UNIVERSITE DE NANTES U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

SYNTHESE ET EVALUATION BIOLOGIQUE D'IMIDAZO[1,2-*a*]PYRIDINES ET D'IMIDAZO[1,2-*a*]PYRAZINES SUBSTITUEES

THESE DE DOCTORAT

Ecole doctorale : Biologie Santé Mention : Sciences de la Vie et de la Santé Discipline : Pharmacie Spécialité : Chimie Thérapeutique

Présentée

Et soutenue publiquement par

Sophie MARHADOUR

Le 25 octobre 2012, devant le jury ci-dessous

Rapporteurs	M. JOSEPH Benoît, Professeur, Université de Lyon 1
	M. DALLEMAGNE Patrick, Professeur, Université de Caen
Examinateurs	M. SUZENET Franck, Maître de Conférences, Université d'Orléans
	M. LE PAPE Patrice, Professeur, Université de Nantes
Co-encadrant	M. PAGNIEZ Fabrice, Maître de Conférences, Université de Nantes
Directeur de thèse	M. MARCHAND Pascal, Maître de Conférences, Université de Nantes

Sommaire

I-Introduction générale 1
1-Les protéines kinases humaines 1
1.1-Généralités1
1.2-La classification des protéines kinases2
1.2.1-Les Tyrosine kinases (TK)
1.2.1.1-Les tyrosine kinases cytosoliques
1.2.1.2-Les tyrosine kinases membranaires4
1.2.2-Les Sérine/Thréonine kinases (S/TK)6
1.2.2.1-Les S/TK dépendantes des nucléotides cycliques (Protéine Kinase A ou PKA) 6
1.2.2.2-Les protéines kinases C (PKC)
1.2.2.3-Les S/TK dépendantes du couple Ca ²⁺ /Calmoduline7
1.2.2.4-Les kinases cyclines-dépendantes (CDKs)
1.2.2.5-Les MAP Kinases (Mitogen-Activated Protein Kinases)
1.2.2.6-La Glycogen Synthase Kinase 3 (GSK3)11
1.2.2.7-La protéine kinase DYRK1A (dual-specificity Tyr-phosphorylation regulated kinase 1A)11
1.2.2.8-La caséine kinase 1 12
1.3-Conclusion
2-Les infections fongiques
2.1-Généralités sur les infections fongiques
2.1.1-Mycoses superficielles / mycoses systémiques13
2.1.2-Les candidoses
2.1.3-Les aspergilloses
2.2-Epidémiologie
2.3-Les facteurs favorisants
2.3.1-Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte
2.3.2-Les facteurs extrinsèques et iatrogènes
2.4-Traitements antifongiques : cibles cellulaires et mécanismes de résistance

2.4.1-Cibles thérapeutiques des antifongiques et traitements associés	
2.4.2-Les principaux phénomènes de résistance	
2.4.3-Les traitements antifongiques	
2.4.3.1-Les inhibiteurs des fonctions de la paroi membranaire	21
2.4.3.2-Les inhibiteurs de la biosynthèse d'ARN	
2.4.3.3-Les inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol	
2.4.3.3.1-Les azolés	
2.4.3.3.2-Les allylamines	
2.4.3.4-Les inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire	
2.5-Priorités pour le développement de nouveaux antifongiques	
3-Les leishmanioses	
3.1-Généralités sur les leishmanioses	
3.2-Manifestations cliniques	
3.2.1-Les leishmanioses cutanées et cutanéo-muqueuses	
3.2.2-Les leishmanioses viscérales	
3.3-Stratégies thérapeutiques	
3.3.1-Les médicaments utilisés en thérapeutique	
3.3.1.1-Les antileishmaniens administrés par voie parentérale	
3.3.1.1.1-Les composés antimoniés	
3.3.1.1.2-La pentamidine	
3.3.1.1.3-L'amphotéricine B et ses formulations lipidiques	
3.3.1.1.4-La paromomycine (Aminosidine)	
3.3.1.2-Les antileishmaniens administrés par voie orale	
3.3.1.2.1-Les azolés	
3.3.1.2.2-Les analogues de la purine	
3.3.1.2.3-Les alkylphosphocholines	
3.4-Pistes étudiées en recherche	
4-Les kinases fongiques et parasitaires	
4.1-Les kinases fongiques	
4.1.1-Les MAP kinases fongiques	

4.1.2-La protéine kinase C fongique (PKC)	
4.2-Les kinases chez Leishmania	49
4.2.1-Les kinases cyclines-dépendantes (CDKs)	50
4.2.2-Les MAP kinases	50
4.2.3-La protéine kinase C (PKC)	51
4.2.4-La caséine kinase 1 (CK1)	
5-Stratégie d'inhibition des protéines kinases	
II-Partie théorique · Anercu hibliographique	57
1-Les imidazo[1.2- <i>a</i>]pyridines	
1 1-Applications en Chimie Thérapeutique des imidazo[1 2-a]pyridines	58
1 1 1 Médicaments de type imidazo[1 2 a]pyridine commercialisés	58
1.1.2 Imidazo[1.2 almenidings communication d'annumes	
1.1.2-Imidazo[1,2-a]pyridines comme inhibiteurs d'enzymes	
1.1.2.1-Inhibition des kinases cyclines-dépendantes (CDKs)	
1.1.2.2-Inhibition de PI3K	
1.1.2.3-Inhibition de GSK3	
1.1.3-Imidazo[1,2-a]pyridines comme ligands	
1.1.3.1-Inhibition de ALK-5	
1.1.3.2-Inhibition de KDR	63
1.1.3.3-Antagonistes des récepteurs mGluR5	64
1.1.3.4-Agonistes/Antagonistes des récepteurs 5-HT	65
1.1.3.5-Ligands pour les récepteurs D ₄	66
1.1.4-Imidazo[1,2-a]pyridines comme agents anti-infectieux	66
1.2-Synthèse et réactivité des dérivés imidazo[1,2-a]pyridiniques	67
1.2.1-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-a]pyridiniques	68
1.2.1.1-Synthèse des dérivés imidazo[1,2- <i>a</i>]pyridiniques à partir des α -halogénocarbonyles	68
1.2.1.2-Synthèse des dérivés imidazo[1,2- <i>a</i>]pyridiniques par réaction multicom	posant 72
1.2.1.3-Cyclisation à partir d'α-diazocétones	76
1.2.1.4-Cyclisation à partir de 2-(1,2-dihydro-2-iminopyridin-1-yl)acétamides	77

1.2.1.5-Cyclisation à partir d'α-bromo-β-cétoesters	78
1.2.2-Réactivité des imidazo[1,2- <i>a</i>]pyridines	80
1.2.2.1-Halogénation et nitration des imidazo[1,2-a]pyridines	80
1.2.2.2-Métallation des imidazo[1,2-a]pyridines	82
1.2.2.3-Hydroxyméthylation des imidazo[1,2-a]pyridines	84
1.2.2.4-Amination des imidazo[1,2- <i>a</i>]pyridines	84
2-Les imidazo[1,2- <i>a</i>]pyrazines	85
2.1-Applications en Chimie Thérapeutique des imidazo[1,2-a]pyrazines	85
2.1.1-Imidazo[1,2- <i>a</i>]pyrazines comme inhibiteurs d'enzymes	85
2.1.1.1-Inhibition de MAPK-APK5	85
2.1.1.2-Inhibition des kinases Aurora	87
2.1.1.3-Inhibition des kinases cyclines-dépendantes (CDKs)	88
2.1.1.4-Inhibition de PI3K	89
2.1.2-Imidazo[1,2- <i>a</i>]pyrazines comme ligands	90
2.1.2.1-Inhibition de la somatostatine	90
2.1.3-Imidazo[1,2-a]pyrazines comme ligands des récepteurs GABA	91
2.1.4-Imidazo[1,2-a]pyrazines comme ligands pour les récepteurs CXCR3	92
2.2-Synthèse et réactivité des dérivés imidazo[1,2-a]pyraziniques	93
2.2.1-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-a]pyraziniques	93
2.2.1.1-Synthèse des dérivés imidazo[1,2- <i>a</i>]pyraziniques à partir des α -halogénocarbonyles	93
2.2.1.2-Synthèse des dérivés imidazo[1,2- <i>a</i>]pyraziniques par réaction multicompo	sant . 95
2.2.1.3-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-a]pyraziniques à partir d'acétals	96
2.2.2-Réactivité des dérivés imidazo[1,2-a]pyrazines	97
2.2.2.1-Halogénation des imidazo[1,2- <i>a</i>]pyrazines	97
2.2.2.4 Métallation des imidazo[1,2- <i>a</i>]pyrazines	99
2.2.2.3-Hydroxyméthylation des imidazo[1,2- <i>a</i>]pyrazines	100
III-Partie théorique : Travaux réalisés	. 101
1-Pharmacomodulations à partir de la 2-phénylimidazo[1,2- a]pyridin-3-amine	101
1.1-Stratégie de synthèse	101

1.2-Synthèse de la 2-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-3-amine)2
1.2.1-Synthèse des 2-halogénoimidazo[1,2-a]pyridines10)2
1.2.2-Nitration de la 2-chloroimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridine10)6
1.2.3-Synthèse de la 2-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridine10)6
1.2.3.1-Couplage de Suzuki10)6
1.2.3.2-Arylation de la 2-chloro-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridine 7)8
1.2.4-Réduction de la 3-nitro-2-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridine11	0
1.2.5-Fonctionnalisation en position 3 de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amine . 11	1
1.2.5.1-Amidification	1
1.2.5.2-Synthèse des N-(Hétéro)aryl-2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amines 11	3
1.2.5.2.1-Couplage de Buchwald / Hartwig11	3
1.2.5.2.2-Couplages réalisés11	5
1.2.5.3-Synthèse des (2-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-3-yl)urées en présence d'isocyanates	6
1.2.6-Voie d'accès annexe aux composés cibles11	17
1.2.7-Conclusion	8
2-Pharmacomodulations à partir de la 3-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine11	9
2.1-Stratégie de synthèse	9
2.2-Synthèse de la 3-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine (Voie A)	21
2.2.1-Tosylation de la 2-aminopyridine12	21
2.2.2-Synthèse du 2-[2-{[(4-méthylphényl)sulfonyl]imino}pyridin-1(2H)-yl]-2 phénylacétamide	2- 21
2.2.3-Synthèse de la 3-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine	24
2.3-Synthèse de la 3-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine (Voie B) 12	24
2.3.1-Synthèse du bromhydrate d'imidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylate d'éthyle 12	25
2.3.2-Arylation en position 3 du noyau imidazo[1,2- <i>a</i>]pyridinique	25
2.3.2.1-Arylation par couplage de Suzuki12	25
2.3.2.2-Arylation directe12	27
2.3.3-Synthèse de l'acide carboxylique12	28

