

Table des figures

Figure 1 : Réactions d'alkylation fréquemment utilisées mises en évidence dans l'étude de Roughley et Jordan.	6
Figure 2 : Réactions d'acylation et réactions assimilées fréquemment utilisées mises en évidence dans l'étude de Roughley et Jordan.	6
Figure 3 : Groupements protecteurs fréquemment utilisés en chimie médicinale mis en évidence dans l'étude de Roughley et Jordan.	7
Figure 4 : Réactions de formation de liaison C-C fréquemment utilisées.	9
Figure 5 : Hétérocycles à 3 et 4 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale. a) Structure chimique des hétérocycles. b) Exemples de molécules d'intérêt thérapeutique comprenant un hétérocycle à 3 ou 4 sommets.	10
Figure 6 : Hétérocycles à 5 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.	13
Figure 7 : Exemples de molécules d'intérêt biologique comprenant un hétérocycle à 5 sommets.	13
Figure 8 : Hétérocycles à 6 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.	16
Figure 9 : Exemples de molécules d'intérêt biologique comprenant un hétérocycle à 6 sommets.	16
Figure 10 : Bicycles à 6 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.	19
Figure 11 : Exemples de molécules d'intérêt biologique comprenant un bicycle à 6 sommets.	19
Figure 13 : Bicycles à 5 et 6 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.	22
Figure 12 : Exemples de molécules d'intérêt biologiques comprenant un hétérocycle à 5 et 6 sommets.	22
Figure 15 : Composés tricycliques fréquemment rencontrés en chimie médicinale.	26
Figure 14 : Exemples de molécules d'intérêt biologique contenant un fragment tricyclique.	26
Figure 16 : Hétérocycles à 7 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.	30
Figure 17 : Exemples de molécules d'intérêt biologique contenant un hétérocycle à 7 sommets.	30
Figure 18 : Évolution du concept de bioisostérie à partir de la définition de l'isostérie	32
Figure 19 : Groupements trivalents comme bioisostère classique.	34
Figure 20 : Groupements tétravalents comme bioisostère classique.	34
Figure 21 : Cycles équivalents comme bioisostères classiques.	35
Figure 22 : Bioisostères utilisés pour remplacer le cycle phényle.	36
Figure 23 : Bioisostères utilisés pour remplacer le groupement hydroxyle.	36
Figure 24 : Bioisostères utilisés pour remplacer le groupement carbonyle.	37
Figure 25 : Bioisostères utilisés pour remplacer les acides carboxyliques.	37
Figure 26 : Bioisostères utilisés pour remplacer les groupements ester.	39
Figure 27 : Bioisostères utilisés pour remplacer les groupements amide et les liaisons peptidiques.	40
Figure 28 : Bioisostères utilisés pour remplacer les urées et les thiourées.	41
Figure 29 : Bioisostères utilisés pour remplacer les halogènes.	41
Figure 30 : Bioisostères utilisés pour remplacer les phénols.	41
Figure 31 : Bioisostères utilisés pour remplacer les catéchols.	42
Figure 32 : Liaison ligand-protéine par interaction électrostatique.	55
Figure 33 : Liaison ligand-protéine par interaction ion-dipôle.	56
Figure 34 : Liaison Ligand-protéine par interaction dipôle-dipôle.	58
Figure 35 : Liaison Ligand-Protéine par interaction Ion-Dipôle induit.	59
Figure 36 : Interaction dipôle instantané – dipôle induit : Forces de London.	60
Figure 37 : Liaison Ligand-Protéine par empilement π ou π -stacking (AA : Acide Aminé).	62
Figure 38 : Interaction Ligand-Protéine par Liaison hydrogène et phénomène Flip-Flop.	63
Figure 39 : Caractère donneur ou accepteur de liaison hydrogène d'un groupement en fonction de son pK_{HB} (adapté de Pike et al.).	64
Figure 40 : Représentation des modes de liaison de l'atome d'halogène.	65
Figure 41 : Liaison covalente entre une molécule et sa cible biologique.	66
Figure 42 : Représentation du modèle d'interaction "Clef-Serrure" entre un ligand et une protéine proposée par Emil Fisher (1890).	67
Figure 43 : Représentation du modèle d'interaction "ajustement induit" entre un ligand et une protéine proposée par Daniel Koshland (1958).	68
Figure 44 : Arbre décisionnel de Topliss pour les groupements phényles.	72
Figure 45 : Arbre décisionnel de Topliss pour les chaînes latérales.	73
Figure 46 : Stratégies d'approches de design basé sur les fragments (FBDD). Stratégie de ligation de fragments (haut) et de croissance de fragments (bas).	76
Figure 47 : Molécules médicaments issues d'une approche FBDD.	76

Figure 48 : Approche QSAR pour l'amélioration d'une molécule de référence ou l'identification d'un pharmacophore à partir d'une molécule de référence.....	77
Figure 49 : Analyse de régression dans une étude QSAR.....	79
Figure 50 : Approches fréquentes utilisées en chimie combinatoire sur support solide en en solution. a) Approche « Split and Mix », b) Approche basée sur la synthèse en parallèle pouvant aussi être appliquée en solution, sans utilisation de résine, c) Approche basée sur l'utilisation de mélange réactionnels avec l'emploi de réactions multicomposantes.....	82
Figure 60 : Méthodologie générale applicable pour la détection d'un complexe ligand-protéine.....	85
Figure 61 : Représentation schématique de la distribution des données dans un test « idéal » donnant un Z-score égal à 1. Adapté de Zhang et al.....	87
Figure 62 : Principe du criblage de ligand par affinité en utilisant une méthode de séparation physique.....	89
Figure 63 : Principe du criblage par compétition avec une molécule de référence. A) à partir d'une molécule de référence et d'une molécule testée fluorescentes. B) à partir d'une molécule de référence fluorescente ou non, en présence d'une molécule de référence non fluorescente et / ou radiomarquée. L'intensité en unités arbitraires (u.a) peut faire référence à une un nombre de photons pour les molécules fluorescentes, une absorbance pour les molécules non fluorescentes ou une activité pour les molécules radiomarquées.....	90
Figure 64 : Méthode de criblage de ligand fluorescent en utilisant le changement d'intensité de fluorescence lors de la fixation à une protéine.....	91
Figure 65 : Principe de l'expérience STD pour le criblage de molécules par RMN. A) Signal RMN obtenu sans irradiation sélective de la protéine. B) Signal obtenu après irradiation sélective de la protéine. Le spectre STD correspond à la différence des spectres a et b.....	92
Figure 66 : Principe de l'expérience WaterLOGSY pour le criblage de molécules par RMN. A) Spectre obtenu sans irradiation sélective de l'eau. B) spectre obtenu après irradiation sélective de l'eau, montrant un effet NOE négatif pour le ligand.....	93
Figure 67 : Principe de la résonance plasmonique de surface pour la mise en évidence d'une interaction ligand-protéine. Adapté de Ciulli et al.....	94
Figure 68 : Principe de la calorimétrie pour la détermination de la constante d'affinité et des paramètres thermodynamiques d'une molécule.....	95
Figure 51 : Précurseurs utilisés pour le radiomarquage à l'azote 13, l'oxygène 15 et les isotopes de l'iode.....	105
Figure 52 : Spectre électromagnétique, fréquence, longueur d'onde et énergie associé.....	105
Figure 53 : Diagramme de Perrin-Jablonski avec les modes de désexcitations possibles pour une molécule. Lorsqu'une molécule absorbe de l'énergie, que ce soit sous forme de photons ou de chaleur, elle va passer d'un état fondamental, singulet S_0 à état excité singulet S_1 . Du fait de l'agitation thermique, toutes les molécules ne sont pas toutes au même niveau d'énergie lors de l'absorption d'énergie. Une fois dans un état excité, elle peut se désexciter par l'émission de photons ou de façon non radiative.....	106
Figure 54 : Mécanisme de fluorescence par TICT et phénomènes photophysiques associés.....	108
Figure 55 : Mécanisme de Fluorescence par ESIP et phénomènes photophysiques associés.....	109
Figure 56 : Mécanisme de fluorescence induite par l'agrégation AIE et AIEE.....	110
Figure 57 : Exemples de sondes présentant un mécanisme de fluorescence par AIE utilisées en imagerie biologique.....	111
Figure 58 : Exemples de familles chimiques utilisées pour leur émission dans le proche infrarouge et couples émission/excitation associés.....	113
Figure 59 : Exemples de familles chimiques utilisées pour leurs propriétés de phosphorescence.....	114
Figure 69 : Structure chimique du Flutémetamol.....	119
Figure 70 : Structure chimique de la thioflavine T.....	120
Figure 71 : Série de dérivés de la thioflavine T issus du criblage réalisé par Klunk et al.....	120
Figure 72 : Distribution du Flutémetamol chez l'animal. a-b) étude histologique de la distribution d'outils d'imagerie sur une coupe histologique de cerveau de souris transgénique surexprimant les dépôts de peptides Aβ. a) Autoradiographie du Flutémetamol. b) Marquage des plaques par la thioflavine S et visualisation par microscopie de fluorescence. c-d) Distribution du Flutémetamol chez la souris à 5 et 30-60 minutes visualisée par expérience PET/CT. c) Distribution du radiotracer à 5 minutes. d) Distribution du radiotracer à 30-60 minutes. Adapté de Snellman et al.....	122
Figure 73 : Distribution du Flutémetamol chez l'Homme obtenues par imagerie TEP. a) Distribution du corps entier chez un patient sain. b) Distribution dans le cerveau chez un patient sain. c) distribution dans le cerveau chez un patient atteint de la maladie d'Alzheimer. Adapté de Koole et al.....	123
Figure 74 : Structure et formes chargées ou non chargées de la fluorescéine.....	124
Figure 75 : Propriétés photophysiques de la fluorescéine. Gauche : Spectres d'absorption et d'émission dans l'eau. Droite : Propriétés photophysiques de la fluorescéine dans l'eau.....	124
Figure 76 : Relation structure-propriétés photophysiques de la fluorescéine et de ses dérivés.....	125
Figure 77 : Structure chimique, synthèse et propriétés photophysiques de l'Oregon 514.....	126

Table des schémas

Schéma 1 : Cycle catalytique général des réactions de couplage métallo-catalysées.	9
Schéma 2 : Voies d'accès possibles aux cycles aziridines et azétidines.	11
Schéma 3 : Voies d'accès possibles aux cycles oxiranes et oxétanes.	11
Schéma 4 : Voies d'accès possibles aux cycles thiiranes et thiétanes.	12
Schéma 5 : Voies d'accès possibles aux cycles pyrroles.	14
Schéma 6 : Voies d'accès possibles aux cycles furanes.	14
Schéma 7 : Voies d'accès possibles aux cycles thiophènes.	15
Schéma 8 : Voie d'accès possible aux γ -lactames.	15
Schéma 9 : Voies d'accès possibles aux pyridines.	17
Schéma 10 : Voies d'accès possibles aux pyrimidines.	17
Schéma 11 : Voies d'accès possibles aux pyridazines.	18
Schéma 12 : Voies d'accès possibles aux pyrazines.	18
Schéma 13 : Voies d'accès possibles aux quinolines.	20
Schéma 14 : Voies d'accès possibles aux quinazolines, quinoxalines, cinnolines et phthalazines.	21
Schéma 15 : Voies d'accès possibles aux coumarines.	21
Schéma 16 : Voies d'accès possibles aux benzopyrroles (indoles).	23
Schéma 17 : Voies d'accès possibles aux benzimidazoles.	23
Schéma 18 : Voies d'accès possibles aux benzothiophènes.	24
Schéma 19 : Voies d'accès possibles aux benzoxazoles.	24
Schéma 20 : Voies d'accès possibles aux benzothiazoles.	25
Schéma 21 : Voies de synthèse possibles aux carbazoles.	27
Schéma 22 : Voies d'accès possibles aux α -carboline.	27
Schéma 23 : Voies d'accès possibles aux β -carboline.	28
Schéma 24 : Voies d'accès possibles aux γ -carboline.	28
Schéma 25 : Voies d'accès possibles aux δ -carboline.	28
Schéma 26 : Voies d'accès possibles aux phénothiazines.	29
Schéma 27 : Exemples de groupements polaires utilisés afin d'augmenter la solubilité aqueuse d'une molécule.	44
Schéma 28 : Exemples de groupements ionisables utilisés afin d'augmenter la solubilité aqueuse d'une molécule.	45
Schéma 29 : Exemples de groupements chargés utilisés afin d'augmenter la solubilité aqueuse d'une molécule.	45
Schéma 30 : Exemples de groupements capables de réaliser des liaisons hydrogènes utilisés afin d'augmenter la solubilité aqueuse d'une molécule.	45
Schéma 31 : Augmentation de la lipophile par l'emploi de bioisostères.	46
Schéma 32 : Réduction du degré de liberté conformationnel.	47
Schéma 33 : Remplacement de groupements ionisables par des groupements non ionisables.	47
Schéma 34 : Réduction du nombre de liaisons hydrogène.	47
Schéma 35 : Ajout de groupements non polaires.	48
Schéma 36 : Fluoruration des sites métaboliques.	50
Schéma 37 : Cyclisation pour le masquage de sites métaboliques.	50
Schéma 38 : Désactivation des positions métabolisables.	51
Schéma 39 : Remplacement de groupements fonctionnels instables métaboliquement.	51
Schéma 40 : Blocage des sites métabolique par introduction d'un bouclier stérique.	52
Schéma 41 : Groupements chimiques classiquement utilisés pour la réalisation d'une liaison covalente avec une cible biologique.	66
Schéma 42 : Approche paramétrique de construction de pharmacophore.	73
Schéma 43 : Processus nucléaires aboutissant à la formation d'un rayonnement gamma.	99
Schéma 44 : Désintégration d'un noyau émetteur β^+ et annihilation d'un positon.	102
Schéma 45 : Production des précurseurs utilisés pour le radiomarquage au carbone 11.	104
Schéma 46 : Production des précurseurs utilisés pour le radiomarquage au fluor 18.	104
Schéma 47 : Radiosynthèse du Flutémetamol à partir de l'acide 4-acétamido-3-nitrobenzoïque	121
Schéma 48 : Voie de synthèse de la Fluorescéine	125

Abréviations

3D-QSAR : QSAR tridimensionnelle

AA : Acide Aminé

ACQ : Agregation-Caused Quenching

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination/Excrétion, Toxicité

AFMoC : Adaptation of Fields for Molecular Comparison

AIE : Emission induite par l'agrégation

AIEE : Fluorescence augmentée par le phénomène d'agrégation

BCS : Biopharmaceutics Classification System

BP : Binding Potentiel

CoMFA : Comparative Molecular Field Analysis

CoMSIA : Comparative molecular similarity indices analysis

COX-1 : Cyclooxygénase de type 1

DFT : Density functional theory

DYLOMMS : Dynamic Lattice-Oriented Molecular Modeling System

EDG : Electron Donating Group

EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor

ESIPT : Transfert de proton intramoléculaire à l'état excité

EWG : Electron Withdrawing Group

FBDD : Fragment-based drug design

FDA : Agence américaine de régulation des médicaments

FID : Frequence Induced Decay

Fsp3 : Fraction des carbones hybridés sp3

HOMO : Highest occupied molecular orbital

HSA : Albumine de sérum humain

ICT : Transfert de charge intramoléculaire

IRM ou MRI : l'imagerie par résonance magnétique

ISC : Croisement intersystème

ITC : Isothermal Titration Calorimetry

Ka : Constante d'association

Kd : Constante de dissociation

LES : Etat local excité

LUMO : Lowest unoccupied molecular orbital

MCR : Réaction multicomposante

NOE : Effet Overhauser Nucléaire

NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

Ox : Oxydation

PMSA : Antigènes membranaires spécifiques de la prostate

TPSA (PSA) : Topological polar surface area (Polar surface area)

QSAR : Relation structure activité quantitative

Red : Réduction

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

RSA / SAR : Relation structure activité

S_NAr : Substitution nucléophile aromatique

SPR : Résonance plasmonique de surface

SPIO : Oxydes de fer superparamagnétiques

STD : Expériences de différence de transfert de saturation

TDDFT : Time-dependent density-functional theory

TEMP, SPECT : tomographie par émission monophotonique

TEP ou PET : tomographie par émission de positons

TICT : Transfert de charge intramoléculaire avec changement conformationnel

USPIO : Oxydes de fer de très petite taille

UV : Ultraviolet

VdW : Van der Waals

waterLOGSY : Water-Ligand Observed via Gradient Spectroscopy

Introduction

La chimie médicinale se concentre sur la recherche et le développement de nouvelles molécules d'intérêt biologique. En suivant un long processus de développement, incluant notamment les études de relations entre la structure chimique des composés et leurs activités biologiques (SAR), l'étude de leurs propriétés pharmacocinétiques, pharmacodynamiques et de leurs métabolites, son objectif est d'aboutir à un nouveau candidat médicament puis un médicament.

Durant le développement d'un médicament, et tout au long de ce long processus, la chimie médicinale a donc pour rôle de créer de nouvelles molécules, tout en tenant compte des contraintes biologiques associées à la cible biologique.

Le champ d'action de la chimie médicinale ne se limite pas à la recherche et au développement de molécules à activité biologique, mais s'intéresse également aux outils d'imagerie. Ces molécules sont utilisées à la fois en clinique mais également en laboratoire pour la mise en évidence de cibles biologiques, mais sans en modifier l'activité.

La vie d'un médicament suit un long processus pouvant être schématisé en la succession de plusieurs étapes successives et continues allant de la synthèse et l'optimisation de molécules pour une application biologique jusqu'à la surveillance de ses effets indésirables sur une population utilisant le médicament.

Dans la première étape de recherche et développement, on parle de « drug discovery ». Il s'agit d'une étape fondamentale pendant laquelle les conditions du criblage vont être définies. C'est à cette étape que la maladie, la cible thérapeutique, la ou les familles chimiques ainsi que les modalités du criblage sont généralement déterminées. On parle de « phase de découverte ». L'objectif de cette première phase de découverte est d'obtenir plusieurs candidats médicaments à la suite d'un premier tri réalisé en fonction des conditions du criblage. Elle permet généralement de passer de plusieurs centaines, milliers ou millions de molécules à un nombre plus facilement manipulable par les chimistes, soit quelques dizaines de composés

Vient ensuite la « phase d'optimisation », qui a pour rôle d'améliorer les propriétés des molécules retenues à l'issue du premier tri en fonction des premiers résultats biologiques. A la fin de cette seconde phase, l'objectif est de proposer les molécules les moins toxiques, ayant la meilleure activité et pour lesquelles une forme galénique est possible. Le rôle de la chimie médicinale est prédominant dans cette étape, puisque les premières molécules identifiées vont ensuite être modifiées en une ou plusieurs séries d'analogues afin d'obtenir les propriétés physicochimiques et biologiques souhaitées.

Pour cela, la chimie médicinale s'appuie sur un certain nombre d'outils et règles élaborés au fil des années. Ces outils se basent à la fois sur la connaissance approfondie des méthodes d'interaction des molécules sur leur cible biologique mais également sur les différents modes de liaison possibles.

La « phase d'évaluation », ou d'études cliniques, consiste enfin à tester en conditions « réelles » chez un patient sain ou malade l'efficacité de la molécule développée. Cette étape se fait généralement en comparant la nouvelle molécule avec un placebo (dans le cas d'une molécule à activité biologique) et une molécule de référence, déjà utilisée dans cette indication, afin de mettre en avant sa plus-value. L'objectif de cette étape est donc la validation de la nouvelle molécule en tant que médicament et de permettre son autorisation sur le marché.

Enfin, la dernière phase dite de « suivi », est mise en place dès l'utilisation à grande échelle du nouveau médicament nouvellement autorisé. Elle est concentrée sur la pharmacovigilance du médicament et se focalise sur la surveillance, l'évaluation, la prévention et la gestion des risques d'effets indésirables du nouveau médicament. Les études cliniques étant réalisées à une échelle restreinte sur une population extrêmement contrôlée, certains effets indésirables peuvent ne pas être détectés pour des raisons statistiques. Le suivi régulier des effets indésirables des nouveaux médicaments permet donc de réajuster la balance bénéfices / risques une fois le médicament utilisé dans la population générale, et restreindre son accès voire procéder à son retrait du marché s'il s'avère que cette balance devient défavorable.

Ce travail de thèse se propose donc de préciser le rôle de la chimie médicinale dans le développement de nouveaux médicaments, en se focalisant plus spécifiquement sur la conception d'outils d'imagerie médicale.

Une première partie développera les différentes voies de synthèses et réactions chimiques utilisées dans la conception de molécules d'intérêt biologique, puis traitera de l'emploi de bioisostères dans l'amélioration des paramètres physicochimiques d'une molécule identifiée. Enfin l'optimisation des paramètres ADMET sera abordé en se focalisant sur les options chimiques à disposition pour améliorer la pharmacocinétique d'une molécule.

La seconde partie de ce document portera sur les concepts et règles intégrées dans la conception rationnelle de molécules d'intérêt biologiques, en se concentrant sur la connaissance des interactions et modèles d'interactions entre un ligand et cible biologique, ainsi que sur les règles empiriques et paramètres généralement suivis dans le développement d'une molécule destinée à l'Homme. Les différents types d'outils diagnostics ainsi que leurs spécificités de développement seront ensuite abordées.

Dans une troisième partie, les différentes méthodologies de criblage de molécules d'intérêt biologique seront explorées, ainsi que les différents paramètres mesurés, avec une focalisation sur celles applicables aux molécules radiomarquées et lumineusescentes.

Enfin dans un dernier chapitre, la recherche et développement d'une molécule médicament radiomarquée, le Flutémétamol et d'une sonde fluorescente, l'Oregon 514 seront développés.

I. Les modifications chimiques utilisées en chimie médicinale

La synthèse de molécules présentant un intérêt biologique, pour leur activité ou en tant qu'outil d'imagerie partagent un socle commun de contraintes liées à une finalité d'utilisation chez l'Homme, ou l'animal. Bien que leur finalité soit différente, l'accès à ces molécules met en jeu de nombreuses réactions chimiques, que ce soit pour la construction de la molécule, ou son adaptation pour une application dans un contexte biologique déterminé. Ce premier chapitre se concentrera dans un premier temps sur les méthodes de synthèses appliquées dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules d'intérêt biologique, puis s'intéressera dans un second temps aux différentes modifications chimiques utilisées dans le développement de molécules « lead ».

I.1 Réactions chimiques classiquement utilisées dans la constitution de librairies

Une molécule d'intérêt biologique est définie entre autres par un pharmacophore. Il s'agit de la partie de la molécule responsable de l'activité biologique et / ou de la liaison à la cible définie. La grande diversité structurale des pharmacophores employés est à mettre en perspective avec le nombre relativement restreint de réactions chimiques employées pour les obtenir. En effet cette relative faible diversité a été démontrée par plusieurs études compilant d'une part le type de réactions chimiques décrites dans les articles à comité de lecture pour accéder aux principes actifs présents sur le marché, ainsi que la proportion de ces réactions dans les voies de synthèse utilisées.

En se basant sur plusieurs méta-analyses compilant les réactions chimiques les plus utilisées à la fois dans l'industrie pharmaceutique¹ et dans la recherche académique², en se focalisant uniquement sur celle employées dans la recherche de molécules à activité biologique, il est possible de dresser un aperçu global des réactions chimiques les plus utilisées dans la chimie médicinale.

Tout d'abord, dans la méta-analyse publiée en 2011 par Roughley et Jordan¹, les auteurs se sont intéressés aux publications scientifiques issues de grands groupes pharmaceutiques dans trois revues à comité de lecture spécialisés en chimie médicinale. L'étude de 7315 réactions chimiques issues de 139 articles a mis en évidence la prédominance de certaines réactions ainsi qu'une tendance dans les propriétés physicochimiques recherchées, résumées en **Tableau 1** (les prérequis en termes de propriétés physico-chimiques seront développés en partie **II.3 Règles empiriques de conception rationnelle de molécules bioactives** page 68).

Une seconde méta-analyse publiée en 2015 par Brown et Boström² et basée sur l'étude de 250 articles scientifiques issus du journal « Journal of Medicinal Chemistry » propose également une analyse sur l'occurrence des réactions chimiques, avec cette fois-ci leur évolution dans le temps. Les auteurs ont ainsi sélectionné un nombre équivalent d'articles datant de 1984 et 2014, issus de la recherche académique et industrielle pour réaliser leur corpus et ont proposé une comparaison sur la fréquence des types de réactions utilisées entre les deux périodes.

Roughley et Jordan	Brown et Boström
Alkylation et arylation d'un hétéroatome	Formation d'amide
Acylation et réactions assimilées	S _N Ar
Déprotection / Protection	Protection/déprotection groupement Boc
Formation de liaison C-C	Hydrolyse d'ester
Formation d'hétérocycle	Couplage de Suzuki-Miyaura
Réduction / Oxydation	Réaction d'amine avec un électrophile
Interconversion de groupements fonctionnels	Synthèse d'hétérocycle
Addition de groupements fonctionnels	Amination réductrice
	Débenzylation
	Alkylation de phénols

Tableau 1 : Réactions chimiques les plus fréquemment utilisées dans l'optimisation d'un candidat médicament (de la plus fréquente à la moins fréquente) selon les méta-analyses de Roughley et Jordan (gauche) et Brown Boström (droite), seules les 10 premières sont représentées.

Ces deux études convergent sur un certain nombre de points mais sont difficilement comparables étant donné la catégorisation différente que chacune propose pour les types de réactions chimiques étudiées.

Dans la première étude, les auteurs proposent une catégorisation relativement généraliste, qui permet d'inclure un panel assez large de transformations chimiques ce qui peut sur-représenter une catégorie du fait d'un seul type de réaction très fréquent. Cela s'illustre très bien, comme le rapportent les auteurs, pour les deux premières catégories avec le cas des dérivés soufrés qui apparaissent dans des catégories de réactions fréquemment employées malgré le peu d'occurrences à la fois d'alkylations et d'acylations de ce type de dérivés. Cependant une catégorisation comme celle-ci permet de donner une vue d'ensemble assez claire des réactions chimiques utilisées, tout en étant conscient des limites de ce type de classification.

A l'inverse, la catégorisation présentée par Brown et Boström présente une catégorisation relativement précise du type de réactions rencontrées et permet d'avoir plus de détails sur leur nature, mais au prix d'une multiplication des catégories. Cette limite est notamment visible avec les réactions de protection / déprotection puisque dans les dix types de réactions les plus fréquentes, trois appartiennent à cette catégorie. Il en est de même avec les réactions de couplage pallado-catalysées puisqu'elles sont présentes dans 3 catégories de cette classification.

Toutefois, ces deux études se complètent assez bien puisque leurs résultats sont finalement assez similaires et montrent les mêmes tendances. On trouve ainsi dans les premières positions des réactions s'intéressant à la fonctionnalisation d'hétéroatome ou la formation de liaisons carbone-hétéroatome, suivies des réactions de protection / déprotection. Ces deux catégories sont suivies dans les deux cas par la formation de liaisons carbone-carbone et la formation d'hétérocycles. Viennent ensuite les réactions de réduction et d'oxydation (dominées par les réactions de réduction) et plus ponctuellement d'interconversions et additions de groupements fonctionnels.

Afin de rester général dans le propos tenu, la suite de cette section se basera sur la classification opérée par Roughley et Jordan.

1.1.1 Réactions de formation de liaisons Carbone-Hétéroatome

Les résultats de ces deux études montrent une prédominance dans l'utilisation de réactions permettant la formation de liaisons carbone – hétéroatome, avec une occurrence dans près de la moitié des articles étudiés.

Ces réactions englobent les alkylations et arylations d'hétéroatomes, dont la majorité sont utilisées pour fonctionnaliser des atomes d'azote, pour fonctionnaliser des oxygènes et pour fonctionnaliser un soufre (**Figure 1**). Les réactions d'acylations et réactions assimilées, dont l'essentiel comprend des réactions d'acylation pour la formation d'amide, de N-sulfonylation, de formation d'urée et d'autres fonctionnalisations moins fréquentes sont également comptabilisées dans cette catégorie.

Concernant les réactions de N-alkylations et N-arylations, la N-arylation par un groupement aryle est la plus fréquente, suivie par la N-substitution par un groupement alkyle et les réactions d'amination réductrice. Ces trois types de réactions totalisent presque les trois quarts des N-alkylations et N-arylations. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il s'agisse de réactions très bien décrites et optimisées³⁻⁵, dont le rendement ainsi que le contrôle est suffisamment grand pour ne pas créer de tensions dans la montée en échelle^{6,7}, nécessaire à toute exploration d'activité biologique.

Les réactions de N-alkylation d'amide, N-alkylation de cycle aromatique azoté et N-alkylation d'aniline sont les transformations les moins représentées dans cette sous-catégorie. Les auteurs expliquent cela par leur intérêt plus tardif dans la recherche de candidats médicaments. En effet, ces réactions peuvent servir à explorer les relations structure activité (SAR) d'une molécule afin d'orienter la synthèse d'analogues.

La formation d'une liaison C-O est essentiellement opérée par des réactions de O-alkylation par un halogénure d'alkyle ou un sulfonate et par la réaction de Mitsunobu. Les réactions conduisant à la formation d'une liaison C-S sont quant à elles plus rares.

Les réactions de Buchwald-Hartwig⁸ et Ullmann sont des réactions métallo-catalysées fréquemment utilisées dans le cadre de la formation de liaisons carbone-hétéroatome. La réaction de Buchwald-Hartwig est une réaction

pallado-catalysée aboutissant à la formation de liaison C-N ou C-O à partir d'un dérivé halogéné et d'une amine ou un alcool.

La réaction de Ullmann⁹ est quant à elle une réaction cupro-catalysée permettant à la fois la formation de liaisons carbone-hétéroatome mais également des liaisons carbone-carbone. A partir d'un dérivé halogéné et d'un nucléophile^{10,11}, ou entre deux dérivés halogénés, cette réaction permet, d'une part la formation de liaisons carbone-hétéroatome et d'autre part une liaison carbone-carbone.

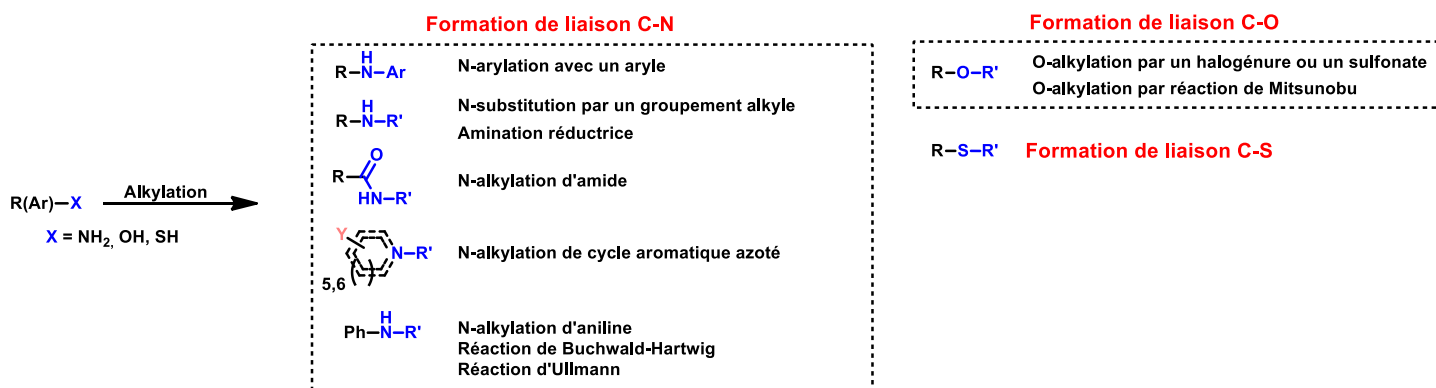


Figure 1 : Réactions d'alkylation fréquemment utilisées mises en évidence dans l'étude de Roughley et Jordan.

Les réactions d'acylation et réactions assimilées, résumées en **Figure 2**, sont majoritairement des réactions de formation d'amides, pour près des trois quarts d'entre elles. Les auteurs expliquent cette prédominance par la relative facilité d'accès de ces groupements fonctionnels grâce aux efforts réalisés dans les dernières décennies pour former des liaisons peptidiques. Le même constat est fait quelques années plus tard dans l'étude de Brown et Boström². Ces derniers montrent qu'entre 1984 et 2014, la fréquence de formation de groupement amide suit une évolution importante (de 25% à 50% de présence dans les publications académiques et de groupes industriels).

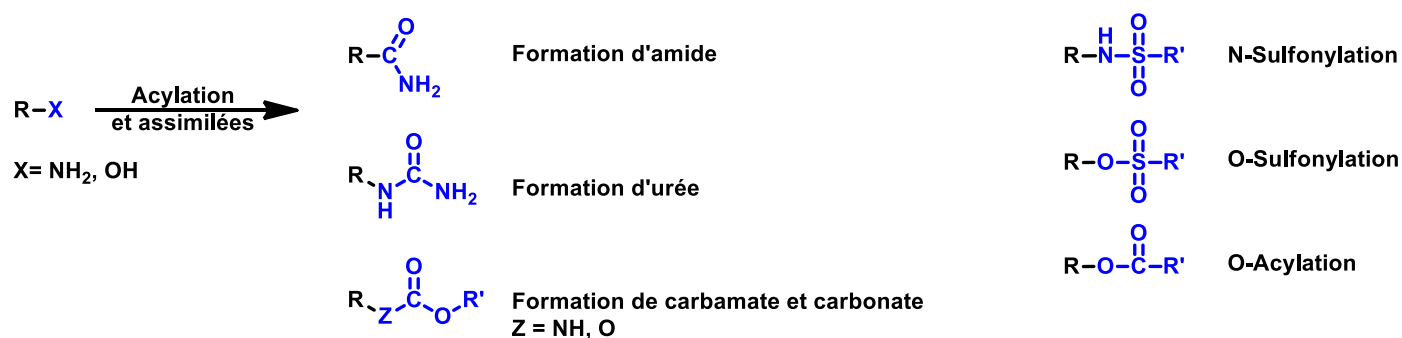


Figure 2 : Réactions d'acylation et réactions assimilées fréquemment utilisées mises en évidence dans l'étude de Roughley et Jordan.

Concernant la formation de dérivés d'urée et sulfonamides, ces réactions sont d'après les auteurs largement utilisées dans les phases d'exploration de la structure-activité d'une molécule.

Enfin, la formation de groupements carbamate, carbonate et les O-sulfonylations sont décrites comme des intermédiaires de synthèse, avec notamment l'incorporation de groupements mésylate, tosylate ou triflate, et sont utilisés comme de bons groupements partants permettant une fonctionnalisation ultérieure.

I.1.2 Réactions de protection et de déprotection

Les étapes de protection-déprotection font partie intégrante de toute méthodologie de synthèse nécessitant plusieurs étapes. Les auteurs ont pu quantifier à la fois l'occurrence de telles étapes dans la synthèse d'une molécule cible, ainsi que l'emploi de chacun des groupements protecteurs (**Figure 3**).

Réaction de protection

Réaction de déprotection

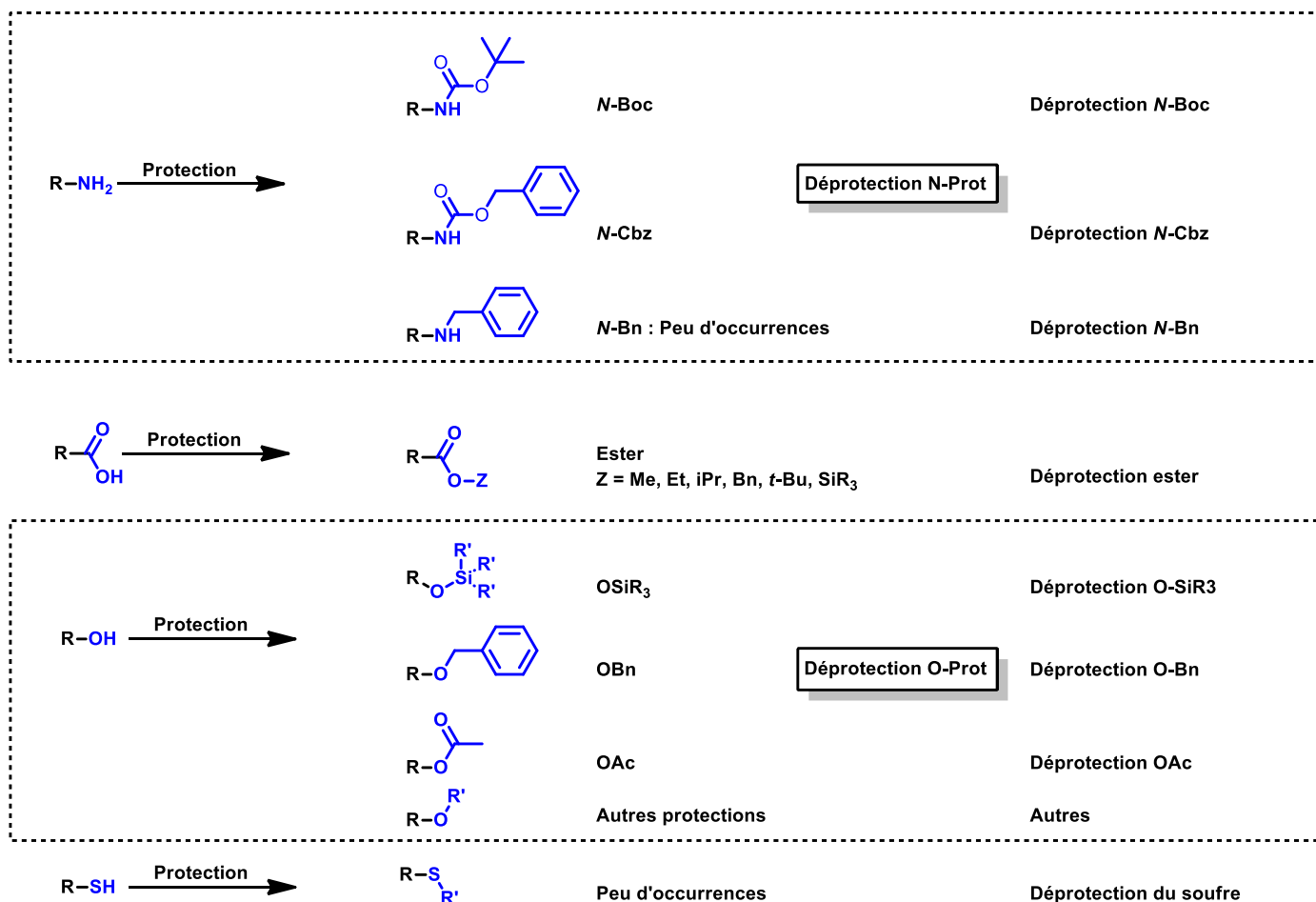


Figure 3 : Groupements protecteurs fréquemment utilisés en chimie médicinale mis en évidence dans l'étude de Roughley et Jordan.

Selon la méta-analyse, les étapes de protection-déprotection des groupements amine sont parmi les plus fréquemment retrouvées. La protection des fonctions amines se fait majoritairement par l'utilisation d'un groupement Boc¹². Ce dernier est généralement incorporé par réaction avec l'anhydride Boc₂O et enlevé par un traitement acide. L'étude de Boström et Brown² de 2015 met également en évidence la très forte utilisation de ce groupement protecteur.

D'autres groupements protecteurs sous forme de N-Cbz et N-Bn sont également utilisés, mais sont le plus souvent retrouvés sur les briques élémentaires (building blocks) commerciales utilisées pour la synthèse des candidats médicaments. Ces groupements protecteurs sont respectivement retirés¹³ par un acide de Brønsted comme HBr et sous conditions réductrices par hydrogénation au H₂, Pd/C.

D'autres groupements protecteurs des fonctions amine sont utilisés comme le groupement 9-Fluorenylmethyl carbamate¹⁴ (Fmoc), Allyl¹⁵ ou Allyloxycarbonyl¹⁵ (Alloc), mais sont généralement réservés aux acides aminés.

La protection d'acides carboxyliques se fait principalement sous la forme d'esters d'hydrocarbures à courte chaîne, sous la forme d'esters de méthyle, d'éthyle, d'isopropyle, de *tert*-butyle ou encore de benzyle. Leur déprotection par saponification se fait en conditions basiques. D'autres conditions de protection d'acides carboxyliques font intervenir des dérivés silylés. Parmi ceux-ci, on peut distinguer le *tert*-butyldimethylsilyl¹⁶ (TBDMS), le *tert*-butyldiphenylsilyl¹⁷ (TBDPS) ou encore le triethylsilyl¹⁸ (TES). Ces dérivés silylés sont facilement retirés en conditions basiques.

Les fonctions hydroxyles ont de nombreuses manières d'être protégées. Tout d'abord, sous la forme d'éthers silylés¹⁹, de type trimethylsilyl (TMS), TES, TBDPS ou TBDMS. Ces groupements protecteurs peuvent être retirés en condition acide (HCl), basique (K₂CO₃) ou avec une source de fluorure comme le fluorure de tetra-*n*-butylammonium

(TBAF) ou de fluorure d'hydrogène dans la pyridine. De la même manière que pour les acides carboxyliques, la protection de fonction hydroxyle peut également être réalisée sous la forme d'éthers d'alkyle. En fonction de la taille de la chaîne alkyle, celui-ci présentera des conditions de déprotection plus ou moins dures, les éthers de méthyle nécessitant les conditions les plus dures.

Ainsi, les chaînes alkyles fréquemment rencontrées sont le méthyle, retirés avec un acide de Lewis comme le BCl_3 ou $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, le *tert*-butyle (*t*-Bu), retirés en conditions douces par un acide de Brønsted²⁰ (HBr, HCl, acide acétique, acide trifluoroacétique, H_3PO_4) ou un acide de Lewis (CeCl_3 , MgI_2 , TiCl_4 , ZnBr_2), les éthers de benzyle (Bn) retirés en conditions réductrices douces (Pd/C, H_2 ; HCO_2H , Pd/C; Ni/Raney, H_2), en conditions oxydantes (2,3-Dichloro-5,6-Dicyano-1,4-Benzoquinone (DDQ)), ou en présence d'un acide de Lewis (BCl_3 , BBr_3 , ZnCl_2).

L'utilisation de groupements protecteurs tels que le *p*-méthoxybenzyle (PMB) retiré en conditions oxydantes (DDQ ou nitrate de cérium et d'ammonium (CAN)), le trityle, retiré en conditions acides douces (acide formique, acide acétique), en présence d'un acide de Lewis (ZnBr_2), ou en conditions oxydantes (DDQ, CAN) ou encore les groupements protecteurs Méthoxyméthyle (MOM) ou Allyle²¹ et Alloc¹⁵, retirés respectivement en conditions acides dures (TFA) pour le premier et de manière pallado-catalysée (Pd(PPh_3)₄ en présence d'un nucléophile) pour les seconds peut aussi être envisagée.

Enfin, la protection d'un groupement hydroxyle sous la forme d'ester peut aussi être envisagée, que ce soit sous la forme d'ester pivalique ou acétique, pour les plus courants.

La très grande diversité des groupements protecteurs pour le groupement hydroxyle peut s'expliquer de plusieurs manières. Premièrement, comme le soulignent les auteurs, chaque équipe ayant ses propres habitudes en matière de groupement protecteurs et selon les disponibilités des produits commerciaux. De plus, comme pour la protection de chacune des fonctions chimiques, en fonction de la voie de synthèse choisie certains groupements protecteurs peuvent ne pas convenir (conditions acides, basiques, utilisation de métaux...)

Pour terminer, la protection de fonctions thiols, bien qu'assez rare, peut se faire sous la forme d'éthers de *tert*-butyle, de benzyle ou de trityle par exemple. La protection de fonctions thiols est généralement réalisée afin d'empêcher la formation de ponts disulfure, très problématiques dans la synthèse de peptides par exemple.

L'intérêt d'avoir à disposition de nombreux groupements protecteurs est d'assurer une certaine orthogonalité entre eux. Deux groupements protecteurs sont dits orthogonaux si lors de la déprotection du premier, le second n'est pas retiré dans les mêmes conditions expérimentales. Ainsi, les groupements Boc et Fmoc, ou Cbz et Bn sont des couples orthogonaux fréquemment employés lorsqu'une voie de synthèse nécessite la présence de plusieurs groupements protecteurs simultanément.

En effet, les groupements CBz peuvent être déprotégés en présence d'acide trifluoroacétique (TFA) ou d'acide de Lewis, alors que les benzylamines (*N*-Bn) peuvent, elles, être retirées en conditions réductrices, en présence de dihydrogène, de Nickel ou de Rhodium²². De la même manière, les conditions acides nécessaires à la déprotection d'un groupement Boc sont inefficaces pour la déprotection d'un groupement Fmoc.

1.1.3 Réactions de formation de liaisons Carbone-Carbone

La formation de liaisons C-C, que Roughley et Jordan estiment à environ un dixième des réactions les plus utilisées dans leur étude est principalement opérée par les couplages pallado-catalysés.

D'autres réactions, moins fréquentes, peuvent être utilisés dans ce but, en utilisant un réactif de Grignard, une addition de Michael, une réaction de Wittig, de Friedel-Crafts ou encore un couplage de Ullmann (**Figure 4**).

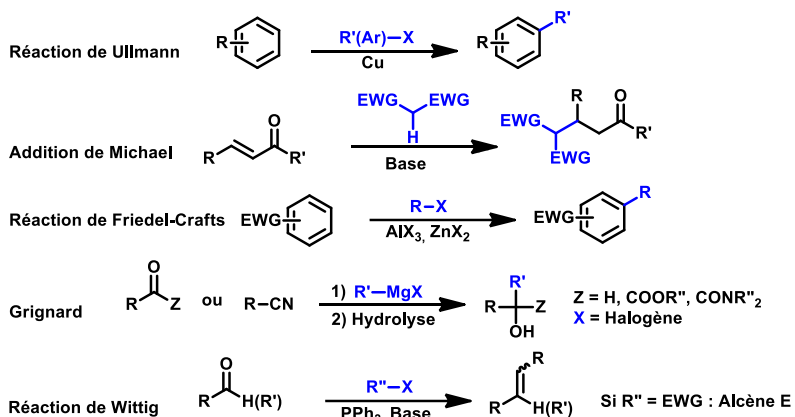
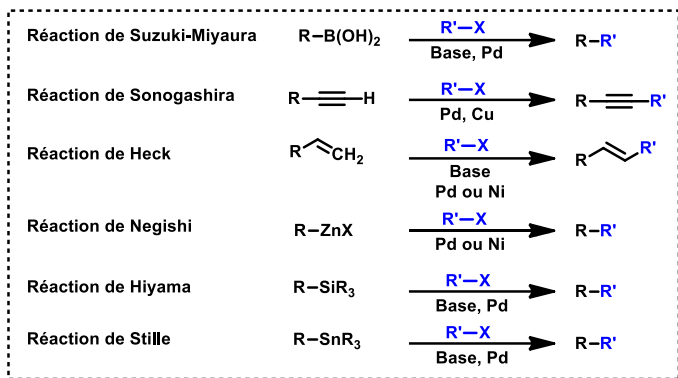


Figure 4 : Réactions de formation de liaison C-C fréquemment utilisées.

Les réactions de couplage pallado-catalysées suivent un cycle catalytique en 3 étapes²³ : insertion (addition) oxydante, transmétallation puis élimination réductrice, représenté sur le **Schéma 1**.

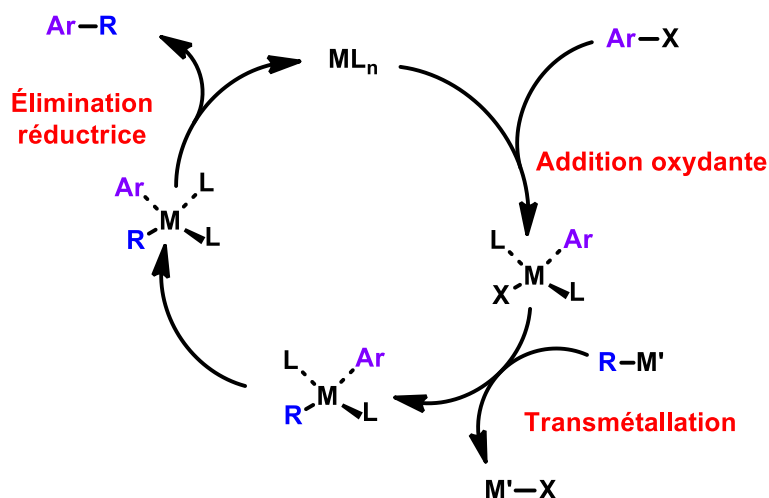


Schéma 1 : Cycle catalytique général des réactions de couplage métallocatalysées.

Parmi les réactions de couplage pallado-catalysées, la réaction de Suzuki-Miyaura²⁴ est la plus fréquemment utilisée. Cela s'explique par le très grand nombre de dérivés d'acide boronique et de dérivés halogénés disponibles sur le marché. Elle permet dans des conditions très douces, en présence d'un solvant organique ou dans l'eau, le couplage d'un dérivé d'acide boronique avec un dérivé halogéné en utilisant un Pd(0) comme catalyseur.

Les réactions de Sonogashira²⁵ et Heck permettent l'établissement de liaisons C-C respectivement entre une fonction alcyne terminal pour l'un et alcène pour l'autre et un dérivé halogéné. La réaction de Sonogashira est particulièrement intéressante dans les voies de synthèse de composés hétérocycliques puisque de nombreux hétérocycles sont préparés à partir d'alcynes. Un des avantages de la réaction de Heck²⁶ est qu'elle permet d'obtenir majoritairement des alcènes de stéréochimie E. Les réactions de Negishi²⁷, Hiyama²⁸ et Stille²⁹ permettent elles-aussi la formation de liaison C-C, respectivement entre un dérivé zincique, silylé ou stannylé et un dérivé halogéné.

Outre les réactions pallado-catalysées, d'autres réactions sont régulièrement utilisées pour la formation de liaisons C-C, parmi lesquelles les réactions de Ullmann et l'addition de Michael sont les plus fréquemment rencontrées. D'autres réactions telles que la réaction de Friedel-Crafts, l'utilisation d'un réactif de Grignard ou encore la réaction de Wittig et ses dérivés sont également utilisés.

I.1.4 Réactions de formation d'hétérocycles

Du fait de la prédominance des hétérocycles dans les molécules bioactives, l'accès aux molécules hétérocycliques constitue une part importante de la chimie médicinale, une grande partie des molécules à activité biologique comprennent au moins un hétérocycle, le plus souvent azoté³⁰.

I.1.4.1 Réactions de formation d'hétérocycles à 3 et 4 sommets

Les hétérocycles à 3 et 4 sommets, insaturés ou non, les plus fréquemment rencontrés sont résumés en **Figure 5, a**. Ces molécules sont utilisées dans de nombreuses indications thérapeutiques dont quelques-unes sont représentées en **Figure 5, b**.

Parmi les hétérocycles azotés, l'aziridine et l'azétidine ainsi que son analogue β -lactame sont fréquemment rencontrés.

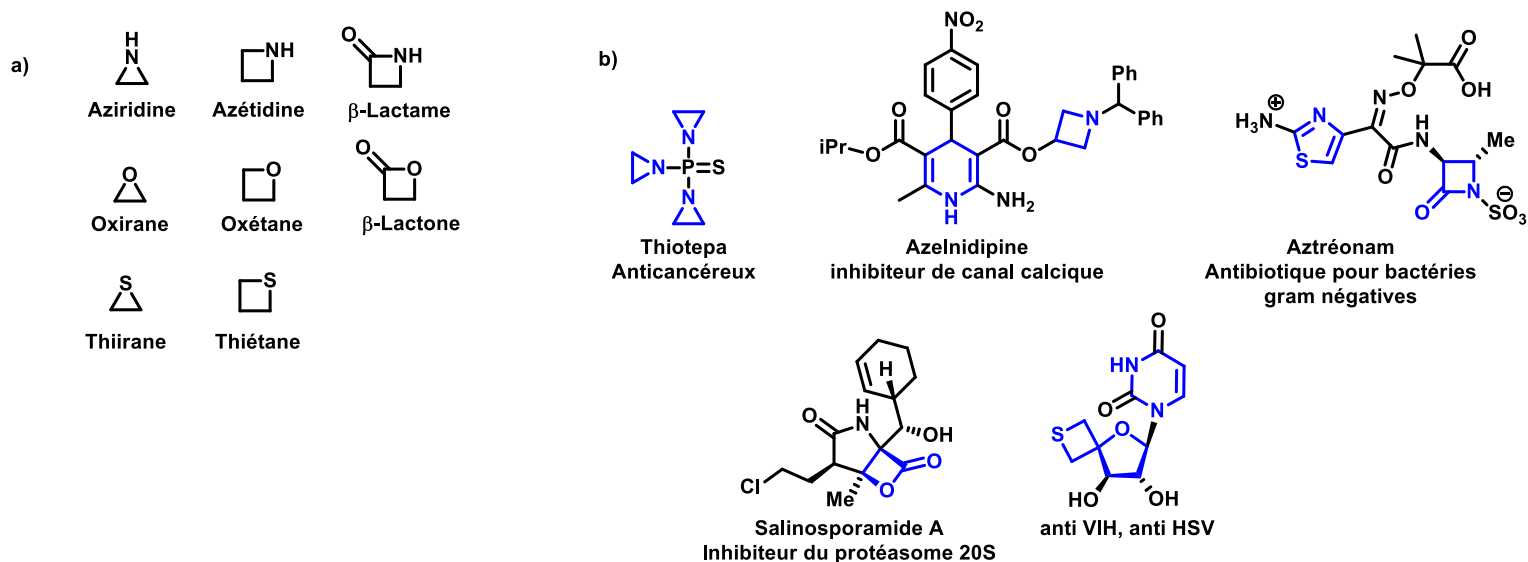


Figure 5 : Hétérocycles à 3 et 4 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale. a) Structure chimique des hétérocycles. b) Exemples de molécules d'intérêt thérapeutique contenant un hétérocycle à 3 ou 4 sommets.

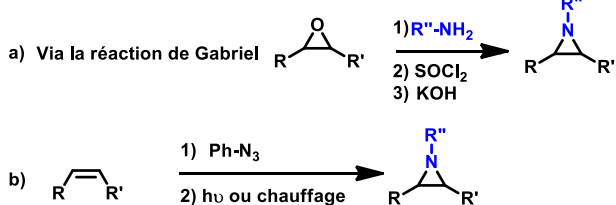
Ces petits hétérocycles peuvent être synthétisés de nombreuses manières dont plusieurs voies de synthèses sont résumées sur le **Schéma 2**. Tout d'abord, les aziridines peuvent être obtenues à partir d'un oxirane préalablement ouvert par l'addition d'une amine primaire, suivie d'une chloration par le chlorure de thionyle. L'ajout d'une base permet par réaction de Gabriel³¹ de créer l'aziridine correspondante **(a)**.

Une autre manière d'accéder à ces hétérocycles est par cycloaddition 1,3-dipolaire d'un alcène avec un azoture, suivie d'un chauffage ou d'une irradiation UV **(b)**.

Les Azétidines et β -Lactames, plus répandues que leurs homologues à 3 sommets présentent également de nombreuses voies de synthèses. Parmi celles-ci, une première voie de synthèse faisant intervenir une nouvelle fois une réaction de Gabriel intramoléculaire entre une amine et un halogène en position γ **(c)**.

La synthèse de β -lactames peut, entre autres, être réalisée par réaction d'un dérivé de cétène avec une imine pour former le β -lactame correspondant **(d)**.

Voies d'accès aux Aziridines



Voies d'accès aux Azétidines et β-Lactames

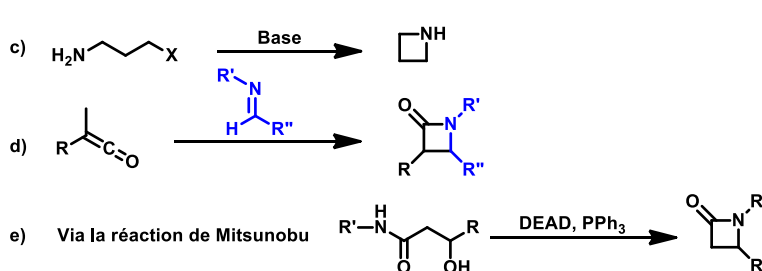


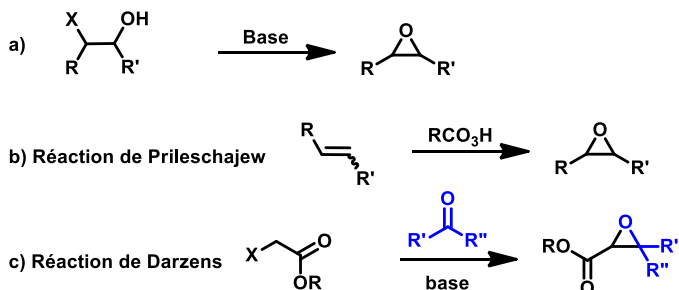
Schéma 2 : Voies d'accès possibles aux cycles aziridines et azétidines.

La réaction de Mitsunobu³² intramoléculaire d'un amide β-hydroxylé en présence d'azodicarboxylate de diéthyle (DEAD) et de triphénylphosphine (PPh₃) permet également d'accéder à ces hétérocycles (e).

Les petits hétérocycles oxygénés Oxiranes (époxydes), Oxétanes et Lactones³³ sont également fréquemment rencontrés dans le domaine de la chimie médicinale (Schéma 3). Le cycle Oxirane peut être notamment préparé par réaction intramoléculaire d'un alcool α-halogéné, en présence d'une base (a). Il est à noter que la même voie de synthèse peut être appliquée pour la formation d'Oxétanes, avec un halogène en position β (d). Les mêmes dérivés oxiranes peuvent également être obtenus par réaction de Prileschajew³⁴ entre un alcène et un peracide comme l'acide métachloroperbenzoïque (m-CPBA) par exemple, pour former l'oxirane disubstitué correspondant (b). Enfin, la réaction de Darzens^{35,36}, faisant intervenir un ester α-halogéné et un dérivé carbonylé en présence de base permet la synthèse d'époxydes trisubstitués (c).

Enfin, la réaction de Paternò-Büchi³⁷ peut être appliquée à la formation d'Oxétanes en faisant réagir un dérivé carbonylé avec un alcène sous irradiation UV (e). Il est à noter que cette réaction est stéréospécifique lorsque l'alcène est substitué par des groupements électroattracteurs par effet mésomère. Les β-lactones, bien que moins fréquentes que leurs homologues à 5 et 6 sommets, peuvent comme les β-lactames être synthétisées par l'action d'un cétène sur une cétone en présence d'un acide de Lewis (f).

Voies d'accès aux Oxiranes



Voies d'accès aux Oxétanes et β-Lactones

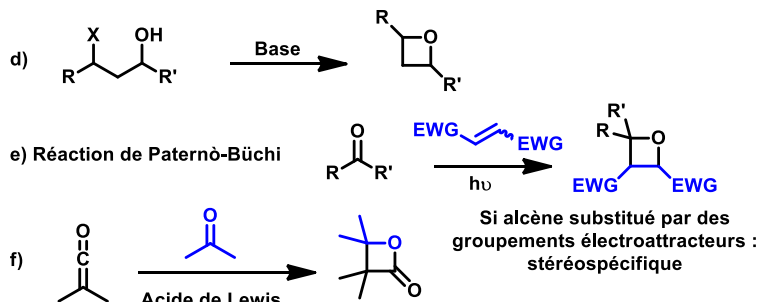


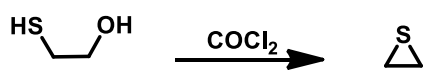
Schéma 3 : Voies d'accès possibles aux cycles oxiranes et oxétanes.

Les Thiiranes et Thiétanes enfin, sont relativement peu répandus (Schéma 4). Song *et al.*³⁸ décrivent en effet les Thiiranes comme de potentiels analogues des oxiranes, et constatent que peu de réactions stéréosélectives sont à ce jour disponibles concernant les Thiiranes, contrairement à leurs analogues oxygénés.

Les Thiiranes peuvent notamment être synthétisés à partir de thiols α-halogénés en présence de phosgène, ou depuis un dérivé d'oxirane en présence de thiocyanate de potassium pour former le thiirane correspondant (a-b).

Enfin, les Thiétanes peuvent être synthétisés par une réaction intramoléculaire d'un thiol β-halogéné en présence d'une base pour former le cycle à 4 sommets (c).

Voies d'accès aux Thiiranes



Voies d'accès aux Thiétanes

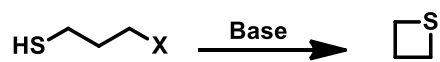


Schéma 4 : Voies d'accès possibles aux cycles thiiranes et thiétanes.

1.1.4.2 Réactions de formation d'hétérocycles à 5 sommets

Les hétérocycles à 5 sommets sont beaucoup plus fréquents que leurs homologues à 3 et 4 sommets. De par la grande diversité qu'ils permettent, que ce soit du point de vue de leurs propriétés physico-chimiques ou structurales, ces molécules sont très appréciées pour diversifier l'espace chimique sondé lors d'un criblage. Les hétérocycles les plus fréquents sont présentés en **Figure 6**.

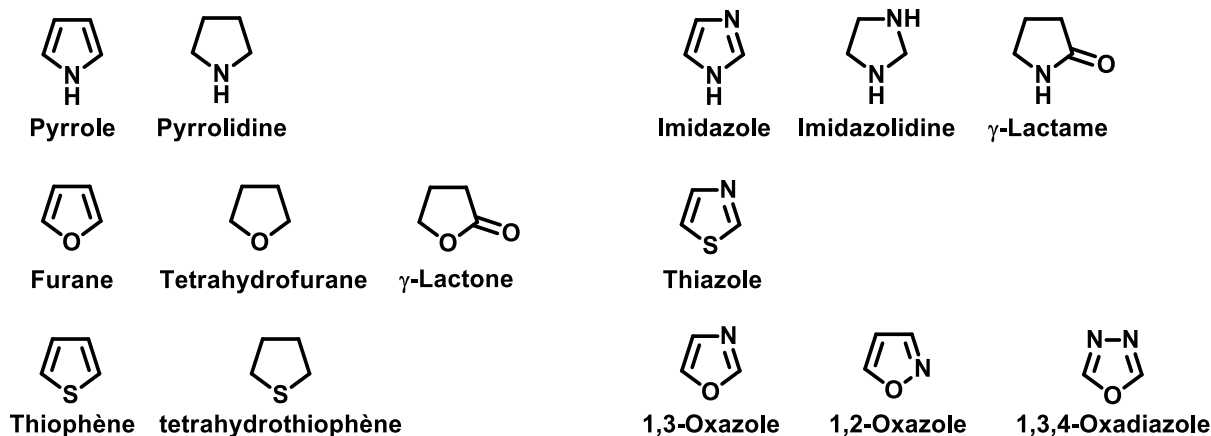


Figure 6 : Hétérocycles à 5 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.

Couramment, de nombreux dérivés azotés, oxygénés ou soufrés sont retrouvés dans les molécules d'intérêt biologique, parmi lesquels peuvent être retrouvés le pyrrole, le furane ou le thiophène ainsi que leurs analogues saturés. De nombreux cycles comprenant deux ou trois hétéroatomes sont également fréquents, comme l'imidazole, le thiazole, l'oxazole ou encore les γ -lactones et γ -lactames. Un certain nombre de composés d'intérêts thérapeutiques comprennent un ou plusieurs de ces cycles, dont certains exemples sont présentés sur la **Figure 7**.

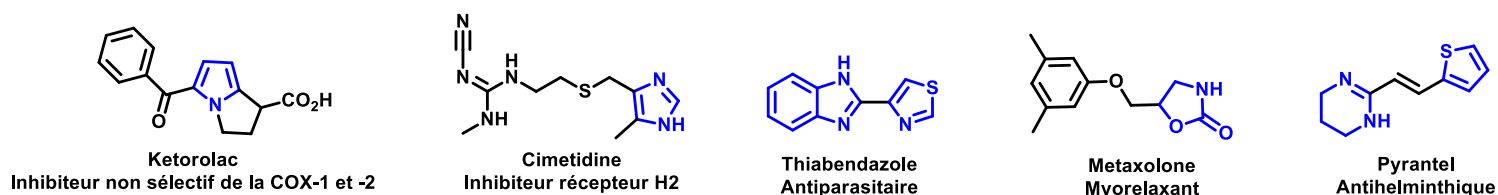


Figure 7 : Exemples de molécules d'intérêt biologique contenant un hétérocycle à 5 sommets.

L'obtention de pyrroles peut aujourd'hui se faire de nombreuses manières, dont certaines sont représentées sur le **Schéma 5**.

La synthèse de Knorr³⁹, permet l'obtention de pyrroles substitué en position 2, par la réaction d'un dérivé carbonyle α -aminé et d'un ester malonique en présence de base **(a)**. Il en est de même avec la synthèse de Hantzsch⁴⁰, qui permet en deux étapes l'accès aux pyrroles trisubstitués en position N, 2 et 5 ou N, 2 et 4 par l'addition d'une amine primaire sur un ester α -cétonique, conduisant à une imine qui pourra réagir dans un second temps avec une cétone α -halogénée pour former le pyrrole correspondant **(b)**. Enfin, il est également possible de former des pyrroles à partir de cétones α -aminées en présence d'alcynes disubstitués par des groupements électroattracteurs **(c)**.

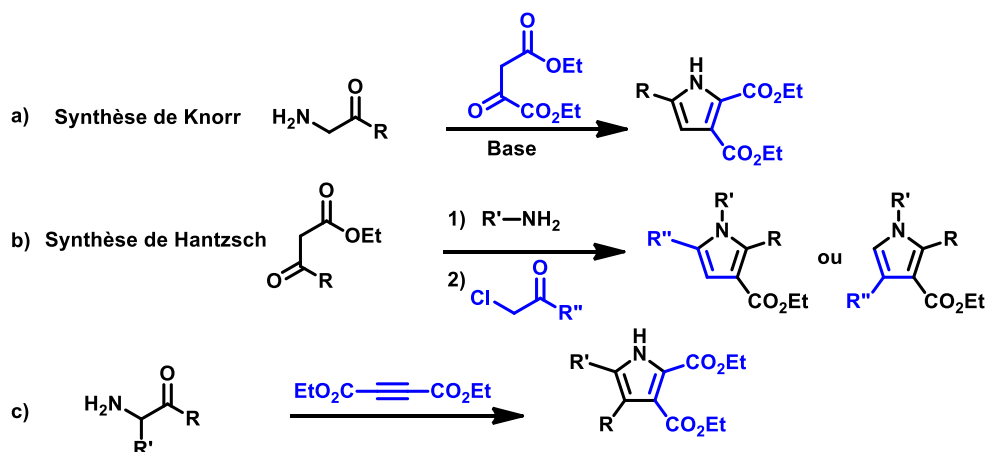


Schéma 5 : Voies d'accès possibles aux cycles pyrroles.

La synthèse de furanes (présentée sur le **Schéma 6**) à partir de dérivés 1-4 dicarboxylés par la synthèse de Paal-Knorr⁴¹ est encore largement utilisée de nos jours **(a)**. En milieu acide, ou en présence d'un acide de Lewis, l'aldolisation intramoléculaire suivie d'une déshydratation conduit à la formation d'un furane 2,3,5 trisubstitué.

La réaction de Feist-Benary⁴² conduit également à la formation de furanes substitués **(b)**. Cette réaction catalysée par une amine fait cette fois-ci intervenir une cétone α -halogénée en présence d'un dérivé β -dicarboxylé pour obtenir le furane correspondant.

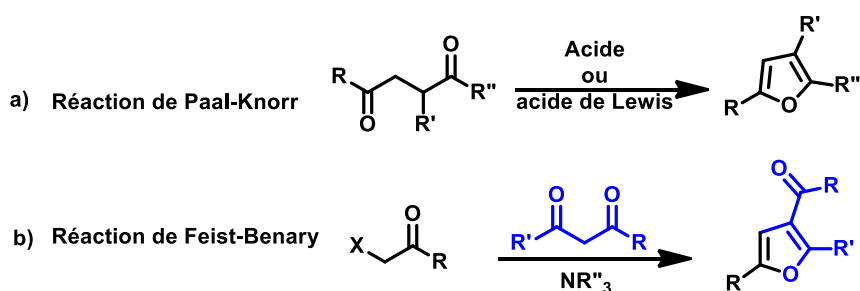


Schéma 6 : Voies d'accès possibles aux cycles furanes.

Enfin, les dérivés de thiophène, plus fréquents que leurs homologues à 3 et 4 sommets peuvent être synthétisés selon plusieurs voies de synthèse^{43,44} dont certaines sont représentées sur le **Schéma 7**.

Une des voies de synthèse ayant le plus été utilisée consiste à utiliser le réactif de Lawesson⁴⁵ sur un dérivé 1,4-dicarbonylé, pour produire le produit cyclisé correspondant **(a)**. La modification⁴⁶ récente de ce réactif de Lawesson, un agent de thionation, par l'ajout des chaînes fortement fluorées sur ces cycles benzéniques a permis de faciliter l'élimination de ce réactif lors du traitement. Sur les mêmes dérivés carbonylés, l'emploi de pentasulfure de phosphore (P_2S_5) selon une réaction de Paal-Knorr⁴⁶ ou encore de sulfure d'hydrogène (H_2S) conduisent au même résultat.

La synthèse de dérivés de thiophènes peut également être conduite sur des 1,3-diynes par l'emploi de sulfure de sodium (Na_2S) ou de sulfure d'hydrogène (H_2S) en présence d'une base⁴⁷ **(b)**. La formation de cet hétérocycle à partir d'un alcyne appauvri est conduite selon une réaction de Fiessemann⁴⁴ **(c)**. Ces alcynes, en conditions basiques vont pouvoir réagir avec un ester α -thiolé pour conduire en 3 étapes au thiophène correspondant. Enfin, l'utilisation de soufre moléculaire dans la synthèse de Gewald⁴⁸ permet également l'accès aux dérivés de thiophène en présence d'une base, d'un dérivé carbonylé aldolisable et d'un α -cyano ester **(d)**.

Les γ -Lactames^{49,50} sont des cycles retrouvés dans plusieurs molécules naturelles⁵¹ ou synthétiques. De nombreuses méthodes de synthèse⁵²⁻⁵⁵ sont aujourd'hui disponibles pour accéder à ce type d'hétérocycle, dont plusieurs exemples sont représentés sur le **Schéma 8**.

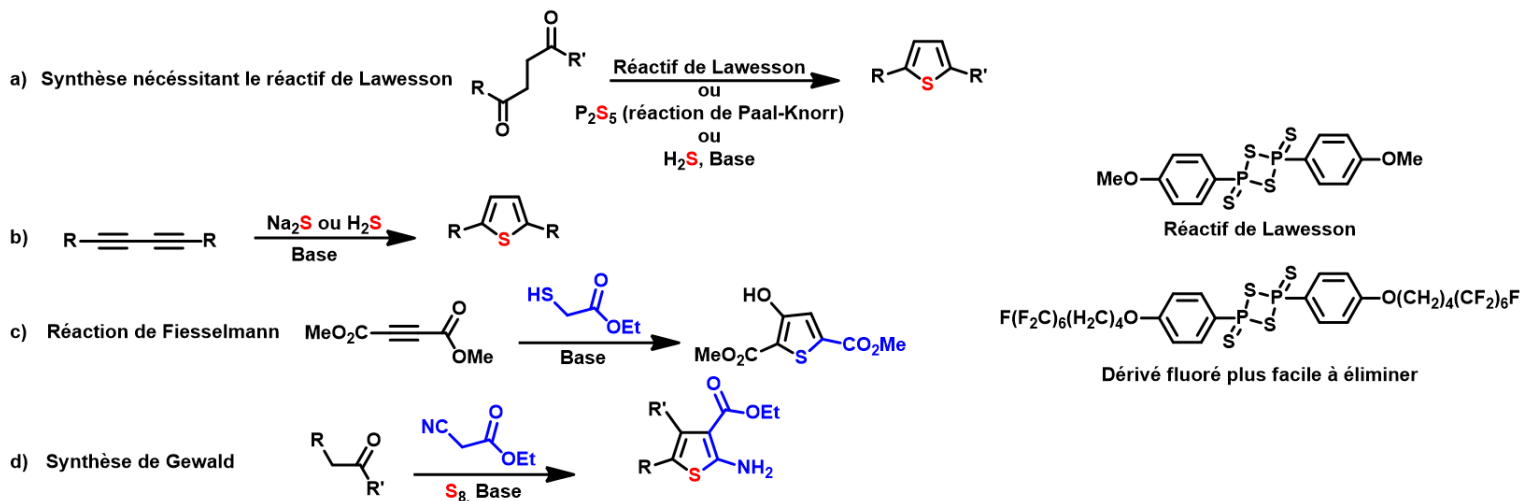


Schéma 7 : Voies d'accès possibles aux cycles thiophènes.

La cyclisation d'acides γ -aminés est la méthode la plus intuitive et la plus communément employée pour accéder à ces motifs **(a-b)**. Il s'agit d'une réaction intramoléculaire de formation d'amide à partir d'un acide carboxylique et d'une amine. Cette réaction peut être envisagée en conditions thermiques, sous reflux, ou avec l'aide d'un acide de Lewis⁵⁰ comme un dérivé de titane.

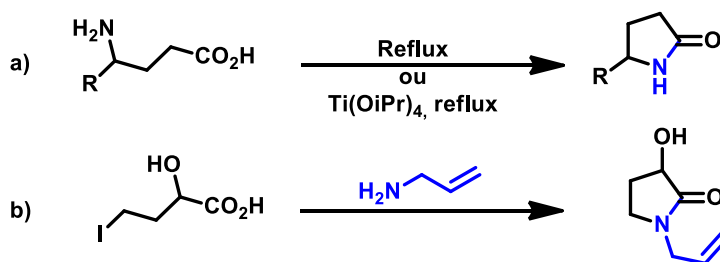


Schéma 8 : Voie d'accès possible aux γ -lactames.

1.1.4.3 Réactions de formation d'hétérocycles à 6 sommets

Les hétérocycles à 6 sommets sont parmi les plus fréquemment rencontrés dans les molécules d'intérêt biologique. Les cycles azotés sont encore une fois les plus répandus, suivis des cycles oxygénés, puis des hétérocycles soufrés (Figure 8).

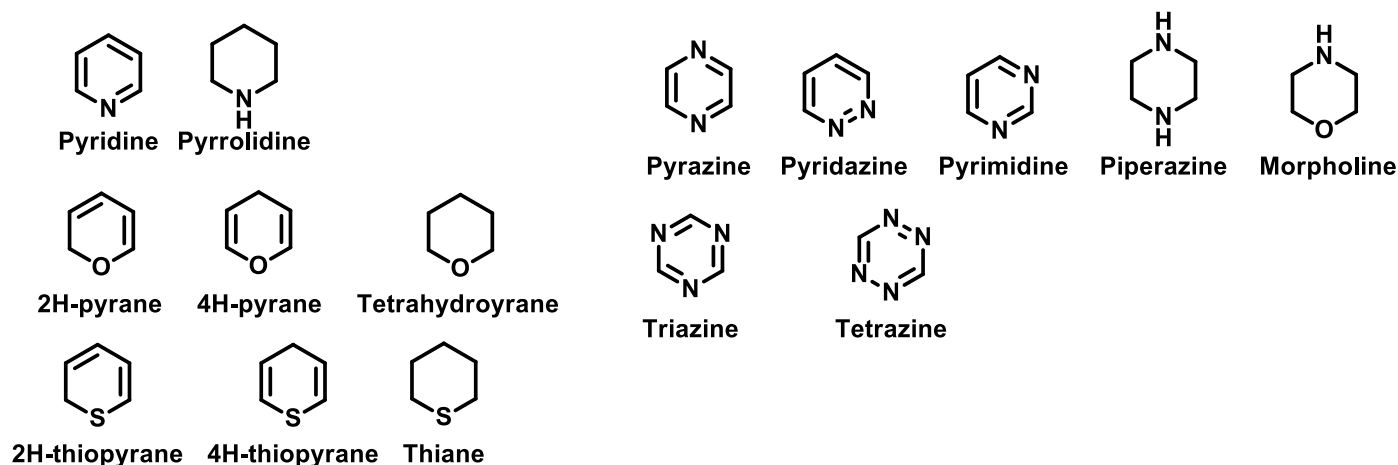


Figure 8 : Hétérocycles à 6 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicale.

De très nombreuses molécules ont été décrites comme ayant un intérêt biologique, que ce soit pour leur activité thérapeutique, ou leur potentiel en tant qu'outil d'imagerie. Plusieurs exemples sont représentés en Figure 9.

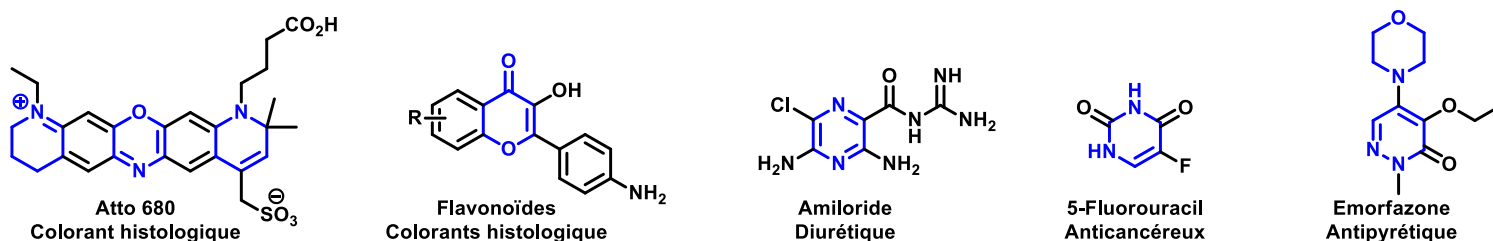


Figure 9 : Exemples de molécules d'intérêt biologique comprenant un hétérocycle à 6 sommets.

La synthèse de pyridines est très largement décrite dans la littérature, ce qui montre l'importance accordée à cet hétérocycle dans la communauté scientifique. Plusieurs voies de synthèses sont présentées sur le Schéma 9 mais de nombreuses autres ont été explorées⁵⁶⁻⁶⁰.

La synthèse de Guareschi^{61,62} correspond à une réaction multicomposante à 3 réactifs (3MCR) donnant accès à des pyridines appauvries en électrons (a). L'activation d'un α -cyano ester par l'ammoniac permet son addition sur un dérivé β -dicarbonylé pour conduire à la formation de la pyridine correspondante.

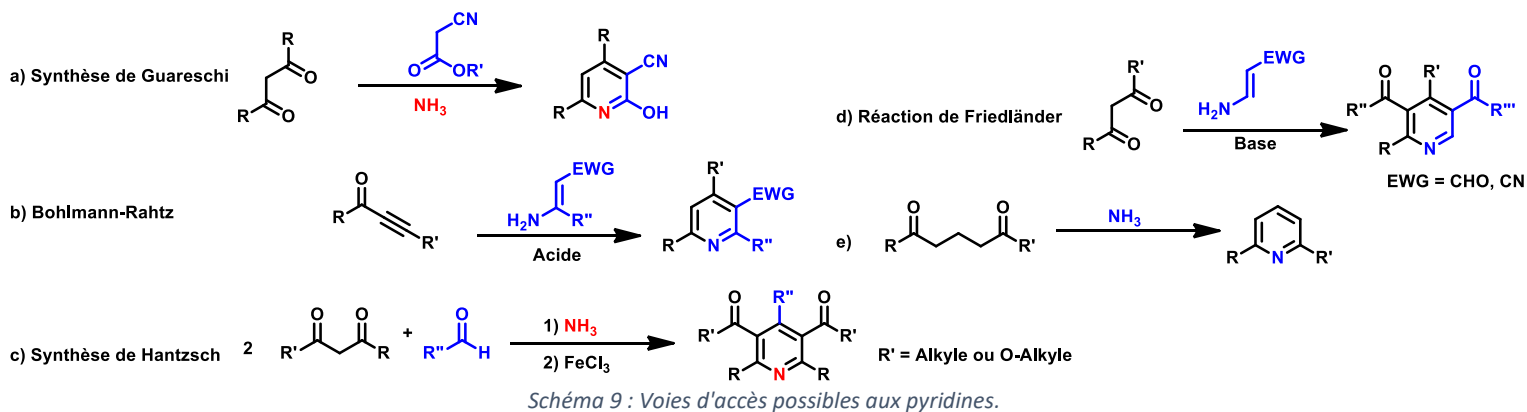
L'utilisation de cétones α,β -insaturées permet dans le cadre de la synthèse de Bohlmann-Rahtz⁶³ la réaction avec une énamine appauvrie par un groupement électroattracteur en milieu acide (b). Cette voie de synthèse permet d'accéder aux pyridines 2,3,4,6 tétrasubstituées.

La synthèse de Hantzsch permet d'accéder à des pyridines symétriques par l'utilisation de deux moles de dérivés 1,3-dicarbonylés en présence d'une mole d'aldéhyde et d'ammoniac (c).

Il est également possible de former des pyridines non symétriques à partir de cette voie de synthèse en remplaçant le dérivé carbonylé par un 3-acétylpentane-2,4-dione, et en le faisant réagir avec une énamine formée au préalable par addition d'ammoniac sur une 1,3-dicétone.

On parle alors de réaction de Friedländer^{58,64} lorsque cette réaction est réalisée entre une énamine α -carbonylée ou α -nitrile et un dérivé 1,3-dicarbonylé en présence d'une base (d).

Enfin, la synthèse de pyridine peut également être appréhendée à partir de dérivés 1,5-dicétones en présence d'ammoniac permettant d'obtenir des pyridines 2,5-disubstituées e).

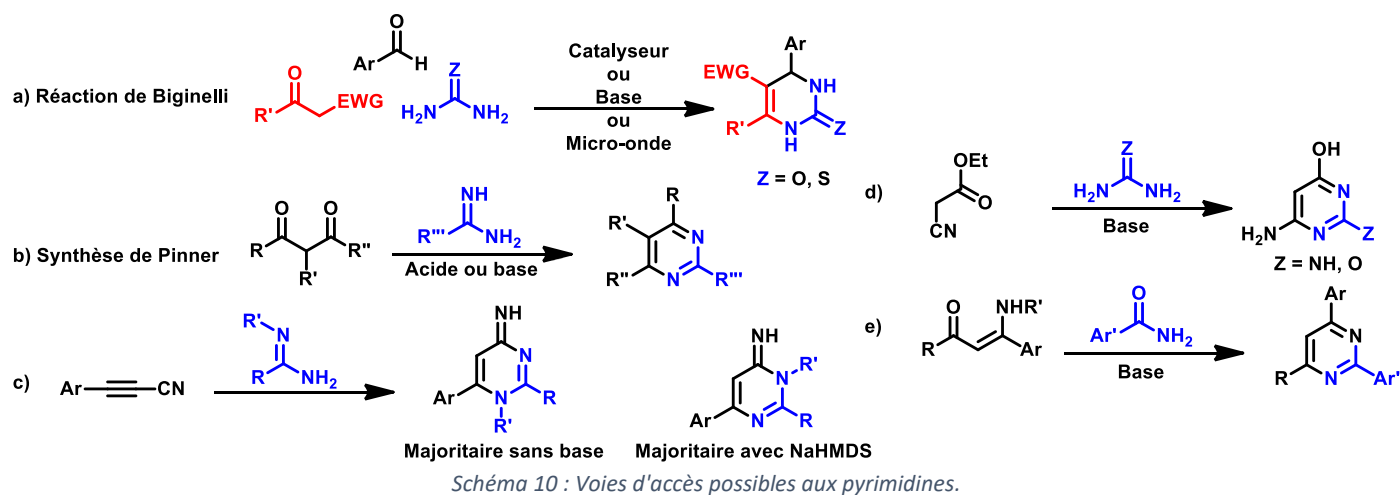


De la même manière que les dérivés puriques, les dérivés pyrimidines occupent une place particulière en chimie médicinale, du fait de la présence de tels noyaux dans la molécule d'ADN. De fait, de nombreuses molécules à activité biologique et notamment à activité antitumorale comprennent un de ces hétérocycles. Les voies de synthèses de tels hétérocycles sont donc assez nombreuses, et seul un aperçu est présenté sur le **Schéma 10**.

La réaction de Biginelli fait partie des voies de synthèses assez courantes de nos jours pour obtenir des pyrimidines substituées (**a**). Il s'agit d'une réaction multicomposante qui fait intervenir un aldéhyde aromatique, une urée et un ester β-cétonique en catalyse acide. De nombreux développements ont permis d'optimiser cette réaction avec notamment une diversification du choix du catalyseur⁶⁵⁻⁶⁸ ou l'emploi de méthodes plus vertes sans solvant, en conditions aqueuses ou encore par chauffage micro-onde⁶⁹.

La synthèse de Pinner⁷⁰⁻⁷² consiste en la condensation de dérivés 1,3-dicarbonyles avec une amidine, en catalyse acide ou basique (**b**). Cette voie de synthèse permet d'accéder aux pyrimidines tétrasubstituées.

Les pyrimidines peuvent également être obtenues à partir d'une amidine⁷³ substituée et d'un cyanoalcyne en présence d'une base, ou non (**c**). McCauley *et al.* ont montré que la régiosélectivité de la réaction pouvait être contrôlée par l'ajout d'une base non nucléophile comme le NaHMDS. En effet, en présence de base, la pyridine correspondante sera majoritairement alkylée en position 3, alors qu'en absence base, la position 1 sera principalement alkylée.



La synthèse de pyrimidines peut également être envisagée à partir d'α-cyano esters⁷⁴ en présence d'urée ou de guanidines et d'une base (**d**).

Enfin, une dernière voie de synthèse présentée passe par l'utilisation de cétones 2,3-insaturées⁷⁵ en présence d'un amide et d'une base (**e**).

La synthèse des pyridazines, dont plusieurs exemples sont représentés sur le **Schéma 11**, est principalement envisagée par l'utilisation d'hydrazines substituées ou non. Leur synthèse peut être réalisée par réaction avec des

dérivés 1,4-dicétoniques 2,3-insaturés, des cyano esters 2,3-insaturés, des dérivés 1,2-dicarbonylés ou encore des esters avec un hydrogène labile en position 2 (**a-d**).

