobetz, M. A.; Robertson, G. P.; Herlyn, M.; Tuveson, D. A.; Rong, H.; Chen, C.; Zhang, X.; Vincent, P.; McHugh, M.; Cao, Y.; Shujath, J.; Gawlak, S.; Eveleigh, D.; Rowley, B.; Liu, L.; Adnane, L.; Lynch, M.; Auclair, D.; Taylor, I.; Gedrich, R.; Voznesensky, A.; Riedl, B.; Post, L. E.; Bollag, G.; Trail, P. A. *Cancer Res.* **2003**, *63*, 5198–5202.
- (207) Yoshida, H.; Yanai, H.; Namiki, Y.; Fukatsu-Sasaki, K.; Furutani, N.; Tada, N. *CNS Drug Rev.* **2006**, *12*, 9–20.
- (208) Barqawi, A.; Akduman, B.; Abouelfadel, Z.; Robischon, M.; Crawford, E. D. *BJU Int.* **2003**, *92*, 695–698.
- (209) Pisani, L.; Farina, R.; Catto, M.; Iacobazzi, R. M.; Nicolotti, O.; Cellamare, S.; Mangiatordi, G. F.; Denora, N.; Soto-Otero, R.; Siragusa, L.; Altomare, C. D.; Carotti, A. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 6791–6806.
- (210) Kong, X.; He, Z.; Zhang, Y.; Mu, L.; Liang, C.; Chen, B.; Jing, X.; Cammidge, A. N. *Org.*

- Lett.* **2011**, *13*, 764–767.
- (211) Ashford, M. E.; Nguyen, V. H.; Greguric, I.; Pham, T. Q.; Keller, P. A.; Katsifis, A. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 783–794.
- (212) Dubost, E.; Magnelli, R.; Cailly, T.; Legay, R.; Fabis, F.; Rault, S. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5008–5016.
- (213) Sang, Z.; Wang, K.; Wang, H.; Yu, L.; Wang, H.; Ma, Q.; Ye, M.; Han, X.; Liu, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 5053–5059.
- (214) Chen, Y.; Wang, S.; Xu, X.; Liu, X.; Yu, M.; Zhao, S.; Liu, S.; Qiu, Y.; Zhang, T.; Liu, B.-F.; Zhang, G. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 4671–4690.
- (215) Péron, F.; Fossey, C.; Cailly, T.; Fabis, F. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1827–1829.
- (216) Kathiravan, S.; Nicholls, I. A. *Chem. - A Eur. J.* **2017**, *23*, 7031–7036.
- (217) Song, H.; Liu, Y.; Liu, Y.; Wang, Q. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3240–3243.
- (218) Ladziata, U.; Kuposov, A. Y.; Lo, K. Y.; Willging, J.; Nemykin, V. N.; Zhdankin, V. V. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44*, 7127–7131.
- (219) Ahmed, A.; Singha, R.; Ray, J. K. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 2167–2171.
- (220) Chaitanya, M.; Anbarasan, P. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 3362–3366.
- (221) Song, B.; Zheng, X.; Mo, J.; Xu, B. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 329–335.
- (222) Hafner, A.; Meisenbach, M.; Sedelmeier, J. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 3630–3633.

Conception de nouveaux agents iodés pour l'imagerie TEMP des récepteurs 5-HT₄

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative touchant près d'un million de personnes en France et dont les perspectives actuelles laissent suggérer une forte augmentation dans les années à venir. Si les mécanismes biochimiques responsables des symptômes sont connus, aucun traitement curatif n'est aujourd'hui disponible. Parmi les cibles incriminées, le récepteur sérotoninergique 5-HT₄ a fait l'objet de nombreuses études et de nombreux ligands ont été synthétisés dans l'optique de trouver un traitement efficace. Cependant, en raison de sa complexité et de sa sensibilité, une étude approfondie du cerveau en conditions fonctionnelles s'avère délicate. C'est pourquoi, l'utilisation des techniques d'imagerie médicale constitue une méthode non invasive et prometteuse pour améliorer les recherches sur ce récepteur en conditions physiologiques et physiopathologiques. Dans la continuité des travaux réalisés au laboratoire depuis plus d'une vingtaine d'années, une nouvelle génération de ligands iodés, à lipophilie réduite, basés sur un système diazaphénanthridine, a été synthétisée. Différentes fonctions hydrophiles ont été introduites et 25 nouveaux composés ont été obtenus et évalués biologiquement. Les meilleurs candidats ont été envoyés en radiomarquage et les images ont montré la capacité de ces ligands à déplacer le radiotracer de référence *in vitro* sur coupe de cerveau humain.

En parallèle de cette étude, suite aux difficultés rencontrées pour préparer les précurseurs de radiomarquage, une nouvelle technique de radioiodation par activation C-H a été investiguée. Après une mise au point sur les *N*-tosylbenzamides comme groupement directeur, cette réaction a été exemplifiée sur une quinzaine de groupements directeurs et appliquée à des molécules biologiquement actives plus complexes.

Mots clés: Récepteur sérotoninergique 5-HT₄, radioligand, lipophilie, activation C-H, radioiodation

Design of new iodinated ligands for the SPECT imaging of 5-HT₄ receptors

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder affecting almost 50 millions people in the world. Even if the biological mechanisms implied on this pathology are known, no treatments stop or reverse its progression. Serotonergic receptor 5-HT₄R is one of the incriminated target and many ligands have been synthesized in order to develop an efficient treatment but a functional study of the brain is impossible. That's why, development of efficient radiotracers is essential for the *in vivo* evaluation of new drugs targeting 5-HT₄R and also for investigation of the receptor involvement in a variety of neurodegenerative and neuropsychiatric disorders. Starting from previous studies made in the laboratory, a new generation of ligands, focused on diazaphenanthridine scaffold and with reduced lipophilicity, have been designed. Various hydrophilic functions have been introduced and 25 new ligands have been synthesized and biological assays have been realised. Five of this compounds have been radiolabeled and the *in vitro* imaging experiments on human slice brain showed the ability of the new « hit » compound to move the radioligand of reference and to label the 5-HT₄R.

Due to the difficulties encountered to the synthesis of tin precursors for the radiolabeling, a new strategy of radioiodation has been developed based on palladium mediated C-H activation. Using first *N*-tosylbenzamide as directing group for the proof of concept, the scope of this methodology have been enhanced to about fifteen directing groups. Finally, the C-H radioiodation have been applied to more complex biological molecules.

Keys words: serotonergic receptor 5-HT₄, radioligand, lipophilicity, C-H activation, radioiodation