2.3.4-Synthèse de la 3-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine	128
2.3.4.1-Réarrangement de Curtius	128
2.3.4.2-Déprotection de l'amine	130
2.4-Fonctionnalisation en position 2 de la 3-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine	130
2.4.1-Amidification	130
2.4.2-Synthèse des (3-phénylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-yl)urées	131
2.5-Conclusion	134
3-Pharmacomodulations à partir de l'imidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine	135
3.1-Stratégie de synthèse	135
3.2-Synthèse de l'imidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine	136
3.3-Fonctionnalisation en position 2 de l'imidazo[1,2- <i>a</i>]pyridin-2-amine	137
3.4-Conclusion	137
4-Pharmacomodulations en série 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridine	138
4.1-Stratégie de synthèse	138
4.2-Synthèse des 2-arylimidazo[1,2-a]pyridines	139
4.2.1-Synthèse des intermédiaires halogénés et du triflate	139
4.2.2-Arylation par couplage de Suzuki-Miyaura	139
4.3-Synthèse des 2,3-diarylimidazo[1,2- <i>a</i>]pyridines	143
4.3.1-Halogénation puis couplage de Suzuki-Miyaura	143
4.3.2-Arylation directe	146
4.3.2.1-Aperçu bibliographique	146
4.3.2.2-Travaux réalisés	149
4.4-Conclusion	155
5-Pharmacomodulations en série (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urée	156
5.1-Stratégie de synthèse	156
5.2-Synthèse de la 6-bromoimidazo[1,2- <i>a</i>]pyrazine	157
5.2.1-Synthèse de la 5-bromopyrazin-2-amine	157
5.2.2-Synthèse de l'intermédiaire clé, la 6-bromoimidazo[1,2- <i>a</i>]pyrazine	157

5.3-Fonctionnalisation du noyau imidazo[1,2-a]pyrazine, en position 6 par de	es urées 158
5.3.1-Synthèse des urées, par couplage palladocatalysé, à part	ir de la 6-
bromoimidazo[1,2-a]pyrazine	
5.3.2-Synthèse des (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urées via l'imidazo[1	,2-a]pyrazin-6-
amine	
5.4-Conclusion	
IV-Etude et résultats pharmacologiques	
1-Evaluation pharmacologique et discussion	
1.1-Evaluation antifongique	
1.1.1-Principe des tests d'évaluation antifongique	
1.1.1.1-Test in vitro sur des souches de Candida albicans	
1.1.1.2-Test in vitro sur la souche d'Aspergillus fumigatus	
1.1.2-Résultats biologiques et discussion	
1.2-Evaluation antileishmanienne	
1.2.1-Principe des tests d'évaluation antileishmanienne	
1.2.1.1-Activité antileishmanienne in vitro	
1.2.1.1.1-Activité antileishmanienne in vitro sur les promastigotes	
1.2.1.1.2-Activité antileishmanienne in vitro sur les amastigotes	
1.2.1.1.3-Cytotoxicité	
1.2.1.1.4-Activité inhibitrice des kinases	
1.2.1.1.4.1-Inhibition de PKC	
1.2.1.1.4.2-Inhibition de CK1 et <i>Lm</i> CK1	
1.2.1.1.5-Détermination de la lipophilie par RP-CLHP	
1.2.2-Résultats pharmacologiques et discussion	
1.2.2.1-Activité antileishmanienne in vitro sur les promastigotes	
1.2.2.2-Cytotoxicité	
1.2.2.3-Activité antileishmanienne in vitro sur les amastigotes	
1.2.2.4-Détermination de la lipophilie	
1.2.2.5-Activités inhibitrices de kinase	
1.3-Evaluation sur les kinases humaines	

	VI-Conclusion et perspectives de recherches	
	1.3.2-Résultats pharmacologiques et discussion	
1.3.2-Résultats pharmacologiques et discussion186	1.3.1-Principe des tests réalisés sur kinases isolées	

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ALK-5	Activin-like kinase 5
AMP	Adénosine monophosphate
Ar	Aryle
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine triphosphate
(±)BINAP	(±)-2,2'-Bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle
Bn	Benzyle
Boc	Tert-butoxycarbonyle
САМК	Calcium/calmoduline dependent protein kinase
CDK	Cyclin dependent kinase
СК	Caséine kinase
CI ₅₀	Concentration à laquelle on observe 50% d'inhibition
CI ₈₀	Concentration à laquelle on observe 80% d'inhibition
CMGC	CDK, MAPK, GSK, CLK families
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMV	Cytomegalovirus
δ	Déplacement chimique
d	doublet
dd	doublet de doublet
ddd	doublet de doublet
DAG	Diacylglycérol
DIPEA	N,N-Diisopropyléthylamine
DMA	Diméthylacétamide
DME	1,2-Diméthoxyéthane
DMF	<i>N</i> , <i>N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPA	Azoture de diphénylphosphoryle
DYRK1A	Dual specificity tyrosine-phosphorylated and regulated kinase 1A
EGF	Epidermal growth factor
Erk	Extracellular signal-regulated kinase

FGF	Fibroblast growth factor
GABA	Acide γ-aminobutyrique
GS	Glycogen synthase
GSK3	Glycogen synthase kinase 3
GTP	Guanosine triphosphate
HSV	Herpes simplex virus
IPA	Isopropanol
IPP	Inhibiteur de la pompe à protons
KDR	Kinase insert domain containing receptor
LTMP	Lithium 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine
МАРК	Mitogen-activated protein kinase
МАРКК	Mitogen-activated protein kinase kinase
МАРККК	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase
mGluR	Metabotropic glutamate receptor
МО	Micro-ondes
mTOR	mammalian Target of rapamycin
NMP	N-Méthylpyrrolidin-2-one
$Pd_2(dba)_3$	Tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium
PDE 3	Phosphodiestérase 3
PDGF	Platelet-derived growth factor
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PivOH	Acide pivalique
РК	Protéine kinase
РКА	Protéine kinase A
РКС	Protéine kinase C
ppm	Partie par million
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RTK	Récepteurs à activité tyrosine kinase
S	singulet
S/TK	Sérine/Thréonine kinase
t	triplet
ТА	Température ambiante
TFAA	Anhydride trifluoroacétique

TGF	Tumor growth factor
THF	Tétrahydrofurane
ТК	Tyrosine kinase
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VZV	Varicella-zoster virus

I-Introduction générale

Le Laboratoire de Chimie Thérapeutique de la Faculté de Pharmacie de Nantes développe depuis de nombreuses années des méthodes de synthèse en chimie hétérocyclique. Dans ce cadre, la synthèse d'imidazo[1,2-a]azines a été réalisée, en complément du grand nombre de structures de ce type répertorié dans la littérature. L'essentiel de ce travail de thèse s'inscrit dans le développement d'imidazo[1,2-a]pyridines et d'imidazo[1,2-a]pyrazines ainsi que leur évaluation biologique sur les plateformes dont dispose l'équipe IICiMed. Dans cette optique, les molécules seront testées au sein du Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale, dirigé par le Professeur P. Le Pape, où les recherches reposent notamment sur l'implication de certaines protéines kinases dans les pathologies infectieuses (parasitologie et mycologie). L'implication de l'équipe au niveau du Cancéropôle Grand Ouest permet également de bénéficier des plateformes d'évaluation biologique sur kinases.

1-Les protéines kinases humaines

1.1-Généralités

Les protéines kinases (PK) sont un groupe ubiquitaire d'enzymes impliquées dans de nombreux processus cellulaires et qui possèdent une sous-unité catalytique qui transfère le groupement phosphate gamma de l'adénosine triphosphate ATP (ou, plus rarement du guanosine triphosphate GTP) sur un résidu hydroxyle (sérine, thréonine ou tyrosine) d'une protéine substrat. L'activation de ces enzymes devant être transitoire, ce processus de phosphorylation est contrebalancé par l'action des protéines phosphatases.

La phosphorylation des protéines est un mécanisme de régulation qui contrôle pratiquement tous les aspects de la vie cellulaire.¹ Répertoriées en 2002,² il existe 518 protéines kinases différentes chez l'homme et celles-ci peuvent être classées en deux grandes catégories selon le type de résidu qu'elles phosphorylent. Si leur action s'effectue sur un acide aminé phénolique, on parlera de tyrosine kinase (TK) mais si elle s'effectue sur un acide aminé alcoolique non-aromatique, on parlera de sérine/thréonine kinase (STK) (Figure 1).

¹ T. Hunter, *Cell*, **1995**, *80*, 225-236. ² G. Manning *et al.*, *Sciences*, **2002**, 298, 1912-1934.



Figure 1 : Site d'action des protéines kinases

1.2-La classification des protéines kinases

L'étude du génome humain a conduit à l'identification de 518 gènes de protéines kinases dont 40 sont atypiques qui correspondent à environ 2% des gènes (Figure 2).² Les 478 kinases conventionnelles incluent 388 sérine/thréonine kinases et 90 tyrosine kinases regroupées en 7 familles principales. TK : *Tyrosine kinase*, TKL : *Tyrosine kinase-like*, STE : *Homologs of yeast Sterile 7, Sterile 11, Sterile 20 kinases*, CK1 : *Casein kinase 1*, AGC : *Containing PKA, PKG, PKC families*, CAMK : *Calcium/calmodulin-dependent protein kinase*, CMGC : *CDK, MAPK, GSK, CLK families*.



Figure 2 : Le kinôme humain³

1.2.1-Les Tyrosine kinases (TK)

Les tyrosine kinases sont des protéines qui phosphorylent leur substrat au niveau du groupement hydroxyle d'un résidu tyrosine. Elles sont divisées en deux groupes : les tyrosine kinases cytosoliques et les tyrosine kinases membranaires (Figure 3).

³ www.cellsignal.com



Figure 3 : Les Tyrosines Kinases³

1.2.1.1-Les tyrosine kinases cytosoliques

Les tyrosine kinases cytosoliques sont localisées au niveau du cytoplasme ou à la surface interne de la membrane plasmique. Elles sont classées en différentes familles⁴ et sont impliquées dans divers processus cellulaires tels que la différenciation, la division cellulaire, la synthèse d'ADN, la migration cellulaire, l'activation lymphocytaire. C'est pourquoi leur dérèglement (surexpression par exemple) peut conduire à des maladies prolifératives telles que des cancers⁵ ou des maladies auto-immunes.⁶

1.2.1.2-Les tyrosine kinases membranaires

Les tyrosine kinases membranaires ou récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK) sont localisés au niveau de la membrane plasmique des cellules et possèdent une activité tyrosine kinase intrinsèque. Ils sont composés de trois domaines :

- un domaine extracellulaire, généralement glycosylé, avec un domaine de liaison du ligand,

- un domaine transmembranaire (une simple hélice),
- un domaine cytosolique porteur de l'activité kinase intrinsèque.

⁴ S. R. Hubbard et al., Annu. Rev. Biochem., 2000, 69, 373-398.

⁵ M. K. Paul et al., Int. J. Med. Sci., **2004**, 1, 101-115.

⁶ D. S. Lawrence et al., Pharmacol. Ther., **1998**, 77, 81-114.

A l'exception des récepteurs de la famille de l'insuline, l'ensemble des récepteurs (EGF = Epidermal Growth factor; PDGF = Platelet Derived Growth Factor; VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor; FGF = Fibroblaste Growth Factor...) sont des monomères dans la membrane. Le ligand induit la dimérisation du récepteur conduisant à un changement de conformation qui entraîne une autophosphorylation de tyrosines du domaine cytosolique. Les principales familles de RTK et leurs implications sont résumées dans le tableau 1.