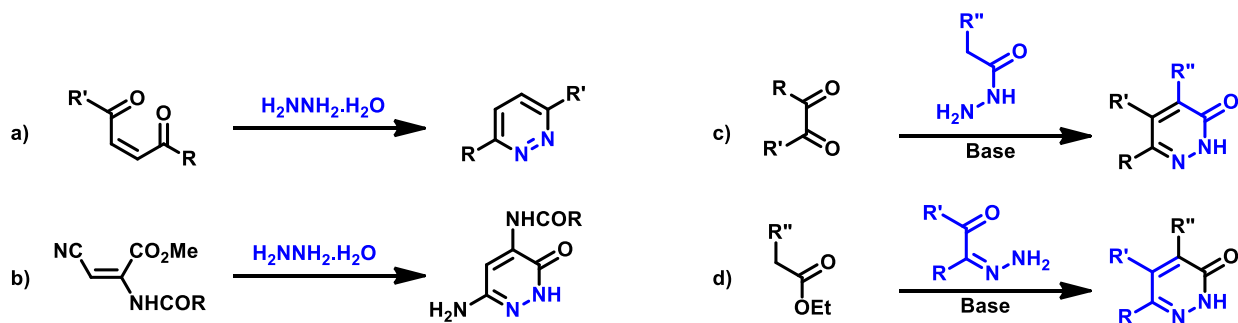


Schéma 11 : Voies d'accès possibles aux pyridazines.

La synthèse de pyrazine (**Schéma 12**) se base principalement sur l'utilisation de dérivés 1,2-diamines, ou de dérivés carbonylés α -aminés suivis d'une oxydation douce à l'oxyde de cuivre (CuO) ou au dioxyde de manganèse (MnO_2) pour aromatiser le cycle formé (**a-c**). Enfin, leur synthèse peut être envisagée à partir de d'amines 1,5-dicarbonylés en présence d'ammoniac (**d**).

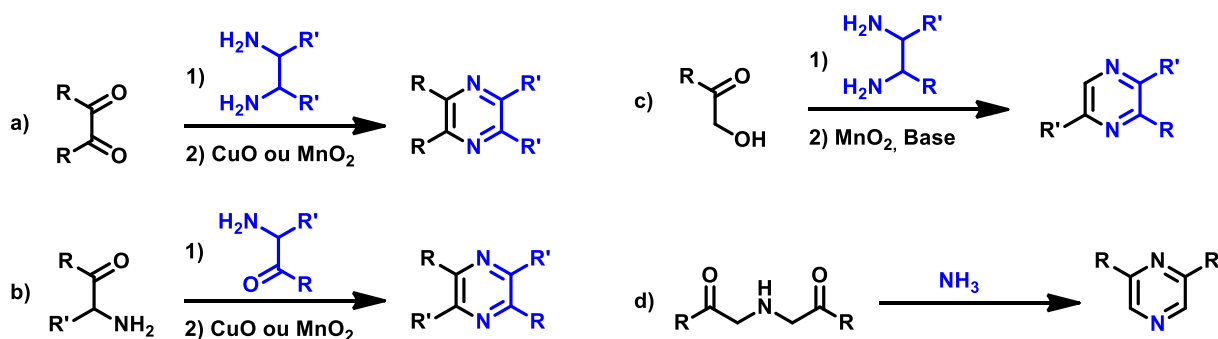


Schéma 12 : Voies d'accès possibles aux pyrazines.

1.1.4.4 Réactions de formation de bicycles à 6 sommets

Les bicycles à 6 sommets sont régulièrement utilisés dans le domaine de la chimie médicinale (**Figure 10**). Les plus fréquemment utilisés sont les bicycles azotés et oxygénés. D'un point de vue synthétique, ces derniers sont majoritairement préparés à partir de dérivés azotés (anilines) ou oxygénés (phénols).

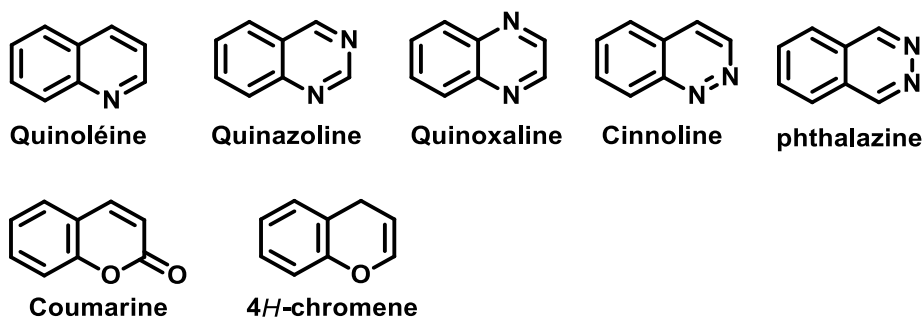


Figure 10 : Bicycles à 6 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.

Plusieurs exemples de bicycles à 6 sommets utilisés pour leurs propriétés biologiques ou de sonde moléculaire sont représentés en **Figure 11**.

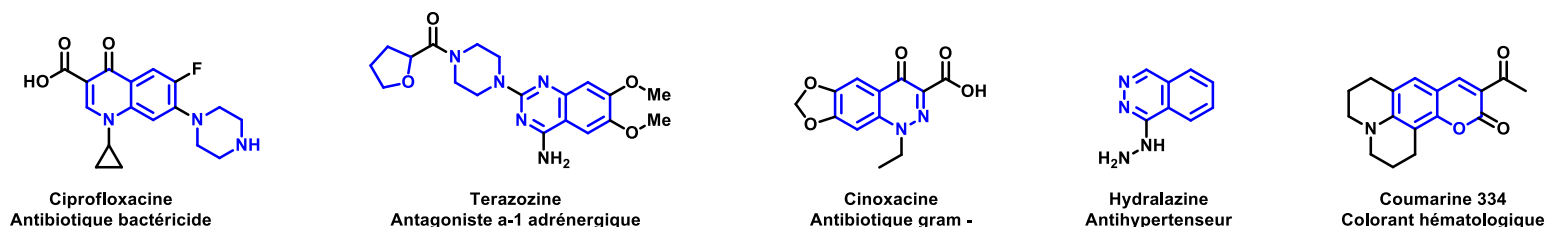


Figure 11 : Exemples de molécules d'intérêt biologique comprenant un bicyclic à 6 sommets.

Les quinoléines peuvent être préparées de nombreuses manières, à partir d'anilines substituées ou non (**Schéma 13**)

Tout d'abord, selon la synthèse de Combes⁷⁶ qui en présence d'une 1,3-dicétone et d'aniline en milieu acide permet la synthèse de quinoléines disubstituées (**a**).

La synthèse de Conrad-Limpach⁷⁷ permet la condensation d'une aniline et d'un ester α -alcyne en présence de base. Cette réaction permet d'accéder aux 4-quinolones (**b**).

Les dérivés nitro peuvent également être utilisés pour la synthèse de quinoléine. C'est le cas dans une version modifiée de la synthèse de Friedländer⁵⁸ qui permet aux *o*-nitrobenzaldehydes de réagir avec une cétone en présence d'un agent réducteur^{78,79} (**c**). Comme précédemment, la réaction passe par la formation d'un intermédiaire réactionnel sous forme d'aniline à partir de laquelle la condensation de la cétone permettra la formation de la quinoléine correspondante.

L'utilisation d'anilines secondaires est également envisageable, comme c'est le cas dans la synthèse de Meth-Cohn⁷⁴⁻⁷⁶ qui à partir du réactif de Vilsmeier-Haack (POCl_3 , DMF) permet la formation d'un intermédiaire acétylé qui aboutira à la formation de la quinoléine chlorée en position 2 (**d**).

Enfin, les esters maloniques 2,3-insaturés sont des réactifs dans la synthèse de Gould-Jacob (**e**). En présence d'une base, ces derniers peuvent réagir avec les anilines pour former une 4-quinolinone substituée en position 2.

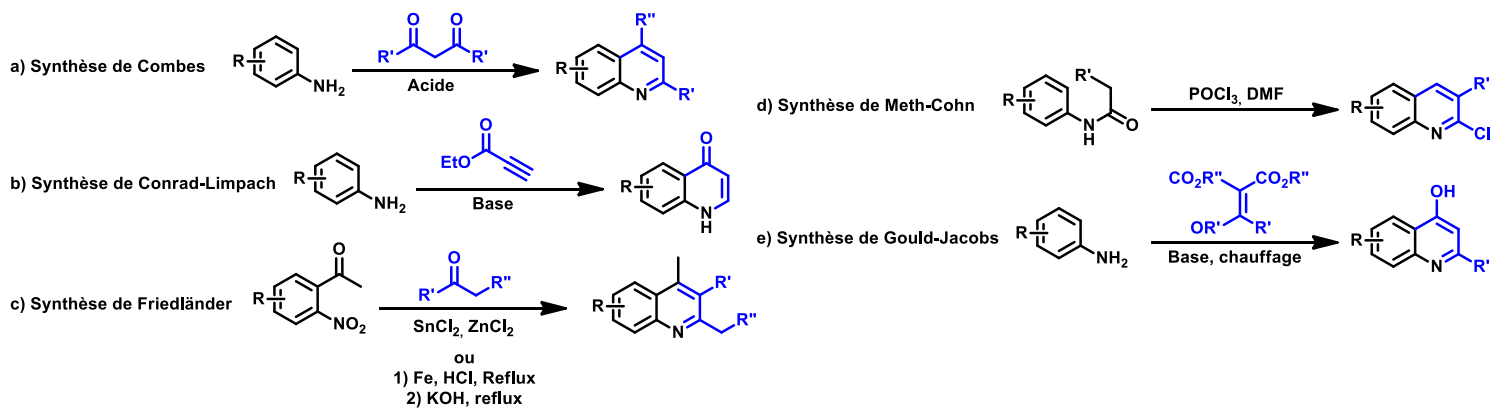


Schéma 13 : Voies d'accès possibles aux quinolines.

La synthèse de bicycles diazotés est également très bien documentée dans la littérature (revues récentes pour la synthèse de quinazolines⁸³⁻⁸⁵, quinaxolines⁸⁶⁻⁸⁹ et de cinnolines⁹⁰⁻⁹²). En fonction de la position des azotes dans le cycle, l'utilisation d'anilines, de dicétones ou de benzyles ortho-dianilines sera privilégié (**Schéma 14**).

Afin d'accéder aux quinazolines (fusion d'un cycle benzénique et d'une pyrimidine), les synthèses de Bischler⁹³ et de Niementowski⁹⁴ se basent sur l'utilisation d'une part d'anilines ortho-acylées qui se cyclisent après formation d'une imine en présence d'ammoniac pour la première, et après formation d'un amide par addition/élimination d'une amine primaire puis cyclisation en présence de POCl₃ pour la seconde (**a-b**). Il est à noter que l'utilisation de POCl₃, pouvant poser des problèmes lors de son élimination a pu être supprimé dans l'exploration de nouvelles voies de synthèse de quinazolines. En effet, la même réaction réalisée sous micro-ondes⁹⁵ et en l'absence de ce réactif a permis d'obtenir le même produit final plus facilement.

Les quinoxalines (fusion d'un cycle benzénique et d'une pyrazine) sont très largement utilisées en chimie médicinale. Leur facilité d'accès en a fait une plateforme fortement fonctionnalisable. De très nombreuses voies de synthèses sont ainsi décrites, dont nombre d'entre elles se basent sur l'utilisation d'ortho-dianiline ou 1,2-diisonitrile. La condensation d'une α -dicétone⁹⁶ ou d'une cétone α -halogénée⁹⁷ en présence de dérivé ortho-dianiline, permet la formation de la quinoxaline correspondantes (**c**). Récemment⁹⁸, une méthode de synthèse sous irradiation de lumière visible bleue a permis la synthèse de quinoxalines à partir de dérivés ortho-diisonitrile en présence d'iode d'alcane perfluoré à température ambiante (**d**).

Les dérivés cinnolines⁹⁹ (fusion d'un cycle benzénique et d'une pyridazine) sont également rencontrés en tant que molécule à activité biologique. Les voies de synthèses les plus connues pour accéder à ces produits sont la synthèse de Widman-Stoermer¹⁰⁰⁻¹⁰² qui permet la cyclisation intramoléculaire d'une aniline ortho-styrène en présence d'acide nitreux et la synthèse de Borsche-Koelsch¹⁰³⁻¹⁰⁵ nécessitant l'emploi d'une aniline ortho-cétonique aldolisable (**e-f**).

Dans les deux cas, la formation in situ d'acide nitreux, à partir de sels de nitrite en milieu acide permet la formation d'un intermédiaire diazonium qui va pouvoir réagir sur le styrène d'une part, et en α de la cétone ou sur l'alcyne (synthèse de von Richter¹⁰⁶) d'autre part qui, après réarrangement et aromatisation, conduit à la cinnoline ou la 4-hydroxycinnoline correspondante.

Bien que décrits et accessibles, les dérivés de phtalazine sont relativement peu utilisés en chimie médicinale. Ces hétérocycles peuvent être synthétisés par l'addition d'hydrazine sur un dérivé 1-4 dicétonique (**g**).

Enfin, les bicycles à 6 sommets oxygénés sont également fréquemment utilisés sous la forme de coumarines (**Schéma 15**). Ces composés sont très fréquemment utilisés pour leurs propriétés photophysiques ainsi que pour leurs nombreux sites de liaisons aux protéines biologiques¹⁰⁷.

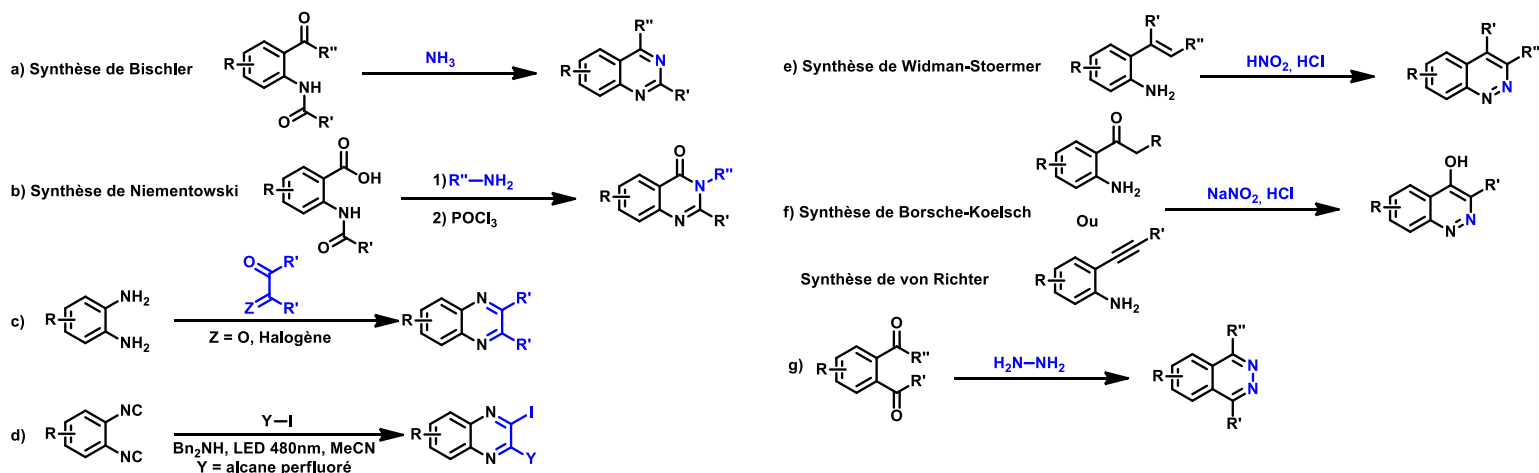


Schéma 14 : Voies d'accès possibles aux quinazolines, quinoxalines, cinnolines et phtalazines.

Ces hétérocycles peuvent être préparés de nombreuses manières, à partir de dérivés de phénols comme dans les synthèses de Pechmann^{108,109} et de Trost¹¹⁰ (a-b). Dans la première, la condensation d'un acide carboxylique ou un ester β -carbonylé en présence d'un acide fort ou d'un acide le Lewis comme le trichlorure d'aluminium permet d'accéder à la coumarine substituée en positions 3 et 4. Dans la seconde, la réaction d'un ester possédant en α un alcyne terminal avec un phénol en présence de base sous catalyse au palladium permet la cyclisation et la formation du cycle coumarine.

Les dérivés d'aldéhydes salicyliques ont également été utilisés dans la synthèse de ces hétérocycles comme c'est le cas dans la synthèse utilisant la condensation de Perkin¹¹¹ (c). Il s'agit d'une réaction en deux étapes dont l'intermédiaire réactionnel **1** est obtenu par une condensation de Perkin de l'aldéhyde avec un ester malonique ou un malonitrile. La cyclisation intramoléculaire du phénol en milieu basique permet l'obtention de la coumarine voulue substituée en position 3.

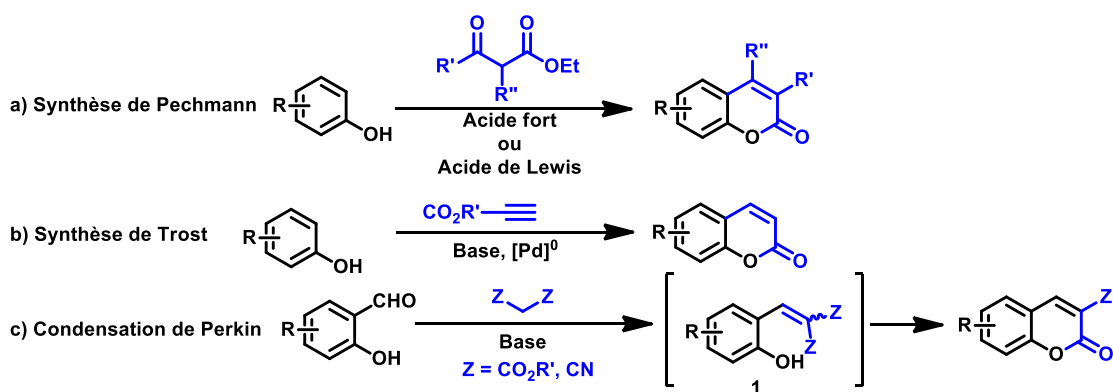


Schéma 15 : Voies d'accès possibles aux coumarines.

1.1.4.5 Réactions de formation de bicycles à 5 et 6 sommets

Les bicycles à 5 et 6 sommets sont très fréquemment retrouvés dans les composés à activité biologique (**Figure 13**). Encore une fois, les hétérocycles azotés sont les plus récurrents, ce qui se voit par le nombre important de voies de synthèses disponibles pour chacun des hétérocycles azotés. De nombreuses revues ont compilé les avancées récentes dans la synthèse de chacun de ces hétérocycles, que ce soit pour les indoles^{112,113}, les benzimidazoles^{114,115}, benzofuranes^{116,117}, benzothiophènes^{118,119}, benzoxazoles¹²⁰⁻¹²³, benzothiazoles¹²⁴⁻¹²⁶ ou purines¹²⁷.

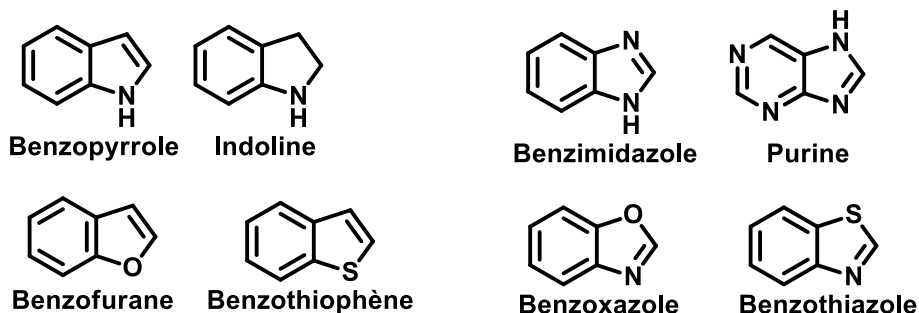


Figure 13 : Bicycles à 5 et 6 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.

Plusieurs exemples d'applications de ces bicycles sont représentés en **Figure 12**.

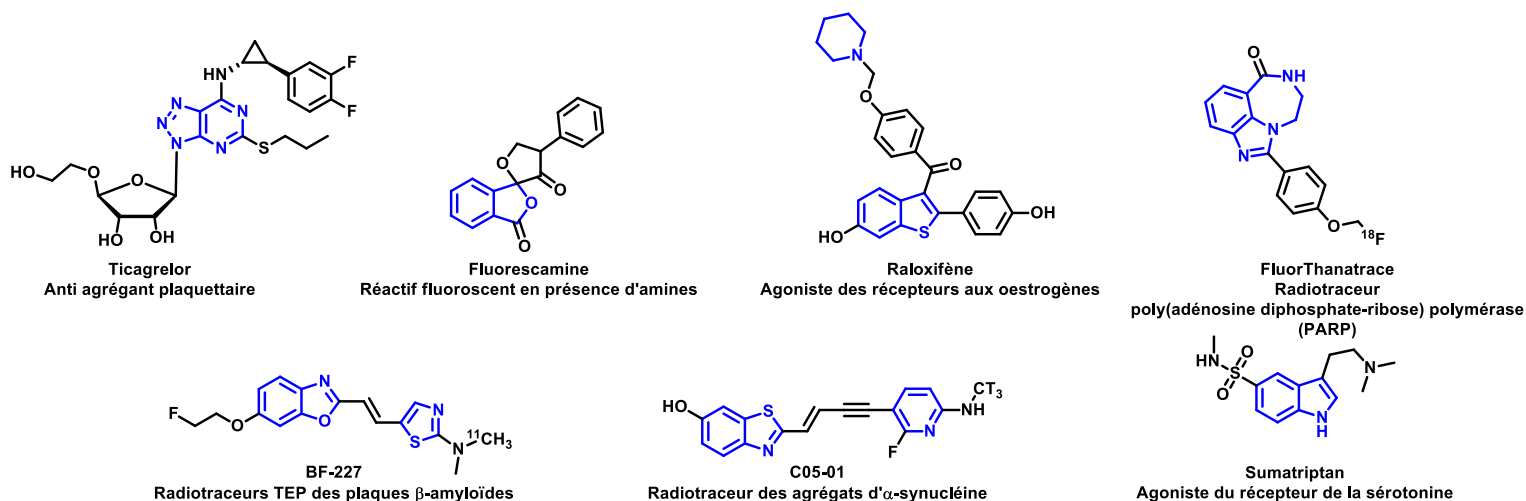


Figure 12 : Exemples de molécules d'intérêt biologique comprenant un hétérocycle à 5 et 6 sommets.

L'accès aux benzopyrroles ou indoles est principalement réalisé à partir de dérivés d'aniline (**Schéma 16**). Cet hétérocycle occupe une part très importante dans la chimie médicinale étant donné qu'il est retrouvé dans la chaîne latérale d'un des acides aminés essentiels, le tryptophane. De plus, il est naturellement présent dans de très nombreux composés naturels comme la sérotonine ou la mélatonine.

La synthèse de Fischer¹²⁸ est l'une des premières voies de synthèse d'indoles (**a**). Cette synthèse passe par la formation d'un intermédiaire réactionnel sous la forme de phénylhydrazone qui va pouvoir se cycliser et s'aromatiser après libération d'ammoniac. Les synthèses de Larock¹²⁹⁻¹³¹ et de Castro se basent sur l'utilisation d'anilines secondaires ou primaires ortho halogénées en présence d'alcynes substitués ou d'alcynes vrais (**b-c**).

Ces réactions varient par l'utilisation de deux types de catalyseurs. Dans le premier cas, la synthèse de Larock est réalisée sous catalyse au palladium et se fait en suivant plusieurs états de transition dirigés par le choix du métal à savoir : 1) réduction du palladium en Pd⁰, 2) coordination du palladium à l'halogène, 3) insertion oxydante, 4) coordination de l'alcyne au palladium et insertion *syn*, 5) formation d'un palladacycle et enfin 6) formation de l'indole par élimination réductrice, régénération du Pd⁰ puis la réentrée du métal dans le cycle catalytique.

La synthèse de Castro est une synthèse en deux étapes dont la première consiste au couplage C-C en position 2 pour former un intermédiaire aniline ortho-alcyne. La cyclisation intramoléculaire est ensuite catalysée par la présence de cuivre¹³².

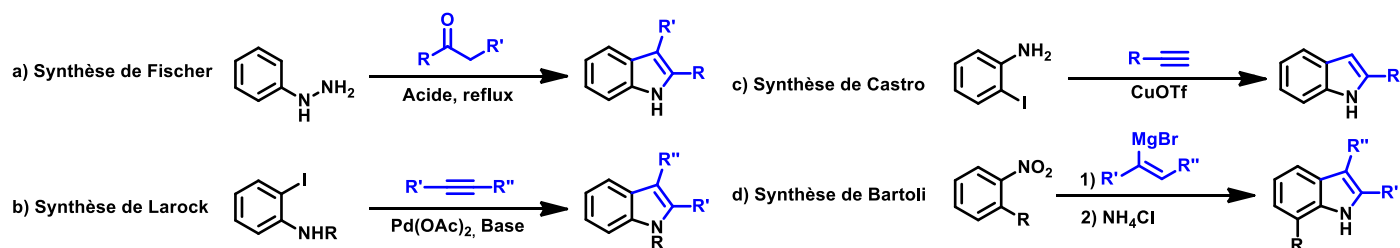


Schéma 16 : Voies d'accès possibles aux benzopyrroles (indoles).

L'utilisation d'organomagnésiens dans la synthèse de Bartoli¹³³ peut être utilisée afin d'obtenir des indoles substitués en position 2,3 et 7 (**d**).

Les dérivés de benzimidazole¹³⁴ représentent une part non négligeable des hétérocycles utilisés en chimie médicinale. Leur synthèse, comme les dérivés de quinoxaline, est principalement envisagée à partir de dérivés 1,2-dianiline. La première voie de synthèse des benzimidazoles nommée synthèse de Phillips-Ladenburg¹³⁵ permet la condensation d'une 1,2-dianiline en présence d'une cétone ou un acide carboxylique (**a**).

L'optimisation de cette synthèse a permis d'améliorer les rendements initialement faibles et de pouvoir élargir la réaction avec la possibilité d'utiliser des aldéhydes¹³⁶ qui après condensation vont pouvoir former le benzimidazole voulu après réaromatisation en présence d'air ou d'un agent oxydant (**b**). Plusieurs avancées récentes dans la synthèse de ces hétérocycles a permis d'encore d'améliorer les rendements et de diminuer le temps de réaction. Ainsi, le chauffage par micro-ondes¹³⁷ a récemment permis d'améliorer ces aspects de synthèse tout en proposant une alternative plus économe en atomes (**c**).

La synthèse des dérivés benzimidazoles, dont plusieurs exemples sont illustrés sur le **Schéma 17**, étant d'intérêt dans le domaine de la chimie médicinale, de nombreuses revues compilant leurs différentes voies de synthèse sont à ce jour disponibles dans la littérature^{136,138-141}.

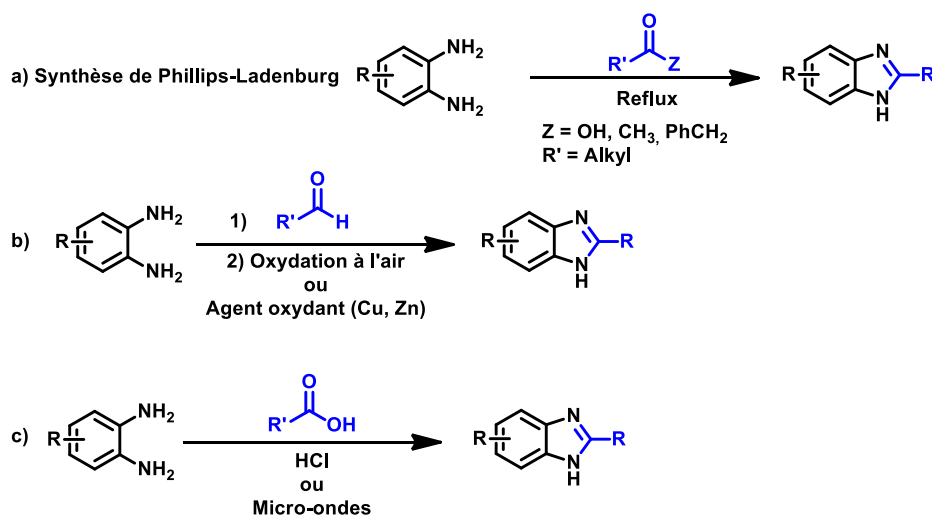


Schéma 17 : Voies d'accès possibles aux benzimidazoles.

Les dérivés de benzothiophènes (**Schéma 18**), bien que moins exploités que leurs analogues azotés connaissent depuis quelques années un regain d'intérêt. Plusieurs revues récentes^{118,119,142,143} montrent par ailleurs les différentes manières à disposition pour accéder à ce type d'hétérocycles.

Leur synthèse peut ainsi être envisagée à partir de dérivés thiophénols β -carbonylés par cyclisation intramoléculaire (**a**). Il a été montré que l'utilisation d'acide polyphosphorique (PPA) permettait cette cyclisation pour conduire à la formation du benzothiazole correspondant substitué en position 2.

La cyclisation de dérivés thiolés ortho-halogénés sous catalyse au palladium, selon une réaction de Heck a également permis l'obtention de cycles benzothiazoles **(b)**.

Les benzaldéhydes ortho-fluorés^{144,145} sont également des substrats de choix pour obtenir des benzothiazoles **(c)**. La formation préalable d'un carbanion α -thiolé puis son addition sur le benzaldéhyde conduit à la formation de l'hétérocycle souhaité.

Enfin, la cyclisation intramoléculaire d'un thiophénol ortho-alcyne sous catalyse métallique a montré son efficacité pour la formation de ce type de cycles **(d)**. Ce type de cyclisation peut être envisagé à la fois par catalyse à l'or¹⁴⁶ mais également par catalyse au palladium¹⁴⁷.

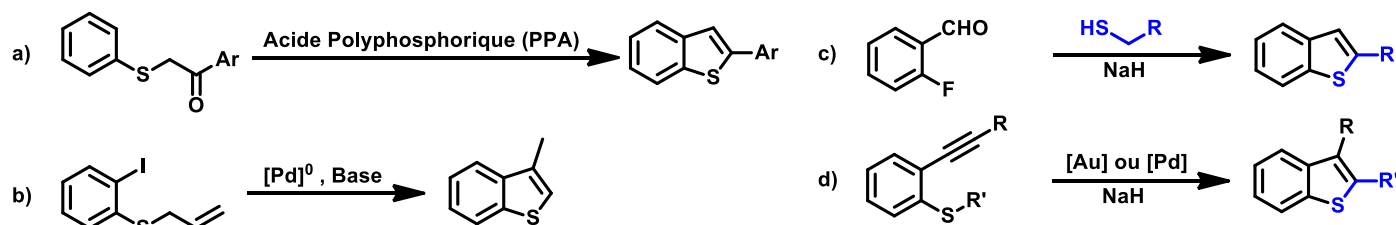


Schéma 18 : Voies d'accès possibles aux benzothiophènes.

L'utilisation du cycle benzoxazole a été largement étudiée en tant que plateforme en chimie médicinale. De nombreuses revues récentes^{120-123,148-151} montrent l'intérêt de ce cycle en chimie médicinale. Les méthodes de synthèse présentées sur le **Schéma 19** sont donc non exhaustives, mais il est à noter que la plupart de ces voies de synthèses se basent sur l'utilisation de dérivés catéchol ortho-aminés.

Une première voie de synthèse possible à partir de catéchol ortho-aminé se base sur la cyclisation intermoléculaire avec une cétone α -dihalogénée¹⁵² en présence d'une base **(a)**. Par ailleurs, la catalyse à base de métaux ayant été largement développée au cours des dernières années, le champ des substrats possibles pour accéder à cet hétérocycle a été élargi.

Par exemple, l'utilisation de nanoparticules d'argent¹⁵³ et d'oxyde de titane en tant que catalyseur a permis l'utilisation d'amides, d'aldéhydes, de chlorures d'acides, d'ortho-esters ou encore d'acides carboxyliques en présence de catéchols ortho-aminés **(b)**.

L'utilisation d'un catalyseur à base de cuivre^{154,155} a également permis la formation de benzoxazoles à partir d'amidines en présence d'une base **(c)**.

De la même manière, il a été mis en évidence que l'utilisation d'un catalyseur à base de fer¹⁵⁶ en présence d'une base permet la formation de l'hétérocycle en passant par un intermédiaire carbénique à même de réaliser une cyclisation intermoléculaire **(d)**. Enfin, comme cela a été montré pour de nombreux hétérocycles auparavant, l'utilisation d'un chauffage micro-ondes¹⁵⁷ permet la formation d'un benzoxazole plus rapidement dans des conditions moins demandeuse en atomes **(e)**.

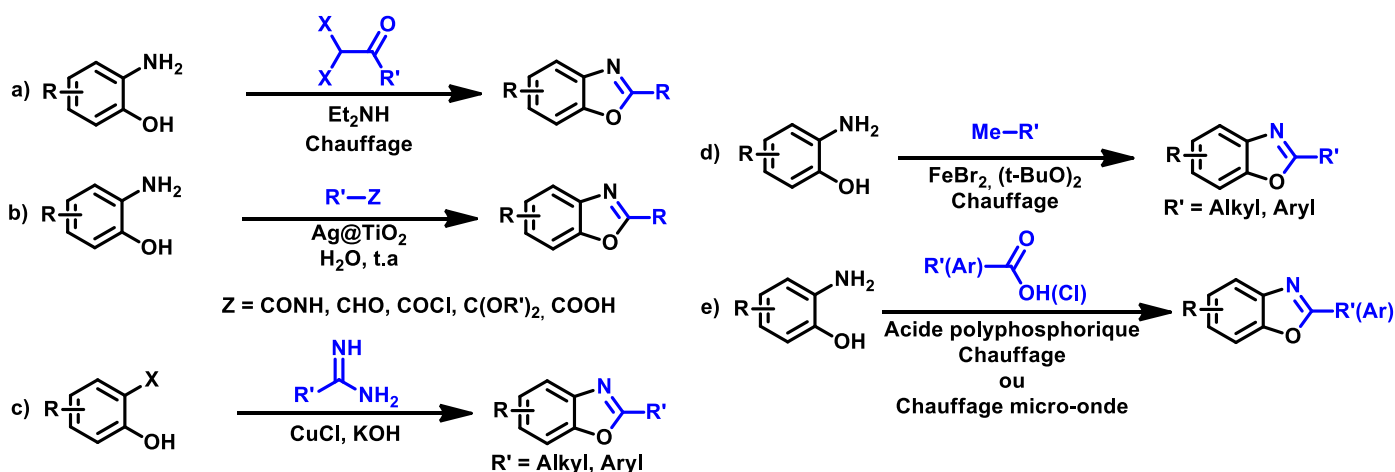


Schéma 19 : Voies d'accès possibles aux benzoxazoles.

La synthèse de benzothiazoles est de plus en plus exploitée de nos jours dans la chimie médicinale. Cet hétérocycle ayant montré son intérêt pour accéder à des composés biologiquement actifs (**Schéma 20**). De nombreuses voies de synthèses sont aujourd'hui décrites pour les dérivés de benzothiazoles^{124,125,158-167}, principalement substitués en position 2, dont certaines se basent sur l'utilisation de thiophénols ortho-aminés.

Les aldéhydes sont des réactifs de choix pour la synthèse de benzothiazole. En présence d'un iode hypervalent, le phenyliodine bis(trifluoroacetate) (PIFA) sous un chauffage micro-ondes¹⁶⁸, leur condensation avec un thiophénol ortho-aminé permet la formation du benzothiazole correspondant substitué en position 2 (**a**). La même réaction peut être réalisée en présence d'un acide fort¹⁶⁹ comme l'acide *para*-toluènesulfonique (PTSA) ou en conditions douces par catalyse au cyanure de sodium¹⁷⁰ (**b**).

La synthèse de benzothiazole peut également être envisagée par catalyse au cuivre (**c**). En conditions basiques, la catalyse au cuivre¹⁷¹ a permis la cyclisation intramoléculaire de dérivés thioamides.

Enfin l'utilisation d'acides de Lewis en présence d'un aryl-ester ou un alkyl-ester a également permis l'obtention de dérivés benzothiazoles substitués en position 2¹⁷² (**d**).

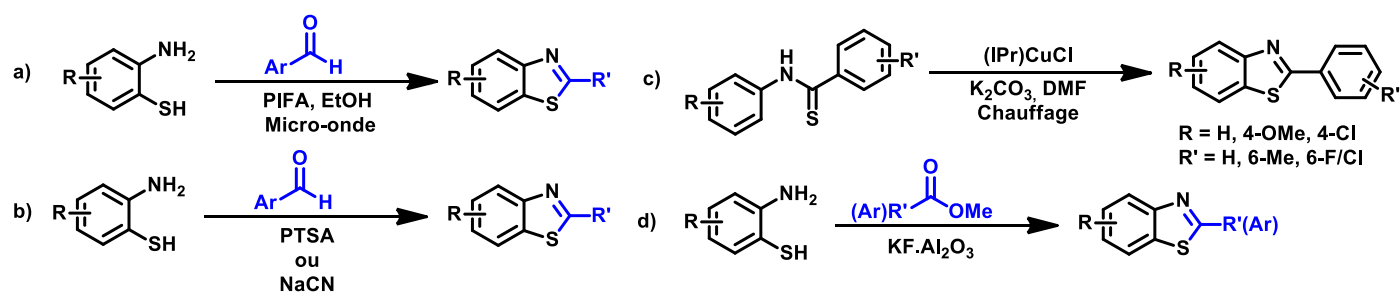


Schéma 20 : Voies d'accès possibles aux benzothiazoles.

1.1.4.6 Réactions de formation de composés tricycliques

Les composés tricycliques ont montré un certain intérêt pour la construction de molécules d'intérêt biologique. Les carbazoles et carbolines sont fréquemment utilisés pour leurs propriétés photophysiques, mais également pour leurs propriétés biologiques. Ces molécules sont régulièrement incorporées dans molécules fluorescentes par transfert de charge intramoléculaire (ICT) en tant que donneurs d'électrons dans les motifs Donneurs- π -Accepteurs¹⁷³ (ce point sera développé dans la partie **IV.2 Les outils d'imagerie luminescents** page 105).

Les dérivés de phénothiazine, eux, sont principalement utilisés pour leurs propriétés biologiques^{174,175}. Ces motifs sont principalement retrouvés dans les molécules à destination du système nerveux central, mais d'autres propriétés leur ont été découverte comme anti-tumorale ou encore anti-bactériennes.

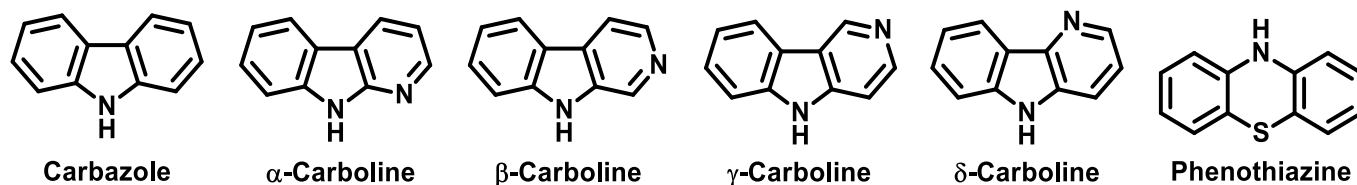


Figure 15 : Composés tricycliques fréquemment rencontrés en chimie médicale.

Plusieurs exemples d'applications biologique de ces composés tricycliques sont proposés sur la **Figure 14**.

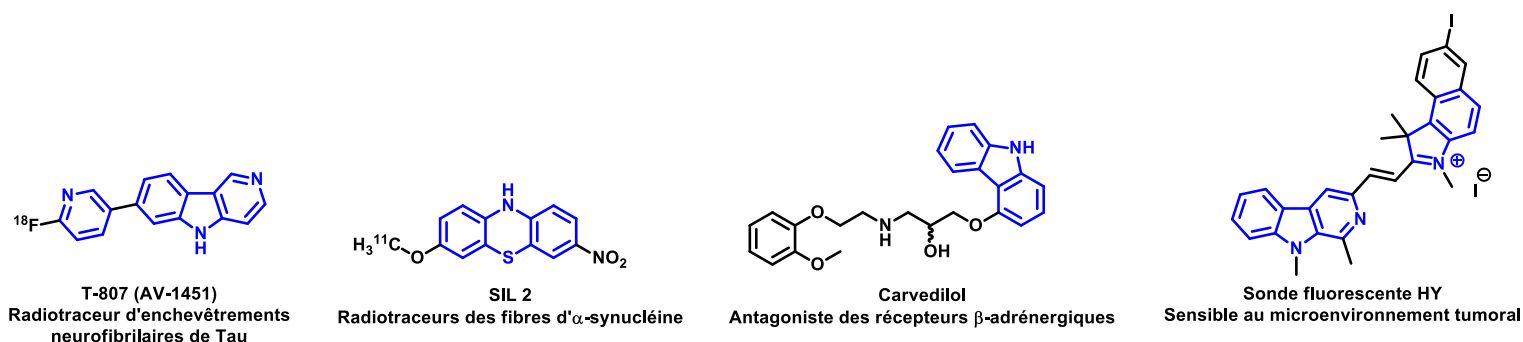


Figure 14 : Exemples de molécules d'intérêt biologique contenant un fragment tricyclique.

Les dérivés de carbazole tout d'abord, peuvent être préparés de nombreuses manières. De façon non exhaustive, plusieurs voies de synthèse sont représentées sur le **Schéma 21**. La cyclisation intramoléculaire par l'utilisation de Palladium^{176,177} permet la formation d'une liaison carbone-carbone et donc la formation de carbazole à partir d'aniline substituée par un phényle (**a**).

La réaction des azotures benzyliques ortho-benzylés en présence de Rhodium¹⁷⁸, en conditions thermiques ou sous irradiation UV permet la liaison carbone-azote et la cyclisation de l'ensemble, aboutissant à la formation du dérivé de carbazole correspondant (**b**).

Enfin, il a été montré que les carbazoles peuvent être obtenus à partir de dérivés d'indole (**c**). En présence de deux équivalents d'alcyne sous catalyse au palladium¹⁷⁹, la succession de cycloadditions [2+2+2] conduit à la formation d'un carbazole tétrasubstitué.

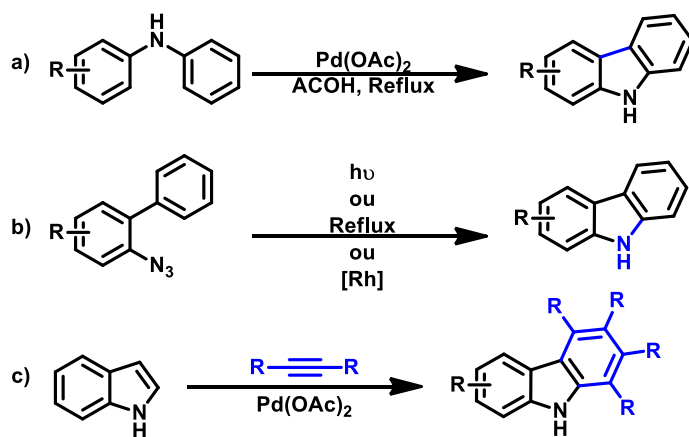


Schéma 21 : Voies de synthèse possibles aux carbazoles.

La synthèse des α -carboline peut s'envisager de selon différentes voies de synthèses¹⁸⁰ (Schéma 22) passant préférentiellement par l'emploi de dérivés d'indoles aminés par réaction intermoléculaire ou d'anilines par réaction intramoléculaire.

Tout d'abord, l'utilisation de dérivés dicarbonylés portant un groupement trifluorométhyle¹⁸¹ a été montré comme une méthode robuste d'accès aux α -carboline (a). En milieu acide, la réaction de 2-aminoindoles et des dérivés dicarbonylés fluorés a permis d'obtenir une grande variété de carboline.

La synthèse des carboline par cycloaddition [3+3]¹⁸² a pu être réalisée par une méthodologie monotope en conditions aqueuses (b). En présence d'alcynes α -carbonylés et d'un dérivé 2-aminoindole dans un mélange KOH, DMSO/H₂O permet d'obtenir la carboline correspondante dans des rendements satisfaisants (40-80%)

Sous irradiation UV la photocyclisation¹⁸³ d'anilines substituées par une pyridine permet en conditions radicalaires la formation du fragment pyrrole et la formation du carbazole souhaité c).

Une seconde manière d'accéder à cet hétérocycle par cyclisation intramoléculaire a été réalisée par une réaction de Graebe-Ullmann^{184,185} (d). Il s'agit d'une méthodologie de synthèse en deux étapes à partir d'un dérivé ortho-diaminobenzène dont une des deux amines est substituée par une pyridine. Dans un premier temps, l'ajout de NaNO₂ en conditions acides permet après réarrangement la formation d'un intermédiaire de synthèse triazole qui en présence de H₃PO₄ sous chauffage (200°C) aboutit à la carboline correspondante.

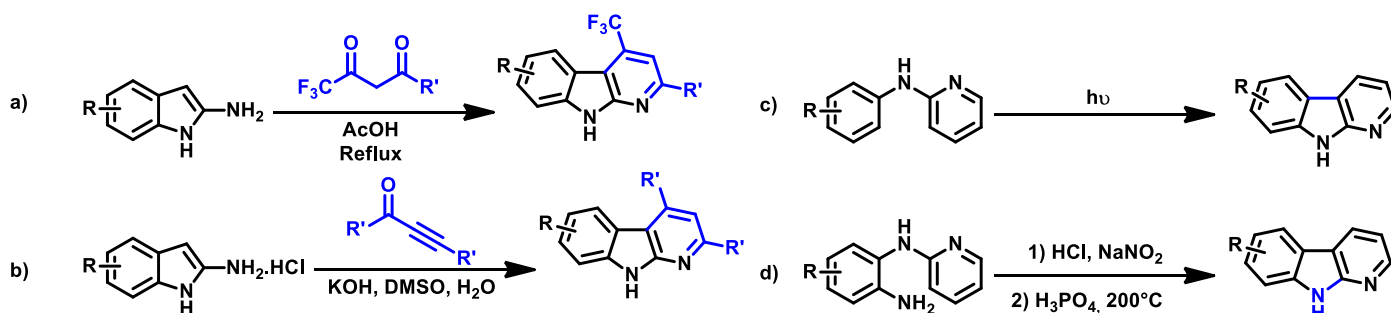


Schéma 22 : Voies d'accès possibles aux α -carboline.

L'accès aux β -carboline peut être envisagée au travers de dérivés d'indoles (Schéma 23). Tout d'abord, les indoles substitués par des chaînes alkyle avec une amine terminale¹⁸⁶ peuvent conduire en deux étapes à la formation de carboline (a). Dans un premier temps, la réaction de l'amine avec un acide carboxylique en présence d'acide polyphosphorique (PPA) pour obtenir une carboline réduite. Une seconde étape d'oxydation en présence de KMnO₄ permet d'aromatiser la carboline obtenue.

La formation de carboline peut également être réalisée par la cyclisation intermoléculaire en une seule étape de deux motifs acide α -aminés¹⁸⁷ (b). La réaction d'un dérivé de tryptophane avec un dérivé d'acide α -aminé en conditions acides et de diiode a permis la formation d'une β -carboline.

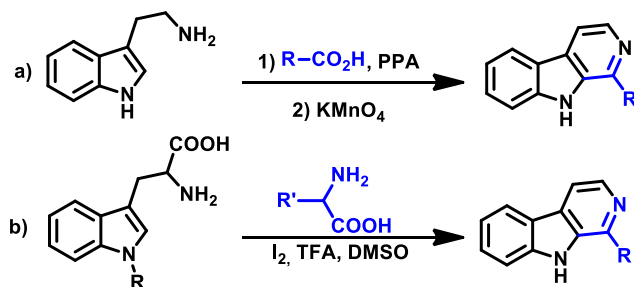


Schéma 23 : Voies d'accès possibles aux β -carbolines.

La synthèse des γ -carbolines (**Schéma 24**) suit également des voies communes de synthèse avec les autres carbolines. Les anilines N-substituées par une pyridine substituée ou non en position ortho par un halogène sont utilisées pour la formation de carbolines par réaction radicalaire **(a)**. De la même manière, sur les mêmes substrats, le palladium est un métal pouvant être utilisé pour réaliser la cyclisation intramoléculaire conduisant à la formation des carbolines souhaitées **(b)**.

Plus spécifiquement, les indoles peuvent être employés pour l'obtention de γ -carbolines. Une première voie de synthèse en deux étapes à partir d'indoles peut être envisagée par catalyse au cuivre et au zinc en présence d'ammoniac dans un premier temps puis par l'ajout d'un alcyne **(c)**.

Enfin, une méthode non métallo-catalysée à partir d'indoles substitués par un aldéhyde et une chaîne alkyle appauvrie en électrons a permis en deux étapes l'obtention d'une carboline disubstituée **(d)**.

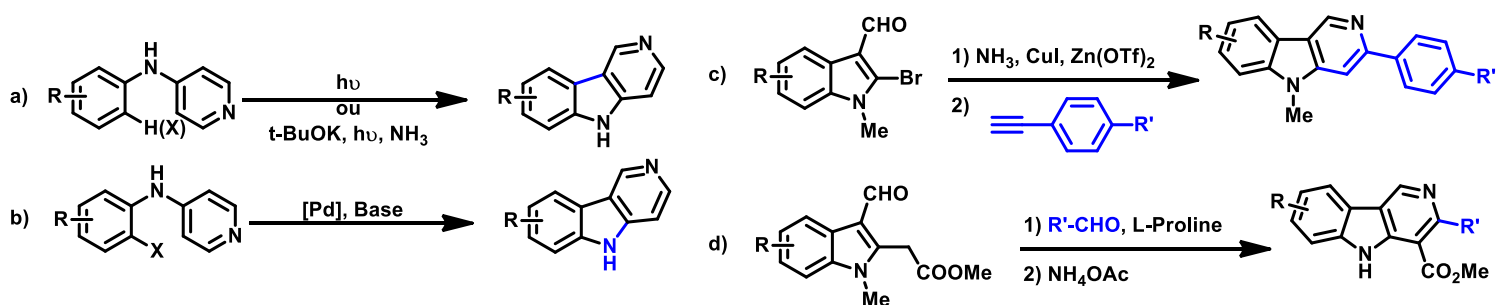


Schéma 24 : Voies d'accès possibles aux γ -carbolines.

Enfin, l'accès aux δ -carbolines (**Schéma 25**) peut être envisagé par cyclisation intramoléculaire à partir de pyridines ou par cyclisation intermoléculaire à partir d'indoles. De la même manière que présentée précédemment, la cyclisation intramoléculaire peut être envisagée en deux étapes par la formation dans un premier temps d'un intermédiaire diazonium¹⁸⁸ qui dans un second temps donnera la carboline souhaitée en conditions thermiques **(a)**.

La cyclisation intermoléculaire à partir de dérivés d'indoles a aussi été réalisée en une étape par réaction avec un acylaminoindole¹⁸⁹ **(b)**. La réaction avec un acétal α,β insaturé en conditions acides permet la formation de la δ -carboline correspondante par cyclisation intermoléculaire puis réarrangement.

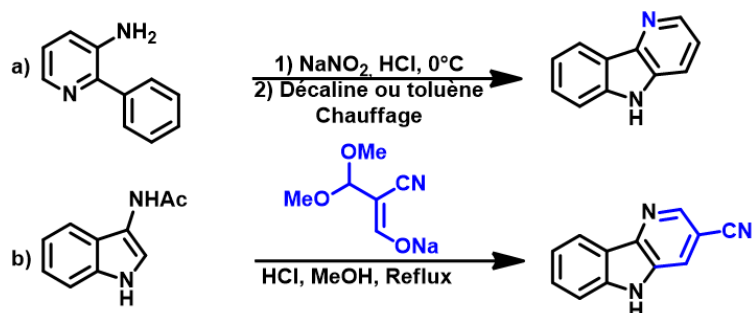


Schéma 25 : Voies d'accès possibles aux δ -carbolines.

Enfin, la construction d'un cycle phénothiazine (**Schéma 26**) est classiquement envisagée par cyclisation intermoléculaire de deux phényles préalablement substitués ou par cyclisation intramoléculaire de

N,N-diphénylaminés. La réaction de cyclisation intermoléculaire nécessite l'emploi d'un dérivé thiophénol ortho-aniline et d'un phényle ortho dihalogéné (**a**). Sous catalyse au fer, ces réactifs conduisent à la phénothiazine correspondante avec de bons rendements, presque quantitatifs selon ces conditions¹⁹⁰.

La fermeture de cycle de N,N-diphénylaminés¹⁹¹ a pu être conduite sous chauffage micro-ondes d'un mélange de soufre moléculaire en présence de diiode et d'eau (**b**).

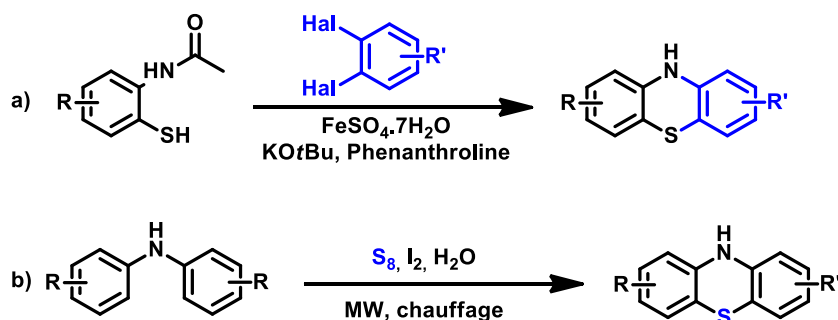


Schéma 26 : Voies d'accès possibles aux phénothiazines.

1.1.4.7 Réactions de formation de cycles à 7 sommets

Les cycles à 7 sommets (**Figure 16**), majoritairement azotés sont principalement utilisés pour leur tropisme du système nerveux central. De nombreuses voies de synthèses sont aujourd'hui décrites pour l'obtention des cycles à 7 sommets.

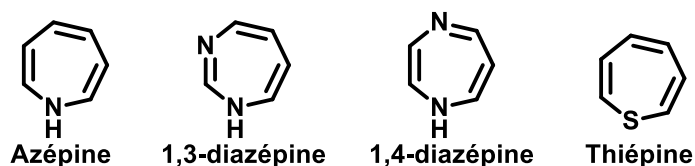


Figure 16 : Hétérocycles à 7 sommets fréquemment rencontrés en chimie médicinale.

Plusieurs exemples d'applications des hétérocycles à 7 sommets sont présentés sur la **Figure 17**.

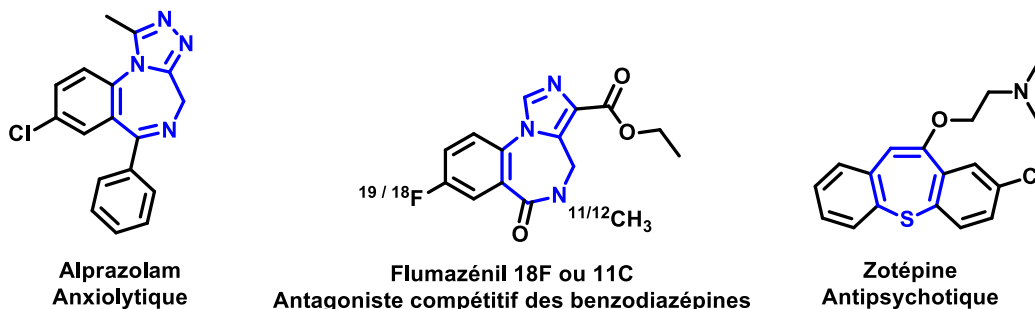


Figure 17 : Exemples de molécules d'intérêt biologique contenant un hétérocycle à 7 sommets.

Chacun des dérivés d'azépines, thiépine faisant l'objet d'une très grande diversité dans leurs voies d'obtention, il est difficile de les résumer dans ce seul chapitre. Toutefois, plusieurs revues proposées dans les références suivantes ont pu faire ce travail de manière exhaustive pour les cycles à 7 sommets hétérocycliques d'une manière générale¹⁹²⁻¹⁹⁴, les azépines^{195,196} et les diazépines^{197,198}.

Il est toutefois important de remarquer qu'au vu de la grande diversité de briques élémentaires commerciales disponibles, la plupart de ces réactions de formation d'hétérocycles ne sont pas utilisées en début de synthèse. En effet, ces réactions peuvent également être perçues comme des moyens d'augmenter la taille d'un cycle déjà présent sur une molécule d'intérêt pour explorer ses relations structure-activité.

1.1.5 Réactions d'oxydation et réduction

Les réactions d'oxydations et de réductions sont aujourd'hui assez peu fréquemment utilisées dans les voies de synthèses des composés d'intérêt biologique. Dans leur méta-analyse, Roughley et Jordan mettent en évidence que les réactions d'oxydation sont quatre fois moins fréquentes que les réactions de réduction. Les auteurs expliquent la raréfaction des étapes d'oxydation par leur complexité de mise en place à la fois dans une voie de synthèse et d'un point de vue pratique, certaines pouvant présenter des risques à la fois pour le manipulateur mais également pour l'environnement, ainsi que par la diversité des briques de synthèses disponibles sur le marché qui permettent d'éviter de devoir inclure ce type d'étapes dans un schéma réactionnel.

Toutefois, certaines réactions continuent d'être utilisées (**Tableau 2**), c'est le cas de l'oxydation d'alcools en aldéhydes, qui comme cela a été montré auparavant est un synthon très utilisé, ou en acide carboxylique. Il en est de même pour la formation de sulfoxydes et de sulfones à partir de thiols, qui font de très bons groupes partants ou peuvent être d'intérêt pour améliorer la solubilité aqueuse d'une molécule par exemple.

Substrat	Produit
Alcool	Aldéhyde ou cétone
	Acide carboxylique
Thiol	Sulfoxyde
	Sulfone
Amine	N-Oxyde

Tableau 2 : Réactions d'oxydation les plus fréquentes dans l'étude de Roughley et Jordan.

A l'inverse, les réactions de réduction restent plus fréquentes, bien qu'appliquées à certains groupements fonctionnels particuliers. Parmi ceux-ci, les groupements azotés nitro, amide, nitrile et imine sont mis en avant par Roughley et Jordan. Le groupement nitro, utilisé pour son effet directeur lors de la fonctionnalisation de cycle aromatique ou de chaîne alkyle, peut ensuite être réduit en amine pour ensuite permettre la formation d'amide ou d'imine, permettant ensuite des fonctionnalisations ultérieures par acylation ou amination réductrice pour étendre la molécule. Selon les auteurs, la réduction d'amides, nitriles ou imines est principalement utilisée afin de conduire des études de relation structure-activité.

La réduction de groupements fonctionnels oxygénés compte également pour une part importante de ces réactions de réductions puisque les auteurs estiment à un quart le nombre de ces réactions pour la régénération de fonction alcool à partir de cétones, aldéhydes et d'esters.

Les auteurs montrent également l'importance relative de réactions de réductions appliquées à des chaînes d'hydrocarbures insaturées. Cela s'applique essentiellement à la réduction de groupements alcènes en alcane correspondants. D'autres types de réductions, plus rares ont été soulevées par les auteurs telles que la réduction de groupements nitroso en amine correspondante lors d'une séquence réactionnelle ou encore la saturation d'hétérocycles.

Substrat	Produit
Nitro	Amine
Amide	
Cyanure / Imine	
Ester	Alcool
Cétone	
Alcène	Alcane
Alcyne	Alcane
Aryle / Hétéroaryle	Cycle saturé

Tableau 3 : Réactions de réduction les plus fréquentes dans l'étude de Roughley et Jordan.

I.1.6 Réactions d'interconversion et d'ajout de groupements fonctionnels

Enfin, un dernier type de réactions fréquemment utilisé a été mis en évidence, celui de l'interconversion de groupements fonctionnels. Ce type de réaction étant principalement utilisé pour la formation d'un intermédiaire de synthèse.

D'après la méta-analyse de Roughley et Jordan, l'interconversion de groupements alcools en halogène est la transformation la plus récurrente. Ce type de transformation est généralement réalisé dans le but de réaliser une réaction de Suzuki-Miyaura. La formation d'halogénure d'acides fait également partie des conversions les plus fréquentes, ce type de substrat étant très efficace pour former des esters et des amides.

De manière moins fréquente, les auteurs ont également montré que ce type de réaction était utilisé pour la formation d'imines ou pour réaliser des déshydratations. La formation de dérivés diazotés pour permettre une réaction de Sandmeyer est également fréquemment rapportée, tout comme le déplacement d'halogènes par un cyanure ou encore la formation d'esters boroniques nécessaires au couplage de Suzuki-Miyaura.

1.2 Bioisostères

Le concept d'isostérie introduit par Langumir¹⁹⁹ est devenu un des piliers de la chimie médicinale dans le développement de molécules d'intérêt biologique.

Adapté au développement de molécules à activité biologique, le concept d'isostérie s'est élargi au fur et à mesure des avancées dans le domaine pour devenir "bioisostérie" et englobe l'ensemble des groupements possédant les mêmes propriétés physiques, chimiques ou biophysiques, conduisant à une même activité biologique (**Figure 18**).

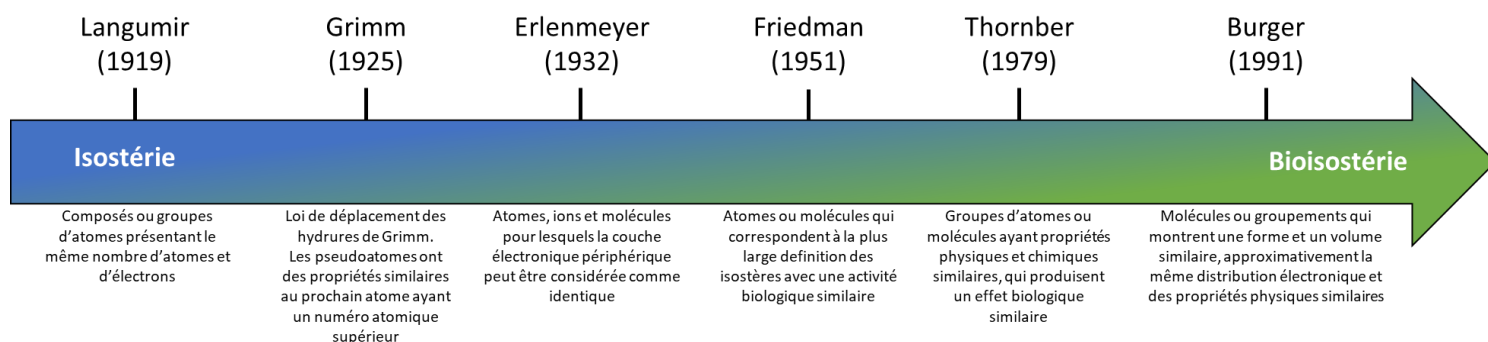


Figure 18: Évolution du concept de bioisostérie à partir de la définition de l'isostérie

De nombreux bioisostères ont ainsi été découverts suite à l'élaboration de ce concept en 1919 par Langmuir. En 1925, Grimm^{200,201} a formulé une hypothèse sur la nature des bioisostères qui indique que les quatre atomes précédents un gaz noble sont similaires à l'atome suivant sous conditions qu'il lui soit ajouté un hydrogène qu'il appellera des pseudoatomes. Cela a abouti à la table suivante (**Tableau 4**) qui posera ensuite les bases de l'isostérie et de la bioisostérie.

C	N	O	F	Ne	Na
	CH	NH	OH	FH	-
		CH ₂	NH ₂	OH ₂	FH ₂ ⁺
			CH ₃	NH ₃	OH ₃ ⁺
				CH ₄	NH ₄ ⁺

Tableau 4 : Pseudoatomes issus de la loi de Grimm.

Les travaux d'Erlenmeyer²⁰² publiés en 1932 viendront étendre le concept d'isostérie aux atomes, ions ou molécules dont la couche externe d'électrons peut être considérée comme identique.

En 1951, les travaux de Friedman²⁰³ viennent distinguer les concepts d'isostérie et de bioisostérie. Les bioisostères sont considérés comme des groupements ou molécules qui correspondent à la définition la plus large d'un isostère et qui ont le même type d'activité biologique. Un isostère n'est donc plus nécessairement un bioisostère.

Enfin, en 1979, Thornber²⁰⁴ vient définir les bioisostère comme des groupements ou molécules ayant les mêmes propriétés physico-chimiques et produisant un effet biologique similaire.

Plus récemment, en 1991, au regard des avancées dans le domaine de la chémoinformatique, Burger²⁰⁵ a ajouté de nouveaux paramètres dans la description déjà existante des bioisostères. Ce dernier définit un bioisostère comme un groupement ou une molécule qui possède une forme et un volume similaires, une distribution d'électrons équivalentes et qui montrent les mêmes propriétés physiques (et biologiques).

L'intérêt dans le développement et l'utilisation de bioisostères est multiple. En effet, ils peuvent permettre une meilleure sélectivité pour leur cible biologique, ce qui se traduira par des effets secondaires moins importants, une toxicité plus faible, de meilleures propriétés pharmacocinétiques (solubilité, perméabilité...), une stabilité

métabolique plus importante et enfin, une meilleure faisabilité chimique avec une voie de synthèse pouvant être simplifiée.

1.2.1 Bioisostères classiques

Les bioisostères sont classiquement répartis dans 5 catégories distinctes en fonction du groupement employé.

On distingue ainsi : les groupements ou atomes monovalents ; les groupements ou atomes bivalents ; les groupements ou atomes trivalents ; les atomes tétrasubstitués et les cycles équivalents.

1.2.1.1 Les groupements ou atomes monovalents

Cette première catégorie de bioisostères est essentiellement basée sur les similarités physicochimiques que peuvent entretenir le bioisostère et le groupement remplacé.

Un premier cas fréquemment rencontré est celui de l'échange entre un atome d'hydrogène et un atome de fluor. Du fait d'un rayon de van der Waals similaire²⁰⁶ (1,25 Å et 1,35 Å pour l'hydrogène et le fluor respectivement), ces deux atomes présentent des contraintes stériques similaires. Toutefois, la forte électronégativité du fluor rend la liaison C-F plus stable par rapport à la liaison C-H (respectivement 413 kJ.mol⁻¹ et 485 kJ.mol⁻¹ pour la liaison C-H et la liaison C-F). Le remplacement d'un hydrogène par un fluor peut avoir de nombreuses conséquences sur le devenir d'une molécule à activité biologique. En effet, le recours à un bioisostère peut être motivé par le besoin d'améliorer les paramètres pharmacocinétiques ou / et pharmacodynamiques d'un candidat.

En modifiant un site de métabolisation de phase 1 connu, ce dernier devient moins accessible aux enzymes (Ce point sera développé dans le paragraphe **1.2.3.3 Amélioration de la stabilité métabolique phase 1 et 2** page 48). Dans le cas d'une molécule active sous forme métabolisée et inactive une fois métabolisée, il devient alors possible d'augmenter la rémanence de la molécule active.

Un autre cas fréquemment rencontré est celui de l'échange d'un groupement hydroxyle par un groupement amine et vice-versa. Cette substitution est rendue possible du fait d'une part d'une contrainte stérique similaire de la part des deux groupements. Ces deux groupements partagent également la particularité de pouvoir être présents sous deux formes tautomères, sous forme ène-one pour le groupement hydroxyle et sous forme ène-imine pour l'amine.

Ces deux groupements sont également donneurs et accepteurs de liaisons hydrogènes, propriétés très importantes dans la liaison des composés à une cible biologique. L'échange entre un groupement hydroxyle et un groupement thiol est également un choix de bioisostère possible. Le remplacement de ces deux groupements est tout à fait intéressant du fait de la possibilité du groupement thiol de réaliser des liaisons hydrogènes. En effet, le groupement hydroxyle est à la fois donneur et accepteur, tout comme le thiol, même si ce dernier est un moins accepteur que l'hydroxyle (**Figure 39**).

Une différence importante entre ces deux groupements est la possibilité pour le groupement thiol de pouvoir être oxydé ou réduit sous de nombreuses formes. En effet, le soufre possède 6 états d'oxydation distincts pouvant être utilisés dans la conception de molécules bioactives.

Tout d'abord, sous la forme de thiols, ou thioéthers avec un état d'oxydation -II. Sous l'état d'oxydation -I, le soufre forme des disulfures, ou ponts disulfures, fréquemment retrouvés sur les macromolécules biologiques ayant un effet sur leur structure tertiaire. Toutefois, ce type de liaison peut être relativement facilement rompu par un agent réducteur en milieu biologique²⁰⁷ et est donc à éviter, sauf dans le cas d'une libération souhaitée²⁰⁸ comme un pro-médicament.

Les autres états d'oxydations n'entrent plus dans le cadre des groupements monovalents mais possèdent l'avantage de montrer de plus nombreux groupements donneurs accepteur et donneurs de liaisons H. Ainsi, ces derniers sont fréquemment utilisés pour améliorer l'hydrosolubilité d'une molécule (développé dans le paragraphe **1.2.4.1 Amélioration de la solubilité aqueuse** page 43), ou l'affinité d'une molécule pour son site de liaison.

Cela offre une possibilité de modifications chimiques pour le chimiste plus large qu'avec le groupement hydroxyle limité à deux états d'oxydation utilisables. Toutefois, la différence de rayon de Van der Waals et de rayon covalent

avec l'oxygène indiquent que le soufre étant plus volumineux, les liaisons C-S (272 kJ.mol⁻¹) sont moins fortes que les liaisons C-O (358 kJ.mol⁻¹) et que ces dernières sont plus à même d'être rompues.

1.2.1.2 Les groupements ou atomes divalents

Le remplacement d'atomes ou groupements peut se faire de deux manières distinctes^{209,210}. La première par le remplacement d'un atome par un autre, on parle dès lors de remplacement impliquant une double liaison. La seconde manière consiste à remplacer un groupement divalent par deux groupements monovalents, on parle dans ce cas de remplacement impliquant deux liaisons simples.

La première catégorie de bioisostères divalents est applicable aux groupements C=C, C=O, C=N et C=S. Comme abordé précédemment, le remplacement de l'un par l'autre peut permettre d'une part de modifier les propriétés physicochimiques d'une molécule et d'autre part de moduler son interaction avec la cible biologique. Du point de vue des propriétés physico-chimiques, le remplacement d'une liaison C=C par un groupement possédant un hétéroatome peut améliorer la solubilité de la molécule. L'introduction d'un groupement permettant de nouveaux types d'interactions avec la cible biologique peut également permettre d'améliorer son affinité ou même sa sélectivité.

La seconde catégorie de bioisostères divalents concernant le remplacement d'une liaison double par deux liaisons simples peut également être employée avec les mêmes objectifs que présentés précédemment. Elle peut toutefois être employée à rajouter une contrainte stérique supplémentaire sur la molécule. En effet, l'introduction d'un groupement volumineux peut être très utile pour le ciblage d'un site de liaison, ou pour le ciblage d'une poche éloignée du site de fixation de la molécule.

1.2.1.3 Les groupements ou atomes trivalents

Le remplacement de groupements fonctionnels par des bioisostères trivalents²¹⁰ (**Figure 19**) est relativement peu utilisé en l'état. Il peut toutefois être mis en place pour le remplacement de liaisons alcène par l'imine correspondante, ou plus rarement par la phosphine correspondante.

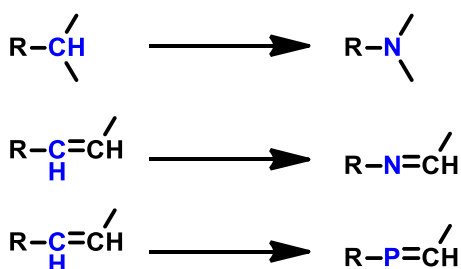


Figure 19 : Groupements trivalents comme bioisostère classique.

1.2.1.4 Les groupements ou atomes tétravalents

Les groupements et atomes tétravalents²¹⁰ classiques se base sur le remplacement d'atomes et groupements réalisant 4 liaisons (**Figure 20**). Cela concerne tout d'abord les carbones sp³. De cette manière, ces carbones peuvent être remplacés par des ammoniums, des phosphoniums ou encore plus rarement des dérivés d'arsenic tétravalents.

De la même manière, les allènes peuvent être remplacés par des diimines ou encore des oxydes de phosphonium.

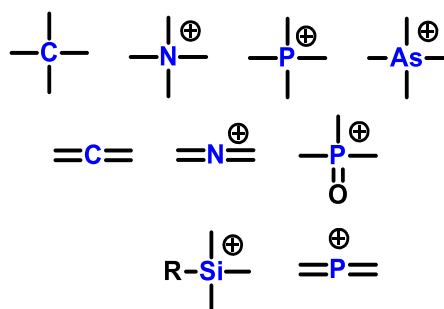


Figure 20 : Groupements tétravalents comme bioisostère classique.

1.2.1.4 Les cycles équivalents

Enfin, une dernière catégorie de bioisostères classiques est celle des « cycles équivalents »²¹¹ (**Figure 21**). Cette catégorie s'intéresse particulièrement aux cycles phényles et à ses alternatives. Selon les règles classiques de bioisostérie, ces cycles sont assimilables à leurs dérivés aromatiques azotés à 6 sommets pyridine, pyrazine ou pyridazine. Plusieurs cycles à 5 sommets comme le cycle thiophène ou furane sont également assimilables à ce cycle. Enfin les hydrocarbures cycliques saturés à 5 sommets sont assimilables à leurs dérivés hétérocycliques tétrahydrofurane, tétrahydrothiophène et pyrrolidine.

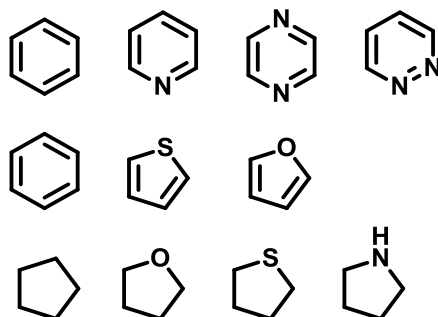


Figure 21 : Cycles équivalents comme bioisostères classiques.

1.2.2 Bioisostères non classiques

Les bioisostères non classiques sont une très large catégorie qui regroupe tous les groupements ne correspondant pas à la définition des bioisostères classiques qui reste assez rigide.

Ces bioisostères sont beaucoup plus répandus que les bioisostères classiques du fait de la grande variété de groupements chimiques qu'ils permettent d'incorporer dans les molécules, tout en gardant une activité biologique similaire, mais en permettant une modification des paramètres structuraux, pharmacocinétiques et pharmacologiques de la molécule. Contrairement aux bioisostères classiques, regroupés en « nombre de liaisons équivalentes », les « groupements équivalents » sont ici recherchés lorsqu'ils présentent une activité biologique similaire.

1.2.2.1 Cycle phényle

Comme abordé précédemment, le groupement phényle est le motif le plus fréquemment retrouvé dans les molécules d'intérêt biologique. Logiquement, c'est sur ce dernier qu'a été fourni le plus d'efforts de recherche afin d'identifier des cycles équivalents. De manière non-exhaustive, la grande diversité de ces cycles est représentée en **Figure 22**, mais d'autres cycles équivalents²¹² sont également possibles.

Premièrement, il est possible de remplacer le cycle phényle par plusieurs équivalents saturés à 6, 5, 4 et 3 sommets. La saturation du cycle est responsable d'une augmentation de la lipophilie de la molécule, mais qui tend à diminuer en fonction de la taille du cycle saturé. Récemment, les cycles cubane et adamantane²¹³ ont également été utilisés avec succès pour le remplacement d'un cycle phényle dans le développement de molécules d'intérêt biologique. Le cycle cubane présente plusieurs particularités, parmi lesquelles une planéité égale à celle du cycle phényle aromatique et une taille de cycle presque équivalente (2,7 Å contre 2,8 Å pour le phényle)

Les hétérocycles oxygénés saturés (éthers cycliques) sont également une option envisageable^{214,215}. Le remplacement d'un phényle par un tel cycle semble permettre une réduction du $\text{LogD}_{7.4}$, ce qui se traduit par une amélioration de la solubilité aqueuse, tout en permettant l'introduction de centres asymétriques sur la molécule finale.

L'introduction de pyridines ou de cycles diazotés aromatiques, substitués ou non, s'accompagne également d'une réduction de la lipophile d'une molécule par une modification de leur moment dipolaire. La modification de polarité peut toutefois être *in fine* délétère sur la perméabilité globale, d'autant plus qu'en fonction du compartiment biologique ciblé le cycle pyridine peut être protoné ($\text{pKa} : 5,23$).

Les hétérocycles à 5 sommets sont également une option dans l'optique du remplacement d'un groupement phényle. Leur introduction est responsable d'une augmentation de la polarité, tout en donnant facilement accès, pour les dérivés azotés, à leur dérivé chargé après alkylation et donc à la formation des sels correspondants. La réduction de la taille du cycle est également une stratégie utilisée pour faciliter l'accès à une molécule à son site d'action²¹⁶.

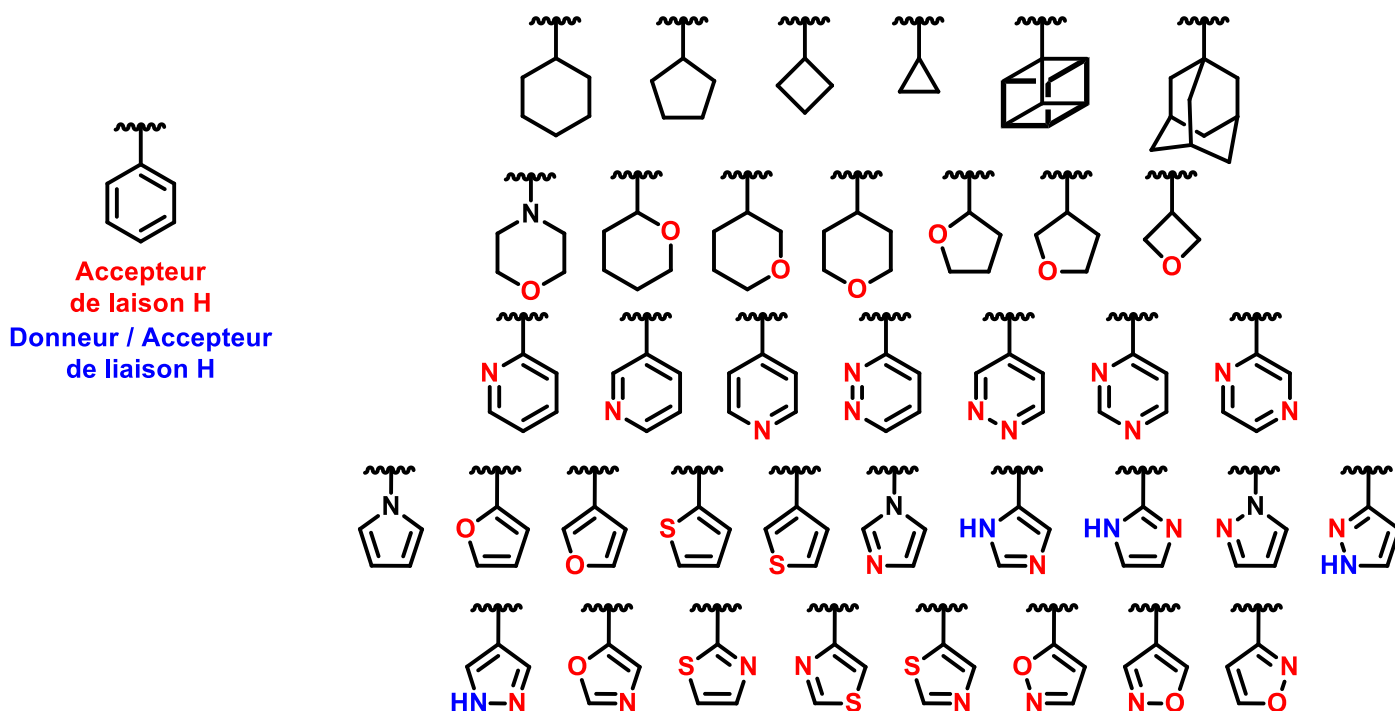


Figure 22 : Bioisostères utilisés pour remplacer le cycle phényle.

I.2.2.2 Groupement hydroxyle

Les groupements hydroxyles sont des groupements facilement oxydables par les enzymes de métabolisation de phase 1. Pour cette raison, un certain nombre de bioisostères^{217,218}, dont certains sont présentés sur la **Figure 23**, ont été développés afin de palier à leur faible stabilité métabolique. Les groupements hydroxyles sont polaires, de petite taille et sont accepteurs et donneurs de liaisons hydrogène. Pour ces raisons, les groupements amide, sulfonamide et urée sont des bioisostères de choix. D'autres groupements moins communs comme les cyanamides ou les dinitriles ont également été décrits comme étant des bioisostères des groupements hydroxyles.

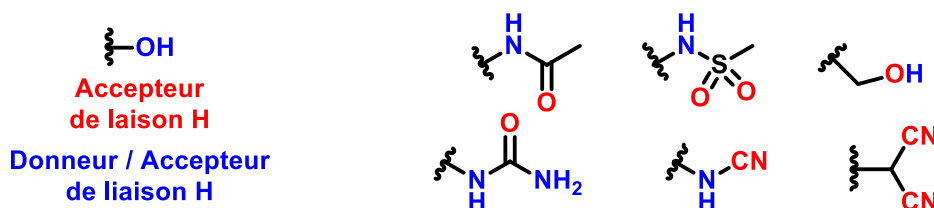


Figure 23 : Bioisostères utilisés pour remplacer le groupement hydroxyle.

I.2.2.3 Groupement carbonyle

Les groupements carbonyles (aldéhydes et cétones) sont des groupements fortement polaires permettant l'établissement de liaisons hydrogènes. Les carbonyles étant facilement métabolisés, à la fois par oxydation en acide carboxylique ou par réduction en alcool, plusieurs bioisostères ont été développés pour échapper à ces métabolisations qui peuvent altérer l'efficacité d'une molécule médicament (**Figure 24**).

Les travaux de Wallenfels *et al.*²¹⁹ ont montré une certaine similarité entre les groupements carbonyle et malonitrile.

L'emploi d'oxétanes²²⁰⁻²²² en tant que bioisostères des groupements carbonyles est de plus en plus répandu. Ainsi, ils peuvent être utilisés comme bioisostères de groupements esters et amides. Ce sont des molécules fortement

polaires, accepteurs de liaisons hydrogènes, tout en restant électroattracteurs. Ils permettent globalement une meilleure solubilité aqueuse tout en étant plus lipophiles et une meilleure stabilité chimique et métabolique que le groupement carbonyle.

Enfin, les sulfoxydes, sulfones et sulfonamides sont de bons candidats pour le remplacement de groupements carbonyle. Les groupements accepteurs de liaisons hydrogène supplémentaires qu'offrent ces bioisostères donne la possibilité d'améliorer les paramètres de solubilité des molécules.

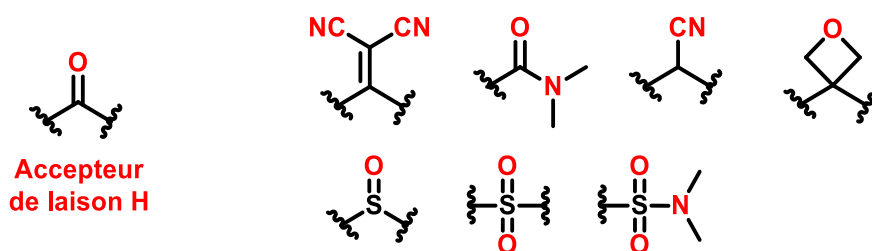


Figure 24 : Bioisostères utilisés pour remplacer le groupement carbonyle.

1.2.2.4 Groupement acide carboxylique

Du fait de l'omniprésence de groupements acide carboxylique, de nombreuses études ont été conduites dans le but de proposer des alternatives. Ainsi, de nombreux bioisostères ont pu être à ce jour découverts dont certains sont représentés en **Figure 25**, mais de nombreux autres sont également disponibles²²³⁻²²⁶.

Parmi ces bioisostères, le tétrazole^{227,228} est probablement l'un des plus connus. Il est plan tout comme l'acide carboxylique et possède un pKa proche de ce dernier (5-6). Toutefois, il est légèrement plus encombrant et semble plus à même de réaliser des liaisons hydrogènes²²⁹. Enfin, sous la forme tétrazolate et du fait de la délocalisation apportée par le cycle, leur potentiel électrostatique²³⁰ est différent et ils sont plus lipophiles que dans le cas de leurs analogues carboxylates.

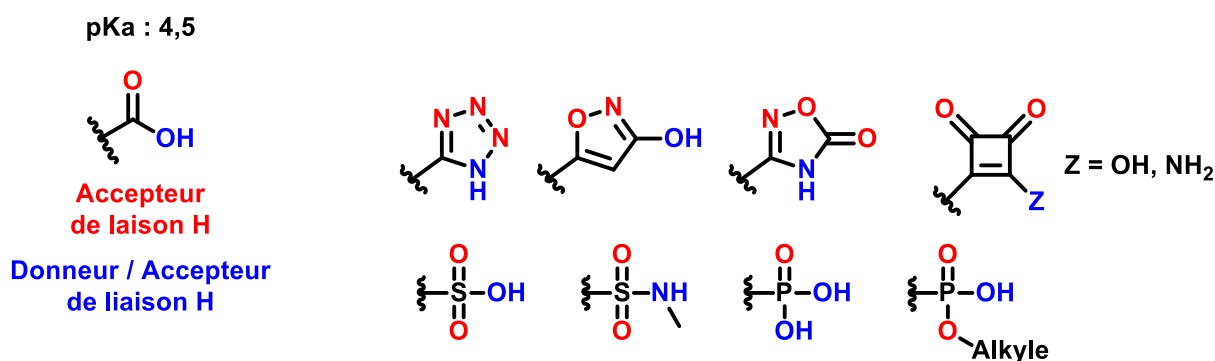


Figure 25 : Bioisostères utilisés pour remplacer les acides carboxyliques.

Les dérivés hydroxylés des hétérocycles isoxazoles sont également une alternative au groupement acide carboxylique. Du fait de leur aromaticité ces cycles sont plans et possèdent un pKa proche de celui de l'acide carboxylique avec un pKa proche de 4-5.

L'utilisation d'un cycle 5-oxo-1,2,4-oxadiazole permet également le remplacement de l'acide carboxylique. Il possède un pKa plus élevé que l'acide tout en étant plus lipophile et en gardant la planéité du groupement fonctionnel original²³¹.

Depuis plusieurs années, les dérivés de l'acide squarique oxygénés et azotés sont fréquemment utilisés en tant que bioisostères de l'acide carboxylique. De la même manière que les hétérocycles précédemment présentés, ces cycles sont plans et du fait d'un fort effet mésomère, ces composés sont fortement acides^{232,233} (pour l'acide squarique, le pKa du premier hydroxyle est de 0,5 et pour le second de 3,5). La très forte polarité du cycle et la présence de groupements accepteurs de liaisons H supplémentaires peuvent motiver son emploi afin d'améliorer la solubilité aqueuse de la molécule.