Famille de récepteurs	Récepteurs	Implications dans les voies de signalisation
EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)	ErbB2, ErbB3, ErbB4	Croissance cellulaire
PDGFR (Platelet Derived Growth Factor Receptor)	PDGFRa, PDGFRb, CSF-1, Flk2/Flt3, c- kit/SCFR	Croissance et différenciation cellulaire, régulation vasculaire et régulation des cytokines
Récepteur à l'insuline	InsR, IGF-1	Différenciation cellulaire et métabolisme
VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor)	VEGFR1, VEGFR2, VEGFR 3	Régulation de l'angiogenèse
FGFR (Fibroblast Growth Factor Receptor)	FGFR2, FGFR3, FGFR4,	Croissance et différenciation cellulaire

Tableau 1 : Les principaux récepteurs à activité tyrosine kinase

Actuellement, plusieurs inhibiteurs de RTK sont commercialisés ou en cours d'étude clinique (Figure 4). Parmi ceux-ci, on peut citer le sunitinib (Sutent[®]), inhibiteur du récepteur à activité tyrosine kinase VEGFR, développé par les laboratoires Pfizer et indiqué dans le traitement de cancer du rein et de tumeur stromale gastro-intestinale. On peut également mentionner l'erlotinib (Tarceva[®], Roche) et le gefitinib (Iressa[®], AstraZeneca) qui sont des

inhibiteurs d'EGFR, tout deux indiqués dans le traitement de cancer bronchique non à petites cellules (Figure 4).



Figure 4 : Exemples d'inhibiteurs de RTK

1.2.2-Les Sérine/Thréonine kinases (S/TK)

Comme leur nom l'indique, les sérine/thréonine kinases phosphorylent le groupement hydroxyle d'une sérine ou d'une thréonine de leur substrat.

1.2.2.1-Les S/TK dépendantes des nucléotides cycliques (Protéine Kinase A ou PKA)

La protéine kinase A (PKA) est une kinase principalement cytosolique. Lorsqu'elle est inactive, elle se présente sous la forme d'un tétramère constitué de 2 sous-unités régulatrices (R) et de 2 sous-unités catalytiques (C). La liaison d'une molécule d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) au niveau de R va entraîner la dissociation du tétramère et ainsi libérer les sous-unités catalytiques.⁷ Elle est impliquée dans les fonctions de régulation du métabolisme comme celui du glycogène, des lipides et des glucides.

⁷ D. A. Johnson *et al.*, *Chem. Rev.*, **2001**, *101*, 2243-2270.

1.2.2.2-Les protéines kinases C (PKC)

Il existe 11 isoformes de PKC qui peuvent être réparties en 3 groupes en fonction de leurs cofacteurs et de leurs structures :⁸

- Les PKC classiques : α , β , γ qui sont activées par le diacylglycérol (DAG), la phosphatidylsérine et Ca²⁺,

- Les PKC nouvelles : δ , ϵ , η , σ qui sont activées par le DAG et la phosphatidylsérine mais qui ne sont pas calcium-dépendantes,

- Les PKC atypiques : ξ , μ , ι/λ , qui ont pour cofacteurs des céramides et le phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP3).

Les PKC sont présentes dans tous les tissus, toutefois, les isoformes ont des localisations précises. Elles sont impliquées dans différents processus cellulaires notamment la prolifération cellulaire, l'apoptose, la phosphorylation de protéines neuronales.⁹

1.2.2.3-Les S/TK dépendantes du couple Ca²⁺/Calmoduline

Les kinases Ca²⁺/Calmoduline dépendantes (CAMK) sont activées par la calmoduline liée au calcium. Elles sont présentes dans toutes les cellules dont l'activité est liée au calcium et particulièrement au niveau des muscles striés. On peut citer :

- les kinases à chaîne légère de myosine (MLCK) jouant un rôle important dans la contraction des muscles lisses,¹⁰

- la kinase Ca²⁺/Calmoduline dépendante II (CAMKII) régulant de nombreuses fonctions cellulaires comme la synthèse de neurotransmetteurs, la division cellulaire, la contraction du muscle cardiaque,¹¹ la transmission synaptique¹² ou la régulation des canaux ioniques,

- les kinases associées à l'apoptose (DAPK), enzymes impliquées dans la régulation de l'apoptose.

⁸ Y. Nishizuka, *FASEB J.*, **1995**, *9*, 484-496.

⁹ A. C. Newton, J. Biol. Chem., **1995**, 270, 28495-28498.

¹⁰ P. J. Gallagher et al., J. Muscle. Res. Cell Motil., **1997**, 18, 1-16.

¹¹ A. Hudmon *et al.*, *Annu. Rev. Biochem.*, **2002**, *71*, 473-510.

¹² R. J. Colbra *et al.*, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **2004**, *14*, 318-327.

1.2.2.4-Les kinases cyclines-dépendantes (CDKs)

Les CDKs, afin d'être activées, doivent s'associer avec une protéine régulatrice : la cycline. On dénombre actuellement 20 CDKs chez l'homme.¹³ Les CDKs peuvent s'associer à différentes cyclines et une même cycline peut s'associer à différentes CDKs (Tableau 2).

Il est à noter que CDK5 a longtemps été considérée comme une kinase atypique en ce sens qu'elle n'est pas associée à une cycline mais à p35 ou à son homologue p39 (qui ne présentent aucune homologie significative avec les cyclines) conférant ainsi son activité. Toutefois, une étude a récemment démontré que CDK5 pouvait s'associer avec la cycline I, ce complexe intervenant dans la survie des cellules post-mitotiques.¹⁴

Les CDKs interviennent dans la régulation du cycle cellulaire et les fonctions neuronales.

CDKs	Cyclines associées	Processus cellulaires
CDK1	A1, A2, B1, B2, (B3), D, E	Cycle cellulaire : mitose (phase S)
CDK2	A1, A2, B1, B3, D, E1, E2	Cycle cellulaire : phases S, G2, méiose
CDK3	A1, A2, E1, E2, C	Cycle cellulaire : G1/S
CDK4	D1, D2, D3	Cycle cellulaire : G1
CDK5	p35, p39, I	Fonctions neuronales, survie des cellules post- mitotiques
CDK6	D1, D2, D3	Cycle cellulaire : G1, transcription
CDK7	Н	Kinase activatrice des CDKs
CDK8	C, (K)	Transcription
CDK9	K, T1, T2	Transcription
CDK10		Transcription, cycle cellulaire G2/M
CDK11 (A et B)	D3, L1, L2	Transcription, cycle cellulaire
CDK12	L1, L2	Transcription : épissage de l'ARN
CDK13	L1, L2	Transcription : épissage de l'ARN, développement des cellules sanguines
CDK14	D3, Y	Méiose ? Fonction neuronale ?
CDK15		

 ¹³ M. Malumbres *et al.*, *Nat. Cell. Biol.*, **2009**, *11*, 1275-1276.
 ¹⁴ P. T. Brinkkoetter *et al.*, *Cell Cycle*, **2010**, *9*, 1729-1731.

CDK16	p35	Méiose
CDK17		Fonction neuronale ?
CDK18	К	
CDK19	С	Transcription
CDK20		Cycle cellulaire ?

Tableau 2 : Les différentes CDKs

Les CDKs étant des cibles intéressantes dans de nombreuses pathologies comme le cancer ou par exemple la maladie d'Alzheimer, la recherche d'inhibiteurs de ces kinases est actuellement en plein essor.

1.2.2.5-Les MAP Kinases (Mitogen-Activated Protein Kinases)

Les MAP-kinases sont des kinases qui catalysent la phosphorylation des protéines MAP.¹⁵ Elles peuvent être également désignées par le sigle ERK (Extracellular signal Regulated Kinase). Les voies de signalisation MAP kinases impliquent une série de kinases qui s'activent en cascade (Figure 5) : la MAP-kinase est activée par une MAP-kinase-kinase, elle-même activée par une MAP-kinase-kinase-kinase. La MAPKKK est activée par une autre protéine kinase activée, aussi par phosphorylation, en réponse à diverses sollicitations de la cellule. La MAPK, une fois phosphorylée, est transférée dans le noyau pour activer les différents facteurs de transcription. Ensuite, après que la cellule ait répondu au signal extracellulaire ou qu'elle se soit adaptée à la nouvelle condition, la MAPK est inactivée par une protéine phosphatase dans le noyau. Ainsi les facteurs de transcription activent leur cible dans le noyau.

¹⁵ M. Qi et al., J. Cell Sci., 2005, 118, 3569-3572.



Figure 5 : La cascade de signalisation MAPK¹⁶

Toutes les cellules eucaryotiques possèdent de multiples voies de MAPK, qui régulent l'expression des gènes, la mitose, le métabolisme, la survie, l'apoptose et la différenciation. Six modules de MAP kinases existent :

- Extracellular signal-Regulated Kinases (ERK1/2) : connue, également, sous le nom de MAP kinases classique, cette voie de signalisation régule la prolifération et la différenciation des cellules,

- c-Jun N-terminal Kinases (JNKs) : connue en tant que Stress-Activated Protein Kinases (SAPKs),

- p38 isoforms : cette voie ainsi que la précédente sont sensibles aux stimuli de stress, tels que des cytokines, la chaleur et le choc osmotique. Elles sont impliquées dans la différentiation des cellules et l'apoptose,

- ERK5 : est activée par des facteurs de croissance et par la présence de stress et contribue à la prolifération des cellules,

- ERK3/4 : sont principalement des protéines cytoplasmiques,

- ERK7/8 : membre le plus récent décrit de MAPKs et se comporte comme une MAPK atypique.

¹⁶ E. Roman *et al.*, *Trends*, **2007**, *15*, 181-190.

Ces différentes voies de signalisation vont contrôler de nombreuses fonctions cellulaires¹⁷ parmi lesquelles on peut citer l'embryogenèse, la prolifération cellulaire, la réponse immunitaire,¹⁸ l'apoptose et la réponse au stress.

1.2.2.6-La Glycogen Synthase Kinase 3 (GSK3)

GSK3 est une sérine/thréonine kinase identifiée initialement pour son action régulatrice dans le métabolisme du glycogène. Depuis, son implication dans de nombreuses voies de signalisation a été identifiée notamment dans la régulation de la détermination cellulaire, du métabolisme et du cycle cellulaire. Chez les mammifères, elle existe sous deux isoformes GSK3 α et GSK3 β^{19} et est exprimée au sein de tous les tissus. A ce jour, une quarantaine de protéines ont été identifiées comme substrat de GSK3.

Contrairement aux autres kinases, GSK3 est constitutivement active c'est-à-dire qu'elle ne nécessite pas de phosphorylation activatrice sauf dans le cas où elle phosphoryle la Glycogen Synthase (GS).²⁰

Les principales fonctions de GSK3 sont la régulation de la synthèse du glycogène²¹ et récemment, la GSK3 β s'est imposée en tant que cible thérapeutique prometteuse contre les maladies neurodégénératives.