Plusieurs bioisostères non cycliques peuvent également être utilisés pour remplacer le groupement acide carboxylique.

L'emploi d'acides sulfoniques et de sulfonamides est une alternative qui présente plusieurs avantages. En effet, ce sont des groupements fortement acides²³⁴ avec un pKa proche ou inférieur à 1 pour les acides sulfoniques et proche de celui de l'acide carboxylique pour les sulfonamides (pKa : 4-5), pouvant améliorer la solubilité de la molécule. De plus, les dérivés sulfoniques et sulfonamides sont, contrairement à l'acide carboxylique, non planaires. Le fait de se soustraire de la planéité²³⁵ a été décrit comme pouvant améliorer l'interaction de la molécule avec sa cible biologique, c'est donc une propriété qui peut être recherchée.

C'est également le cas des acides phosphiniques et acides phosphoriques²³⁶, qui sont plus acides que les acides carboxyliques (pKa : 1-3) et présentent également l'avantage d'être non planaires. Le caractère fortement acide permet de gagner en polarité par rapport au l'acide carboxylique, et par conséquent d'améliorer l'hydrosolubilité de la molécule tout en permettant l'ajout de charges sur la molécule.

1.2.2.5 Groupements ester

L'emploi d'isostères du groupement ester est fréquemment utilisé afin de palier à la stabilité métabolique relativement faible de ce groupement. En effet, contrairement au groupement amide qui nécessite des conditions plus dures pour être clivé, le groupement ester est rapidement hydrolysé *in vivo* en l'acide carboxylique et l'alcool correspondants par des estérases. Le cas des pro-médicaments mis de côté pour lequel ce clivage peut être souhaité, l'utilisation d'un bioisostère permet de passer outre la reconnaissance enzymatique, et ainsi préserver l'intégrité de la molécule.

Plusieurs stratégies sont ainsi envisageables, en fonction de la nature du bioisostère choisi, l'une utilisant des groupements non cycliques, et l'autre employant des hétérocycles dont plusieurs exemples sont représentés en **Figure 26**.

Avant de détailler les différents types de bioisostères possibles, une première approche consiste à « inverser » le groupement ester. En fonction des groupements substituants en présence, il a été montré que l'interversion des positions de la liaison C-O et la liaison C=O peut ralentir voire empêcher par effet stérique l'hydrolyse enzymatique de la liaison ester. Cette stratégie est communément appelée « rétroisostérie »²³⁷.

Parmi les bioisostères non cycliques utilisables, il est tout d'abord possible d'exploiter la plus grande stabilité métabolique de l'amide vis-à-vis de l'ester. Cela consiste à remplacer l'ester par un groupement amide voire même une amidine. Il faut cependant noter que cette dernière est à même de rentrer dans le cycle métabolique de l'arginine²³⁸ et être métabolisée malgré sa stabilité chimique accrue²³⁹.

L'emploi d'oléfines fluorées en tant que bioisostères a également été envisagé afin de passer outre la faible stabilité métabolique du groupement ester²⁴⁰. Ces mêmes oléfines sont utilisées comme bioisostères de liaisons peptidiques pour les mêmes raisons, à savoir améliorer la stabilité métabolique par l'introduction d'un groupement non hydrolysable. Les alcènes peuvent mimer la planéité du groupement ester et amide mais sans pouvoir réaliser de liaisons hydrogènes.

De la même manière que pour les acides carboxyliques, il est également possible d'utiliser les sulfonamides et les dérivés d'oxétanes pour remplacer les esters et les amides.

Concernant les hétérocycles pouvant remplacer les groupements ester, il s'agit principalement de cycles à 5 sommets contenant plusieurs hétéroatomes. Sans rentrer dans le détail de chacun des cycles, leur utilisation en tant que bioisostère peut être argumentée par plusieurs points. Le premier est la présence de plusieurs atomes à même de réaliser une liaison hydrogène, comme le ferait le groupement ester, ce qui peut se traduire par une amélioration de l'hydrosolubilité de la molécule d'une part et une meilleure interaction avec la cible biologique d'autre part. Le second intérêt d'utiliser un cycle aromatique est, comme cela a déjà été abordé précédemment, de mimer la planéité du groupement ester par l'aromaticité du cycle. Ceci dit, la fonctionnalisation de plusieurs positions sur le bioisostère permettent de donner un aspect tridimensionnel à la molécule finale.

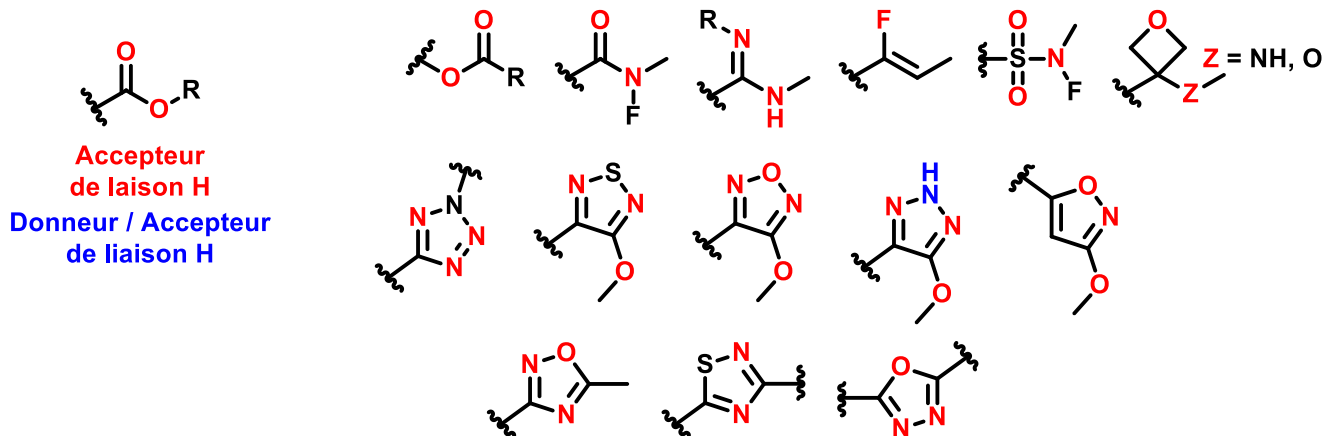


Figure 26 : Bioisostères utilisés pour remplacer les groupements ester.

1.2.2.6 Groupement amide et liaison peptidique

Le groupement amide, ou appelé liaison peptidique dans le cadre d'un assemblage d'acides aminés, est une liaison plane du fait de la mésomérie $\pi - \sigma$ - doublet non liant qui est relativement stable chimiquement et métaboliquement. Etant contenue dans de très nombreuses molécules à activité biologique, le besoin de moduler plus précisément la polarité et les paramètres ADMET de molécules contenant ce type de groupement a poussé au développement de nombreux bioisostères de ce groupement. En fonction de leur orientation au sein de la molécule, ces groupements peuvent adopter une géométrie *cis* et *trans*²⁴¹, qui peut aussi être mimée par l'utilisation de certains bioisostères, notamment cycliques.

Tout comme le groupement ester, de nombreuses alternatives non cycliques et cycliques ont montré leur intérêt, dont plusieurs exemples sont représentés en **Figure 27**.

De la même manière que pour le groupement ester, le concept de « rétroisostérie » a été appliqué particulièrement dans le contexte des peptides^{242,243} puisqu'il permet de limiter l'hydrolyse enzymatique de la liaison peptidique, tout en gardant la même géométrie qu'une liaison peptidique classique.

L'utilisation des groupements carbamate et urée en tant que bioisostère est également un choix régulier. Les carbamates²⁴⁴ ont été largement utilisés comme bioisostère de liaison peptidique afin d'améliorer la stabilité métabolique de ces derniers. En plus d'améliorer la stabilité métabolique, les groupements carbamates peuvent être introduits pour améliorer la perméabilité membranaire²⁴⁵.

Les urées²⁴⁶ sont également une alternative intéressante pour le groupement amide. Du fait de la présence de groupements donneurs de liaisons hydrogènes supplémentaires, le remplacement d'un amide par une urée est une solution pour améliorer la solubilité aqueuse d'une molécule, ainsi que sa perméabilité.

L'utilisation de groupements amidines²⁴⁷ et thioamides a également été envisagé comme bioisostères de l'amide. Le remplacement d'un amide par une amidine permet d'augmenter le pKa de l'amine. Les thioamides présentent plusieurs différences physicochimiques avec le groupement amide qui ont été décrites par Choudhary *et al.*²⁴⁰ à savoir une liaison C-N plus courte, des liaisons intermoléculaires plus rigides et des propriétés acceptrices de liaisons hydrogènes plus faibles que le groupement amide.

Les dérivés fluorés offrent de nombreuses possibilités qui ont pu être exploitées vis-à-vis du groupement amide. Premièrement, le remplacement d'un amide par une amine α - ou β -(tri)fluorée va avoir pour conséquence directe de diminuer le caractère basique de l'amine de deux manières. La suppression de la conjugaison d'une part, qui stabilisait la forme conjuguée de l'amine et l'introduction d'un groupement ou atome fortement électro attracteur à proximité d'autre part, qui va directement diminuer le pKa du groupement. Ce type de bioisostère permet de conserver le caractère donneur de liaison hydrogène de l'amide ainsi que la polarité du groupement amide (la liaison C-CF₃ étant autant polaire qu'une liaison C=O), tout en donnant plus de degrés de liberté à l'ensemble pour une meilleure interaction avec sa cible biologique²⁴⁸.

Enfin, l'emploi de sulfonamides²⁴⁹ en tant que bioisostère du groupement amide permet, par l'augmentation du nombre de liaisons acceptrices de liaisons hydrogènes, d'améliorer la solubilité aqueuse²⁵⁰ d'une molécule.

De nombreux hétérocycles ont montré leur intérêt en tant que bioisostère du groupement amide. Les cycles permettant de fixer la position des atomes dans l'espace, ces derniers sont les plus à même de mimer une orientation *cis* ou *trans* de la fonction amide. Il est toutefois important de noter que l'introduction de groupements cycliques se fera au prix d'une augmentation des contraintes stériques, qui peut diminuer l'interaction de la molécule avec sa cible biologique.

Les hétérocycles à 5 sommets, triazole, imidazole et tétrazole ont été décrits pour mimer l'orientation *trans* (ou *cis* en fonction des positions substituées pour le triazole et le tétrazole) du groupement amide. Ce sont des cycles chimiquement et métaboliquement stables qui présentent moins d'atomes donneurs de liaisons hydrogènes, ils sont donc à privilégier dans le cas de groupements amides substitués pour ne pas perdre ce type d'interactions. Les cycles oxadiazole et pyrrole peuvent ajouter une composante de base faible sur la molécule, et le groupement pyrrole a été décrit comme augmentant la lipophilie de la molécule par rapport au groupement amide.

Enfin, certains hétérocycles à 6 sommets comme l'indole, la pyrazine ou les pipérazines pour leur version saturée, plus volumineux sont des alternatives donnant une option d'introduction de charges sur la molécule, tout en augmentant la lipophilie de la molécule du fait de leur forte aromaticité.

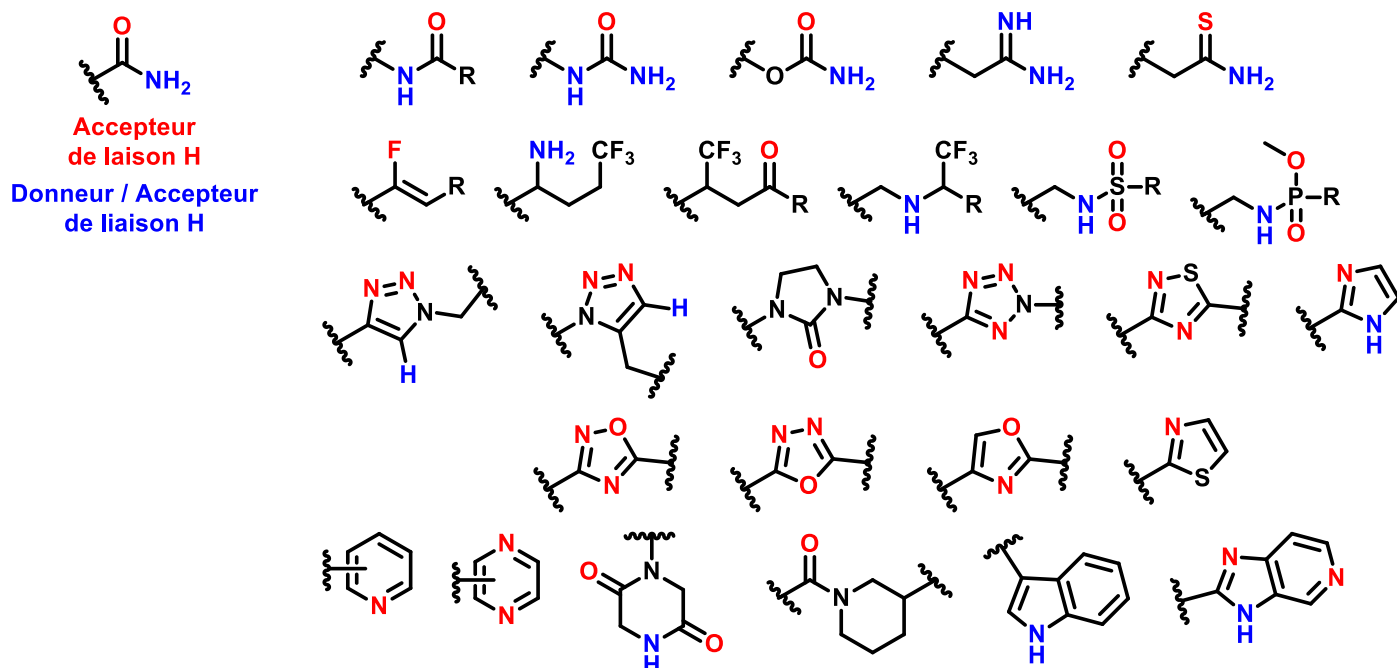


Figure 27 : Bioisostères utilisés pour remplacer les groupements amide et les liaisons peptidiques.

1.2.2.7 Groupements urée et thiourée

Les urées^{251,252} sont des groupements à la fois très stables chimiquement mais également métaboliquement. Du fait de la présence de 3 groupements donneurs et / ou accepteurs de liaisons hydrogènes, elles sont fréquemment utilisées pour améliorer la solubilité aqueuse d'une molécule et sa perméabilité, en plus de pouvoir présenter une forme ionisée (Figure 28).

Il a été montré que les guanidines²⁵³ sont des groupements de choix pour remplacer les urées et thiourées. Substitués par des groupements très polaires comme le nitrile, nitro ou encore sulfonamide, les guanidines offrent un gain de solubilité aqueuse important par rapport aux urées. Sous la forme d'oléfine, ces groupements offrent une grande stabilité métabolique. Plusieurs bioisostères aromatiques comme les pyrroles ou pyridines ont aussi été décrits pour améliorer la perméabilité d'une molécule.

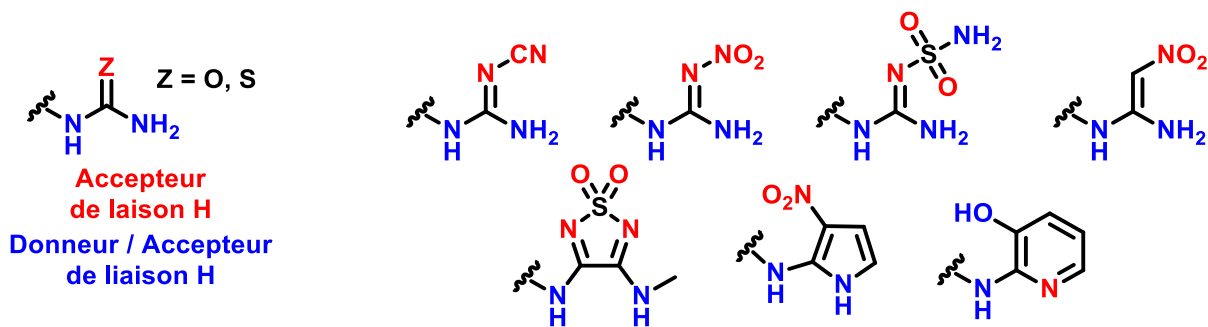


Figure 28 : Bioisostères utilisés pour remplacer les urées et les thiourées.

1.2.2.8 Halogènes

Les groupements halogène ont une place particulière dans le développement de molécules à activité biologique²⁵⁴. En fonction de leur taille, l'introduction d'halogènes comme le fluor permet d'améliorer la polarité d'une molécule alors que les atomes plus volumineux et moins électronégatifs comme le chlore et le brome augmentent significativement la lipophilie d'une molécule.

De plus, certains halogènes sont à l'origine d'une « liaison halogène » (développée dans la partie **II.1.7 Liaison Halogène** page 65) propre à ce type d'atomes, permettant l'introduction de nouvelles interactions entre une molécule et sa cible biologique. En revanche, le fluor mis de côté, ces atomes sont relativement réactifs et leur remplacement par un bioisostère peut permettre l'amélioration de la stabilité d'une molécule en milieu biologique.

Plusieurs bioisostères ont donc été développés dans ce but (**Figure 29**). Il s'agit de groupements relativement peu encombrants et très polaires, comme le sont les halogènes. Les groupements nitrile, amino-dinitrile, ou éthane-1,1,1-tricarbonitrile ont montré leur intérêt dans ce but, de même que les groupements O-CN et S-CN.

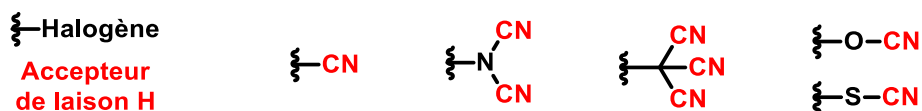


Figure 29 : Bioisostères utilisés pour remplacer les halogènes.

1.2.2.9 Phénols

Les phénols sont des groupements très fréquemment retrouvés dans les molécules à activité biologique²⁵⁵. Cependant, ces cycles sont facilement oxydés en catéchol par les enzymes de détoxification de phase 1. Pour réduire les risques de métabolisation indésirables, plusieurs bioisostères cycliques ont été développés (**Figure 30**).

Tout d'abord, les phényl-sulfonamides permettent de mimer le groupement phénol tout en améliorant son hydrosolubilité grâce aux nombreuses liaisons hydrogène permises par le fragment sulfone. Plusieurs hétérocycles sont également une option pour remplacer les groupements phénols, avec une augmentation de la lipophilie pour les composés bicycliques.

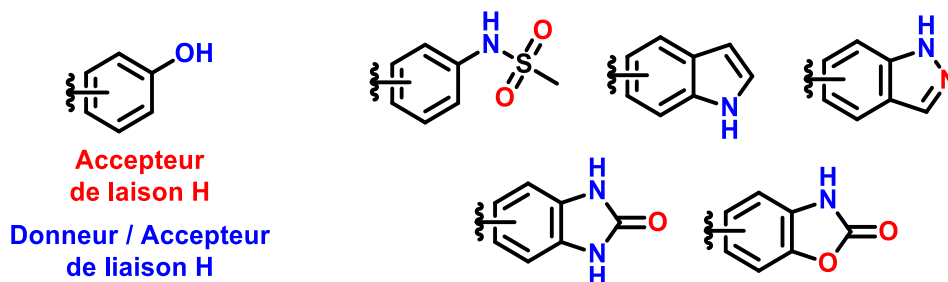


Figure 30 : Bioisostères utilisés pour remplacer les phénols.

1.2.2.10 Catéchol

Les catéchols sont des groupements retrouvés dans un certain nombre de molécules biologiques comme les catécholamines (adrénaline, noradrénaline, dopamine). De ce fait, plusieurs voies métaboliques sont présentes dans l'organisme pour assurer leur dégradation comme les monoamine oxydases (MAO) et les catéchol-O-méthyltransférases (COMT), en plus des enzymes de détoxification de phase 1 et 2. Afin de limiter l'impact de ces différentes voies de métabolisation, et permettre une plus grande rémanence d'une molécule à activité biologique contenant un catéchol, plusieurs bioisostères²⁵⁶ ont vu le jour et sont résumés dans la **Figure 31**.

Ainsi, des dérivés de pyridinones, N-hydroxypyridines, pyranones, benzimidazoles, benzimidazolones et benzoxazolones ont été utilisés comme bioisostère du groupement catéchol.

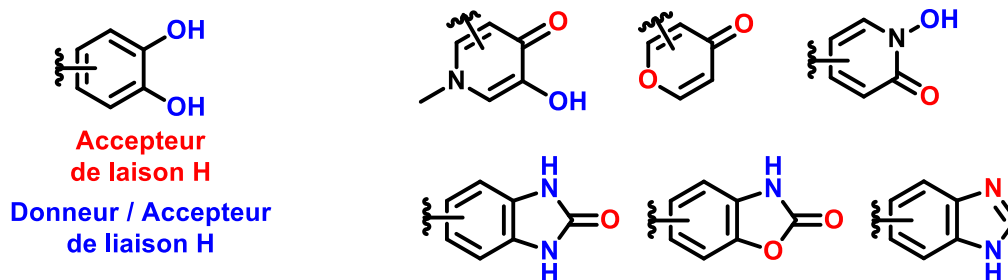


Figure 31 : Bioisostères utilisés pour remplacer les catéchols.

Lors du développement d'une molécule destinée à être employée chez l'Homme, le choix de groupements bioisostères s'inscrit dans un contexte global d'amélioration de ses paramètres pharmacocinétiques.

1.2.3 Autres modifications chimiques

Lors du développement d'une molécule médicament et plus particulièrement d'une molécule « Lead », de nombreuses autres modifications chimiques peuvent être envisagées. Dans ce contexte, l'amélioration des paramètres pharmacocinétiques dits « ADMET » pour « Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination/Excrétion, Toxicité » représente un enjeu particulier, qui est réalisée de manière itérative tout au long des phases pré-clinique et clinique. Bien qu'il existe des formes galéniques²⁵⁷ à même de résoudre certains problèmes pharmacocinétiques, ceux-ci ne seront pas abordés dans ce chapitre, qui se concentrera sur les modifications structurales.

La classification BCS²⁵⁸ (Biopharmaceutics Classification System) permet de classer les médicaments en fonction de leur solubilité aqueuse (**Tableau 5**) et leur perméabilité. Selon la classe dans laquelle se trouve une molécule, cette dernière sera plus ou moins bien absorbée, ce qui donne une première indication sur son efficacité *in vivo*.

Un score BCS I signifiant une forte solubilité (dose la plus élevée du composé actif complètement dissoute dans 250 mL d'eau à 37°C sur une gamme de pH comprise entre 1,2 et 6,8) et une forte perméabilité (si la biodisponibilité absolue $\geq 85\%$ ou si $\geq 85\%$ de la dose administrée est retrouvée inchangée dans les urines), alors qu'un score BCS IV correspond au contraire à une molécule ayant une faible solubilité et une faible perméabilité.

Solubilité Perméabilité	Solubilité aqueuse importante	Solubilité aqueuse faible
Perméabilité importante	BCS I	BCS II
Perméabilité faible	BCS III	BCS IV

Tableau 5 : Classification BCS (Biopharmaceutics Classification System).

Ces modifications chimiques auront essentiellement pour but d'améliorer la biodisponibilité du candidat médicament. Pour ce faire, il est possible d'agir sur plusieurs facteurs déterminants qui sont : la solubilité ; la perméabilité ; la stabilité métabolique aux enzymes de phase 1 (fonctionnalisation) et de phase 2 (conjugaison) et la stabilité de la molécule en phase plasmatique et aqueuse (**Tableau 6**).

Toutefois, la biodisponibilité étant la résultante complexe de nombreux paramètres, la modification d'un seul d'entre eux sera nécessaire mais non suffisante pour atteindre une biodisponibilité acceptable.

Amélioration de la solubilité aqueuse	Amélioration de la perméabilité	Amélioration de la stabilité métabolique (Phase 1)	Amélioration de la stabilité métabolique (Phase 2)	Amélioration de la stabilité plasmatique et chimique
<p>Diminution de la lipophilie</p> <p>Réduction de la masse moléculaire et réduction du nombre de cycles aromatiques</p> <p>Réduction des interactions intramoléculaires</p> <p>Introduction de substituants hors du plan</p> <p>Introduction de contraintes stériques pour réduire la planéité</p>	<p>Augmenter la lipophilie</p> <p>Utilisation de groupements bioisostères plus lipophiles</p> <p>(Estérification des groupements acide carboxylique, formation d'éthers...)</p> <p>Réduire le degré de liberté conformationnel</p>	<p>Blocage des sites métaboliques</p> <p>Fluoruration</p> <p>Cyclisation</p> <p>Désactivation de positions métabolisables</p>	<p>Blocage des sites métaboliques</p> <p>Introduction de groupements électroattracteurs (réduire la réactivité)</p> <p>Augmentation de l'encombrement stérique (réduire l'accès au site de conjugaison)</p>	<p>Augmentation de l'encombrement stérique (bouclier stérique)</p> <p>Utilisation de bloqueurs métaboliques pour ralentir ou bloquer le métabolisme</p> <p>Suppression ou déplacement des groupes sensibles aux biotransformations</p>
<p>Augmentation de la polarité</p> <p>Introduction de groupements et atomes polaires</p> <p>Introduction de groupements ionisables</p> <p>Introduction de groupements chargés</p> <p>Ajout de liaisons hydrogènes</p>	<p>Réduction de la polarité</p> <p>Remplacement de groupements ionisables par des groupements non ionisables</p> <p>Réduction du nombre de liaisons hydrogènes</p> <p>Ajout de groupements non polaires</p>	<p>Suppression ou remplacement des groupements fonctionnels labiles ou instables métaboliquement</p> <p>Réduction de la lipophilie et réduction de l'aromaticité de la molécule</p>	<p>Remplacement bioisostérique par un homologue non métabolisable</p> <p>Remplacement d'un phénol par une urée ou thiourée cyclique</p> <p>Protection ou remplacement des groupements acide carboxylique, alcool, amine, phénol et aniline</p> <p>Utilisation de pro-médicaments</p>	<p>Suppression des groupements facilement hydrolysables</p> <p>Suppression ou modification des groupes instables chimiquement</p> <p>Modifications stéréo-électroniques : Encombrement stérique et stabilisation électronique</p>

Tableau 6 : Stratégies d'amélioration de la biodisponibilité par modification chimique courantes.

1.2.3.1 Amélioration de la solubilité aqueuse

La solubilité aqueuse des candidats médicaments est un problème récurrent pour lequel de nombreuses stratégies peuvent aujourd'hui être employées pour y remédier.

En se basant sur la méthode de calcul du LogP, le coefficient de partage entre l'octanol et l'eau calculé par le rapport entre la concentration de la molécule en phase octanol (numérateur) et la concentration dans l'eau (dénominateur), deux méthodes globales sont envisageables pour améliorer la solubilité aqueuse : la première consiste à diminuer la lipophilie de la molécule, afin de diminuer le numérateur tandis que la seconde consiste à augmenter la polarité de la molécule (augmentation du dénominateur et diminution du numérateur).

Bien que la multiplication des actions pour améliorer la solubilité aqueuse puisse être envisageable, il faut toutefois éviter de trop affecter la perméabilité d'une molécule. En effet, une molécule trop polaire aura plus tendance à rester dans la circulation générale, principalement sous forme liée aux protéines plasmiques²⁵⁹ comme l'albumine. De plus une trop forte polarité, par la présence de nombreuses charges notamment, sera un frein à la diffusion membranaire par impossibilité de traverser la bicouche lipidique.

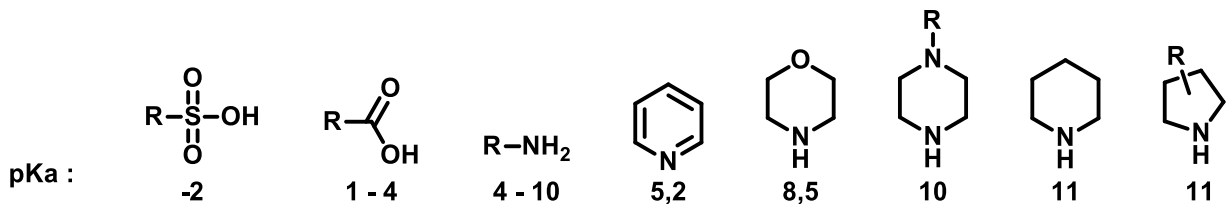


Schéma 28 : Exemples de groupements ionisables utilisés afin d'augmenter la solubilité aqueuse d'une molécule.

L'introduction de groupements ionisés tels que des sulfonates, phosphates ou des ammoniums quaternaires est également un moyen efficace d'améliorer la solubilité aqueuse d'une molécule. L'ajout d'une charge permet d'améliorer la solubilité d'une molécule grâce à la sphère de solvatation étendue que possèdent ce type de groupements.

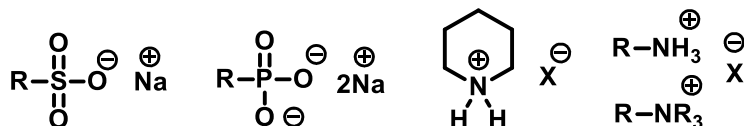
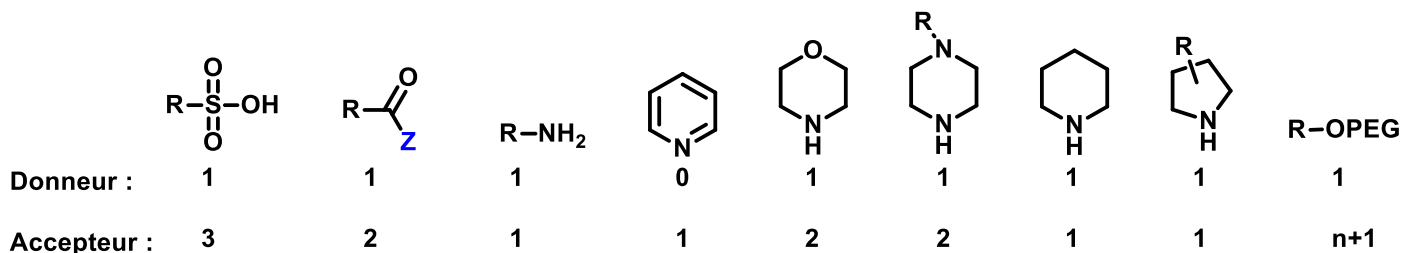


Schéma 29 : Exemples de groupements chargés utilisés afin d'augmenter la solubilité aqueuse d'une molécule.

Enfin, l'ajout de groupements à même de réaliser des liaisons hydrogènes permet d'améliorer la solubilité d'une molécule en réalisant un plus grand nombre de liaisons avec les molécules d'eau du milieu environnant. Dans ce but, il est possible d'utiliser des acides sulfoniques, esters, amides, amines ou encore des hétérocycles azotés. Les dérivés de PEG (PolyEthylène Glycol) sont des polymères oxygénés fréquemment utilisés pour améliorer la solubilité aqueuse d'une molécule. De par leur caractère de polymère, ils offrent un très grand nombre d'atomes accepteurs de liaisons de liaisons hydrogène.



Z = OH, NH₂

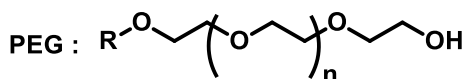


Schéma 30 : Exemples de groupements capables de réaliser des liaisons hydrogènes utilisés afin d'augmenter la solubilité aqueuse d'une molécule.

1.2.3.2 Amélioration de la perméabilité

L'augmentation de la perméabilité peut être envisagée dans le cas où une molécule traverse difficilement les barrières biologiques.

Dans cette optique, plusieurs méthodes générales peuvent être appliquées. Tout d'abord, il est possible d'améliorer la lipophilie d'une molécule en incorporant des groupements bioisostères plus lipophiles ou en réduisant le degré de liberté des groupements fonctionnels. L'amélioration de la lipophilie peut également s'effectuer en réduisant la polarité d'une molécule. Cela peut s'envisager en remplaçant des groupements ionisables par des groupements qui ne le sont pas, en diminuant le nombre de liaisons hydrogènes possibles ou en ajoutant des groupements non polaires sur la molécule.

1.2.3.2.1 Augmentation de la lipophilie

La connaissance des différents bioisostères compatibles pour les différents groupements chimiques permet d'augmenter la lipophilie d'une molécule tout en gardant ses propriétés biologiques. Plusieurs exemples sont présentés en **Schéma 31**, parmi lesquels l'estérification d'un groupement acide carboxylique par un groupement alkyle, qui permet de supprimer un groupement donneur de liaisons hydrogène tout en rajoutant une chaîne non polaire. La même stratégie peut être appliquée pour les amides. La formation d'éthers cycliques permet également une augmentation de la lipophilie d'une molécule en réduisant le nombre de groupements donneurs de liaisons hydrogène tout en rajoutant une chaîne alkyle non polaire. Enfin, le remplacement des groupements ester, acide carboxylique ou amide par un hétérocycle à 5 ou 6 sommets équivalent permet d'augmenter la lipophilie de la molécule du fait du caractère aromatique du cycle incorporé.

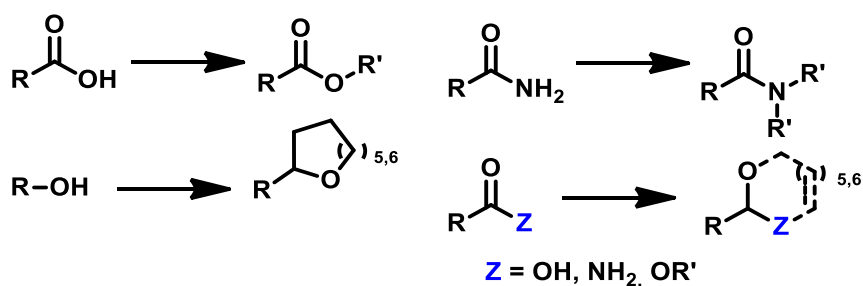


Schéma 31 : Augmentation de la lipophilie par l'emploi de bioisostères.

L'autre manière courante d'augmenter la lipophilie d'une molécule consiste à réduire le nombre de degré de liberté conformationnel au sein de la molécule^{264,265}. Cela consiste à réduire le nombre de carbones sp^3 et augmenter le nombre de carbones sp^2 et carbones sp . Dans la pratique, cela consiste à rajouter dans les chaînes hydrocarbonées des groupements alcènes ou des groupements alcynes ou à remplacer les groupements alcènes par des groupements alcynes.

Une autre manière de réduire le degré de liberté au sein de la molécule est basée sur la formation de cycle²⁶⁶. Ceci est envisageable à partir de chaînes hydrocarbonées ou de groupements tels que les cétones, esters ou amides. Enfin, l'introduction de groupements volumineux comme un *tert*-butyle ou un isopropyle entre deux cycles ou entre deux fragments d'une même molécule permet d'ajouter une gêne stérique qui a pour effet de réduire la liberté conformationnelle de la molécule et d'augmenter la lipophilie.

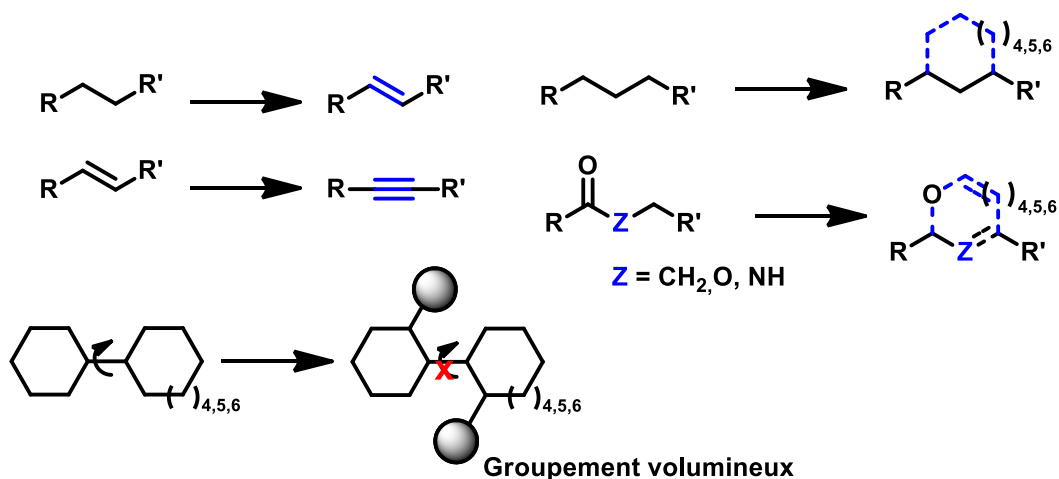


Schéma 32 : Réduction du degré de liberté conformationnel.

1.2.3.2.2 Réduction de la polarité

La réduction de la polarité est une autre stratégie générale d'augmentation de la perméabilité d'une molécule. Le remplacement de groupements ionisables par des groupements non ionisables permet d'œuvrer dans ce sens. Cela est envisageable de différentes manières dont plusieurs exemples sont représentés en **Schéma 33**, comme l'estérification d'acides carboxyliques et de sulfones, le remplacement d'acides carboxyliques ou d'amines par des groupements alcool ou amine, ou encore par la formation d'éthers ou l'alkylation d'amides.

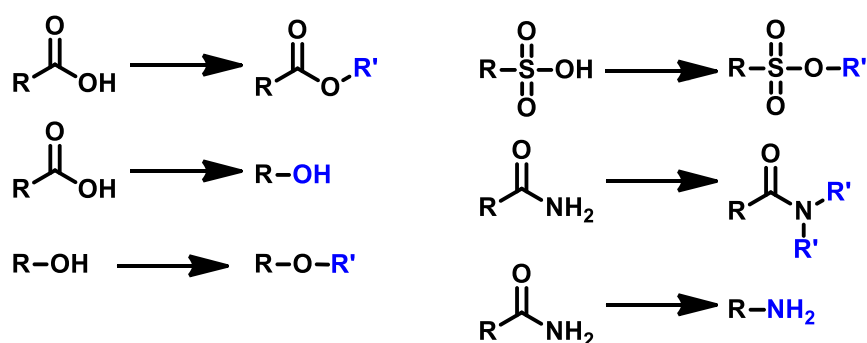


Schéma 33 : Remplacement de groupements ionisables par des groupements non ionisables.

La réduction du nombre de groupements accepteurs et donneurs de liaisons hydrogène permet également d'améliorer la perméabilité d'une molécule (**Schéma 34**). Ceci peut être simplement réalisé en alkylant les groupements amines aliphatiques et cycliques, alcool, sulfones, acides carboxyliques et amides.

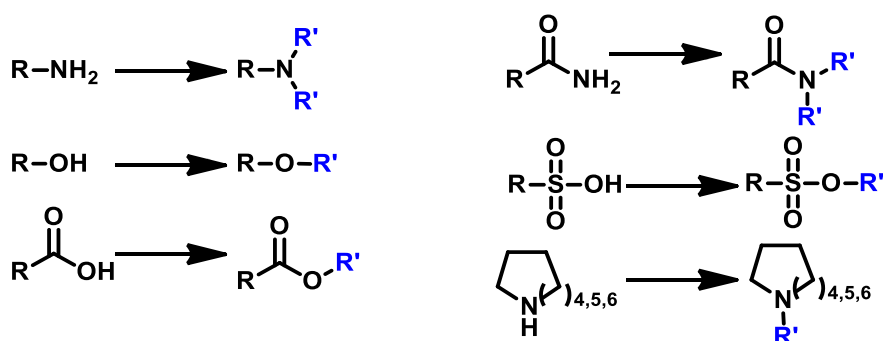


Schéma 34 : Réduction du nombre de liaisons hydrogène.

Enfin, il est possible de réduire la polarité d'une molécule en y incorporant des groupements non polaires supplémentaires (**Schéma 35**). Ainsi, les différents halogènes peuvent être ajoutés sur une molécule à cette fin, chlore et brome principalement, de même que l'ajout d'une chaîne alkyle ou encore un cycle (hétéro)aromatique.

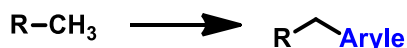
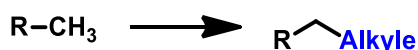


Schéma 35 : Ajout de groupements non polaires.

I.2.3.3 Amélioration de la stabilité métabolique phase 1 et 2

Dès leur administration, les molécules à activité biologique peuvent subir un grand nombre de réactions enzymatiques^{267,268}. Les réactions enzymatiques de phase 1 (fonctionnalisation) ont pour but d'améliorer la solubilité aqueuse de leur substrat²⁶⁹. Pour cela, les enzymes vont rajouter des groupements fonctionnels polaires grâce à des réactions d'oxydation ou de réduction voire par transfert de groupements fonctionnels. A la suite de ces réactions de fonctionnalisations peuvent suivre des réactions de conjugaison (phase 2) visant également à augmenter la solubilité aqueuse, pour faciliter l'élimination des composés²⁷⁰.

Les réactions d'oxydation de phase 1 tout d'abord, concernent une grande variété de groupements. Elles sont résumées dans le **Tableau 7** et concernent autant les hydrocarbures saturés ou insaturés, aromatiques ou non que les hétéroatomes.

Groupement fonctionnel	Produit
Alcane	Alcool
Benzyle	Alcool benzylique
Alcène	Epoxyde
	Alcène α -hydroxylé
Thiol	Sulfoxyde, sulfone
Carbonyle	Carbonyle α -hydroxylé
	Acide carboxylique
Amine, alcool, halogène	Amine, alcool, halogène α -hydroxylé
	Dérivé carbonylé
Amine, thiol	Amine, thiol N- ou S - oxyde
Amine	Carbonyle
Phényle	Phénol
Phénol	Catéchol

Tableau 7 : Réactions d'oxydation enzymatiques réalisées par les enzymes de phase 1.

De la même manière, les réactions de phase 1 de réduction permettent d'accéder à des groupements fonctionnels pouvant faire l'objet de conjugaison (métabolisation de phase 2). Les groupements réductibles sont moins nombreux que les groupements oxydables par les enzymes mais restent divers. Ainsi, les groupements carbonylés, et époxyde peuvent être réduits en groupements alcool ; les groupements acétals en dérivé carbonylé ; les imines en amine ; esters et amides en acide carboxylique ou encore les groupements nitro en amine N-oxyde.

Groupement fonctionnel	Produit
Carbonyle	Alcool
Epoxyde	Alcool
Acétal	Carbonyle
Imine	Amine
Ester, amide	Acide carboxylique
Nitro	Amine N-oxyde

Tableau 8 : Réactions de réduction enzymatique réalisées par les enzymes de phase 1.

Les réactions de conjugaison (métabolisation de phase 2) concernent une grande diversité de substrats. Elles peuvent survenir directement sur le composé ou sur ses métabolites obtenus l'action des enzymes de phase 1.

Groupement fonctionnel	Produit conjugué
Alcool, Acide carboxylique, Amine, Thiol	Glucuronide
Alcool, Amine	Sulfate
Acide carboxylique	Glycine, Glutamine
Alcool, Amine	Acétyle
Halogène, Epoxyde, Carbocation, Aryl-oxyde	Glutathion
Alcool, Amine, Thiol, Hétérocycle azoté	Méthyle

Tableau 9 : Réactions de conjugaison enzymatiques réalisées par les enzymes de phase 2.

Les réactions de métabolisation de phase 1 et 2 ayant pour but la détoxification de l'organisme, les molécules médicaments, par nature exogènes, vont être la cible de ces réactions enzymatiques. Afin d'améliorer l'efficacité d'une molécule médicament, réduire sa métabolisation peut être une voie privilégiée. Dans ce but, le blocage des sites métaboliques est la manière la plus fréquemment utilisée pour rendre les molécules moins sensibles aux réactions de métabolisation.

1.2.3.3.1 Blocage des sites métaboliques

L'utilisation des atomes de fluor en tant que bioisostères des atomes d'hydrogènes est une manière fréquemment employée pour bloquer un site métabolique²⁷¹. En raison de la force de la liaison C-F, ce bioisostère permet de bloquer efficacement des sites de fonctionnalisation et ainsi réduire l'impact des enzymes (**Schéma 36**).

L'emploi de ces bioisostères peut être envisagé pour empêcher la métabolisation de certaines positions notamment sur les cycles phényles ou benzyles ou sur les chaînes hydrocarbonées en α des positions carbonylées, alcool, amine thiol ou encore halogène.

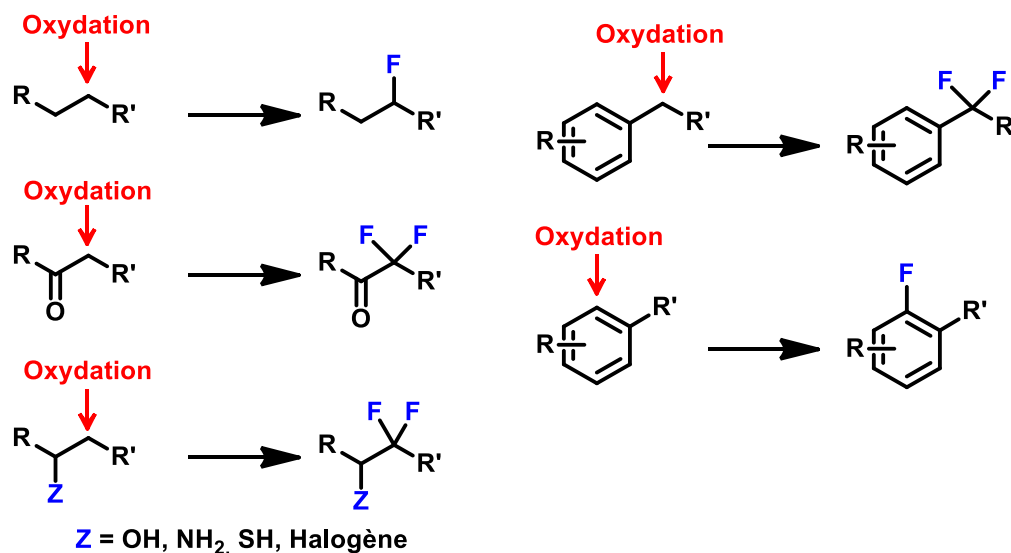


Schéma 36 : Fluoration des sites métaboliques.

Le blocage des sites métaboliques peut aussi se faire par la cyclisation de la molécule à partir des points métaboliquement instables^{271,272} (**Schéma 37**). La cyclisation permet d'introduire des contraintes stériques à même de gêner l'action des enzymes sur ces positions ce qui se traduit par un ralentissement de la métabolisation ou son arrêt. Cela peut être appliqué pour les chaînes hydrocarbonées saturées et insaturées, les dérivés carbonylés, ou encore sur les amines, esters et amides pour former les dérivés cycliques correspondants.

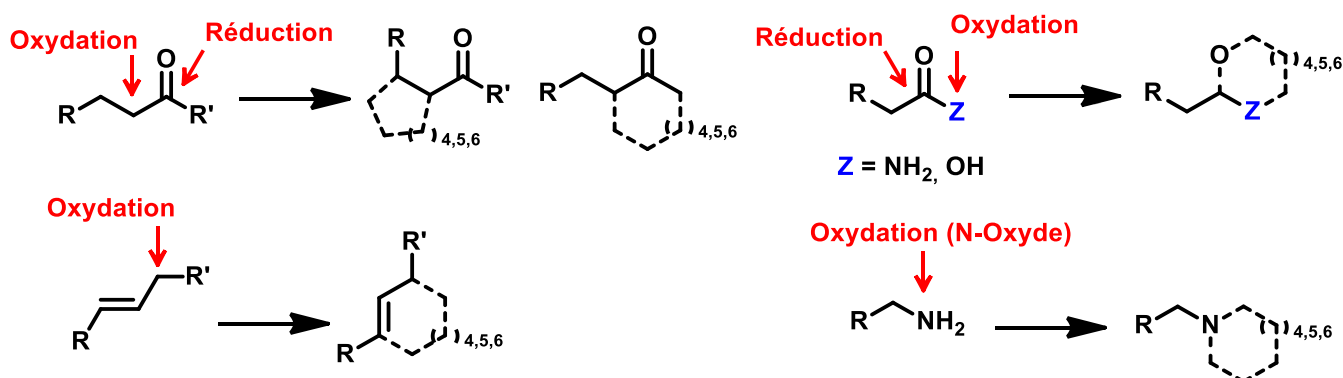


Schéma 37 : Cyclisation pour le masquage de sites métaboliques.

Enfin, en cas d'échec des stratégies précédentes ou si les groupements sont essentiels à la reconnaissance de leur cible biologique, la désactivation des positions métabolisables peut être envisagée (**Schéma 38**). De manière générale, ceci peut être effectué en rendant moins réactif donc moins nucléophile les groupements fonctionnels ciblés par les enzymes de métabolisation de phase 1 et 2.

Pour ce faire, il est commun d'introduire des groupements électroattracteurs (EWG, Electron Withdrawing Group) tels que des groupements nitro, des halogènes, des dérivés carbonylés, des groupements nitrile, etc.

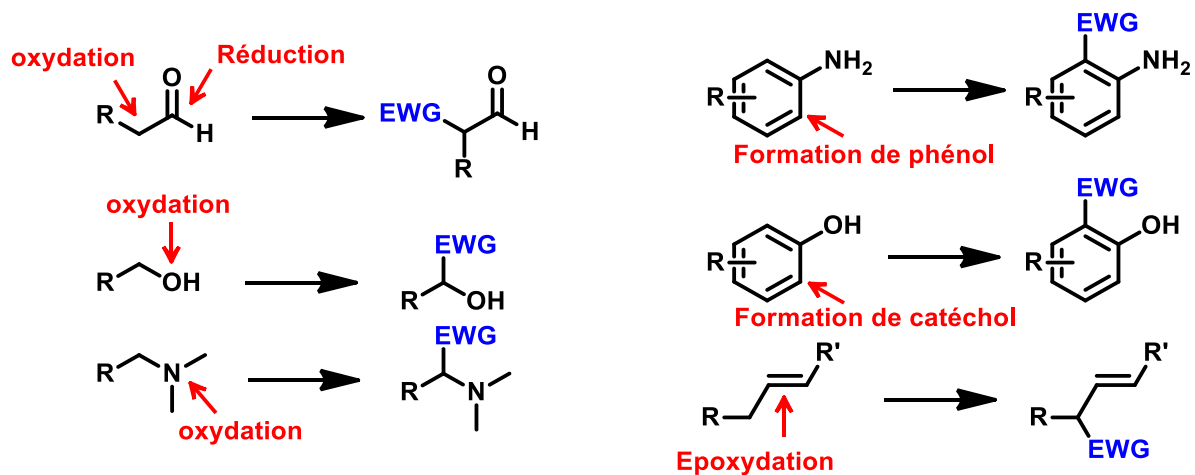


Schéma 38 : Désactivation des positions métabolisables.

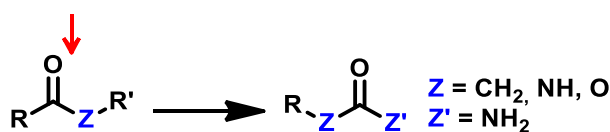
1.2.3.3.2. Autres stratégies d'amélioration de la stabilité métabolique

Enfin, le remplacement des groupements métaboliquement instables peut également être une solution pour améliorer la stabilité métabolique d'une molécule (**Schéma 39**).

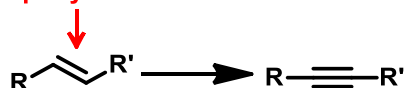
Les groupements esters facilement hydrolysables ainsi que les amides peuvent être remplacés par des groupements plus stables métaboliquement, tels que les urées ou des dérivés carbonylés par exemple. De la même manière, les oléfines, pouvant être transformées en époxydes par les enzymes de phase 1 peuvent être remplacées par des alcynes, beaucoup plus stables.

Enfin, des groupements comme les acétals cycliques, hydrolysables en cétones peuvent être remplacés par des diamines.

Hydrolyse des esters et amides



Epoxydation



Hydrolyse des acétals

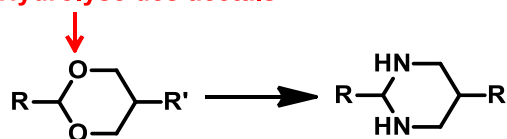


Schéma 39 : Remplacement de groupements fonctionnels instables métaboliquement.

Le blocage des sites métaboliques par l'introduction d'une gêne stérique a montré à de nombreuses occasions son efficacité. Cette approche ci est basée sur l'introduction d'un groupement suffisamment volumineux pour empêcher l'action d'une enzyme sur un site proche en raison de l'encombrement occasionné. Plusieurs exemples sont représentés sur le **Schéma 40**. Ces groupements sont de nombreuses natures et peuvent être de simples chaînes alkyles comme des groupements *tert*-butyle, isopropyle ou méthyle²⁷³ ; des groupements phényles substitués ou non²⁷⁴ ou des hétérocycles²⁷⁵ plus ou moins complexes comme des pipéridines, des pyrroles ou encore des hétérocycles spiraniques.

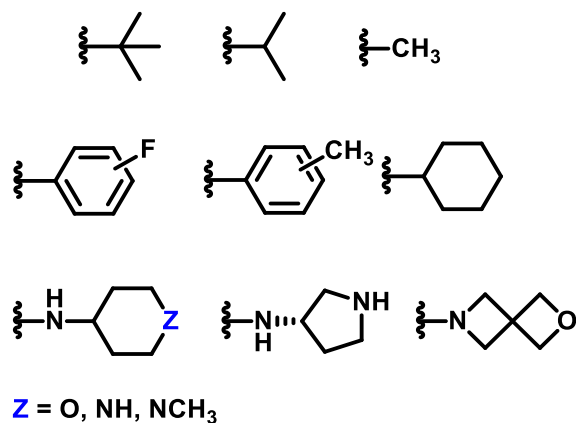


Schéma 40 : Blocage des sites métabolique par introduction d'un bouclier stérique.

Les réactions chimiques et modifications chimiques abordées tout au long de ce chapitre sont à la base du développement des molécules d'intérêt biologique. Toutefois, leur connaissance seule n'est pas suffisante pour aboutir à de nouveaux composés actifs.

Au fil des ans et des études, de nombreuses règles empiriques et recommandations sont venues compléter cette connaissance afin de guider et d'aider au mieux le chimiste. Ces règles qui concernent à la fois les modes d'interactions avec leur cible biologique, leur propriétés physicochimiques ou encore leurs méthodes d'obtention font maintenant partie des outils indispensables, lorsque le rôle du chimiste médicinal est abordé dans la recherche de nouveaux candidats médicaments.

II. Conception rationnelle de molécules d'intérêt biologique

La conception de molécules d'intérêt biologique s'appuie aujourd'hui sur un certain nombre de règles empiriques et recommandations, définissant les contours de ce que serait « un bon candidat médicament ». Ces règles concernent à la fois les différents modes d'interaction possibles des molécules avec leur cible biologique en fonction des groupements chimiques en présence, les paramètres physico-chimiques optimaux d'une molécule médicament en fonction de sa cible biologique ou encore les méthodes de découverte de nouveaux candidats médicaments.

Certaines propriétés peuvent néanmoins être mises à profit pour rationaliser la conception de molécules d'intérêt biologique et seront présentées dans la première partie de ce chapitre. La seconde partie de ce chapitre s'intéressera au cas particulier des outils d'imagerie en abordant les différentes méthodologies d'imagerie disponibles ainsi que leurs particularités.

II.1 Les interactions Ligand-Cible

La connaissance des modes d'interactions entre un ligand et sa cible biologique permet de concevoir et améliorer de façon rationnelle de nouvelles molécules.

Il existe de nombreux types d'interactions moléculaires entre un ligand et sa cible, ce qui donne une très grande liberté au chimiste pour faire évoluer une molécule.

Les principales forces de liaison sont :

- Les liaisons électrostatiques,
- Les interactions Dipôle-Dipôle et Ion-Dipôle,
- Les liaisons de Van der Waals,
- Les interactions aromatiques π - π ,
- Les liaisons hydrogènes,
- La contribution des molécules d'eau dans les sites de liaison,
- Les liaisons halogènes,
- Les liaisons covalentes.

À chacune de ces interactions correspond une courbe d'énergie potentielle spécifique, avec une distance d'équilibre r_{eq} et énergie d'interaction proportionnelle à $1/r^n$ (n allant de 2 à 7) dont l'intensité et la distance à laquelle s'appliquent chacune de ces forces sont différentes. Modifier une molécule pour faire prévaloir l'une ou l'autre de ces interactions est donc nécessaire pour obtenir un ligand avec une spécificité particulière tout en s'adaptant aux contraintes de la cible.

II.1.1 Interactions électrostatiques

La liaison électrostatique, ou liaison ionique est l'interaction non covalente la plus forte (ΔG de -20 kJ.mol^{-1} à -40 kJ.mol^{-1}). Elle s'établit entre deux dipôles permanents de charge opposée (**Figure 32**).

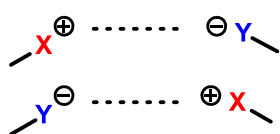
L'énergie de cette interaction est représentée par la Loi de Coulomb dans le vide.

La Loi de Coulomb a une dépendance en $1/r^2$, ce qui correspond à une force qui porte à longue distance. Cette interaction est dépendante de la polarité du milieu. Dans un milieu hydrophobe, l'interaction cible-ligand sera favorisée, alors qu'en milieu polaire les interactions avec le solvant défavoriseront l'établissement de liaisons électrostatiques.

Comme il s'agit d'une interaction de très haute énergie et agissant à relativement grande distance, elle est considérée comme une force d'interaction importante pour guider une molécule jusqu'à son site de liaison²⁷⁶.

Les groupements chimiques à même de réaliser ce type d'interactions sont limités aux seuls chargés à pH physiologique. Il s'agit principalement des amines, des acides carboxyliques ou des groupements phosphate et sulfonate.

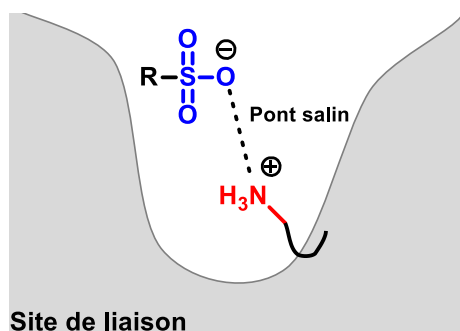
Interaction ion-ion



X atome ou groupement chargé **Positivement**

Y atome ou groupement chargé **Négativement**

Interaction anion-cation ($1/r^2$)



Interaction cation-anion ($1/r^2$)

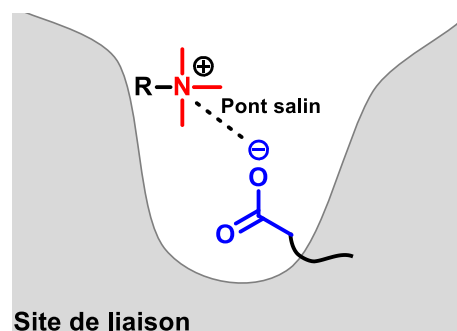


Figure 32 : Liaison ligand-protéine par interaction électrostatique.

II.1.2 Interactions dipolaires

L'essentiel des molécules à activité biologique comportent au moins un atome fortement électronégatif dans leur structure. La différence d'électronégativité entre deux atomes va créer un dipôle qui pourra alors former une interaction dipolaire avec un partenaire.

II.1.2.1 Interaction ion-dipôle

Un dipôle présent dans la structure d'une molécule peut également permettre son interaction avec un ion (**Figure 33**). Cette interaction conduira à une orientation préférentielle du dipôle vis-à-vis des anions ou des cations.

Il est important de noter que pour les molécules chargées, c'est ce type d'interaction qui va être à l'origine de la solvataion par des molécules d'eau, ou d'autres solvants polaires.

Tout comme l'interaction électrostatique, il s'agit d'une interaction en $1/r^2$, ce qui signifie qu'elle peut avoir lieu à grande distance.

Interaction ion-dipôle :

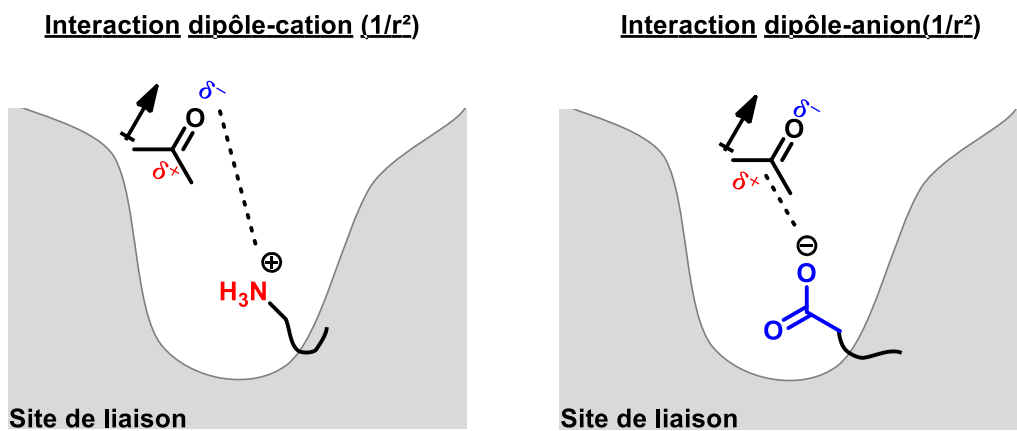
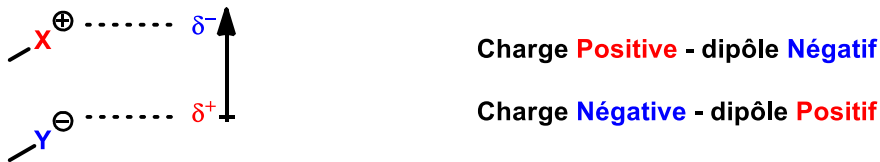
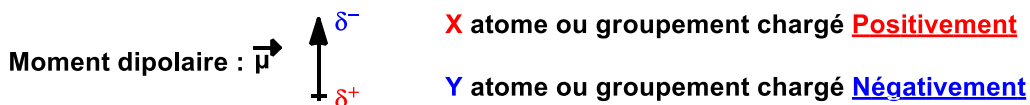


Figure 33 : Liaison ligand-protéine par interaction ion-dipôle.

II.1.3 Interactions de Van der Waals

Les interactions de Van der Waals²⁷⁷ sont liées aux variations dans le nuage électronique des atomes. De manière schématique, un atome est constitué d'un noyau chargé positivement et un nuage électronique chargé négativement. Lorsque deux atomes se rapprochent, le changement de distribution dans le nuage électronique va créer temporairement des dipôles qui vont générer une force attractive entre les atomes. Etant liée aux atomes et non aux groupements, ces perturbations sont retrouvées quelles que soient les molécules impliquées.

Les forces de Van der Waals²⁷⁸ regroupent trois types d'interactions :

- Les forces de Keesom : de l'interaction entre deux dipôles permanents.
- Les forces de Debye : de l'interaction entre un dipôle permanent et un dipôle induit
- Les forces de London²⁷⁹ : issues de l'interaction entre un dipôle instantané et un dipôle induit

L'intensité des interactions de Van der Waals fait partie des plus faibles prises individuellement et elles se font à très courte distance en décroissant rapidement (forces allant de $1/r^3$ à $1/r^7$). Cependant, ce type d'interactions se faisant facilement, son intensité globale est reliée au nombre de forces de Van der Waals mises en jeu, et peut amener à une très forte interaction entre les deux partenaires.

Comme ce type d'interaction est très générique, et extrêmement commune, il est difficile de penser une molécule interagissant avec sa cible biologique uniquement par ce biais.

II.1.3.1 Interaction dipôle-dipôle : Forces de Keesom

L'interaction dipôle-dipôle²⁸⁰ résulte de l'alignement de deux dipôles de sens opposé (**Figure 34**). Cette interaction peut aider à orienter spatialement une molécule lors de l'entrée au niveau de son site de liaison. L'interaction dipôle-dipôle est proportionnelle à $1/r^3$. Elle agit véritablement à faible distance et décroît plus rapidement que les interactions électrostatiques.

De très nombreux groupements chimiques permettent la formation d'un dipôle. Ce sont les groupements comportant des atomes électronégatifs comme l'oxygène, l'azote, le soufre, les halogènes liés à des atomes moins électronégatifs comme le carbone.

Interaction dipôle-dipôle :

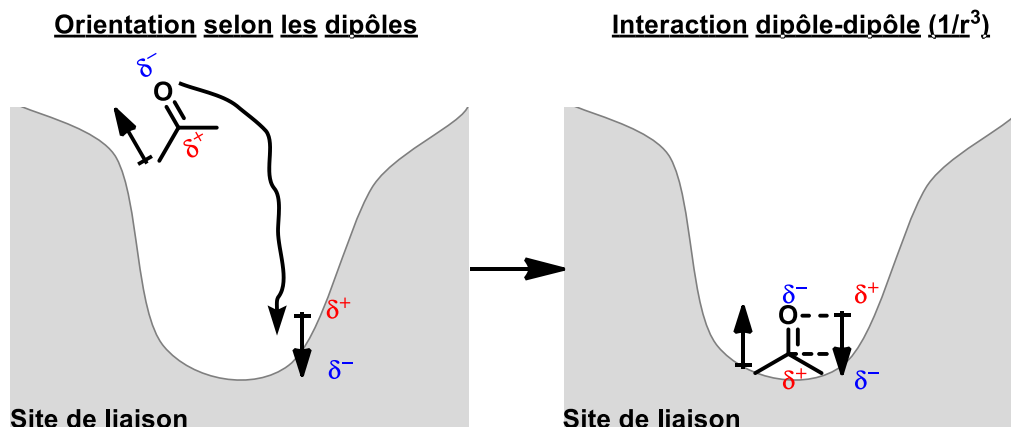
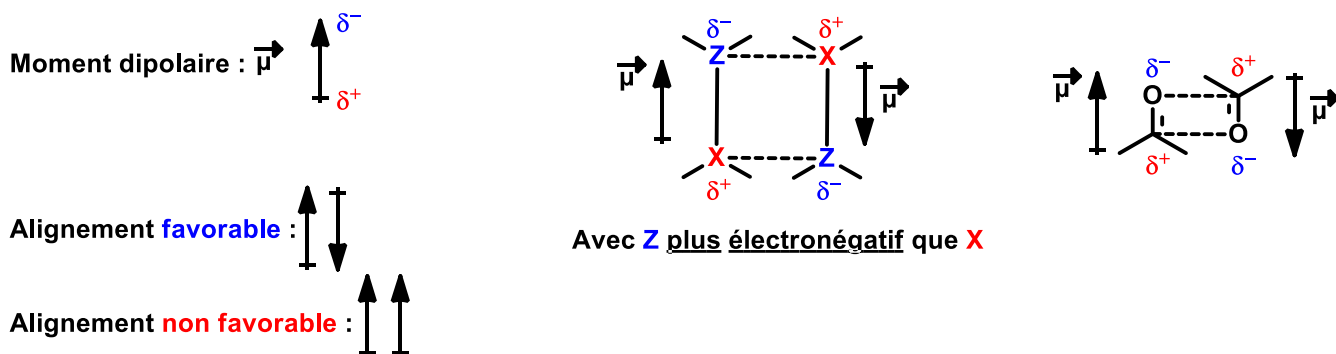


Figure 34 : Liaison Ligand-protéine par interaction dipôle-dipôle.

II.1.3.2 Interaction ion-dipôle induit : Forces de Debye

Lorsqu'une molécule chargée s'approche du nuage électronique d'une molécule dite polarisable, ce dernier va se déformer, conduisant à la formation de « moments dipolaires induits » (**Figure 35**). Ce moment dipolaire peut alors interagir avec un ion ou un autre dipôle.

Il s'agit d'une interaction à très courte distance ($1/r^6$), qui peut se manifester en présence d'une molécule chargée positivement et un groupement riche en électrons comme un cycle aromatique par exemple, c'est ce qu'on appelle une interaction Cation- π ²⁸¹⁻²⁸³.

De la même manière, une interaction entre un anion et un cycle aromatique appauvri en électrons peut également avoir lieu, appelée interaction Anion- π ²⁸⁴.

Ce type d'interactions apparaît dans les sites de fixation protéiques ou en milieu solide. Il a été mis en évidence que dans le cadre d'une transformation enzymatique^{285,286}, ce type d'interaction pouvait être impliqué dans la liaison entre le site actif et le substrat. Ces interactions pourront faire intervenir des résidus aromatiques exposés tels que les tyrosines ou les tryptophanes, ou les chaînes latérales des résidus chargés.

Interaction ion-dipôle induit

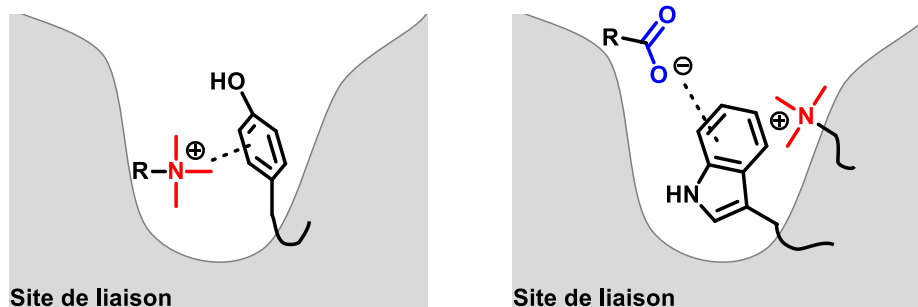
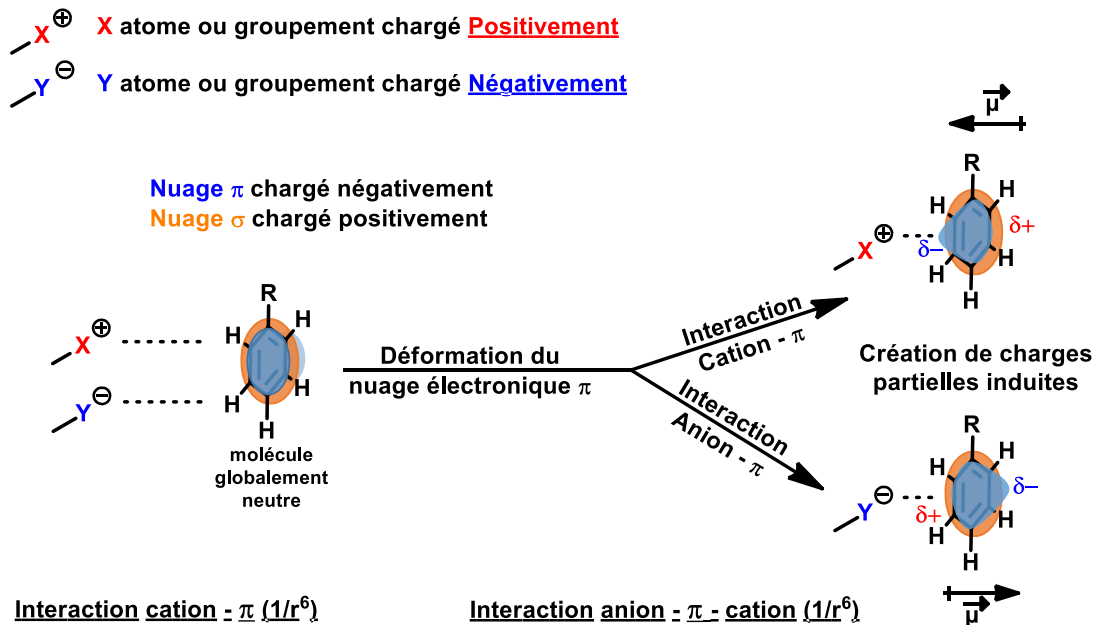


Figure 35 : Liaison Ligand-Protéine par interaction Ion-Dipôle induit.

II.1.3.3 Interaction dipôle instantané – dipôle induit : Forces de London

Ce type d'interaction particulier provient des mouvements du cortège électronique d'un atome ou d'une molécule. Ces mouvements vont créer de petites perturbations dans la répartition d'électrons et créer des « dipôles instantanés », que la molécule soit polaire ou pas (**Figure 36**).

Lorsque le dipôle instantané est suffisamment proche d'une molécule polarisable, il va pouvoir créer à son tour un dipôle induit sur cette molécule. L'interaction de ce dipôle induit et le dipôle instantané est appelé forces de London. Il s'agit d'une force d'interaction en $1/r^6$ ou 7 .

Interaction de Van der Waals

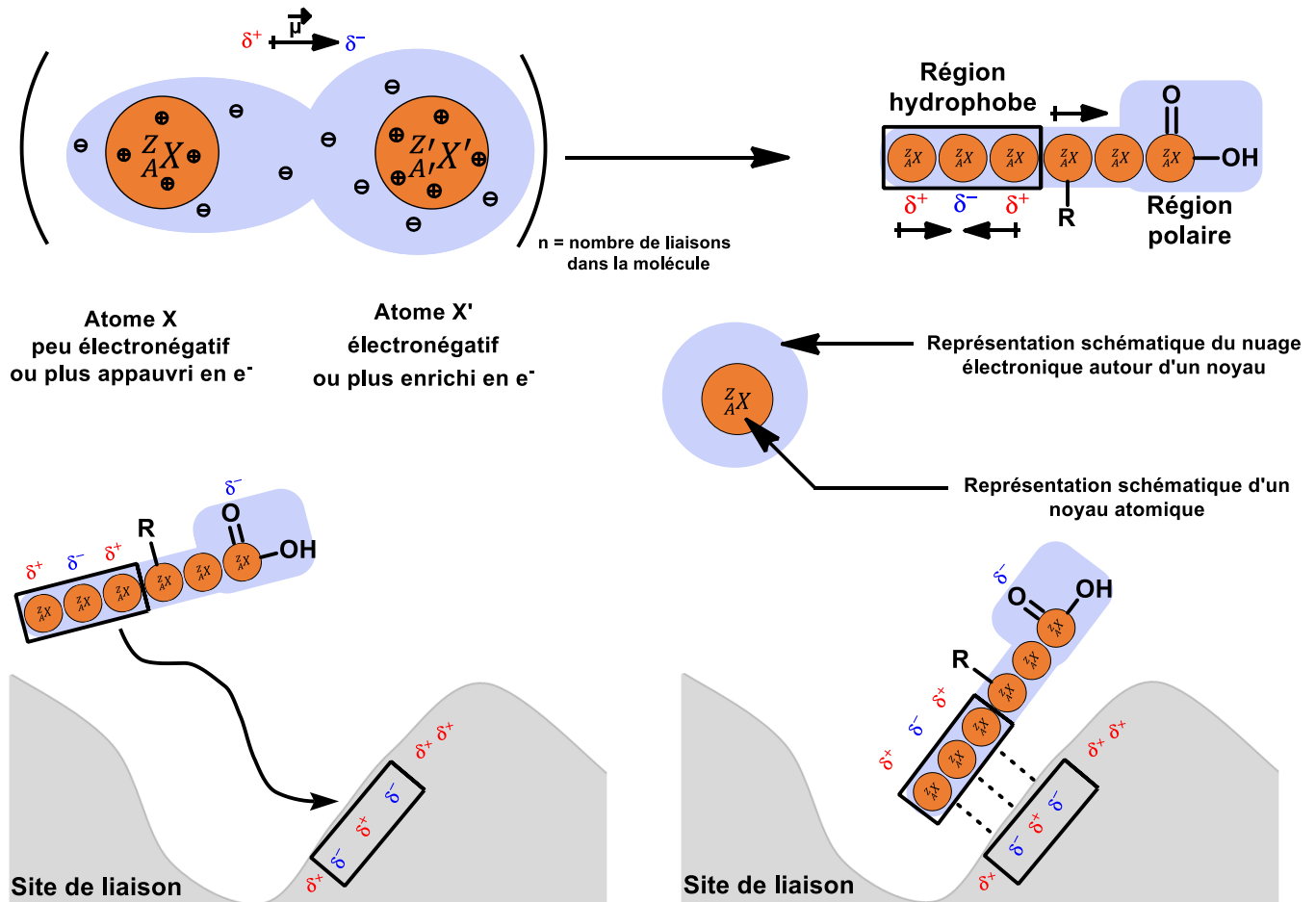


Figure 36 : Interaction dipôle instantané – dipôle induit : Forces de London.

II.1.4 Le « π stacking » ou empilement π

Le π stacking²⁸⁷⁻²⁹⁰ est un mode d'interaction entre deux molécules qui possèdent des orbitales π .

De la même manière que pour une interaction avec un dipôle induit, le rapprochement des nuages électroniques des orbitales va créer une déformation des nuages des deux molécules participantes. Cette modification va créer²⁹¹ un dipôle transitoire qui va rapprocher les noyaux chargés positivement du nuage électronique des deux partenaires, créant de cette manière l'interaction π .

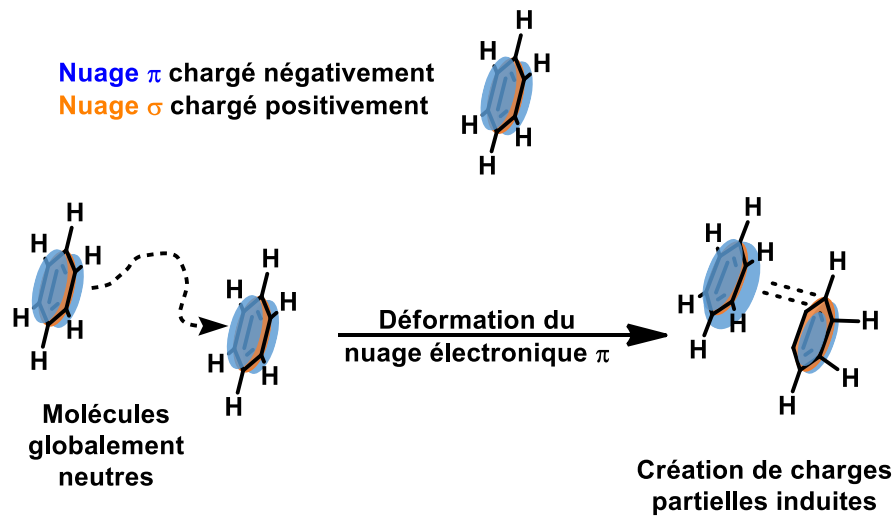
Cette interaction peut se faire de quatre façons différentes : côté-face (en T), face-face (parallèle), face-face (parallèle déplacé) et en chevron (oblique, **Figure 37**).

Il est à noter que ces différents modes d'interactions ne sont pas tous énergétiquement favorisés, ce qui fait que les interactions côté-face (en T) et face-face (parallèle déplacé) seront les plus retrouvées²⁹². En effet, pour deux cycles aromatiques électroniquement équivalents, l'interaction face-face (parallèle) et en chevron sont défavorisées du fait de la répulsion électronique entre les cycles aromatiques.

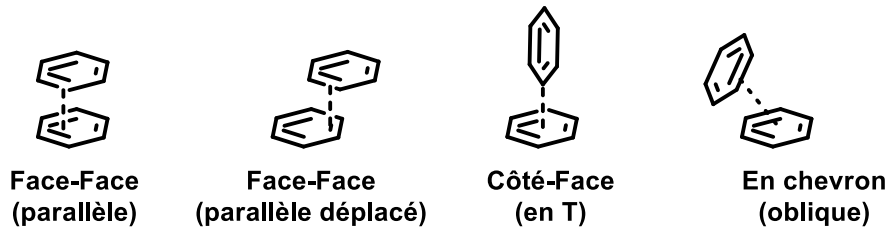
Les interactions π sont importantes lorsque l'on souhaite développer des molécules pour une application biologique puisque certains acides aminés sont capables de réaliser ce type d'interaction. C'est le cas de la phénylalanine (groupement phényle), la tyrosine (groupement phénol), le tryptophane (groupement indole) et l'histidine (groupement imidazole).

Pour le benzène, qui a servi de modèle pour l'étude de ce type d'interactions par DFT²⁹³, l'interaction en T a montré une distance minimale de 4.96 Å entre les deux participants, reliés par une énergie de 8 à 12 kJ.mol⁻¹.

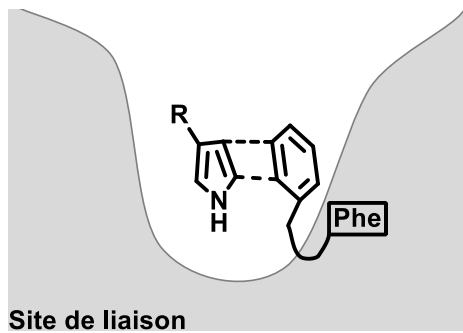
Le π Stacking ou empilement π



Modes d'interactions π possibles



Interaction π - π Pyrole - AA



Interaction π - π Pyrimidine - AA

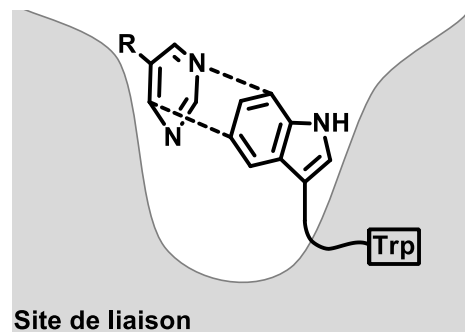


Figure 37 : Liaison Ligand-Protéine par empilement π ou π -stacking (AA : Acide Aminé).

II.1.5 Liaisons hydrogènes

Les liaisons hydrogènes²⁹⁴ représentent une grande partie des interactions entre les ligands et les (macro)molécules biologiques. La faible énergie de liaison, de 16 à 60 kJ.mol⁻¹, est compensée par le nombre de celles-ci.

Une liaison hydrogène se forme lorsque les orbitales contenant un doublet non liant et l'orbitale d'un atome d'hydrogène interagissent suivant une orientation particulière. Une liaison hydrogène se fait donc entre un groupement donneur de liaisons hydrogènes et un groupement accepteur de liaisons hydrogènes.

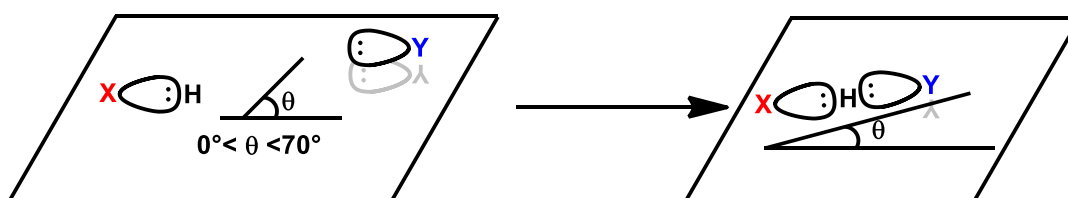
En prenant en compte le plan défini par le groupement donneur de liaison hydrogène et l'angle de ce plan par rapport au groupement accepteur, il est communément admis qu'un angle compris entre 0° et 70° était favorable à la mise en place de ce type d'interaction. A l'inverse, un angle de 90° entre les deux groupements est défavorable. (**Figure 38**). Cette interaction a une distance d'équilibre de 1,5 Å et 3,2 Å ce qui en fait une liaison à faible distance.

Dans le cas où un groupement réalise des liaisons hydrogènes à la fois en tant que donneur et en tant qu'accepteur, on parle de Flip-Flop²⁹⁵.

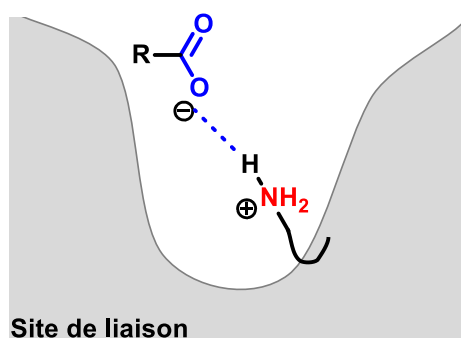
Liaisons Hydrogènes

X atome ou groupement électro attractif ou appauvri en électrons

Y atome ou groupement riche en électrons

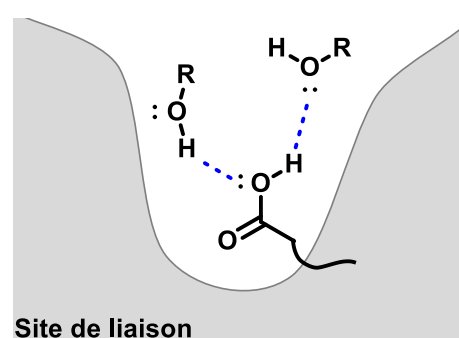


Liaison Hydrogène - carboxylate



Site de liaison

Liaison Hydrogène Flip-Flop



Site de liaison

Figure 38 : Interaction Ligand-Protéine par Liaison hydrogène et phénomène Flip-Flop.

Un bon groupement accepteur de liaisons hydrogènes possède un atome fortement électro attractif avec un pKa basique, ainsi qu'une ou plusieurs paires de doublets non liants disponibles.

Le caractère donneur ou accepteur de liaisons H peut être estimé numériquement par deux paramètres α (la valeur d'acidité d'une liaison hydrogène) et β (la valeur de basicité d'une liaison hydrogène) initialement proposés dans les années 1990 par Abraham *et. al*^{296,297}. Ces travaux ont, quelques années plus tôt, montré que la valeur de Log K (la constante d'acidité) de différents acides pour une base donnée était liée par une relation de linéarité à la valeur de Log K du même lot d'acides pour une autre base.

Récemment, sur la base des travaux de Abraham, le groupe du Dr. Hunter^{298,299} a publié une table de valeurs de pK_{HB} de nombreux groupements chimiques. Cette table reprise en **Figure 39** peut servir de base pour la modélisation de molécules en fonction des propriétés que l'on souhaite lui donner pour la formation de liaisons hydrogènes.