1.2.2.7-La protéine kinase DYRK1A (dual-specificity Tyr-phosphorylation regulated kinase 1A)

DYRK est une sous-famille hautement conservée de protéines kinases impliquées dans la régulation de la croissance cellulaire et le développement d'eucaryote unicellulaire. Cette sous-famille comprend, chez les mammifères, sept isoformes (DYRK1A, DYRK1B, DYRK1C, DYRK2, DYRK3, DYRK4A et DYRK4B), l'homologue Yak1p chez les levures et la « *Drosophila* kinase minibrain » (MNB), la plus étudiée étant l'isoforme DYRK1A. Ces enzymes catalysent leur autophosphorylation sur un résidu tyrosine de la boucle activatrice mais également sur des résidus sérine ou thréonine de substrats exogènes.²² DYRK1A contrairement aux autres membres de la famille DYRK est exprimée dans le noyau.

¹⁷ G. Pearson *et al.*, *Endocr. Rev.*, **2001**, *22*, 153-183.

¹⁸ C. Dong et al., Annu. Rev. Immunol., 2002, 20, 55-72.

¹⁹ J. R. Woodgett, *EMBO J.*, **1990**, *9*, 2431-2438.

²⁰ D. D. Williams et al., FEBS Lett., **1999**, 448, 86-90.

²¹ H. Eldar-Finkelma et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **1997**, 94, 9660-9664.

²² S. Himpel *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275, 2431-2435.

Bien que DYRK1A soit exprimée de façon ubiquitaire dans les tissus adultes et fœtaux, elle présente une forte activité au niveau du cerveau, des bulbes olfactifs, de l'hippocampe et du cœur.

DYRK1A interagit avec plus d'une vingtaine de protéines substrats, impliquées dans de nombreuses voies. Parmi celles-ci, on peut citer les facteurs de transcription, les facteurs d'épissage, les facteurs de translocation, les protéines synaptiques, les protéines micellaires ainsi que d'autres protéines. Parmi les implications thérapeutiques potentielles de cette enzyme, nous pouvons citer la Trisomie 21 ou Syndrome de Down (SD). Cette maladie génétique est la plus fréquente des anomalies chromosomiques (une naissance sur 700) et la principale cause génétique de retard mental.

1.2.2.8-La caséine kinase 1

La caséine protéine kinase phosphoryle la caséine *in vitro* dont l'activité est dépendante du niveau d'AMP cyclique (AMPc) dans la cellule. Deux caséine kinases ont été différenciées : la caséine kinase 1 (CK1)²³ et la caséine kinase 2 (CK2). CK1 appartient à la famille des sérine/thréonine kinases et régule divers processus cellulaires²⁴ comme le rythme circadien,²⁵ la voie de signalisation Wnt,²⁶ la réplication de l'ADN, le métabolisme de l'ARN et les infections parasitaires.²⁷ Il existe six isoformes de CK1 codées par différents gènes (α , δ , ε , γ 1, γ 2, γ 3).

1.3-Conclusion

Comme nous l'avons vu précédemment, la dérégulation de l'activité kinasique peut être à l'origine de nombreuses pathologies. L'inhibition de ces enzymes est donc devenue un des plus importants sujets de recherche actuel et différentes stratégies ont été mises en place ces dernières années grâce notamment à la connaissance de leur organisation structurale.

L'implication des PKC et MAP kinases dans les phénomènes de résistance aux médicaments azolés chez *Candida* et dans l'invasion et la prolifération du protozoaire *Leishmania* est un domaine à explorer. En effet, alors que l'intérêt de ces kinases comme cible thérapeutique dans les cancers est bien établi, peu d'éléments existent dans le domaine de la parasitologie et la mycologie médicale.

²³ J. K. Cheong et al., Int. J. Biochem. Cell Biol., 2011, 43, 465-469.

²⁴ U. Knippschild et al., Cell. Signal., 2005, 17, 675-689.

²⁵ M. Gallego *et al.*, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **2007**, *8*, 139-148.

²⁶ M. A. Price, *Genes Dev.*, **2006**, 20, 399-410.

²⁷ J. Liu et al., Mol. Cell. Biol., **2009**, 29, 6401-6412.

2-Les infections fongiques

2.1-Généralités sur les infections fongiques

2.1.1-Mycoses superficielles / mycoses systémiques

Les infections fongiques ou mycoses sont provoquées par des champignons microscopiques appelés aussi micromycètes. Ils provoquent chez l'homme un état pathologique plus ou moins grave. Parmi les quelques cent mille espèces connues aujourd'hui, plusieurs centaines sont potentiellement pathogènes. Selon le degré d'invasion du champignon, on distingue deux groupes de mycoses : les mycoses superficielles et les mycoses systémiques.²⁸

Trois grands groupes de mycoses superficielles peuvent être constitués : les mycoses à dermatophytes, les mycoses à levures et les mycoses à moisissures. Les dermatophytes prolifèrent habituellement sur la peau glabre, jamais sur les muqueuses. Ils sont responsables d'atteintes de la peau, du cuir chevelu (teignes) et des ongles (onychomycoses). Les infections à levures de la peau et des ongles sont généralement causées par le genre *Candida*. Il est aussi responsable d'infections des muqueuses (oropharyngées, digestives, vaginales) se traduisant par une lésion très inflammatoire le plus souvent douloureuse et souvent accompagnée d'exsudats. Les infections fongiques des ongles à *Candida* peuvent entraîner de la douleur et le soulèvement de l'extrémité de l'ongle. Finalement, les moisissures rencontrées dans l'environnement (*Scopulariopsis, Aspergillus, Fusarium*) sont rarement impliquées dans des pathologies cutanées, mais elles sont à l'origine d'onychomycoses, en se greffant sur la kératine déjà altérée.

Les mycoses systémiques, quant à elles, se divisent en mycoses systémiques primaires et en mycoses systémiques opportunistes. A noter que le diagnostic de ces infections est particulièrement difficile à établir.

L'étendue d'une infection fongique, qu'elle soit d'origine exogène (transmission par l'environnement) ou endogène (champignons déjà présents sur la peau ou les muqueuses), peut être localisée ou généralisée. Autrement dit, soit c'est un tissu spécifique qui est infecté, tel que la peau ou un organe, et il s'agit alors d'une infection bien délimitée, soit le champignon atteint la circulation sanguine et s'attaque à plusieurs organes. La mycose résultante sera qualifiée de profonde.

²⁸ Association Française Des Enseignants de Parasitologie, Parasitologie, Mycologie, Ed. C. R., **2002**, 494 pages.

Les champignons sont donc responsables d'affections très variées. Pour la compréhension de notre travail, seuls deux principaux types d'infections seront brièvement présentés, les candidoses et les aspergilloses.

2.1.2-Les candidoses

Les candidoses sont des affections cosmopolites dues à des levures. Les champignons responsables appartiennent aux deutéromycètes, à la classe des blastomycètes et au genre *Candida*. Parmi les différentes espèces en cause, on peut citer *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ou *C. kefyr*. Le rôle pathogène des *Candida* peut s'exercer au niveau des muqueuses, du revêtement cutané et des viscères. De plus, les candidoses ont des manifestations multiples qu'il s'agisse d'atteintes superficielles ou profondes, avec une fréquence en perpétuelle augmentation, liée à l'incidence croissante des facteurs favorisants. Les candidoses superficielles peuvent être divisées en trois familles :

les candidoses digestives : elles correspondent à des atteintes de l'appareil digestif (bouche, œsophage, intestin...). Elles se caractérisent par l'apparition d'un enduit crémeux blanchâtre.
Sur la muqueuse buccale, cette prolifération porte le nom de muguet.

- les candidoses génito-urinaires : elles peuvent être présentes aussi bien chez l'homme que chez la femme. Les atteintes vaginales sont les plus fréquentes, se traduisant par l'apparition d'un écoulement purulent et d'un prurit intense. La lésion inflammatoire peut s'étendre au périnée. Ces candidoses sont souvent récidivantes.

- les candidoses cutanées : elles apparaissent dans des zones où la peau est pliée (plis du ventre, sous la poitrine, entre les doigts ou les orteils). On parle alors d'intertrigo qui se caractérise par l'apparition d'une lésion érythémateuse et d'une fissure au niveau du pli cutané.

On distingue essentiellement deux formes de candidose viscérale : les candidoses viscérales aiguës secondaires à une candidémie et se manifestant parfois longtemps après cette dernière et les candidoses viscérales chroniques associées aux traitements par chimiothérapie. Ces dernières se traduisent souvent par une atteinte du foie et de la rate. Ces formes graves mettent en jeu le pronostic vital du patient. La guérison dépendra de la

localisation, de l'état physiologique du patient et de la précocité de la prise en charge thérapeutique.

2.1.3-Les aspergilloses

Les aspergilloses sont dues à des champignons filamenteux (moisissure). Ils appartiennent au phylum des deutéromycètes, à la classe des hyphomycètes et au genre *Aspergillus*. Parmi les différentes espèces en cause, on peut nommer *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* ou *A. terreus*.

Aspergillus est un champignon « opportuniste ». Il est saprophyte de matières organiques en décomposition. C'est un contaminateur fréquent (salles hospitalières, laboratoires...). En effet, les spores sont véhiculées dans l'espace aérien avec les poussières et sont inhalées par tous les individus. A cause de leur petite taille, les spores atteignent tous les compartiments du poumon. Ce champignon reste totalement inoffensif pour la majorité de la population. Cependant, un petit nombre d'espèces (*A. fumigatus, A. flavus, A. niger...*) capables de se développer à 37 °C (température du corps humain) peuvent provoquer des mycoses chez l'homme et l'animal. Il existe plusieurs formes d'aspergillose qui vont d'une maladie de type allergique à une infection généralisée gravissime, pouvant entraîner la mort du patient dans 60 à 90% des cas. La sévérité de l'aspergillose dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels les plus importants sont l'état du système immunitaire de la personne infectée, (neutropénie, perturbations de la fonction macrophagique). La maladie peut prendre essentiellement quatre formes :

- l'aspergillome : le champignon se développe dans une cavité pulmonaire faisant suite à une maladie antérieure (tuberculose par exemple). Les symptômes sont une perte de poids, une toux chronique, de la fatigue et enfin des hémoptysies qui signent les stades avancés de la mycose. Dans certains cas, une résection chirurgicale associée à un antifongique local est nécessaire.

- la sinusite aspergillaire : elle est localisée au niveau des sinus et entraîne des maux de tête chroniques, des obstructions nasales. Elle est plus grave pour les patients immuno-déficients.
Un drainage des sinus ou une intervention chirurgicale sont les deux solutions envisageables.

- l'aspergillose invasive : c'est la forme la plus grave de la maladie. Elle touche les sujets greffés, les patients soumis à un traitement anticancéreux et plus rarement les patients VIH

positifs. Elle se manifeste par de la fièvre, de la toux, des douleurs thoraciques et des difficultés respiratoires. La précocité d'un traitement permet d'augmenter les taux de survie mais la guérison du patient n'atteint que 60% des cas au mieux.