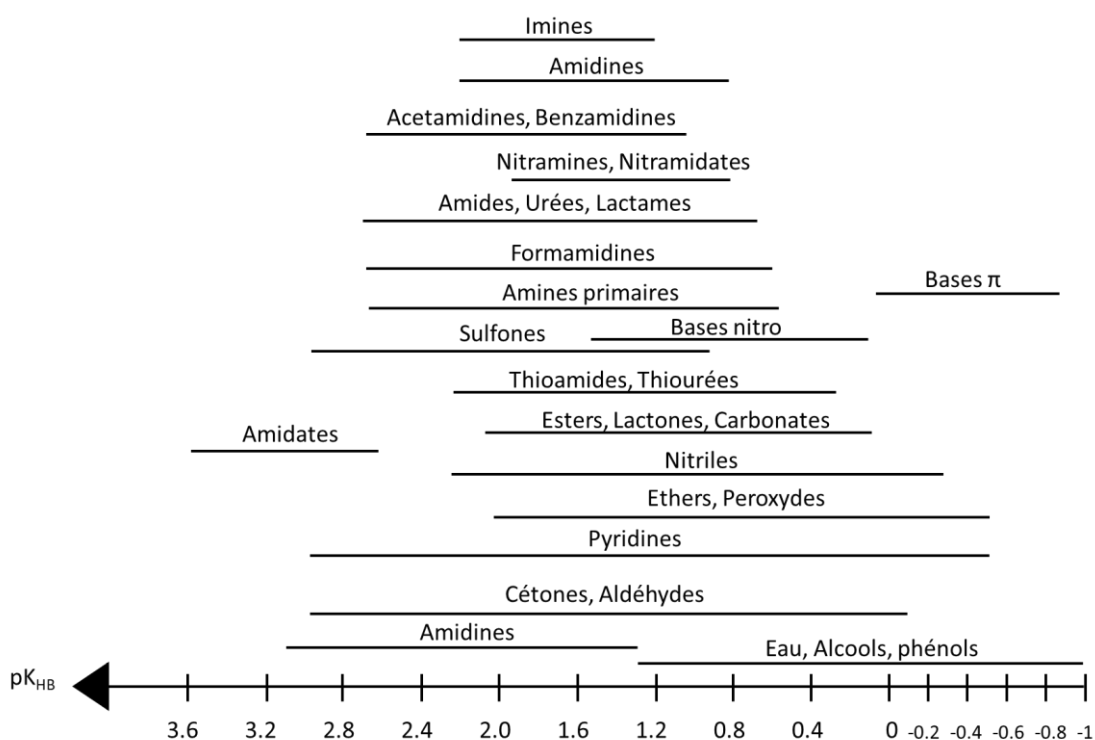


Figure 39 : Caractère donneur ou accepteur de liaison hydrogène d'un groupement en fonction de son pK_{HB} (adapté de Pike et al.).

II.1.6 Le rôle ambivalent de l'eau dans les interactions ligand-cible biologique

De par son caractère dipolaire fortement marqué, l'eau joue un rôle très important dans l'interaction entre un ligand et sa cible.

L'eau étant le « solvant » exclusif en milieu biologique, tous les phénomènes de solvatation vont se faire par son intermédiaire. Cela implique qu'avant toute interaction avec un autre partenaire, les molécules ou macromolécules vont devoir se désolvater pour former une nouvelle interaction, au prix d'une énergie plus ou moins importante. De fait, plus une molécule d'eau se trouve dans un environnement polaire, plus elle sera difficile à déplacer pour la formation de nouvelles interactions³⁰⁰.

A l'inverse, l'interaction entre deux surfaces hydrophobes d'un ligand et d'une cible biologique, va libérer les molécules d'eau de surface et permettre un gain entropique avec une énergie d'interaction faible.

En plus des liaisons hydrogènes « classiques », entre une molécule acceptrice et une molécule donneuse de liaisons hydrogènes, l'eau peut servir d'intermédiaire pour la formation de ponts intermoléculaires entre une molécule et sa cible. Cette situation est retrouvée dans de nombreux site actif enzymatiques³⁰¹.

II.1.7 Liaison halogène

Les halogènes sont très largement utilisés dans le domaine de la chimie médicinale. Leur rôle en biochimie a vite été reconnu, puisqu'en 1978³⁰², cette interaction halogène-hétéroatome a été caractérisée et définie³⁰³⁻³⁰⁵. L'origine de cette « liaison halogène » est l'anisotropie de densité électronique autour d'un atome d'halogène, qui a été mise en évidence bien plus tard par les travaux de Clark *et al.*^{306,307} Celle-ci s'applique aux atomes de chlore, de brome et d'iode et est caractérisée par la présence d'un « trou sigma » (σ -hole, **Figure 40**).



Figure 40 : Représentation des modes de liaison de l'atome d'halogène.

Ce σ -hole se manifeste sous la forme d'une charge partielle positive située à l'extrémité de la liaison carbone-halogène. C'est grâce à cette charge partielle que les halogènes sont capables de réaliser des interactions avec des groupements et atomes donneurs d'électrons.

L'énergie d'interaction³⁰⁸ est de l'ordre de 10 kJ.mol^{-1} mais dépend fortement du type d'halogène. Il est important de noter que le fluor n'est pas considéré dans ce type d'interactions du fait de son statut particulier. En effet, étant l'atome le plus électronégatif, la charge partielle positive σ -hole est assez rare, puisque retrouvée uniquement dans des molécules peu adaptées à une utilisation en biologie comme dans le fluorure de 2,2,2-trifluoroacétyle³⁰⁹.

II.1.8 Liaison covalente

La formation de liaison covalente est un mode d'interaction relativement peu exploité lors du développement de molécules d'intérêt biologique. D'un point de vue énergétique, les liaisons covalentes présentent l'avantage d'être le type de liaison le plus fort pour une interaction avec une cible biologique (**Tableau 10**)

Type de liaison	Force de la liaison (kJ.mol^{-1})
C-H	413
C-O	360
C-C	348
C-N	308
C-S	272
Électrostatique	250
Liaison Hydrogène	10-50
Dipôle-dipôle (Keesom)	5-25
π -stacking	15-20
Halogène	5-20
Ion-dipôle induit	3-15
Ion-dipôle	15
Dipôle-dipôle induit (Debye)	2-10
London	0,05-40

Tableau 10 : Force d'interaction en fonction du type de liaison.

Toutefois, il a été montré que ce type d'interactions était peu adapté aux cibles dont le renouvellement et la dégradation étaient rapides. De plus, ce type d'interaction peut être à l'origine d'hypersensibilité ou encore de toxicité par reconnaissance immunitaire³¹⁰.

Enfin, du fait de l'apparition plus fréquente d'effets indésirables, la création d'une liaison covalente entre une molécule et sa cible biologique a longtemps été réservée au ciblage de microorganismes. On parle dès lors de substrat suicide lorsque le rôle de la molécule est de bloquer le site actif d'une enzyme lors de sa métabolisation par celle-ci (Figure 41).

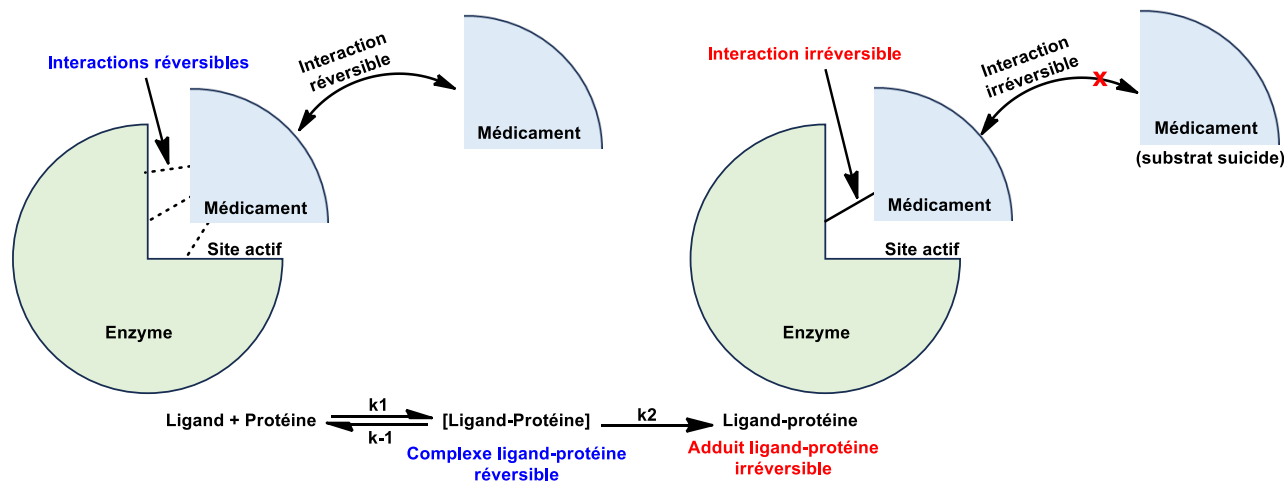


Figure 41 : Liaison covalente entre une molécule et sa cible biologique.

La présence de groupements assez réactifs pour créer une liaison covalente demande à la molécule de posséder une forte sélectivité pour sa cible afin de limiter sa liaison à un site non désiré. Les molécules à même de réaliser une liaison covalente avec leur cible présentent généralement un groupement électrophile, dont l'adressage doit être réalisé avec la plus grande précaution (Schéma 41)³¹¹. De plus, un nucléophile suffisamment dur et accessible doit être présent sur la cible pour pouvoir réagir avec le groupement électrophile, ce qui rajoute une contrainte supplémentaire.

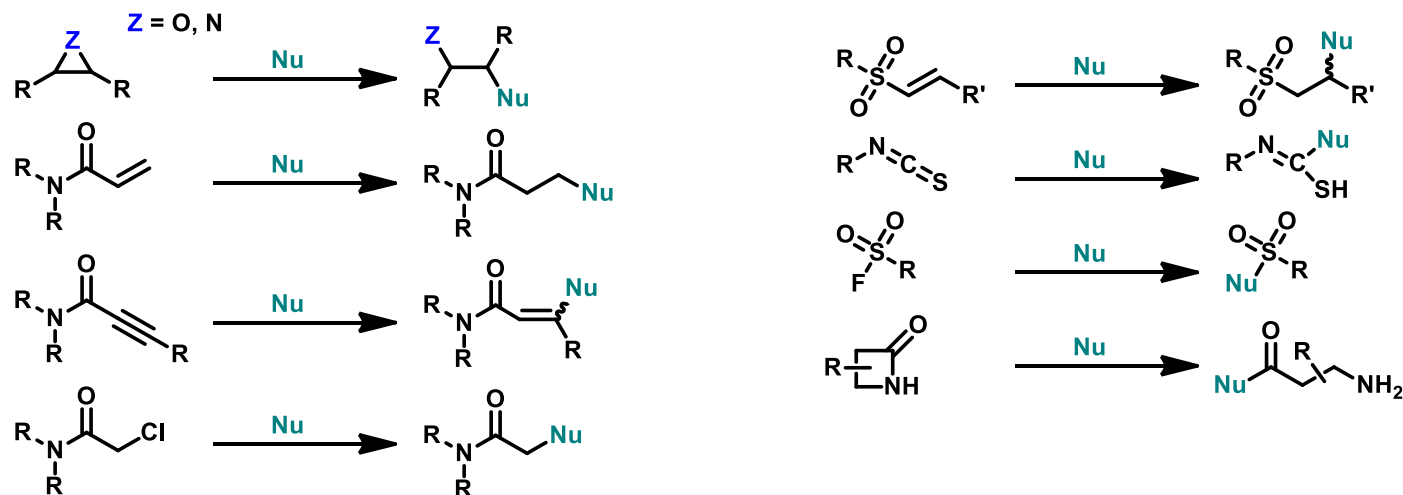


Schéma 41 : Groupements chimiques classiquement utilisés pour la réalisation d'une liaison covalente avec une cible biologique.

Ce type d'interaction présente toutefois plusieurs avantages importants dont un temps de rémanence plus élevé dans l'organisme, lorsque leur cible biologique est renouvelée lentement. Cela peut se traduire par une dose à administrer plus faible, avec une plus grande efficacité que les molécules guidées par une interaction réversible du fait de la formation irréversible de l'adduit ligand-protéine. En revanche, il reste peu adapté au développement de molécules d'imagerie, ces dernières se devant d'être inertes vis-à-vis de leur cible biologique.

II.2 Modèles d'interaction des ligands avec les macromolécules biologiques

Trois modèles d'interaction entre un ligand et sa cible permettent d'expliquer la fixation et la sélectivité d'un ligand pour un site actif.

Le premier, décrit en 1890 par Emil Fischer, est le modèle « clef-serrure » qui fait l'hypothèse d'une complémentarité structurale entre le ligand et sa cible sans ajustement.

Le second est le modèle décrit par Koshland, l'ajustement induit où le ligand et / ou le site actif se réarrangent lors de l'interaction.

Le troisième est le modèle de Nussinov, dit de sélection conformationnelle, qui prend en compte la dynamique des protéines pouvant être dans une conformation compatible avec la liaison ou en conformation défavorable.

II.2.1 Modèle d'interaction de Fischer « Clef-Serrure »

Ce premier modèle se base sur l'hypothèse d'une complémentarité structurale « parfaite » entre les deux partenaires, d'où l'image de la clef et de la serrure (**Figure 42**).

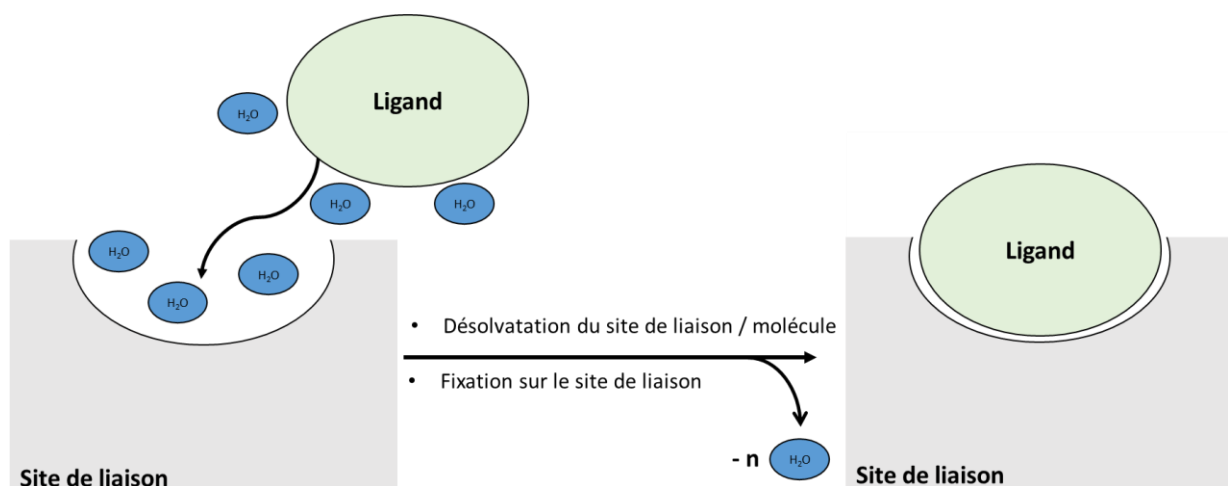
Dans ce modèle, le ligand et la protéine sont considérés comme deux entités rigides où la force d'interaction est guidée par un gain entropique du système.

En effet, la collision entre le ligand et sa cible va libérer dans le milieu les molécules d'eau non fixées dans le réseau de solvatation autour de la protéine. Ainsi, l'entropie du système va augmenter, d'autant plus que la complémentarité parfaite entre les deux partenaires va permettre une libération totale des molécules d'eau présentes au niveau du site d'interaction.

Ce modèle présente cependant un certain nombre de limitations.

D'une part, l'énergie perdue par le système pour désolvater le site d'interaction doit être à minima compensée par le gain entropique de la libération des molécules d'eau au niveau du site d'interaction et de désolvatation du ligand. La compensation énergétique peut également se faire par les interactions intermoléculaires rendues possibles par la proximité entre les deux entités. Comme chacun des partenaires est rigide dans ce modèle, les composantes énergétiques de translation ou de rotation du ligand sont également perdues, ce qui rend le bilan énergétique de ce modèle peu favorable par nature.

D'autre part, il ne prend pas en compte l'énergie gagnée par le changement de conformation entre la forme libre ou liée à un ligand.



✓ Gain entropique du système par la libération de molécules d'eau

X Complémentarité de forme parfaite ligand-site de liaison
X Ligand et protéine sont rigides
X Bilan énergétique peu favorable

Figure 42 : Représentation du modèle d'interaction "Clef-Serrure" entre un ligand et une protéine proposée par Emil Fisher (1890).

II.2.2 Modèle d'interaction de Koshland « Ajustement induit »

Le modèle d'ajustement induit proposé par Koshland³¹² en 1958 prend en compte un ajustement structural du ligand et de son récepteur³¹³. La protéine et le substrat sont considérés comme modérément flexibles, ce qui permet un ajustement dynamique de l'un par rapport à l'autre, pour une interaction optimale entre les deux partenaires.

Par rapport au premier modèle décrit, les différents prérequis pour une interaction ligand-protéine sont les suivants :

- Une orientation spécifique du ligand est nécessaire pour un changement conformationnel,
- Le ligand est capable d'induire des changements conformationnels au niveau du site de fixation,
- Seul le ligand est capable d'induire ces changements conformationnels.

Ce modèle permet de mieux prendre en compte l'aspect dynamique des molécules dans leur solvant³¹² (**Figure 43**).

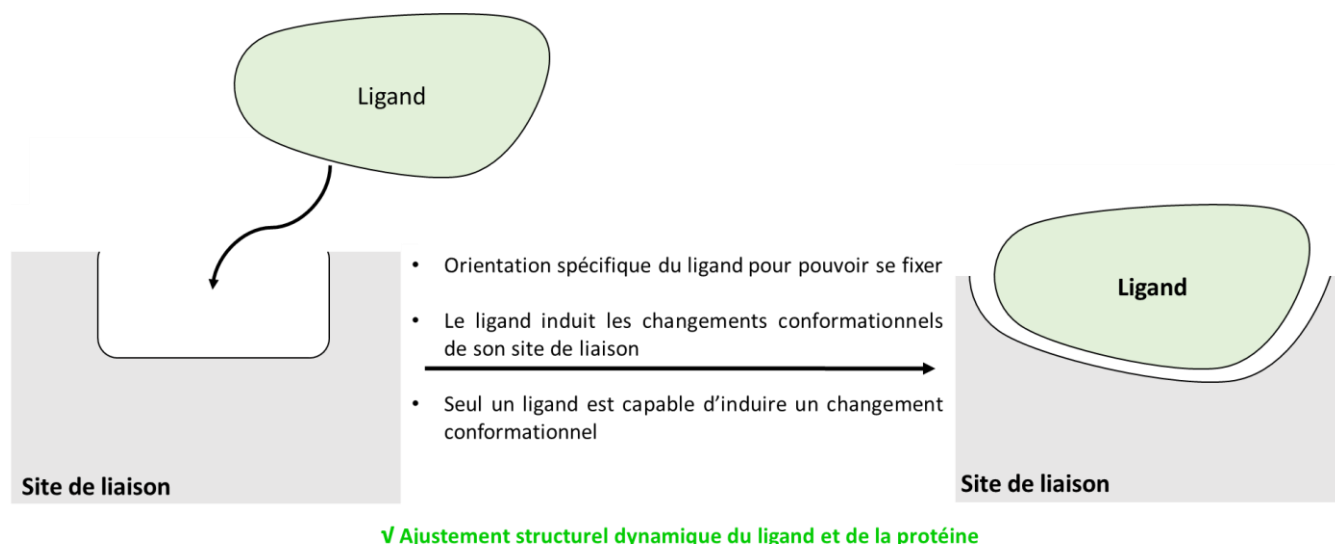


Figure 43 : Représentation du modèle d'interaction "ajustement induit" entre un ligand et une protéine proposée par Daniel Koshland (1958).

II.2.3 Modèle d'interaction de Nussinov « Sélection conformationnelle »

Le début de la seconde décennie des années 2000 a vu l'émergence du troisième modèle d'interaction protéine-ligand, celui de la sélection conformationnelle³¹⁴⁻³¹⁶.

Contrairement au passage du modèle « clef-serrure » à celui de « l'ajustement induit », le modèle de « sélection conformationnelle » se présente comme la continuité de ce dernier à la lumière des dernières avancées dans le domaine, et non comme un changement de paradigme.

Ainsi, ce modèle propose que la fixation du ligand à son récepteur soit dépendante de la dynamique de segments de la protéine. Ces derniers peuvent adopter une conformation compatible avec la liaison ou au contraire, une multitude de conformations non compatibles. Le modèle d'ajustement induit est englobé dans ce modèle dans le cas où le nombre de conformations non compatibles est faible.

La compréhension des différents modes d'interaction entre un ligand et une cible biologique a contribué à l'essor de la chimie médicinale. En effet, la prise en compte des contraintes de conception à la fois liées aux molécules et cibles biologiques est à la base de la conception rationnelle de molécules bioactives.

II.3 Règles empiriques de conception rationnelle de molécules bioactives

La conception rationnelle de molécules bioactives a nécessité l'élaboration de règles empiriques pour cadrer l'effort de recherche. Ces règles ont permis de spécifier des recommandations en fonction de l'organe et / ou du compartiment cellulaire ciblé.

De nos jours, la plus communément utilisée est celle édictée par Lipinski^{317,318} en 1997, appelée la « règle des 5 ». A partir d'une base de données contenant 2245 molécules ayant eu une exposition clinique ponctuelle (arrêt de développement) ou répétée (molécules commercialisées) aux Etats-Unis, les auteurs ont déterminé une liste de paramètres ressortant le plus fréquemment parmi les molécules effectivement mises sur le marché.

Les données issues de cette étude servent aujourd'hui de cahier des charges minimum pour le développement d'une molécule pour une application biologique (l'article a été citée plus de 21 000 fois depuis sa publication). Il est important de préciser que ces règles ont été édictées dans le cadre d'une molécule développée pour une administration *per os* dans le but d'optimiser les paramètres « absorption, distribution, métabolisme et excrétion » (ADME) d'un candidat médicament. Les propriétés ainsi mises en avant sont au nombre de 4 :

- La masse molaire inférieure à $500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Le nombre d'atomes accepteurs de liaisons H inférieur à 10 (somme des atomes d'azote + oxygène accepteurs)
- Le nombre d'atomes donateurs de liaisons H inférieur à 5 (somme des groupements -OH et -NH)
- Le LogP inférieur ou égal à 5. Le coefficient de partition (LogP) est une mesure de la lipophilie d'une molécule. Il est mesuré en faisant le ratio de la proportion de partage d'une molécule entre une phase octanol et une phase eau. Plus le LogP est élevé, moins la molécule se dissout dans l'eau, plus elle est lipophile.

Un nouveau paramètre, le LogD appelé coefficient de distribution découle directement de la mesure du LogP. Ce paramètre correspond à une valeur de LogP, mais mesurée à différents pH, 7,4 principalement pour une molécule à visée biologique. Le pH pouvant modifier du tout au tout le comportement d'une molécule en milieu biologique (par ionisation ou non de la molécule ou de sa cible), l'inclusion du pH dans la mesure de la lipophilie s'est imposée comme essentielle.

Avec le temps et l'essor des méthodes de chémo-informatique et de la chimie combinatoire, de nouvelles règles sont apparues pour affiner les travaux initiaux de Lipinski et *in fine* augmenter les chances de succès de mise sur le marché d'un candidat médicament. Parmi ces nouvelles règles, on peut citer celles de Ghose³¹⁹, qui à partir d'une base de données de 6304 molécules possédant une activité biologique sur différents systèmes déterminent de nouveaux paramètres et les classent en fonction de leur cible. Les auteurs ont également discriminé une série de groupements chimiques fréquemment retrouvés dans les molécules possédant une activité biologique. Les nouveaux paramètres pris en compte dans cette étude sont :

- La réfractivité molaire^{319,320} comprise entre 40 et $130 \text{ m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$. Il s'agit d'un paramètre stérique qui rend compte du volume occupé par un atome ou un groupe d'atomes. Ce paramètre prend également en compte la polarisabilité des groupements et atomes. L'intervalle le plus efficace semble cependant compris entre 70 et $110 \text{ m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$,
- le nombre d'atomes idéalement compris entre 20 et 70.

Une autre étude parue en 2002 publiée par Veber *et al.*³²¹, basée cette fois-ci sur l'analyse de données pharmacocinétique et physicochimiques de 1100 candidats médicaments destinés à l'administration *per os*, met en évidence l'importance de deux nouveaux paramètres :

- La surface polaire³²²⁻³²⁴ (topological polar surface area ou polar surface area) inférieure à 90 \AA^2 . Ce paramètre correspond à la somme de la surface des atomes polaires d'une molécule (oxygène, azote et groupements OH),
- Le nombre de liaisons rotatives³²¹ inférieur à 10. Les auteurs de l'étude ont mis en évidence un effet négatif de la liberté de rotation des groupements chimiques sur la perméabilité lorsque ce paramètre dépasse les 10 liaisons rotatives.

Dans cette étude, le « plafond des $500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ » est débattu puisque les auteurs, et d'autres avant eux, pointent le fait qu'il existe une corrélation entre la masse molaire et la flexibilité. Selon le raisonnement appliqué, une grande molécule aura généralement plus de liaisons rotatives, une surface polaire plus importante et un nombre d'atomes donateurs ou/et accepteurs de liaisons H élevé.

Les auteurs^{321,325} suggèrent néanmoins qu'une trop grande flexibilité peut être une source de problème en apportant de trop grandes variations de surface polaire. Ceci aura pour conséquence de limiter sa solubilité et donc son absorption et sa biodistribution. Cet effet a initialement été décrit par Wiley³²⁶ *et al.* sur deux peptides à activité biologique sous le nom de « effondrement hydrophobe » (hydrophobic collapse).

La complexité d'une molécule et sa forme globale sont des paramètres qui sont de plus en plus pris en compte lors du développement d'une molécule. En 2003, Saueret *al.*³²⁷ ont eu l'idée de classer les molécules comme un mélange de trois formes « extrêmes » que sont la corde, la sphère et le disque.

Cette nouvelle manière d'appréhender la diversité structurale d'une famille chimique permet de considérer le nouveau paradigme de la biochimie structurale qui prend en compte l'aspect tridimensionnel des protéines, enzymes et autres macromolécules biologiques. En effet, jusqu'à ce changement de point de vue, la recherche de nouvelles molécules actives était plutôt concentrée sur la synthèse de molécules insaturées, plutôt planes prenant relativement peu en compte cet aspect²³⁵.

Dans le même esprit et comme abordé précédemment (voir partie **I.2.3.1.1 Diminution de la lipophilie page 44**) limiter le nombre de cycles aromatiques est une manière d'améliorer les chances de succès d'une molécule candidat médicament en limitant la lipophilie et le nombre d'interactions associées. Plusieurs études^{214,328} montrent en effet qu'au-delà de 3 cycles aromatiques, leur impact sur la solubilité aqueuse, la lipophilie et leur liaison aux protéines plasmatiques devenait défavorable pour le développement d'une molécule.

Les travaux de Lovering *et al.*²³⁵ ont également introduit une nouvelle notion dans le développement de candidats médicaments. En s'appuyant sur une base de données, les auteurs montrent une corrélation entre le nombre de carbones sp³ et de centres asymétriques par molécules avec le succès (de présence) dans les différentes phases d'essais cliniques. Cela permettrait aussi d'augmenter la solubilité et diminuer la température de fusion des molécules.

Les auteurs ont ainsi défini un nouveau critère, le Fsp³ qui correspond au rapport entre le nombre de carbones hybridés sp³ par le nombre de carbones totaux présents dans la molécule. Le suivi de ce paramètre dans le développement d'une molécule médicament a montré que celui-ci a tendance à augmenter au fur et à mesure de son avancée. Ils ont ainsi démontré qu'une molécule présentant un Fsp³ tendant vers 1 possédait plus de chances de succès qu'une molécule avec un Fsp³ faible.

Enfin, en 2009, Chu³²⁹ *et al.* ont montré un lien entre la température de fusion et l'absorption d'un candidat médicament. En effet, leur étude suggère qu'une température de fusion supérieure à 275°C aurait un impact négatif pour la biodistribution d'une molécule administrée *per os*. Cela se traduit par une détérioration de la solubilité dans l'eau, donc de son coefficient de partage LogP, ce qui *in fine* réduit l'absorption de la molécule.

D'autres paramètres plus généraux sont également pris en compte lors du développement d'une molécule d'intérêt biologique.

La solubilité et la perméabilité sont deux paramètres contradictoires et complémentaires influençant la distribution d'une molécule à activité biologique. La classification BCS présentée auparavant (**Tableau 5 page 42**) montre l'importance de la solubilité aqueuse et de la lipophilie dans le développement d'une molécule.

Le pKa est un paramètre associé à la présence de groupements acides et basiques qui a des implications sur la lipophilie, la solubilité, la liaison aux protéines plasmatiques et les paramètres ADMET d'une manière générale. En 2007, une étude Manallack *et al.*³³⁰, sur une base de données de 582 molécules d'intérêt biologique sur le marché a pu définir une gamme de valeurs idéales pour le pKa. Ainsi, il a montré que dans un contexte général, ces molécules présentent un pKa compris entre 2 et 12. Concernant les molécules destinées au système nerveux central, ces molécules présentent un pKa compris entre 6 et 10,5. Cette gamme est plus restrictive du fait de la nécessité de traverser la barrière hémato-encéphalique.

La liaison aux protéines plasmatiques³³¹ est un paramètre pharmacocinétique pouvant être pris en compte dès les phases de criblage d'une molécule bioactive. Lorsqu'après son absorption, une molécule est retrouvée principalement liée à ces protéines, elle sera d'autant moins efficace qu'elle sera empêchée d'atteindre son site d'action³³². Ainsi, même si sur une cible protéique isolée, celle-ci présente une forte affinité et / ou l'effet biologique recherché, sa séquestration dans le compartiment plasmatique peut être un frein à son utilisation.

La quantification de la liaison aux protéines circulantes majoritaires (albumine et α -1 glycoprotéine ou orosomucoïde), est donc un enjeu dans le développement de molécules à visée biologique³³³.

Le développement de nouvelles méthodes d'études de chémo-informatique ont permis la manipulation de grands jeux de données. Ces nouvelles méthodologies ont été à l'origine d'une meilleure connaissance des paramètres physico-chimiques envisageables pour une molécule à visée biologique (**Tableau 11**).

Paramètre	Valeurs limites
Masse molaire	< 500 g.mol ⁻¹
Accepteurs de liaison H	< 10
Donneurs de liaison H	< 5
Log P	< 5
Réfractivité molaire	40 à 130 m ³ .mol ⁻¹
Nombre d'atomes	20 à 70
Surface polaire	< 90 Å ²
Nombre de liaisons rotatives	< 10
Nombre de cycles aromatiques	< 3
Température de fusion	< 275°C
Fsp ³	Tendre vers 1
PKa	Entre 2 et 12

Tableau 11 : Paramètres physico-chimiques limites mis en évidence pour le développement de molécule à visée biologique par administration orale.

Une fois tous ces paramètres physicochimiques pris en compte, la mise en place d'une stratégie de synthèse du pharmacophore peut être envisagée. Il est toutefois important de rappeler que ces paramètres restent empiriques et sont la synthèse de résultats expérimentaux appliqués à un contexte biologique, et sont donc à utiliser avec précaution. Il existe en effet des contre-exemples de molécules respectant tous ces paramètres ne donnant aucun résultat biologique, ou inversement d'autres molécules n'ayant qu'un ou peu de paramètres en dehors de ces cadres arbitraires donnent des résultats intéressants.

II.3.1 Drug design et pharmacophore

La définition d'un pharmacophore est une étape essentielle dans le développement d'une molécule d'intérêt biologique. Une définition du pharmacophore correspond à l'ensemble des groupements fonctionnels et leur disposition dans l'espace, responsables de l'activité biologique et / ou de la fixation d'une molécule sur sa cible biologique.

La mise en évidence d'un pharmacophore peut être envisagée selon plusieurs stratégies générales. Une première approche rationnelle est employée lorsqu'un ligand naturel de la cible biologique visée est connu. Il est alors envisageable de modifier le ligand naturel pour déterminer les groupements essentiels à sa liaison, et ainsi mettre en évidence le pharmacophore en suivant la perte d'affinité de la molécule lors de modifications chimiques ciblées. On parle dès lors d'approche basée sur le ligand (Ligand-Based Drug Design, LBDD).

La co-cristallisation d'une molécule avec sa cible est également une méthode de mise en évidence de pharmacophore de choix³³⁴. Toutefois, plusieurs situations empêchent la mise en place de cette méthode comme une méconnaissance du site de liaison ou encore une cristallisation difficile de la protéine.

Dans le cas où la cible biologique est décrite mais les ligands naturels sont inconnus, une seconde méthode générale de découverte de pharmacophore peut être employée. Ces méthodes sont regroupées sous le terme d'approche basée sur la structure (Structure-Based Drug Design, SBDD).

Une fois identifié, l'optimisation d'un pharmacophore dans une approche « relation structure-activité » (SAR) peut être envisagée.

Dès les années 70, la construction rationnelle de molécule d'intérêt biologique à l'aide de règles et schémas empiriques a été étudiée. Un des premiers à proposer ce type d'approche a été Paul N. Craig³³⁵, qui a proposé une méthode de substitution basée sur les paramètres thermodynamiques de Hammett σ (effet électronique en fonction de la nature des substituants) et de Hantzsch π (activité biologique en fonction de la lipophilie et des caractéristiques électroniques du benzène). Globalement, il s'agit d'une méthode de choix d'un bioisostère en fonction de son effet sur les paramètres électroniques et la lipophilie. Cette approche est toujours utilisée et a récemment été enrichie en incorporant de nouveaux jeux de données³³⁶.

L'utilisation d'arbres décisionnels également basés sur les paramètres de Hantzsch et Hammett ainsi que d'un paramètre stérique a conduit à l'élaboration du premier d'entre eux par John G. Topliss³³⁷. Il propose une série de groupements substituants possibles en fonction de l'effet sur l'activité biologique du groupement précédemment introduit sur un groupement phényle (**Figure 44**) ou autre aromatique ou une chaîne latérale (**Figure 45**).

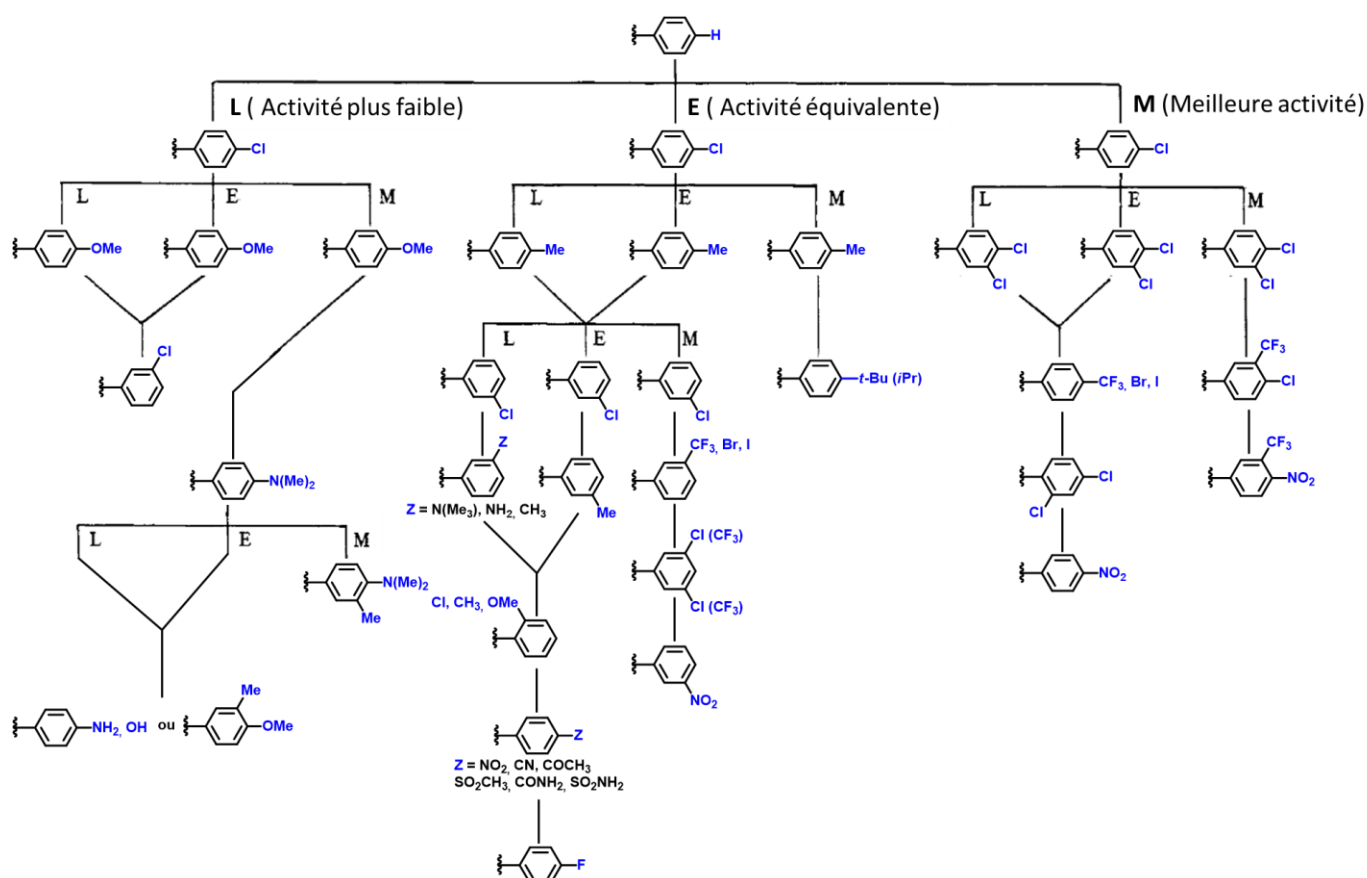


Figure 44 : Arbre décisionnel de Topliss pour les groupements phényles.

Les arbres décisionnels de Topliss sont assez peu employés de nos jours. Avec le développement de très nombreux bioisostères compatibles pour la majorité des groupements chimiques, ce type de schéma a en effet perdu de son intérêt, d'autant plus que l'analyse des besoins en termes de groupement chimique pour garantir une liaison a grandement gagné en finesse depuis les années 70.

Une étude plus récente sur les schémas de Topliss a toutefois montré que ces derniers pouvaient encore montrer un certain intérêt dans l'optimisation d'un pharmacophore destiné au ciblage de certaines enzymes³³⁸.

L'élaboration d'un nouvel arbre décisionnel de ce genre, basé sur une analyse statistique des groupements employés pour améliorer l'activité biologique d'une molécule, nommé « Matsy » a été tenté par Gill *et al.*³³⁹ en 2014, mais sans rencontrer le succès attendu, montrant que ce type d'approche n'était plus particulièrement prisée.

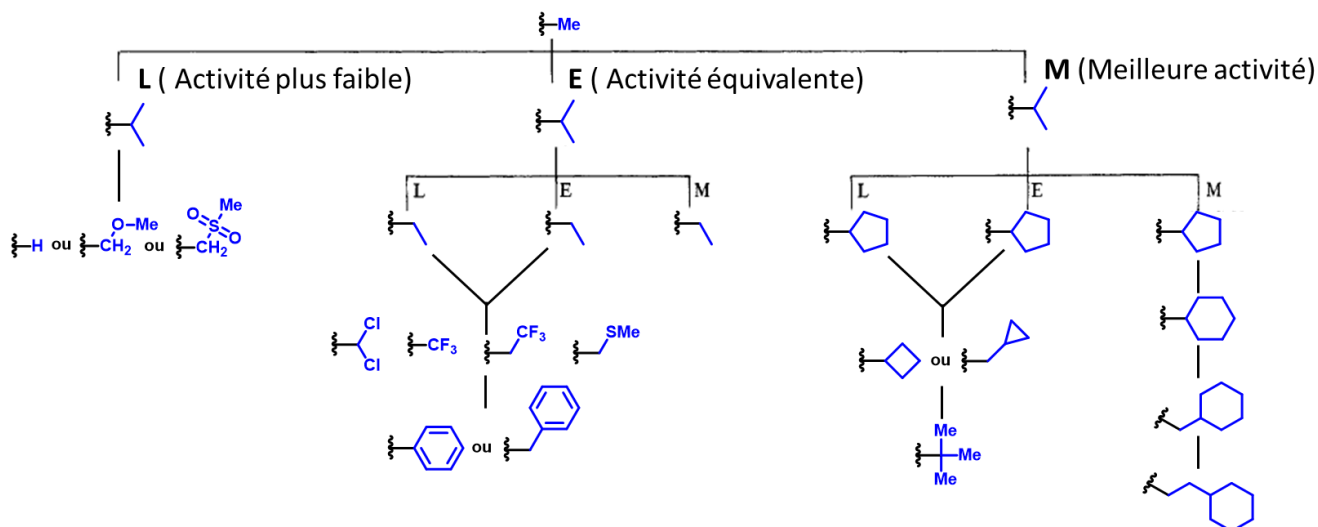


Figure 45 : Arbres décisionnels de Topliss pour les chaînes latérales.

Enfin, l'optimisation et la construction d'un pharmacophore à partir d'une structure connue peuvent être envisagées de façon paramétrique (**Schéma 42**). La décomposition et simplification d'une molécule connue pour son affinité pour une cible biologique à ses simples éléments responsables de l'affinité permet de dégager un squelette « minimum » à partir duquel sera construite la nouvelle molécule. La connaissance de la disposition spatiale et la distance entre chaque groupement permet de donner un cadre quant à la construction de la nouvelle molécule tout en gardant le même pharmacophore.

Les approches basées sur la structure sont permises lorsque la cible biologique est suffisamment décrite pour connaître le type d'interactions possibles du pharmacophore avec sa cible, ou lorsqu'un ligand de cette cible est connu. On parle alors d'approche rationnelle et elle permet une grande liberté d'action pour le chimiste, et donc une plus grande maîtrise des paramètres physico-chimiques de la molécule finale.

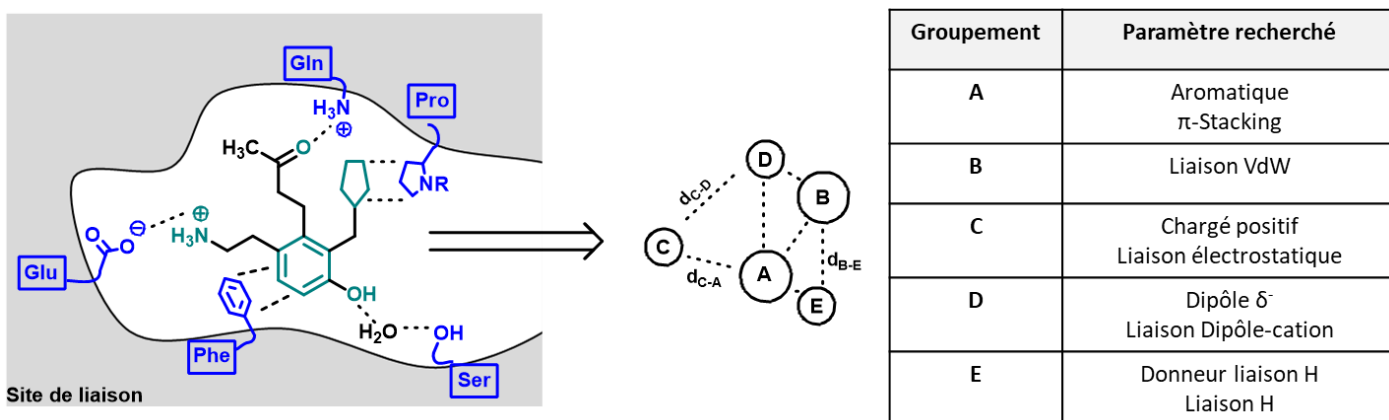


Schéma 42 : Approche paramétrique de construction de pharmacophore.

II.3.2 Approches basées sur la structure

Les approches basées sur la structure sont permises lorsque la cible biologique est suffisamment décrite pour connaître le type d'interactions possibles du pharmacophore avec sa cible, ou lorsqu'un ligand de cette cible est connu. On parle alors d'approche rationnelle.

II.3.2.1 Approche de novo

Une approche « *de novo* » comme son nom l'indique, est basée sur le développement d'un nouveau type de molécule pour une cible biologique.

Dans ce type d'approches, les connaissances sur les modes d'interactions possibles au niveau du site de liaison ciblé ainsi que l'agencement spatial des groupements en présence sont des paramètres facilitant la conception.

De même, lorsqu'un ligand pour la cible est connu, il peut être intéressant de partir de celui-ci et ce pour plusieurs raisons. Premièrement, l'utilisation d'un ligand connu pourra servir de référence aux différentes modifications en termes d'affinité pour la cible. De plus, l'utilisation d'une molécule déjà connue comme ligand de la cible pourra servir de base pour le développement de nouvelles molécules, en se servant d'un squelette commun ayant déjà fait ses preuves.

Dans le cas inverse, lorsque la cible biologique n'est pas suffisamment connue, une approche *de novo* est également envisageable. Les méthodes de criblage haut débit seront alors privilégiées, incluant des criblages chimiques, à partir de molécules synthétisées, ou / et des criblages *in silico*, par chemo-informatique.

II.3.2.2 Fragment-based drug design (FBDD)

L'approche "fragment-based drug design" est basée sur une construction progressive de la molécule, fragment par fragment³⁴⁰.

Contrairement aux approches plus traditionnelles, le but de cette méthode de criblage se base sur l'identification de fragments d'affinité modérée capables de reconnaître une cible biologique. Les fragments de petite taille vont ainsi chacun reconnaître une partie de la cible biologique et l'assemblage de ces fragments d'affinité modérée entre eux donnera la molécule finale, présentant une meilleure affinité. Pour pouvoir être mis en place, ce type d'approche a bénéficié de l'essor du criblage à haut débit d'une part et du développement de la chemo-informatique d'autre part.

En effet, avec l'agrandissement progressif des tailles des chimiothèques, que ce soit pour le criblage de petites molécules organiques ou de fragments, le développement des méthodes de criblage à haut débit a permis l'utilisation de grandes librairies mais a aussi grandement contribué à l'explosion des coûts de recherche dans le secteur industriel.

Le développement de la chemo-informatique a de son côté facilité la sélection des fragments incorporés dans les criblages. En effet, l'approche FBDD reposant sur le criblage de molécules se fixant sur la même cible biologique mais à des sites différents, puis liées en une plus grande molécule, la connaissance des différents sites de liaison possibles pour les fragments permet d'orienter la sélection des fragments à incorporer au criblage.

De la même manière que pour le criblage de molécules suivant la « règle des 5 » de Lipinski, cette méthode de criblage s'appuie sur la « règle des 3 »³⁴¹, adaptée à l'approche par fragments (**Tableau 12**). Le criblage est réalisé en contrôlant certains paramètres critiques pour le criblage comme la masse molaire ($\leq 300 \text{ g.mol}^{-1}$), le cLogP (≤ 3) ou encore le nombre d'atomes ou groupements donneurs (≤ 3) ou accepteurs de liaisons H (≤ 3). Comme abordé précédemment, l'affinité recherchée pour les fragments est relativement faible, de l'ordre du micromolaire pour les meilleurs fragments. C'est la liaison des différents fragments entre eux qui formera une molécule avec une forte affinité.

	Criblage classique (Lipinski)	FBDD
Masse molaire	$\leq 500 \text{ g.mol}^{-1}$	$\leq 300 \text{ g.mol}^{-1}$
Nombre d'atomes lourds		≤ 20
Donneurs de liaisons H	≤ 5	≤ 3
Accepteurs de liaisons H	≤ 10	≤ 3
cLogP	≤ 5	≤ 3
Affinité recherchée	$\mu\text{M-nM}$	$\mu\text{M-mM}$
Nombre de liaisons rotatives	≤ 10	≤ 3
Surface polaire	$\leq 90 \text{ \AA}^2$	$\leq 60 \text{ \AA}^2$

Tableau 12 : Paramètres physico-chimiques et biologiques recherchés lors d'un criblage classique et lors d'une approche par fragments

Un des avantages majeurs de ce type d'approche est le faible niveau de complexité chimique des fragments utilisés dans le criblage. En effet dans les premières étapes, les fragments sont relativement communs et de ce fait fortement fonctionnalisables. En fonction de l'affinité de ces derniers pour la cible biologique de nombreuses modifications chimiques seront alors possibles pour améliorer leur affinité, à la fois en tant que fragments mais également une fois lié avec les autres fragments.

D'une manière générale, les molécules issues de ce type d'approches sont de plus petite taille que celles issues d'un criblage plus classique³⁴². En effet, ayant comme point de départ des fragments pas ou peu fonctionnalisés, la taille d'une part des fragments mais également des molécules finales est généralement plus petite que les molécules obtenues par d'autres méthodes de criblage. Pour résumer, la conception la molécule finale se fait pas à pas à partir de fragments peu fonctionnalisés et complexifiés par petites touches.

Toutefois, ce type d'approche souffre de plusieurs inconvénients. Le premier d'entre eux est la faible sélectivité des fragments de prime abord. En effet, en criblant des fragments assez peu complexes, ces derniers montrent une constante de dissociation relativement peu élevée, de l'ordre de milimolaire ou au mieux du micromolaire³⁴³. Cela se traduit par des molécules qui, avant optimisation, peuvent se lier à plusieurs cibles biologiques.

Deux stratégies peuvent ainsi être appliquées lors d'une approche par fragments. La première consiste au criblage de petites molécules ciblant plusieurs sites de liaison différent, mais proches spatialement. Les fragments une fois reliés (« fragment linking ») permettent de former une molécule plus grande, interagissant avec plusieurs sites de liaison. Une grande diversité de méthodes de ligation peut être utilisée afin de réunir les différents fragments, incluant des méthodes de chimie click, ou la formation de « linker » plus traditionnels comme des urées ou autres groupements chimiques stables³⁴⁴.

La seconde est une approche itérative à partir d'un premier criblage mettant en évidence un fragment avec une affinité convenable pour lequel des augmentations de taille successives permettent d'accéder à d'autres sites de liaison. Cette stratégie est appelée « fragment-growing ».

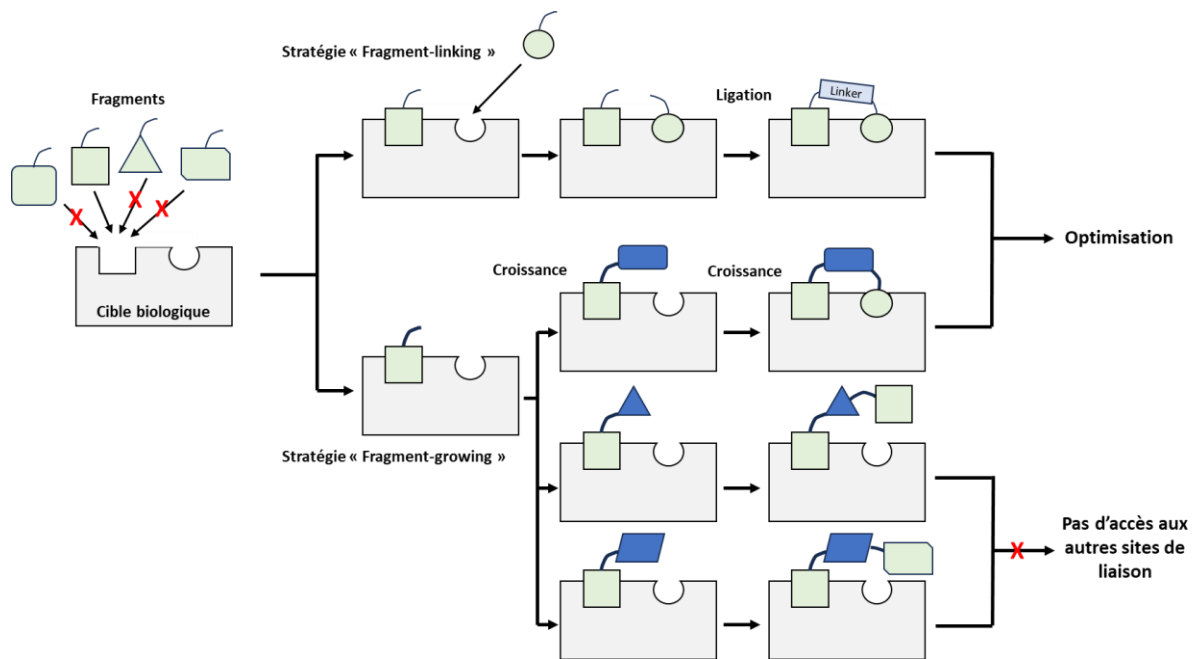


Figure 46 : Stratégies d'approches de design basé sur les fragments (FBDD). Stratégie de ligation de fragments (haut) et de croissance de fragments (bas).

Chacune de ces deux stratégies a conduit à la mise sur le marché de plusieurs médicaments pour une grande variété de cibles biologiques³⁴⁵, comme représenté sur la **Figure 47**.

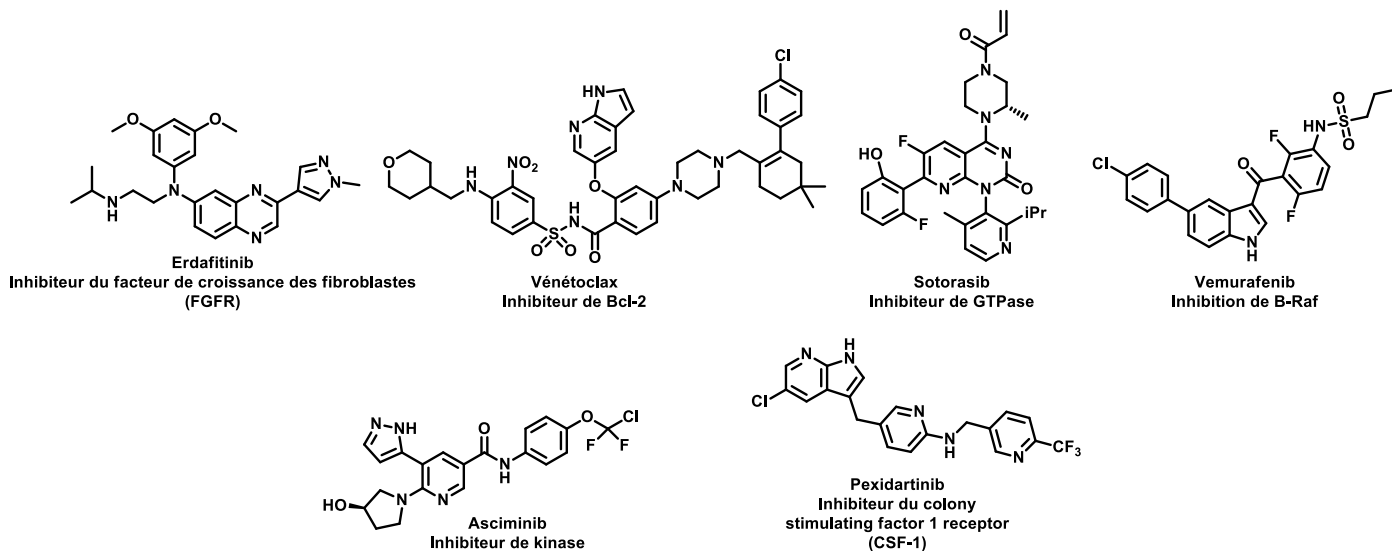


Figure 47 : Molécules médicaments issues d'une approche FBDD.

II.3.3 Approche basées sur le ligand

Les approches basées sur le ligand sont employées lorsque les données de la cible biologique sont insuffisantes pour une construction rationnelle mais, lorsqu'un ou plusieurs ligands de cette cible sont connus. Cette approche est fondée sur l'hypothèse qu'une molécule possédant des propriétés physico-chimiques, une forme ainsi que des propriétés électroniques similaires au ligand de référence interagira avec la même cible biologique. Dans ces méthodologies, la définition d'une molécule de référence est primordiale puisque c'est par comparaison à celle-ci que seront évaluées les propriétés d'affinité et d'activité des analogues synthétisés.

II.3.3.1 Approche de Relation Structure-Activité Quantitative (QSAR)

Une approche de Relation Structure-Activité Quantitative (QSAR) se base sur une série d'analogues d'une molécule de référence étant différents que d'une simple modification chimique. De cette façon, les groupements importants pour l'affinité et l'activité sont identifiés par la chute d'un de ces deux paramètres lors de son remplacement, ce qui donne une indication sur ce qui pourra être modifié pour les améliorer vis-à-vis de la molécule de référence.

Les approches QSAR sont donc utilisées à la fois en phase de recherche pour isoler un pharmacophore à partir d'une molécule de référence mais également en phase de développement pour les propriétés d'une molécule « lead » en phase de développement (**Figure 48**).

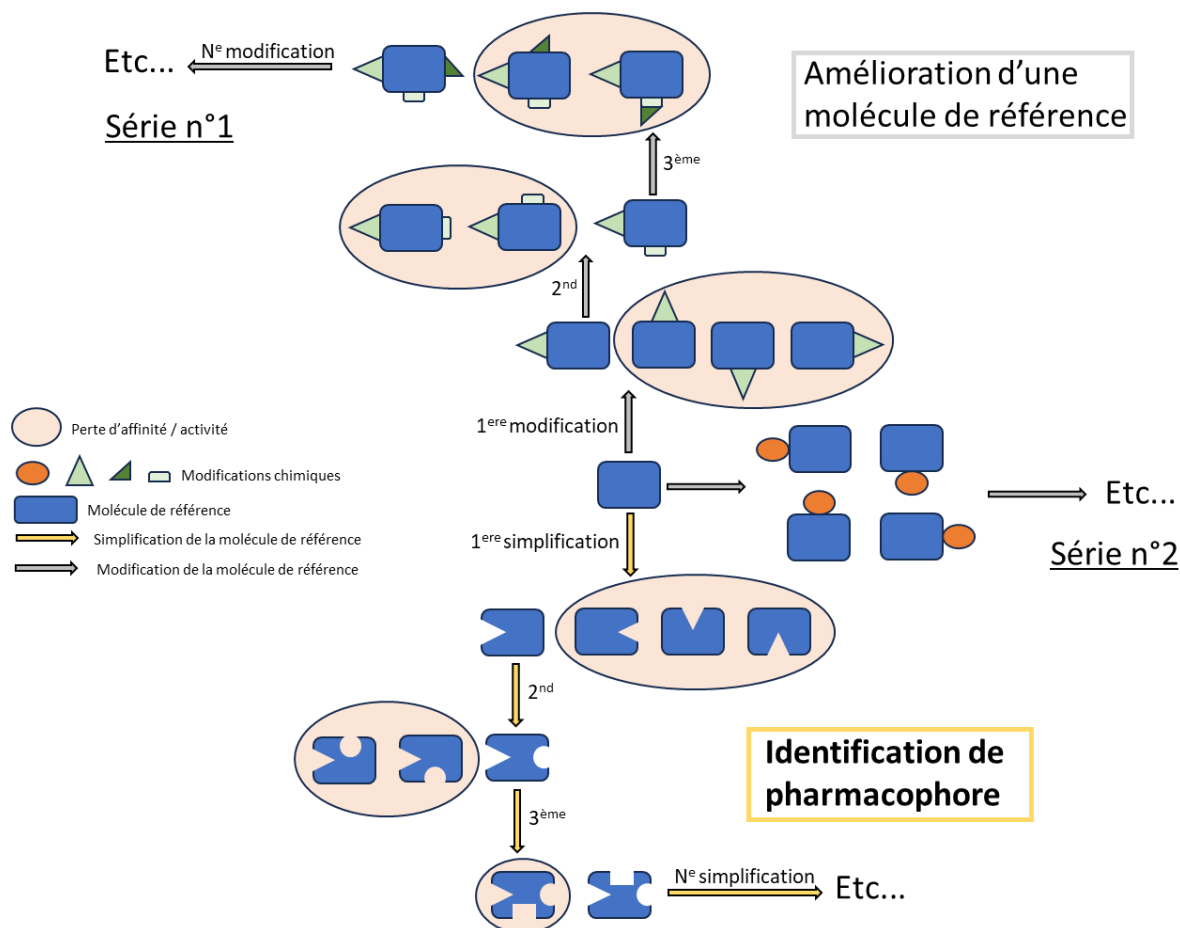


Figure 48 : Approche QSAR pour l'amélioration d'une molécule de référence ou l'identification d'un pharmacophore à partir d'une molécule de référence.

En pratique, ces approches font appel à un ensemble d'outils mathématiques et de méthodes chémo-informatiques. De façon simplifiée et non exhaustive, les outils mathématiques employés sont des modèles de prédiction d'activité biologique en fonction de paramètres physico-chimiques calculés ou mesurés pour la série de molécules d'analogues de la molécule de référence.

Ces modèles se présentent sous la forme d'une équation linéaire ³⁴⁶ telle que représentée sur l'Équation 1.

$$\text{Activité biologique} = \text{Constante} + (\text{coeff}_1 \cdot \text{Paramètre}_1) + (\text{Coeff}_2 \cdot \text{Paramètre}_2) + (\text{Coeff}_n \cdot \text{Paramètre}_n)$$

Équation 1: Détermination de l'activité biologique dans les modèles QSAR

Le Coeff_n correspond à la relation entre le changement du paramètre choisi et l'activité biologique ; le Paramètre_n (appelé descripteur) correspond aux paramètres étudiés calculés ou mesurés et possède une constante propre au modèle mathématique utilisé³⁴⁷.

Les descripteurs choisis pour l'analyse QSAR sont généralement regroupés dans quatre grandes catégories : 0D, 1D, 2D et 3D. Les descripteurs 0D correspondent aux informations tirées à partir des atomes et des liaisons qu'ils peuvent entretenir entre eux et avec le milieu extérieur. Les informations telles que la masse molaire, le nombre d'atomes de chaque élément, le nombre de liaisons simples, multiples ou aromatiques sont comprises dans ce descripteur. Ils sont appelés « descripteurs constitutionnels » et permettent d'appréhender certaines règles empiriques comme celle de Lipinski.

Les descripteurs 1D, aussi appelés « descripteurs physico-chimiques ou de fragments » sont issus de la formule brute d'une molécule et comprennent le nombre de groupements chimiques, le nombre de carbones primaires, secondaires, tertiaires ou quaternaires, le nombre de groupements accepteurs ou donateurs de liaisons H, etc. Ils sont utilisés pour évaluer les liaisons chimiques possibles et les variations d'énergie en découlant.

Les descripteurs 2D, ou « descripteurs topologiques » sont obtenus à partir d'une représentation plane de la molécule : charges partielles, polarisabilité, liaisons, nombre de cycles, coefficient de partage, surface moléculaire, volume moléculaire, réfractivité molaire, etc. Les études 2D-QSAR³⁴⁸ (étude QSAR utilisant des descripteurs 2D) sont extrêmement répandues du fait de la simplicité d'accès des descripteurs 2D et du faible temps de calcul nécessaire. Toutefois, malgré leurs avantages pratiques, ils ne peuvent se substituer aux descripteurs 3D, plus précis mais beaucoup plus exigeants en temps de calcul.

Les descripteurs 3D, également appelés « descripteurs géométriques » sont obtenus à partir d'une représentation moléculaire dans l'espace. Ils permettent d'avoir accès par calcul aux différents paramètres, en utilisant la théorie de densité fonctionnelle (DFT, ou TDDFT lorsque les paramètres sont calculés en fonction du temps). Ces paramètres sont géométriques (comme le volume moléculaire et la surface accessible au solvant), électroniques (énergie des différentes liaisons chimiques, des orbitales HOMO et LUMO, ou le moment dipolaire) ou spectroscopiques et donnent des informations conformationnelles.

Avec l'amélioration des capacités de calcul et l'apparition des supercalculateurs, de nombreuses méthodes statistiques ont été développées au cours de dernières décennies. Cela a permis l'utilisation de modèles prédictifs de plus en plus complexes prenant en compte un nombre plus important de descripteurs, sur des jeux de données de plus en plus importants.

L'analyse de régression^{349,350} (**Figure 49**) correspond à la méthode statistique la plus simple, sous la forme $Y = Ax + B$ permettant la mise en évidence de relations entre l'activité biologique et les propriétés physico-chimiques (descripteurs 1D) ou des propriétés structurales (descripteurs 2D). Dans ce type d'analyse, le coefficient de détermination R^2 donne une valeur comprise entre 0 et 1 et permet de juger facilement de la pertinence des descripteurs retenus, puisque plus cette valeur se rapproche de 1, meilleure sera la prédiction.

Classiquement, à partir d'un R^2 supérieur à 0,8 il est considéré que la régression linéaire est recevable.

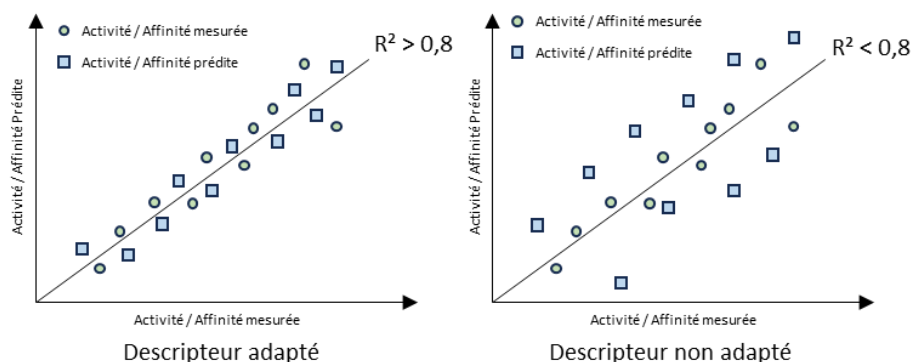


Figure 49 : Analyse de régression dans une étude QSAR.

D'autres modèles mathématiques 2D-QSAR^{351,352} sont fréquemment employés dans la découverte de pharmacophores et compilés de manière non exhaustive dans le **Tableau 13**.

Classification générale	Type d'approche	Exemple de méthodologie
Méthodes statistiques	Linéaire	Régression linéaire multiple, méthode des moindres carrés partiels
	Non-linéaire	Forêt d'arbres décisionnels, machine à vecteurs de support, modélisations non paramétriques, réseaux neuronaux artificiels
Méthode basée sur les fragments		Hologram-QSAR, fragment-Based QSAR, fragment-Similarity Based QSAR, top Priority Fragment QSAR

Tableau 13 : Méthodologies 2D-QSAR utilisées dans la recherche et le développement de candidats médicaments.

Les approches 3D-QSAR demandent une connaissance précise de la conformation bioactive d'un ligand de référence comme prérequis à leur mise en place. Sans rentrer dans le détail de chacune des méthodologies applicables (**Tableau 14**), l'approche 3D-QSAR la plus simple et couramment utilisée est la méthodologie « CoMFA » pour Comparative Molecular Field Analysis, dérivée du premier modèle 3D-QSAR élaboré et popularisé par Cramer *et al.*³⁵³ nommée DYLOMMS pour Dynamic Lattice-Oriented Molecular Modeling System.

L'analyse CoMFA est une superposition des molécules criblées puis une comparaison des valeurs de leurs paramètres stériques et de leur champ électrostatique par régression linéaire, comme présenté auparavant et représentés sous la forme de contour plot (tracé de contour) permettant la visualisation des régions moléculaires favorables et défavorables à une bonne interaction avec la cible biologique.

D'autres modèles mathématiques 3D-QSAR plus complexes ont été développées afin d'améliorer les capacités prédictives des modèles et sont représentés de manière non exhaustive dans le **Tableau 14**^{354,355}.

Classification générale	Type d'approche	Exemple de méthodologie
Méthodes chimiométriques	Linéaire	CoMFA, CoMSIA, AFMoC, GERM, CoMMA, SOMFA
	Non linéaire	Compass
Alignement de critères	Alignement dépendant	CoMFA, CoMSIA, MSA, RSA, GERM, AFMoC, HIFA, VFA, MQSM
	Alignement indépendant	Compass, CoMMA, HQSAR, WHIM, GRIND, VolSurf, CoSA
Par modélisation de l'interaction intermoléculaire	Basée sur le ligand	CoMFA, CoMSIA, MSA, RSA, Compass, GERM, CoMMA, SoMFA
	Basée sur le récepteur	AFMoC, HIFA

Tableau 14 : Méthodologies 3D-QSAR utilisées dans la recherche et le développement de candidats médicaments.

Les approches QSAR sont donc un moyen très puissant pour la découverte de nouveaux pharmacophores. Toutefois de nombreux prérequis sont nécessaires à la mise en place de telles approches, tant par le besoin d'une puissance de calcul minimale que la définition de descripteurs pertinents et la nécessité de synthèse pour les approches 2D/3D-QSAR. De même, une approche QSAR en début d'un projet de chimie médicinale est peu adaptée tant qu'un pharmacophore n'a pas été mis en évidence.

II.3.4 Chimie combinatoire

La chimie combinatoire est un puissant outil dans la recherche et le développement de molécules d'intérêt biologique. A partir d'un nombre limité de synthons, ce type d'approches permet d'accéder à un nombre relativement élevé de molécules dans un temps raisonnable.

Les approches combinatoires suivent toutes le même schéma en 3 étapes : définition de la librairie de synthons, synthèse de la librairie de molécules puis test biologique (cet aspect sera développé dans la partie **Méthodes de criblage et d'évaluation des molécules page 84**).

De la même manière que pour d'autres stratégies de découverte de pharmacophore, la définition de la librairie de synthons se fait en fonction des connaissances sur la cible biologique. Dans une approche combinatoire, les synthons utilisés sont généralement choisis de manière à respecter autant que possible la règle de Lipinski. Pour cela, et de la même manière que pour une approche par fragments, leur taille se doit d'être restreinte, donc dans le cadre de la règle des 3 (**Tableau 12**), introduite dans ce type d'approches. Ces synthons doivent également être facilement modifiables afin d'y opérer de petites modifications augmentant la diversité moléculaire de l'ensemble, et doivent être capables de réaliser des liaisons chimiques stables entre les différents synthons.

La synthèse des molécules cibles peut être envisagée en solution, en utilisant des produits isolés issus de synthèses en parallèle ou des mélanges réactionnels, ou sur support solide par des produits isolés issus d'approches parallèles ou des mélanges issus d'approches « split and mix »³⁵⁶. Chacune de ces approches présente plusieurs avantages mais aussi des inconvénients qu'il faut pouvoir prendre en compte lors de la mise en place du criblage (**Tableau 15**).

Approche en solution		Approche sur support solide	
Mélange réactionnel	Approche parallèle (produits isolés)	Approche parallèle (produits isolés)	Approche Split and Mix
Production d'un plus grand nombre de molécules que par une approche classique	Molécules pures	Réactions facilitées par l'emploi de réactifs en excès	
	Pas d'effet stérique contrairement à une approche sur support	Purification facilitée par le support solide	
Synthèse des lots obligatoire pour confirmer les « hits »	Réactions chimiques parfaitement contrôlées	Automatisation facilitée	
Faux positifs plus fréquents	Étapes de purification efficaces obligatoires	Formation d'un produit par réacteur	Synthèse de très nombreuses molécules
Mélanges rarement équimolaires	Étapes d'optimisation réactionnelles nécessaires préalables pour la mise en place et pour monter en échelle	Identification du pharmacophore facilitée	Déconvolution nécessaire pour identifier le pharmacophore
L'automatisation peut être compliquée		Toutes les réactions ne sont pas optimisées et optimisables pour une approche sur support et la montée en échelle est peu adaptée au support solide	

Tableau 15 : Approches combinatoires en solution et supportées. Les avantages des différentes approches sont surlignés en bleu, les inconvénients sont surlignés en orange.

Le criblage de mélanges réactionnels (**Figure 50, c**) permet de générer rapidement un nombre relativement important de molécules, tout en réduisant les coûts en limitant les étapes de purification mais est également responsable de plus de faux positifs selon la méthode de criblage, du fait des interactions intermoléculaires. De plus, la quantité de chaque produit généré étant dépendante de l'optimisation de la réaction, ces derniers sont rarement présents en quantité équimolaire. Ce type d'approches est donc à privilégier dans les premières étapes de criblage, et est particulièrement adaptée aux réactions multicomposantes, afin de définir les grandes lignes lors de la synthèse de nouvelles molécules.

L'approche en solution employant des molécules isolées issues de synthèses en parallèle est une méthode donnant accès à un nombre de molécules relativement limité, mais d'une grande pureté. Pour cela, ce type d'approche nécessite un travail préalable pour optimiser les conditions réactionnelles, mais permet un grand contrôle de la réaction. Le fait d'optimiser les réactions en solution donne généralement un avantage pour la montée en échelle mais une optimisation spécifique reste nécessaire. Enfin, ces approches doivent généralement être couplées à des méthodes de purification efficaces qui nécessitent certaines infrastructures pour pouvoir garantir une production de molécules efficace.

Les synthèses en solution sont généralement peu adaptées à une automatisation complète, contrairement aux approches sur support solides, conçues et développées dans ce but.

Les approches classiques sur support solide présentent plusieurs avantages communs du fait de l'emploi de support^{357,358}. Tout d'abord, dans les approches sur support solide, les réactifs sont généralement utilisés en excès pour pousser à la formation des produits. L'utilisation de réactifs en excès, pouvant présenter des problèmes en solution notamment lors de la purification, n'est ici pas un problème du fait de l'utilisation de support solide. Grâce à cela, la purification des bruts réactionnels est grandement facilitée et de simples lavages successifs permettent d'éliminer les réactifs en excès et peuvent suffire à obtenir une molécule de pureté acceptable.

Toutefois, les approches sur support ne se prêtent pas à tous les types de réactions chimiques (certaines résines peuvent ne pas être adaptées à certaines réactions chimiques) et la montée en échelle en gardant un support solide se heurte rapidement à un problème de coûts inhérent aux résines elles-mêmes ainsi qu'aux réactifs nécessaires pour accrocher les réactifs à celles-ci, et pour cliver la liaison résine-molécule en fin de cycle de synthèse.

Deux grandes approches peuvent ainsi être mises en place pour une approche sur support. La première, similaire à une approche en solution, est une approche de synthèse en parallèle (**Figure 50, b**). Elle permet, comme en solution d'obtenir une molécule unique par réacteur ce qui permet une identification facilitée du pharmacophore tout en offrant la possibilité de réaliser une synthèse divergente à partir des lots donnant les meilleurs résultats.

Enfin, l'approche « Split and mix » ou « partage et mélange » (**Figure 50, a**), est une approche qui permet l'obtention de très nombreuses molécules en très peu de temps. Il s'agit d'une approche cyclique basée sur l'utilisation de mélanges de molécules pouvant être schématisée comme suit : 1) fonctionnalisation de la résine 2) répartition de la résine en n lots 3) fonctionnalisation des n lots par k réactifs différents 4) mélange des n lots 5) répartition des n lots en n lots différents etc. En suivant ce type d'approches, il devient très facile de synthétiser un grand nombre de molécules puisque le nombre théorique de molécules formées augmente en suivant la relation suivante : $N = k^n$ avec N le nombre de produits formés, k le nombre de réactifs différents et n le nombre d'étapes de synthèse. À titre d'exemple, un schéma de criblage comprenant 5 réactifs différents et 4 étapes de synthèse est théoriquement capable de produire 625 (5^4) molécules.

Toutefois, afin d'identifier les molécules les plus intéressantes, une étape de déconvolution est nécessaire, consistant à resynthétiser le lot pas à pas jusqu'à trouver le pharmacophore (déconvolution itérative³⁵⁹) ou à garder une partie de la résine avant chaque étape de « mix » pour pouvoir reprendre la synthèse à partir d'une étape de plus en plus avancée et ainsi limiter le temps de resynthèse (déconvolution récursive³⁶⁰)

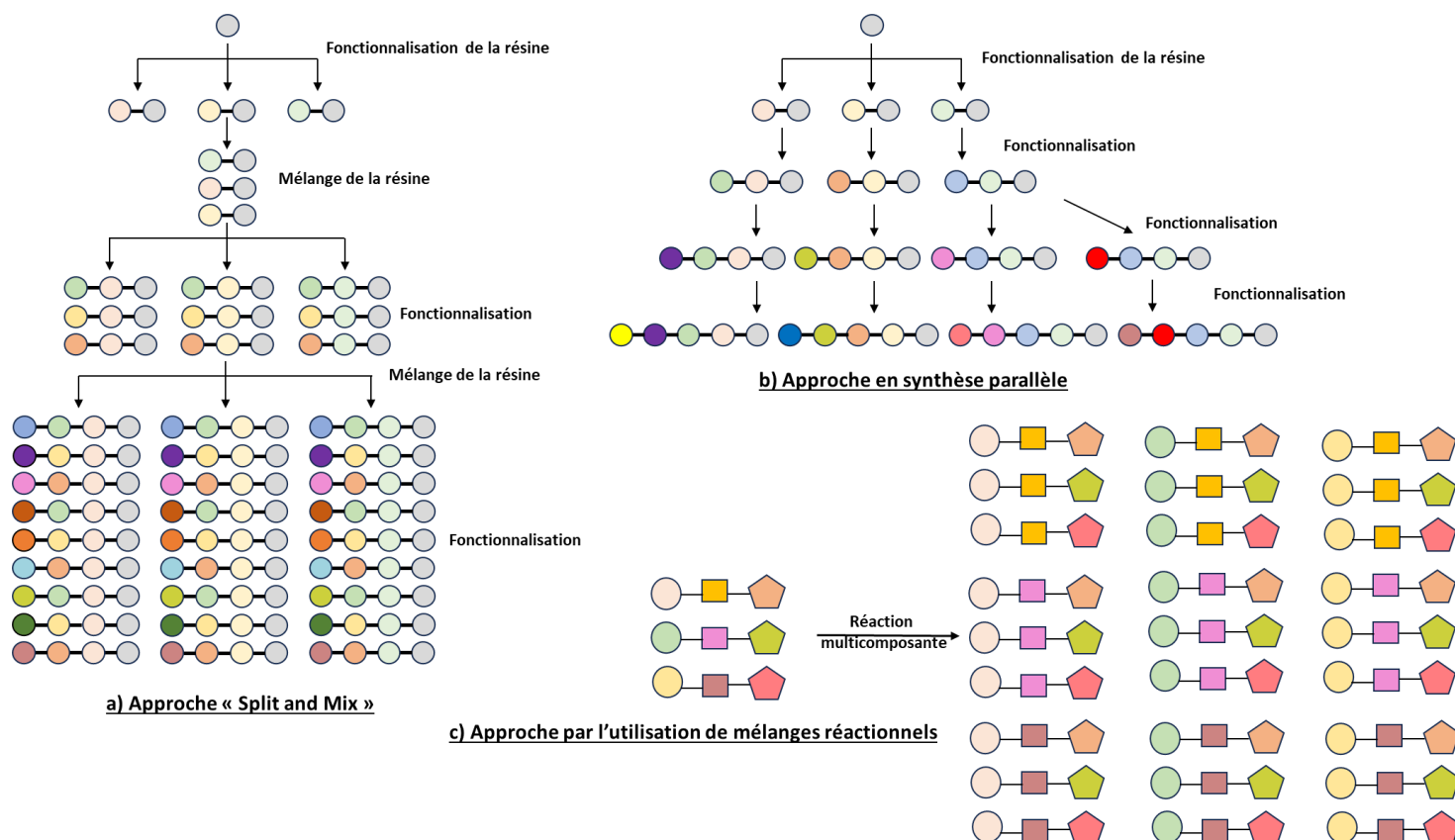


Figure 50 : Approches fréquentes utilisées en chimie combinatoire sur support solide en en solution. a) Approche « Split and Mix », b) Approche basée sur la synthèse en parallèle pouvant aussi être appliquée en solution, sans utilisation de résine, c) Approche basée sur l'utilisation de mélange réactionnels avec l'emploi de réactions multicomposantes.

Les approches combinatoires sont donc une méthode très efficace de découverte de nouveaux pharmacophores, que ce soit pour isoler de nouveaux types de pharmacophores, découvrir de nouvelles méthodologies de synthèse, ou même améliorer un pharmacophore déjà existant. Toutefois, pour la mise en place de telles stratégies de synthèse, des prérequis matériels sont nécessaires, tels que des installations d'automatisation de synthèse et des dispositifs d'analyse automatisée. Cependant il faut remarquer que ces dispositifs sont pour la plupart miniaturisables ce qui rend cette approche plus facile à mettre en place.

Toutes ces approches de recherche et développement de pharmacophores sont donc à considérer lors de l'élaboration d'un projet de découverte de nouveaux composés d'intérêts biologiques.

Un autre point très important à prendre en compte dans un projet de recherche et développement de molécules d'intérêts biologiques concerne la ou les méthodes de criblages employées tout au long du projet. Étant donné que ces dernières sont conditionnées par la famille chimique des molécules testées, le nombre de molécules, la cible biologique choisie et les moyens matériels disponibles, bien prendre en considérations les avantages et limites des différentes méthodologies disponibles permet de réaliser un criblage le plus efficace possible.

III.Méthodes de criblage et d'évaluation des molécules

Les méthodes de criblage mises en œuvre pour identifier les meilleures molécules lors d'un criblage dépendent des propriétés intrinsèques de ces molécules vis-à-vis de leur cible et des tests enzymatiques ou biochimiques disponibles. D'une manière générale, dans le cas où les molécules sont recherchées pour leur effet biologique, elles seront criblées par des tests fonctionnels, *in vitro* ou *in cellulo*. Si les molécules recherchées ne présentent pas d'effet détectable sur un processus enzymatique, comme c'est le cas pour les molécules utilisées en imagerie, celles-ci seront alors sélectionnées pour leur capacité de liaison et leur spécificité pour leur cible.

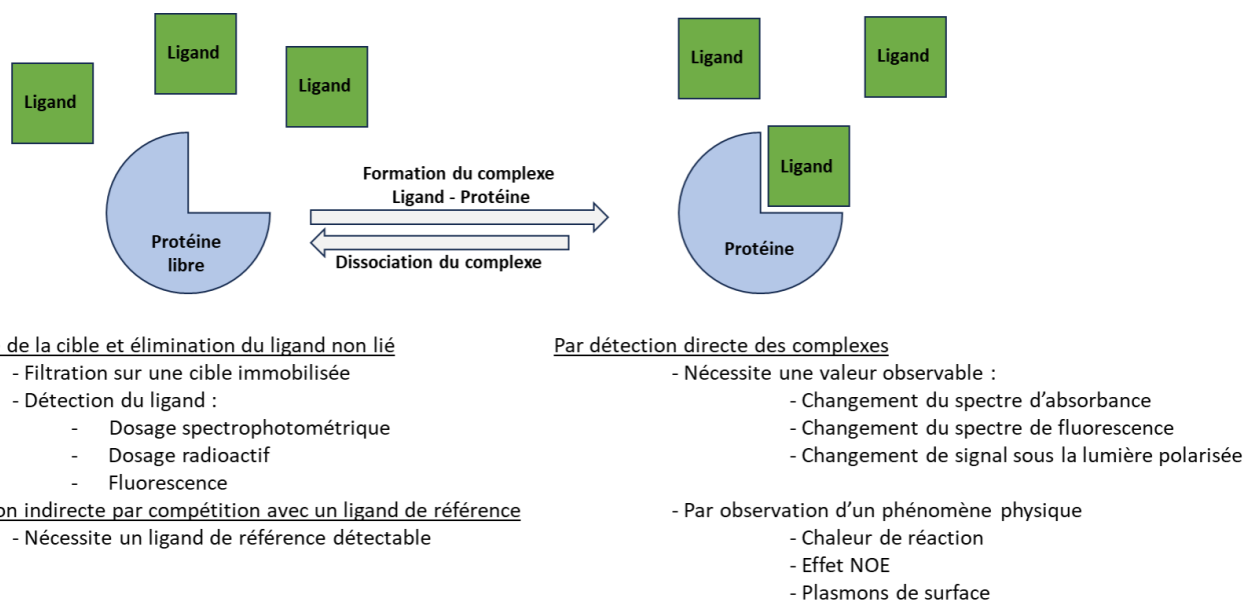


Figure 51 : Méthodologie générale applicable pour la détection d'un complexe ligand-protéine.

Le criblage d'outils d'imagerie se fait donc par la détection du complexe entre la cible et son ligand afin d'en déterminer l'affinité. Pour accéder aux mesures d'affinité, la mesure peut être directe si la formation du complexe ligand cible induit un phénomène observable comme de la fluorescence, de l'absorption de lumière UV (absorbance) ou de la lumière dans le cadre d'une désintégration. Dans le cas contraire la mesure peut être indirecte en utilisant des méthodes de compétition avec un ligand de référence détectable. D'autres méthodes de détection directe ou indirecte liées à des processus physiques observables lors de la formation du complexe ligand-protéine peuvent également être utilisées. Les diverses méthodes permettant la détection de complexes protéine-ligand sont détaillés dans la **Figure 51**.

Chacune des méthodes présente des avantages et des inconvénients qui seront détaillées tout au long de ce chapitre.

Ainsi, lors de la mise en place d'une méthodologie de criblage, la connaissance approfondie de la molécule testée ainsi que de la protéine cible sont nécessaires, au même titre que la connaissance des avantages et inconvénients de ces mêmes stratégies de criblage. En fonction de l'avancement de l'étude, il peut être pertinent de choisir une méthode de criblage à grande échelle lorsque le pharmacophore n'est pas encore bien défini, ou une méthode de criblage à plus petite échelle lorsque le développement est plus avancé, pour permettre une étude plus fine des analogues testés.

III.1 Paramètres pris en compte lors du criblage des molécules

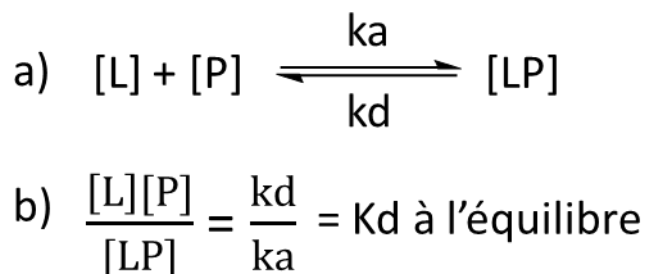
La mise en place d'une méthode de criblage passe dans un premier temps par la définition de valeurs observables et quantifiables qui seront utilisées pour attester de l'efficacité d'une molécule vis-à-vis de l'application souhaitée.

Que ce soit pour les molécules utilisées en tant qu'agent d'imagerie ou en tant qu'agent thérapeutique, les mêmes paramètres observables peuvent être mesurés, à l'exception de ceux basés sur la mesure d'une action sur une cible biologique (inhibition ou activation) réservés aux molécules thérapeutiques.

III.1.1 Paramètres généraux

III.1.1.1 La constante de dissociation

La constante de dissociation est une mesure de l'affinité d'une molécule pour une cible biologique³⁶¹. Il s'agit d'une mesure à l'équilibre de la formation du complexe protéine-ligand formé par des liaisons réversibles de la concentration nécessaire en ligand pour occuper 50% des sites disponibles (**Équation 2, a**). Ce paramètre est calculé par l'**Équation 2, b** et donne une valeur numérique en mol.L⁻¹ (une concentration) dont il est généralement admis qu'à partir d'une valeur comprise entre 10⁻⁶ M et 10⁻⁹ M une molécule présente une certaine affinité pour sa cible. Ainsi, plus la valeur de Kd est faible, meilleure est son affinité pour la cible biologique.



Équation 2 : Détermination de la constante de dissociation d'une molécule. [L] est la concentration en ligand libre, [P] est la concentration en protéine libre, [LP] est la concentration en complexe ligand-protéine, Ka est la constante d'association (l'inverse de la constante de dissociation), Kd est la constante de dissociation.

Il s'agit d'un paramètre très important dans le développement de nouvelles molécules destinées à être utilisées dans un contexte biologique puisqu'une molécule peu affine pour sa cible ira interagir avec d'autres protéines, pouvant être la source de nombreux effets indésirables.

III.1.1.2 La sélectivité et la spécificité

En chimie médicinale et dans le contexte des outils d'imagerie, la sélectivité correspond à une interaction préférentielle d'une molécule donnée pour un récepteur ou une cible biologique donnée. Une molécule sélective sera donc capable de « reconnaître » sa cible biologique même plongée dans un mélange possédant d'autres protéines, donc de donner des « vrais positifs ».

La sélectivité peut s'apprécier quantitativement en comparant la constante de dissociation d'une molécule pour la cible biologique souhaitée vis-à-vis d'autres protéines. Etant donné qu'une molécule n'est que très rarement totalement sélective pour sa cible, une valeur de Kd au moins 100 à 1000 fois supérieure pour la protéine souhaitée peut être considérée comme acceptable.

Dans le même contexte, la spécificité correspond, elle, au fait de n'obtenir aucun signal du traceur lorsque sa cible n'est pas disponible, donc la possibilité d'obtenir des « vrais négatifs ».

Elle peut être appréciée qualitativement à la fois pour les molécules luminescentes et pour les molécules radiomarquées. Ainsi, dans le cadre d'un traceur luminescent, une molécule spécifique d'une cible particulière n'émettra pas de signal de luminescence alors qu'une molécule qui ne l'est pas en émettra lorsque la cible biologique n'est pas disponible. Dans le cadre de l'utilisation de radiotraceurs, une molécule spécifique ne permettra pas d'identification précise avec un signal ne présentant aucune accumulation lorsque sa cible n'est pas présente, et inversement.

III.1.1.3 Diffusion et toxicité

Dans le cadre de tests de criblage réalisés directement sur des cellules³⁶², il est fréquemment fait le choix de déterminer la diffusion des molécules à travers les membranes cellulaires. Les problèmes de pharmacocinétique étant à l'origine de près du dixième³⁶³ des arrêts de développement de molécules d'intérêt biologique, cribler les molécules sur la base de ces paramètres peut être un choix pertinent pour limiter les risques.

De la même manière, déterminer le plus tôt possible la possible toxicité d'une molécule permet d'écartier rapidement les candidats dans lesquels de nombreux efforts auraient pu être investis, mais auraient été finalement

écartés faute de rapport bénéfique / risque acceptable. Les problèmes de toxicité causant de près du tiers³⁶⁴ des arrêts d'essais cliniques, écarter le plus en amont possible les molécules problématiques permet d'une part de limiter les risques pour les personnes participant aux cohortes mais également pour les industries de ne pas s'engager dans un développement voué à l'échec.

III.1.1.4 Le Z-score (Z-factor) et ratio signal/bruit

Le Z-score, aussi appelé Z-factor est un paramètre statistique introduit par Zhang *et al.*³⁶⁵ pour l'optimisation et la validation de la méthode de criblage utilisé lors d'un test. En calculant ce paramètre à partir d'un échantillon réduit et de l'Équation 3, ce facteur permet de donner une estimation de la validité d'une méthode de criblage.

$$Z = 1 - \frac{3SD_{\text{échantillon}} + 3SD_{\text{contrôle}}}{|Moyenne_{\text{ech}} - Moyenne_{\text{cont}}|}$$

Équation 3 : méthode de calcul du Z-score proposée par Zhang *et al.*

A partir de cette équation, les auteurs proposent sur la base d'un test « idéal » représenté en **Figure 52** l'interprétation suivante : lorsque le Z-score = 1, le test est considéré comme idéal, avec une déviation à la moyenne SD = 0, ce qui signifie que à la fois pour les tests réalisés sur les échantillons, et sur les contrôles, aucune variation n'est constatée dans chacune des deux populations. Lorsque $1 > Z \geq 0,5$, la séparation entre les résultats contrôles et échantillons est élevée, et le test peut être considéré comme bon. Toutefois, lorsque $0,5 > Z > 0$, la différence entre les tests réalisés sur les échantillons et les contrôles est faible, et une vérification des résultats sera nécessaire. Enfin lorsque Z = 0, le test peut toujours être envisagé mais avec une portée qualitative uniquement, sous la forme de résultats « oui / non ».

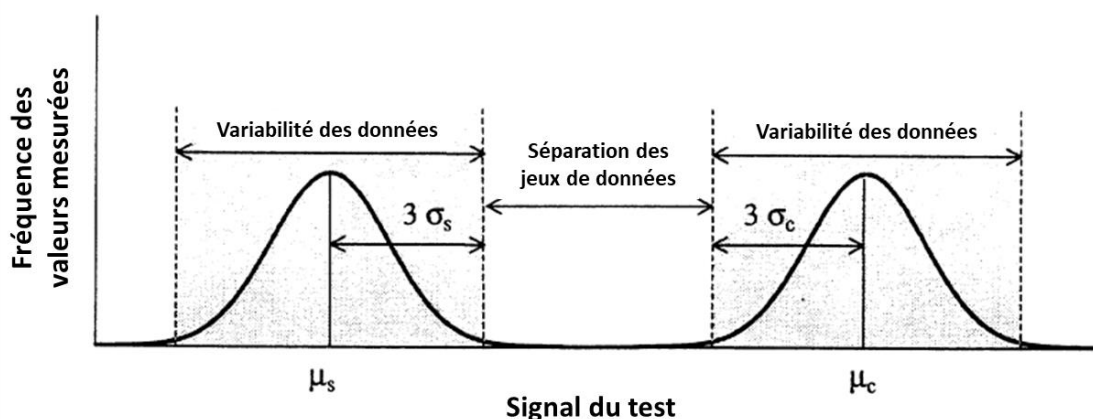


Figure 52 : Représentation schématique de la distribution des données dans un test « idéal » donnant un Z-score égal à 1. Adapté de Zhang *et al.*

Un dernier paramètre général mais fondamental dans l'élaboration de nouveaux outils d'imagerie est le ratio signal / bruit. Il est déterminé par l'Équation 4. L'optimisation de ce rapport signal / bruit permet de faciliter l'interprétation des signaux obtenus (que ce soit de la fluorescence ou de la radioactivité) par rapport au bruit de fond provenant de l'instrument ou du milieu dans lequel se trouvent les analytes.

$$S/B = \frac{\text{Moyenne signal}_{\text{Analyte}} - \text{Moyenne signal}_{\text{Bruit de fond}}}{\text{Déviation standard}_{\text{Bruit de fond}}}$$

Équation 4 : Méthode de calcul du rapport signal / bruit.

III.1.2 Molécules luminescentes

III.1.2.1 Le gain de fluorescence

Certaines molécules présentent un mécanisme de « Turn-on » de leur fluorescence en fonction de conditions particulières. Pour les fluorophores intégrant un mécanisme AIE(E) (émission induite par l'agrégation), ESIPT (transfert de proton intramoléculaire à l'état excité) et TICT (transfert de charge intramoléculaire avec changement conformationnel), présentant une fluorescence faible en conditions non propices à leur mise en œuvre, il peut être pertinent de qualifier et quantifier leur interaction avec une cible biologique au moyen du gain de fluorescence mesuré lors de leur interaction avec leur cible.

III.1.2.2 Coefficient d'extinction molaire

Le coefficient d'extinction molaire est déterminé par la loi de Beer-Lambert à partir d'une solution diluée. Il permet de rendre compte de l'absorbance d'une solution contenant une molécule donnée, à une longueur d'onde et une concentration. Il s'agit d'un paramètre dépendant à la fois de la molécule et du solvant dans lequel elle est dissoute, et permet de comparer la capacité des molécules à absorber les photons.

$$\begin{aligned} \text{a) } A(\lambda) &= \text{Log} \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = -\text{Log} T(\lambda) \\ \text{b) } A(\lambda) &= \varepsilon(\lambda) \cdot l \cdot c \end{aligned}$$

Équation 5 : Détermination de l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée $A(\lambda)$. a) Par le rapport de l'intensité lumineuse incidente (I_{λ}^0) et de l'intensité lumineuse sortante (I_{λ}). b) Par la loi de Beer-Lambert, par le produit du coefficient d'extinction molaire $\varepsilon(\lambda)$, de la longueur de la cuve et de la concentration de la molécule.

En pratique, comme cela sera illustré plus tard dans ce chapitre, le coefficient d'extinction molaire est utilisé pour la détermination de la concentration d'une molécule donnée liée à une cible biologique après une ou plusieurs étapes de lavage successifs visant à éliminer les molécules non liées.

III.1.3 Molécules radiomarquées

III.1.3.1 Le B_{max} et BP

La valeur de B_{max} correspond au nombre de sites de liaisons d'une molécule pour une cible biologique, c'est-à-dire le nombre de fois qu'une molécule donnée pourra venir se fixer sur une protéine donnée^{366,367}. Il s'agit d'un paramètre important dans le domaine de l'imagerie médicale puisqu'il va être utilisé à la fois pour la détermination du volume de distribution d'une molécule ainsi que pour donner une première estimation de la dose à injecter. Il est déterminé par l'Équation 6, a, qui dans les faibles doses de traceurs habituellement injectées peut être assimilée à l'Équation 6, b.

$$\begin{aligned} \text{a) } [LP] &= \frac{[L] \cdot B_{Max}}{Kd + L} \xrightarrow[\text{doses}]{\text{À faibles}} \frac{B_{Max}}{Kd} \approx \frac{[L]_{liée}}{[L]_{libre}} \quad \text{b)} \\ \text{c) } BP &= \frac{B_{Max}}{Kd} \end{aligned}$$

Équation 6 : Détermination de la valeur de B_{max} et de BP.

Le rapport du B_{max} et du Kd a été défini par Mintun *et al.*³⁶⁸ en 1984 et se définit comme le potentiel de liaison (Binding Potentiel, BP, Équation 6, c). Ce paramètre correspond à la capacité d'un tissu donné à interagir avec un ligand. La valeur numérique du BP donne donc une estimation de la quantité de récepteurs disponibles pour une molécule dans un tissu donné. Une valeur élevée reflètera une quantité de ligands faibles pour un ligand de forte affinité. À l'inverse, un BP faible sera le signe d'une quantité de récepteurs élevée pour des ligands de faible affinité.

III.1.3.2 Volume de distribution

Le volume de distribution est un paramètre pharmacocinétique qui représente le volume fictif dans lequel la molécule devrait être répartie pour être à la même concentration que dans l'échantillon (plasma ou sang total) où est réalisé le dosage (Équation 7).

$$\text{Volume de distribution} = \frac{\text{Quantité totale de molécule dans l'organisme (dose)}}{\text{Concentration dosée (plasma ou le sang total) à l'équilibre}}$$

Équation 7 : Méthode de calcul du volume de distribution.

Ce paramètre est utilisé pour obtenir des indications sur la distribution générale d'une molécule au sein de l'organisme. Un volume de distribution faible sera le signe d'une forte fixation aux protéines plasmatiques, alors qu'à l'inverse un volume de distribution élevé sera le signe d'un stockage élevé dans les tissus.

C'est un paramètre important dans la détermination des doses administrées puisqu'il est dépendant de l'état physiopathologique. En effet, l'âge ; la masse corporelle ; la masse grasse ; les différents débits sanguins et activités hépatiques et cardiaques ou états pathologiques augmentant la perméabilité tissulaire sont autant de variables influençant le volume de distribution.

III.2 Les méthodes de criblages spécifiques des molécules fluorescentes et / ou radioactives

III.2.1 Criblage par séparation physique

Cette méthode de criblage consiste à incuber une molécule fluorescente, absorbante ou radiomarquée avec sa cible biologique puis séparer les formes liées et libres par filtration, centrifugation, dialyse (ou une autre méthode de séparation physique) pour enfin mesurer la fluorescence, l'absorbance ou l'activité de chacune des deux fractions³⁶⁹. Cette méthode permet de calculer une constante de dissociation pour la cible biologique (**Figure 53**).

Il s'agit d'une méthodologie également très largement utilisée pour le dosage de molécules non lumineuses, de peptides et de protéines, mais pouvant également être utilisée comme méthode de criblage.

Il faut toutefois notifier que les méthodes de criblage basées sur le coefficient d'extraction molaire s'accompagnent de contraintes spécifiques auxquelles il faut pouvoir faire face de manière efficace pour réaliser un criblage à moyen ou haut débit. Premièrement, comme la détermination du coefficient d'extinction molaire se fait par la mesure de l'absorbance de plusieurs solutions de même concentration, le criblage sur un grand nombre de molécules peu décrites demande un certain travail en amont, limitant de fait le nombre de molécules testées.

De plus, la mesure de concentration à partir des propriétés d'absorbance étant non spécifique, cela demande une méthode de séparation efficace qui nécessite un équipement adapté pour pouvoir être réalisée à grande échelle, sous peine de perdre en efficacité du point de vue du nombre de molécules testées et de la validité des mesures dans le cas où certaines molécules non liées seraient encore présentes en solution lors de la mesure d'absorbance.

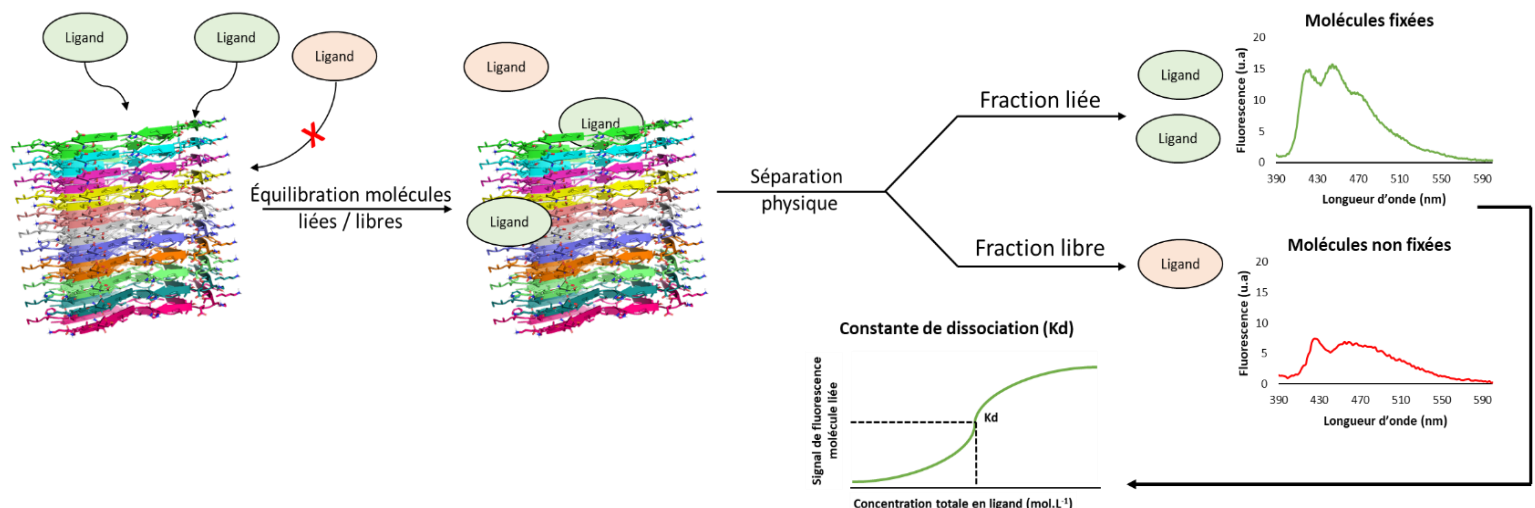


Figure 53 : Principe du criblage de ligand par affinité en utilisant une méthode de séparation physique.

Enfin, cette méthode est également applicable aux molécules radiomarquées. En appliquant les mêmes conditions de criblage précisées précédemment aux molécules radiomarquées, il est dès lors possible de qualifier et quantifier la molécule radiomarquée à la surface de la protéine.

III.2.2 Criblage par compétition (déplacement) avec un ligand de référence

Les expériences de criblage par compétition permettent de réaliser un premier tri parmi les molécules testées en fonction de leur affinité. Une molécule de référence est préalablement mise en contact avec la cible et le déplacement de celle-ci en fonction de l'introduction de la molécule testée est mesuré. Étant donné que la liaison ligand-molécule est réversible, le déplacement de la molécule de référence sera le signe d'une constante de dissociation au moins équivalente pour la molécule testée. En effet, lorsque deux molécules sont en compétition pour l'accès au même site de liaison, celle ayant la meilleure affinité finira par être majoritairement présente au niveau du site du fait du caractère réversible de la liaison. Ce type d'approche n'est donc pas compatible pour le criblage de molécules interagissant avec leur cible par une liaison covalente.

Comme dans la recherche de nouvelles molécules d'intérêt biologique, l'affinité pour la cible joue un rôle déterminant. Une molécule isolée par cette méthode de crible aura à minima une affinité du même ordre de grandeur que la molécule de référence choisie, à condition que les sites de liaison soient identiques. Ce type

d'approche présente une grande souplesse dans son champ d'application puisqu'elle peut être appliquée à la fois aux molécules luminescentes, absorbantes et aux molécules radiomarquées.

Le criblage des luminophores est possible par le suivi de l'intensité de fluorescence. Dans le cas où les traceurs testés montrent une augmentation de leur intensité de fluorescence, voire un déplacement de leur maximum de fluorescence, le criblage par compétition permet d'une part de qualifier et quantifier les changements de fluorescence mais également de réaliser un premier tri en fonction de l'affinité.

Concernant les traceurs non fluorescents, il existe deux solutions pour pouvoir visualiser la compétition d'une molécule sur un même site de liaison.

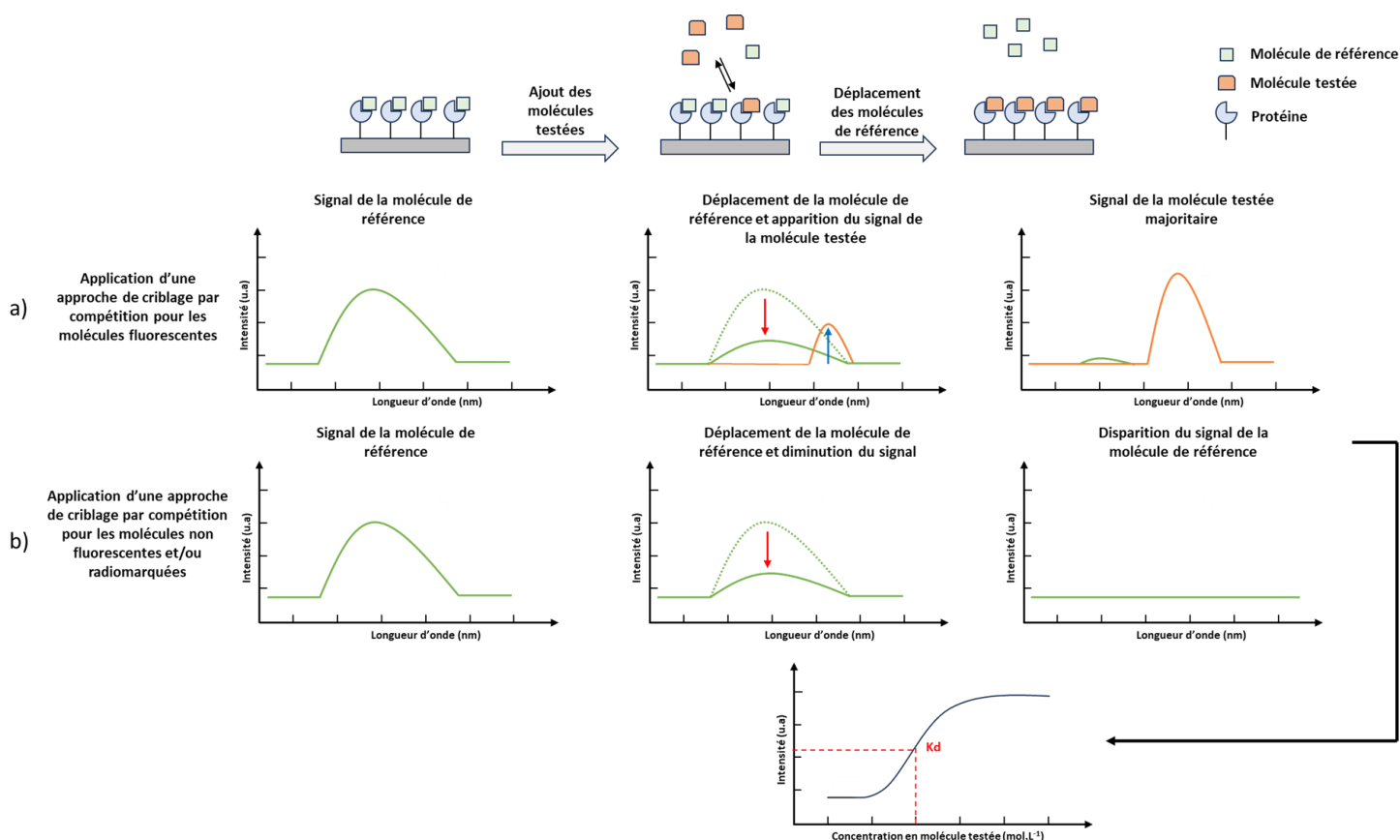


Figure 54 : Principe du criblage par compétition avec une molécule de référence. A) à partir d'une molécule de référence et d'une molécule testée fluorescentes. B) à partir d'une molécule de référence fluorescente ou non, en présence d'une molécule de référence non fluorescente et / ou radiomarquée. L'intensité en unités arbitraires (u.a) peut faire référence à un nombre de photons pour les molécules fluorescentes, une absorbance pour les molécules non fluorescentes ou une activité pour les molécules radiomarquées.

Dans un premier cas, la molécule de référence choisie devra être fluorescente. En suivant le changement de fluorescence (le maximum de fluorescence si celui-ci est différent entre les formes liées et non liées (molécules ESIPT) ou l'intensité de fluorescence (molécules TICT)), il devient possible de réaliser un premier criblage et déterminer l'affinité d'une molécule non fluorescente. Ainsi, ceci peut être envisagé dans les premières étapes de criblages relatives à l'élaboration d'un radiotracer ne possédant aucun chromophore.

Dans un second cas, lorsque la molécule de référence et la molécule ne possèdent aucun chromophore, l'utilisation du coefficient d'extinction molaire de la molécule de référence ou de la molécule testée permet de quantifier sa présence. Cela nécessite toutefois une étape supplémentaire afin d'éliminer toutes les molécules non liées, la mesure n'étant pas spécifique.

Enfin, cette méthode de criblage se prête très bien au criblage de molécules radiomarquées. Dans ce cas, le déplacement de la molécule de référence sera quantifié par mesure de l'activité relative de l'échantillon après traitement.

III.2.3 Criblage par mesure du changement de l'intensité de fluorescence

Comme présenté auparavant, certaines molécules montrent une augmentation de leur intensité de fluorescence lors de leur interaction avec une cible biologique, les molécules présentant un mécanisme de TICT ou ESIPT. En effet, puisque ce type de chromophore montre un changement d'intensité de fluorescence important lors d'une modification de son environnement proche, ce type de molécules est tout à fait adapté à cette méthode de détection (**Figure 55**).

Dans ce cas, le phénomène observable est soit un changement de l'intensité de fluorescence, soit un décalage des longueurs d'ondes d'émission. Ces changements de fluorescence permettent de quantifier en solution, sans étape de séparation, la fraction de ligand lié à sa cible biologique et déterminer sa constante d'affinité.

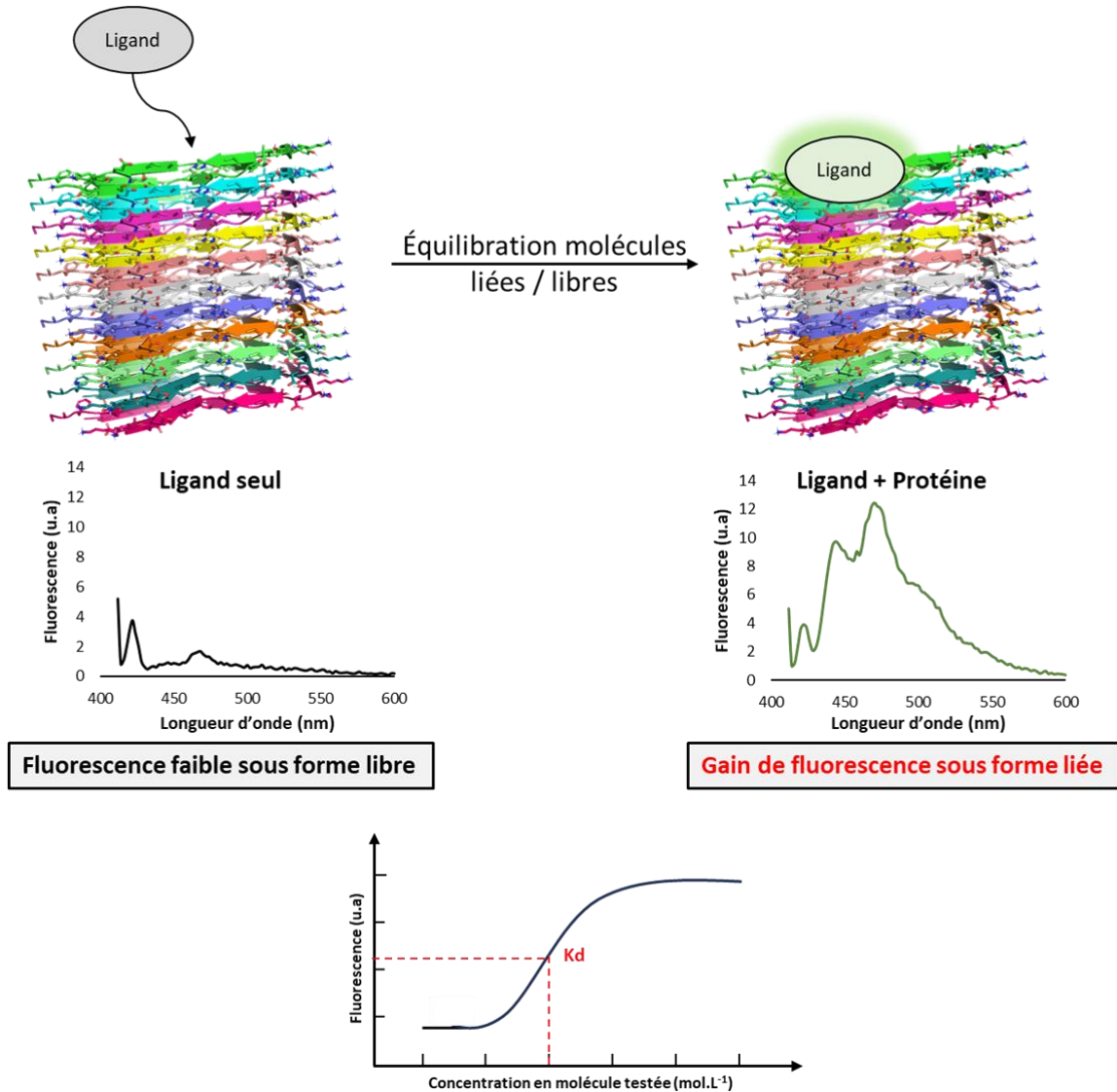


Figure 55 : Méthode de criblage de ligand fluorescent en utilisant le changement d'intensité de fluorescence lors de la fixation à une protéine.

Ces méthodes de criblage, bien que relativement simples à mettre en place et ne nécessitant pas d'équipement particulièrement complexe, sont dépendantes de leur méthode de détection : la fluorescence, l'absorption d'UV ou encore un comptage radioactif.

Cela implique que pour les molécules radiomarquées, une méthodologie de marquage efficace aura au préalable été développée, ce qui n'est pas toujours le cas, surtout dans les étapes préliminaires d'un criblage.

Concernant les criblages par compétition, l'absence de molécule de référence peut être un frein à la mise en place de ce type d'approches lorsque la cible biologique n'est pas suffisamment décrite. De même, lorsque la molécule de référence et celle testée sont fluorescentes avec des longueurs d'onde d'émission proches, cela entraînera une mauvaise appréciation des résultats par la superposition des signaux.

III.3 Méthodes de criblage ne nécessitant aucun marquage

Plusieurs méthodes d'identification de molécules d'intérêt biologique ne nécessitant aucun marquage sont très régulièrement utilisées à la fois dans le milieu académique mais également industriel. Ces stratégies s'appuient sur la mesure de phénomènes physiques qui ne sont pas liés à la structure des molécules criblées. Parmi ces méthodes de criblage, 3 sont particulièrement utilisées : le criblage RMN (résonance magnétique nucléaire) par différence de transfert de saturation, le criblage par résonance des plasmons de surface et la calorimétrie.

III.3.1 Criblage RMN par expérience de différence de transfert de saturation (STD)

Les expériences de transfert de différence de transfert de saturation (STD) sont des expériences de mise en évidence d'interaction ligand-protéine par transfert d'aimantation entre deux couples de spin voisins par effet NOE (Effet Overhauser Nucléaire)³⁷⁰. Il s'agit d'expériences de type NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy).

L'effet NOE ou relaxation croisée, est un couplage dipolaire correspondant à un transfert d'aimantation à travers l'espace. Ce transfert d'aimantation se manifeste par une saturation des différents atomes couplés entre eux, et donc une atténuation voire une disparition de leur signal. C'est un effet en $1/r^6$, qui se manifeste au plus loin à 6 Å.

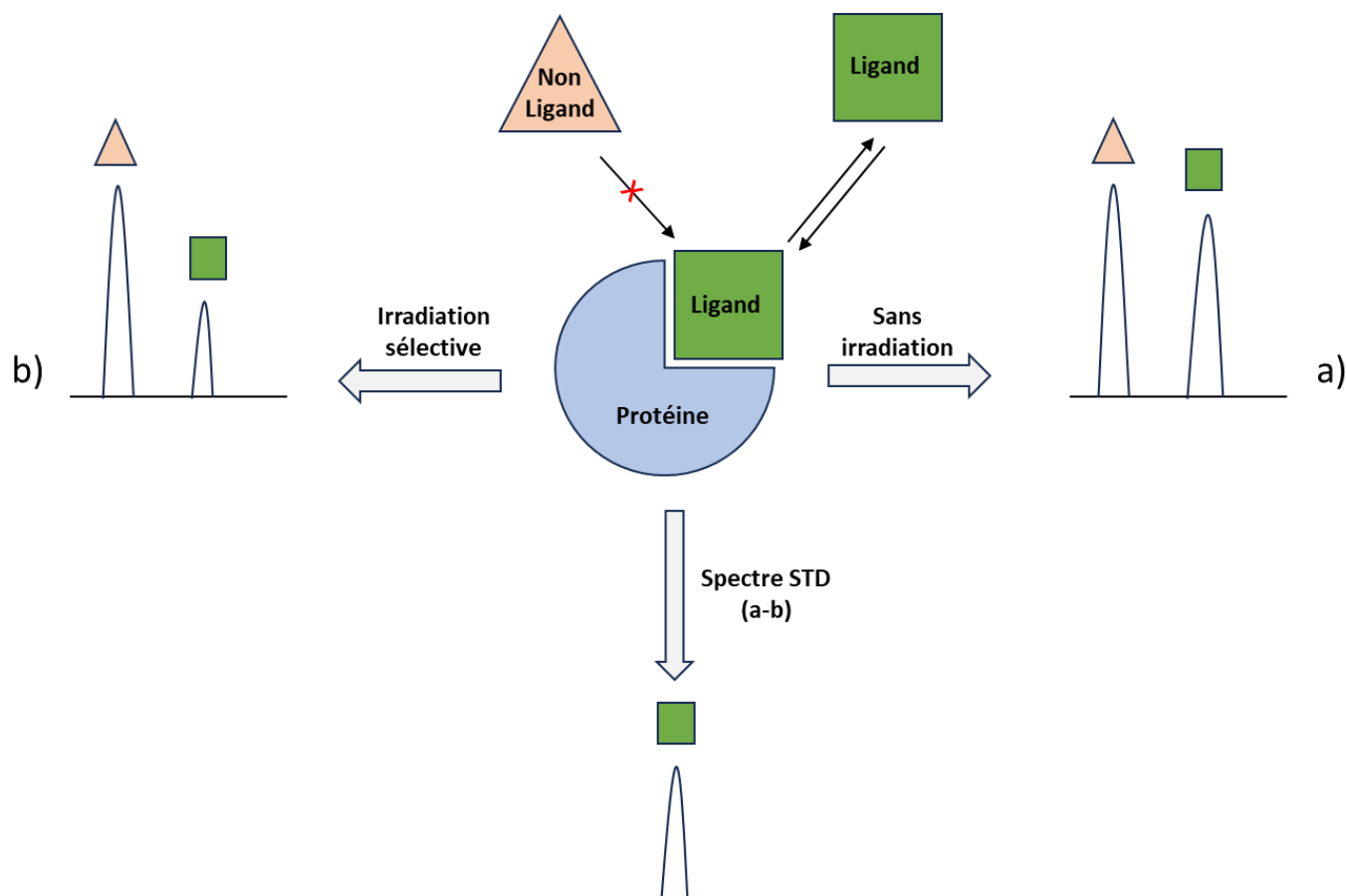


Figure 56 : Principe de l'expérience STD pour le criblage de molécules par RMN. A) Signal RMN obtenu sans irradiation sélective de la protéine. B) Signal obtenu après irradiation sélective de la protéine. Le spectre STD correspond à la différence des spectres a et b.

Schématiquement, une expérience STD se fait en 3 étapes : Acquisition d'un spectre dans lequel la cible est saturée^a par irradiation sélective en présence de ligands ; acquisition d'un spectre sans irradiation sélective de la protéine en présence de ligands puis soustraction des deux spectres (Spectre STD).

Lors de l'acquisition des deux spectres, la liaison ligand-protéine étant réversible, les ligands sont détectés comme étant libres en solution (**Figure 56**). Une différence de signal pourra toutefois être observée pour les groupements interagissant avec la protéine. Ceux-ci verront leur intensité diminuer du fait de l'effet NOE intermoléculaire qui saturera ces groupements.

Le spectre obtenu par la différence des deux spectres acquis correspondra donc uniquement aux composés qui interagissent avec les protéines, avec une intensité diminuée pour les groupements interagissant avec la protéine. Il est à noter que ce type d'approche est également envisageable par des expériences basées sur l'acquisition de signal ¹³C, même si les acquisitions les plus fréquentes sont basées sur le ¹H.

Une autre expérience RMN similaire, le waterLOGSY³⁷¹ (water-Ligand Observed via Gradient Spectroscopy) est assez similaire à l'expérience STD si ce n'est que dans ce type d'expérience, les protons de l'eau sont irradiés (**Figure 57**). L'effet NOE se transmet dans ce cas-là par les molécules d'eau, et les spectres acquis montrent un effet NOE négatif lorsque les groupements interagissent avec la protéine, et un effet NOE positif pour les groupements chimiques en interaction uniquement avec l'eau.

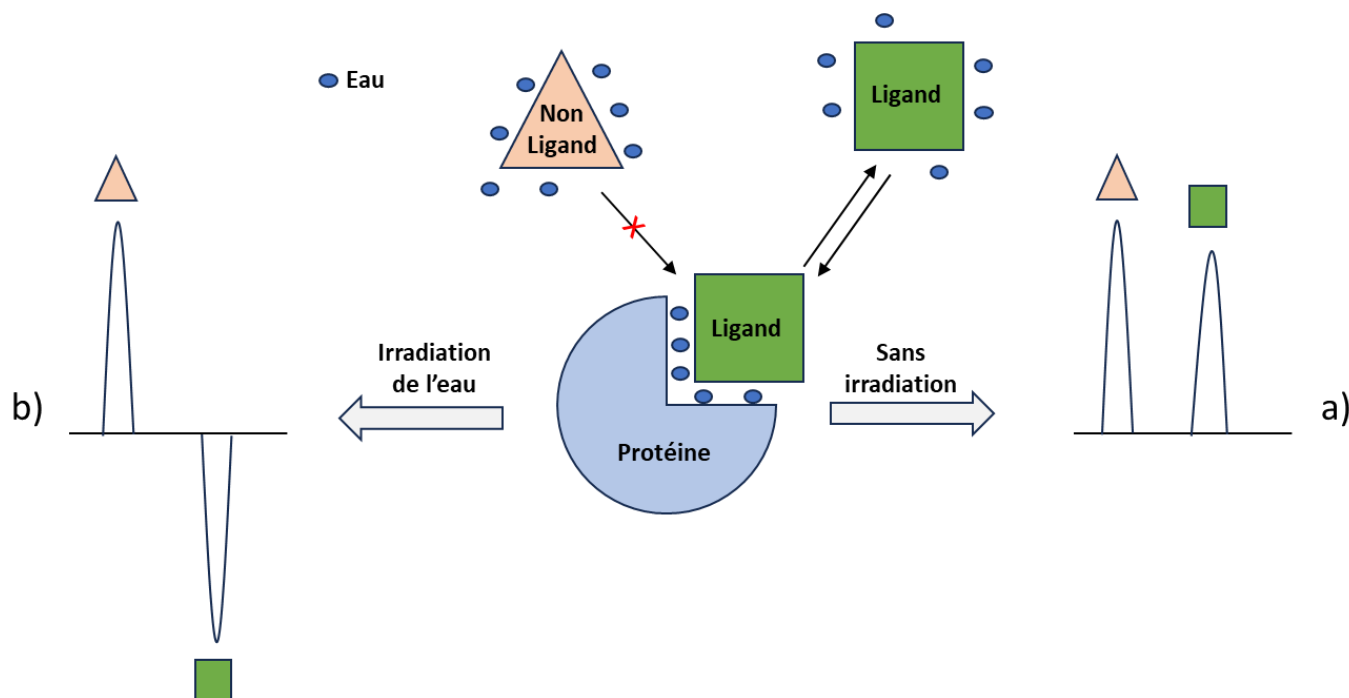


Figure 57 : Principe de l'expérience WaterLOGSY pour le criblage de molécules par RMN. A) Spectre obtenu sans irradiation sélective de l'eau. B) spectre obtenu après irradiation sélective de l'eau, montrant un effet NOE négatif pour le ligand.

Ces expériences RMN peuvent être employées dans le criblage de fragments ou de petites molécules lors d'un criblage préliminaire, puisqu'elles permettent de mettre en évidence des interactions de petites molécules possédant une constante de dissociation comprise entre 1 mM et 100 nM³⁷². De plus, contrairement à d'autres méthodes de criblages présentées précédemment, elles peuvent être employées pour le criblage de molécules en mélange puisque le spectre STD permet de visualiser quels groupements chimiques interagissent avec la protéine³⁷³.

Comme toutes les expériences RMN, celles-ci sont toutefois peu sensibles par nature, et peuvent nécessiter des concentrations en protéines relativement importantes (10-100 µM) pour lesquelles le temps d'acquisition (plusieurs dizaines de minutes à plusieurs heures) peut être une nouvelle source de contraintes pour les protéines peu stables.

^a La saturation en RMN se réfère à une égalisation des populations de Zeeman. Cela se traduit par une absence de signal de la part des spins concernés après une impulsion $\pi/2$.

De même, ces expériences ne sont pas adaptées aux molécules très affines pour lesquelles le temps de résidence élevé au niveau du site de liaison diminue le signal STD. De la même manière, lorsque l'affinité est trop faible, la cinétique de liaison et de dissociation étant très lente, la variation d'intensité sera très faible et difficile à discerner.

Enfin, certaines problématiques peuvent apparaître quant au choix du solvant. Les petites molécules organiques sont généralement assez solubles dans le DMSO (Diméthylsulfoxyde), et moins dans l'eau ce qui peut les écarter du criblage. De la même manière les protéines sont solubles dans l'eau mais peu de solvants organiques à l'exception du DMSO qui a tendance à dénaturer la structure tridimensionnelle des protéines, essentielle à la reconnaissance des ligands.

III.3.2 Criblage par résonance des plasmons de surface (résonance plasmonique de surface, SPR)

Le criblage par résonance des plasmons de surface est une méthode de criblage optique basée sur le transfert d'énergie entre une onde électromagnétique et les électrons d'une couche métallique^{374,375}. Dans cette approche, les protéines en solution sont fixées ou adsorbées à la surface d'une couche métallique.

Lorsque la surface du métal qui n'est pas en contact avec les protéines est irradiée par un faisceau monochromatique selon différents angles, la lumière va être réfléchi sauf pour l'angle dit de « résonance plasmonique » propre à la protéine en surface. A cet angle, elle va être absorbée, puis diffusée sous la forme d'une onde plasmon se propageant à la surface de la couche métallique, dont l'intensité décroît rapidement (onde évanescente).

Comme l'angle de résonance plasmonique dépend de l'indice de réfraction du milieu situé au-dessus de la couche métallique, lors de la formation du complexe ligand-protéine, un changement de ce paramètre pourra être détecté, signe d'une interaction ligand-protéine. Le suivi dans le temps de l'angle de résonance permet donc de mesurer qualitativement et quantitativement (par mesure de Kd) la formation du complexe ligand-protéine.

Expérimentalement, le dispositif (**Figure 58**) est constitué de 3 parties : une partie centrale constituée d'une lame de verre possédant un revêtement métallique possédant de fortes propriétés réfléchissantes et riche en électrons, (l'or est généralement utilisé) ; une partie inférieure constituée d'un prisme visant à diffracter la lumière, afin de créer artificiellement plusieurs angles incidents de lumière sur la surface réfléchissante ; une partie supérieure, où sont fixées les protéines.

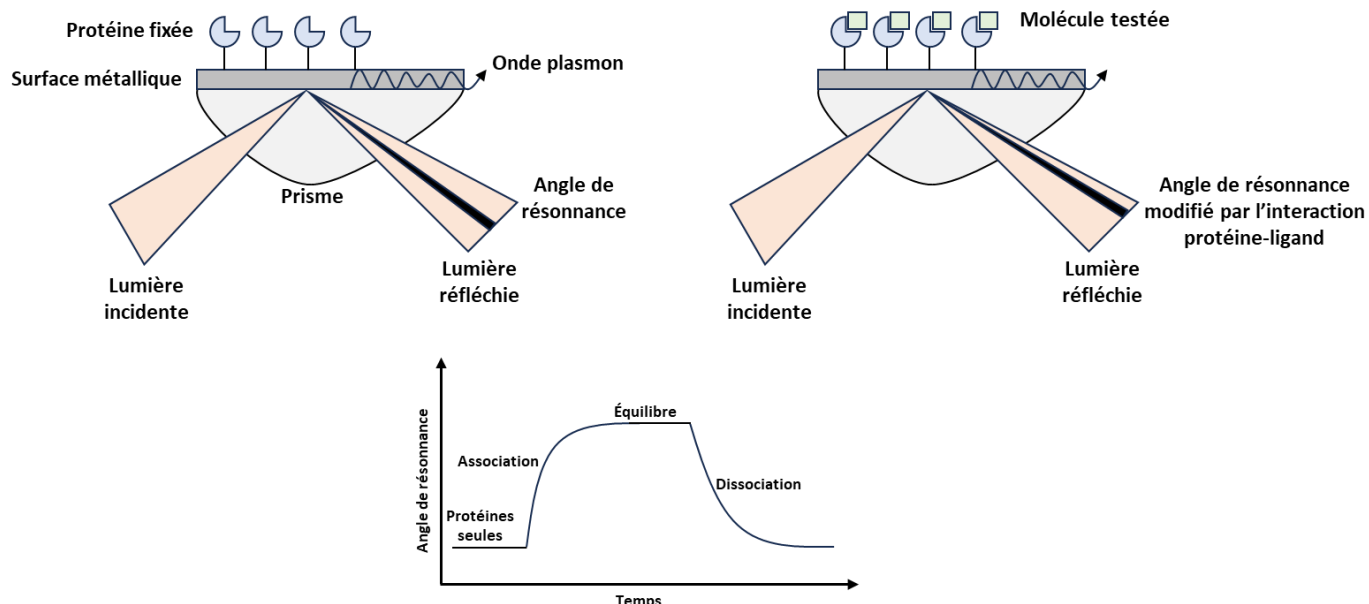


Figure 58 : Principe de la résonance plasmonique de surface pour la mise en évidence d'une interaction ligand-protéine. Adapté de Ciulli et al.

La lumière est donc focalisée à l'aide d'un laser sur la surface métallique qui en passant au travers du prisme sera diffractée. Elle est ensuite réfléchi sur la surface métallique et récupérée en sortie de prisme (en passant éventuellement au travers d'une lentille) pour détecter la valeur de l'angle de résonance plasmonique et de sa

modification lors de la formation d'un complexe ligand-protéine. Le suivi de l'angle de résonance au cours du temps sur un sensorgramme permet de mesurer une constante de dissociation K_d pour le ligand.

Cette méthode de criblage présente de nombreux avantages, dont celui de pouvoir faire l'objet d'études à grande échelle. Ces dispositifs sont aujourd'hui miniaturisables sous la forme de puces contenant plusieurs centaines d'unités pouvant chacune accueillir une protéine ou un ligand différent, dont certains instruments commerciaux permettent aujourd'hui une analyse en microfluidique, en flux continu pour du criblage en parallèle³⁷⁶.

De plus, comme les protéines sont directement fixées à la surface de la surface métallique, la quantité de protéine nécessaire à ce type d'étude est relativement faible. Sous réserve que les méthodes de fixations sur la surface métallique soient efficaces, il est même possible de réutiliser une puce plusieurs fois ce qui réduit d'autant plus le besoin en protéines.

Toutefois, plusieurs désavantages sont à signaler avec cette méthode de criblage, comme la quantité de ligand nécessaire pour mener à bien ce type de criblage puisqu'il est recommandé d'employer une concentration proche de la valeur de K_d (entre 0,1 et 10 fois), ce qui peut poser des problèmes de solubilité lorsque cette valeur est importante.

De la même manière que pour la STD et pour les mêmes raisons de dénaturation de protéine, le choix du solvant est également important, surtout si le DMSO est le seul solvant envisageable.

III.3.3 Le criblage par calorimétrie (Isothermal Titration Calorimetry, ITC)

La calorimétrie est une méthode de titration basée sur la mesure de la quantité de chaleur d'une solution lors d'une réaction chimique. Cette méthodologie de criblage peut être appliquée pour la mesure de plusieurs paramètres thermodynamiques de liaison comme la variation d'enthalpie ΔH , la variation d'enthalpie libre ΔG et la variation d'entropie ΔS ainsi que la constante de dissociation du couple ligand protéine³⁷⁷ (Figure 59).

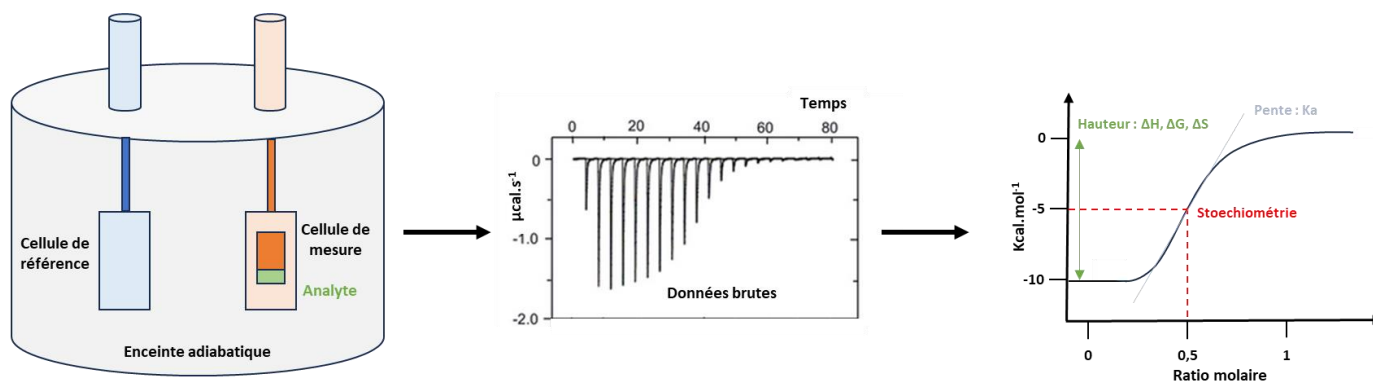


Figure 59 : Principe de la calorimétrie pour la détermination de la constante d'affinité et des paramètres thermodynamiques d'une molécule.

Ce type d'approche se fait par l'addition répétée ou unique d'une quantité connue de ligand dans une enceinte adiabatique contenant la protéine en solution. La chaleur d'interaction est alors mesurée jusqu'au retour à l'état d'équilibre du système, du fait d'une quantité insuffisante de ligand pour saturer la protéine ou d'une quantité de ligand plus importante que les sites de liaison disponibles.

Ce type d'approche, bien que très efficace souffre toutefois de plusieurs inconvénients majeurs que sont la quantité de protéine et de ligand nécessaire au criblage, qui nécessite une méthode de production efficace, ainsi qu'une limitation quant à l'échelle du criblage. Cette méthode étant difficilement automatisable d'un point de vue pratique, elle est donc à réserver à une étape de criblage n'impliquant qu'un nombre limité de molécules.

Les approches ne nécessitant aucun marquage particulier sont très efficaces dans le criblage de nouvelles molécules mais exigent des équipements particuliers pouvant limiter leur diffusion.

Les méthodologies de criblages disponibles sont donc à mettre en perspective d'une part avec le type de molécules à tester, les équipements disponibles, les informations souhaitées ainsi que les méthodes de productions de protéines

et de ligand (**Tableau 16**). De même, le débit de criblage fait partie des considérations à prendre en compte, en fonction de l'avancement d'une étude.

Avantages	Limites	Informations obtenues
Criblage par séparation physique		
Facilité de mise œuvre Haut débit de criblage	Méthode de séparation physique à grande échelle nécessaire Caractérisation importante du ligand préalable	Kd
Criblage par compétition		
Facilité de mise en œuvre Haut débit de criblage Pas d'étape de séparation	Besoin d'un ligand de référence Caractérisation importante du ligand préalable Les molécules testées doivent se lier au même site que le ligand de référence	Kd
Criblage par mesure du changement de l'intensité de fluorescence		
Facilité de mise en œuvre Haut débit de criblage Pas d'étape de séparation	Réservé aux molécules fluorescentes sensibles aux changements d'environnement Caractérisation importante du ligand préalable	Kd Mesure du gain de fluorescence
Criblage par résonance plasmonique de surface		
Pas de marquage préalable Consommation en protéines faible Haut débit de criblage	Equipement dédié nécessaire Consommation de ligand importante	Kd Constantes cinétiques d'association et de dissociation
Criblage RMN par expérience de différence de transfert de saturation		
Pas de marquage préalable Criblage de mélanges	Consommation en protéines importante Peu adapté aux molécules de forte affinité Débit de criblage moyen	Kd Informations sur les sites de liaison
Le criblage par calorimétrie		
Pas de marquage préalable	Equipement dédié nécessaire Faible débit de criblage	Kd ΔG , ΔH , ΔS Stœchiométrie de liaison

Tableau 16 : Résumé des caractéristiques des méthodes de criblages abordées dans le chapitre.

La définition d'une cible biologique et la méthodologie de criblage définies, les familles de molécules définies peuvent maintenant être adaptées aux spécificités demandées pour une utilisation en tant qu'outil d'imagerie. Les molécules pourront être soit radiomarquées, soit modifiées de manière se désexciter en suivant un mécanisme luminescent.

Il faut toutefois noter que dans les faits, les étapes de synthèse et de test sont généralement réalisées en parallèle, mais sont traitées ici de façon séparée pour plus de clarté.

IV. Spécificités du développement des outils d'imagerie

Une fois que le pharmacophore le plus adapté a été trouvé pour l'outil d'imagerie développé, le choix de la méthode d'imagerie se pose. Celui-ci est à mettre en perspective avec le type d'application recherchée : *in vivo* ou *in vitro*. Une application *in vivo* possède l'avantage de refléter les conditions physiologiques « réelles » de la pathologie recherchée, mais est conditionné à plusieurs exigences strictes comme l'innocuité, une très forte spécificité et sélectivité ou encore de pouvoir être dirigé jusqu'à son site de liaison, et d'être ensuite éliminé.

L'application *in vitro* d'un outil d'imagerie exige également une grande spécificité et sélectivité pour sa cible biologique mais peut posséder des paramètres ADMET jugés insuffisants pour une application *in vivo*, du fait de son application dans un milieu plus contrôlé. Ce contrôle est toutefois une des limites que peut posséder ce type d'approches étant donné qu'il ne reflète pas parfaitement des conditions physiologiques « réelles », mais peut au contraire s'avérer très utile lors de criblages en normalisant les conditions expérimentales.

Les molécules d'imagerie développées dans un but d'utilisation *in vivo* ont donc les mêmes exigences en termes de propriétés physicochimiques et de sûreté que les molécules utilisées pour leur activité biologique, en plus de devoir proposer une méthode de détection spécifique.

Cependant, d'autres exigences relatives aux outils d'imagerie sont à prendre en compte lors du développement de telles molécules, à savoir une absence d'activité biologique et une grande stabilité métabolique (sauf en cas d'administration d'un pro-médicament donnant l'agent d'imagerie après métabolisation³⁷⁸⁻³⁸¹).

De nombreuses méthodes d'imagerie sont aujourd'hui employées, qui peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les molécules radiomarquées et les molécules luminescentes. Les méthodes de criblages relatives à chacune des catégories ayant été développées en partie **Méthodes de criblage et d'évaluation des molécules** page **84**, cette partie se concentrera essentiellement sur les outils d'imagerie composés de petites molécules organiques.

IV.1 Les méthodes d'imagerie médicale impliquant des radioisotopes

La découverte des rayons X par Wilhelm Röntgen en 1895 puis de la radioactivité par Marie et Pierre Curie-Joliot et Henri Becquerel en 1898, ont été à la base de l'utilisation des radioligands dans le domaine médical. Si leur utilisation comme agent thérapeutique a été très rapidement démocratisée, avec dès 1896 des applications dans le traitement de cancers, il aura toutefois fallu attendre 1934 et la découverte de la radioactivité artificielle par les époux Curie-Joliot pour que la synthèse de radioéléments à vie courte devienne envisageable et puisse être appliquée à l'imagerie médicale³⁸².

C'est à partir de la fin des années 1950 et l'essor de l'informatique que leur usage est finalement concrétisé avec le développement de la tomographie par émission monophotonique (TEMP ou SPECT en anglais), puis de la scintigraphie. Les années 1970 et 1980 ont été une époque charnière dans l'utilisation de ces outils d'imagerie avec la construction des premiers cyclotrons, essentiels à la production de radioisotopes à vie courte, le développement la tomographie par émission de positons (TEP ou PET en anglais) et enfin de l'imagerie par résonance magnétique (IRM ou MRI en anglais) n'utilisant aucun radiotraceur mais pouvant faire appel à certains produits de contraste. Il s'agit d'une méthode d'imagerie très utilisée car elle est non invasive, non destructrice et ne souffrant que d'un nombre très restreint de contre-indications.

L'amélioration des outils d'imagerie IRM est aujourd'hui concomitante au développement d'aimants de plus en plus puissants (11,7 Teslas pour l'IRM le plus puissant au monde destiné à être utilisé chez l'Homme) et donc aux avancées dans le domaine des aimants supraconducteurs. La méthode d'imagerie est basée sur la précession des atomes possédant un spin non-nul lorsqu'ils sont plongés dans un champ magnétique. Deux paramètres sont alors importants à déterminer, de manière simplifiée, le temps T_1 , dit de relaxation longitudinale, et le temps T_2 de relaxation transversale. Le temps T_1 correspond au temps nécessaire aux spins pour s'aligner le long du champ de l'IRM (le temps de « pousse »). A l'inverse, le temps T_2 correspond au temps nécessaire aux spins pour retourner dans leur état initial après une impulsion adéquate, conduisant à la formation d'un signal FID (Frequency Induced Decay).

De nos jours, la médecine nucléaire se base sur l'utilisation de plusieurs radioisotopes pour l'imagerie médicale. Les émetteurs β^+ sont utilisés pour la Tomographie par Emission de Positons (TEP) et les noyaux émetteurs de rayons γ pour les gammagraphies (on parle alors de scintigraphie) ou les rayons X, utilisés pour les radiographies. Les applications en TEP et en scintigraphie sont des méthodes d'imagerie internes (le patient devient la source de rayonnement) alors que la radiographie est, elle, basée sur une source externe (la source de rayonnement vient d'un dispositif externe). Il est important de noter que dans le cas de la radiographie, la source de rayonnement est rarement radioactive mais c'est son excitation par une forte tension électrique qui va produire les rayons X à même de réaliser l'examen médical.

IV.1.1 La scintigraphie γ

La scintigraphie γ est une méthode d'imagerie basée sur l'utilisation d'un radioligand émetteur de rayons γ . Ce type de rayonnement peut être réalisé à l'échelle nucléaire par deux transformations : la transition isomérique, à partir d'un noyau à l'état excité, ou par capture électronique lorsqu'un atome est déficient en neutrons par absorption d'un électron de sa couche électronique (**Schéma 43**).

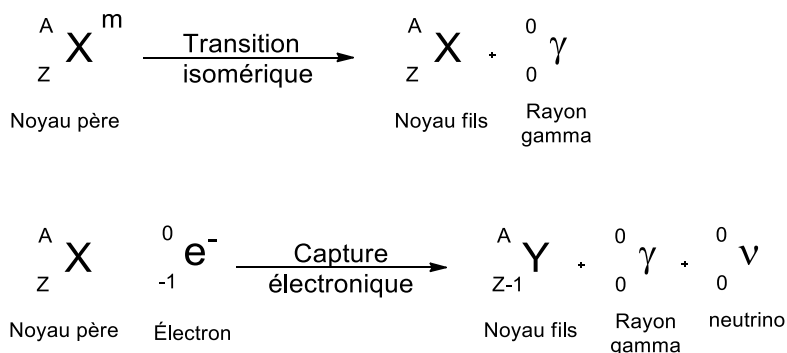


Schéma 43 : Processus nucléaires aboutissant à la formation d'un rayonnement gamma.

Lors d'un examen de scintigraphie γ , le radionucléide injecté au patient est couplé à un vecteur spécifique d'un organe ou d'un compartiment en particulier. Le radiotracer est donc l'association radionucléide + vecteur. Cette spécificité donne un caractère fonctionnel à ce type d'analyses puisqu'il permet par comparaison à un patient sain de comparer la fixation du radiotracer en situation pathologique par rapport à une situation physiologique saine, ainsi qu'un suivi dans le temps.

Le choix du radionucléide en fonction du compartiment ciblé se fait selon plusieurs critères. Il doit tout d'abord posséder une demi-vie la plus courte possible afin de diminuer le risque d'irradiation aigue du patient tout en étant suffisamment longue pour être détectable en prenant en compte le temps de préparation de la solution radiopharmaceutique, son administration et sa mesure.

Radioisotope	Demi-vie	Noyau fils
Chrome 51 *	27,7 jours	Vanadium 51
Gallium 67 *	3,26 jours	Zinc 67
Krypton 81 métastable *	13 secondes	Krypton 81 ou Brome 81
Technétium 99 métastable *	6h	Technétium 99 ou Rubidium 99
Indium 111 *	2,8j	Cadmium 111
Iode 123 *	13h	Tellure 123
Iode 131	8j	Xénon 131
Thallium 201	3,1j	Mercure 201

Tableau 17 : Radionucléides les plus fréquemment utilisés en scintigraphie γ . Les radioisotopes marqués de « * » sont obtenus artificiellement à partir d'un isotope stable.

Le radioisotope doit aussi présenter une certaine sélectivité pour sa cible biologique. Par exemple, le Chrome 51 est spécifiquement utilisé pour l'étude des hémorragies gastro-intestinales, le marquage des érythrocytes et la détermination de la fonction rénale par mesure de l'activité glomérulaire ; le Gallium 67 est utilisé pour sa fixation à certaines protéines plasmatiques (transferrine, lactoferrine et ferritine) sur-représentées dans les tumeurs ; le Krypton 81 étant un gaz, il est principalement utilisé dans l'étude de la ventilation pulmonaire ; le Technétium 99^m est employé dans de nombreux domaines, que ce soit l'étude de tumeurs osseuses, le marquage de cellules musculaires, des érythrocytes ou encore l'étude de la ventilation pulmonaire utilisé sous forme de gaz ; l'Indium 111 est employé pour le marquage des leucocytes, des érythrocytes ou des plaquettes ; l'Iode 123 est principalement utilisée lors d'examens de scintigraphies thyroïdiennes, le diagnostic de cancers sanguins ou encore pour l'aide au diagnostic de maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson ; l'Iode 131 est quant à lui principalement utilisé pour le traitement de maladies thyroïdiennes, mais peut également être utilisé pour ses propriétés diagnostiques enfin, le Thallium 201 est quant à lui essentiellement utilisé dans la scintigraphie myocardique pour ses propriétés similaires au potassium.

Le choix du vecteur est lui aussi essentiel, puisqu'il va être à l'origine de l'adressage du radionucléide à la cible biologique souhaitée. Parmi ces vecteurs, de nombreux agents chélatants ont prouvé leur efficacité et sont couramment utilisés à l'hôpital, comme la tétréosmine et le technétium 99^m dans l'imagerie du myocarde, des petites molécules comme l'ioflupane, sélectif des récepteurs présynaptiques de la dopamine transportant de l'iode 123 ou encore des dérivés peptidiques comme le pentétréotide, chélatant l'indium 111, utilisé pour l'imagerie des récepteurs de la somatostatine.

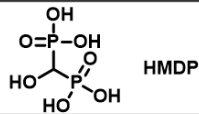
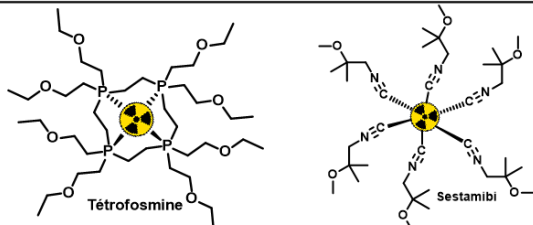
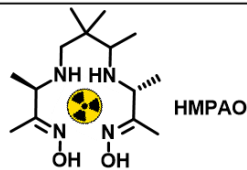
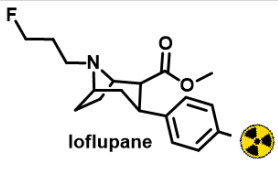
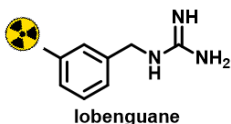
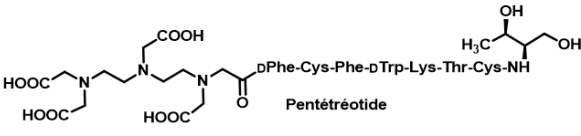
Radionucléide	Vecteur	Cible biologique
Technétium 99m	 HMDP	Ostéoblastes
	 Tétrofosmine Sestamibi	Myocarde, parathyroïde
	 HMPAO	Débit sanguin cérébral
Iode 123	 Ioflupane	Transporteurs présynaptiques de la dopamine
	 Iobenguane	Médullosurrénale
Indium 111	 Pentétreotide	Récepteurs de la somatostatine

Tableau 18 : Exemples de vecteurs utilisés en scintigraphie gamma.

IV.1.2 La Tomographie par Emission de Positons (TEP)

La tomographie par émission de positons est une technique d'imagerie fréquemment utilisée mettant en jeu des faibles doses de radioligands à demi-vie radioactive courte. Ces traceurs radioactifs trouvent des applications en imagerie du fait qu'ils permettent de visualiser et de quantifier un processus physiologique donné et ses modifications fonctionnelles associées à une maladie en suivant la pharmacocinétique du traceur chez le sujet sain et / ou le patient malade.

La TEP est fondée sur l'utilisation de traceurs β^+ qui lors de la désintégration du noyau vont émettre un positon (l'antiparticule de l'électron), pouvant très rapidement interagir avec un électron du milieu et s'annihiler en deux photons de 511 KeV (**Schéma 44**).

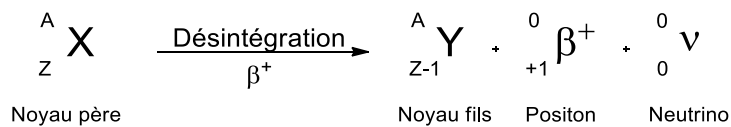


Schéma 44 : Désintégration d'un noyau émetteur β^+ et annihilation d'un positon.

Une particularité physique importante de ces photons qui est mise à profit par la TEP, est qu'ils sont émis avec un angle de 180° . En plaçant des détecteurs de photons tout autour de la zone émettrice, il devient possible de reconstituer une image 3D des tissus traversés.

L'imagerie TEP³⁸³ utilise différents radioisotopes dont le choix va dépendre de leur demi-vie radioactive mais également des possibilités d'incorporation de l'isotope dans la structure chimique qui donnera le radiotraceur. C'est pourquoi parmi les radioisotopes émetteurs de positons, seul un nombre très restreint est finalement utilisé. Les radioisotopes les plus utilisés pour l'imagerie TEP sont au nombre de 9 (**Tableau 19**) : le ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{64}Cu , ^{68}Ga , ^{82}Rb , ^{89}Zr , ^{124}I . Ce sont tous des isotopes artificiels créés à l'aide d'un cyclotron qui pour la plupart nécessitent d'être produits sur place, juste avant l'examen, au vu de leur faible demi-vie radioactive.

Radioisotope	Demi-vie	Noyau fils
Carbone 11	20 minutes	Bore 11
Azote 13	10 minutes	Carbone 13
Oxygène 15	122 secondes	Azote 14
Fluor 18	110 minutes	Oxygène 18
Cuivre 64	12,7 heures	Nickel 64
Gallium 68	68 minutes	Zinc 68
Rubidium 82	75 secondes	Krypton 82
Zirconium 89	78 heures	Yttrium 89
Iode 124	4,2 jours	Tellure 124

Tableau 19 : Principaux radioisotopes utilisés en imagerie médicale TEP.

Dans tous les types de cancers, l'imagerie TEP constitue un examen de routine (**Tableau 20**). L'utilisation du ^{18}F FDG, est particulièrement répandue puisqu'il s'agit d'un traceur métabolique permettant de mettre en évidence des zones de consommation importante de glucose, donc des foyers tumoraux³⁸⁴. De nombreux traceurs spécifiques d'une cible biologique sont également fréquemment employés à l'hôpital. C'est par exemple le cas du Gécitinib marqué au fluor 18, qui est une molécule utilisée classiquement dans le traitement de cancers en inhibant la tyrosine kinase d'un récepteur de facteur de croissance, l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor). Le marquage au fluor 18 de cette molécule permet de réaliser un suivi de la présence de ce récepteur, et donc réaliser le suivi personnalisé du traitement d'un patient recevant du Gécitinib³⁸⁵.

Le carbone 11 est également utilisé dans de nombreux domaines, parmi lesquels la neurologie dans le cadre de la maladie d'Alzheimer. Le RO6924963 par exemple, est une molécule développée par la société Hoffmann-La Roche pour l'imagerie des dépôts de Tau présents sous la forme d'enchevêtrements neurofibrillaires³⁸⁶.

Le PS13 est également une molécule également en cours de développement pour l'imagerie de la cyclooxygénase 1 dans le cerveau pour des fins diagnostiques afin de mettre en évidence des phénomènes de neuroinflammation³⁸⁷.

Les métaux ont également montré leur intérêt dans une approche diagnostique. Le cuivre 64 par exemple, est utilisé à l'hôpital, sous forme complexée par le Dotatate, un vecteur composé de deux parties fonctionnelles : une première partie permettant la chélation du métal (le DOTA) et une seconde partie peptidique, responsable de l'adressage vers la cible biologique, le récepteur de la somatostatine. Le gallium 68, enfin, est également utilisé à l'hôpital sous forme chélatée par une molécule bifonctionnelle pour les patients en récurrence de cancer de la prostate, pour l'imagerie des antigènes membranaires spécifiques de la prostate (PMSA).

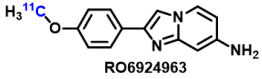
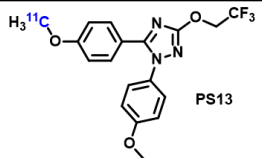
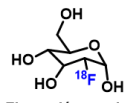
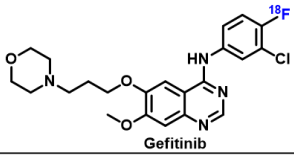
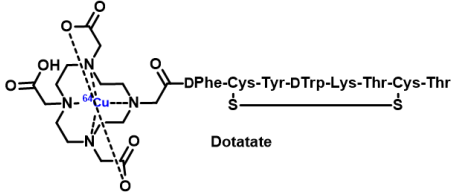
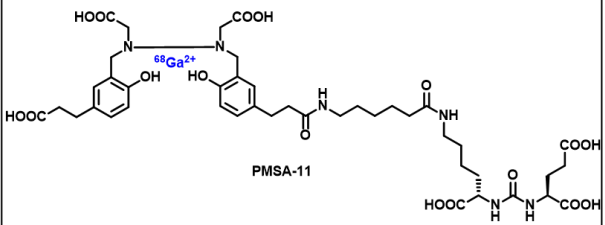
Radionucléide	Vecteur	Cible biologique
Carbone 11	 RO6924963	Tau
	 PS13	COX-1
Fluor 18	 Fluorodésoxyglucose	Détection foyers tumoraux
	 Gefitinib	EGFR tyrosine kinase
Cuivre 64	 Dotatate	Récepteurs de la somatostatine
Gallium 68	 PMSA-11	Prostate-specific membrane antigen (PMSA)

Tableau 20 : Exemples de vecteurs et radionucléides utilisés en imagerie TEP, et applications associées.

IV.1.3 Les précurseurs utilisés dans le radiomarquage des traceurs utilisés en imagerie TEP

Les méthodes de radiomarquage en imagerie TEP se doivent d'être particulièrement robustes et rapides. En effet, étant donné la faible demi-vie des radioisotopes utilisés (20 secondes pour le carbone 11 et 110 minutes pour le fluor 18), le temps nécessaire à la production de la molécule radiomarquée, sa purification, son conditionnement et son administration se doit d'être le plus court possible. Pour réaliser le radiomarquage, de nombreux réactifs ont été introduits au fil des ans pour donner une plus grande diversité de groupements fonctionnels.

Concernant le carbone 11, utilisé en tant qu'émetteur β^+ , les précurseurs employés sont obtenus à partir du $^{11}\text{CO}_2$, lui-même produit en cyclotron par bombardement de l'azote par un faisceau de protons³⁸⁸. Le $^{11}\text{CO}_2$ ainsi produit peut être engagé tel quel dans la synthèse du radiotracer ou décliné en de nombreux précurseurs représentés en **Schéma 45**. Il est ainsi possible d'envisager la production de monoxyde de carbone, de chlorure de thionyle, d'iodure de méthyle ou encore de nitriles.

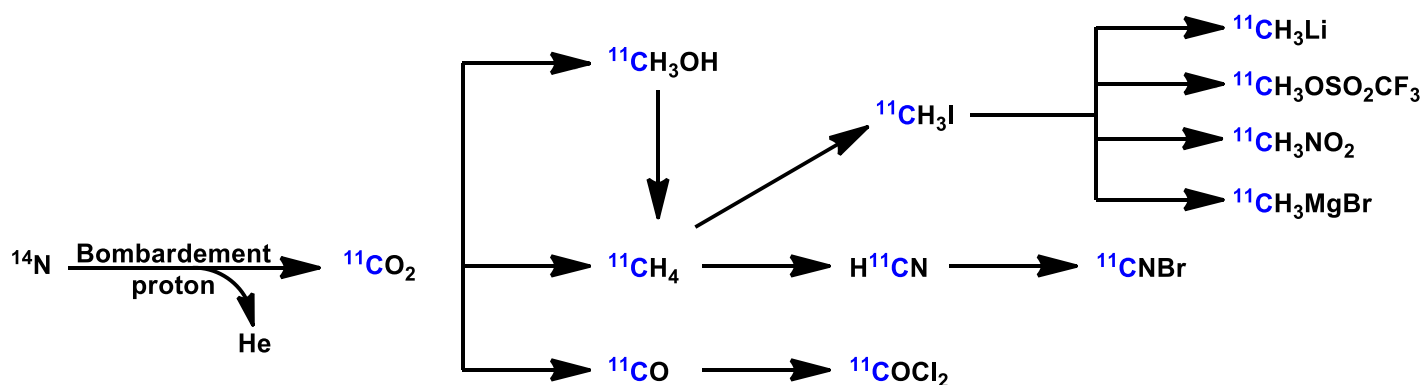


Schéma 45 : Production des précurseurs utilisés pour le radiomarquage au carbone 11.

La production de fluor 18 sous la forme de fluorure ^{18}F , est conduite en cyclotron par le bombardement d'eau enrichie à l'oxygène 18 par un faisceau de protons (Schéma 46). Une fois produit, ce radioisotope peut être dérivatisé de manière à donner du fluorure de césium ou de potassium, ou encore des chaînes alkyles ou aryles fluorées. La formation d'un fluor électrophile, peut également être envisagée, tel que l'hypofluorite d'acétyle, à partir de F_2 .

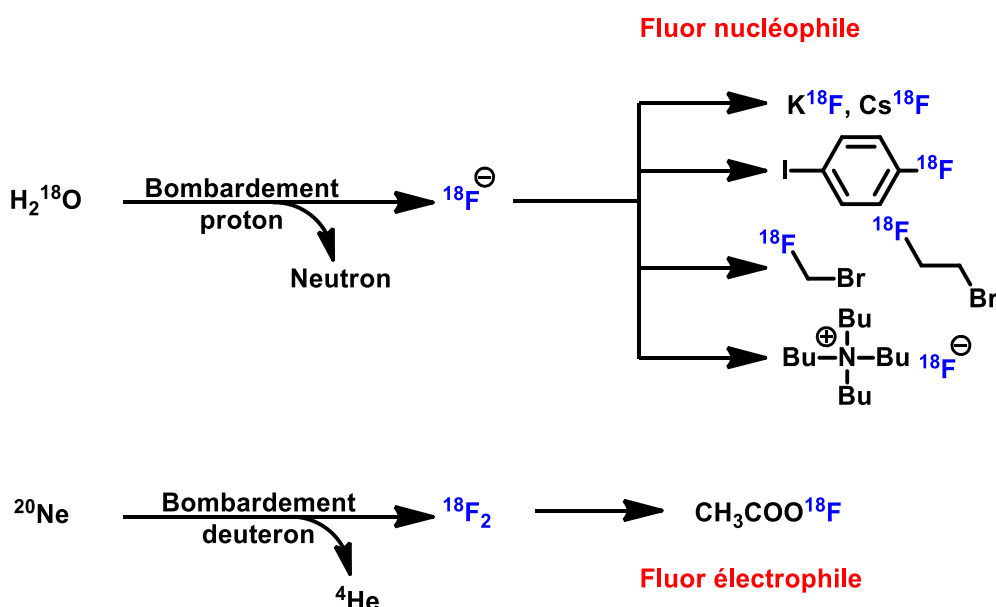
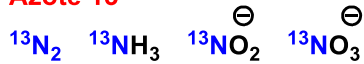


Schéma 46 : Production des précurseurs utilisés pour le radiomarquage au fluor 18.

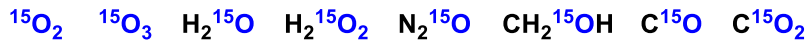
Les précurseurs d'azote radioactif les plus fréquemment utilisés comprennent le diazote, et l'ammoniac ainsi que les dérivés oxygénés nitrite et nitrate³⁹⁰. Ce sont donc principalement des réactifs nucléophiles. Concernant l'oxygène 15, ce dernier peut être employé sous la forme de dioxygène et d'ozone, lors de réactions d'oxydations mais également sous la forme d'eau, de peroxyde d'hydrogène et de précurseurs carbonés plus ou moins oxydés, comprenant le méthanol, le monoxyde de carbone et le dioxyde de carbone^{391,392}.

Enfin, les différents isotopes de l'iode sont utilisés sous forme de sels, que ce soit pour la fonctionnalisation de cycles aromatiques, ou de réactions d'échanges d'halogènes³⁹³.

Azote 13



Oxygène 15



Isotopes de l'iode

NaI

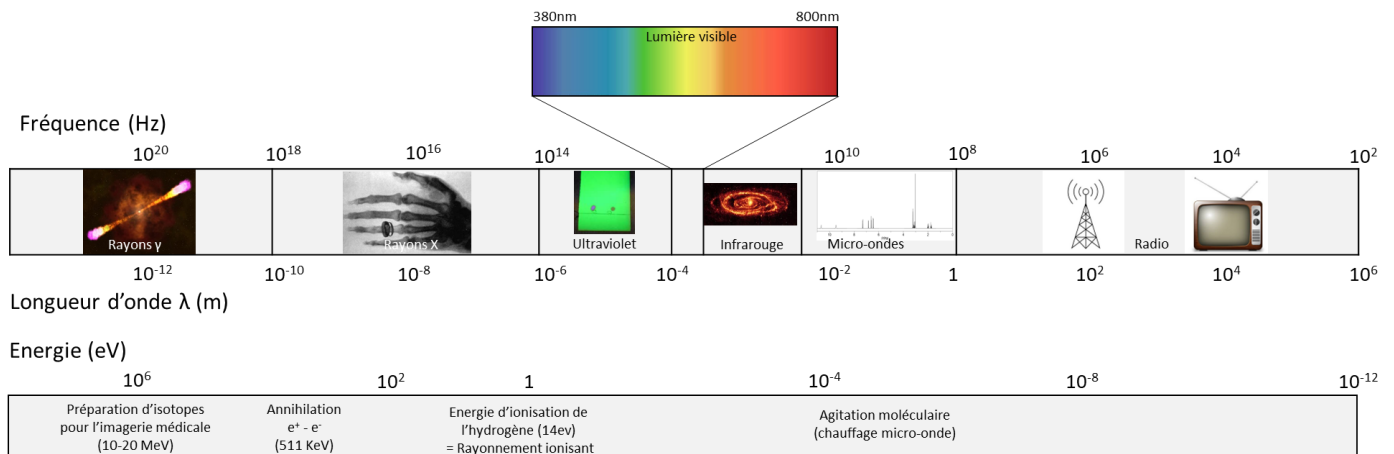
Figure 60 : Précurseurs utilisés pour le radiomarquage à l'azote 13, l'oxygène 15 et les isotopes de l'iode.

Récemment, plusieurs nouvelles méthodes ont fait leur apparition. C'est le cas de l'imagerie IRM basée sur l'emploi d'isotopes non radioactifs, comme le fluor ^{19}F , le carbone ^{13}C ou encore le deutérium ^2H . L'emploi de nanoparticules comme des liposomes ou micelles comme outil de vectorisation permet d'apporter à une cible biologique un isotope non radioactif ou un atome lourd comme l'or pour faire office d'agent de contraste.

En parallèle du développement des outils radioactifs, les outils d'imagerie basés sur l'utilisation de sondes luminescentes ont connu un essor considérable, avec l'amélioration des techniques de microscopie notamment.

IV.2 Les outils d'imagerie luminescents

Les méthodes d'imagerie par luminescence les plus utilisées mettent principalement à profit les phénomènes de fluorescence ou de phosphorescence. De très nombreux exemples de molécules d'imagerie utilisant des molécules émettant dans l'infrarouge ont également été décrites pour le milieu médical.



$$\text{Fréquence} \leftrightarrow \text{Longueur d'onde} \leftrightarrow \text{Energie} : E = \frac{hc}{\lambda}$$

h = Constante de Planck ($6,62 \times 10^{-34}$ J.s)
 c = Célérité de la lumière dans le vide
 $1\text{eV} = 1,6 \times 10^{-19}$ J

Figure 61 : Spectre électromagnétique, fréquence, longueur d'onde et énergie associée.

Les molécules non radioactives exploitent le spectre électromagnétique du proche ultraviolet (UV, ≈ 300 nm) jusqu'à l'infrarouge (≈ 2000 nm), en passant par la lumière visible.

IV.2.1 Les outils d'imagerie fluorescents

La fluorescence est un mode de désexcitation radiatif retrouvé dans les molécules présentant des cycles hydrocarbonés et hétérocycles, des groupements conjugués, ou des métaux. Dans une molécule fluorescente, tous les groupements ne sont pas responsables de l'émission de photons, mais peuvent affecter les propriétés des photons (longueur d'onde). Le terme de chromophore est employé pour définir la partie de la molécule responsable du mécanisme de fluorescence, alors que le terme de fluorophore est utilisé pour définir une molécule fluorescente et un luminophore concerne toute molécule capable d'émettre de la lumière.

La plupart des molécules fluorescentes comprennent des systèmes conjugués permettant une délocalisation importante des électrons sur la molécule. Dans ces systèmes, les transitions $\pi-\pi^*$ sont généralement responsables de l'absorption de lumière. L'augmentation de la délocalisation des électrons diminue le niveau d'énergie des transitions $\pi-\pi^*$, causant un décalage vers le rouge des longueurs d'ondes d'absorption.

Plusieurs paramètres extérieurs, relatifs à l'environnement proche du fluorophore, comme la présence d'ions, la viscosité du milieu, la pression, le pH ou encore la mise en place de liaisons hydrogène peuvent également affecter la fluorescence.

Lorsqu'une molécule se trouve dans un état excité, elle peut également se désexciter de façon non radiative. Cette désexcitation sans émission de photons est en compétition avec les phénomènes de désexcitations radiatifs. C'est par exemple le cas des relaxations vibrationnelles et rotationnelles.

La plupart des phénomènes de désexcitation pouvant être en compétition l'un par rapport à l'autre, et vis-à-vis des désexcitations radiatives. Bien connaître l'ensemble de ces paramètres peut permettre de favoriser l'un ou l'autre lors de la conception d'une molécule luminescente.

Les molécules fluorescentes montrent un intérêt particulier dans les études *in vitro*. Comme cela sera abordé plus tard (dans la partie **III.2 Les méthodes de criblages spécifiques des molécules fluorescentes et / ou radioactives** page 89) les méthodes de criblage par fluorescence ont l'avantage d'être facilement mises en place, et d'être relativement abordables en termes de prix, tout en étant transposables à une échelle relativement grande.

IV.2.1.1 Les mécanismes de désexcitation moléculaire

La mécanique quantique a permis une analyse fine des mécanismes permettant l'émission d'un photon à partir d'une molécule dans son état fondamental.

Les phénomènes de désexcitation non radiatifs vont permettre à une molécule à l'état excité de passer d'un état S_n à un état fondamental S_0 sans émission de rayonnements³⁹⁷. Les plus courants sont les désexcitations par relaxations vibrationnelles et rotationnelles dans une moindre mesure. Dans ce premier cas, le surplus d'énergie va être restitué au milieu environnant par vibration sous forme de chaleur.

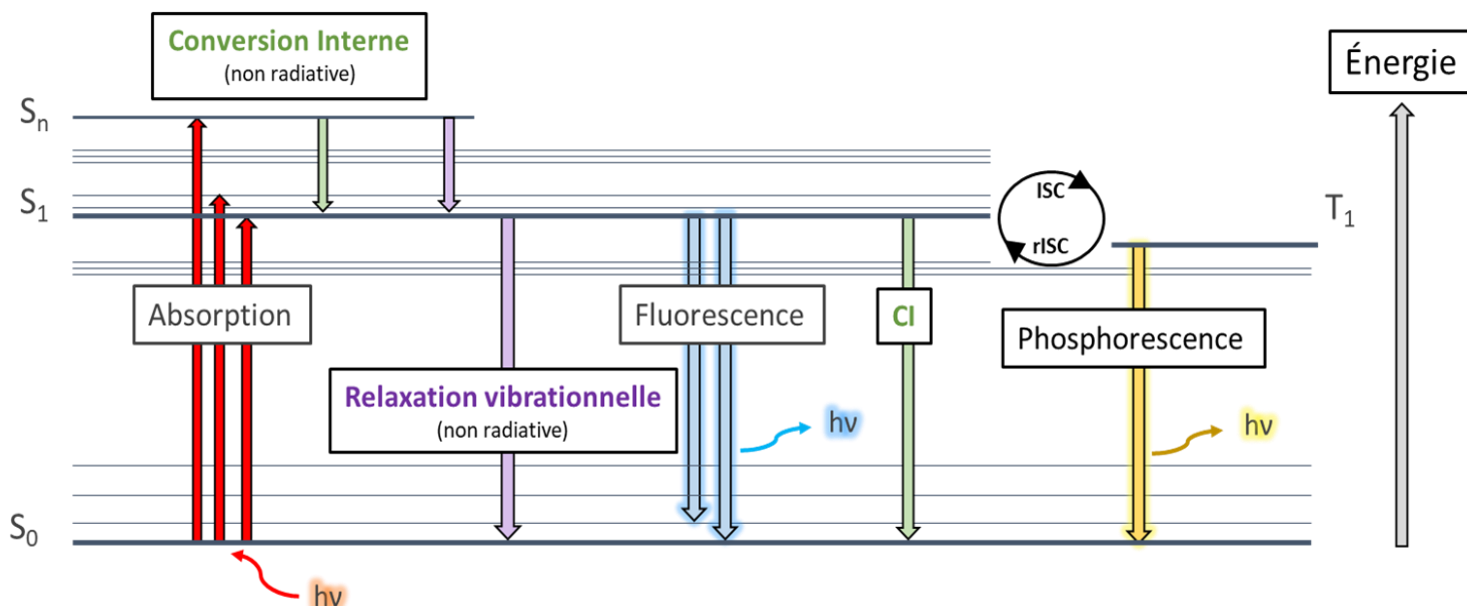


Figure 62 : Diagramme de Perrin-Jablonski avec les modes de désexcitations possibles pour une molécule. Lorsqu'une molécule absorbe de l'énergie, que ce soit sous forme de photons ou de chaleur, elle va passer d'un état fondamental, singulet S_0 à état excité singulet S_1 . Du fait de l'agitation thermique, toutes les molécules ne sont pas toutes au même niveau d'énergie lors de l'absorption d'énergie. Une fois dans un état excité, elle peut se désexciter par l'émission de photons ou de façon non radiative.