- enfin, une dernière forme de la maladie est l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique : elle touche 20% des sujets asthmatiques et les personnes atteintes de mucoviscidose. Ses symptômes sont similaires à un asthme classique. Si aucun traitement (corticostéroïdes par aérosol ou voie orale, association d'un antifongique) n'est appliqué le patient encourt un risque de fibrose pulmonaire.

2.2-Epidémiologie

L'institut de veille sanitaire a coordonné en 2006 une enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales avec un volet sur les traitements anti-infectieux qui avaient pour objectif de décrire les traitements prescrits dans les établissements de santé, y compris les antifongiques.²⁹ Cette étude est la plus importante jamais réalisée en France ou à l'étranger et a concerné 2337 établissements de santé, représentants 93,6% des lits d'hospitalisation en France, et incluant 358 353 patients. Elle est proche de l'exhaustivité et fournit une description précise pour un jour donné. Ainsi, 15,87% des patients recevaient un traitement anti-infectieux, dont seulement 0,77% recevaient au moins un antifongique. Une infection nosocomiale (0,30%) était la première indication des traitements antifongiques, devant l'infection communautaire (0,26%) et la prophylaxie des infections opportunistes (0,16%), les indications multiples étant rares (0,03%).

Parmi les patients sous traitement antifongique, les immunodéprimés étaient fortement représentés. De plus, les services concernés relevaient du court séjour, et plus particulièrement de l'hématologie et de la réanimation. Les patients sont souvent hémodialysés, munis de dispositifs invasifs ou perfusés, donc exposés à des pratiques médicales considérées comme facteurs de risque pour les infections fongiques.

Il est à noter que l'analyse comparée des données de 2001 et 2006 montre une stabilité de la prévalence globale des patients traités par antifongiques. Elle masque toutefois des évolutions opposées selon les indications du traitement : si la prévalence des patients traités pour infection communautaire ou nosocomiale a diminué, celle des patients traités pour prophylaxie des infections opportunistes a augmenté. Cette dernière tendance peut être le

²⁹ Institut de Veille Sanitaire, *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, **2009**, *31-32*, 353-356.

reflet de l'introduction large des prophylaxies antifongiques en médecine. Elle est à surveiller car si ces prophylaxies ont fait la preuve de leur efficacité, elles exposent toutefois à un risque de développement de résistances.

La prévalence des infections fongiques invasives reste donc faible. Cependant, ces infections sont responsables de sévères complications cliniques pour les sujets immunodéprimés, par exemple pour les patients transplantés, neutropéniques, sous chimiothérapies ou encore infectés par le VIH. De plus, depuis les vingt dernières années, les patients sévèrement malades en soins intensifs (par exemple en chirurgie ou en néonatologie), émergent comme une autre population à risque. Une étude menée dans les unités de soins intensifs d'hôpitaux chinois révèle que parmi les patients atteints de septicémie sévère, 28,3% présentent une infection fongique invasive.³⁰ Dans ce cas, le taux de mortalité associé est très élevé : 67,8%. Les espèces pathogènes isolées responsables des infections sont majoritairement *Candida* et *Aspergillus*. Ainsi, on retrouve *C. albicans* (58%), *C. tropicalis* (17%), *C. glabrata* (15%), *C. parapsilosis* (3%) et *A. fumigatus* (3%).

Nous voyons donc que les infections dues aux différentes espèces de *Candida* constituent la principale cause d'infections fongiques invasives. Elles se placent au quatrième rang des infections nosocomiales et entrainent un taux de mortalité de 40%. Les aspergilloses invasives, elles, conduisent au décès de 80% des patients infectés.³¹

Il est à noter que la liste des isolats cliniques augmente chaque année et de nouvelles espèces de *Candida* apparaissent, comme *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr*, *C. rugosa*, *C. famata* ou *C. dubliniensis*. Cela pourrait s'expliquer par une amélioration des méthodes d'identification des isolats cliniques. Cependant, étant donné l'augmentation du nombre de personnes immunodéprimées avec des états de plus en plus sévères, on peut penser que des espèces non pathogènes émergent maintenant comme pathogènes opportunistes.³²

³⁰ G. Xie *et al.*, *Crit. Care*, **2008**, *12*, R5.

³¹ B. C. Monk *et al.*, *Science*, **2008**, *321*, 367-369.

³² M. A. Pfaller et al., Clin. Microbiol. Rev., 2007, 20, 133-163.

2.3-Les facteurs favorisants

2.3.1-Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte

Certains facteurs physiologiques peuvent expliquer le développement de la maladie.²⁸ Le premier d'entre eux est l'âge du sujet. En effet, le nouveau-né ou les personnes âgées sont plus sensibles à *C. albicans*. Par exemple, le nouveau-né est particulièrement vulnérable à la candidose buccale. Il en est de même chez le sujet âgé porteur de prothèses dentaires. On peut aussi citer la candidose vaginale qui est trois à quatre fois plus fréquente chez la femme enceinte.

Des facteurs d'origine pathologique peuvent également favoriser le développement du champignon. En effet, une maladie sous-jacente favorise et permet le développement d'une mycose latente. C'est ainsi qu'une candidose oropharyngée est souvent à l'origine de la découverte d'un SIDA. Une candidose à répétition sera elle à l'origine de la découverte d'un diabète. Autre exemple, l'*Aspergillus* qui se greffe habituellement sur des lésions bronchiques préexistantes.

2.3.2-Les facteurs extrinsèques et iatrogènes

Les champignons pathogènes bénéficient pour se développer de l'apparition d'états d'immunosuppression de plus en plus sévères.²⁸ Ceux-ci sont principalement induits par les chimiothérapies, les greffes de moelle, les traitements immunosuppresseurs utilisés lors des greffes d'organes, les traitements par corticoïdes et l'immunosuppression liée à l'infection au VIH. Par exemple, un traitement immunosuppresseur (antimitotiques, corticoïdes) peut être à l'origine d'une candidose ou d'une aspergillose. Les infections fongiques atteignant les personnes immunodéprimées sont souvent sévères, rapidement progressives, difficiles à diagnostiquer et à traiter.

Un autre facteur de la prolifération des infections fongiques est lié aux pratiques chirurgicales ou médico-chirurgicales. Ainsi la pose de cathéters veineux ou artériels utilisés pour l'alimentation parentérale ou toute chirurgie peut être à l'origine du développement de la maladie si l'asepsie n'est pas réalisée avec précaution. D'autres actes médicaux comme la ventilation assistée, la chirurgie profonde, l'hémodialyse et l'usage d'antibiotiques à large spectre peuvent également favoriser le développement anarchique du champignon. Enfin, les sujets grièvement brûlés ou les personnes atteintes de leucémie sont des terrains propices au développement des champignons.

2.4-Traitements antifongiques : cibles cellulaires et mécanismes de résistance

Actuellement, l'arsenal thérapeutique est en plein essor pour la prise en charge des patients présentant des infections fongiques. Cette prise en charge doit cependant répondre, non seulement à l'augmentation de la fréquence de ces infections, mais aussi à leur répartition chez des malades aux pathologies sous-jacentes différentes. Il faut également faire face à l'augmentation des phénomènes de résistance.

2.4.1-Cibles thérapeutiques des antifongiques et traitements associés

Les traitements antifongiques³³ disponibles actuellement sur le marché et utilisés en thérapeutique se répartissent en cinq grandes familles chimiques : les polyènes, les fluoropyrimidines, les azolés, les allylamines et les échinocandines. Trois d'entre elles (polyènes, azolés, allylamines) agissent sur l'ergostérol de la membrane fongique, les fluoropyrimidines interfèrent avec la synthèse de l'ADN et l'ARN des champignons et les échinocandines interviennent au niveau de la paroi fongique (Figure 6).³⁴

Le traitement d'une infection fongique grave peut poser un véritable défi au praticien. Il n'a à sa disposition que peu de molécules antifongiques qui n'ont que trois cibles chez le champignon. Tout en jonglant avec les problèmes de toxicité de certains antifongiques, le praticien doit aussi tenir compte du possible développement de résistances au traitement par les champignons.

³³ M. K. Kathiravan et al., Bioorg. Med. Chem., 2012, 20, 5678-5698.

³⁴ Infections fongiques : résistances, nouvelles modalités thérapeutiques, Ed. optimed, **2003**, 170 pages.



Figure 6 : Cibles principales des antifongiques systémiques

2.4.2-Les principaux phénomènes de résistance

Il existe deux types de résistance. En effet, on distingue la résistance primaire et la résistance secondaire. La résistance primaire ou naturelle se rencontre chez certaines espèces fongiques insensibles à un antifongique donné (par exemple, *C. krusei* vis-à-vis du fluconazole). Ce type de résistance est un caractère d'espèce exprimé par tous les individus constituants l'espèce. La résistance secondaire ou acquise se développe chez les champignons qui appartiennent à une espèce sensible. Cette résistance est la conséquence d'un évènement survenu préalablement ou pendant le traitement antifongique. Il s'agit d'un caractère de souche, qui n'affecte que de rares individus au sein de l'espèce et qui ne leur confère un avantage sélectif que lorsqu'ils sont exposés à l'antifongique.

Grâce à la mobilisation internationale des chercheurs durant ces vingt dernières années, les mécanismes moléculaires des résistances aux antifongiques sont aujourd'hui mieux connus.³⁵ Ainsi, les résistances acquises ont toutes un déterminisme génétique. Elles résultent généralement d'évènements mutationnels (par exemple sur le gène erg11, erg3,...) ou de la dérégulation de l'expression de certains gènes, ce qui conduit le plus souvent à leur surexpression (par exemple gène erg11, facteurs de transcription liés à l'expression des pompes d'efflux). Les conséquences de ces évènements d'un point de vue cellulaire et les mécanismes mis en jeu par le champignon pour résister à l'antifongique sont multiples et dépendent de l'antifongique utilisé.

2.4.3-Les traitements antifongiques

2.4.3.1-Les inhibiteurs des fonctions de la paroi membranaire

Les inhibiteurs de cette classe font partie de la famille des polyènes. Le premier représentant de cette famille est l'amphotéricine B extraite de *Streptomyces nodosus*, découverte en 1953, développée par Bristol-Myers Squibb et mise sur le marché en 1957 (Figure 7).



Figure 7 : Structure de l'amphotéricine B (FUNGIZONE[®])

La structure de ce macrolide est particulière puisqu'elle est constituée d'un côté lipophile représenté par un enchaînement de sept doubles liaisons, et d'un côté hydrophile (succession de groupes hydroxyles). Enfin, un motif amino-sucre est greffé sur une extrémité. Son action fongistatique et fongicide est directement liée à sa structure. Elle agit sur la membrane du champignon en se complexant de manière définitive à forte concentration avec l'ergostérol. Elle forme alors des pores et des canaux qui augmentent la perméabilité de la membrane cellulaire. Elle inhibe également la pompe Na⁺ / K⁺ ce qui se traduit par une fuite de potassium et une entrée massive de sodium aboutissant à la lyse cellulaire. La sélectivité de cette molécule vis-à-vis des cellules fongiques est due à une plus grande affinité pour l'ergostérol fongique par rapport à l'humain.³⁶

³⁵ M. A. Ghannoum et al., Clin. Microbiol. Rev., **1999**, *12*, 501-517.