Un second phénomène de désexcitation non radiative possible se nomme la conversion interne. Lors de la mise en œuvre de ce phénomène, la molécule va passer d'un état excité S_n à un état plus bas en énergie S_{n-1} . En passant d'un état n à un état $n-1$ de même multiplicité de spin, l'excès d'énergie va être converti en relaxation vibrationnelle et être transmis au solvant ou aux molécules environnantes sous forme de chaleur. Etant donné que la conversion

interne permet de passer d'un état excité $S_2 \rightarrow S_1$, le même phénomène peut avoir lieu pour le retour à l'état basal d'une molécule avec les transitions $S_1 \rightarrow S_0$. Cependant, cette transition est moins fréquente puisque ce type de transition énergétique est celui que l'on retrouve avec la fluorescence, ce qui fait que les deux phénomènes sont en compétition.

Il est à noter que la conversion interne peut également survenir dans le cas d'une molécule excitée à l'état triplet, ce qui peut aboutir à un type de désexcitation beaucoup plus lent : la phosphorescence.

Enfin, le croisement intersystème est un troisième mode de désexcitation non radiative. Il met en œuvre des transitions isoénergétiques entre deux états multiplicité de spin différentes. Ce mode de désexcitation permet le passage d'un état singulet S_n à un état triplet T_m (croisement intersystème) ou d'un état triplet T_m à un état singulet S_n (si $n=m$, on parle alors de croisement intersystème inverse). Ce type de désexcitation peut entrer en compétition avec la conversion interne lorsque cela concerne les transitions depuis l'état singulet S_1 , de même qu'avec le phénomène de fluorescence.

Les mécanismes de désexcitation radiatives concernent les retours à l'état basal S_0 d'une part à partir d'un état S_1 , on parle alors de fluorescence, et d'un état T_1 , pour la phosphorescence. Lors de son retour à l'état basal, la molécule va émettre un photon d'énergie égale à la différence d'énergie entre S_1 et S_0 . Toutefois, à moins de considérer une molécule dans le vide, une partie de l'énergie de la molécule est dissipée sous la forme de vibrations intramoléculaires et vers le milieu extérieur (le solvant), entraînant une différence entre la quantité d'énergie absorbée et la quantité d'énergie émise.

La phosphorescence est le mode désexcitation mettant en jeu un état triplet T_1 , de plus faible énergie que l'état S_1 permettant l'émission de photons de longueurs d'onde plus élevées.

IV.2.1.2 Paramètres pris en compte dans le développement de sondes luminescentes : le rendement quantique (ϕ), le déplacement de Stokes et le solvatochromisme

Le rendement quantique est un paramètre qui quantifie le nombre de photons émis par la molécule (fluorescence) par rapport au nombre de photons absorbés. Ce paramètre est compris entre 0 et 1, où quand $\phi = 0$, la molécule n'est pas fluorescente et quand $\phi = 1$, la désexcitation ne se fait que par un phénomène radiatif. Ce paramètre dépend de la nature du solvant (pH, polarité du solvant et autres paramètres) mais il est en revanche indépendant de la longueur d'onde d'excitation ou d'émission.

Le déplacement de Stokes représente le décalage entre les maximas des longueurs d'ondes $\lambda_{\text{absorption}}$ de plus basse énergie et $\lambda_{\text{émission}}$. Plus il est faible, plus les photons émis par fluorescence ont une longueur d'onde proche de la longueur d'onde d'excitation. A l'inverse, plus il est élevé, plus l'intervalle de longueurs d'ondes entre absorption et émission est élevé, ce qui se traduit par une différence d'énergie plus grande. Un déplacement de Stokes faible se traduira également par l'apparition de phénomènes de réabsorption (la lumière émise est réabsorbée par la molécule).

Pour l'imagerie par fluorescence, des valeurs élevées permettent de mieux séparer les photons incidents des photons émis.

Le solvatochromisme a été défini pour la première fois en 1922 par Hantzsch³⁹⁸ comme l'influence du solvant sur la position, l'intensité et la forme des bandes d'absorption UV-visible et infrarouge d'une molécule. Ce décalage est observé en réponse à la variation de polarité du solvant. Le plus couramment observé est un décalage vers le rouge (bathochrome) avec des solvants de plus en plus polaires, il est nommé solvatochromisme positif. Le phénomène de solvatochromisme est également observé en fluorescence, positif, ou négatif.

Pour les spectres d'absorption, le solvatochromisme³⁹⁹ peut s'expliquer de la manière suivante : lorsque le moment dipolaire d'une molécule est supérieur à l'état excité qu'à l'état basal, notamment avec des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$, un solvant polarisable peut stabiliser cet état excité mieux qu'il ne le ferait lorsque la molécule est à l'état basal. Cela a pour conséquence de diminuer la différence d'énergie entre les deux états d'énergie et provoquer un décalage du spectre d'absorption vers le rouge (solvatochromisme positif en absorption).

A l'inverse, lorsque le moment dipolaire d'une molécule à l'état excité est plus faible que celui de l'état basal, principalement du fait des transitions $n \rightarrow \pi^*$, le spectre d'absorption sera décalé vers le bleu (solvatochromisme négatif en absorption).

Les changements de propriétés spectrales lors de la fluorescence font intervenir un second phénomène : la relaxation du solvant. En effet, le solvant peut entretenir avec le chromophore de nombreux types d'interactions comme des interactions électrostatiques, une complexation, une relation acido-basique, ou même des liaisons hydrogènes.

Lorsque l'état excité est formé en solution, ce dernier va pouvoir interagir avec les molécules de solvant de sa sphère de solvation. Le phénomène de fluorescence étant « relativement lent » (10^{-10} s à 10^{-7} s) par rapport à l'absorption (10^{-15} s) ou à la relaxation vibrationnelle (10^{-12} s à 10^{-10} s), le solvant peut réorienter le moment dipolaire et le stabiliser avant le phénomène de fluorescence. En le stabilisant, cela conduit à une diminution de son énergie, donc un décalage de la longueur d'onde de fluorescence vers le rouge (solvatochromisme positif en émission).

IV.2.1.3 Transfert de charge intramoléculaire avec changement conformationnel : TICT

Ce type de fluorescence est présent lorsqu'un fluorophore comporte un groupement donneur d'électrons relié à un groupement accepteur d'électrons par une liaison simple⁴⁰⁰. Une fois un photon absorbé, la molécule va se retrouver dans un état local excité (LES) plan qui peut se désexciter de manière radiative ou réaliser du transfert de charge intramoléculaire (**Figure 63**).

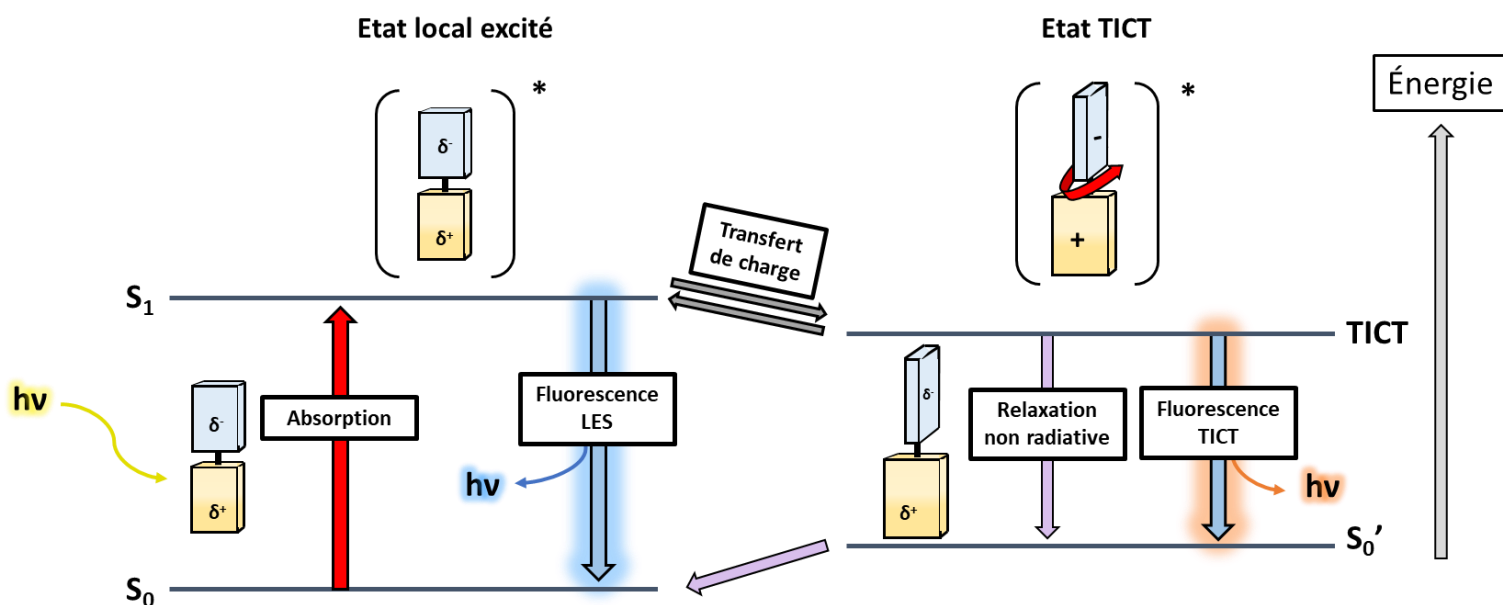


Figure 63 : Mécanisme de fluorescence par TICT et phénomènes photophysiques associés.

Cela a pour conséquence une très grande différence d'énergie entre le photon absorbé et le photon émis par fluorescence (le déplacement de Stokes augmente). Du fait des deux électrons non appariés présents au niveau des orbitales frontières : l'un sur l'unité acceptrice et l'autre sur l'unité donneuse du fluorophore, la rotation autour d'une liaison peut d'une part permettre de minimiser l'interaction coulombienne entre ces deux électrons et d'autre part augmenter le moment dipolaire de la molécule. On appelle ce second état excité plus faible en énergie TICT puisque les unités acceptrices et donneuses de la molécule sont perpendiculaires.

Du fait de la différence d'énergie entre l'état Local excité (LES) et TICT, la désexcitation radiative de l'état TICT va produire un autre signal de fluorescence différent du premier. Le retour à l'état S_0 peut également se faire de façon non radiative depuis l'état TICT jusqu'à un second état basal S_0' mais également depuis l'état S_0' lui-même. Appliquée à l'étude de phénomènes biologiques, cela permet de cibler une structure dans laquelle la molécule sera figée dans sa conformation liée et utiliser cette propriété pour faire de l'imagerie de fluorescence.

IV.2.1.4 Transfert de proton intramoléculaire à l'état excité : ESIPT

Le transfert de proton intramoléculaire à l'état excité (ESIPT) peut apparaître lorsqu'une molécule à l'état excité peut se tautomériser⁴⁰¹. L'état excité N* se tautomérisse sous une forme T*. Lorsque qu'un équilibre entre la forme N* et T* existe ces fluorophores peuvent émettre à deux longueurs d'onde bien distinctes (**Figure 64**).

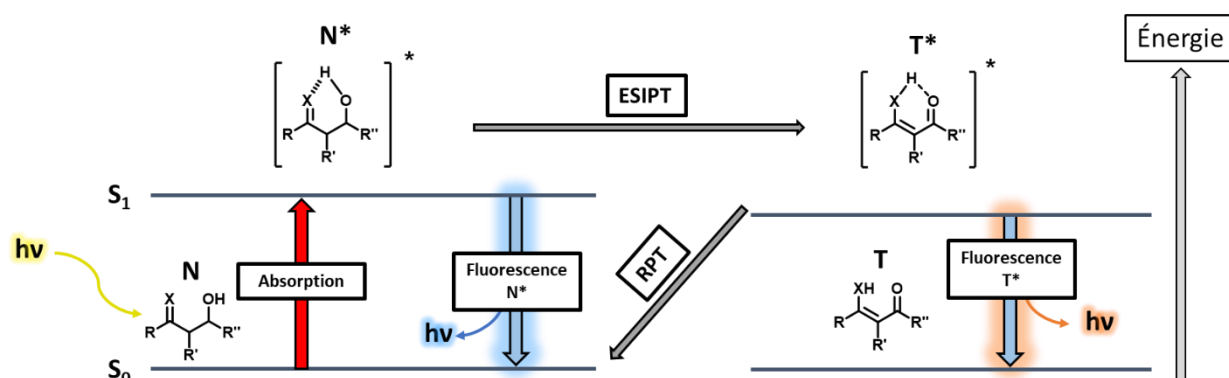


Figure 64 : Mécanisme de Fluorescence par ESIPT et phénomènes photophysiques associés.

Ce phénomène est observable pour des molécules contenant des équilibres énol/énone et énamine/imine. L'équilibre sera dépendant de la polarité du milieu dans lequel se trouve la molécule puisqu'un solvant apolaire favorisera la tautomérie à l'état excité alors qu'un solvant polaire sera défavorable à ce transfert de proton.

Le développement de ce type de sondes se montre particulièrement intéressant dans le cadre d'une application biologique puisqu'il permet de mettre en évidence des différences dans l'environnement proche de son lieu de liaison⁴⁰². En effet, de par la possibilité de montrer deux signaux de fluorescence différents, les molécules ESIPT peuvent servir à mettre en évidence la présence de cations comme les protons^{403,404}, dont l'homéostasie est importante pour de nombreux processus cellulaires et d'autres cations comme des alcalino-terreux⁴⁰⁵ ou des métaux^{406,407}, qui en plus de leur rôle physiologique peuvent être également à l'origine d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). De telles molécules sont également à même de détecter une grande variété d'anions comme le pyrophosphate⁴⁰⁸ ou l'ion cyanure⁴⁰⁹ pour ne donner que quelques exemples.

Les molécules présentant un mécanisme ESIPT ont également été utilisées pour mettre en évidence l'interaction d'une molécule avec un site de liaison spécifique.

Par exemple, il a été mis en évidence que la liaison de l'acide 3-formyl-4-hydroxybenzoïque sur l'albumine de sérum humain (HSA), permettait la détection du complexe ligand-protéine *via* un mécanisme de fluorescence par ESIPT⁴¹⁰.

Dans cet exemple, la forme protonée de la molécule est stabilisée lors de son interaction avec la protéine, ce qui se traduit par un décalage vers le bleu du signal de fluorescence lors de la formation du complexe, du fait de la baisse de polarité de son environnement proche.

Enfin, l'imagerie par microscopie à fluorescence a également pu bénéficier des avancées réalisées sur ce type de molécules. Cela a, entre autres, permis de mesurer l'activité cytotoxique d'une molécule tierce par le ratio de fluorescence de la forme N* et T* d'une sonde spécifique des membranes cellulaires en fonction de sa libération dans le milieu⁴¹¹.

IV.2.1.5 la fluorescence induite par agrégation (Agregation induced Emission, AIE et AIEE)

A l'inverse de la plupart des molécules fluorescentes, certaines molécules présentent une fluorescence nulle lorsqu'elles sont isolées, mais qui redevient observable lorsqu'elles se retrouvent sous forme d'agrégats. Il s'agit des molécules présentant un mécanisme d'émission induit par l'agrégation⁴¹² (AIE) ou une fluorescence augmentée par le phénomène d'agrégation (AIEE, **Figure 65**). Dans la majorité des cas, l'augmentation de la concentration d'une molécule en solution aura un effet négatif, largement étudié, nommé « Agregation-Caused Quenching » (ACQ), qui résulte en la formation de structures non émissives, favorisant la désexcitation par des mécanismes non radiatifs⁴¹³.

Les molécules AIE et AIEE sont généralement construites de manière à être non rigides et non planes. En solution, ces molécules présentent donc une grande liberté de mouvement, qui est la cause de leur émission nulle, ou très faible, par mise en avant de la désexcitation par conversion interne. Lorsque ces molécules se retrouvent sous forme agrégée, la restriction de mouvement et l'interdiction de certaines conformations va permettre au phénomène de désexcitation radiative par fluorescence de redevenir majoritaire. La rationalisation du phénomène a permis l'élaboration de lignes directrices donnant les prérequis minimums pour le développement d'un fluorophore AIE^{414,415}.

Ce dernier doit : 1) déjà être un fluorophore avant toute modification pour le rendre AIE, 2) posséder des groupements latéraux en libre rotation en solution, permettant la désexcitation par des voies non radiatives, 3) posséder des groupements latéraux empêchant une agrégation par la formation de liaisons π - π .

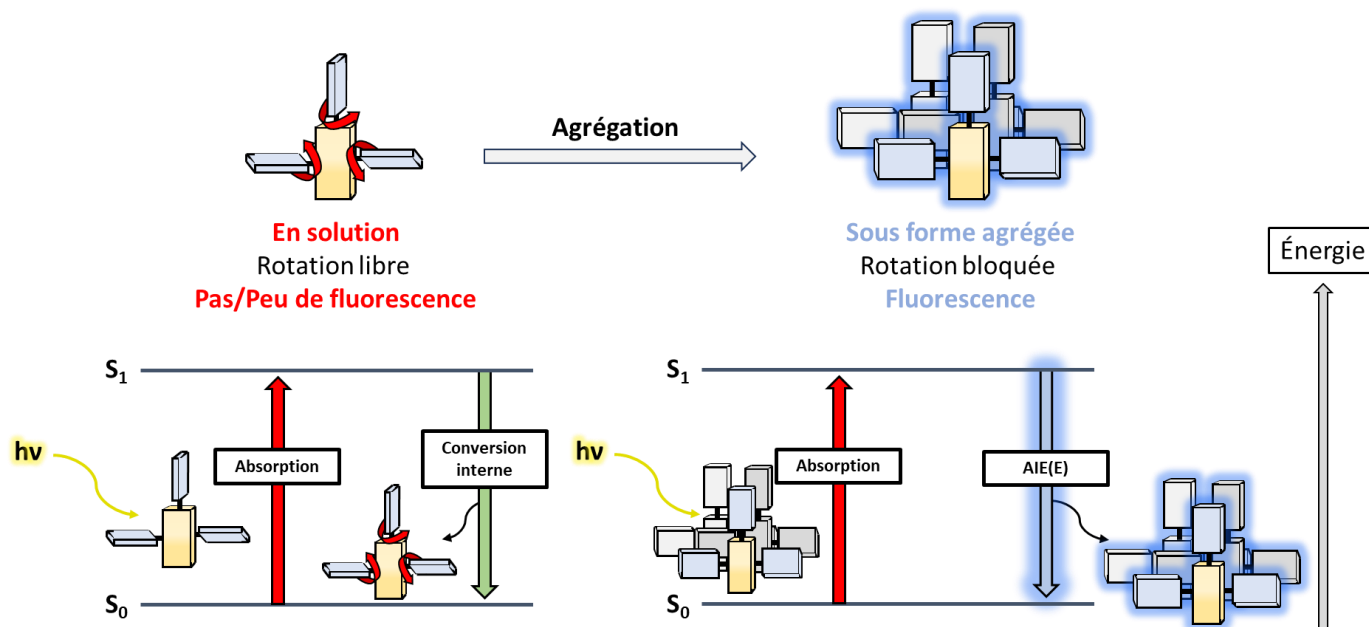


Figure 65 : Mécanisme de fluorescence induite par l'agrégation AIE et AIEE.

Ces composés présentent plusieurs particularités pouvant être mises à profit en imagerie médicale. L'utilisation de solutions concentrées en fluorophore est quelque chose de relativement inédit en imagerie biologique, du fait du phénomène ACQ. L'augmentation des concentrations en fluorophore permet de cibler des composants biologiques présents en plus faible quantité, tout en obtenant un signal de fluorescence plus important.

De plus, les molécules présentant un mécanisme de fluorescence par AIE ont l'avantage de proposer une approche « turn-on », puisqu'en l'absence d'un environnement favorable à leur agrégation, ces dernières présentent une fluorescence faible voire nulle. Cette propriété peut être mise à profit dans une approche qualitative puisque la fluorescence d'une molécule AIE ne sera détectable qu'en présence de sa cible biologique, permettant de ce fait une limitation du ratio signal/bruit.

Pour ces raisons, leur intérêt en tant qu'outil d'imagerie médicale n'a fait que croître depuis leur découverte en 2001⁴¹⁴. Plusieurs exemples représentés en **Figure 66** montrent la diversité des sondes pouvant être développées à cet effet, autant dans leurs cibles biologiques que dans les gammes de longueurs d'ondes.

Ainsi, la sonde L (ou probe L) présente un mécanisme AIE dont la fluorescence est exacerbée en présence d'ions Zn^{2+} par réaction red / ox. Les auteurs ont ainsi pu montrer l'intérêt de ce type de molécules pour la mise en évidence de cellules vivantes grâce à une détection des ions Zn^{2+} à une concentration allant jusqu'à 20 nM⁴¹⁶.

Le dérivé de BODIPY Re-ERLAD comprenant un complexe de Rhenium a pu être utilisé pour la mise en évidence des modifications morphologiques relatives aux protéines présentes dans le réticulum endoplasmique lors de phénomènes physiologiques spécifiques⁴¹⁷.

Le PD-NA-TEG a de son côté pu permettre la mise en évidence de dépôts de fibres $A\beta$ sur des coupes de cerveaux de souris transgéniques favorisant la production de dépôts amyloïdes⁴¹⁸.

Le TPE-Py-NCS a pu être utilisé sous forme conjuguée à un polypeptide pour l'imagerie du EphA2, un récepteur surexprimé dans certains cancers. Le TPE-Py-NCS est utilisé dans ce cas en tant qu'agent « AIEgène », responsable de la fluorescence de l'hybride TPE-Py-Polypeptide⁴¹⁹.

Les molécules TTM⁴²⁰, QM-5⁴²¹, DPXBI⁴²² et BT6⁴²³ présentent une fluorescence dans le proche infrarouge I pour les deux premières, et le proche infrarouge II pour les dernières. Comme cela sera développé plus tard, l'infrarouge est une zone présentant plusieurs avantages dans l'imagerie de molécules biologiques.

Ces molécules ont également un spectre d'utilisation très large puisque le TTM a été utilisé pour l'imagerie des lipides des plaques d'athérosclérose, le QM-5 a été utilisé *in vivo* pour la détection de cellules tumorales et le DPXBI a montré son efficacité dans le suivi de troubles hépatiques.

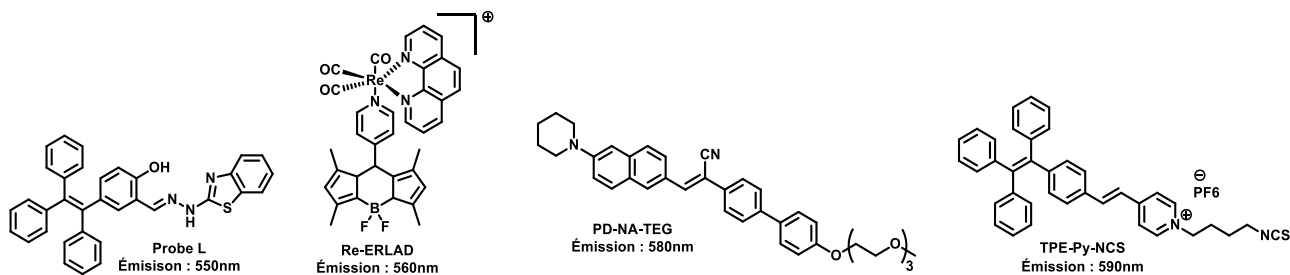


Figure 66 : Exemples de sondes présentant un mécanisme de fluorescence par AIE utilisées en imagerie biologique.

IV.2.1.6 Les outils d'imagerie fluorescents à proche-infrarouge

La mise en place d'une méthode d'imagerie par fluorescence peut être compliquée par plusieurs contraintes biologiques et physiques⁴²⁴. Premièrement, la présence de protéines biologiques elles-mêmes fluorescentes contribue à altérer le signal obtenu et ainsi affecter le ratio signal / bruit.

De plus, l'utilisation d'une source UV pour exciter une molécule fluorescente peut être la cause d'une détérioration d'une part de la molécule elle-même mais également de sa cible biologique et des tissus environnants. Enfin, la diffusion de la lumière dans les tissus ne permet pas, ou difficilement d'obtenir un signal suffisant lorsque les tissus sont épais.

Une manière de contourner ces difficultés est d'utiliser des molécules émettant dans le proche infrarouge. Le proche infrarouge est une zone du domaine infrarouge comprise entre 700 nm et 1700 nm, pouvant être divisée en proche infrarouge I de 700 nm à 900 nm et proche infrarouge II, de 900 nm à 1700 nm.

L'avantage des molécules fluorescentes émettant dans le proche infrarouge par rapport aux molécules fluorescentes « classiques », émettant dans le domaine du visible est d'une part l'énergie plus faible des photons émis qui leur permet une plus grande pénétration tissulaire⁴²⁵, et d'autre part, l'énergie nécessaire pour faire passer une molécule émettant dans le proche infrarouge à l'état S_1 est généralement plus importante que celle nécessaire pour une molécule émettant dans le domaine du visible. Cela contribue à diminuer les risques de dégradation à la fois du tissu mais également de la molécule, donnant la possibilité de réaliser des expériences plus longues.

Le développement de ces sondes infrarouges s'est fait selon deux grandes approches⁴²⁶ (**Tableau 21**) : une approche inorganique, dans laquelle ont été développés des nanotubes de carbone fonctionnalisés, des quantum dots, des nanoparticules incorporant des lanthanides, une approche organique avec des petites molécules totalement organiques, des complexes métalliques, des polymères et enfin des sondes activables.

Approche inorganique	Avantages	Inconvénients
Nanotubes de carbone	Photostabilité importante	Rendement quantique faible, énergie d'excitation élevée
Quantum dots	Bande d'émission étroite, bande d'excitation large, rendement quantique important, temps de vie de fluorescence long	Toxicité importante
Nanoparticules incorporant des lanthanides ⁴²⁷	Stabilité chimique et thermique importante, imagerie de haute résolution, haute pénétration tissulaire, pas de photodégradation	Rendement quantique faible, toxicité peu étudiée, temps d'étude long, résolution spatiale limitée
Approche organique	Avantages	Inconvénients
Petites molécules organiques	Biocompatibilité et excrétion rapide, propriétés photophysiques optimales	Rendement quantique faible, gamme d'émission faible, les synthèses peuvent être compliquées
Polymères ⁴²⁸	Propriétés photophysiques optimales, grande variété structurale	Biocompatibilité incertaine, et excrétion lente
Sondes activables ⁴²⁹	Optimum pour le diagnostic, imagerie de haute résolution	Rendement quantique faible, stabilité photochimique faible

Tableau 21 : Approches de développement de sondes émettant dans le proche infrarouge. Adapté de T. Wang et al.

Le développement d'un grand nombre de familles chimiques émettant dans le proche infrarouge montre aujourd'hui l'intérêt qui est porté à ce type d'approche pour le développement d'outils d'imagerie. En se concentrant sur les approches organiques, la plupart des familles chimiques utilisées dans le développement de fluorophores émettant dans le visible sont retrouvées.

Il est ainsi possible d'utiliser les benzobisthiazoles⁴³⁰, les cyanines^{431,432}, les dicéto-pyrrolopyrrole⁴³³, les dérivés de BODIPY⁴³⁴⁻⁴³⁶, des dérivés de squaraine⁴³⁷, de coumarine^{436,438,439} ou encore de dithiophène⁴²³ mais modifiées de manière à émettre dans le proche infrarouge (**Figure 67**).

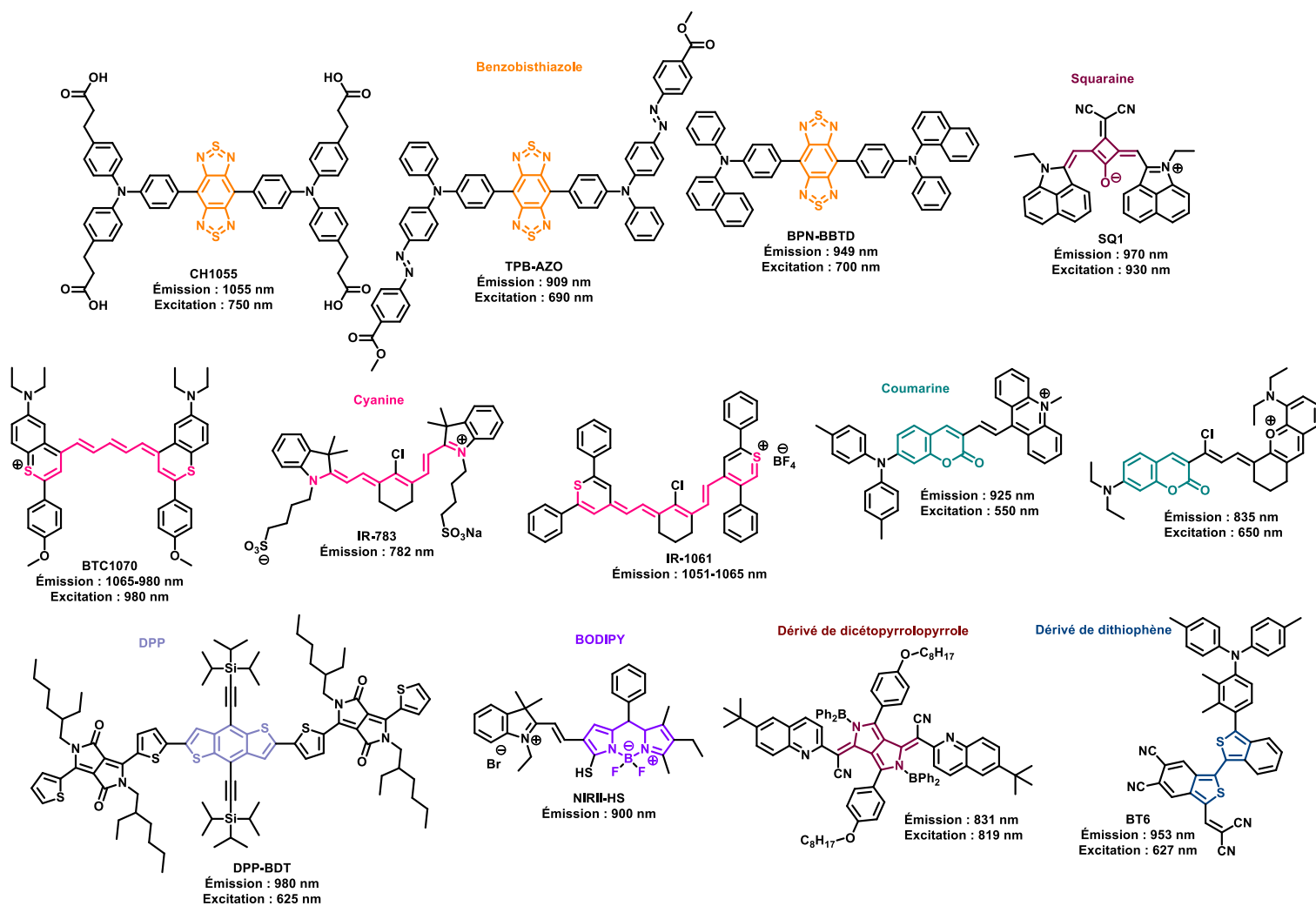


Figure 67 : Exemples de familles chimiques utilisées pour leur émission dans le proche infrarouge et couples émission/excitation associés.

IV.2.2 Les outils d'imagerie phosphorescents

La phosphorescence est une méthode d'imagerie émergente au regard des autres applications des mécanismes de luminescence décrits, de la fluorescence principalement. L'élaboration de sondes phosphorescentes a en effet été un défi pendant de nombreuses années du fait, même du mécanisme de phosphorescence.

Du fait de la durée de vie très longue de l'état excité T_1 , allant de 10^{-6} s à quelques secondes, le phénomène de phosphorescence est directement en compétition avec les modes de désexcitation par vibration, lors de collisions intermoléculaires ou encore le croisement intersystème inverse, ce qui limite son occurrence en solution.

La phosphorescence est donc plus facilement retrouvée lorsque les mouvements moléculaires sont limités, dans une matrice solide ou à basse température par exemple. L'utilisation de sondes phosphorescentes présente néanmoins de grands avantages lors de l'acquisition du signal.

En effet, en théorie le retard d'émission de signal permet d'obtenir une image avec un bruit bien plus faible, en ne permettant l'acquisition que du signal de phosphorescence. De plus, les longueurs d'onde des photons émis par phosphorescence sont généralement plus élevées que ceux obtenus par fluorescence, du fait de la perte d'énergie associée aux mécanismes en compétition avec la phosphorescence (de 500 nm au proche infrarouge vers 800 nm).

Enfin, comparée à la fluorescence, la phosphorescence n'a pas besoin d'une source d'excitation continue pour produire les photons. Cela représente un avantage lors de l'imagerie de tissus ou de cibles biologiques sensibles aux rayonnements (visible ou UV) puisque le temps d'exposition à ces rayons sera bien plus faible pour une molécule phosphorescente^{440,441}.

Les molécules utilisées à l'état solide mises de côté, plusieurs solutions ont été abordées pour pouvoir bénéficier de la phosphorescence dans un contexte biologique. La première d'entre elles est basée sur l'utilisation de complexes de métaux de transitions, décrits pour la stabilité de leur couplage spin-orbitale, facilitant le croisement intersystème de l'état singulet S_1 vers l'état triplet T_1 ⁴⁴². Parmi les métaux utilisés, les plus fréquemment retrouvés sont l'iridium III et le platine II, mais d'autres métaux comme le rhodium I sont également étudiés.

D'autres molécules organiques possédant une phosphorescence à température ambiante ont été développées dont plusieurs exemples sont représentés en **Figure 68**, en exploitant la stabilité des agrégats moléculaires. Ces composés montrent une amélioration du croisement intersystème conduisant à la formation de l'état triplet T_1 mais au prix d'une solubilité insuffisante pour toute application *in vivo* ou *in vitro*. En effet, ces molécules sont souvent constituées de groupements fortement aromatiques et peu polaires, comme des dérivés de triazoles⁴⁴³, carbazoles⁴⁴⁴, phénothiazines⁴⁴⁵ ou des complexes de métaux⁴⁴⁶.

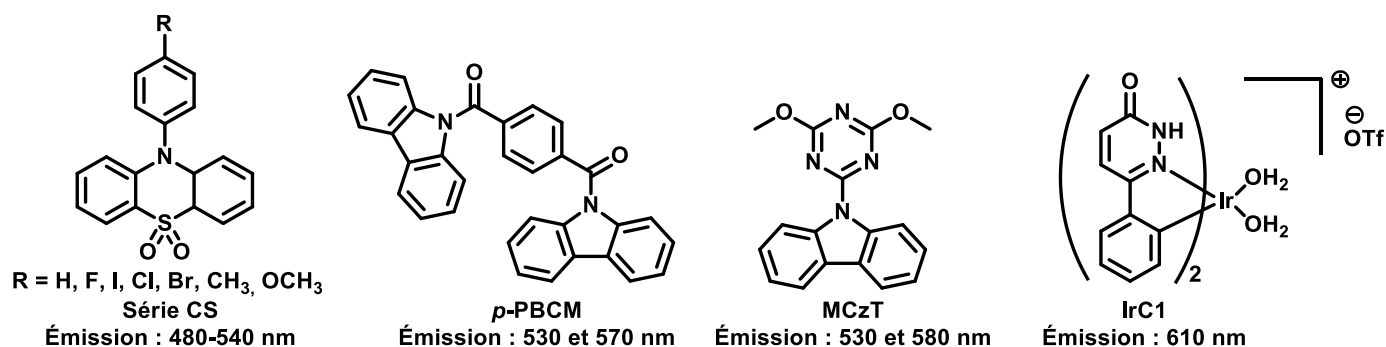


Figure 68 : Exemples de familles chimiques utilisées pour leurs propriétés de phosphorescence.

Malgré les avancées récentes, la phosphorescence reste de nos jours peu exploitée pour l'imagerie de cibles biologiques, principalement du fait de la faible solubilité, à la fois des complexes métalliques et des molécules organiques. Toutefois, plusieurs études *ex vivo* et *in vivo* chez l'animal récentes permettent d'envisager leur utilisation future en tant qu'outil diagnostique.

IV.2.3 Les agents de contraste en IRM, échographie et en radiographie X

Les agents de contraste utilisés dans le diagnostic médical ont une place particulière dans l'arsenal thérapeutique, puisqu'ils permettent, comme leur nom l'indique d'améliorer le signal obtenu par une technique d'imagerie en y ajoutant du contraste. Pour les agents de contraste utilisés en IRM, échographie et en radiographie X, ces derniers doivent donc réagir avec un champ magnétique pour le premier, ultrason pour le second et avec les rayons X pour le dernier. De la même manière que pour les autres outils diagnostics, ces derniers se doivent d'être le plus inertes possible, tout en garantissant une sélectivité suffisante pour la cible biologique désignée.

Concernant les agents de contraste utilisés en IRM, le prérequis minimal exigé pour le développement d'une telle molécule est la présence d'au moins un atome possédant un spin non-nul. Cette condition est nécessaire pour l'existence d'un moment magnétique exploitable par le champ magnétique mis en œuvre lors d'une expérience IRM. Les agents de contraste d'IRM sont classiquement répartis entre deux catégories (**Tableau 22**) : les agents de contraste positifs et les agents de contraste négatifs. Dans le premier cas, ces agents de contraste ont pour objectif de raccourcir le temps de relaxation T_1 du proton, donc éclaircissent les zones riches en eau, et dans le second cas, ils raccourcissent le temps de relaxation T_2 du proton, et assombrissent les zones où s'accumule l'agent de contraste.

Les agents de contraste positifs employés, aussi appelés agents de contraste paramagnétiques, sont majoritairement des dérivés de gadolinium⁴⁴⁷ sous forme de cation Gd^{3+} chélatés par différents ligands. D'autres métaux chélatés incorporant le manganèse II et III⁴⁴⁸, le lanthane III⁴⁴⁹ ou encore le dysprosium III⁴⁵⁰ ont été développés, mais restent plus rares et sont surtout exploités en recherche, sans trouver d'utilisation en clinique à l'heure actuelle.

Les agents de contraste négatifs, aussi appelés agents de contraste superparamagnétiques sont essentiellement représentés par des dérivés de nanoparticules de fer. Les outils les plus fréquemment rencontrés sont des oxydes de fer sous forme de nanocristaux de magnétite (Fe_3O_4) ou de maghémite (γFe_2O_3)⁴⁵¹. L'adsorption des oxydes de fer sur une grande variété de vecteurs biocompatibles de taille comprise entre 3,5 μm à 50 nm pour les oxydes de fer

superparamagnétiques (SPIO) ou 50 nm à 3 nm pour les oxydes de fer de très petite taille (USPIO) permet d'adresser les oxydes de fer aux milieux biologiques souhaités tout en réduisant les risques de toxicité.

Agents de contraste positifs			
Nom commercial	Métal paramagnétique	Ligand	Cible biologique
Gadovist®	Gd ³⁺	DO3A-butrol, H ₂ O	Crâne, Foie, Reins, Angiographie, corps entier
Primovist®	Gd ³⁺	EOB-DTPA disodique	Foie
ARTIREM®	Gd ³⁺	Acide gadotérique, DOTA	Arthrographies
Multihance®	Gd ³⁺	BOPTA	Lésions tumorales hépatiques
Prohance®	Gd ³⁺	HP-DO3A, H ₂ O	Imagerie cérébrale, Rachis, corps entier
Dotarem®	Gd ³⁺	DOTA, H ₂ O	Crâne, Foie, Reins, Angiographie, corps entier
Clariscan®	Gd ³⁺	Acide gadotérique, DOTA	Angiographie, imagerie cérébrale, corps entier
Pixcyclic®	Gd ³⁺	Butrol	Angiographie, imagerie cérébrale, foie, reins, corps entier
Teslascan® (plus commercialisé)	Mn ²⁺	dipyridoxyl disphosphate	Foie, Myocarde
Agents de contraste négatifs			
Nom commercial	Agent superparamagnétique		Cible biologique
Ferumoxsil®	Nanoparticules d'oxydes de fer et de silicone		Tube digestif
Endorem®	Nanoparticules d'oxydes de fer		Foie
Lumirem®	Nanoparticules d'oxydes de fer et de silicone		Tube digestif

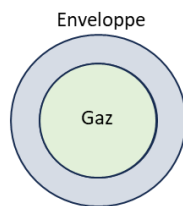
Tableau 22 : Agents de contraste positifs et négatifs utilisés en IRM en France, métal paramagnétique, ligands associés et utilisation clinique.

Les agents de contrastes utilisés en échographie ont été principalement développés dans le but de faciliter la visualisation de structures biologiques de petite taille. Dans le cadre d'un cancer par exemple, la néovascularisation induite par une tumeur peut être intéressante à visualiser pour évaluer l'effet d'une thérapie. L'utilisation d'hydrocarbures perfluorés et autres matériaux biocompatibles sous la forme de nanocapsules ou de liposomes encapsulant un gaz permettent une visualisation nette de ces objets en augmentant la quantité d'ultrasons réfléchis au niveau de leur site d'accumulation.

Ces objets sont conçus pour être relativement instables une fois dans le sang, afin d'améliorer leur élimination. De plus, du fait de leur mode d'action, ces objets sont conçus de manière à pouvoir réagir aux ultrasons.

En présence d'ondes sonores, un phénomène de contraction-expansion va être observé au niveau du produit de contraste lorsque la fréquence de l'onde mécanique correspond à la fréquence de la première harmonique de l'objet utilisé (imagerie harmonique). Cela lui permettra d'entrer en résonance et de se détruire en libérant l'agent de contraste.

Malgré leur intérêt, un très faible nombre de produits de contraste sont actuellement commercialisés en France, seul le SonoVue l'est à l'heure actuelle. Les autres spécialités décrites dans le **Tableau 23** ne sont utilisées qu'en Amérique du nord ou / et en Asie. Un nombre toutefois restreint d'essais cliniques est actuellement en cours pour le développement de nouveaux produits de contraste destinés à être utilisés en échographie⁴⁵²⁻⁴⁵⁴.



Nom commercial	Enveloppe	Gaz	Cible biologique
Echovist®	Galactose	Air	Cavités cardiaques droites
Levovist®	Galactose, acide palmitique	Air	Cavités cardiaques
Albunex®	Albumine humaine	Air	Myocarde
Optison®	Albumine humaine	Octafluoropropane	Cavités cardiaques
Definity®	DPPA, DPPC, MPEG5000 DPPE	Octafluoropropane	Ventricule gauche
SonoVue®	Macrogol 4000, DSPC, DPPG, acide palmitique	Hexafluorure de soufre	Ventricule gauche, gros vaisseaux (Doppler), vascularisation du foie et du sein (Doppler)
Sonazoid®	Phosphatidylsérine hydrogénée	Perfluorobutane	Vascularisation du foie

Tableau 23 : Produits de contraste utilisés en échographie.

Enfin, les produits de contraste utilisés en radiographie sont tous constitués d'atomes lourds capables d'absorber les rayons X. De fait, de nombreux atomes sont éligibles à cette utilisation comme l'or⁴⁵⁵, le gadolinium⁴⁵⁶, le bismuth⁴⁵⁷, le tantale⁴⁵⁸, le tungstène⁴⁵⁹, l'iode et le baryum. Toutefois en pratique, seuls l'iode et le baryum ont été suffisamment développés pour permettre leur mise sur le marché (**Tableau 24**), les autres atomes lourds étant pour le moment uniquement utilisés en recherche.

Les agents de contraste en radiographie sont aujourd'hui quotidiennement utilisés pour la mise en évidence de nombreux organes spécifiques, ou pour l'imagerie du corps entier. Lors de l'absorption d'un photon, les agents de contraste utilisés sont visualisés par un blanchiment du signal, à l'inverse des tissus mous n'absorbant pas ou peu les photons.

L'emploi de ces composés a donc permis la visualisation des tissus mous, normalement invisibles en radiographie, comme le tube digestif, les artères et les veines, les articulations ou encore les organes. Ces produits de contraste peuvent donc être utilisés pour la mise en évidence de structures anormales présentes sur les tissus mous dans les cancers, les inflammations par exemple, ainsi qu'une meilleure visualisation des tissus fortement absorbants comme les os.

Nom commercial	Atome lourd	Ligand / Vecteur	Tropisme
Micropaque®	Ba ²⁺		Tube digestif, Pharynx, Oesophage
Lipiodol®	Iode 127	Esters éthyliques d'acides gras iodés	Lymphographie, Carences d'iode, Lésions Tumorales Hépatiques
Gastrografin®		Méglumine Amidotrizoate	Appareil Digestif
Radioselectan®			Urographie, Cystographie, Urétrocytographie
Ultravist®		Iopromide	Artériographies, Tube digestif, Tomodensitométrie
Iopamiron®		Iopamidol	Artériographies, Tube digestif, Tomodensitométrie
Iomeron®		Iomeprol	Angiographie, Tomodensitométrie Crânienne et corps entier, Urographie, Phlébographie
Omnipaque®		Iohexol	Myélographie, Tomodensitométrie
Optiject®/ Optiray®		Ioversol	Urographie, Artériographie, Phlébographie, Tomodensitométrie crânienne et du corps entier, Angiographie
Telebrix®		Acide Ioxitalamique	Cystographie sus-pubienne, Urétrocystographie
Visipaque®		Iodixanol	Urographie, Tube digestif, Tomodensitométrie, Angiographie, Artériographie, Myélographie
Xenetix®		Iobitridol	Angiographie, Pancréas, Phlébographie, Tomodensitométrie du corps entier

Tableau 24 : Produits de contraste pour la radiographie X utilisés en France.

La recherche de nouveaux pharmacophores s'envisage donc de nombreuses manières, que ce soit au travers de la connaissance approfondie de la cible biologique *via* les approches relation structure-activité ou les approches basées sur la structure comprenant les approches *de novo* et approches par fragments. Ces approches sont facilitées par la maîtrise des interactions entre les molécules et leur cible biologique ainsi que l'élaboration et le suivi de règles dans la construction des molécules.

Les molécules utilisées en imagerie médicale se doivent de prendre en compte ces considérations, en plus de celles inhérentes à leur application en tant qu'outil d'imagerie. Le choix de la méthode d'imagerie définissant le type de molécule à développer, de nombreuses possibilités sont offertes au chimiste, comprenant le radiomarquage pour les émetteurs γ et β^+ , des molécules luminescentes pour leurs propriétés de fluorescence à la fois dans le visible ou l'infrarouge, de phosphorescence ou enfin l'utilisation de métaux complexés ou non, dans le cadre des agents de contraste.

V. Exemples de développement d'outils d'imagerie médicale

V.1 Le Flutémétamol, un radiotracteur TEP pour la détection des plaques amyloïdes

Le Flutémétamol est un radiotracteur utilisé dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer, autorisé pour le marché européen en 2014^{460,461}. C'est une molécule spécifique des plaques β amyloïdes qui peut être utilisée en clinique pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer mais dont le service médical rendu est faible⁴⁶⁰.

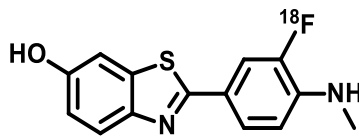


Figure 69 : Structure chimique du Flutémétamol

Structurellement, la molécule est assez proche de la Thioflavine T (ThT) (**Figure 69**) la molécule de référence pour la mise en évidence des plaques β amyloïdes sur des coupes histologiques de cerveaux. Un certain nombre de radiotraceurs issus de criblages d'analogues de la thioflavine T possèdent un motif benzothiazole plus ou moins substitué en position 2. Cette particularité structurale permet de tirer profit de l'affinité relative de la ThT pour les fibres amyloïdes.

V.1.1 Mise en évidence d'une molécule de référence la thioflavine T

La thioflavine T⁴⁶²⁻⁴⁶⁴ est une molécule fluorescente décrite pour la première fois en 1959 par Vassar et Culling⁴⁶⁵ pour son application en microscopie de fluorescence sur les fibres amyloïdes (**Figure 70**). Les auteurs ont remarqué une augmentation importante du signal de fluorescence de la molécule en présence de fibres ce qui lui a rapidement valu le titre de « gold standard » dans les domaines de l'histologie et de la biochimie pour la détection des fibres amyloïdes voire leur quantification⁴⁶⁶.

Comme il s'agit d'une molécule facilement accessible, elle est encore considérée de nos jours comme la molécule de référence pour ces applications et a gagné d'autres applications en biochimie pour le contrôle qualité de fibres amyloïdes recombinantes ou dans des études de cinétiques de polymérisation de fibres amyloïdes⁴⁶².

Plusieurs études^{463,467,468} ont tenté d'élucider le mécanisme de fixation de la molécule sur les fibres amyloïdes. La compréhension de la fixation de la molécule sur sa cible pourrait être le point de départ pour la conception rationnelle de nouveaux ligands spécifiques des fibres amyloïdes qui permettraient de faciliter le diagnostic précoce de ces maladies. Les données structurales acquises sur l'interaction entre des ligands et des filaments amyloïdes semblent indiquer que les molécules se fixent dans les sillons créés à la surface des filaments. Ce mode de liaison a été décrit pour le Rouge Congo dans les travaux de Schütz *et al.*^{469,470} de 2011 et 2018 et pour un traceur des agrégats de Tau (Shi *et al.*⁴⁷¹).

Le mécanisme derrière l'augmentation importante de fluorescence a été élucidé, et attribué à du TICT (**Figure 63**).

Il a été montré par Stsiapura *et al.*^{472,473}, grâce à des méthodes de calcul DFT à l'état excité, que lorsque l'angle entre les cycles benzothiazole et benzène se trouve entre 37° et 90° dans un milieu peu visqueux, une transition de l'état local excité à l'état TICT non fluorescent est responsable de la faible fluorescence de la molécule. A l'inverse, lorsque la molécule se trouve dans un milieu plus visqueux ou lorsque la rotation entre ces cycles est bloquée pour des raisons stériques, cette transition ne peut pas se faire et conduit à une augmentation du rendement quantique de la molécule.

Malgré sa démocratisation dans le domaine de la détection des fibres amyloïdes, la Thioflavine T souffre de plusieurs défauts qui empêchent une utilisation *in vivo* notamment. Tout d'abord, le manque de spécificité pour les fibres engendre l'obtention de nombreux faux-positifs. C'est le cas par exemple des acides nucléiques⁴⁷⁴ qui peuvent provoquer le même type de réponse que les fibres amyloïdes. Elle présente aussi de l'autofluorescence⁴⁶² à des concentrations supérieures à 5 μ M, probablement du fait de la formation de micelles en solution aqueuse comme le propose l'étude de Khurana *et al.*⁴⁶³. Par agrégation dans les micelles, les molécules subissent une restriction de conformation qui diminue le transfert de charge, diminue le TICT et provoque une fluorescence à l'état agrégée.

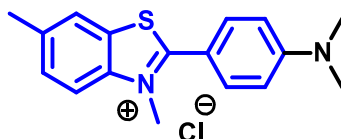


Figure 70 : Structure chimique de la thioflavine T

La ThT reconnaît aussi de façon quasi-identique tout type de fibres amyloïdes. Ce qui peut être un avantage en histologie, devient dès lors un problème pour son utilisation *in vivo*, car il n'est plus alors possible de reconnaître spécifiquement les protéines impliquées dans l'agrégation. Enfin, la pureté de la ThT commerciale est au mieux de 65%⁴⁷⁵, et contient de nombreux sous-produits qui n'ont pas été caractérisés.

Pour terminer, la présence d'une charge positive sur la molécule est un frein à son utilisation *in vivo* car elle limite sa pénétration dans les tissus, en particulier le passage de la barrière hématoencéphalique.

Pour résumer, la ThT est une molécule fluorescente très efficace dans la détection des fibres amyloïdes mais souffre de nombreux défauts empêchant son utilisation *in vivo*.

V.1.2 Synthèse d'une librairie d'analogues de la thioflavine T

En se servant de la ThT comme base de travail, un premier brevet détaillant la synthèse de 45 nouvelles molécules a été publié en 2003 par Klunk *et al.*⁴⁷⁶ Les analogues ainsi décrits sont tous des dérivés plus ou moins substitués de la 4-(benzo[d]thiazol-2-yl)aniline, le motif non substitué contenu dans la ThT.

Une première série de molécules synthétisées (**Figure 71, a**) se concentre sur les dérivés de 4-(benzo[d]thiazol-2-yl)aniline iodé ou non en position 3. La substitution se concentre sur la position 6 du benzothiazole par l'incorporation de groupements hydroxyle, méthoxy, méthoxyméthanol, nitro ou d'un atome de brome.

Les substituants incorporés sont plus ou moins lipophiles et accepteurs ou non de liaisons hydrogènes. L'introduction d'un atome d'iode en ortho de l'amine permet d'une part de proposer une position facilement accessible pour une radiosynthèse ultérieure, en raison de sa propriété de bon groupe partant, et d'autre part de permettre d'évaluer l'effet d'un groupement volumineux sur cette position sur l'affinité de la molécule pour les fibres amyloïdes.

La série **b** a été constituée sur le même principe que précédemment, mais avec une aniline N-méthylée. C'est cette seconde série qui a mis en évidence le dérivé fluoré en position 3 qui deviendra le Flutémétamol.

Une troisième série **c** basée sur le 4-(benzo[d]thiazol-2-yl)phénol présente trois analogues substitués ou non en position 6 du benzothiazole par un groupement hydroxyle ou méthoxy. En comparant cette série aux analogues présentant une aniline N-substituée ou non, cela permet une évaluation de l'importance de l'azote sur cette position dans la liaison aux fibres.

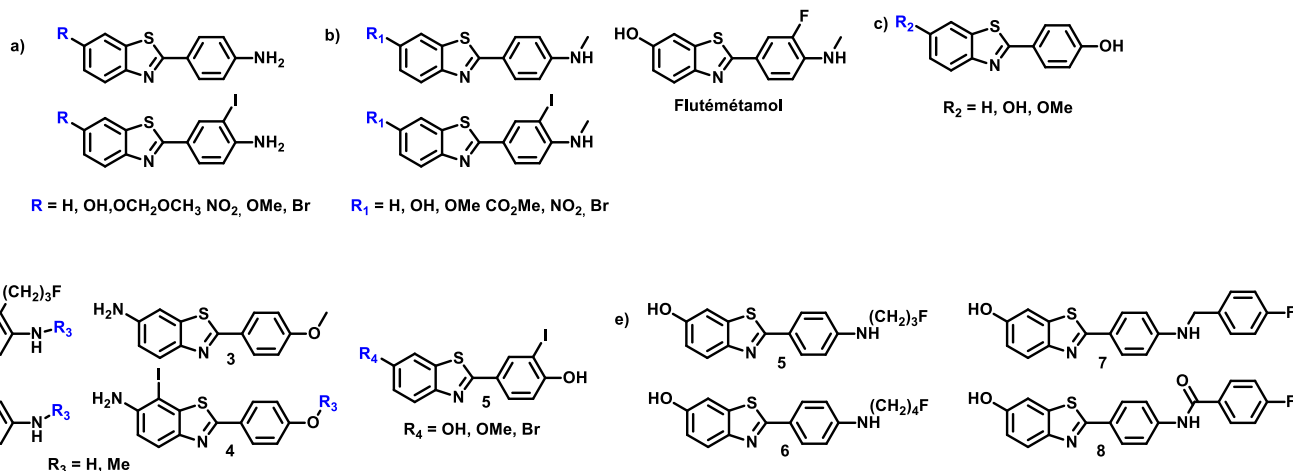


Figure 71 : Série de dérivés de la thioflavine T issus du criblage réalisé par Klunk *et al.*

La série **d** se propose de comparer l'effet d'un groupement encombrant en position 3 ou en position 7. En comparant les résultats obtenus par les molécules 1 et 2 d'une part pour les anilines, puis 3, 4 et 5 pour les phénols.

Enfin, la série **e** a été construite dans le but d'évaluer l'impact d'une chaîne hydrocarbonnée saturée avec les molécules 5 et 6, ou aromatique, avec les molécules 7 et 8.

V.1.3 Criblage des dérivés de la thioflavine T sur les fibres amyloïdes

Une fois les dérivés synthétisés, ceux-ci ont pu être criblés sur les fibres amyloïdes. Le choix du type de fibres s'est porté sur des fibres de peptides A β ₁₋₄₀ synthétiques, constitutifs des plaques séniles présentes dans la maladie d'Alzheimer. Disposant d'une méthodologie de radiosynthèse efficace et adaptée pour les différents dérivés synthétisés, les auteurs se sont dirigés vers des expériences de compétition et de saturation pour obtenir une valeur de K_d de leurs analogues.

Pour la mise en place d'expériences de compétition, les auteurs ont dans un premier temps vérifié que les molécules ciblaient le même site. Après vérification, les analogues ont été radiomarqués puis incubés avec les fibres amyloïdes pour la détermination de leur constante de dissociation.

V.1.4 Radiosynthèse du Flutémétamol

La radiosynthèse du Flutémétamol⁴⁷⁷ a pu être automatisée à partir du réactif **f** afin d'obtenir un rendement global sur 2 étapes de 10,8%, avec une pureté radiochimique de 99% (Schéma 47).

La synthèse du composé **e** a été initialement envisagée en 5 étapes. Dans un premier temps, la chloration par le chlorure d'oxalyde de l'acide 4-acétamido-3-nitrobenzoïque permet la formation du chlorure d'acide correspondant, qui en présence de 2-amino-4-méthoxybenzène-thiol **a**, de pyridine et de DMAP permet la formation du benzothiazole **b**. La fonction acétamide du benzothiazole **b** est ensuite méthylée par l'iodure de méthyle en présence d'hydruure de sodium pour accéder au composé **c**.

Cet intermédiaire est ensuite déprotégé sur la position phénolique et aniline en conditions acides pour obtenir la molécule **d**, qui est ensuite alkylée en conditions basiques par le chlorométhoxy éthane sur sa position phénolique, aboutissant à l'intermédiaire de synthèse **e**. Enfin, la réaction de cette molécule avec l'anhydride acétique permet d'obtenir le composé **f**, précurseur de la radiosynthèse.

La radiosynthèse du flutémétamol à partir du précurseur **f** se fait par l'incorporation en milieu basique de fluor 18 pour obtenir l'intermédiaire **g** qui après purification est déprotégé en milieu acide pour l'obtention du flutémétamol radiomarqué.

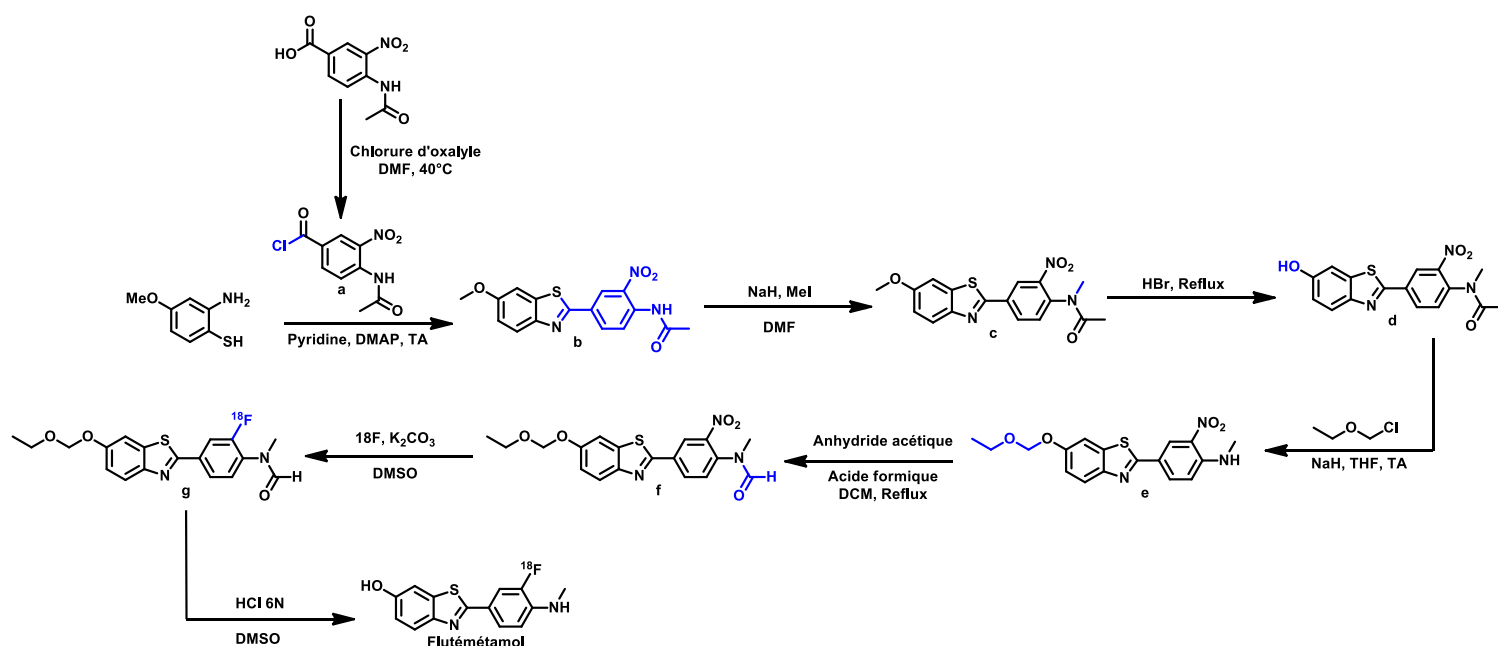


Schéma 47 : Radiosynthèse du Flutémétamol à partir de l'acide 4-acétamido-3-nitrobenzoïque

V.1.5 Mesure des paramètres et tests *in vivo* chez l'animal et chez l'Homme

Afin de confirmer l'efficacité du Flutémétamol, plusieurs paramètres ont été étudiés. Ces paramètres ont été étudiés à la fois *in vitro* sur des coupes de cerveaux d'animaux modèles et *in vivo* sur des animaux sains et malades dans un premier temps, puis chez des patients sains et malades.

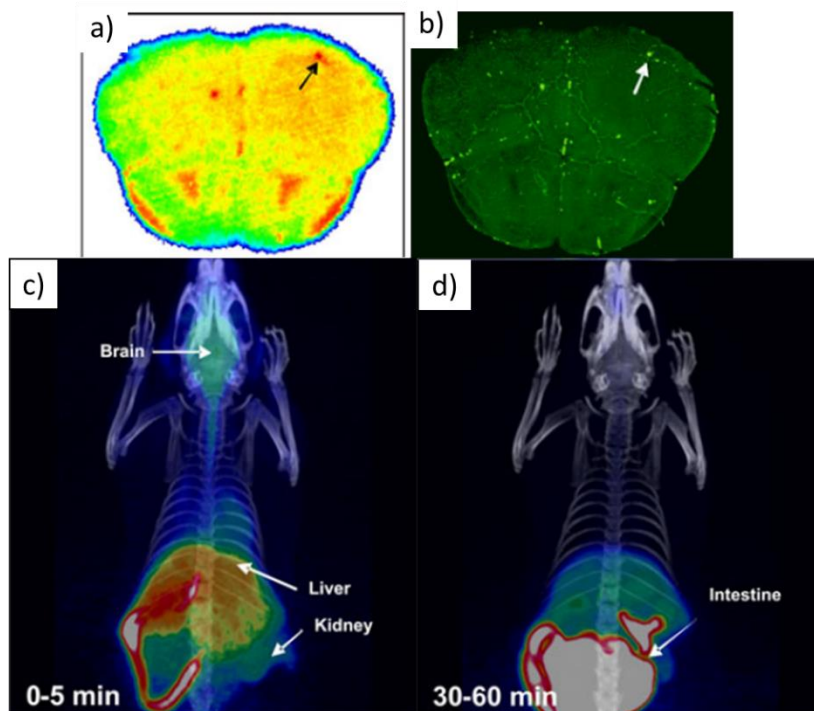


Figure 72 : Distribution du Flutémétamol chez l'animal. a-b) étude histologique de la distribution d'outils d'imagerie sur une coupe histologique de cerveau de souris transgénique surexprimant les dépôts de peptides A β . a) Autoradiographie du Flutémétamol. b) Marquage des plaques par la thioflavine S et visualisation par microscopie de fluorescence. c-d) Distribution du Flutémétamol chez la souris à 5 et 30-60 minutes visualisée par expérience PET/CT. c) Distribution du radiotraceur à 5 minutes. d) Distribution du radiotraceur à 30-60 minutes. Adapté de Snellman et al.

Le ciblage des agrégats de peptides A β sur des coupes de cerveau par le Flutémétamol vis-à-vis de la thioflavine T a dans un premier temps permis par colocalisation de confirmer la spécificité de ciblage de la molécule⁴⁷⁸ (**Figure 72, a et b**).

La vitesse de diffusion des molécules vers le cerveau ainsi que sa clairance ont également été déterminées. S'agissant d'un radiotraceur, le temps de résidence dans un organe aussi sensible se doit d'être le plus court possible pour éviter toute altération de l'intégrité de l'organe par le rayonnement. Ces expériences, réalisées sur une souris saine ont permis d'une part de confirmer la diffusion de la molécule dans le cerveau, mais également d'identifier dans quels organes la molécule est stockée, et à quelle vitesse celle-ci est éliminée de l'organisme (**Figure 72, c et d**).

Ces premières expériences ont été réalisées chez des souris saines, ne contenant aucun site de liaison au niveau du cerveau et ont permis de déterminer la clairance dans le cerveau.

Enfin, le Flutémétamol a été utilisé chez l'Homme⁴⁷⁹, à la fois chez un patient sain et chez un patient malade afin de confirmer sa distribution dans un cerveau dans différentes conditions physiologiques (**Figure 73**). Ces expériences sont nécessaires dans tout développement clinique afin de confirmer en conditions « réelles » l'efficacité d'une molécule.

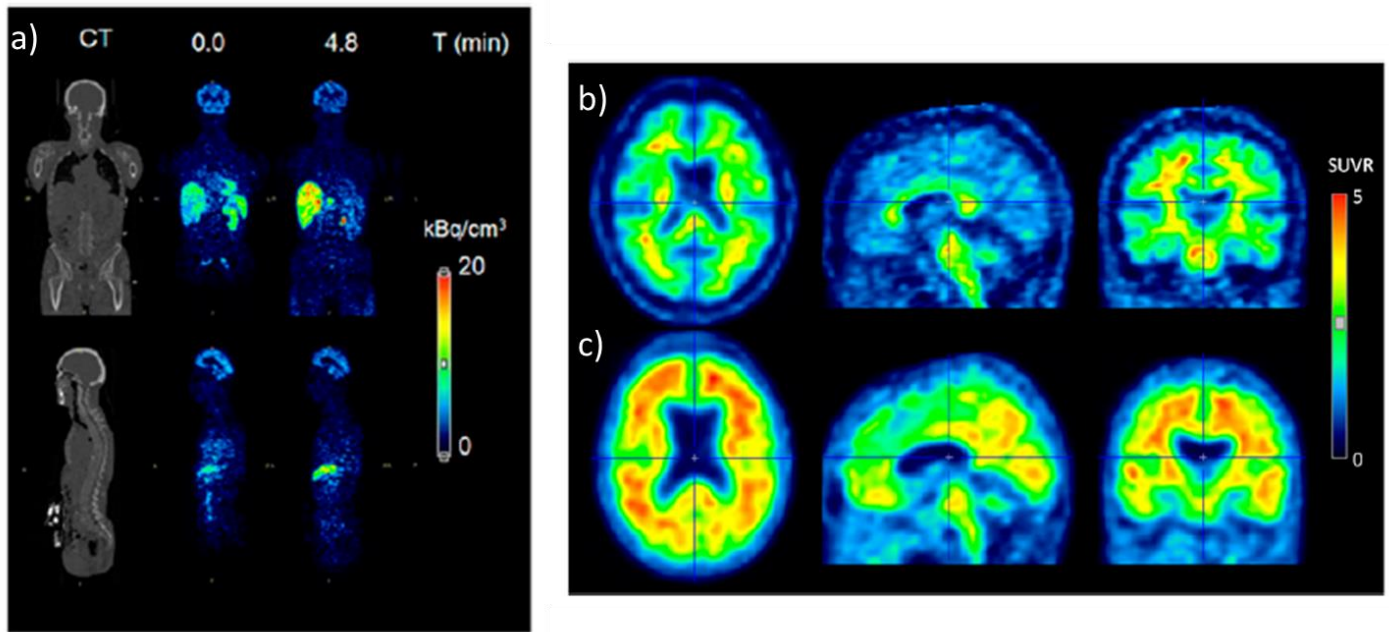


Figure 73 : Distribution du Flutémétamol chez l'Homme obtenues par imagerie TEP. a) Distribution du corps entier chez un patient sain. b) Distribution dans le cerveau chez un patient sain. c) distribution dans le cerveau chez un patient atteint de la maladie d'Alzheimer. Adapté de Koole et al.

Ce radiotracteur a finalement été autorisé pour le marché européen en 2014 par l'autorité de régulation des médicaments européen, l'EMA⁴⁶¹.

V.2 L'Oregon green 514

V.2.1 La molécule de référence, la fluorescéine

La fluorescéine est une petite molécule organique fluorescente découverte vers la fin du 19^e siècle⁴⁸⁰. Il s'agit d'une molécule hydrophile utilisée dans de nombreux domaines dont les sciences de la vie et la médecine pour de nombreuses applications, notamment comme outil diagnostique. Ainsi, cette molécule est régulièrement utilisée en clinique, en ophtalmologie principalement, ou en biologie moléculaire et cellulaire en tant que sonde fluorescente pour la détection de nombreuses protéines^{481,482}, en étant couplée à divers anticorps ou encore pour le suivi de pH en milieu biologique⁴⁸³.

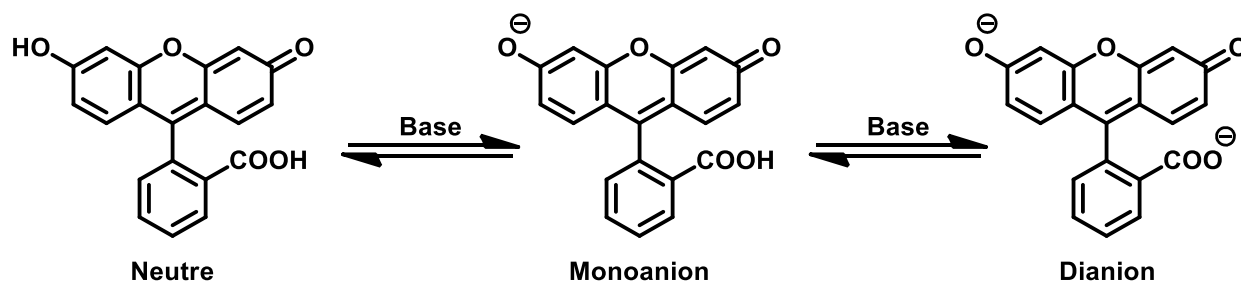


Figure 74 : Structure et formes chargées ou non chargées de la fluorescéine

Malgré ses très nombreuses applications, la compréhension du mécanisme responsable de ses propriétés fluorescentes reste encore de nos jours soumise à débats dans la communauté scientifique. Le mécanisme le plus communément accepté est celui de la fluorescence par transfert d'électron photoinduit⁴⁸⁴ (PeT). Celui-ci implique le transfert d'électrons du cycle benzène agissant comme donneur d'électrons jusqu'au xanthène, fluorophore accepteur d'électrons. D'autres auteurs⁴⁸⁵, sur la base de calculs TD-DFT et de résultats expérimentaux proposent un mécanisme de fluorescence basés sur une minimisation de mécanismes de désexcitation non radiatifs possibles uniquement sous forme ionisée.

Quel que soit le mécanisme impliqué, la fluorescéine présente plusieurs formes en fonction du pH (Figure 74) à même de modifier la fluorescence de la molécule. En effet, un phénomène de « turn-on » est observé avec la fluorescéine et ses nombreux dérivés. Pour ces molécules, un rendement quantique relativement faible est observé lorsqu'elles sont placées en conditions acide ou neutre, et un rendement quantique élevé en conditions basiques sans modifications des maxima d'absorption/émission.

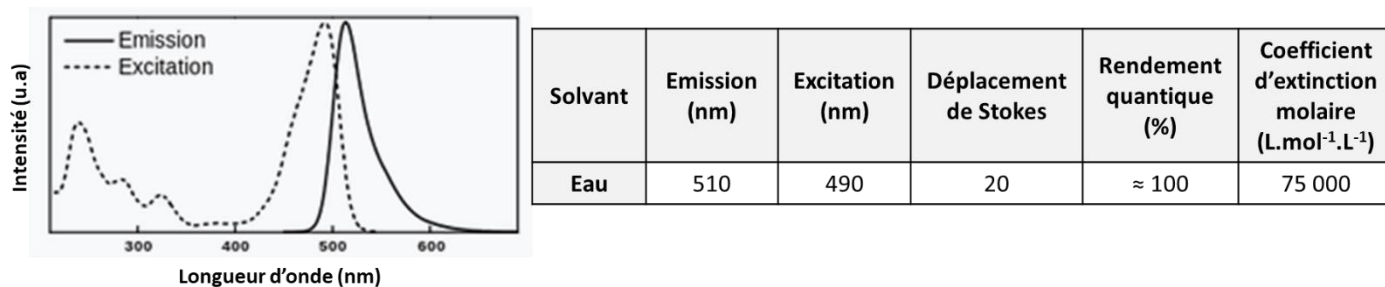


Figure 75 : Propriétés photophysiques de la fluorescéine. Gauche : Spectres d'absorption et d'émission dans l'eau. Droite : Propriétés photophysiques de la fluorescéine dans l'eau.

Cette molécule présente des propriétés photophysiques étroites avec un maximum d'absorption à 490 nm et un maximum d'émission à 510 nm avec un rendement quantique très important en milieu aqueux⁴⁸⁶ (Figure 75).

Du fait de sa synthèse très facile (Schéma 48), la fluorescéine est aujourd'hui fabriquée à très large échelle en une seule étape, ce qui a permis sa démocratisation.

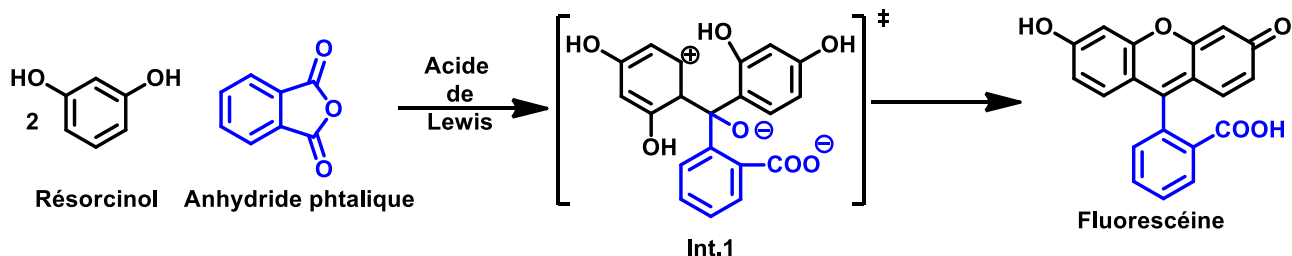


Schéma 48 : Voie de synthèse de la Fluorescéine

Malgré ses très nombreuses applications, la fluorescéine présente toutefois certaines limitations, dues à la gamme spectrale relativement réduite qu'elle propose. Afin de profiter des possibilités qu'offrent ce type de molécules tout en élargissant son champ d'applications, de très nombreux dérivés ont été développés au cours des dernières années. Ceux-ci permettent de décaler progressivement les maxima d'absorption et d'émission de cette molécule jusqu'au proche infra-rouge, ces propriétés présentant de nombreux avantages.

V.2.1 Le développement d'analogues de la fluorescéine

De nos jours, de très nombreux dérivés de la fluorescéine ont été préparés en tant que colorants histologiques⁴⁸⁷⁻⁴⁹¹. Les différentes variations opérées à partir d'un squelette commun ont eu pour conséquence d'obtenir une grande palette de paramètres photophysiques, permettant une plus grande diversité d'applications. Du fait du grand nombre d'analogues développés, il est devenu possible d'anticiper les changements dans les propriétés photophysiques (**Figure 76**) et de mettre en avant un mécanisme de fluorescence en particulier (AIE, TADF, PeT).

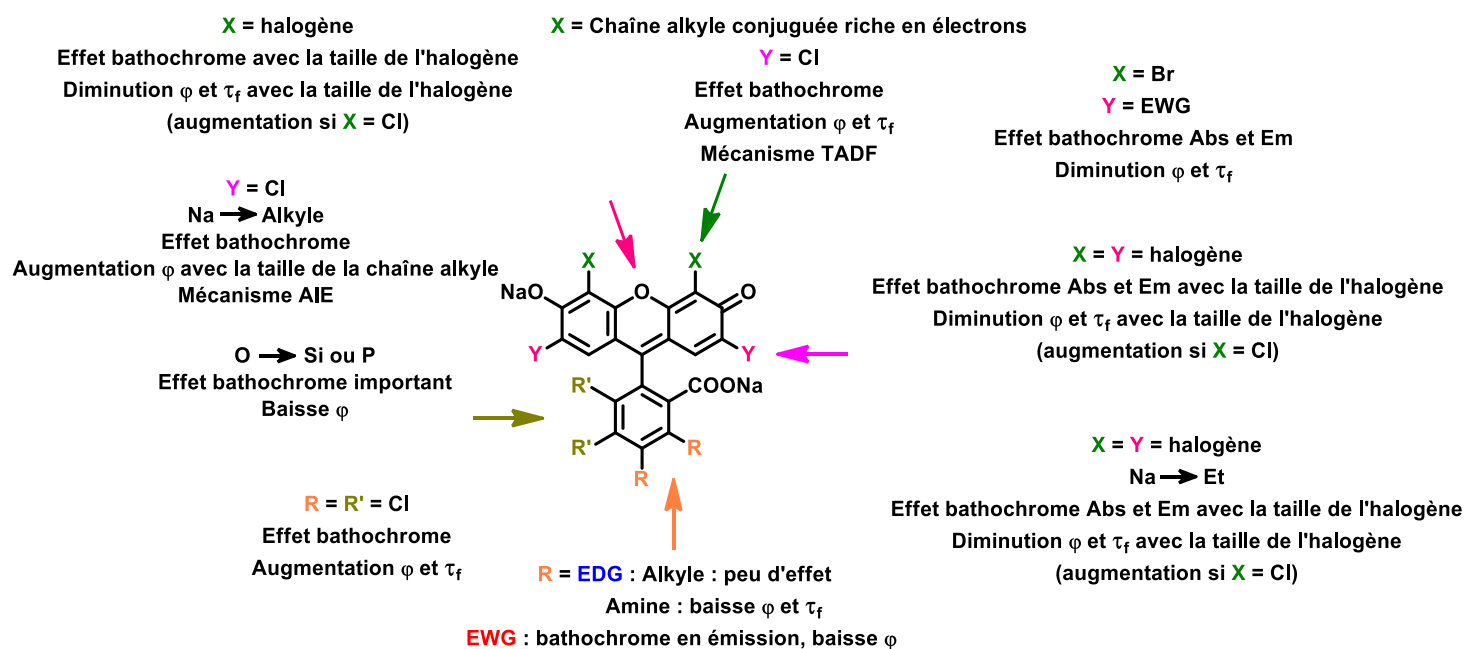


Figure 76 : Relation structure-propriétés photophysiques de la fluorescéine et de ses dérivés

Ainsi, les paramètres les plus affectés par ces modifications sont les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission, le coefficient d'extinction molaire, le rendement quantique et le temps de vie de fluorescence. Malgré ces nombreuses modifications structurales, le maximum d'émission de fluorescence, globalement entre 520 nm et 560 nm peut être problématique en histologie, lorsque plusieurs colorants sont introduits sur un même tissu, avec par exemple l'apparition de signaux parasites par effet FRET, ou simplement une trop grande proximité entre les longueurs d'onde d'absorption et d'émission des sondes, rendant une analyse difficile.

Une manière de modifier drastiquement les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission a été de modifier l'hétéroatome intracyclique du xanthène. Ainsi, l'oxygène a dans un premier temps été remplacé par un silicium³⁷⁸

pour permettre un décalage du maximum d'émission aux alentours de 600 nm, après une synthèse relativement longue, en 12 étapes avec un rendement global de 7%.

La molécule ainsi synthétisée a pu être couplée à du β -galactose pour permettre après hydrolyse, et formation de l'espèce anionique correspondante la visualisation de β -galactosidases *in cellulo*. Le colorant couplé au sucre étant non fluorescent, la formation de l'espèce anionique permet un turn-on de fluorescence, et donc une localisation cellulaire de sa formation.

Quelques années plus tard, le silicium a pu être remplacé par un oxyde de phosphine en 6 étapes avec un rendement équivalent. L'introduction de phosphore a permis un effet bathochrome très important jusqu'à 660 nm, tout en gardant la structure de la fluorescéine. Toutefois cette famille a été moins développés que les analogues silylés.

Malgré cela, aucun analogue silylé ou phosphoré ne sont actuellement commercialisés, ce qui peut être lié à leur méthodologie de synthèse assez compliquée et finalement assez peu efficiente. Les dérivés de la fluorescéine actuellement commercialisés sont principalement des dérivés de la fluorescéine fonctionnalisés de sorte à pouvoir les coupler à divers anticorps.

V.2.3 Le développement de l'Oregon 514

L'Oregon 514 (OG 514) fait partie des rares analogues de la fluorescéine disponibles sur le marché. L'introduction d'atomes de fluor sur le cycle benzénique a permis de décaler les maxima d'absorption et d'émission de fluorescence, tout en abaissant le pKa de la molécule, le faisant passer de 6,4 à 4,8.

Toute comme la fluorescéine, cette molécule est synthétisée en une seule étape, suivie d'une étape de fonctionnalisation (**Figure 77**). La première étape est une condensation de deux molécules de 4-fluorobenzène-1,3-diol avec une molécule d'acide 3,4,5,6-tétrafluorophthalique en conditions acides. La substitution nucléophile de l'acide 2-mercaptoacétique sur l'intermédiaire de synthèse permet d'accéder à la molécule finale.

Cette molécule a pu être popularisée en tant que colorant histologique grâce à une plus grande stabilité⁴⁹² dans le temps que la fluorescéine, permettant la mise en place d'analyses plus longue. L'OG 514, contrairement à la fluorescéine est beaucoup moins sensible au pH avec un pKa de 4,8. cela se traduit par la présence d'une forme anionique majoritaire à pH physiologique, donc une intensité de fluorescence maximale, contrairement à la fluorescéine qui possède un pKa de 6,4. Dans le cas de la fluorescéine son pKa ne lui permet pas d'atteindre ce maximum de fluorescence à pH physiologique.

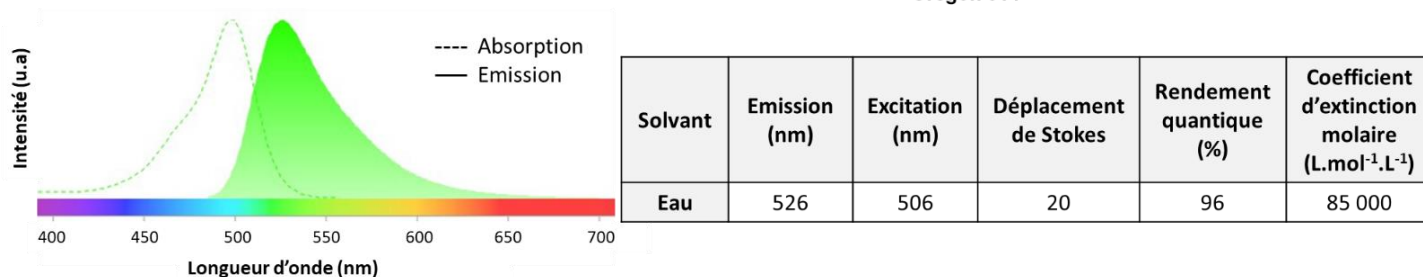
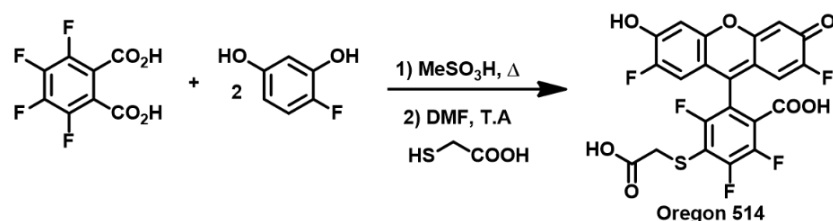


Figure 77 : Structure chimique, synthèse et propriétés photophysiques de l'Oregon 514

Ce colorant a été utilisé sous forme conjuguée à un anticorps⁴⁹³, un métal⁴⁹⁴, ou sous forme non liée pour la mise en évidence de différentes hormones⁴⁹⁵ et protéines biologiques⁴⁹⁶⁻⁴⁹⁸.

Pour résumer, cette molécule ainsi que les différents analogues de cette même famille chimique sont régulièrement utilisés à la fois en recherche fondamentale et appliquée mais également en clinique en tant qu'outil diagnostic.

Conclusions générales

Le développement de nouveaux outils d'imagerie biologiques s'envisage de manière interdisciplinaire au travers de la chimie médicinale.

Dans le cas où la cible biologique est suffisamment décrite, la recherche et le développement de nouvelles molécules d'intérêt pourront être guidés par les données collectées pour le développement d'autres outils d'imagerie. Ces données, obtenus principalement lors des études de relations structure-activité et l'identification des modes d'interaction entre les composés et leur cible biologique, permettent d'orienter la synthèse de nouveaux candidats respectant les critères jugés comme importants.

Dans le cas où une cible est assez peu décrite, la mise en place d'un criblage efficient sera primordiale. Pour cela, plusieurs approches peuvent être envisagées, à plusieurs échelles. Une méthode de criblage par résonance des plasmons de surface ou par séparation physique permet de tester plusieurs milliers de molécules très rapidement alors qu'une approche basée sur une expérience RMN de différence de transfert de saturation ou par calorimétrie ne permet de tester qu'une dizaine de molécules dans un temps expérimental similaire.

Pour maximiser les chances de succès, la construction d'une molécule d'intérêt biologique doit être intégrée dans une approche prenant en compte les contraintes liées à une utilisation biologique. Pour cela, plusieurs règles empiriques ont été utilisées depuis le début des années 2000 avec par exemple la « règle des 5 » de Lipinski, l'utilisation d'arbres décisionnels comme celui publié par Topliss, ou encore des approches basées sur le pharmacophore lorsque l'interaction ligand-protéine est suffisamment décrite.

En plus de cela, l'utilisation de groupements chimiques biocompatibles et de bioisostères permet d'améliorer la stabilité métabolique, la solubilité aqueuse ainsi que sa perméabilité. Les problèmes pharmacocinétiques représentant aujourd'hui près du dixième des arrêts de développement d'un candidat médicament, l'utilisation de guides comme la classification BCS (système de classification biopharmaceutique) permet de prendre conscience des limites auxquelles pourra se heurter une molécule en développement si aucune modification structurale n'est opérée.

Enfin, les molécules utilisées en tant qu'outil d'imagerie, qui montrent une grande diversité structurale, sont utilisées en exploitant une grande variété de phénomènes physiques. Ainsi en clinique, de nombreuses molécules radiomarquées sont aujourd'hui quotidiennement utilisés dans les examens de tomographie par émission de positons (TEP) ou radiographiques, des agents de contrastes en imagerie par résonance magnétique (IRM), en échographie ou encore en radiographie X. En imagerie non clinique, les molécules luminescentes exploitant divers mécanismes de désexcitation radiatifs sont fréquemment utilisées. C'est ainsi que de nombreuses molécules fluorescentes ou phosphorescentes exploitant des mécanismes de transfert de charge, AIE(E), ESIPT, TICT... ont vu le jour, pour l'identification de nombreuses cibles biologiques.

Le développement de nouveaux médicaments est donc fortement conditionné par l'état actuel des connaissances à la fois de la cible biologique envisagée mais également par les méthodes de criblage des molécules disponibles et d'études d'interaction ligand-protéine. De la même manière, les méthodologies de synthèse, de radiomarquage et la connaissance des phénomènes de désexcitation radiatives conditionnent l'espace chimique exploré lors du criblage de nouvelles molécules d'intérêts.

Références bibliographiques

- (1) Roughley, S. D.; Jordan, A. M. The Medicinal Chemist's Toolbox: An Analysis of Reactions Used in the Pursuit of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (10), 3451–3479. <https://doi.org/10.1021/jm200187y>.
- (2) Brown, D. G.; Boström, J. Analysis of Past and Present Synthetic Methodologies on Medicinal Chemistry: Where Have All the New Reactions Gone? *J. Med. Chem.* **2016**, *59* (10), 4443–4458. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01409>.
- (3) Jafarzadeh, M.; Sobhani, S. H.; Gajewski, K.; Kianmehr, E. Recent Advances in C/N-Alkylation with Alcohols through Hydride Transfer Strategies. *Org. Biomol. Chem.* **2022**, *20* (39), 7713–7745. <https://doi.org/10.1039/D2OB00706A>.
- (4) Ruiz-Castillo, P.; Buchwald, S. L. Applications of Palladium-Catalyzed C–N Cross-Coupling Reactions. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (19), 12564–12649. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00512>.
- (5) Recent Advances in the Tandem Copper-Catalyzed Ullmann–Goldberg N-Arylation–Cyclization Strategies. *Org. Biomol. Chem.* **2022**, *20* (15), 2993–3028. <https://doi.org/10.1039/d2ob00082b>.
- (6) Nieves-Remacha, M. J.; Torres, M.; Ruiz-Abad, M.; Rincón, J. A.; Cumming, G. R.; Garcia-Losada, P. Scale-up of N-Alkylation Reaction Using Phase-Transfer Catalysis with Integrated Separation in Flow. *React. Chem. Eng.* **2019**, *4* (2), 334–345. <https://doi.org/10.1039/C8RE00203G>.
- (7) Fischer, C.; Koenig, B. Palladium- and Copper-Mediated N-Aryl Bond Formation Reactions for the Synthesis of Biological Active Compounds. *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7* (1), 59–74. <https://doi.org/10.3762/bjoc.7.10>.
- (8) Heravi, M. M.; Kheilkordi, Z.; Zadsirjan, V.; Heydari, M.; Malmir, M. Buchwald-Hartwig Reaction: An Overview. *J. Organomet. Chem.* **2018**, *861*, 17–104. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2018.02.023>.
- (9) Sambiagio, C.; Marsden, S. P.; Blacker, A. J.; McGowan, P. C. Copper Catalysed Ullmann Type Chemistry: From Mechanistic Aspects to Modern Development. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (10), 3525–3550. <https://doi.org/10.1039/C3CS60289C>.
- (10) Chen, Z.; Jiang, Y.; Zhang, L.; Guo, Y.; Ma, D. Oxalic Diamides and Tert-Butoxide: Two Types of Ligands Enabling Practical Access to Alkyl Aryl Ethers via Cu-Catalyzed Coupling Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141* (8), 3541–3549. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b12142>.
- (11) Chen, Y.-J.; Chen, H.-H. 1,1,1-Tris(Hydroxymethyl)Ethane as a New, Efficient, and Versatile Tripod Ligand for Copper-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Aryl Iodides with Amides, Thiols, and Phenols. *Org. Lett.* **2006**, *8* (24), 5609–5612. <https://doi.org/10.1021/ol062339h>.
- (12) Protection for the Amino Group. In *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Ltd, 2006; pp 696–926. <https://doi.org/10.1002/9780470053485.ch7>.
- (13) Kociński, P. J. *Protecting Groups*, 3rd Edition.; Thieme Verlag, 2005. <https://doi.org/10.1055/b-003-108603>.
- (14) Carpino, L. A.; Han, G. Y. 9-Fluorenylmethoxycarbonyl Amino-Protecting Group. *J. Org. Chem.* **1972**, *37* (22), 3404–3409. <https://doi.org/10.1021/jo00795a005>.
- (15) Zorn, C.; Gnad, F.; Salmen, S.; Herpin, T.; Reiser, O. Deprotection of *N*-Alloc Amines by Pd(0)/DABCO—an Efficient Method for in Situ Peptide Coupling of Labile Amino Acids. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (40), 7049–7053. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)01453-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)01453-8).
- (16) Bartoszewicz, A.; Kalek, M.; Nilsson, J.; Hiresova, R.; Stawinski, J. A New Reagent System for Efficient Silylation of Alcohols: Silyl Chloride-*N*-Methylimidazole-Iodine. *Synlett* **2008**, *2008* (1), 37–40. <https://doi.org/10.1055/s-2007-992379>.
- (17) Khan, A. T.; Mondal, E. A Highly Efficient and Useful Synthetic Protocol for the Cleavage of Tert-Butyldimethylsilyl (TBS) Ethers Using a Catalytic Amount of Acetyl Chloride in Dry Methanol. *Synlett* **2003**, *2003* (5), 694–698. <https://doi.org/10.1055/s-2003-38360>.
- (18) Chandra, T.; Broderick, W. E.; Broderick, J. B. Chemoselective Deprotection of Triethylsilyl Ethers. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2009**, *28* (11–12), 1016–1029. <https://doi.org/10.1080/15257770903362172>.
- (19) *Deprotection of Silyl Ethers*. Gelest. <https://technical.gelest.com/brochures/silicon-based-blocking-agents/deprotection-of-silyl-ethers/> (accessed 2024-06-04).
- (20) Li, B.; Berliner, M.; Buzon, R.; Chiu, C. K.-F.; Colgan, S. T.; Kaneko, T.; Keene, N.; Kissel, W.; Le, T.; Leeman, K. R.; Marquez, B.; Morris, R.; Newell, L.; Wunderwald, S.; Witt, M.; Weaver, J.; Zhang, Z.; Zhang, Z. Aqueous Phosphoric Acid as a Mild Reagent for Deprotection of Tert-Butyl Carbamates, Esters, and Ethers. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (24), 9045–9050. <https://doi.org/10.1021/jo061377b>.
- (21) Tsukamoto, H.; Suzuki, T.; Kondo, Y. Remarkable Solvent Effect on Pd(0)-Catalyzed Deprotection of Allyl Ethers Using Barbituric Acid Derivatives: Application to Selective and Successive Removal of Allyl, Methylallyl, and Prenyl Ethers. *Synlett* **2007**, *2007* (20), 3131–3136. <https://doi.org/10.1055/s-2007-992352>.
- (22) Seif, L. S.; Partyka, K. M.; Hengeveld, J. E. Selective Hydrogenolysis of Benzyl and Carbobenzyloxy Protecting Groups for Hydroxyl and Amino Functions. In *Catalysis of Organic Reactions*; CRC Press, 1989.
- (23) Vermeeren, P.; Sun, X.; Bickelhaupt, F. M. Arylic C–X Bond Activation by Palladium Catalysts: Activation Strain Analyses of Reactivity Trends. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 10729. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28998-3>.
- (24) Kadu, B. S. Suzuki–Miyaura Cross Coupling Reaction: Recent Advancements in Catalysis and Organic Synthesis. *Catal. Sci. Technol.* **2021**, *11* (4), 1186–1221. <https://doi.org/10.1039/D0CY02059A>.
- (25) Chinchilla, R.; Nájera, C. Recent Advances in Sonogashira Reactions. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (10), 5084–5121. <https://doi.org/10.1039/C1CS15071E>.
- (26) Jutand, A. Mechanisms of the Mizoroki–Heck Reaction. In *The Mizoroki–Heck Reaction*; John Wiley & Sons, Ltd, 2009; pp 1–50. <https://doi.org/10.1002/9780470716076.ch1>.
- (27) Li, J. J. Negishi Cross-Coupling Reaction. In *Name Reactions: A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications Fifth Edition*; Li, J. J., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2014; pp 430–431. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03979-4_190.
- (28) Foubelo, F.; Nájera, C.; Yus, M. The Hiyama Cross-Coupling Reaction: New Discoveries. *Chem. Rec.* **2016**, *16* (6), 2521–2533. <https://doi.org/10.1002/tcr.201600063>.
- (29) Cordovilla, C.; Bartolomé, C.; Martínez-Irarduya, J. M.; Espinet, P. The Stille Reaction, 38 Years Later. *ACS Catal.* **2015**, *5* (5), 3040–3053. <https://doi.org/10.1021/acscatal.5b00448>.
- (30) Heravi, M. M.; Zadsirjan, V. Prescribed Drugs Containing Nitrogen Heterocycles: An Overview. *RSC Adv.* **2020**, *10* (72), 44247–44311. <https://doi.org/10.1039/D0RA09198G>.
- (31) *Gabriel Ethylenimine Method*. <https://www.drugfuture.com/OrganicNameReactions/ONR153.htm> (accessed 2024-06-10).
- (32) Christlieb, M.; Davies, J. E.; Eames, J.; Hooley, R.; Warren, S. The Stereoselective Synthesis of Oxetanes; Exploration of a New, Mitsunobu-Style Procedure for the Cyclisation of 1,3-Diols. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **2001**, No. 22, 2983–2996. <https://doi.org/10.1039/B106851B>.

- (33) Sartori, S. K.; Diaz, M. A. N.; Diaz-Muñoz, G. Lactones: Classification, Synthesis, Biological Activities, and Industrial Applications. *Tetrahedron* **2021**, *84*, 132001. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2021.132001>.
- (34) Prilezhaev Reaction. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; John Wiley & Sons, Ltd, 2010; pp 2270–2274. <https://doi.org/10.1002/9780470638859.conrr513>.
- (35) Arai, S.; Shirai, Y.; Ishida, T.; Shioiri, T. Phase-Transfer-Catalyzed Asymmetric Darzens Reaction. *Tetrahedron* **1999**, *55* (20), 6375–6386. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(99\)00213-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(99)00213-6).
- (36) Williams, A. L.; Johnston, J. N. The Brønsted Acid-Catalyzed Direct Aza-Darzens Synthesis of N-Alkyl Cis-Aziridines. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (6), 1612–1613. <https://doi.org/10.1021/ja0385282>.
- (37) D'Auria, M.; Racioppi, R. Oxetane Synthesis through the Paternò-Büchi Reaction. *Molecules* **2013**, *18* (9), 11384–11428. <https://doi.org/10.3390/molecules180911384>.
- (38) Song, S.; Jin, J.; Choi, J.-H.; Chung, W. Synthesis of Cis-Thiiranes as Diastereoselective Access to Epoxide Congeners via 4π-Electrocyclization of Thiocarbonyl Ylides. *Nat. Commun.* **2022**, *13* (1), 4818. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32499-3>.
- (39) Minetto, G.; Raveglia, L. F.; Sega, A.; Taddei, M. Microwave-Assisted Paal–Knorr Reaction – Three-Step Regiocontrolled Synthesis of Polysubstituted Furans, Pyrroles and Thiophenes. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *2005* (24), 5277–5288. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200500387>.
- (40) Leonardi, M.; Estévez, V.; Villacampa, M.; Menéndez, J. C. The Hantzsch Pyrrole Synthesis: Non-Conventional Variations and Applications of a Neglected Classical Reaction. *Synthesis* **2019**, *51* (04), 816–828. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1610320>.
- (41) Paal–Knorr Furan Synthesis. In *Name Reactions: A Collection of Detailed Reaction Mechanisms*; Li, J. J., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2006; pp 440–441. https://doi.org/10.1007/3-540-30031-7_200.
- (42) Calter, M. A.; Phillips, R. M.; Flaschenriem, C. Catalytic, Asymmetric, “Interrupted” Feist–Bénary Reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (42), 14566–14567. <https://doi.org/10.1021/ja055752d>.
- (43) Joule, J. A. De Novo Ring Synthesis of Thiophenes. In *Thiophenes*; Joule, J. A., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2015; pp 7–41. https://doi.org/10.1007/7081_2014_126.
- (44) Khalifa, M. E. Synthetic Strategies and Functional Reactivity of Versatile Thiophene Synthons. *Synth. Commun.* **2020**, *50* (17), 2590–2616. <https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1777311>.
- (45) Li, J. J. Lawesson’s Reagent. In *Name Reactions: A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications*; Li, J. J., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2009; pp 328–329. https://doi.org/10.1007/978-3-642-01053-8_145.
- (46) Kaleta, Z.; Makowski, B. T.; Soós, T.; Dembinski, R. Thionation Using Fluorous Lawesson’s Reagent. *Org. Lett.* **2006**, *8* (8), 1625–1628. <https://doi.org/10.1021/ol060208a>.
- (47) Tang, J.; Zhao, X. Synthesis of 2,5-Disubstituted Thiophenes via Metal-Free Sulfur Heterocyclization of 1,3-Diynes with Sodium Hydrosulfide. *RSC Adv.* **2012**, *2* (13), 5488–5490. <https://doi.org/10.1039/C2RA20326J>.
- (48) Revelant, G.; Dunand, S.; Hesse, S.; Kirsch, G. Microwave-Assisted Synthesis of 5-Substituted 2-Aminothiophenes Starting from Arylacetalddehydes. *Synthesis* **2011**, *2011* (18), 2935–2940. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1261032>.
- (49) Durand, J.-O.; Larchevêque, M.; Petit, Y. Reductive Cyanation: A Key Step for a Short Synthesis of (–)-(2S,3S)-3-Hydroxyproline. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39* (32), 5743–5746. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)01133-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)01133-2).
- (50) Mader, M.; Helquist, P. Ti(o-i-Pr)₄ Mediated Lactamizations. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29* (25), 3049–3052. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(88\)85082-2](https://doi.org/10.1016/0040-4039(88)85082-2).
- (51) Caruano, J.; Muccioli, G. G.; Robiette, R. Biologically Active γ-Lactams: Synthesis and Natural Sources. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (43), 10134–10156. <https://doi.org/10.1039/C6OB01349J>.
- (52) Martelli, G.; Orena, M.; Rinaldi, S. Recent Advances in Chemistry of γ-Lactams: Part I. Synthesis Starting from Acyclic or Cyclic Precursors. *Curr. Org. Chem.* **2014**, *18* (11), 1373–1481.
- (53) Martelli, G.; Monsignor, A.; Orena, M.; Rinaldi, S. Recent Advances in Chemistry of γ-Lactams: Part II. Functionalization by C-C or CHeteroatom Bond Formation. *Curr. Org. Chem.* **2014**, *18* (12), 1539–1585.
- (54) Hickey, E. R.; Zindell, R.; Cirillo, P. F.; Wu, L.; Ermann, M.; Berry, A. K.; Thomson, D. S.; Albrecht, C.; Gemkow, M. J.; Riether, D. Selective CB₂ Receptor Agonists. Part 1: The Identification of Novel Ligands through Computer-Aided Drug Design (CADD) Approaches. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (3), 575–580. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.12.033>.
- (55) Giannini, G.; Battistuzzi, G.; Vignola, D. Hydroxamic Acid Based Histone Deacetylase Inhibitors with Confirmed Activity against the Malaria Parasite. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (3), 459–461. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.12.051>.
- (56) Hill, M. D. Recent Strategies for the Synthesis of Pyridine Derivatives. *Chem. – Eur. J.* **2010**, *16* (40), 12052–12062. <https://doi.org/10.1002/chem.201001100>.
- (57) Allais, C.; Grassot, J.-M.; Rodriguez, J.; Constantieux, T. Metal-Free Multicomponent Syntheses of Pyridines. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (21), 10829–10868. <https://doi.org/10.1021/cr500099b>.
- (58) Friedländer Annulation in the Synthesis of Azaheterocyclic Compounds | Semantic Scholar. <https://www.semanticscholar.org/paper/Friedl%C3%A4nder-Annulation-in-the-Synthesis-of-Shiri-Zolfigol/4558d96330ba53c9a113716ad3bc8a26aadfea57> (accessed 2024-06-04).
- (59) Sasaki, I. Recent Uses of Kröhnke Methodology: A Short Survey. *Synthesis* **2016**, *48* (13), 1974–1992. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1561974>.
- (60) Kumar S, L.; Tabassum, S.; K S, S.; Govindaraju, S. A Mini Review on the Multicomponent Synthesis of Pyridine Derivatives. *ChemistrySelect* **2022**, *7* (47), e202203668. <https://doi.org/10.1002/slct.202203668>.
- (61) Li, J. J. Guareschi–Thorpe Condensation. In *Name Reactions: A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications*; Li, J. J., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2009; pp 270–270. https://doi.org/10.1007/978-3-642-01053-8_116.
- (62) Tamaddon, F.; Maddah-Roodan, S. Advanced Guareschi–Thorpe Synthesis of Pyridines in Green Buffer, and pH-Controlled Aqueous Medium with Ammonium Carbonate. *RSC Adv.* **2023**, *13* (35), 24846–24853. <https://doi.org/10.1039/D3RA04590K>.
- (63) Bagley, M. C.; Dale, J. W.; Bower, J. A New Modification of the Bohlmann–Rahtz Pyridine Synthesis. *Synlett* **2001**, *2001* (7), 1149–1151. <https://doi.org/10.1055/s-2001-15140>.
- (64) Breitmaier, E.; Bayer, E. Single-Step Synthesis of Pyridines from 3-Aminoacrolein and Carbonyl Compounds. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, *8* (10), 765–765. <https://doi.org/10.1002/anie.196907651>.

- (65) Suresh; Sandhu, J. S. Past, Present and Future of the Biginelli Reaction: A Critical Perspective. *Arkivoc* **2011**, *2012* (1), 66–133. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0013.103>.
- (66) Wang, A.; Liu, X.; Su, Z.; Jing, H. New Magnetic Nanocomposites of ZrO₂–Al₂O₃–Fe₃O₄ as Green Solid Acid Catalysts in Organic Reactions. *Catal. Sci. Technol.* **2013**, *4* (1), 71–80. <https://doi.org/10.1039/C3CY00572K>.
- (67) Nagarajaiah, H.; Mukhopadhyay, A.; Moorthy, J. N. ChemInform Abstract: Biginelli Reaction: An Overview. *ChemInform* **2016**, *47* (51). <https://doi.org/10.1002/chin.201651240>.
- (68) Ghosh, B. K.; Hazra, S.; Ghosh, N. N. Synthesis of Cu@CF@SBA15: A Versatile Catalysts for (i) Reduction of Dyes, Trifluralin, Synthesis of (ii) DHPMs by Biginelli Reaction and (iii) 1,2,3-Triazole Derivatives by 'Click Reaction.' *Catal. Commun.* **2016**, *80*, 44–48. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2016.03.016>.
- (69) Panda, S. S.; Khanna, P.; Khanna, L. Biginelli Reaction: A Green Perspective. *Curr. Org. Chem.* **2016**, *16* (4), 507–520. <https://doi.org/10.2174/138527212799499859>.
- (70) Vidal, M.; García-Arriagada, M.; Rezende, M. C.; Domínguez, M. Ultrasound-Promoted Synthesis of 4-Pyrimidinols and Their Tosyl Derivatives. *Synthesis* **2016**, *48* (23), 4246–4252. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1562788>.
- (71) Maeyama, E.; Yamaguchi, T.; Sumimoto, M.; Hori, K. A Method to Search the Most Stable Reaction Pathway and Its Application to the Pinner Pyrimidine Synthesis Reaction. *J. Comput. Aided Chem.* **2021**, *22*, 1–7. <https://doi.org/10.2751/jcac.22.1>.
- (72) Mahfoudh, M.; Abderrahim, R.; Leclerc, E.; Campagne, J.-M. Recent Approaches to the Synthesis of Pyrimidine Derivatives. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017* (20), 2856–2865. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201700008>.
- (73) McCauley, J. A.; Theberge, C. R.; Liverton, N. J. Chemoselective Reactions of Amidines: Selective Formation of Iminopyrimidine Regioisomers. *Org. Lett.* **2000**, *2* (21), 3389–3391. <https://doi.org/10.1021/ol006499j>.
- (74) Ye, F.; Chen, L.; Hu, L.; Xiao, T.; Yu, S.; Chen, D.; Wang, Y.; Liang, G.; Liu, Z.; Wang, S. Design, Synthesis and Preliminary Biological Evaluation of C-8 Substituted Guanine Derivatives as Small Molecular Inhibitors of FGFRs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (7), 1556–1560. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.02.010>.
- (75) Gayon, E.; Szymczyk, M.; Gérard, H.; Vrancken, E.; Campagne, J.-M. Stereoselective and Catalytic Access to β-Enaminones: An Entry to Pyrimidines. *J. Org. Chem.* **2012**, *77* (20), 9205–9220. <https://doi.org/10.1021/jo301675g>.
- (76) Sloop, J. C. Quinoline Formation via a Modified Combes Reaction: Examination of Kinetics, Substituent Effects, and Mechanistic Pathways. *J. Phys. Org. Chem.* **2009**, *22* (2), 110–117. <https://doi.org/10.1002/poc.1433>.
- (77) Brouet, J.-C.; Gu, S.; Peet, N. P.; Williams, J. D. Survey of Solvents for the Conrad–Limpach Synthesis of 4-Hydroxyquinolones. *Synth. Commun.* **2009**, *39* (9), 1563–1569. <https://doi.org/10.1080/00397910802542044>.
- (78) Li, A.-H.; Ahmed, E.; Chen, X.; Cox, M.; Crew, A. P.; Dong, H.-Q.; Jin, M.; Ma, L.; Panicker, B.; Siu, K. W.; Steinig, A. G.; Stolz, K. M.; Tavares, P. A. R.; Volk, B.; Weng, Q.; Werner, D.; Mulvihill, M. J. A Highly Effective One-Pot Synthesis of Quinolines from o-Nitroarylcarbaldehydes. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *5* (1), 61–64. <https://doi.org/10.1039/B613775J>.
- (79) McNaughton, B. R.; Miller, B. L. A Mild and Efficient One-Step Synthesis of Quinolines. *Org. Lett.* **2003**, *5* (23), 4257–4259. <https://doi.org/10.1021/ol035333q>.
- (80) Meth-Cohn Quinoline Synthesis. In *Name Reactions: A Collection of Detailed Reaction Mechanisms*; Li, J. J., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2006; pp 376–377. https://doi.org/10.1007/3-540-30031-7_168.
- (81) Meth-Cohn, O.; Narine, B. A Versatile New Synthesis of Quinolines, Thienopyridines and Related Fused Pyridines. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19* (23), 2045–2048. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)94745-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)94745-8).
- (82) Meth-Cohn, O.; Taylor, D. L. The Reverse Vilsmeier Approach to the Synthesis of Quinolines, Quinolinium Salts and Quinolones. *Tetrahedron* **1995**, *51* (47), 12869–12882. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(95\)00729-R](https://doi.org/10.1016/0040-4020(95)00729-R).
- (83) Faisal, M.; Saeed, A. Chemical Insights Into the Synthetic Chemistry of Quinazolines: Recent Advances. *Front. Chem.* **2021**, *8*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.594717>.
- (84) Tamatam, R.; Shin, D. Recent Advances in the Transition-Metal-Free Synthesis of Quinazolines. *Molecules* **2023**, *28* (7), 3227. <https://doi.org/10.3390/molecules28073227>.
- (85) Deharkar, P.; Satpute, S.; Panhekar, D. Review on Synthesis Route of Quinazoline Based Hybrid Derivatives. *Asian J. Chem.* **2021**, *33* (11), 2525–2547. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2021.23373>.
- (86) Borah, B.; Chowhan, L. R. Recent Advances in the Transition-Metal-Free Synthesis of Quinoxalines. *RSC Adv.* **2021**, *11* (59), 37325–37353. <https://doi.org/10.1039/D1RA06942J>.
- (87) Maikhuri, V. K.; Prasad, A. K.; Jha, A.; Srivastava, S. Recent Advances in the Transition Metal Catalyzed Synthesis of Quinoxalines: A Review. *New J. Chem.* **2021**, *45* (30), 13214–13246. <https://doi.org/10.1039/D1NJ01442K>.
- (88) Nageswar, Y. V. D.; Reddy, K. H. V.; Ramesh, K.; Murthy, S. N. Recent Developments in the Synthesis of Quinoxaline Derivatives by Green Synthetic Approaches. *Org. Prep. Proced. Int.* **2013**, *45* (1), 1–27. <https://doi.org/10.1080/00304948.2013.743419>.
- (89) Yashwantrao, G.; Saha, S. Recent Advances in the Synthesis and Reactivity of Quinoxaline. *Org. Chem. Front.* **2021**, *8* (11), 2820–2862. <https://doi.org/10.1039/D0QO01575J>.
- (90) Sadek, K. U.; Mekheimer, R. A.; Abd-Elmonem, M. Recent Developments in the Synthesis of Cinnoline Derivatives. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2016**, *6*, 578–588. <https://doi.org/10.2174/1570193X15666180712124148>.
- (91) Tonk, R. K.; Bawa, S.; Kumar, D. Therapeutic Potential of Cinnoline Core: A Comprehensive Review. *Mini-Rev. Med. Chem.* **20** (3), 196–218. <https://doi.org/10.2174/1389557519666191011095858>.
- (92) Vinogradova, O. V.; Balova, I. A. Methods for the Synthesis of Cinnolines (Review). *Chem. Heterocycl. Compd.* **2008**, *44* (5), 501–522. <https://doi.org/10.1007/s10593-008-0070-0>.
- (93) Bischler, Aug. Ueber Phenmiazin. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, *24* (1), 506–508. <https://doi.org/10.1002/cber.18910240194>.
- (94) Desai, A.; Desai, K. Niementowski Reaction: Microwave Induced and Conventional Synthesis of Quinazolinones and 3-Methyl-1H-5-Pyrazolones and Their Antimicrobial Activity. *Arkivoc* **2005**, *2005*.
- (95) Alexandre, F.-R.; Berecibar, A.; Besson, T. Microwave-Assisted Niementowski Reaction. Back to the Roots. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43* (21), 3911–3913. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)00619-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)00619-6).
- (96) Xie, C.; Zhang, Z.; Yang, B.; Song, G.; Gao, H.; Wen, L.; Ma, C. An Efficient Iodine–DMSO Catalyzed Synthesis of Quinoxaline Derivatives. *Tetrahedron* **2015**, *71* (12), 1831–1837. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.02.003>.

- (97) Pardeshi, S. D.; Sathe, P. A.; Vadagaonkar, K. S.; Chaskar, A. C. One-Pot Protocol for the Synthesis of Imidazoles and Quinoxalines Using N-Bromosuccinimide. *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359* (23), 4217–4226. <https://doi.org/10.1002/adsc.201700900>.
- (98) Sun, X.; Wang, W.; Li, Y.; Ma, J.; Yu, S. Halogen-Bond-Promoted Double Radical Isocyanide Insertion under Visible-Light Irradiation: Synthesis of 2-Fluoroalkylated Quinoxalines. *Org. Lett.* **2016**, *18* (18), 4638–4641. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b02271>.
- (99) Szumilak, M.; Stanczak, A. Cinnoline Scaffold—A Molecular Heart of Medicinal Chemistry? *Molecules* **2019**, *24* (12), 2271. <https://doi.org/10.3390/molecules24122271>.
- (100) Stoermer, R.; Fincke, H. Eine Neue Synthese von Cinnolin-Derivaten. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1909**, *42* (3), 3115–3132. <https://doi.org/10.1002/cber.19090420331>.
- (101) Stoermer, R.; Gaus, O. Zur Kenntnis Der Cinnolin-Synthesen. 4-Anisyl-Cinnolin. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1912**, *45* (3), 3104–3113. <https://doi.org/10.1002/cber.19120450340>.
- (102) Widman, O. Ueber Die Einwirkung von Salpetriger Säure Auf Die Amidooxypropyl- Und Die Amidopropenylbenzoesäure. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17* (1), 722–727. <https://doi.org/10.1002/cber.188401701196>.
- (103) *A General Method to Diverse Cinnolines and Cinnolinium Salts - Zhao - 2013 - Chemistry – A European Journal - Wiley Online Library.* <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/chem.201300155> (accessed 2024-06-04).
- (104) Borsche, W.; Herbert, A. Synthesen Mit 5-Nitro-2-Brom-Acetophenon. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1941**, *546* (3), 293–303. <https://doi.org/10.1002/jlac.19415460306>.
- (105) KOELSCH, C. F. AN INDOLE SYNTHESIS FROM A M-CARBOXYPHENYLHYDRAZONE. *J. Org. Chem.* **1943**, *08* (4), 295–299. <https://doi.org/10.1021/jo01192a001>.
- (106) Von Richter Cinnoline Synthesis. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; John Wiley & Sons, Ltd, 2010; pp 2908–2910. <https://doi.org/10.1002/9780470638859.conrr650>.
- (107) Stefanachi, A.; Leonetti, F.; Pisani, L.; Catto, M.; Carotti, A. Coumarin: A Natural, Privileged and Versatile Scaffold for Bioactive Compounds. *Molecules* **2018**, *23* (2), 250. <https://doi.org/10.3390/molecules23020250>.
- (108) v. Pechmann, H. Neue Bildungsweise Der Cumarine. Synthese Des Daphnetins. I. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17* (1), 929–936. <https://doi.org/10.1002/cber.188401701248>.
- (109) Li, J. J. Pechmann Coumarin Synthesis. In *Name Reactions: A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications Fifth Edition*; Li, J. J., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2014; pp 466–467. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03979-4_208.
- (110) Trost, B. M.; Toste, F. D. A New Palladium-Catalyzed Addition: A Mild Method for the Synthesis of Coumarins. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (26), 6305–6306. <https://doi.org/10.1021/ja961107i>.
- (111) Lavoisier-Gallo, T.; Charonnet, E.; Pons, J.-M.; Rajzman, M.; Faure, R.; Rodriguez, J. C–C versus C–O Anionic Domino Cycloalkylation of Stabilized Carbanions: Facile One-Pot Stereoselective Preparation of Functionalized Bridged Bicycloalkanones and Cyclic Enol Ethers. *Chem. – Eur. J.* **2001**, *7* (5), 1056–1068. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20010302\)7:5<1056::AID-CHEM1056>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20010302)7:5<1056::AID-CHEM1056>3.0.CO;2-D).
- (112) Humphrey, G. R.; Kuethe, J. T. Practical Methodologies for the Synthesis of Indoles. *Chem. Rev.* **2006**, *106* (7), 2875–2911. <https://doi.org/10.1021/cr0505270>.
- (113) Taber, D. F.; Tirunahari, P. K. Indole Synthesis: A Review and Proposed Classification. *Tetrahedron* **2011**, *67* (38), 7195–7210. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.06.040>.
- (114) Chung, N. T.; Dung, V. C.; Duc, D. X. Recent Achievements in the Synthesis of Benzimidazole Derivatives. *RSC Adv.* **2013**, *3* (46), 32734–32771. <https://doi.org/10.1039/d3ra05960j>.
- (115) Rajasekhar, S.; Maiti, B.; Balamurali, M. M.; Chanda, K. Synthesis and Medicinal Applications of Benzimidazoles: An Overview. *Curr. Org. Synth.* **2014**, *14* (1), 40–60. <https://doi.org/10.2174/1570179413666160818151932>.
- (116) Miao, Y.; Hu, Y.; Yang, J.; Liu, T.; Sun, J.; Wang, X. Natural Source, Bioactivity and Synthesis of Benzofuran Derivatives. *RSC Adv.* **2019**, *9* (47), 27510–27540. <https://doi.org/10.1039/C9RA04917G>.
- (117) Mushtaq, A.; Zahoor, A. F.; Ahmad, S.; Saif, M. J.; ul Haq, A.; Khan, S. G.; Al-Mutairi, A. A.; Irfan, A.; Al-Hussain, S. A.; Zaki, M. E. A. A Comprehensive Review on Benzofuran Synthesis Featuring Innovative and Catalytic Strategies. *ACS Omega* **2024**, *9* (19), 20728–20752. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c02677>.
- (118) Keri, R. S.; Chand, K.; Budagumpi, S.; Balappa Somappa, S.; Patil, S. A.; Nagaraja, B. M. An Overview of Benzo[b]Thiophene-Based Medicinal Chemistry. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *138*, 1002–1033. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.038>.
- (119) Litvinova, V. A.; Tikhomirov, A. S. New Methods for Synthesis of 1-Benzothiophene-3-Carboxylic Acid Derivatives (Microreview). *Chem. Heterocycl. Compd.* **2021**, *57* (2), 131–133. <https://doi.org/10.1007/s10593-021-02882-x>.
- (120) He, J. Recent Developments in the Catalytic Synthesis of 2-Substituted Benzoxazoles. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *21* (19), 1991–2012. <https://doi.org/10.2174/1385272821666170623080714>.
- (121) Rajasekhar, S.; Maiti, B.; Chanda, K. A Decade Update on Benzoxazoles, a Privileged Scaffold in Synthetic Organic Chemistry. *Synlett* **2017**, *28* (5), 521–541. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1588671>.
- (122) Soni, S.; Sahiba, N.; Teli, S.; Teli, P.; Agarwal, L. K.; Agarwal, S. Advances in the Synthetic Strategies of Benzoxazoles Using 2-Aminophenol as a Precursor: An up-to-Date Review. *RSC Adv.* **2023**, *13* (34), 24093–24111. <https://doi.org/10.1039/D3RA03871H>.
- (123) Patel, S. R.; Patil, R. V.; Chavan, J. U.; Beldar, A. G. Nanocatalyzed Synthesis of Benzoxazoles. *ChemistrySelect* **2023**, *8* (35), e202301972. <https://doi.org/10.1002/slct.202301972>.
- (124) Shainyan, B. A.; Zhilitskaya, L. V.; Yarosh, N. O. Synthetic Approaches to Biologically Active C-2-Substituted Benzothiazoles. *Molecules* **2022**, *27* (8), 2598. <https://doi.org/10.3390/molecules27082598>.
- (125) Gao, X.; Liu, J.; Zuo, X.; Feng, X.; Gao, Y. Recent Advances in Synthesis of Benzothiazole Compounds Related to Green Chemistry. *Molecules* **2020**, *25* (7), 1675. <https://doi.org/10.3390/molecules25071675>.
- (126) Yadav, K. P.; Rahman, M. A.; Nishad, S.; Maurya, S. K.; Anas, M.; Mujahid, M. Synthesis and Biological Activities of Benzothiazole Derivatives: A Review. *Intell. Pharm.* **2023**, *1* (3), 122–132. <https://doi.org/10.1016/j.ipha.2023.06.001>.
- (127) Kochergin, P. M.; Aleksandrova, E. V.; Persanova, L. V. Rational Chemical Schemes for the Synthesis of Medicinal Preparations of the Purine Series (A Review). *Pharm. Chem. J.* **2001**, *35* (7), 388–392. <https://doi.org/10.1023/A:1012711505589>.
- (128) Seen, S. B.; Gong, Y.; Ashton, M. Chapter One - The Application of the Fischer Indole Synthesis in Medicinal Chemistry. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Scriven, E. F. V., Ramsden, C. A., Eds.; Academic Press, 2023; Vol. 139, pp 1–85. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2022.11.001>.

- (129) Larock, R. C.; Yum, E. K.; Refvik, M. D. Synthesis of 2,3-Disubstituted Indoles via Palladium-Catalyzed Annulation of Internal Alkynes. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (22), 7652–7662. <https://doi.org/10.1021/jo9803277>.
- (130) Roesch, K. R.; Larock, R. C. Synthesis of Isoindolo[2,1-a]Indoles by the Palladium-Catalyzed Annulation of Internal Alkynes. *Org. Lett.* **1999**, *1* (10), 1551–1553. <https://doi.org/10.1021/ol9901873>.
- (131) NISHIKAWA, T.; WADA, K.; ISOBE, M. Synthesis of Novel α -C-Glycosylamino Acids and Reverse Regioselectivity in Larock's Heteroannulation for the Synthesis of the Indole Nucleus. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66* (10), 2273–2278. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.2273>.
- (132) Castro, C. E.; Gaughan, E. J.; Owsley, D. C. Indoles, Benzofurans, Phthalides, and Tolanes via Copper(I) Acetylides. *J. Org. Chem.* **1966**, *31* (12), 4071–4078. <https://doi.org/10.1021/jo01350a045>.
- (133) Bosco, M.; Dalpozzo, R.; Bartoli, G.; Palmieri, G.; Petrini, M. Mechanistic Studies on the Reaction of Nitro- and Nitrosoarenes with Vinyl Grignard Reagents. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1991**, No. 5, 657–663. <https://doi.org/10.1039/P29910000657>.
- (134) Mahurkar, N. D.; Gawhale, N. D.; Lokhande, M. N.; Uke, S. J.; Kodape, M. M. Benzimidazole: A Versatile Scaffold for Drug Discovery and beyond – A Comprehensive Review of Synthetic Approaches and Recent Advancements in Medicinal Chemistry. *Results Chem.* **2023**, *6*, 101139. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101139>.
- (135) Phillips-Ladenburg Benzimidazole Synthesis. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; John Wiley & Sons, Ltd, 2010; pp 2197–2199. <https://doi.org/10.1002/9780470638859.conrr496>.
- (136) Pardeshi, V. A. S.; Chundawat, N. S.; Pathan, S. I.; Sukhwai, P.; Chundawat, T. P. S.; Singh, G. P. A Review on Synthetic Approaches of Benzimidazoles. *Synth. Commun.* **2021**, *51* (4), 485–513. <https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1841239>.
- (137) Alaqeel, S. I. Synthetic Approaches to Benzimidazoles from o-Phenylenediamine: A Literature Review. *J. Saudi Chem. Soc.* **2017**, *21* (2), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2016.08.001>.
- (138) LARGERON, M.; NGUYEN, K. M. H. Recent Advances in the Synthesis of Benzimidazole Derivatives from the Oxidative Coupling of Primary Amines. *Synthesis* **2018**, *50* (2), 241–253. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1590915>.
- (139) Mohammed, L. A.; Farhan, M. A.; Dadoosh, S. A.; Alheety, M. A.; Majeed, A. H.; Mahmood, A. S.; Mahmoud, Z. H. A Review on Benzimidazole Heterocyclic Compounds: Synthesis and Their Medicinal Activity Applications. *SynOpen* **2023**, *07* (4), 652–673. <https://doi.org/10.1055/a-2155-9125>.
- (140) Choudhary, A.; Viradiya, R. H.; Ghoghari, R. N.; Chikhalia, K. H. Recent Scenario for the Synthesis of Benzimidazole Moiety(2020–2022). *ChemistrySelect* **2023**, *8* (10), e202204910. <https://doi.org/10.1002/slct.202204910>.
- (141) Wanjar, P. J.; Saha, N.; Dubey, G.; Bharatam, P. V. Metal-Free Methods for the Generation of Benzimidazoles and 2-Aminobenzimidazoles. *Tetrahedron* **2023**, *130*, 133143. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2022.133143>.
- (142) Ejaz, S.; Zubair, M.; Rizwan, K.; Karakaya, I.; Rasheed, T.; Rasool, N. An Updated Coverage on the Synthesis of Benzo[b]Thiophenes via Transition-Metalcatalyzed Reactions: A Review. *Curr. Org. Chem.* **25** (1), 40–67. <https://doi.org/10.2174/138527282499920111204317>.
- (143) Duc, D. X. Recent Progress in the Synthesis of Benzo[b]Thiophene. *Curr. Org. Chem.* **24** (19), 2256–2271. <https://doi.org/10.2174/1385272824999200820151545>.
- (144) Kuhn, M.; Falk, F. C.; Paradies, J. Palladium-Catalyzed C–S Coupling: Access to Thioethers, Benzo[b]Thiophenes, and Thieno[3,2-b]Thiophenes. *Org. Lett.* **2011**, *13* (15), 4100–4103. <https://doi.org/10.1021/ol2016093>.
- (145) Alikhani, Z.; Albertson, A. G.; Walter, C. A.; Masih, P. J.; Kesharwani, T. Synthesis of Benzo[b]Thiophenes via Electrophilic Sulfur Mediated Cyclization of Alkynylthioanisoles. *J. Org. Chem.* **2022**, *87* (9), 6312–6320. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02606>.
- (146) Nakamura, I.; Sato, T.; Yamamoto, Y. Gold-Catalyzed Intramolecular Carbothiolation of Alkynes: Synthesis of 2,3-Disubstituted Benzothiophenes from (Alpha-Alkoxy Alkyl) (Ortho-Alkynyl Phenyl) Sulfides. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2006**, *45* (27), 4473–4475. <https://doi.org/10.1002/anie.200601178>.
- (147) Mancuso, R.; Cuglietta, S.; Strangis, R.; Gabriele, B. Synthesis of Benzothiophene-3-Carboxylic Esters by Palladium Iodide-Catalyzed Oxidative Cyclization–Deprotection–Alkoxyacylation Sequence under Aerobic Conditions. *J. Org. Chem.* **2023**, *88* (8), 5180–5186. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00686>.
- (148) Özil, M.; Menteşe, E. Microwave-Assisted Synthesis of Benzoxazoles Derivatives. *Curr. Microw. Chem.* **7** (3), 183–195. <https://doi.org/10.2174/2213335607999200518094114>.
- (149) Pal, S.; Manjunath, B.; Ghorai, S.; Sasmal, S. Chapter Two - Benzoxazole Alkaloids: Occurrence, Chemistry, and Biology. In *The Alkaloids: Chemistry and Biology*; Knölker, H.-J., Ed.; Academic Press, 2018; Vol. 79, pp 71–137. <https://doi.org/10.1016/bs.alkal.2017.12.002>.
- (150) Sattar, R.; Mukhtar, R.; Atif, M.; Hasnain, M.; Irfan, A. Synthetic Transformations and Biological Screening of Benzoxazole Derivatives: A Review. *J. Heterocycl. Chem.* **2020**, *57* (5), 2079–2107. <https://doi.org/10.1002/jhet.3944>.
- (151) Bala, M.; Verma, P. K.; Sharma, D.; Kumar, N.; Singh, B. Highly Efficient Water-Mediated Approach to Access Benzazoles: Metal Catalyst and Base-Free Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles, Benzoxazoles, and Benzothiazoles. *Mol. Divers.* **2015**, *19* (2), 263–272. <https://doi.org/10.1007/s11030-015-9572-8>.
- (152) Jiang, J.; Zou, H.; Dong, Q.; Wang, R.; Lu, L.; Zhu, Y.; He, W. Synthesis of 2-Keto(Hetero)Aryl Benzox(Thio)Azoles through Base Promoted Cyclization of 2-Amino(Thio)Phenols with α,α -Dihaloketones. *J. Org. Chem.* **2016**, *81* (1), 51–56. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b02093>.
- (153) Bahrami, K.; Khodaei, M. M.; Naali, F. TiO₂ Nanoparticles Catalysed Synthesis of 2-Arylbenzimidazoles and 2-Arylbenzothiazoles Using Hydrogen Peroxide under Ambient Light. *J. Exp. Nanosci.* **2016**, *11* (2), 148–160. <https://doi.org/10.1080/17458080.2015.1038659>.
- (154) Tiwari, A. R.; Bhanage, B. M. Copper-Catalyzed Synthesis of Benzoxazoles via Tandem Cyclization of 2-Halophenols with Amidines. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (33), 7920–7926. <https://doi.org/10.1039/C6OB01264G>.
- (155) Ahmed, A.; Singha, R.; Ray, J. K. Ligand-Free Copper Powder-Catalyzed and KOTBu-Accelerated Expeditious Synthesis of Substituted Benzoxazoles. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *17* (56), 2167–2171. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.03.067>.
- (156) Gu, L.; Jin, C.; Guo, J.; Zhang, L.; Wang, W. A Novel Strategy for the Construction of Substituted Benzoxazoles via a Tandem Oxidative Process. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (93), 10968–10970. <https://doi.org/10.1039/C3CC46375C>.
- (157) Chancellor, D. R.; Davies, K. E.; De Moor, O.; Dorgan, C. R.; Johnson, P. D.; Lambert, A. G.; Lawrence, D.; Lecci, C.; Maillol, C.; Middleton, P. J.; Nugent, G.; Poignant, S. D.; Potter, A. C.; Price, P. D.; Pye, R. J.; Storer, R.; Tinsley, J. M.; van Well, R.; Vickers, R.; Vile,

- J.; Wilkes, F. J.; Wilson, F. X.; Wren, S. P.; Wynne, G. M. Discovery of 2-Arylbenzoxazoles as Upregulators of Utrophin Production for the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (9), 3241–3250. <https://doi.org/10.1021/jm200135z>.
- (158) *BENZOTHAZOLE – A MAGIC MOLECULE | INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*. <https://ijpsr.com/bft-article/benzothiazole-a-magic-molecule/> (accessed 2024-06-04).
- (159) Banerjee, S.; Payra, S.; Saha, A. A Review on Synthesis of Benzothiazole Derivatives. *Curr. Organocatalysis* **4** (3), 164–181. <https://doi.org/10.2174/2213337205666180119143539>.
- (160) *A COMPREHENSIVE REVIEW ON BENZOTHAZOLE DERIVATIVES FOR THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES | INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*. <https://ijpsr.com/bft-article/a-comprehensive-review-on-benzothiazole-derivatives-for-their-biological-activities/> (accessed 2024-06-04).
- (161) *BENZOTHAZOLE DERIVATIVE: A REVIEW ON ITS PHARMACOLOGICAL IMPORTANCE TOWARDS SYNTHESIS OF LEAD | INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*. <https://ijpsr.com/bft-article/benzothiazole-derivative-a-review-on-its-pharmacological-importance-towards-synthesis-of-lead/> (accessed 2024-06-04).
- (162) Lihumis, H. S.; Alameri, A.; Zaooli, R. H. A Review on Recent Development and Biological Applications of Benzothiazole Derivatives. *Prog. Chem. Biochem. Res.* **2022**, *5* (2), 147–164. <https://doi.org/10.22034/pcbr.2022.330703.1214>.
- (163) Kumar, S.; Dubey, B. A Review on Emerging Benzothiazoles: Biological Aspects. *J. Drug Deliv. Ther.* **2022**, *12* (4-S), 270–274. <https://doi.org/10.22270/jddt.v12i4-S.5549>.
- (164) Qadir, T.; Amin, A.; Salhotra, A.; Sharma, P. K.; Jeelani, I.; Abe, H. Recent Advances in the Synthesis of Benzothiazole and Its Derivatives. *Curr. Org. Chem.* **26** (2), 189–214. <https://doi.org/10.2174/1385272826666211229144446>.
- (165) Sethiya, A.; Sahiba, N.; Teli, P.; Soni, J.; Agarwal, S. Current Advances in the Synthetic Strategies of 2-Arylbenzothiazole. *Mol. Divers.* **2022**, *26* (1), 513–553. <https://doi.org/10.1007/s11030-020-10149-4>.
- (166) Singh, C.; Kumar, R.; Mazumder, A.; Salahuddin; Kumar, A.; Sahu, R.; Mishra, S.; Abdullah, M. M. Benzothiazole: Synthetic Strategies, Biological Potential, and Interactions with Targets. *Mini-Rev. Org. Chem.* **19** (2), 242–256. <https://doi.org/10.2174/1570193X18666210308145703>.
- (167) Singh, H.; Kumar, R.; Yadav, R. K.; Mazumder, A.; Salahuddin; Chauhan, B.; Abdullah, M. M. Insight into the Synthesis, Biological Activity, and Structure–Activity Relationship of Benzothiazole and Benzothiazole-Hydrazone Derivatives: A Comprehensive Review. *Mini-Rev. Med. Chem.* **23** (5), 537–575. <https://doi.org/10.2174/1389557522666220523110521>.
- (168) Kumar, A.; Sharma, S.; Maurya, R. ChemInform Abstract: Bienzymatic Synthesis of Benzothiazole(Oxa)Zoles in Aqueous Medium. *Tetrahedron Lett. - TETRAHEDRON LETT* **2010**, *51*, 6224–6226. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2010.06.012>.
- (169) Azizi, N.; Khajeh-Amiri, A.; Baghi, R.; Bolourtchian, M.; Hashemi, M. PTSA Catalyzed Simple and Green Synthesis of Benzothiazole Derivatives in Water. *Monatshefte Chem. - MONATSH CHEM* **2009**, *140*, 1471–1473. <https://doi.org/10.1007/s00706-009-0209-4>.
- (170) Cho, Y. H.; Lee, C.-Y.; Ha, D.-C.; Cheon, C.-H. Cyanide as a Powerful Catalyst for Facile Preparation of 2-Substituted Benzoxazoles via Aerobic Oxidation. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354* (16), 2992–2996. <https://doi.org/10.1002/adsc.201200684>.
- (171) Urzúa, J. I.; Contreras, R.; Salas, C. O.; Tapia, R. A. N-Heterocyclic Carbene Copper(I) Complex-Catalyzed Synthesis of 2-Aryl Benzoxazoles and Benzothiazoles. *RSC Adv.* **2016**, *6* (85), 82401–82408. <https://doi.org/10.1039/C6RA18510J>.
- (172) Bahadorikhali, S.; Sardarian, A. R. KF-Al₂O₃ as a Base Heterogeneous Catalyst for the Synthesis of 2-Substituted Benzoxazoles and Benzothiazoles under Mild Reaction Conditions at Room Temperature. *Polycycl. Aromat. Compd.* **2020**, *40* (4), 990–997. <https://doi.org/10.1080/10406638.2018.1517808>.
- (173) Frédéric, L.; Desmarchelier, A.; Plais, R.; Lavnevich, L.; Muller, G.; Villafuerte, C.; Clavier, G.; Quesnel, E.; Racine, B.; Meunier-Della-Gatta, S.; Dognon, J.-P.; Thuéry, P.; Crassous, J.; Favereau, L.; Pieters, G. Maximizing Chiral Perturbation on Thermally Activated Delayed Fluorescence Emitters and Elaboration of the First Top-Emission Circularly Polarized OLED. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, *30* (43), 2004838. <https://doi.org/10.1002/adfm.202004838>.
- (174) Pluta, K.; Morak-Młodawska, B.; Jeleń, M. Recent Progress in Biological Activities of Synthesized Phenothiazines. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (8), 3179–3189. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.05.013>.
- (175) Posso, M. C.; Domingues, F. C.; Ferreira, S.; Silvestre, S. Development of Phenothiazine Hybrids with Potential Medicinal Interest: A Review. *Molecules* **2022**, *27* (1), 276. <https://doi.org/10.3390/molecules27010276>.
- (176) Knölker, H.-J. Synthesis of Biologically Active Carbazole Alkaloids Using Selective Transition-Metal-Catalyzed Coupling Reactions. *Chem. Lett.* **2009**, *38* (1), 8–13. <https://doi.org/10.1246/cl.2009.8>.
- (177) *Fundamentals of Heterocyclic Chemistry: Importance in Nature and in the Synthesis of Pharmaceuticals | Wiley*. Wiley.com. <https://www.wiley.com/en-be/Fundamentals+of+Heterocyclic+Chemistry%3A+Importance+in+Nature+and+in+the+Synthesis+of+Pharmaceuticals-p-9780470566695> (accessed 2024-06-04).
- (178) Stokes, B. J.; Jovanović, B.; Dong, H.; Richert, K. J.; Riell, R. D.; Driver, T. G. Rh₂(II)-Catalyzed Synthesis of Carbazoles from Biaryl Azides. *J. Org. Chem.* **2009**, *74* (8), 3225–3228. <https://doi.org/10.1021/jo9002536>.
- (179) Yamashita, M.; Horiguchi, H.; Hirano, K.; Satoh, T.; Miura, M. Fused Ring Construction around Pyrrole, Indole, and Related Compounds via Palladium-Catalyzed Oxidative Coupling with Alkynes. *J. Org. Chem.* **2009**, *74* (19), 7481–7488. <https://doi.org/10.1021/jo9016698>.
- (180) Wadsworth, A. D.; Naysmith, B. J.; Brimble, M. A. A Review of the Synthesis of α -Carbolines. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 816–829. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.11.038>.
- (181) Iaroshenko, V. O.; Groth, U.; Kryvokhyzha, N. V.; Obeid, S.; Tolmachev, A. A.; Wesch, T. A Practical Synthetic Route to Benzofuro[2,3-b]pyridine and Trifluoromethyl- α -Carbolines. *Synlett* **2008**, *2008* (3), 343–346. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1032042>.
- (182) Gupta, S.; Kumar, B.; Kundu, B. Three-Component Tandem Reaction Involving Acid Chlorides, Terminal Alkynes, and 2-Aminoindole Hydrochlorides: Synthesis of α -Carboline Derivatives in Aqueous Conditions via Regioselective [3 + 3] Cyclocondensation. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (24), 10154–10162. <https://doi.org/10.1021/jo201994v>.
- (183) Clark, V. M.; Cox, A.; Herbert, E. J. The Photocyclisation of Anilino-Pyridines to Carbolines. *J. Chem. Soc. C Org.* **1968**, No. 0, 831–833. <https://doi.org/10.1039/J39680000831>.
- (184) Lawson, W.; Perkin, W. H.; Robinson, R. LXXVI.—Harmine and Harmaline. Part VII. A Synthesis of Apoharmine and of Certain Carboline and Copryrine Derivatives. *J. Chem. Soc. Trans.* **1924**, *125* (0), 626–657. <https://doi.org/10.1039/CT9242500626>.
- (185) He, L. Synthesis of α -Carboline. *Org. Synth.* **2016**, *93*, 272–285. <https://doi.org/10.15227/orgsyn.093.0272>.

- (186) Aksenov, N. A.; Arutiunov, N. A.; Aksenov, A. V.; Kirilov, N. K.; Aksenova, I. V.; Aksenov, D. A.; Aleksandrova, E. V.; Rubin, M.; Kornienko, A. Synthesis of β -Carbolines with Electrocyclic Cyclization of 3-Nitrovinylindoles. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24* (17), 13107. <https://doi.org/10.3390/ijms241713107>.
- (187) *Direct Biomimetic Synthesis of β -Carboline Alkaloids from Two Amino Acids | The Journal of Organic Chemistry.* <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.joc.8b01668> (accessed 2024-06-04).
- (188) Abramovitch, R. A.; Adams, K. A. H.; Notation, A. D. TRYPTAMINES, CARBOLINES, AND RELATED COMPOUNDS: PART VIII. δ -CARBOLINE. *Can. J. Chem.* **1960**, *38* (11), 2152–2160. <https://doi.org/10.1139/v60-292>.
- (189) Papamicač, C. A Convenient Synthesis of 3,4-Difunctionalized δ -Carbolines. *Tetrahedron* **2001**.
- (190) Hu, W.; Zhang, S. Method for the Synthesis of Phenothiazines via a Domino Iron-Catalyzed C–S/C–N Cross-Coupling Reaction. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (12), 6128–6132. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b00568>.
- (191) Mayer, M.; Lang, P. T.; Gerber, S.; Madrid, P. B.; Pinto, I. G.; Guy, R. K.; James, T. L. Synthesis and Testing of a Focused Phenothiazine Library for Binding to HIV-1 TAR RNA. *Chem. Biol.* **2006**, *13* (9), 993–1000. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.07.009>.
- (192) Okba, A.; Marqués, P. S.; Matsuo, K.; Aratani, N.; Yamada, H.; Rapenne, G.; Kammerer, C. Synthesis of π -Conjugated Polycyclic Compounds by Late-Stage Extrusion of Chalcogen Fragments. *Beilstein J. Org. Chem.* **2024**, *20* (1), 287–305. <https://doi.org/10.3762/bjoc.20.30>.
- (193) Selvaraj, K.; Chauhan, S.; Sandeep, K.; Swamy, K. C. K. Advances in [4+3]-Annulation/Cycloaddition Reactions Leading to Homo- and Heterocycles with Seven-Membered Rings. *Chem. – Asian J.* **2020**, *15* (16), 2380–2402. <https://doi.org/10.1002/asia.202000545>.
- (194) Maier, D. I. H.; Bezuidenhout, B. C. B.; Marais, C. Strategies in the Synthesis of Dibenzo[b,f]Heteropines. *Beilstein J. Org. Chem.* **2023**, *19* (1), 700–718. <https://doi.org/10.3762/bjoc.19.51>.
- (195) Božinović, N.; Novaković, I.; Kostić-Rajačić, S.; Opsenica, I. M.; Šolaja, B. A. Synthesis and Antimicrobial Activity of Azepine and Thiepine Derivatives. *J. Serbian Chem. Soc.* **2015**, *80* (7), 839–852.
- (196) Ouyang, W.; Rao, J.; Li, Y.; Liu, X.; Huo, Y.; Chen, Q.; Li, X. Recent Achievements in the Rhodium-Catalyzed Concise Construction of Medium N-Heterocycles, Azepines and Azocines. *Adv. Synth. Catal.* **2020**, *362* (24), 5576–5600. <https://doi.org/10.1002/adsc.202001040>.
- (197) Rashid, M. A.; Ashraf, A.; Rehman, S. S.; Shahid, S. A.; Mahmood, A.; Faruq, M. 1,4-Diazepines: A Review on Synthesis, Reactions and Biological Significance. *Curr. Org. Synth.* **16** (5), 709–729. <https://doi.org/10.2174/1570179416666190703113807>.
- (198) Malki, Y.; Maillard, L. T.; Masurier, N. 1,3-Diazepine Derivatives: Strategies for Synthesis. *Eur. J. Org. Chem.* **2022**, *2022* (21), e202100492. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202100492>.
- (199) Langmuir, I. ISOMORPHISM, ISOSTERISM AND COVALENCE. *J. Am. Chem. Soc.* **1919**, *41* (10), 1543–1559. <https://doi.org/10.1021/ja02231a009>.
- (200) Grimm, H. G. Structure and Size of the Non-Metallic Hydrides. *Electrochem* **1925**, No. 31, 474–480.
- (201) Grimm, H. G. On the Systematic Arrangement of Chemical Compounds from the Perspective of Research on Atomic Composition; and on Some Challenges in Experimental Chemistry. *Naturwissenschaften* **1929**, *17*, 557–564.
- (202) Erlenmeyer, H.; Leo, M. Über Pseudoatome. *Helv. Chim. Acta* **1932**, *15* (1), 1171–1186. <https://doi.org/10.1002/hlca.193201501132>.
- (203) Read “First Symposium on Chemical-Biological Correlation, May 26-27, 1950” at NAP.Edu. <https://doi.org/10.17226/18474>.
- (204) Thorner, C. W. Isosterism and Molecular Modification in Drug Design. *Chem. Soc. Rev.* **1979**, *8* (4), 563–580. <https://doi.org/10.1039/CS9790800563>.
- (205) Burger, A. Isosterism and Bioisosterism in Drug Design. In *Progress in Drug Research / Fortschritte der Arzneimittelforschung / Progrès des recherches pharmaceutiques*; Salmon, J. A., Garland, L. G., Hoyle, B. D., Costerton, J. W., Seiler, N., Raeburn, D., Karlsson, J.-A., Polak, A., Hartman, P. G., Rohmer, M., Bisseret, P., Sutter, B., Burger, A., Jucker, E., Eds.; Birkhäuser: Basel, 1991; pp 287–371. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7139-6_7.
- (206) Castro, N. M. R. Pauling L. The Nature of the Chemical Bond Cornell Univ. (1960).
- (207) Bechtel, T. J.; Weerapana, E. From Structure to Redox: The Diverse Functional Roles of Disulfides and Implications in Disease. *Proteomics* **2017**, *17* (6), 10.1002/pmic.201600391. <https://doi.org/10.1002/pmic.201600391>.
- (208) Sun, Y.; Wang, S.; Li, Y.; Wang, D.; Zhang, Y.; Zhang, H.; Lei, H.; Liu, X.; Sun, J.; Sun, B.; He, Z. Precise Engineering of Disulfide Bond-Bridged Prodrug Nanoassemblies to Balance Antitumor Efficacy and Safety. *Acta Biomater.* **2023**, *157*, 417–427. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.12.005>.
- (209) Oladipupo, A. Toxin to Medicine and Bioisosterism in Drug Development: A Study of the Discovery and Development of ACE Inhibitors from Snake Venom. *Maced. Pharm. Bull.* **2020**, *66*, 15–33. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2020.66.02.003>.
- (210) Ali, G.; Subhan, F.; Islam, N. U.; Khan, I.; Rauf, K.; Ullah, S.; Abbas, M.; Rauf, A. Input of Isosteric and Bioisosteric Approach in Drug Design. *J. Chem. Soc. Pak.* **2014**, *Volume 36*.
- (211) Lima, L.; Barreiro, E. Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 23–49. <https://doi.org/10.2174/0929867053363540>.
- (212) Subbaiah, M. A. M.; Meanwell, N. A. Bioisosteres of the Phenyl Ring: Recent Strategic Applications in Lead Optimization and Drug Design. *J. Med. Chem.* **2021**, *64* (19), 14046–14128. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01215>.
- (213) Tse, E. G.; Houston, S. D.; Williams, C. M.; Savage, G. P.; Rendina, L. M.; Hallyburton, I.; Anderson, M.; Sharma, R.; Walker, G. S.; Obach, R. S.; Todd, M. H. Nonclassical Phenyl Bioisosteres as Effective Replacements in a Series of Novel Open-Source Antimalarials. *J. Med. Chem.* **2020**, *63* (20), 11585–11601. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00746>.
- (214) Ritchie, T. J.; Macdonald, S. J. F. Heterocyclic Replacements for Benzene: Maximising ADME Benefits by Considering Individual Ring Isomers. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 1057–1068. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.10.029>.
- (215) Chang, G.; Huard, K.; Kauffman, G. W.; Stepan, A. F.; Keefer, C. E. A Multi-Endpoint Matched Molecular Pair (MMP) Analysis of 6-Membered Heterocycles. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25* (1), 381–388. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.11.004>.
- (216) Bauer, M. R.; Di Fruscia, P.; Lucas, S. C. C.; Michaelides, I. N.; Nelson, J. E.; Storer, R. I.; Whitehurst, B. C. Put a Ring on It: Application of Small Aliphatic Rings in Medicinal Chemistry. *RSC Med. Chem.* **12** (4), 448–471. <https://doi.org/10.1039/d0md00370k>.
- (217) Hevey, R. Bioisosteres of Carbohydrate Functional Groups in Glycomimetic Design. *Biomimetics* **2019**, *4* (3), 53. <https://doi.org/10.3390/biomimetics4030053>.
- (218) and, G. A. P.; LaVoie*, E. J. *Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/cr950066q>.

- (219) Wallenfels, K.; Friedrich, K.; Rieser, J.; Ertel, W.; Thieme, H. K. The Analogy between O and C(CN)₂. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1976**, *15* (5), 261–270. <https://doi.org/10.1002/anie.197602611>.
- (220) Lassalas, P.; Oukoloff, K.; Makani, V.; James, M.; Tran, V.; Yao, Y.; Huang, L.; Vijayendran, K.; Monti, L.; Trojanowski, J. Q.; Lee, V. M.-Y.; Kozlowski, M. C.; Smith, A. B. I.; Brunden, K. R.; Ballatore, C. Evaluation of Oxetan-3-ol, Thietan-3-ol, and Derivatives Thereof as Bioisosteres of the Carboxylic Acid Functional Group. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8* (8), 864–868. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.7b00212>.
- (221) Burkhard, J. A.; Wuitschik, G.; Rogers-Evans, M.; Müller, K.; Carreira, E. M. Oxetanes as Versatile Elements in Drug Discovery and Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49* (48), 9052–9067. <https://doi.org/10.1002/anie.200907155>.
- (222) Wuitschik, G.; Rogers-Evans, M.; Buckl, A.; Bernasconi, M.; Märki, M.; Godel, T.; Fischer, H.; Wagner, B.; Parrilla, I.; Schuler, F.; Schneider, J.; Alker, A.; Schweizer, W. B.; Müller, K.; Carreira, E. M. Spirocyclic Oxetanes: Synthesis and Properties. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47* (24), 4512–4515. <https://doi.org/10.1002/anie.200800450>.
- (223) Ballatore, C.; Huryn, D. M.; Smith III, A. B. Carboxylic Acid (Bio)isosteres in Drug Design. *ChemMedChem* **2013**, *8* (3), 385–395. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201200585>.
- (224) Arabi, A. A. Routes to Drug Design via Bioisosterism of Carboxyl and Sulfonamide Groups. *Future Med. Chem.* **2017**, *9* (18), 2167–2180. <https://doi.org/10.4155/fmc-2017-0136>.
- (225) Lassalas, P.; Gay, B.; Lasfargeas, C.; James, M. J.; Tran, V.; Vijayendran, K. G.; Brunden, K. R.; Kozlowski, M. C.; Thomas, C. J.; Smith, A. B. I.; Huryn, D. M.; Ballatore, C. Structure Property Relationships of Carboxylic Acid Isosteres. *J. Med. Chem.* **2016**, *59* (7), 3183–3203. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01963>.
- (226) Bredael, K.; Geurs, S.; Clarisse, D.; De Bosscher, K.; D’hooghe, M. Carboxylic Acid Bioisosteres in Medicinal Chemistry: Synthesis and Properties. *J. Chem.* **2022**, *2022*, e2164558. <https://doi.org/10.1155/2022/2164558>.
- (227) Herr, R. J. 5-Substituted-1H-Tetrazoles as Carboxylic Acid Isosteres: Medicinal Chemistry and Synthetic Methods. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10* (11), 3379–3393. [https://doi.org/10.1016/s0968-0896\(02\)00239-0](https://doi.org/10.1016/s0968-0896(02)00239-0).
- (228) *Exploring QSAR*; Washington, DC: American Chemical Society, 1995.
- (229) Allen, F. H.; Groom, C. R.; Liebeschuetz, J. W.; Bardwell, D. A.; Olsson, T. S. G.; Wood, P. A. The Hydrogen Bond Environments of 1H-Tetrazole and Tetrazolate Rings: The Structural Basis for Tetrazole–Carboxylic Acid Bioisosterism. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52* (3), 857–866. <https://doi.org/10.1021/ci200521k>.
- (230) Kenny, P. Hydrogen Bonding, Electrostatic Potential, and Molecular Design. *J. Chem. Inf. Model.* **2009**, *49*, 1234–1244.
- (231) Kohara, Y.; Kubo, K.; Imamiya, E.; Wada, T.; Inada, Y.; Naka, T. Synthesis and Angiotensin II Receptor Antagonistic Activities of Benzimidazole Derivatives Bearing Acidic Heterocycles as Novel Tetrazole Bioisosteres. *J. Med. Chem.* **1996**, *39* (26), 5228–5235. <https://doi.org/10.1021/jm960547h>.
- (232) Storer, R. I.; Aciro, C.; Jones, L. H. Squaramides: Physical Properties, Synthesis and Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (5), 2330–2346. <https://doi.org/10.1039/C0CS00200C>.
- (233) Perez, G. V.; Perez, A. L. Organic Acids without a Carboxylic Acid Functional Group. *J. Chem. Educ.* **2000**, *77* (7), 910. <https://doi.org/10.1021/ed077p910>.
- (234) King, J. F. Acidity. In *Sulphonic Acids, Esters and their Derivatives (1991)*; John Wiley & Sons, Ltd, 1991; pp 249–259. <https://doi.org/10.1002/0470034394.ch6>.
- (235) Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (21), 6752–6756. <https://doi.org/10.1021/jm901241e>.
- (236) Franz, R. G. Comparisons of pKa and Log P Values of Some Carboxylic and Phosphonic Acids: Synthesis and Measurement. *AAPS PharmSci* **2001**, *3* (2), 10. <https://doi.org/10.1208/ps030210>.
- (237) Lima, L. M.; Barreiro, E. J. 1.07 - Beyond Bioisosterism: New Concepts in Drug Discovery. In *Comprehensive Medicinal Chemistry III*; Chackalamannil, S., Rotella, D., Ward, S. E., Eds.; Elsevier: Oxford, 2017; pp 186–210. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12290-5>.
- (238) Stetten, D.; Bloom, B. The Metabolism of the Amidine Group of Arginine in the Intact Rat. *J. Biol. Chem.* **1956**, *220* (2), 723–731.
- (239) Vastl, J.; Kartika, R.; Park, K.; Cho, A. E.; Spiegel, D. A. Peptidines: Glycine-Amidine-Based Oligomers for Solution- and Solid-Phase Synthesis. *Chem. Sci.* **2016**, *7* (5), 3317–3324. <https://doi.org/10.1039/C5SC03882K>.
- (240) Choudhary, A.; Raines, R. T. An Evaluation of Peptide-Bond Isosteres. *Chembiochem Eur. J. Chem. Biol.* **2011**, *12* (12), 1801–1807. <https://doi.org/10.1002/cbic.201100272>.
- (241) Hu, X.; Zhang, W.; Carmichael, I.; Serianni, A. S. Amide Cis–Trans Isomerization in Aqueous Solutions of Methyl N-Formyl-d-Glucosaminides and Methyl N-Acetyl-d-Glucosaminides: Chemical Equilibria and Exchange Kinetics. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (13), 4641–4652. <https://doi.org/10.1021/ja9086787>.
- (242) Whisenant, J.; Burgess, K. Synthetic Helical Peptide Capping Strategies. *Chem. Soc. Rev.* **2022**, *51* (14), 5795–5804. <https://doi.org/10.1039/D1CS01175H>.
- (243) Fletcher, M. D.; Campbell, M. M. Partially Modified Retro-Inverso Peptides: Development, Synthesis, and Conformational Behavior. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (2), 763–796. <https://doi.org/10.1021/cr970468t>.
- (244) Conradi, R. A.; Hilgers, A. R.; Ho, N. F. H.; Burton, P. S. The Influence of Peptide Structure on Transport Across Caco-2 Cells. II. Peptide Bond Modification Which Results in Improved Permeability. *Pharm. Res.* **1992**, *9* (3), 435–439. <https://doi.org/10.1023/A:1015867608405>.
- (245) *Organic Carbamates in Drug Design and Medicinal Chemistry | Journal of Medicinal Chemistry*. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm501371s> (accessed 2024-06-04).
- (246) Jagtap, A. D.; Kondekar, N. B.; Sadani, A. A.; Chern, J.-W. Ureas: Applications in Drug Design. *Curr. Med. Chem.* **2017**, *24* (6), 622–651. <https://doi.org/10.2174/0929867323666161129124915>.
- (247) Kamenecka, T. M.; Park, Y.-J.; Lin, L. S.; de Laszlo, S.; McCauley, E. D.; Van Riper, G.; Egger, L.; Kidambi, U.; Mumford, R. A.; Tong, S.; Tang, W.; Colletti, A.; Teffera, Y.; Stearns, R.; MacCoss, M.; Schmidt, J. A.; Hagmann, W. K. Amidines as Amide Bond Replacements in VLA-4 Antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14* (9), 2323–2326. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.01.100>.

- (248) Black, W. C.; Bayly, C. I.; Davis, D. E.; Desmarais, S.; Falgueyret, J.-P.; Léger, S.; Li, C. S.; Massé, F.; McKay, D. J.; Palmer, J. T.; Percival, M. D.; Robichaud, J.; Tsou, N.; Zamboni, R. Trifluoroethylamines as Amide Isosteres in Inhibitors of Cathepsin K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (21), 4741–4744. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.07.071>.
- (249) Kuchar, M.; Mamat, C. Methods to Increase the Metabolic Stability of 18F-Radiotracers. *Molecules* **2015**, *20* (9), 16186–16220. <https://doi.org/10.3390/molecules200916186>.
- (250) Lim, S.; Ryu, J.; Im, C.; Yim, C. Synthesis and Cytotoxicity of New 3-Alkyl-1-(1-Methyl-2-Phenylethyl)Ureas Related to Ceramide. *Arch. Pharm. Res.* **2003**, *26*, 270–274. <https://doi.org/10.1007/BF02976954>.
- (251) Ghosh, A. K.; Brindisi, M. Urea Derivatives in Modern Drug Discovery and Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2020**, *63* (6), 2751–2788. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01541>.
- (252) Ronchetti, R.; Moroni, G.; Carotti, A.; Gioiello, A.; Camaioni, E. Recent Advances in Urea- and Thiourea-Containing Compounds: Focus on Innovative Approaches in Medicinal Chemistry and Organic Synthesis. *RSC Med. Chem.* **2021**, *12* (7), 1046–1064. <https://doi.org/10.1039/d1md00058f>.
- (253) Meanwell, N. A. The Influence of Bioisosteres in Drug Design: Tactical Applications to Address Developability Problems. *Tactics Contemp. Drug Des.* **2014**, *9*, 283–381. https://doi.org/10.1007/7355_2013_29.
- (254) Hernandez, M. Z.; Cavalcanti, S. M. T.; Moreira, D. R. M.; Junior, W. F. de A.; Leite, A. C. L. Halogen Atoms in the Modern Medicinal Chemistry: Hints for the Drug Design. *Curr. Drug Targets* **11** (3), 303–314. <https://doi.org/10.2174/138945010790711996>.
- (255) Kawai, M.; Sakurada, I.; Morita, A.; Iwamuro, Y.; Ando, K.; Omura, H.; Sakakibara, S.; Masuda, T.; Koike, H.; Honma, T.; Hattori, K.; Takashima, T.; Mizuno, K.; Mizutani, M.; Kawamura, M. Structure–Activity Relationship Study of Novel NR2B-Selective Antagonists with Arylamides to Avoid Reactive Metabolites Formation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17* (20), 5537–5542. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.08.033>.
- (256) Gazit, A.; Levitzki, A.; Blum, G. Catechol Bioisosteres. WO2003066608A1, August 14, 2003. <https://patents.google.com/patent/WO2003066608A1/en> (accessed 2024-06-04).
- (257) Luo, X.; Zhang, Z.; Mu, R.; Hu, G.; Liu, L.; Liu, X. Simultaneously Predicting the Pharmacokinetics of CES1-Metabolized Drugs and Their Metabolites Using Physiologically Based Pharmacokinetic Model in Cirrhosis Subjects. *Pharmaceutics* **2024**, *16* (2), 234. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16020234>.
- (258) SAMINENI, R.; CHIMAKURTHY, J.; KONIDALA, S. Emerging Role of Biopharmaceutical Classification and Biopharmaceutical Drug Disposition System in Dosage Form Development: A Systematic Review. *Turk. J. Pharm. Sci.* **2022**, *19* (6), 706–713. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2021.73554>.
- (259) Scheife, R. T. Protein Binding: What Does It Mean? *DICP Ann. Pharmacother.* **1989**, *23* (7-8 Suppl), S27-31. <https://doi.org/10.1177/106002808902300706>.
- (260) Huuskonen, J.; Livingstone, D. J.; Manalack, D. T. Prediction of Drug Solubility from Molecular Structure Using a Drug-like Training Set. *SAR QSAR Environ. Res.* **2008**, *19* (3–4), 191–212. <https://doi.org/10.1080/10629360802083855>.
- (261) Bockus, A. T.; Lexa, K. W.; Pye, C. R.; Kalgutkar, A. S.; Gardner, J. W.; Hund, K. C. R.; Hewitt, W. M.; Schwochert, J. A.; Glassey, E.; Price, D. A.; Mathiowetz, A. M.; Liras, S.; Jacobson, M. P.; Lokey, R. S. Probing the Physicochemical Boundaries of Cell Permeability and Oral Bioavailability in Lipophilic Macrocycles Inspired by Natural Products. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (11), 4581–4589. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00128>.
- (262) Withnall, M.; Chen, H.; Tetko, I. V. Matched Molecular Pair Analysis on Large Melting Point Datasets: A Big Data Perspective. *ChemMedChem* **2018**, *13* (6), 599–606. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700303>.
- (263) *Bordwell pKa Table*. <https://organicchemistrydata.org/hansch/research/pka/> (accessed 2024-06-04).
- (264) Zhang, Z.; Tang, W. Drug Metabolism in Drug Discovery and Development. *Acta Pharm. Sin. B* **2018**, *8* (5), 721–732. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.04.003>.
- (265) Nadendla, R.; Yemineni, G. Molecular Modification: A Strategy in Drug Discovery and Drug Design. *Biomed J Sci Tech Res* **2023**, *52* (2), 43511–43522. <https://doi.org/10.1002/BJSTR.MS.ID.008220>.
- (266) Tang, K.; Wang, S.; Gao, W.; Song, Y.; Yu, B. Harnessing the Cyclization Strategy for New Drug Discovery. *Acta Pharm. Sin. B* **2022**, *12* (12), 4309–4326. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.09.022>.
- (267) Phang-Lyn, S.; Llerena, V. A. Biochemistry, Biotransformation. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2024.
- (268) Gajula, S. N. R.; Nadimpalli, N.; Sonti, R. Drug Metabolic Stability in Early Drug Discovery to Develop Potential Lead Compounds. *Drug Metab. Rev.* **2021**, *53* (3), 459–477. <https://doi.org/10.1080/03602532.2021.1970178>.
- (269) Dang, N. L.; Matlock, M. K.; Hughes, T. B.; Swamidass, S. J. The Metabolic Rainbow: Deep Learning Phase I Metabolism in Five Colors. *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, *60* (3), 1146–1164. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00836>.
- (270) Jancova, P.; Anzenbacher, P.; Anzenbacherova, E. Phase II Drug Metabolizing Enzymes. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czechoslov.* **2010**, *154* (2), 103–116. <https://doi.org/10.5507/bp.2010.017>.
- (271) Nassar, A.-E. F.; Kamel, A. M.; Clarimont, C. Improving the Decision-Making Process in the Structural Modification of Drug Candidates: Enhancing Metabolic Stability. *Drug Discov. Today* **2004**, *9* (23), 1020–1028. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(04\)03280-5](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(04)03280-5).
- (272) Thompson, T. N. Optimization of Metabolic Stability as a Goal of Modern Drug Design. *Med. Res. Rev.* **2001**, *21* (5), 412–449. <https://doi.org/10.1002/med.1017>.
- (273) Takahashi, M.; Hirota, I.; Nakano, T.; Kotani, T.; Takani, D.; Shiratori, K.; Choi, Y.; Haba, M.; Hosokawa, M. Effects of Steric Hindrance and Electron Density of Ester Prodrugs on Controlling the Metabolic Activation by Human Carboxylesterase. *Drug Metab. Pharmacokinet.* **2021**, *38*, 100391. <https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2021.100391>.
- (274) Lang, M.; Ganapathy, U. S.; Mann, L.; Seidel, R. W.; Goddard, R.; Erdmann, F.; Dick, T.; Richter, A. Synthesis and in Vitro Metabolic Stability of Sterically Shielded Antimycobacterial Phenylalanine Amides. *ChemMedChem* **2024**, *19* (6), e202300593. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202300593>.
- (275) Zhang, J. W.; Xiao, W.; Gao, Z. T.; Yu, Z. T.; Zhang, J. Y. (Jeff). Metabolism of C-Met Kinase Inhibitors Containing Quinoline by Aldehyde Oxidase, Electron Donating, and Steric Hindrance Effect. *Drug Metab. Dispos.* **2018**, *46* (12), 1847–1855. <https://doi.org/10.1124/dmd.118.081919>.
- (276) Shashikala, H. B. M.; Chakravorty, A.; Alexov, E. Modeling Electrostatic Force in Protein-Protein Recognition. *Front. Mol. Biosci.* **2019**, *6*.

- (277) *FORCES INTERMOLECULAIRES - Forces de Van der Waals*. http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2009_Strasbourg_Pigault_ForcesIntermoleculaires/co/00_Module_Forces_intermoleculaires_3.html (accessed 2022-10-04).
- (278) Van Der Waals. *Wikipedia*; 2022.
- (279) London Dispersion Force. *Wikipedia*; 2022.
- (280) *Dipole-Dipole Interactions*. Chemistry LibreTexts. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Physical_Properties_of_Matter/Atomic_and_Molecular_Properties/Intermolecular_Forces/Specific_Interactions/Dipole-Dipole_Interactions](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Physical_Properties_of_Matter/Atomic_and_Molecular_Properties/Intermolecular_Forces/Specific_Interactions/Dipole-Dipole_Interactions) (accessed 2022-10-04).
- (281) Dougherty, D. A. *The Cation- π Interaction*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/ar300265y>.
- (282) Dougherty, D. A. Cation- π Interactions in Chemistry and Biology: A New View of Benzene, Phe, Tyr, and Trp. *Science* **1996**. <https://doi.org/10.1126/science.271.5246.163>.
- (283) Liang, Z.; Li, Q. X. π -Cation Interactions in Molecular Recognition: Perspectives on Pharmaceuticals and Pesticides. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66* (13), 3315–3323. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00758>.
- (284) Schottel, B. L.; Chifotides, H. T.; Dunbar, K. R. Anion- π Interactions. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *37* (1), 68–83. <https://doi.org/10.1039/B614208G>.
- (285) Jentzsch, A. V.; Hennig, A.; Mareda, J.; Matile, S. *Synthetic Ion Transporters that Work with Anion- π Interactions, Halogen Bonds, and Anion-Macrodipole Interactions*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/ar400014r>.
- (286) Rather, I. A.; Wagay, S. A.; Ali, R. Emergence of Anion- π Interactions: The Land of Opportunity in Supramolecular Chemistry and Beyond. *Coord. Chem. Rev.* **2020**, *415*, 213327. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213327>.
- (287) Pi-Interaction. *Wikipedia*; 2022.
- (288) Martinez, C. R.; Iverson, B. L. Rethinking the Term “Pi-Stacking.” *Chem. Sci.* **2012**, *3* (7), 2191–2201. <https://doi.org/10.1039/C2SC20045G>.
- (289) Hunter, C. A.; Sanders, J. K. M. *The nature of .pi.-.pi. interactions*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/ja00170a016>.
- (290) Bissantz, C.; Kuhn, B.; Stahl, M. A Medicinal Chemist’s Guide to Molecular Interactions. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (14), 5061–5084. <https://doi.org/10.1021/jm100112j>.
- (291) Bootsma, A. N.; Doney, A. C.; Wheeler, S. E. Predicting the Strength of Stacking Interactions between Heterocycles and Aromatic Amino Acid Side Chains. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b00936>.
- (292) Lee, G. Y.; Hu, E.; Rheingold, A. L.; Houk, K. N.; Sletten, E. M. Arene-Perfluoroarene Interactions in Solution. *J. Org. Chem.* **2021**, *86* (12), 8425–8436. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c00921>.
- (293) Mutasem Omar Sinnokrot; Edward F. Valeev, and; Sherrill*, C. D. *Estimates of the Ab Initio Limit for π - π Interactions: The Benzene Dimer*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/ja025896h>.
- (294) Nittinger, E.; Inhester, T.; Bietz, S.; Meyder, A.; Schomburg, K. T.; Lange, G.; Klein, R.; Rarey, M. *Large-Scale Analysis of Hydrogen Bond Interaction Patterns in Protein-Ligand Interfaces*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00101>.
- (295) Saenger, W.; Betzel, C.; Hingerty, B.; Brown, G. M. Flip-Flop Hydrogen Bonding in a Partially Disordered System. *Nature* **1982**, *296* (5857), 581–583. <https://doi.org/10.1038/296581a0>.
- (296) Abraham, M. H. Scales of Solute Hydrogen-Bonding: Their Construction and Application to Physicochemical and Biochemical Processes. *Chem. Soc. Rev.* **1993**, *22* (2), 73–83. <https://doi.org/10.1039/CS9932200073>.
- (297) Abraham, M. H.; Grellier, P. L.; Prior, D. V.; Duce, P. P.; Morris, J. J.; Taylor, P. J. Hydrogen Bonding. Part 7. A Scale of Solute Hydrogen-Bond Acidity Based on Log K Values for Complexation in Tetrachloromethane. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1989**, No. 6, 699–711. <https://doi.org/10.1039/P29890000699>.
- (298) Pike, S. J.; Hutchinson, J. J.; Hunter, C. A. H-Bond Acceptor Parameters for Anions. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (19), 6700–6706. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b02008>.
- (299) Pike, S. J.; Lavagnini, E.; Varley, L. M.; Cook, J. L.; Hunter, C. A. H-Bond Donor Parameters for Cations. *Chem. Sci.* **2019**, *10* (23), 5943–5951. <https://doi.org/10.1039/C9SC00721K>.
- (300) Nguyen, C. N.; Cruz, A.; Gilson, M. K.; Kurtzman, T. Thermodynamics of Water in an Enzyme Active Site: Grid-Based Hydration Analysis of Coagulation Factor Xa. *J. Chem. Theory Comput.* **2014**, *10* (7), 2769–2780. <https://doi.org/10.1021/ct401110x>.
- (301) Maurer, M.; Oostenbrink, C. Water in Protein Hydration and Ligand Recognition. *J. Mol. Recognit.* **2019**, *32* (12), e2810. <https://doi.org/10.1002/jmr.2810>.
- (302) Cram, D. J.; Cram, J. M. Design of Complexes between Synthetic Hosts and Organic Guests. *Acc. Chem. Res.* **1978**, *11* (1), 8–14. <https://doi.org/10.1021/ar50121a002>.
- (303) Lu, Y.; Liu, Y.; Xu, Z.; Li, H.; Liu, H.; Zhu, W. Halogen Bonding for Rational Drug Design and New Drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, *7* (5), 375–383. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.678829>.
- (304) Wilcken, R.; Zimmermann, M. O.; Lange, A.; Joerger, A. C.; Boeckler, F. M. Principles and Applications of Halogen Bonding in Medicinal Chemistry and Chemical Biology. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (4), 1363–1388. <https://doi.org/10.1021/jm3012068>.
- (305) Costa, P. J. The Halogen Bond: Nature and Applications. *Phys. Sci. Rev.* **2017**, *2* (11). <https://doi.org/10.1515/psr-2017-0136>.
- (306) Clark, T.; Hennemann, M.; Murray, J. S.; Politzer, P. Halogen Bonding: The σ -Hole. *J. Mol. Model.* **2007**, *13* (2), 291–296. <https://doi.org/10.1007/s00894-006-0130-2>.
- (307) Clark, T. σ -Holes. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2013**, *3* (1), 13–20. <https://doi.org/10.1002/wcms.1113>.
- (308) Kolář, M.; Hostaš, J.; Hobza, P. The Strength and Directionality of a Halogen Bond Are Co-Determined by the Magnitude and Size of the σ -Hole. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16* (21), 9987–9996. <https://doi.org/10.1039/C3CP55188A>.
- (309) Metrangolo, P.; Murray, J. S.; Pilati, T.; Politzer, P.; Resnati, G.; Terraneo, G. Fluorine-Centered Halogen Bonding: A Factor in Recognition Phenomena and Reactivity. *Cryst. Growth Des.* **2011**, *11* (9), 4238–4246. <https://doi.org/10.1021/cg200888n>.
- (310) Sutanto, F.; Konstantinidou, M.; Dömling, A. Covalent Inhibitors: A Rational Approach to Drug Discovery. *RSC Med. Chem.* **2020**, *11* (8), 876–884. <https://doi.org/10.1039/d0md00154f>.
- (311) Schaefer, D.; Cheng, X. Recent Advances in Covalent Drug Discovery. *Pharmaceuticals* **2023**, *16* (5), 663. <https://doi.org/10.3390/ph16050663>.