³⁶ J. Brajtburg et al., Antimicrob. Agents Chemother., **1990**, 34, 183-188.

L'amphotéricine B a été le médicament de référence pendant plus de 50 ans pour toutes les infections fongiques invasives. En effet, elle présente un spectre très large et est active sur la plupart des espèces de *Candida* et d'*Aspergillus*. Malheureusement son usage est limité par sa forte toxicité. En effet, près de 20% des patients présentent une réaction toxique aigüe (fièvre, frissons, tachycardie, hypotension) et 80% subissent une atteinte rénale dose-dépendante. De nouvelles formes galéniques ont été mises au point afin de diminuer la toxicité. Ainsi, l'amphotéricine B est maintenant disponible sous forme liposomale (AMBISOME[®], 1997), en complexe lipidique (ABELCET[®], 1995) ou en dispersion colloïdale (AMPHOCIL[®] ou AMPHOTEC[®], 1996).³⁷

Depuis l'apparition de l'amphotéricine B, environ 90 polyènes ont été découverts, mais d'importants problèmes de solubilité, de stabilité, de biodisponibilité par voie orale et de toxicité ont empêché leur développement pour un usage clinique.³⁸

Un nouveau polyène est actuellement en phase III d'essais cliniques. Il s'agit du SPK-843 (Laboratoire Kaken Pharmaceutical), un sel diascorbique d'un dérivé semi-synthétique de la partricin A (Figure 8).



Figure 8 : Structure du SPK-843 et de la partricin A

Le SPK-843 possède des activités *in vitro* comparables ou meilleures que celles de l'amphotéricine B sur des espèces de *Candida*, d'*Aspergillus* et sur *Cryptococcus neoformans*. Cette molécule aurait aussi une meilleure solubilité mais peu de données sont actuellement disponibles.³⁹

³⁷ G. R. Thompson *et al.*, *Clin. Chest Med.*, **2009**, *30*, 203-215.

³⁸ D. W. Denning et al., Trends Microbiol., **2010**, 18, 195-204.

³⁹ H. Kakeya et al., Antimicrob. Agents Chemother., 2008, 52, 1868-1870.

2.4.3.2-Les inhibiteurs de la biosynthèse d'ARN

Dans cette famille, une molécule est utilisée : la Flucytosine ou 5-fluorocytosine (ou 5-FC). Il s'agit d'une pyrimidine fluorée découverte en 1964 par les Laboratoires Roche et approuvée en 1972 (Figure 9).



Figure 9 : Structure de la 5-fluorocytosine (ANCOTIL®)

Seuls certains champignons sont sensibles à cette molécule : des prédispositions enzymatiques sont nécessaires pour permettre l'entrée dans la cellule de la 5-FC (une cytosine perméase), la convertir en 5-fluorouracile ou 5-FU (une transaminase). La 5-FU s'incorpore à l'ARN causant une rupture de la chaîne et inhibant ainsi la synthèse de l'ADN par son action sur la thymidylate synthétase. Les champignons filamenteux en sont dépourvus, si bien que le spectre d'action de la 5-FC se limite aux levures (*Candida* et *Cryptoccocus neoformans*).⁴⁰ De plus cette molécule est sélective car les cellules de mammifères ne possèdent pas la cytosine perméase nécessaire au premier passage de la molécule dans la cellule. En raison de l'apparition de nombreuses résistances, d'un spectre d'action limité et d'effets toxiques importants (dysfonctions rénales, leucopénies, thrombopénies), la 5-FC n'est pas utilisée en monothérapie mais toujours en combinaison avec l'amphotéricine B (AmB).⁴¹

2.4.3.3-Les inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol

2.4.3.3.1-Les azolés

Les antifongiques de la famille des azolés agissent sur la biosynthèse de l'ergostérol. Ils exercent leur action principalement par inhibition de la lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51), une enzyme à cytochrome P450 codée par le gène *ERG11*. Cette enzyme intervient dans la longue cascade qui convertit le lanostérol en ergostérol, constituant essentiel de la membrane cytoplasmique fongique (Figure 10). L'accumulation d'ergostérol et de 14 α -méthylstérols à la place de l'ergostérol désorganise, dans la membrane du champignon, l'agencement des chaînes acyle des phospholipides et gène ainsi les fonctions des systèmes

⁴⁰ F. C. Odds et al., Trends Microbiol., **2003**, 11, 272-279.

⁴¹ M. D. Johnson et al., Antimicrob. Agents Chemother., 2004, 48, 693-715.

enzymatiques liés à la membrane comme l'ATPase et les enzymes responsables du transfert d'électrons.⁴²



Figure 10 : Biosynthèse de l'ergostérol chez le champignon

La découverte de l'activité antifongique des azolés a constitué une avancée considérable dans la thérapeutique des infections fongiques superficielles et systémiques. Les azolés de première génération sont les imidazolés (Figure 11).



Figure 11 : Azolés de première génération

⁴² D. J. Sheehan et al., Clin. Microbiol. Rev., **1999**, 12, 40-79.
Le kétoconazole est le premier azolé bien absorbé par voie orale. Cependant, son hépatotoxicité et ses interactions avec de nombreuses molécules limitent son utilisation.

Ainsi, de nouvelles avancées en thérapie fongique furent nécessaires. Le développement des triazolés (fluconazole et itraconazole), plus lentement métabolisés et présentant moins d'effets secondaires ont permis leur utilisation pour le traitement des infections fongiques invasives. De plus, ils furent utilisés massivement en prophylaxie (Figure 12).



Figure 12 : Azolés de seconde génération

Les recherches incessantes de nouvelles solutions thérapeutiques ont mené à la découverte des azolés de troisième génération. Deux nouvelles molécules triazolées (voriconazole et posaconazole) particulièrement active *in vitro* et à large spectre ont été développées (Figure 13).⁴³



Figure 13 : Azolés de troisième génération

⁴³ R. Guillon et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009, 19, 5833-5836.

Les triazolés font partie des agents les plus utilisés en clinique pour le traitement des infections fongiques invasives. Ces molécules présentent des résistances intrinsèques envers certaines espèces de champignons. Ainsi, le fluconazole n'est pas actif sur *C. krusei*, *C. glabrata* ou sur les espèces d'*Aspergillus*. L'itraconazole, le voriconazole et le posaconazole, molécules à large spectre montrent seulement une résistance primaire sur *Fusarium*, *Scedosporium* ou sur les zygomycètes. Mais ces dernières années, l'utilisation massive des azolés à titre curatif ou prophylactique, liée à leur efficacité et à leur faible toxicité pour l'être humain, a fortement contribué à la sélection de résistance.⁴⁴

Plusieurs études indiquent que l'apparition de résistance aux azolés chez des espèces d'*Aspergillus* est peu commune.⁴⁵ Cependant, il s'agit d'un phénomène qui prend de l'ampleur.⁴⁶ L'itraconazole, prescrit depuis plus de 15 ans pour le traitement des aspergilloses invasives, est actuellement la principale source de résistances acquises. La prévalence de cette résistance n'est pas précisément connue, mais il semble que ce soit un phénomène assez rare avant 2000, aux alentours de 1 ou 2%, actuellement en augmentation, avec pour conséquence un échec thérapeutique. Récemment, des isolats cliniques d'*A. fumigatus* résistants à plusieurs triazolés (itraconazole, voriconazole, posaconazole) ont été décrits.

2.4.3.3.2-Les allylamines

D'autres familles de composés inhibent la biosynthèse de l'ergostérol membranaire, il s'agit des allylamines. Les deux représentants majeurs de cette famille sont la naftifine et la terbinafine (Figure 14).



Figure 14 : Structures de la naftifine et de la terbinafine (LAMISIL[®])

⁴⁴ F. Morio et al., Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 2010, 66, 373-384.

⁴⁵ M. A. Pfaller *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, **2008**, *46*, 2568-2572.

⁴⁶ F. Morio *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2012**, *67*, 1870-1873.

La naftifine a été développée comme agent topique.⁴⁷ Son potentiel antifongique et son succès ont conduit à de nouvelles recherches pour trouver de nouveaux agents à usage systémique. Mais seule la terbinafine a émergé avec une combinaison d'efficacité et de sécurité nécessaire à un candidat médicament.⁴⁸ Elle possède une action fongistatique en inhibant la synthèse de l'ergostérol au stade de l'époxydation du squalène par la squalène époxydase. Contrairement aux dérivés azolés, la terbinafine n'interfère pas avec les systèmes enzymatiques cytochrome P450 3A-dépendants. Elle possède une activité *in vitro* sur une grande variété de champignons : dermatophytes, champignons filamenteux (*Aspergillus*), champignons dimorphiques (*Blastomyces dermatitidis, Histoplasma capsulatum*) et les levures (*Candida, Cryptococcus*). Toutefois, ce sont les dermatophytes qui ont la plus grande sensibilité au médicament.⁴⁹ De nombreux laboratoires ont essayé de développer de nouvelles allylamines mais sans succès depuis plus de 20 ans.

2.4.3.4-Les inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire

Les échinocandines sont constituées d'un cœur hexapeptidique cyclique liée à une chaîne latérale lipidique variable. Elles inhibent la synthèse du bêta (1,3)-D-glucane, constituant essentiel de la paroi cellulaire de la plupart des champignons (Figure 15). La déplétion en glucane de la paroi cellulaire et l'instabilité osmotique entraînent finalement la lyse de la cellule fongique.⁵⁰

L'un des principaux avantages de cette classe est leur très bonne activité *in vitro*, *in vivo* chez l'animal et en clinique, sur *Candida*, *Aspergillus*, et plus particulièrement sur les souches résistantes aux azolés et aux polyènes. Les échinocandines sont fongicides *in vitro* et *in vivo* sur *Candida* et fongistatiques sur *Aspergillus*. Bien qu'elles soient fongistatiques sur *Aspergillus*, elles induisent un changement morphologique chez le champignon et diminuent le risque d'aspergillose invasive.

⁴⁷ A. Georgopoulos et al., Antimicrob. Agents Chemother., **1981**, 19, 386-389.

⁴⁸ G. Petranyi *et al.*, *Antimicrob*. *Agents Chemother.*, **1987**, *31*, 1365-1368.

⁴⁹ N. Ryder *et al.*, *Rev. Contemp. Pharmacother.*, **1997**, *8*, 275-288.

⁵⁰ D. W. Denning, *Lancet.*, **2003**, *362*, 1142-1151.



Figure 15 : Structure de la paroi cellulaire du champignon

Les échinocandines possèdent un excellent profil de tolérance et relativement peu d'interactions médicamenteuses par rapport aux azolés, ce qui en fait une alternative intéressante. Cependant, leur administration exclusivement intraveineuse et leur coût élevé limitent leur utilisation à des infections non traitables par voie orale ou réfractaires aux traitements classiques. Elles sont fongicides sur les espèces de *Candida*, fongistatiques sur les espèces d'*Aspergillus* et ne démontrent aucune activité sur les zygomycètes et sur *Cryptococcus*.