- (312) Koshland, D. E. Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1958**, *44* (2), 98–104.
- (313) Laidler, K. H. The Influence of Pressure on the Rates of Biological Reactions. *Arch. Biochem.* **1951**, *30* (2), 226–236.
- (314) Nussinov, R.; Ma, B.; Tsai, C.-J. Multiple Conformational Selection and Induced Fit Events Take Place in Allosteric Propagation. *Biophys. Chem.* **2014**, *186*, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2013.10.002>.
- (315) Vogt, A. D.; Di Cera, E. Conformational Selection or Induced Fit? A Critical Appraisal of the Kinetic Mechanism. *Biochemistry* **2012**, *51* (30), 5894–5902. <https://doi.org/10.1021/bi3006913>.
- (316) Holyoak, T. Molecular Recognition: Lock-and-Key, Induced Fit, and Conformational Selection. In *Encyclopedia of Biophysics*; Roberts, G. C. K., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2013; pp 1584–1588. https://doi.org/10.1007/978-3-642-16712-6_468.
- (317) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23* (1–3), 3–25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).
- (318) Lipinski, C. A. Lead- and Drug-like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discov. Today Technol.* **2004**, *1* (4), 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>.
- (319) Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. N.; Wendoloski, J. J. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. *J. Comb. Chem.* **1999**, *1* (1), 55–68. <https://doi.org/10.1021/cc9800071>.
- (320) Graham L. Partick. *An introduction to medicinal chemistry*, 1st ed.; Oxford: Oxford, 1995; Vol. 1.
- (321) Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H.-Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (12), 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.
- (322) Reckitt Benckiser. Predicting Drug Activity. *R. Soc. Chem.*
- (323) Leach, A. R.; Shoichet, B. K.; Peishoff, C. E. Prediction of Protein–Ligand Interactions. Docking and Scoring: Successes and Gaps. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (20), 5851–5855. <https://doi.org/10.1021/jm060999m>.
- (324) *Improving Drug Candidates by Design: A Focus on Physicochemical Properties As a Means of Improving Compound Disposition and Safety | Chemical Research in Toxicology*. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/tx200211v> (accessed 2022-03-11).
- (325) Design Principles for Orally Bioavailable Drugs. *Drug Discov. Today* **1996**, *1* (5), 179–189. [https://doi.org/10.1016/1359-6446\(96\)10020-9](https://doi.org/10.1016/1359-6446(96)10020-9).
- (326) *Peptidomimetics derived from natural products - Wiley - 1993 - Medicinal Research Reviews - Wiley Online Library*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/med.2610130305> (accessed 2022-03-14).
- (327) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43* (3), 987–1003. <https://doi.org/10.1021/ci025599w>.
- (328) Ward, S. E.; Beswick, P. What Does the Aromatic Ring Number Mean for Drug Design? *Expert Opin. Drug Discov.* **2014**, *9* (9), 995–1003. <https://doi.org/10.1517/17460441.2014.932346>.
- (329) Chu, K. A.; Yalkowsky, S. H. An Interesting Relationship between Drug Absorption and Melting Point. *Int. J. Pharm.* **2009**, *373* (1–2), 24–40. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.01.026>.
- (330) Manallack, D. T. The pKa Distribution of Drugs: Application to Drug Discovery. *Perspect. Med. Chem.* **2007**, *1*, 25–38.
- (331) Trainor, G. L. The Importance of Plasma Protein Binding in Drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2007**, *2* (1), 51–64. <https://doi.org/10.1517/17460441.2.1.51>.
- (332) Howard, M. L.; Hill, J. J.; Galluppi, G. R.; McLean, M. A. Plasma Protein Binding in Drug Discovery and Development. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2010**, *13* (2), 170–187. <https://doi.org/10.2174/138620710790596745>.
- (333) Zhang, F.; Xue, J.; Shao, J.; Jia, L. Compilation of 222 Drugs' Plasma Protein Binding Data and Guidance for Study Designs. *Drug Discov. Today* **2012**, *17* (9–10), 475–485. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.12.018>.
- (334) Roy, P.; Pandey, N.; Ghosh, A. Molecular Docking of Pharmaceutical Cocrystal As a Ligand: Do We Need to Rethink? *Cryst. Growth Des.* **2023**, *23* (1), 1–5. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.2c01379>.
- (335) Craig, P. N. Interdependence between Physical Parameters and Selection of Substituent Groups for Correlation Studies. *J. Med. Chem.* **1971**, *14* (8), 680–684. <https://doi.org/10.1021/jm00290a004>.
- (336) Ertl, P. Craig Plot 2.0: An Interactive Navigation in the Substituent Bioisosteric Space. *J. Cheminformatics* **2020**, *12* (1), 8. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-0412-1>.
- (337) Topliss, J. G. Utilization of Operational Schemes for Analog Synthesis in Drug Design. *J. Med. Chem.* **1972**, *15* (10), 1006–1011. <https://doi.org/10.1021/jm00280a002>.
- (338) Richter, L. Topliss Batchwise Schemes Reviewed in the Era of Open Data Reveal Significant Differences between Enzymes and Membrane Receptors. *J. Chem. Inf. Model.* **2017**, *57* (10), 2575–2583. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00195>.
- (339) O'Boyle, N. M.; Boström, J.; Sayle, R. A.; Gill, A. Using Matched Molecular Series as a Predictive Tool To Optimize Biological Activity. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (6), 2704–2713. <https://doi.org/10.1021/jm500022q>.
- (340) Kawai, K.; Nagata, N.; Takahashi, Y. De Novo Design of Drug-Like Molecules by a Fragment-Based Molecular Evolutionary Approach. *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54* (1), 49–56. <https://doi.org/10.1021/ci400418c>.
- (341) Kirsch, P.; Hartman, A. M.; Hirsch, A. K. H.; Empting, M. Concepts and Core Principles of Fragment-Based Drug Design. *Molecules* **2019**, *24* (23), 4309. <https://doi.org/10.3390/molecules24234309>.
- (342) Hesterkamp, T.; Whittaker, M. Fragment-Based Activity Space: Smaller Is Better. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12* (3), 260–268. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.02.005>.
- (343) Guillon, R.; Rahimova, R.; Preeti, null; Egrou, D.; Rouanet, S.; Dumontet, C.; Aghajari, N.; Jordheim, L. P.; Chaloin, L.; Peyrottes, S. Lead Optimization and Biological Evaluation of Fragment-Based cN-II Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *168*, 28–44. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.02.040>.
- (344) Bancet, A.; Raingeval, C.; Lomberget, T.; Le Borgne, M.; Guichou, J.-F.; Krimm, I. Fragment Linking Strategies for Structure-Based Drug Design. *J. Med. Chem.* **2020**, *63* (20), 11420–11435. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00242>.
- (345) Bon, M.; Bilslund, A.; Bower, J.; McAulay, K. Fragment-based Drug Discovery—the Importance of High-quality Molecule Libraries. *Mol. Oncol.* **2022**, *16* (21), 3761–3777. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13277>.
- (346) Moro, S. Statistical Concepts in QSAR.

- (347) *Chemometrics Applications and Research: QSAR in Medicinal Chemistry*; Mercader, A. G., Duchowicz, P. R., Sivakumar, P. M., Eds.; Apple Academic Press: New York, 2016. <https://doi.org/10.1201/b19853>.
- (348) Roy, K.; Das, R. N. A Review on Principles, Theory and Practices of 2D-QSAR. *Curr. Drug Metab.* **15** (4), 346–379. <https://doi.org/10.2174/1389200215666140908102230>.
- (349) Yap, C. W.; Li, H.; Ji, Z. L.; Chen, Y. Z. Regression Methods for Developing QSAR and QSPR Models to Predict Compounds of Specific Pharmacodynamic, Pharmacokinetic and Toxicological Properties. *Mini Rev. Med. Chem.* **2007**, *7* (11), 1097–1107. <https://doi.org/10.2174/138955707782331696>.
- (350) Kiralj, R.; Ferreira, M. M. C. Basic Validation Procedures for Regression Models in QSAR and QSPR Studies: Theory and Application. *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 770–787. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009000400021>.
- (351) Lewis, R. A.; Wood, D. Modern 2D QSAR for Drug Discovery. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2014**, *4* (6), 505–522. <https://doi.org/10.1002/wcms.1187>.
- (352) Myint, K. Z.; Xie, X.-Q. Recent Advances in Fragment-Based QSAR and Multi-Dimensional QSAR Methods. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11* (10), 3846–3866. <https://doi.org/10.3390/ijms11103846>.
- (353) Potemkin, A. V.; Grishina, M. A.; Potemkin, V. A. Grid-Based Continual Analysis of Molecular Interior for Drug Discovery, QSAR and QSPR. *Curr. Drug Discov. Technol.* **2017**, *14* (3), 181–205. <https://doi.org/10.2174/1570163814666170207144018>.
- (354) *3D QSAR in Drug Design: Recent Advances*; Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y. C., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 1998. <https://doi.org/10.1007/0-306-46858-1>.
- (355) Sirvi, S. R. A Review on Quantitative Structure-Activity and Relationships (QSAR) Methods. *Int. J. Sci. Res. Manag. IJSRM* **2022**, *10* (04), 624–628. <https://doi.org/10.18535/ijrm/v10i04.mp04>.
- (356) Komnatnyy, V. V.; Nielsen, T. E.; Qvortrup, K. Bead-Based Screening in Chemical Biology and Drug Discovery. *Chem. Commun.* **2018**, *54* (50), 6759–6771. <https://doi.org/10.1039/C8CC02486C>.
- (357) Furka, Á. Forty Years of Combinatorial Technology. *Drug Discov. Today* **2022**, *27* (10), 103308. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.06.008>.
- (358) Seneci, P. Combinatorial Chemistry. *Compr. Med. Chem. II* **2006**, *3*, 697–760. <https://doi.org/10.1016/B0-08-045044-X/00106-1>.
- (359) Houghten, R. A.; Pinilla, C.; Blondelle, S. E.; Appel, J. R.; Dooley, C. T.; Cuervo, J. H. Generation and Use of Synthetic Peptide Combinatorial Libraries for Basic Research and Drug Discovery. *Nature* **1991**, *354* (6348), 84–86. <https://doi.org/10.1038/354084a0>.
- (360) Erb, E.; Janda, K. D.; Brenner, S. Recursive Deconvolution of Combinatorial Chemical Libraries. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1994**, *91* (24), 11422–11426.
- (361) *Canadian Society of Pharmacology and Therapeutics (CSPT) - Equilibrium dissociation constant (Kd)*. <https://pharmacologycanada.org/equilibrium-dissociation-constant-Kd> (accessed 2024-06-10).
- (362) *A review for cell-based screening methods in drug discovery*. <http://www.biophysics-reports.org/en/article/doi/10.52601/bpr.2021.210042> (accessed 2024-06-10).
- (363) Kola, I.; Landis, J. Can the Pharmaceutical Industry Reduce Attrition Rates? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3* (8), 711–716. <https://doi.org/10.1038/nrd1470>.
- (364) *Why 90% of clinical drug development fails and how to improve it?* - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35865092/> (accessed 2024-06-10).
- (365) Zhang, J. H.; Chung, T. D.; Oldenburg, K. R. A Simple Statistical Parameter for Use in Evaluation and Validation of High Throughput Screening Assays. *J. Biomol. Screen.* **1999**, *4* (2), 67–73. <https://doi.org/10.1177/108705719900400206>.
- (366) Zhang, L.; Villalobos, A. Strategies to Facilitate the Discovery of Novel CNS PET Ligands. *EJNMMI Radiopharm. Chem.* **2016**, *1* (1), 13. <https://doi.org/10.1186/s41181-016-0016-2>.
- (367) Patel, S.; Gibson, R. In Vivo Site-Directed Radiotracers: A Mini-Review. *Nucl. Med. Biol.* **2008**, *35* (8), 805–815. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2008.10.002>.
- (368) Mintun, M. A.; Raichle, M. E.; Kilbourn, M. R.; Wooten, G. F.; Welch, M. J. A Quantitative Model for the in Vivo Assessment of Drug Binding Sites with Positron Emission Tomography. *Ann. Neurol.* **1984**, *15* (3), 217–227. <https://doi.org/10.1002/ana.410150302>.
- (369) Sridharan, R.; Zuber, J.; Connelly, S. M.; Mathew, E.; Dumont, M. E. Fluorescent Approaches for Understanding Interactions of Ligands with G Protein Coupled Receptors. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* **2014**, *1838* (1, Part A), 15–33. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.09.005>.
- (370) Meyer, B.; Peters, T. NMR Spectroscopy Techniques for Screening and Identifying Ligand Binding to Protein Receptors. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2003**, *42* (8), 864–890. <https://doi.org/10.1002/anie.200390233>.
- (371) Zega, A. NMR Methods for Identification of False Positives in Biochemical Screens. *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (23), 9437–9447. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01520>.
- (372) Walpole, S.; Monaco, S.; Nepravishta, R.; Angulo, J. Chapter Twelve - STD NMR as a Technique for Ligand Screening and Structural Studies. In *Methods in Enzymology*; Wand, A. J., Ed.; Biological NMR Part B; Academic Press, 2019; Vol. 615, pp 423–451. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2018.08.018>.
- (373) Gao, J.; Ma, R.; Wang, W.; Wang, N.; Sasaki, R.; Snyderman, D.; Wu, J.; Ruan, K. Automated NMR Fragment Based Screening Identified a Novel Interface Blocker to the LARG/RhoA Complex. *PLoS One* **2014**, *9* (2), e88098. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088098>.
- (374) Li, Q. Application of Fragment-Based Drug Discovery to Versatile Targets. *Front. Mol. Biosci.* **2020**, *7*. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00180>.
- (375) Ciulli, A. Biophysical Screening for the Discovery of Small-Molecule Ligands. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* **2013**, *1008*, 357–388. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-398-5_13.
- (376) *Résonance des plasmons de surface*. <https://www.bruker.com/fr/products-and-solutions/surface-plasmon-resonance.html> (accessed 2024-06-10).
- (377) Song, C.; Zhang, S.; Huang, H. Choosing a Suitable Method for the Identification of Replication Origins in Microbial Genomes. *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 1049. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01049>.
- (378) Egawa, T.; Koide, Y.; Hanaoka, K.; Komatsu, T.; Terai, T.; Nagano, T. Development of a Fluorescein Analogue, TokyoMagenta, as a Novel Scaffold for Fluorescence Probes in Red Region. *Chem. Commun. Camb. Engl.* **2011**, *47* (14), 4162–4164. <https://doi.org/10.1039/c1cc00078k>.

- (379) Tan, J.; Yin, K.; Ouyang, Z.; Wang, R.; Pan, H.; Wang, Z.; Zhao, C.; Guo, W.; Gu, X. Real-Time Monitoring Renal Impairment Due to Drug-Induced AKI and Diabetes-Caused CKD Using an NAG-Activatable NIR-II Nanoprobe. *Anal. Chem.* **2021**, *93* (48), 16158–16165. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c03926>.
- (380) Zhang, X.; Li, X.; Shi, W.; Ma, H. Sensitive Imaging of Tumors Using a Nitroreductase-Activated Fluorescence Probe in the NIR-II Window. *Chem. Commun.* **2021**, *57* (66), 8174–8177. <https://doi.org/10.1039/D1CC03232A>.
- (381) Wang, N.; Xu, W.; Song, D.; Ma, P. A Fluorescein-Carbazole-Based Fluorescent Probe for Imaging of Endogenous Hypochlorite in Living Cells and Zebrafish. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2020**, *227*, 117692. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117692>.
- (382) *Histoire radiothérapie - Musée Curie*. <https://musee.curie.fr/decouvrir/documentation/histoire-radiotherapie> (accessed 2024-06-05).
- (383) *CNS Radiotracer Table*. National Institute of Mental Health (NIMH). <https://www.nimh.nih.gov/research/research-funded-by-nimh/therapeutics/cns-radiotracer-table> (accessed 2022-10-04).
- (384) Almuhaideb, A.; Papatthanasious, N.; Bomanji, J. 18F-FDG PET/CT Imaging In Oncology. *Ann. Saudi Med.* **2011**, *31* (1), 3–13. <https://doi.org/10.4103/0256-4947.75771>.
- (385) Su, H.; Seimbille, Y.; Ferl, G. Z.; Bodenstern, C.; Fueger, B.; Kim, K. J.; Hsu, Y.-T.; Dubinett, S. M.; Phelps, M. E.; Czernin, J.; Weber, W. A. Evaluation of [(18)F]Gefitinib as a Molecular Imaging Probe for the Assessment of the Epidermal Growth Factor Receptor Status in Malignant Tumors. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2008**, *35* (6), 1089–1099. <https://doi.org/10.1007/s00259-007-0636-6>.
- (386) Honer, M.; Gobbi, L.; Knust, H.; Kuwabara, H.; Muri, D.; Koerner, M.; Valentine, H.; Dannals, R. F.; Wong, D. F.; Borroni, E. Preclinical Evaluation of 18F-RO6958948, 11C-RO6931643, and 11C-RO6924963 as Novel PET Radiotracers for Imaging Tau Aggregates in Alzheimer Disease. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2018**, *59* (4), 675–681. <https://doi.org/10.2967/jnumed.117.196741>.
- (387) Kim, M.-J.; Lee, J.-H.; Juarez Anaya, F.; Hong, J.; Miller, W.; Telu, S.; Singh, P.; Cortes, M. Y.; Henry, K.; Tye, G. L.; Frankland, M. P.; Montero Santamaria, J. A.; Liow, J.-S.; Zoghbi, S. S.; Fujita, M.; Pike, V. W.; Innis, R. B. First-in-Human Evaluation of [11C]PS13, a Novel PET Radioligand, to Quantify Cyclooxygenase-1 in the Brain. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2020**, *47* (13), 3143–3151. <https://doi.org/10.1007/s00259-020-04855-2>.
- (388) Chemistry of Organic Radionuclides (C, N, and O). In *Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT*; Vallabhajosula, S., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2009; pp 167–177. https://doi.org/10.1007/978-3-540-76735-0_11.
- (389) Jacobson, O.; Kiesewetter, D. O.; Chen, X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes. *Bioconjug. Chem.* **2015**, *26* (1), 1–18. <https://doi.org/10.1021/bc500475e>.
- (390) Gómez-Vallejo, V.; Gaja, V.; Gona, K. B.; Llop, J. Nitrogen-13: Historical Review and Future Perspectives. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2014**, *57* (4), 244–254. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3163>.
- (391) Miller, P. W.; Kato, K.; Långström, B. Carbon-11, Nitrogen-13, and Oxygen-15 Chemistry. In *The Chemistry of Molecular Imaging*; John Wiley & Sons, Ltd, 2014; pp 79–103. <https://doi.org/10.1002/9781118854754.ch4>.
- (392) Rong, J.; Haider, A.; Jeppesen, T. E.; Josephson, L.; Liang, S. H. Radiochemistry for Positron Emission Tomography. *Nat. Commun.* **2023**, *14*, 3257. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36377-4>.
- (393) Dubost, E.; McErlain, H.; Babin, V.; Sutherland, A.; Cailly, T. Recent Advances in Synthetic Methods for Radioiodination. *J. Org. Chem.* **2020**, *85* (13), 8300–8310. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c00644>.
- (394) Gimenez, D.; Phelan, A.; Murphy, C. D.; Cobb, S. L. 19F NMR as a Tool in Chemical Biology. *Beilstein J. Org. Chem.* **2021**, *17*, 293–318. <https://doi.org/10.3762/bjoc.17.28>.
- (395) Wang, Z. J.; Ohliger, M. A.; Larson, P. E. Z.; Gordon, J. W.; Bok, R. A.; Slater, J.; Villanueva-Meyer, J. E.; Hess, C. P.; Kurhanewicz, J.; Vigneron, D. B. Hyperpolarized 13C MRI: State of the Art and Future Directions. *Radiology* **2019**, *291* (2), 273–284. <https://doi.org/10.1148/radiol.2019182391>.
- (396) Chen Ming Low, J.; Wright, A. J.; Hesse, F.; Cao, J.; Brindle, K. M. Metabolic Imaging with Deuterium Labeled Substrates. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2023**, *134–135*, 39–51. <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2023.02.002>.
- (397) Valeur, B. *Molecular Fluorescence Principles and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH.; 2001; Vol. 1.
- (398) Hantzsch, A. Über Die Halochromie und »Solvatochromie« des Dibenzal-Acetons Und Einfacherer Ketone, Sowie Ihrer Ketochloride. *Berichte Dtsch. Chem. Ges. B Ser.* **1922**, *55* (4), 953–979. <https://doi.org/10.1002/cber.19220550420>.
- (399) Nigam, S.; Rutan, S. Principles and Applications of Solvatochromism. *Appl. Spectrosc.* **2001**, *55* (11), 362A–370A. <https://doi.org/10.1366/0003702011953702>.
- (400) Liese, D.; Haberhauer, G. Rotations in Excited ICT States – Fluorescence and Its Microenvironmental Sensitivity. *Isr. J. Chem.* **2018**, *58* (8), 813–826. <https://doi.org/10.1002/ijch.201800032>.
- (401) Joshi, H. C.; Antonov, L. Excited-State Intramolecular Proton Transfer: A Short Introductory Review. *Molecules* **2021**, *26* (5), 1475. <https://doi.org/10.3390/molecules26051475>.
- (402) Sedgwick, A. C.; Wu, L.; Han, H.-H.; Bull, S. D.; He, X.-P.; James, T. D.; Sessler, J. L.; Tang, B. Z.; Tian, H.; Yoon, J. Excited-State Intramolecular Proton-Transfer (ESIPT) Based Fluorescence Sensors and Imaging Agents. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47* (23), 8842–8880. <https://doi.org/10.1039/C8CS00185E>.
- (403) Swietach, P.; Vaughan-Jones, R. D.; Harris, A. L.; Hulikova, A. The Chemistry, Physiology and Pathology of pH in Cancer. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **2014**, *369* (1638), 20130099. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0099>.
- (404) Patil, V. S.; Padalkar, V. S.; Phatangare, K. R.; Gupta, V. D.; Umape, P. G.; Sekar, N. *Synthesis of New ESIPT-Fluorescein: Photophysics of pH Sensitivity and Fluorescence*. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/jp2073123>.
- (405) Singh, N.; Kaur, N.; Mulrooney, R. C.; Callan, J. F. A Ratiometric Fluorescent Probe for Magnesium Employing Excited State Intramolecular Proton Transfer. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49* (47), 6690–6692. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.09.052>.
- (406) Xu, Y.; Pang, Y. Zinc Binding-Induced near-IR Emission from Excited-State Intramolecular Proton Transfer of a Bis(Benzoxazole) Derivative. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (23), 4070–4072. <https://doi.org/10.1039/C003230A>.
- (407) Maity, D.; Kumar, V.; Govindaraju, T. Reactive Probes for Ratiometric Detection of Co²⁺ and Cu⁺ Based on Excited-State Intramolecular Proton Transfer Mechanism. *Org. Lett.* **2012**, *14* (23), 6008–6011. <https://doi.org/10.1021/ol302904c>.
- (408) Chen, W.-H.; Xing, Y.; Pang, Y. A Highly Selective Pyrophosphate Sensor Based on ESIPT Turn-On in Water. *Org. Lett.* **2011**, *13* (6), 1362–1365. <https://doi.org/10.1021/ol200054w>.

- (409) Bera, M. K.; Chakraborty, C.; Singh, P. K.; Sahu, C.; Sen, K.; Maji, S.; Das, A. K.; Malik, S. Fluorene-Based Chemodosimeter for “Turn-on” Sensing of Cyanide by Hampering ESIPT and Live Cell Imaging. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2* (29), 4733–4739. <https://doi.org/10.1039/C4TB00388H>.
- (410) Rohman, M. A.; Saha, K.; Mitra, S. Fluorescence Modulation of Excited State Intramolecular Proton Transfer (ESIPT) Probe 3-Formyl-4-Hydroxy Benzoic Acid Encapsulated in the Protein Binding Domain of Serum Albumins: A Combined Spectroscopic and Molecular Docking Study. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2019**, *37* (18), 4737–4746. <https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1559764>.
- (411) Shynkar, V. V.; Klymchenko, A. S.; Kunzelmann, C.; Duportail, G.; Muller, C. D.; Demchenko, A. P.; Freyssinet, J.-M.; Mely, Y. Fluorescent Biomembrane Probe for Ratiometric Detection of Apoptosis. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (7), 2187–2193. <https://doi.org/10.1021/ja068008h>.
- (412) Jiang, G.; Liu, J.; Zhou, P. Unraveling the Mechanism of ACQ-to-AIE Transformation of Fluorescein Derivatives. *J. Phys. Chem. A* **2023**, *127* (24), 5193–5201. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.3c02244>.
- (413) Zhang, K.; Liu, J.; Zhang, Y.; Fan, J.; Wang, C.-K.; Lin, L. Theoretical Study of the Mechanism of Aggregation-Caused Quenching in Near-Infrared Thermally Activated Delayed Fluorescence Molecules: Hydrogen-Bond Effect. *J. Phys. Chem. C* **2019**, *123* (40), 24705–24713. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b06388>.
- (414) Luo, J.; Xie, Z.; Lam, J. W. Y.; Cheng, L.; Chen, H.; Qiu, C.; Kwok, H. S.; Zhan, X.; Liu, Y.; Zhu, D.; Tang, B. Z. Aggregation-Induced Emission of 1-Methyl-1,2,3,4,5-Pentaphenylsilole. *Chem. Commun.* **2001**, No. 18, 1740–1741. <https://doi.org/10.1039/B105159H>.
- (415) Yang, J.; Chi, Z.; Zhu, W.; Tang, B. Z.; Li, Z. Aggregation-Induced Emission: A Coming-of-Age Ceremony at the Age of Eighteen. *Sci. China Chem.* **2019**, *62* (9), 1090–1098. <https://doi.org/10.1007/s11426-019-9512-x>.
- (416) Wang, J.; Lu, L.; Wang, C.; Wang, M.; Ju, J.; Zhu, J.; Sun, T. An AIE and PET Fluorescent Probe for Effective Zn(II) Detection and Imaging in Living Cells. *New J. Chem.* **2020**, *44* (36), 15426–15431. <https://doi.org/10.1039/D0NJ03667F>.
- (417) Hao, L.; Ling, Y.-Y.; Huang, Z.-X.; Pan, Z.-Y.; Tan, C.-P.; Mao, Z.-W. Real-Time Tracking of ER Turnover during ERLAD by a Rhenium Complex via Lifetime Imaging. *Natl. Sci. Rev.* **2022**, *9* (7), nwab194. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwab194>.
- (418) Wang, Y.-L.; Fan, C.; Xin, B.; Zhang, J.-P.; Luo, T.; Chen, Z.-Q.; Zhou, Q.-Y.; Yu, Q.; Li, X.-N.; Huang, Z.-L.; Li, C.; Zhu, M.-Q.; Tang, B. Z. AIE-Based Super-Resolution Imaging Probes for β -Amyloid Plaques in Mouse Brains. *Mater. Chem. Front.* **2018**, *2* (8), 1554–1562. <https://doi.org/10.1039/C8QM00209F>.
- (419) Chen, C.; Song, Z.; Zheng, X.; He, Z.; Liu, B.; Huang, X.; Kong, D.; Ding, D.; Tang, B. Z. AIEgen-Based Theranostic System: Targeted Imaging of Cancer Cells and Adjuvant Amplification of Antitumor Efficacy of Paclitaxel. *Chem. Sci.* **2017**, *8* (3), 2191–2198. <https://doi.org/10.1039/C6SC03859J>.
- (420) Zhang, Y.; Zhuang, W.; Chen, J.; Li, C.; Li, S.; Chen, M. Aggregation-Induced Emission Fluorescent Probes for Lipid Droplets-Specific Bioimaging of Cells and Atherosclerosis Plaques. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2023**, *286*, 122017. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.122017>.
- (421) Shao, A.; Xie, Y.; Zhu, S.; Guo, Z.; Zhu, S.; Guo, J.; Shi, P.; James, T. D.; Tian, H.; Zhu, W.-H. Far-Red and Near-IR AIE-Active Fluorescent Organic Nanoprobes with Enhanced Tumor-Targeting Efficacy: Shape-Specific Effects. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2015**, *54* (25), 7275–7280. <https://doi.org/10.1002/anie.201501478>.
- (422) Ge, J.; Cai, W.; Niu, N.; Wen, Y.; Wu, Q.; Wang, L.; Wang, D.; Tang, B. Z.; Zhang, R. Viscosity-Responsive NIR-II Fluorescent Probe with Aggregation-Induced Emission Features for Early Diagnosis of Liver Injury. *Biomaterials* **2023**, *300*, 122190. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2023.122190>.
- (423) Lee, K.-W.; Gao, Y.; Wei, W.-C.; Tan, J.-H.; Wan, Y.; Feng, Z.; Zhang, Y.; Liu, Y.; Zheng, X.; Cao, C.; Chen, H.; Wang, P.; Li, S.; Wong, K.-T.; Lee, C.-S. Anti-Quenching NIR-II J-Aggregates of Benzo[c]Thiophene Fluorophore for Highly Efficient Bioimaging and Phototheranostics. *Adv. Mater.* **2023**, *35* (20), 2211632. <https://doi.org/10.1002/adma.202211632>.
- (424) Duan, N.; Yang, S. Research Progress on Multifunctional Fluorescent Probes for Biological Imaging, Food and Environmental Detection. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2024**, *54* (4), 775–817. <https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2098670>.
- (425) Francisco, M. D.; Chen, W.-F.; Pan, C.-T.; Lin, M.-C.; Wen, Z.-H.; Liao, C.-F.; Shiue, Y.-L. Competitive Real-Time Near Infrared (NIR) Vein Finder Imaging Device to Improve Peripheral Subcutaneous Vein Selection in Venipuncture for Clinical Laboratory Testing. *Micromachines* **2021**, *12* (4), 373. <https://doi.org/10.3390/mi12040373>.
- (426) Wang, T.; Chen, Y.; Wang, B.; Wu, M. Recent Progress of Second Near-Infrared (NIR-II) Fluorescence Microscopy in Bioimaging. *Front. Physiol.* **2023**, *14*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1126805>.
- (427) Tong, L.; Cao, J.; Wang, K.; Song, J.; Mu, J. Lanthanide-Doped Nanomaterials for Tumor Diagnosis and Treatment by Second Near-Infrared Fluorescence Imaging. *Adv. Opt. Mater.* **2024**, *12* (4), 2301767. <https://doi.org/10.1002/adom.202301767>.
- (428) Yen, S. K.; Jańczewski, D.; Lakshmi, J. L.; Dolmanan, S. B.; Tripathy, S.; Ho, V. H. B.; Vijayaragavan, V.; Hariharan, A.; Padmanabhan, P.; Bhakoo, K. K.; Sudhakaran, T.; Ahmed, S.; Zhang, Y.; Tamil Selvan, S. Design and Synthesis of Polymer-Functionalized NIR Fluorescent Dyes–Magnetic Nanoparticles for Bioimaging. *ACS Nano* **2013**, *7* (8), 6796–6805. <https://doi.org/10.1021/nn401734t>.
- (429) Zhang, X.; Li, S.; Ma, H.; Wang, H.; Zhang, R.; Zhang, X.-D. Activatable NIR-II Organic Fluorescent Probes for Bioimaging. *Theranostics* **2022**, *12* (7), 3345–3371. <https://doi.org/10.7150/thno.71359>.
- (430) Wang, L.; Li, N.; Wang, W.; Mei, A.; Shao, J.; Wang, W.; Dong, X. Benzobisthiadiazole-Based Small Molecular Near-Infrared-II Fluorophores: From Molecular Engineering to Nanophototheranostics. *ACS Nano* **2024**, *18* (6), 4683–4703. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.3c12316>.
- (431) Qiu, Y.; Yuan, B.; Cao, Y.; He, X.; Akakuru, O. U.; Lu, L.; Chen, N.; Xu, M.; Wu, A.; Li, J. Recent Progress on Near-Infrared Fluorescence Heptamethine Cyanine Dye-Based Molecules and Nanoparticles for Tumor Imaging and Treatment. *WIREs Nanomedicine Nanobiotechnology* **2023**, *15* (5), e1910. <https://doi.org/10.1002/wnan.1910>.
- (432) He, J.; Xiao, Q.; Shao, M.; Li, Z. Advances in Polymethine Dyes for Near-Infrared Organic Photodiodes†. *Chin. J. Chem.* **2023**, *41* (11), 1399–1416. <https://doi.org/10.1002/cjoc.202200688>.
- (433) Fischer, G. M.; Ehlers, A. P.; Zumbusch, A.; Daltrozzo, E. Near-Infrared Dyes and Fluorophores Based on Diketopyrrolopyrroles. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46* (20), 3750–3753. <https://doi.org/10.1002/anie.200604763>.
- (434) Sonkaya, Ö.; Soylukan, C.; Algi, M. P.; Algi, F. Aza-BODIPY-Based Fluorescent and Colorimetric Sensors and Probes. *Curr. Org. Synth.* **20** (1), 20–60. <https://doi.org/10.2174/1570179419666220216123033>.

- (435) Zhao, B.; Liao, L.; Zhu, Y.; Hu, Z.; Wu, F. Near-Infrared Fluorescent Aza-BODIPY Dyes: Rational Structural Design and Biomedical Imaging. *J. Lumin.* **2023**, *263*, 120099. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2023.120099>.
- (436) Ding, C.; Ren, T. Near Infrared Fluorescent Probes for Detecting and Imaging Active Small Molecules. *Coord. Chem. Rev.* **2023**, *482*, 215080. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215080>.
- (437) Yao, D.; Wang, Y.; Zou, R.; Bian, K.; Liu, P.; Shen, S.; Yang, W.; Zhang, B.; Wang, D. Molecular Engineered Squaraine Nanoprobe for NIR-II/Photoacoustic Imaging and Photothermal Therapy of Metastatic Breast Cancer. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, *12* (4), 4276–4284. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b20147>.
- (438) Fan, Y.; Wu, Y.; Hou, J.; Wang, P.; Peng, X.; Ge, G. Coumarin-Based near-Infrared Fluorogenic Probes: Recent Advances, Challenges and Future Perspectives. *Coord. Chem. Rev.* **2023**, *480*, 215020. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215020>.
- (439) Sun, Q.; He, D.; Zhang, L.; Li, Z.; Qu, L.; Sun, Y. Coumarin-Hemicyanine-Based Far-Red to near-Infrared Fluorescent Probes: A New Generation of Fluorescent Probe Design Platform. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2023**, *167*, 117272. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117272>.
- (440) Cai, S.; Shi, H.; Li, J.; Gu, L.; Ni, Y.; Cheng, Z.; Wang, S.; Xiong, W.; Li, L.; An, Z.; Huang, W. Visible-Light-Excited Ultralong Organic Phosphorescence by Manipulating Intermolecular Interactions. *Adv. Mater.* **2017**, *29* (35), 1701244. <https://doi.org/10.1002/adma.201701244>.
- (441) Wu, Y.; Jing, H.; Dong, Z.; Zhao, Q.; Wu, H.; Li, F. Ratiometric Phosphorescence Imaging of Hg(II) in Living Cells Based on a Neutral Iridium(III) Complex. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (16), 7412–7420. <https://doi.org/10.1021/ic102082k>.
- (442) Chen, Z.; Bian, Z.; Huang, C. Functional Ir(III) Complexes and Their Applications. *Adv. Mater.* **2010**, *22* (13), 1534–1539. <https://doi.org/10.1002/adma.200903233>.
- (443) Gu, L.; Shi, H.; Gu, M.; Ling, K.; Ma, H.; Cai, S.; Song, L.; Ma, C.; Li, H.; Xing, G.; Hang, X.; Li, J.; Gao, Y.; Yao, W.; Shuai, Z.; An, Z.; Liu, X.; Huang, W. Dynamic Ultralong Organic Phosphorescence by Photoactivation. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (28), 8425–8431. <https://doi.org/10.1002/anie.201712381>.
- (444) He, Z.; Gao, H.; Zhang, S.; Zheng, S.; Wang, Y.; Zhao, Z.; Ding, D.; Yang, B.; Zhang, Y.; Yuan, W. Z. Achieving Persistent, Efficient, and Robust Room-Temperature Phosphorescence from Pure Organics for Versatile Applications. *Adv. Mater.* **2019**, *31* (18), 1807222. <https://doi.org/10.1002/adma.201807222>.
- (445) Yang, J.; Zhen, X.; Wang, B.; Gao, X.; Ren, Z.; Wang, J.; Xie, Y.; Li, J.; Peng, Q.; Pu, K.; Li, Z. The Influence of the Molecular Packing on the Room Temperature Phosphorescence of Purely Organic Luminogens. *Nat. Commun.* **2018**, *9* (1), 840. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03236-6>.
- (446) Chen, M.; Wu, Y.; Liu, Y.; Yang, H.; Zhao, Q.; Li, F. A Phosphorescent Iridium(III) Solvent Complex for Multiplex Assays of Cell Death. *Biomaterials* **2014**, *35* (30), 8748–8755. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.06.041>.
- (447) Wahsner, J.; Gale, E. M.; Rodríguez-Rodríguez, A.; Caravan, P. Chemistry of MRI Contrast Agents: Current Challenges and New Frontiers. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (2), 957–1057. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00363>.
- (448) Kálmán, F. K.; Nagy, V.; Uzal-Varela, R.; Pérez-Lourido, P.; Esteban-Gómez, D.; Garda, Z.; Pota, K.; Mezei, R.; Pallier, A.; Tóth, É.; Platas-Iglesias, C.; Tircsó, G. Expanding the Ligand Classes Used for Mn(II) Complexation: Oxa-Aza Macrocycles Make the Difference. *Molecules* **2021**, *26* (6), 1524. <https://doi.org/10.3390/molecules26061524>.
- (449) Garda, Z.; Kócs, T.; Bányai, I.; Martins, J. A.; Kálmán, F. K.; Tóth, I.; Geraldes, C. F. G. C.; Tircsó, G. Complexes of Bifunctional DO3A-N-(α -Amino)Propionate Ligands with Mg(II), Ca(II), Cu(II), Zn(II), and Lanthanide(III) Ions: Thermodynamic Stability, Formation and Dissociation Kinetics, and Solution Dynamic NMR Studies. *Molecules* **2021**, *26* (16), 4956. <https://doi.org/10.3390/molecules26164956>.
- (450) Gómez-González, E.; Caro, C.; García-Martín, M. L.; Becerro, A. I.; Ocaña, M. Outstanding MRI Contrast with Dysprosium Phosphate Nanoparticles of Tuneable Size. *Nanoscale* **2022**, *14* (31), 11461–11470. <https://doi.org/10.1039/D2NR02630A>.
- (451) Heydari Sheikh Hossein, H.; Jabbari, I.; Zarepour, A.; Zarrabi, A.; Ashrafizadeh, M.; Taherian, A.; Makvandi, P. Functionalization of Magnetic Nanoparticles by Folate as Potential MRI Contrast Agent for Breast Cancer Diagnostics. *Molecules* **2020**, *25* (18), 4053. <https://doi.org/10.3390/molecules25184053>.
- (452) Microvascular Therapeutics, LLC. *MVT-100: Advancing the Clinical Use of Perflutren Ultrasound Contrast Agents for Suboptimal Echocardiograms*; Clinical trial registration NCT03882359; clinicaltrials.gov, 2023. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03882359> (accessed 2024-01-01).
- (453) Bracco Diagnostics, Inc. *Transabdominal Ultrasound With BR55 for Characterization of Pancreatic Lesions*; Clinical trial registration NCT03486327; clinicaltrials.gov, 2023. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03486327> (accessed 2024-01-01).
- (454) Forsberg, F. *Prostate Cancer Diagnosis by Multiparametric Ultrasound (Wholemout)*; Clinical trial registration NCT05336786; clinicaltrials.gov, 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05336786> (accessed 2024-01-01).
- (455) Gomes, D. S. B.; Paterno, L. G.; Santos, A. B. S.; Barbosa, D. P. P.; Holtz, B. M.; Souza, M. R.; Moraes-Souza, R. Q.; Garay, A. V.; de Andrade, L. R.; Sartoratto, P. P. C.; Mertz, D.; Volpato, G. T.; Freitas, S. M.; Soler, M. A. G. UV-Accelerated Synthesis of Gold Nanoparticle-Pluronic Nanocomposites for X-Ray Computed Tomography Contrast Enhancement. *Polymers* **2023**, *15* (9), 2163. <https://doi.org/10.3390/polym15092163>.
- (456) Quinn, A. D.; O'Hare, N. J.; Wallis, F. J.; Wilson, G. F. Gd-DTPA: An Alternative Contrast Medium for CT. *J. Comput. Assist. Tomogr.* **1994**, *18* (4), 634–636.
- (457) Rabin, O.; Manuel Perez, J.; Grimm, J.; Wojtkiewicz, G.; Weissleder, R. An X-Ray Computed Tomography Imaging Agent Based on Long-Circulating Bismuth Sulphide Nanoparticles. *Nat. Mater.* **2006**, *5* (2), 118–122. <https://doi.org/10.1038/nmat1571>.
- (458) Oh, M. H.; Lee, N.; Kim, H.; Park, S. P.; Piao, Y.; Lee, J.; Jun, S. W.; Moon, W. K.; Choi, S. H.; Hyeon, T. Large-Scale Synthesis of Bioinert Tantalum Oxide Nanoparticles for X-Ray Computed Tomography Imaging and Bimodal Image-Guided Sentinel Lymph Node Mapping. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (14), 5508–5515. <https://doi.org/10.1021/ja200120k>.
- (459) Jakhmola, A.; Anton, N.; Anton, H.; Messaddeq, N.; Hallouard, F.; Klymchenko, A.; Mely, Y.; Vandamme, T. F. Poly- ϵ -Caprolactone Tungsten Oxide Nanoparticles as a Contrast Agent for X-Ray Computed Tomography. *Biomaterials* **2014**, *35* (9), 2981–2986. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.12.032>.
- (460) VIZAMYL (flutémétamol, 18F). Haute Autorité de Santé. https://www.has-sante.fr/jcms/pprd_2983672/fr/vizamyl-flutemetamol-18f (accessed 2022-10-05).

- (461) EMA. *Vizamyl*. European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vizamyl> (accessed 2022-10-05).
- (462) *Thioflavin T as an amyloid dye: fibril quantification, optimal concentration and effect on aggregation*. <https://doi.org/10.1098/rsos.160696>.
- (463) Biancalana, M.; Koide, S. Molecular Mechanism of Thioflavin-T Binding to Amyloid Fibrils. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Proteins Proteomics* **2010**, *1804* (7), 1405–1412. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.04.001>.
- (464) E, K. W.; Jr, M. C. A.; Yanming, W. Thioflavin Derivatives For Use In The Diagnosis Of Alzheimer's Disease. EP 2264018 A2, August 24, 2001. <https://lens.org/139-832-378-352-749>.
- (465) Vassar, P. S.; Culling, C. F. Fluorescent Stains, with Special Reference to Amyloid and Connective Tissues. *Arch. Pathol.* **1959**, *68*, 487–498.
- (466) Naiki, H.; Higuchi, K.; Hosokawa, M.; Takeda, T. Fluorometric Determination of Amyloid Fibrils in Vitro Using the Fluorescent Dye, Thioflavine T. *Anal. Biochem.* **1989**, *177* (2), 244–249. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90046-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90046-8).
- (467) Rodríguez-Rodríguez, C.; Rimola, A.; Rodríguez-Santiago, L.; Ugliengo, P.; Álvarez-Larena, Á.; Gutiérrez-de-Terán, H.; Sodupe, M.; González-Duarte, P. Crystal Structure of Thioflavin-T and Its Binding to Amyloid Fibrils: Insights at the Molecular Level. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (7), 1156–1158. <https://doi.org/10.1039/B912396B>.
- (468) Frieg, B.; Gremer, L.; Heise, H.; Willbold, D.; Gohlke, H. Binding Modes of Thioflavin T and Congo Red to the Fibril Structure of Amyloid- β (1–42). *Chem. Commun.* **2020**, *56* (55), 7589–7592. <https://doi.org/10.1039/D0CC01161D>.
- (469) Schütz, A. K.; Hornemann, S.; Wälti, M. A.; Greuter, L.; Tiberi, C.; Cadalbert, R.; Gantner, M.; Riek, R.; Hammarström, P.; Nilsson, K. P. R.; Böckmann, A.; Aguzzi, A.; Meier, B. H. Binding of Polythiophenes to Amyloids: Structural Mapping of the Pharmacophore. *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, *9* (3), 475–481. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.7b00397>.
- (470) Schütz, A. K.; Soragni, A.; Hornemann, S.; Aguzzi, A.; Ernst, M.; Böckmann, A.; Meier, B. H. The Amyloid–Congo Red Interface at Atomic Resolution. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50* (26), 5956–5960. <https://doi.org/10.1002/anie.201008276>.
- (471) Shi, Y.; Murzin, A. G.; Falcon, B.; Epstein, A.; Machin, J.; Tempest, P.; Newell, K. L.; Vidal, R.; Garringer, H. J.; Sahara, N.; Higuchi, M.; Ghetti, B.; Jang, M.-K.; Scheres, S. H. W.; Goedert, M. Cryo-EM Structures of Tau Filaments from Alzheimer's Disease with PET Ligand APN-1607. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **2021**, *141* (5), 697–708. <https://doi.org/10.1007/s00401-021-02294-3>.
- (472) Stsiapura, V. I.; Maskevich, A. A.; Kuzmitsky, V. A.; Turoverov, K. K.; Kuznetsova, I. M. Computational Study of Thioflavin T Torsional Relaxation in the Excited State. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (22), 4829–4835. <https://doi.org/10.1021/jp070590o>.
- (473) Stsiapura, V. I.; Maskevich, A. A.; Kuzmitsky, V. A.; Uversky, V. N.; Kuznetsova, I. M.; Turoverov, K. K. Thioflavin T as a Molecular Rotor: Fluorescent Properties of Thioflavin T in Solvents with Different Viscosity. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112* (49), 15893–15902. <https://doi.org/10.1021/jp805822c>.
- (474) Verma, S.; Ravichandiran, V.; Ranjan, N. Beyond Amyloid Proteins: Thioflavin T in Nucleic Acid Recognition. *Biochimie* **2021**, *190*, 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2021.06.003>.
- (475) *Thioflavin T used as stain for amyloid 2390-54-7*. <http://www.sigmaaldrich.com/> (accessed 2022-10-04).
- (476) Klunk, W. E.; Jr, C. A. M.; Wang, Y. Thioflavin Derivatives for Use in Antemortem Diagnosis of Alzheimer's Disease and in Vivo Imaging and Prevention of Amyloid Deposition. US7270800B2, September 18, 2007. <https://patents.google.com/patent/US7270800B2/en> (accessed 2024-06-13).
- (477) Storey, A. E.; Jones, C. L.; Bouvet, D. R. C.; Lasbistes, N.; Fairway, S. M.; Williams, L.; Gibson, A. M.; Nairne, R. J.; Karimi, F.; Langstrom, B. Fluorination Process of Anilide Derivatives and Benzothiazole Fluorinate Derivatives as in Vivo Imaging Agents. US8410312B2, April 2, 2013. <https://patents.google.com/patent/US8410312B2/zh> (accessed 2024-06-13).
- (478) Snellman, A.; Rokka, J.; Lopez-Picon, F. R.; Eskola, O.; Wilson, I.; Farrar, G.; Scheinin, M.; Solin, O.; Rinne, J. O.; Haaparanta-Solin, M. Pharmacokinetics of [18F]Flutemetamol in Wild-Type Rodents and Its Binding to Beta Amyloid Deposits in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2012**, *39* (11), 1784–1795. <https://doi.org/10.1007/s00259-012-2178-9>.
- (479) Koole, M.; Lewis, D. M.; Buckley, C.; Nelissen, N.; Vandenbulcke, M.; Brooks, D. J.; Vandenbergh, R.; Laere, K. V. Whole-Body Biodistribution and Radiation Dosimetry of 18F-GE067: A Radioligand for In Vivo Brain Amyloid Imaging. *J. Nucl. Med.* **2009**, *50* (5), 818–822. <https://doi.org/10.2967/jnumed.108.060756>.
- (480) Baeyer, A. Ueber Eine Neue Klasse von Farbstoffen. *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1871**, *4* (2), 555–558. <https://doi.org/10.1002/cber.18710040209>.
- (481) The, T. H.; Feltkamp, T. E. W. Conjugation of Fluorescein Isothiocyanate to Antibodies. *Immunology* **1970**, *18* (6), 865–873.
- (482) *FITC fluorescein | Sigma-Aldrich*. <https://www.sigmaaldrich.com/FR/fr/search/fitc-fluorescein?focus=products&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=fitc%20fluorescein&type=product> (accessed 2024-06-13).
- (483) Le Guern, F.; Mussard, V.; Gaucher, A.; Rottman, M.; Prim, D. Fluorescein Derivatives as Fluorescent Probes for pH Monitoring along Recent Biological Applications. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21* (23), 9217. <https://doi.org/10.3390/ijms21239217>.
- (484) Escudero, D. Revising Intramolecular Photoinduced Electron Transfer (PET) from First-Principles. *Acc. Chem. Res.* **2016**, *49* (9), 1816–1824. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00299>.
- (485) Zhou, P.; Tang, Z.; Li, P.; Liu, J. Unraveling the Mechanism for Tuning the Fluorescence of Fluorescein Derivatives: The Role of the Conical Intersection and $\text{N}\pi^*$ State. *J. Phys. Chem. Lett.* **2021**, *12* (28), 6478–6485. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.1c01774>.
- (486) Sjöback, R.; Nygren, J.; Kubista, M. Absorption and Fluorescence Properties of Fluorescein. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **1995**, *51* (6), L7–L21. [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(95\)01421-P](https://doi.org/10.1016/0584-8539(95)01421-P).
- (487) Lv, Z.; Hou, J.; Yao, J.; Yuan, Y.; Qian, Y.; Zhu, J.; Zhao, H.; Xiong, X.; Jiao, C. Investigation on Fluorescein Derivatives with Thermally Activated Delayed Fluorescence and Their Applications in Imaging. *RSC Adv.* **2022**, *12* (18), 11477–11483. <https://doi.org/10.1039/D2RA00593J>.
- (488) Szabelski, M.; Gryczynski, Z.; Gryczynski, I. Photophysical Properties of Novel Fluorescein Derivative and Its Applications for Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy. *Chem. Phys. Lett.* **2010**, *493* (4), 399–403. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2010.05.061>.
- (489) Rajasekar, M. Recent Development in Fluorescein Derivatives. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1224*, 129085. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129085>.
- (490) Zhang, X.-F.; Zhang, J.; Liu, L. Fluorescence Properties of Twenty Fluorescein Derivatives: Lifetime, Quantum Yield, Absorption and Emission Spectra. *J. Fluoresc.* **2014**, *24* (3), 819–826. <https://doi.org/10.1007/s10895-014-1356-5>.

- (491) Fukazawa, A.; Usuba, J.; Adler, R. A.; Yamaguchi, S. Synthesis of Seminaphtho-Phospha-Fluorescein Dyes Based on the Consecutive Arylation of Aryldichlorophosphines. *Chem. Commun.* **2017**, 53 (61), 8565–8568. <https://doi.org/10.1039/C7CC04323F>.
- (492) Haugland, R. P. *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, 6th ed.; Molecular Probes: Eugene, OR, USA (4849 Pitchford Ave., Eugene 97402), 1996.
- (493) Bruno, J. G.; Ulvick, S. J.; Uzzell, G. L.; Tabb, J. S.; Valdes, E. R.; Batt, C. A. Novel Immuno-FRET Assay Method for Bacillus Spores and Escherichia Coli O157:H7. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, 287 (4), 875–880. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5669>.
- (494) Zeglis, B. M.; Barton, J. K. A Mismatch-Selective Bifunctional Rhodium–Oregon Green Conjugate: A Fluorescent Probe for Mismatched DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128 (17), 5654–5655. <https://doi.org/10.1021/ja061409c>.
- (495) Cullum, M. E.; Duplessis, C. a; Crepeau, L. J. Method for the Detection of Stress Biomarkers Including Cortisol by Fluorescence Polarization. US2006105397A1, May 18, 2006.
- (496) Delmotte, C.; Delmas, A. Synthesis and Fluorescence Properties of Oregon Green 514 Labeled Peptides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9 (20), 2989–2994. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(99\)00512-0](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(99)00512-0).
- (497) Rusinova, E. Alexa and Oregon Green Dyes as Fluorescence Anisotropy Probes for Measuring Protein–Protein and Protein–Nucleic Acid Interactions. *Anal. Biochem.* **2002**.
- (498) Barker, S. L. R.; Kopelman, R.; Meyer, T. E.; Cusanovich, M. A. Fiber-Optic Nitric Oxide-Selective Biosensors and Nanosensors. *Anal. Chem.* **1998**, 70 (5), 971–976. <https://doi.org/10.1021/ac970706k>.

Ouvrages de référence et ressources numériques

- Chimie organique et isomérisation, Serge Rubio, Ellipses, ISBN : 2-7298-1792-1
- Chimie organique, Les grands principes, John McMurry, Dunod, ISBN : 2-10-004183-5
- Comprehensive organic name reactions and reagents, Zerong Wang, Wiley, ISBN : 978-0-471-70450-8

- Chimie organique hétérocyclique, René Milcent, EDP Sciences, ISBN : 2-86883-583-X
- Fundamentals of heterocyclic chemistry, Louis D. Quin, John A. Tyrell, Wiley, ISBN : 978-0-470-56669-5
- Handbook of heterocyclic chemistry 3rd, Alan R. Katritzky, Christopher A. Ramsden, John A. Joule, Viktor V. Zhdankin, Elsevier, ISBN : 978-0-08-095843-9
- Modern Heterocyclic Chemistry, Julio Alvarez-Builla, Juan Jose Vaquero, and José Barluenga, Wiley, ISBN : 978-3-527-63773-7

- Protecting groups 3rd edition, Phillip J. Kocienski, Thieme, ISBN : 978-3131370020
- Greene's Protective groups in organic chemistry 4th edition, Peter G. M. Wuts, Theodora W. Greene, Wiley, ISBN : 978-0-471-69754-1

- An introduction to medicinal chemistry 5th edition, Graham L. Patrick, Oxford university press, ISBN : 978-0-19-969739-7
- The organic chemistry of drug design and drug action 3rd edition, Richard B. Silverman, Mark W. Holladay, Academic Press, Elsevier, ISBN : 978-0-12-382030-3
- Fundamentals of medicinal chemistry, Gareth Thomas, Wiley, ISBN : 0-470-84306-3
- The medicinal chemist's guide to solving ADMET challenges, Patrick Schnider, The Royal Society of Chemistry, ISBN : 978-1-78801-227-0

- Bioisosteres in medicinal chemistry, Nathan Brown, Wiley-VCH, ISBN : 978-3-527-33015-7

- Molecular imaging, Principles and Practice, Ralph Weissleder, Brian D. Ross, Alnawaz Rehemtulla, Sanjiv S. Gambhir, PMPH-USA, ISBN : 978-1-60795-005-9
- Molecular imaging, Radiopharmaceuticals for PET and SPECT, Shankar Vallabhajosula, Springer, ISBN : 978-3-540-76734-3
- The chemistry of molecular imaging, Nicholas Long, Wing-Tak Wong, Wiley, ISBN : 978-1-118-09327-6

- Principles of fluorescence spectroscopy 2nd edition, Joseph R. Lakowicz, Kluwer Academic / Plenum publishers, ISBN : 0-306-46093-9
- Molecular fluorescence, Principles and applications, Bernard Valeur, Wiley-VCH, ISBN : 3-527-29919-X

- Tables de pKa : <https://organicchemistrydata.org/hansreich/resources/pka/>
- Tables RMN : <https://chimactiv.agroparistech.fr/fr/bases/rmn/savoir-plus/5>

Lexique

Acide de Brønsted : Espèce chimique capable de céder un ou plusieurs protons.

Base de Brønsted : Espèce chimique capable de capter un ou plusieurs protons.

Acide de Lewis : Espèce chimique possédant une lacune électronique, et capable d'accepter un doublet d'électrons.

Base de Lewis : Espèce chimique possédant un doublet non liant à même d'être mis en commun.

Composé aromatique : une molécule est dite aromatique s'il satisfait les 4 conditions suivantes : 1) il s'agit d'un cycle comportant un système π conjugué 2) chaque atome du cycle comporte une orbitale p 3) les orbitales p se recouvrent et le cycle est plan 4) la délocalisation des électrons π diminue l'énergie de la molécule (la stabilise).

Biodisponibilité : Proportion d'un médicament qui atteint la circulation générale sans subir de modifications.

Bioisostère : Molécules ou groupements différents mais qui montrent une forme et un volume similaire, approximativement la même distribution électronique, des propriétés physiques similaires et un effet biologique similaire.

Coefficient de distribution : Distribution d'une espèce chimique entre un solvant aqueux et organique à différents pH, mesuré principalement à pH physiologique.

Coefficient de partage : Distribution d'une espèce chimique entre un solvant aqueux et organique.

Chromophore : Fragment d'une molécule responsable de la luminescence.

Conditions réactionnelles « douces » : Terme employé lorsqu'une réaction chimique est opérée en utilisant un acide ou une base faible, à faible concentration, à température ambiante ou basse température ou lorsqu'un catalyseur est utilisé.

Descripteur QSAR : Paramètres physico-chimiques, topologiques ou géométriques utilisés en approche QSAR pour déterminer l'activité biologique d'une molécule.

Effet bathochrome : Modification des propriétés spectrales d'une molécule vers des valeurs plus élevées.

Effet hypsochrome : Modification des propriétés spectrales d'une molécule vers des valeurs plus basses.

Effet NOE : Interaction dipolaire entre deux spins voisins à travers l'espace, limité aux noyaux distants au maximum de 5 Å.

Électrophile : Composé chimique déficient en électrons, capable d'accepter un doublet électronique.

Fluorescence : Mécanisme radiatif de désexcitation moléculaire se traduisant par l'émission d'un photon.

Fluorescence par AIE(E) : Fluorescence induite par l'agrégation d'une molécule 1) fluorescente 2) possédant des groupements latéraux en libre rotation en solution permettant une désexcitation non radiative 3) possédant des groupements latéraux empêchant la formation de liaison π - π .

Fluorescence par ESIPT : Fluorescence d'une molécule présentant deux états tautomères fluorescents.

Fluorescence par ICT : Fluorescence d'une molécule présentant un fragment donneur, un centre aromatique et un fragment accepteur (régulièrement abrégé en Donneur- π -Accepteur).

Fluorescence par TICT : Fluorescence d'une molécule présentant un fragment donneur et un fragment accepteur reliés par une liaison simple dont la fluorescence dépend de l'arrangement spatial des groupements.

Fluorophore : Molécule capable d'émettre de la fluorescence.

Groupements protecteurs orthogonaux : Groupements protecteurs dont la déprotection de l'un ne déprotège pas l'autre.

Hétérocycle : Molécule cyclique comprenant au moins un hétéroatome.

Intermédiaire réactionnel : Espèce chimique non isolable participant à un mécanisme réactionnel.

Isostère : Composés ou groupements présentant le même nombre d'atomes et d'électrons.

Luminescence : Propriété d'une molécule d'émettre de la lumière.

Luminophore : Molécule capable d'émettre de la lumière.

Nucléophile : Espèce chimique riche en électrons, capable de partager des électrons ou un doublet non liant.

Oxydation : Réaction chimique résultant pour un atome en une perte d'électrons (et une augmentation de son degré d'oxydation).

Paramagnétique : Atome, molécule ou matériau non aimanté, mais qui sous l'influence d'un champ magnétique montre une aimantation orientée vers ce dernier.

Perméabilité : Propriété d'une molécule à pouvoir passer une barrière biologique, principalement employé pour les bicouches lipidiques composant les cellules.

Pharmacocinétique : Étude du devenir d'un médicament dans l'organisme en fonction du temps par étude des paramètres ADME.

Pharmacodynamie : Étude de l'effet d'un médicament sur l'organisme.

Pharmacovigilance : Étude, surveillance, évaluation, prévention et gestion du risque d'effets indésirables inhérents à l'utilisation de médicaments.

Phosphorescence : Mécanisme radiatif de désexcitation moléculaire par l'émission d'un photon issu du retour à l'état initial d'un état excité triplet avec un temps de vie important. L'émission est donc décalée dans le temps par rapport à l'excitation de la molécule.

Potentiel électrostatique : Énergie potentielle d'une charge électrique située dans un potentiel électrique.

Protection et déprotection : Introduction et élimination de groupements sur des fonctions chimiques susceptibles de réagir de manière non désirée aux réactifs employés dans une méthodologie de synthèse.

Rayon de covalence : Paramètre correspondant à la moitié de la distance entre deux mêmes atomes liés par une liaison covalente.

Rayon de Van der Waals : Rayon d'une sphère théorique symbolisant un atome.

Réduction : Réaction chimique résultant pour un atome en un gain d'électrons (et une baisse de son degré d'oxydation).

Réfractivité molaire : Paramètre stérique qui rend compte du volume occupé par un atome ou un groupe d'atomes.

Scintigraphie : Méthode d'imagerie basée sur l'emploi de radiotraceurs émettant un rayonnement X.

Sphère de solvation : Organisation des molécules de solvant autour de l'espèce en solution, peut être constituée de plusieurs couches.

Solvatochromisme : Propriété d'un chromophore permettant un déplacement de son maximum d'absorption et / ou d'émission en fonction de la polarité du solvant.

Stéréoisomère : Isomères ayant la même formule semi-développée mais une formule spatiale différente.

Stéréosélectif : Réaction chimique conduisant préférentiellement à la formation d'un stéréoisomère en particulier.

Stéréospécifique : Réaction chimique dont la stéréoisométrie finale dépend de la stéréoisométrie initiale.

Surface polaire : Paramètre physico-chimique correspondant à la somme de la surface des atomes polaires d'une molécule.

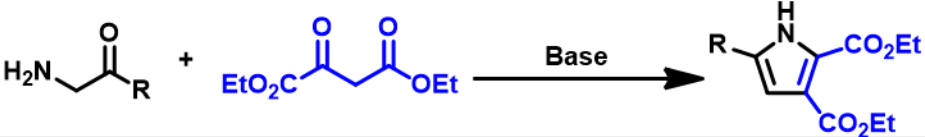
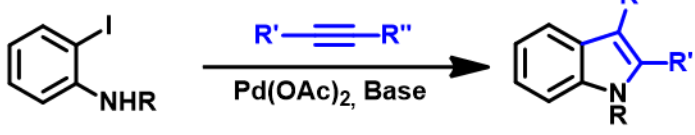
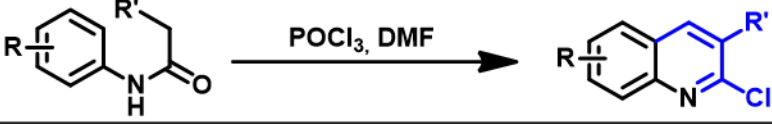

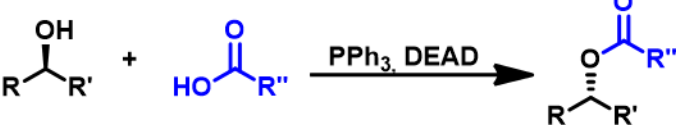
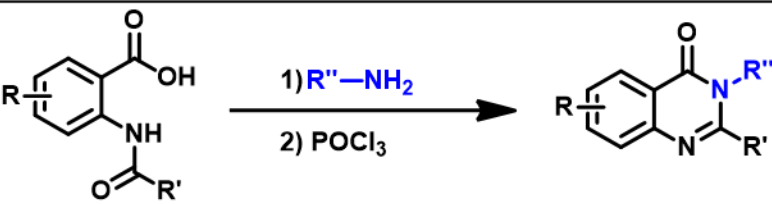
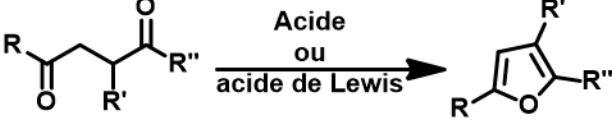
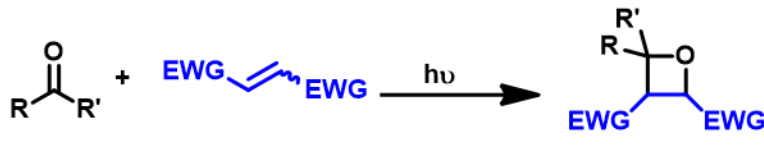
Tomographie par émission de positons : Méthode d'imagerie basée sur l'emploi de radiotraceurs β^+ , permettant la reconstruction d'images tridimensionnelles après capture de rayons γ .

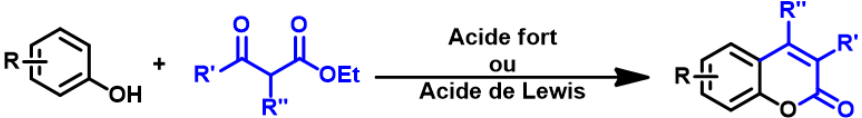
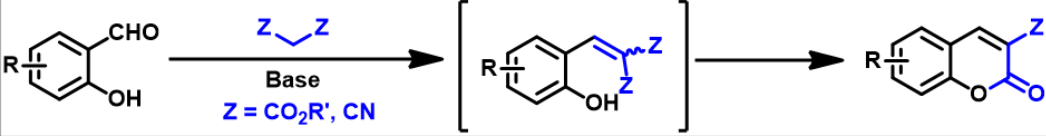
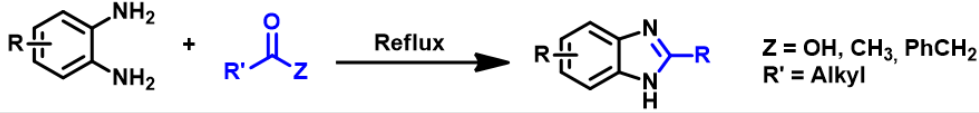
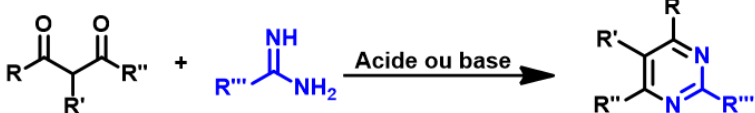
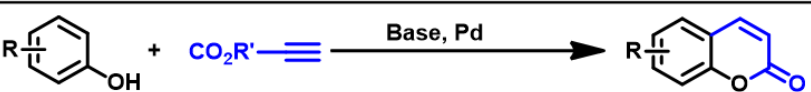
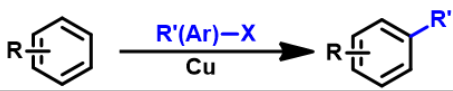
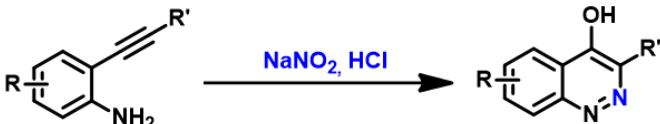
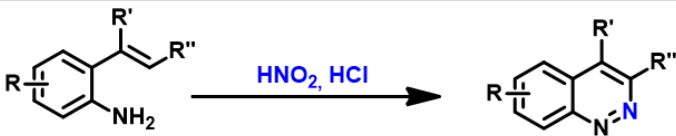
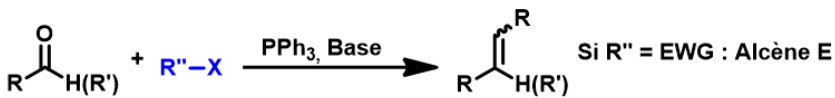
Turn-on : Propriété d'un fluorophore permettant une augmentation de l'intensité de la fluorescence sous certaines conditions.

Annexes

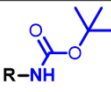
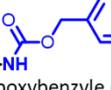
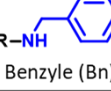
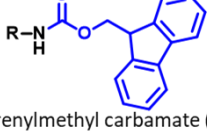
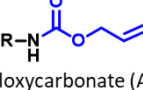
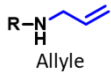
Nom de la réaction	Réaction chimique
Buchwald-hartwig	$\text{Ar-X} + \text{Y-R} \xrightarrow{[\text{Pd}], \text{Base}} \text{Ar-Y-R}$ <p>X = Halogène Y = NH₂, NHR', OH</p>
Bartoli (synthèse de)	
Biginelli	
Bischler	
Bohlmann-Rahtz (synthèse de)	
Borsche-Koelsch (synthèse de)	
Castro (synthèse de)	
Combes (Synthèse de)	
Conrad-Limpach (synthèse de)	
Darzens	
Fiesselmann	
Feist-Benary	<p>X = Halogène</p>

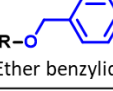




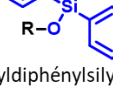
Nom de la réaction	Réaction chimique
Fischer (synthèse de)	
Friedel-Crafts	
Friedländer (pyridine)	
Friedländer (quinoline)	
Gewald (synthèse de)	
Gould-Jacob (synthèse de)	
Graebe-Ullmann	
Grignard	
Guareschi (synthèse de)	
Hantzsch (pyridine)	
Hantzsch (pyrrole)	


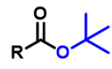
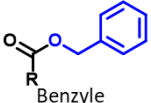
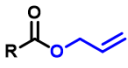
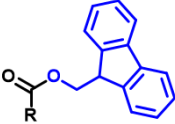
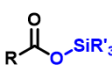
Nom de la réaction	Réaction chimique
Heck	$\text{R}-\text{CH}=\text{CH}_2 + \text{R}'-\text{X} \xrightarrow[\text{Pd ou Ni}]{\text{Base}} \text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}' \quad \text{X} = \text{Halogène}$
Hiyama	$\text{R}-\text{SiR}_3 + \text{R}'-\text{X} \xrightarrow[\text{Pd}]{\text{Base}} \text{R}-\text{R}' \quad \text{X} = \text{Halogène}$
Knorr (pyrrole)	
Larock (synthèse de)	
Meth-Cohn (synthèse de)	
Michael (addition de)	
Mitsunobu	
Negishi	$\text{R}-\text{ZnX} + \text{R}'-\text{X} \xrightarrow[\text{Pd ou Ni}]{} \text{R}-\text{R}' \quad \text{X} = \text{Halogène}$
Niementowski	
Paal-Knorr (furane)	
Paternò-Büchi	


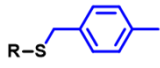
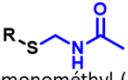
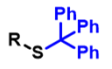

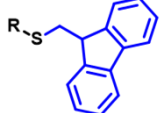
Nom de la réaction	Réaction chimique
Pechmann (synthèse de)	
Perkin (condensation de)	
Phillips-Ladenburg (synthèse de)	
Pinner	
Stille	$R-SnR_3 + R'-X \xrightarrow{\text{Base, Pd}} R-R'$
Suzuki-Miyaura	$R-B(OH)_2 + R'-X \xrightarrow{\text{Base, Pd}} R-R'$
Trost (synthèse de)	
Ullmann	
von-Richter (synthèse de)	
Widman-Stoermer (synthèse de)	
Wittig	














Annexe 2 : Groupements protecteurs fréquemment utilisés

Groupement protégé	Groupement protecteur	Protection	Déprotection	Groupements orthogonaux
R-NH ₂ Amine	 tert-butoxycarbonyl (Boc)	- Boc ₂ O, DMAP, ACN - Boc ₂ O, DIEA, DCM - Boc ₂ O, NaHMDS, THF	- HCl 4N Dioxane - TFA, DCM - ZnBr, DCM	- Fmoc - CBz - Trityle - Alloc
	 Carboxybenzyle (Cbz)	- Cbz-Cl, Dioxane, AcOH - CBZ ₂ O, Dioxane, H ₂ O - Cbz-Cl, Na ₂ CO ₃ , H ₂ O	- 2-mercaptoéthanol, K ₃ PO ₄ , DMA - H ₂ , Pd/C, NH ₃ - BBr ₃ , DCM - KOH, MeOH	- Boc - Fmoc - Trityle
	 Benzyle (Bn)	- Bn-Br, K ₂ CO ₃ , DMF ou ACN - Benzaldéhyde, NaBH ₃ HCl, MeOH	- H ₂ Pd/C, EtOH, EtOAc - KBr, Oxone, MeNO ₂ - TFA, DCM	- Boc - Fmoc - Trityle - Alloc
	 9-Fluorenylmethyl carbamate (Fmoc)	- Fmoc-Cl, NaHCO ₃ , Dioxane - Fmoc-OSu, NaHCO ₃ , Dioxane	- Piperidine	- Boc - CBz - Trityle - Alloc
	 Allyloxycarbonate (Alloc)	- Alloc-Cl, Pyridine - Alloc ₂ O, DCM	- Pd(PPh ₃) ₄ , DABCO	- Boc - Fmoc - Trityle
	 Allyle	- Allyl-Br, NaOH	- Pd(PPh ₃) ₄ , - DDQ, DCM	- Boc - Fmoc - CBz

Groupement protégé	Groupement protecteur	Protection	Déprotection	Groupements orthogonaux
R-OH Alcool	 Ether benzylique	- Cbn-Cl, KH, THF	- H ₂ , PtO ₂ - Li, NH ₃	- Boc, Fmoc, Ethers silylés, CBz, Bn, tBu
	- Ether d'allyle - Ether d'alloc - Ether de MOM - Ether de PMB - Ether de THP	- Alloc ₂ O, DCM - Allyl-Br, NaOH - MOM-Cl, DIPEA, Toluène - PMB-Cl, KH, THF - THP, TsOH (Cat.)	Ether d'alkyle : BF ₃ .Et ₂ O ou BCl ₃ Alloc : Pd(PPh ₃) ₄ MOM : TFA, DCM PMB : DDQ ou CAN THP : LiCl, H ₂ O, DMSO Sélectifluor, ACN/H ₂ O	Allyle : Boc, Fmoc, CBz Alloc : Boc, Fmoc, Trityle MOM : Fmoc, TBDPS PMB : Fmoc, Alloc, Allyle THP : Fmoc, Alloc, Allyle
	 Trityle	- Trt-Cl, NaOH - Trt-Cl, Pyridine, DMAP	- TFA, DCM - HCl	- Fmoc - Alloc
	 Triméthylsilyle (TMS)	- R' ₃ Si-Cl, Imidazole, DMF - R' ₃ SiOTf, Lutidine, DCM	- TBAF - Pyridine, HF - Et ₃ N.HF - H ₄ NF	- Fmoc, Boc, MOM, CBz, Bn
	 Triéthylsilyle (TES)			
	 tert-butyldiméthylsilyle (TBDMS)			
 tert-butyldiphénylsilyle (TBDPS)				
			Stabilité acide et basique : TMS < TES < TBDMS < TBDPS	

Groupement protégé	Groupement protecteur	Protection	Déprotection	Groupements orthogonaux
 Acide carboxylique	 tert-Butyle	<ul style="list-style-type: none"> - t-BuOH, H₂SO₄, - t-BuOH, DCC, DMAP, DCM 	<ul style="list-style-type: none"> - KOH, THF - H₃PO₄, Toluène - NaH, DMF - NaI, CeCl₃·7H₂O, ACN, Reflux 	<ul style="list-style-type: none"> - Fmoc - CBz - Alloc - Ethers - Allyle - Trityle - Silylés
	 Benzyle	<ul style="list-style-type: none"> - Bn-Cl, DCM 	<ul style="list-style-type: none"> - KOH, KCN, Reflux 	<ul style="list-style-type: none"> - Boc - Trityle - Alloc - Allyle
	 Allyle	<ul style="list-style-type: none"> - Allyl-Br, Aliquat 336, NaHCO₃, DCM 	<ul style="list-style-type: none"> - Ac. Formique, Pd(OAc)₂, PPh₃ - Pd(PPh₃)₄, PPh₃, DCM 	<ul style="list-style-type: none"> - Fmoc - Boc - Silylés - Ethers
	 9-Fluorenylmethyl	<ul style="list-style-type: none"> - 9-fluorenylmethanol, DMAP, DCM 	<ul style="list-style-type: none"> - Piperidine, DCM 	<ul style="list-style-type: none"> - Boc - Allyl - Alloc - Ethers - CBz - Bn - Silylés
	 Esters silylés	<ul style="list-style-type: none"> - R'₃Si-Cl, Imidazole, DMF - R'₃Si-Cl, Pyridine - R'₃SiOTf, Lutidine, DCM 	<ul style="list-style-type: none"> - HF, ACN - TBAF, THF - AcOH, THF, H₂O - K₂CO₃, MeOH, H₂O 	<ul style="list-style-type: none"> - Fmoc - MOM - Bn - Alloc - Boc - CBz - Allyle - Ethers

Groupement protégé	Groupement protecteur	Protection	Déprotection	Groupements orthogonaux
 Thiol	 P-methylbenzyl (Meb)	<ul style="list-style-type: none"> - Meb-Br, NaOH 	<ul style="list-style-type: none"> - HF, MeSiCl₃ - HF, Anisole - DMSO/TFA 	<ul style="list-style-type: none"> - Boc - Fmoc - Trt - Alloc
	 Acétamonométhyl (Acm)	<ul style="list-style-type: none"> - Acm-OH, HCl - Acm-OH, TFA 	<ul style="list-style-type: none"> - Hg(OAc)₂, pH = 4 - ClSCO₂Me, MeOH - TFA, TIPS 	<ul style="list-style-type: none"> - Boc - Fmoc - Alloc - Fm
	 Trityle (Trt)	<ul style="list-style-type: none"> - Trt-Cl, NaOH - Trt-Cl, Pyridine, DMAP 	<ul style="list-style-type: none"> - TFA, DCM - HCl 	<ul style="list-style-type: none"> - Fmoc
	 Tert-Butyle (t-Bu)	<ul style="list-style-type: none"> - t-BuOH, HCl, Reflux 	<ul style="list-style-type: none"> - Hg(OAc)₂, TFA, Anisole - HF - DMSO, TFA 	<ul style="list-style-type: none"> - Fmoc - Alloc - Allyle
	 9-fluorenylméthyle (Fm)	<ul style="list-style-type: none"> - 9-fluorenylméthanol, DMAP, DCM 	<ul style="list-style-type: none"> - NH₃, MeOH - Pipéridine, DMF 	<ul style="list-style-type: none"> - Trt - Allyl - Boc - Alloc

Groupement protégé	Groupement protecteur	Protection	Déprotection	Groupements orthogonaux
 Dérivé carbonyle	 Diméthyl acétal	- MeOH, HCl (dry)	- Acétone, PTSA - TFA, Chloroforme, H ₂ O - Acétone, PPTS, H ₂ O, Reflux - HCl 1N, THF	- Fmoc - Alloc - Ethers d'alkyle - Ethers silylés - CBz - Bn - THP - Fm
	 1,3-Dioxolane	HO-CH ₂ -CH ₂ -OH, Toluène, PTSA		
	 1,3-Dioxane	HO-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -OH, Toluène, PTSA		
	 2,2-Diméthyl-1,3-Dioxane	 , Toluène, PTSA		
	 1,3-Dithiolane	HS-CH ₂ -CH ₂ -SH, BF ₃ ·OEt ₂ , DCM, -20°C	- Hg(ClO) ₄ , MeOH, Chloroforme - NBS, Acétone, 0°C - I ₂ , DMSO - DDQ ACN, H ₂ O	
	 1,3-Dithiane	 , BF ₃ ·OEt ₂ , DCM		
	 2-(triméthylsilyl)propane-1,3-diol	 , Toluène, PTSA	- LiBF ₄	
	 3-(phenylsulfonyl)propane-1,2-diol	 , PTSA	- DBU, DCM	

Annexe 3 : Fragments cycliques les plus fréquents dans les molécules approuvées par la FDA

1) f = 727	2) f = 86	3) f = 76	4) f = 65	5) f = 47	6) f = 39	7) f = 39	8) f = 36	9) f = 33	10) f = 33
11) f = 32	12) f = 31	13) f = 30	14) f = 30	15) f = 28	16) f = 23	17) f = 22	18) f = 20	19) f = 20	20) f = 19
21) f = 19	22) f = 18	23) f = 17	24) f = 16	25) f = 15	26) f = 15	27) f = 14	28) f = 14	29) f = 13	30) f = 12
31) f = 12	32) f = 11	33) f = 10	34) f = 10	35) f = 9	36) f = 9	37) f = 9	38) f = 9	39) f = 8	40) f = 8
41) f = 8	42) f = 8	43) f = 8	44) f = 8	45) f = 7	46) f = 7	47) f = 7	48) f = 7	49) f = 7	50) f = 6
51) f = 6	52) f = 6	53) f = 5	54) f = 5	55) f = 5	56) f = 5	57) f = 5	58) f = 5	59) f = 5	60) f = 5
61) f = 5	62) f = 5	63) f = 5	64) f = 5	65) f = 4	66) f = 4	67) f = 4	68) f = 4	69) f = 4	70) f = 4
71) f = 4	72) f = 4	73) f = 4	74) f = 4	75) f = 4	76) f = 4	77) f = 4	78) f = 3	79) f = 3	80) f = 3
81) f = 3	82) f = 3	83) f = 3	84) f = 3	85) f = 3	86) f = 3	87) f = 3	88) f = 3	89) f = 3	90) f = 3
91) f = 3	92) f = 3	93) f = 3	94) f = 3	95) f = 3	96) f = 3	97) f = 3	98) f = 3	99) f = 3	100) f = 3

Liste des 100 fragments cycliques les plus fréquentes dans les molécules approuvées par la FDA, adaptée de Taylor et al. Les cases contenant les fragments sont colorées en bleu si ce sont des hétérocycles contenant au moins un atome d'azote, en rouge au moins un atome d'oxygène et en jaune au moins un atome de soufre. f est la fréquence des cycles dans le corpus

RESUME DE LA THESE EN FRANCAIS :

Les molécules utilisées à des fins d'imagerie médicale font partie intégrante de l'arsenal thérapeutique aujourd'hui disponible et sont proposées au cours du parcours de soin d'un patient. Que ce soit dans un contexte clinique, par administration chez un patient, ou dans un contexte *in vitro*, pour l'analyse d'un tissu biologique quelconque, ces molécules sont utilisées pour la mise en évidence de phénomènes physiologiques et / ou pathologiques.

Elles peuvent à la fois être de petites molécules organiques ou des molécules plus complexes comme des anticorps mais dans les deux cas possèdent la caractéristique d'émettre un signal permettant leur détection une fois liées à leur cible biologique. En fonction du type d'examen souhaité : *in vivo* ou *in vitro*, le développement de la molécule demandera une attention particulière au regard des nombreux prérequis nécessaires à son utilisation en tant que médicament ou outil thérapeutique.

La recherche et le développement de médicaments et par conséquent d'outils diagnostics se fait par le prisme de la chimie médicinale. Il s'agit d'un domaine de recherche interdisciplinaire mêlant à la fois la chimie organique, la radiochimie, la chimie analytique, la physique, la biologie et la biochimie. Cette grande diversité dans les compétences mobilisées s'explique par le fait que schématiquement, la recherche et le développement d'un médicament consistent à amener une molécule de la paillasse au chevet du patient, tout en ayant été capable de lui donner un intérêt biologique et thérapeutique et en s'assurant que son administration ne présenterait aucun risque pour le patient.

L'élaboration de nouveaux outils d'imagerie permet le diagnostic précis de maladies à des stades moins avancés. Cette précision diagnostique est importante dans le contexte actuel de diagnostic personnalisé qui permet une prise en charge des patients de plus grande qualité, et un stade plus précoce de leur maladie.

Ce travail se propose de faire un état des lieux des stratégies de synthèse et méthodes de criblage employées dans la recherche et le développement de nouveaux outils d'imagerie.

TITRE DE LA THESE EN ANGLAIS :

The use of medicinal chemistry in the development of new medical imaging tools

RESUME DE LA THESE EN ANGLAIS :

Nowadays, utilisation of molecules with imaging purposes (MIP) is fully integrated in patient's therapeutic journey. Whether they are used in the hospital when given to a patient or *in vitro* on a biological sample, these molecules aim to highlight physiological or pathological phenomena.

MIP can either be small or complex organic molecules *e.g.* functionalised antibodies, that have the ability to emit a detectable signal once bound to their biological targets. Depending on their purposes, *i.e.* *in vivo* or *in vitro* utilisation, MIP development will require the fulfilment of specific prerequisites for their use.

Classically, the research and development (R&D) of a new therapeutic drug (and therefore a new MIP) is achieved through the prism of the medicinal chemistry, an interdisciplinary research field at the interface between organic chemistry, radiochemistry, analytical chemistry, physics, biology and biochemistry. This wide diversity of knowledge and skills involved can be explained by the fact that the R&D of a new therapeutic drug is the result of an extensive work "from bench to bedside", that starts with the optimisation of a new molecule that will be granted a biological and therapeutic function, whilst ensuring it does not show any deleterious side effects for the patient.

The development of new MIP aims to increase the sensitivity and specificity of the commonly used whilst increasing the quality of the signal and/or allow the detection of earlier stages of a disease. This last is particularly important with the emergence of the personalised diagnosis that allows for both a better and a faster patient care and an earlier diagnosis of patient's disease.

This work aims to summarise the state-of-art's synthesis and screening strategies used in the R&D of new MIP.

PROPOSITION DE MOTS-CLES :

Chimie médicinale, Bioisostères, Chimie hétérocyclique, ADMET, Conception rationnelle, Radiotraceurs, Traceurs luminescents, Criblage