La première échinocandine ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché en 2001 est la caspofungine découverte par les Laboratoires Merck (Figure 16). Le spectre d'activité de la caspofungine se limite aux espèces de *Candida*, de *Saccharomyces* et d'*Aspergillus*. Le principal effet indésirable est le risque de phlébites au niveau de la veine perfusée (12%). Elle est indiquée dans le traitement empirique des candidoses et aspergilloses invasives chez les patients adultes. La caspofungine, sous sa forme acétate, est hydrosoluble et administrable par voie parentérale.



Figure 16 : Structure de la caspofungine (CANCIDAS[®])

La micafungine est un dérivé semi-synthétique d'un composé naturel isolé de Coleophoma empedri (Figure 17). Elle est développée par Astellas Pharma et a obtenu son autorisation de mise sur le marché en 2005 pour les Etats-Unis et en 2008 pour l'Europe.



Figure 17 : Structure de la micafungine (MYCAMINE[®])

Elle est efficace dans le traitement des candidoses disséminées, des infections œsophagiennes et depuis peu à titre prophylactique pour les infections à Candida pour les greffés de cellules souches hématopoïétiques.⁵¹ Elle fait l'objet de plusieurs études ouvertes dans le traitement des aspergilloses et candidoses invasives.

L'anidulafungine est une échinocandine semi-synthétique, synthétisée à partir d'un produit de fermentation d'A. nidulans (Figure 18). Elle est développée par les Laboratoires Pfizer et a obtenu son autorisation de mise sur le marché en 2006 pour les Etats-Unis (ERAXIX[®]) et en 2007 pour l'Europe (ECALTA[®]). L'anidulafungine est très active *in vitro* sur de nombreuses espèces de Candida, notamment celles résistantes aux azolés (C. krusei), à l'amphotéricine B (C. lusitaniae) ou aux autres échinocandines (C. parapsilosis), ainsi que sur différentes espèces d'Aspergillus. Cette molécule est utilisée pour le traitement des candidoses œsophagiques mais sa principale utilisation sera pour les candidoses et aspergilloses invasives chez l'adulte non neutropénique.⁵²

 ⁵¹ S. Das *et al.*, *Indian Pediatr.*, **2009**, *46*, 225-231.
⁵² F. Lanternier *et al.*, *Med. Maladies Infect.*, **2010**, *40*, 440-448.



Figure 18 : Structure de l'anidulafungine

Les échinocandines présentent une résistance primaire sur les espèces de *Cryptococcus, Scedosporium, Fusarium* et sur les zygomycètes. Les isolats de *C. parapsilosis* et *C. guilliermondii* présentent des CMI plus hautes que les autres espèces de *Candida*. Les données cliniques disponibles indiquent que toutes les espèces de *Candida* répondent de façon similaire au traitement des échinocandines (caspofungine, micafungine et anidulafungine). Or l'infection à *C. parapsilosis* persiste lors d'un traitement à la caspofungine.⁵³

Ces molécules étant disponibles seulement depuis quelques années, peu de données sur les phénomènes de résistance sont disponibles. Cependant, de récentes publications rapportent l'émergence de résistance lors du traitement d'infection œsophagique à *C. albicans*,^{54,55} lors de candidémies⁵⁶ ou lors d'endocardite. Des cas de résistance existent aussi lors d'aspergillose invasive de patients greffés de cellules souches hématopoïétiques.⁵⁷ Si les aspects *in vitro* de la résistance à la caspofungine commencent à être élucidés, on ne sait pas encore quelle sera la fréquence de résistance en clinique, ni quels seront les mécanismes privilégiés.

⁵³ J. Mora-Duarte *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **2002**, *347*, 2020-2029.

⁵⁴ M. Laverdiere *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2006**, *57*, 705-708.

⁵⁵ M. T. Baixench et al., J. Antimicrob. Chemother., 2007, 59, 1076-1083.

⁵⁶ M. Krogh-Madsen et al., Clin. Infect. Dis., **2006**, 42, 938-944.

⁵⁷ A. Madureira et al., Int. J. Antimicrob. Agents, 2007, 30, 551-554.

2.5-Priorités pour le développement de nouveaux antifongiques

Actuellement, l'arsenal thérapeutique est en plein essor. En effet, ces dernières années ont vu l'apparition de nouvelles molécules plus efficaces et de plus large spectre dans des classes d'antifongiques connues (triazolés), le développement de nouvelles galéniques pour des médicaments anciens (formes liposomales de l'amphotéricine B) et l'apparition d'une nouvelle classe d'antifongiques (échinocandines). Cependant, malgré ces nouvelles solutions, le taux d'échec des traitements antifongiques reste élevé.⁵⁸ En effet, le taux de mortalité des infections fongiques invasives reste très important, particulièrement pour les infections causées par les champignons filamenteux (*Aspergillus*). Parmi les explications possibles, on peut citer l'implication de nouvelles espèces fongiques chez les patients immunodéprimés et l'apparition de résistances des champignons sous traitements antifongiques. D'autres causes d'échecs sont à rechercher du côté de la pharmacologie avec des problèmes de biodisponibilité, de toxicité, d'absence de forme orale pour des traitements au long cours et des interactions médicamenteuses.⁵⁹

Il est donc clair qu'il existe un réel besoin de nouvelles molécules antifongiques pour un usage clinique. Récemment, D.W. Denning et W.W. Hope décrivent les priorités pour le développement de nouveaux antifongiques.³⁸ Ainsi, ces agents doivent être :

- actifs sur les espèces communes de Candida et administrables par voie orale,

- actifs sur les espèces d'*Aspergillus* et administrables par voie orale et parentérale. Idéalement, ces composés doivent avoir peu d'interactions médicamenteuses et permettre le traitement des patients avec des dysfonctionnements rénaux et hépatiques.

D'après les auteurs, les nouveaux antifongiques ne doivent pas avoir nécessairement un spectre large, mais d'excellentes activités sur *Candida* et *Aspergillus* pour un retour économique significatif. Toutes ces observations confirment que la recherche de nouvelles molécules pour le traitement des infections fongiques invasives est toujours d'actualité.

⁵⁸ M. A. Pfaller, *Am. J. Med.*, **2012**, *125*, 3-13.

⁵⁹ S. Bretagne, *Antibiotiques*, **2009**, *11*, 133-141.

3-Les leishmanioses

3.1-Généralités sur les leishmanioses

Les leishmanioses sont des parasitoses causées par des protozoaires de la famille des *Trypanosomatidae* appartenant au genre *Leishmania* et sont le plus souvent transmises par la piqûre d'un petit insecte diptère hématophage. Seule la femelle transmet la maladie. Ces insectes appartiennent principalement à deux genres : *Phlebotomus* et *Lutzomyia* (Figure 19).



Figure 19 : Phlebotomus dubosci et Lutzomyia longipalpis

Le vecteur de la maladie vit essentiellement dans les régions tropicales et subtropicales, où les facteurs climatiques (température et humidité) facilitent son développement. C'est lors de la piqûre d'un mammifère domestique (chien) ou sauvage (renards, rongeurs...) infectés que l'insecte prélève le parasite. Il peut alors piquer d'autres mammifères (y compris l'homme) et transmettre la maladie. Dans ces régions défavorisées, la maladie constitue un problème de santé majeur.⁶⁰

La leishmaniose existe depuis des millénaires. Des écrits datant de plusieurs siècles avant Jésus-Christ rapportaient des cas de patients atteints de déformations faciales, de fièvre ou de rate dilatée.⁶¹ C'est en 1900 que Leishman et Donovan découvrent le parasite responsable de cette maladie et lui donnent le nom de *Leishmania donovani*.⁶² La première preuve expérimentale de contamination humaine remonte à 1921, et ce n'est qu'en 1941 que le mécanisme de contamination par vecteur ne fut clairement expliqué et approuvé.

⁶⁰Tropical Disease Research: Progress 2003-2004; World Health Organization. Geneva, **2005**. http://www.who.int/tdr/publications/pr17.htm.

⁶¹ F. E. G. Cox et al., Clin. Microbiol. Rev., **2002**, 15, 595-612.

⁶² C. A. Hoare, *Soc. Trop. Med. Hyg.*, **1938**, *32*, 67-92.

Les leishmanies circulent selon un cycle évolutif bien précis qui fait apparaître deux formes de parasite à la morphologie et au métabolisme différents (Figure 20) :⁶³

- Une forme promastigote flagellée et mobile. Elle est d'abord procyclique et non infectieuse. Après différenciation dans le tractus digestif de l'insecte vecteur, elle change d'aspect pour devenir métacyclique et infectieuse et se loge dans les pièces buccales.

- Une forme amastigote, plus arrondie sans flagelle. Cette forme apparaît une fois chez l'hôte lorsque le parasite pénètre dans la cellule du système réticulo-endothélial.



Figure 20 : Cycle évolutif de la leishmaniose

Les formes promastigotes flagellées et extracellulaires qui vivent dans les pièces buccales de l'insecte vecteur sont injectées chez l'hôte ; elles y entrent par phagocytose facilitée par des monocytes tissulaires. A l'intérieur de ces cellules, elles se transforment en formes amastigotes (Figure 21), plus rondes, qui vivent dans des phagolysosomes. Cette transformation entraîne plusieurs changements physiques et métaboliques due principalement aux changements de pH et de température.

⁶³ Site internet: http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html.

Dans les phagolysosomes, les amastigotes vont se multiplier et les atteintes viscérales résultantes sont à l'origine des manifestations cliniques de la maladie. A l'éclatement d'un macrophage, les amastigotes libérés vont pouvoir aller parasiter d'autres macrophages encore sains. La maladie se propage ainsi rapidement si aucun traitement n'intervient pour stopper la multiplication du parasite.



Figure 21 : Formes des promastigotes (gauche) et des amastigotes (droite)

Plus de 12 millions de personnes de 88 pays sont contaminés par le parasite, mais la charge de morbidité réelle reste en grande partie masquée. Deux millions de nouveaux cas, dont 1,5 million de leishmaniose cutanée et 500 000 de forme viscérale de la maladie, apparaissent chaque année. La déclaration de la maladie n'est cependant obligatoire que dans trente-deux pays et un nombre substantiel de cas ne sont jamais enregistrés.

Dans la plupart des cas, la leishmaniose est une maladie de la pauvreté et ses victimes appartiennent aux catégories les plus démunies. Cependant cette maladie a également été détectée en France dans les Cévennes. Une étude rétrospective entre 1993 et 1994⁶⁴ a montré que 157 cas de leishmanioses dues à *L. infantum* avaient été décelés dans cette région proche du bassin méditerranéen. La présence de foyers dans cette région serait liée au contact rapproché entre le réservoir et l'homme. En Guyane française, dans les régions forestières, de nombreux cas de leishmaniose ont également été rapportés.⁶⁵ En France, de 1999 à 2006, près de 700 cas ont été signalés dont 170 cas autochtones.

3.2-Manifestations cliniques

La maladie peut présenter plusieurs formes cliniques selon le parasite responsable de l'infection. En ordre croissant de gravité, les leishmanioses humaines peuvent être classées en forme cutanées, cutanéo-muqueuses, cutanées diffuses et viscérales.

⁶⁴ I. Bassenne et al., Med. Maladies Infect., **1997**, 27, 591-595.

⁶⁵ F. X. Weill et al., Med. Maladies Infect., 2000, 30, 47-49.

3.2.1-Les leishmanioses cutanées et cutanéo-muqueuses

La forme cutanée est causée par plusieurs leishmanies dont *L. tropica, L. mexicana, L. major, L. panamamensis, L. guyanensis.* C'est une papule prurigineuse rouge sombre, généralement unique, siégeant sur une région découverte qui se transforme en nodule, s'ulcère, s'infiltre en profondeur et se recouvre de fines squames évoluant très lentement (bouton d'un an) sous forme sèche ou sous forme humide, vers la guérison au prix d'une cicatrice indélébile (Figure 22).



Figure 22 : Leishmaniose cutanée

La forme cutanée est particulièrement présente en Afghanistan, en Algérie, au Brésil, en Iran, au Pérou, en Arabie Saoudite et en Syrie, ces pays supportant au total 90% de la charge mondiale de leishmaniose cutanée. Si elles sont rarement mortelles, les épidémies de leishmaniose cutanée sont particulièrement préoccupantes dans certains pays et difficiles à endiguer.

La leishmaniose cutanéo-muqueuse, appelée « espundia » en Amérique du Sud, est causée par *L. braziliensis*. Elle se distingue de la précédente par une ulcération plus extensive, d'évolution plus torpide, par une propagation par voie lymphatique et/ou sanguine aux muqueuses souvent extrêmement mutilante. Les lésions peuvent en effet conduire à une destruction étendue et défigurante des muqueuses du nez, de la bouche et de la gorge (Figure 23).



Figure 23 : Leishmaniose cutanéo-muqueuse

Enfin, les leishmanioses cutanées diffuses associées à un système immunitaire déprimé sont les cas les plus difficiles à traiter. Les lésions sont souvent disséminées, ressemblant à la lèpre. Elles ne peuvent guérir spontanément et un traitement est difficilement applicable.⁶⁶

3.2.2-Les leishmanioses viscérales

Il s'agit de la forme la plus dangereuse de leishmaniose, également connue sous le nom de *kala-azar* en Inde. Elle est causée par le parasite *L. donovani* et entraîne un taux de mortalité supérieur à 90% en l'espace de 6-24 mois si aucun traitement n'est prodigué au patient. Dans le pourtour du bassin méditerannéen, la leishmaniose viscérale est due à *L. infantum* alors qu'en Amérique centrale et du Sud, on retrouve principalement *L. chagasis* (synonyme *de L. infantum*). Elle se caractérise par des poussées de fièvre irrégulières, une perte de poids, une hépatosplénomégalie et une anémie.

La forme viscérale est particulièrement prévalente au Bangladesh, en Inde, au Népal, au Soudan et au Brésil. Ensemble ces pays supportent au total 90% de la charge mondiale de leishmaniose viscérale. La malnutrition est un facteur de risque bien connu dans l'apparition de cette forme de leishmaniose et des épidémies se développent dans les situations de famine, de crise complexe et de déplacements massifs de population.

⁶⁶ C. R. Davies et al., Br. Med. J., 2003, 326, 377-382.

3.3-Stratégies thérapeutiques

3.3.1-Les médicaments utilisés en thérapeutique

La chimiothérapie reste la seule manière pratique de traiter les individus infectés. Le système immunitaire joue un rôle crucial dans la plupart des relations hôte-protozoaires, et il limite souvent les conséquences pathologiques de l'infection. Aussi, les infections opportunistes sont elles très importantes chez les sujets atteints de cancer, greffés ou traités par des immunosuppresseurs et chez les personnes atteintes du SIDA. Le traitement de ces infections chez des individus à l'immunocompétence anormale est particulièrement difficile et le résultat en est souvent décevant. Les différents agents utilisés en thérapeutique seront abordés selon leur mode d'administration : la voie parentérale ou la voie orale.⁶⁷

3.3.1.1-Les antileishmaniens administrés par voie parentérale

3.3.1.1.1-Les composés antimoniés

Les composés antimoniés⁶⁸ ont été longtemps utilisés pour le traitement des leishmanioses et d'autres protozooses. Le premier composé utilisé fut un dérivé trivalent de l'antimoine, le tartrate de potassium et d'antimoine. Les dérivés de Sb^{III} ont été très vite remplacés par des dérivés pentavalents car ils présentaient une forte toxicité et étaient difficilement administrables. Cette nouvelle génération de composés est aussi efficace, moins toxique et permet des doses plus fortes et des traitements sur des périodes plus courtes. Deux composés sont utilisés en thérapeutique : le stibogluconate de sodium (PENTOSTAM[®]) et l'antimoniate de méglumine (GLUCANTIME[®]) (Figure 24).



Figure 24 : Le stibogluconate de sodium (PENTOSTAM®) et l'antimoniate de méglumine (GLUCANTIME®)

⁶⁷ J. Mishra et al., Curr. Med. Chem., 2007, 14, 1153-1169.

⁶⁸ S. L. Croft *et al.*, *Curr. Pharm. Des.*, **2002**, *8*, 319-342.

Le mécanisme d'action de ces dérivés n'est pas encore clairement établi. Certains avancent l'hypothèse que l'antimoine au degré V est réduit *in vivo* sous sa forme III qui présente une forte toxicité sur les amastigotes.⁶⁹ Des études ont montré que les antimoniés pentavalents possédaient plusieurs cibles métaboliques. Ils inhiberaient la glycolyse réduisant la production de NADH ce qui empêcherait la phosphorylation de l'ADP en ATP et conduirait à la mort du parasite. Ils pourraient également agir selon d'autres mécanismes comme la formation d'une liaison covalente avec l'entité ribose des nucléosides perturbant ainsi la synthèse des protéines. De nombreux cas de résistance aux antimoniés ont été reportés en Inde⁷⁰ où le traitement a échoué sur des patients porteurs de souches de *L. donovani*.

3.3.1.1.2-La pentamidine

La famille des diamidines a été découverte fortuitement en 1939 lorsque Lourie et Yorke⁷¹ recherchaient des produits hypoglycémiants. Le représentant le plus prometteur de la famille, la pentamidine, a montré une relative stabilité et une bonne activité sur les parasites *L. donovani* (Figure 25).



Figure 25 : Structure de la pentamidine

La pentamidine (ou plus exactement l'iséthionate de pentamidine, PENTACARINA[®]) agit directement au niveau de la mitochondrie du parasite en bloquant la réplication et la transcription comme ont pu le confirmer Basselin *et al.*.⁷² Les deux groupes amidiniums terminaux formeraient des liaisons hydrogènes et des complexes entre les bases du bras mineur de l'ADN.

La pentamidine est particulièrement utile lorsque la leishmaniose ne répond pas aux antimoniés et a montré de bons résultats dans le traitement de la leishmaniose viscérale et cutanée mais elle est surtout utilisée aujourd'hui pour la prophylaxie et le traitement des

⁶⁹ M. A. Franco et al., Am. J. Trop. Med. Hyg., 1995, 52, 435-437.

⁷⁰ M. K. Mittal *et al.*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **2007**, *76*, 681-688.

⁷¹ J. C. Macharia *et al.*, *Acta Trop.*, **2004**, 92, 267-272.

⁷² M. Basselin et al., Antimicrob. Agents Chemother., 2002, 46, 3731-3738.

pneumonies à *Pneumocystis jirovecii* qui constituent la complication infectieuse la plus fréquente au cours du SIDA.

3.3.1.1.3-L'amphotéricine B et ses formulations lipidiques

L'amphotéricine B est une molécule d'origine naturelle à structure polyénique. C'est le traitement de choix pour les infections fongiques, elle est plutôt utilisée en deuxième intention pour les leishmanioses (Figure 7).

L'amphotéricine B perturbe les cellules du parasite par des interactions avec les stérols et les phospholipides membranaires. Cette action entraîne une modification de la perméabilité de la membrane parasitaire et donc une perte de substances vitales provoquant une mort cellulaire.⁷³

Cependant l'amphotéricine B présente un inconvénient majeur : son manque de sélectivité et sa faible solubilité dans les liquides biologiques. Elle ne peut être administrée que par voie intraveineuse. Initialement, elle était préconisée pour le traitement des leishmanioses viscérales. De nouvelles formulations liposomales (AmBisome[®])⁷⁴ ont été mises au point pour réduire sa toxicité et ont permis d'étendre son utilisation aux leishmanioses viscérales résistantes aux antimoniés et à la pentamidine. AmBisome permet grâce à sa formulation de cibler préférentiellement les phagocytes et de délivrer la molécule active au dernier moment. Une prodrogue soluble dans les milieux aqueux, le KY62, a été mise au point et évaluée.⁷⁵ Elle a montré une forte activité à des doses plus faibles que l'amphotéricine B sur des modèles murins de leishmaniose cutanée et viscérale. Toutefois, le coût élevé de préparation de ces formulations n'est pas adapté pour les populations concernées par cette maladie. L'amphotéricine B a donc vu son utilisation réduite.

3.3.1.1.4-La paromomycine (Aminosidine)

La paromomycine est un antibiotique de la famille des aminosides. Il a longtemps été utilisé dans les infections bactériennes et ce n'est que lors des trente dernières années que l'on a constaté son efficacité dans le traitement des leishmanioses. Il peut être utilisé seul ou en combinaison avec un antimonié (Figure 26).

⁷³ V. Yardley *et al.*, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2000**, *13*, 243-248.

⁷⁴ J. Adler-Moore *et al.*, J. Antimicrob. Chemother., **2002**, 49, 21-30.

⁷⁵ H. M. Al-Abdely et al., Antimicrob. Agents Chemother., **1998**, 42, 2542-2548.



Figure 26 : Structure de la paromomycine

Elle agit sur la synthèse et le recyclage des constituants lipidiques de la membrane et entraîne une altération des propriétés de la membrane des parasites (rigidité et perméabilité). A l'heure actuelle, cette molécule n'est plus indiquée pour le traitement des leishmanioses en Europe. Elle reste toutefois utilisée en Inde dans le traitement du Kala-azar.⁷⁶

3.3.1.2-Les antileishmaniens administrés par voie orale

Tous les traitements énoncés jusqu'ici étaient administrés par voie parentérale. Il est facile de se rendre compte que, dans des pays où le SIDA fait des ravages à cause de l'échange de seringues usagées et des rapports sexuels non protégés, un traitement par voie orale est préférable. Plusieurs molécules ont été mises au point pour éviter les problèmes de co-infection.

3.3.1.2.1-Les azolés

Le parasite synthétise plusieurs familles de stérols essentiels à la prolifération cellulaire et à sa survie. On retrouve souvent des dérivés de l'ergostérol. L'inhibition de la biosynthèse des stérols par des médicaments administrables par voie orale était donc un défi. Ainsi en rapprochement avec la recherche sur les antifongiques, plusieurs azolés comme le kétoconazole et l'itraconazole ont été testés sur *Leishmania* et ont montré une activité intéressante.^{77,78}

⁷⁶ S. Sundar et al., N. Engl. J. Med., **2007**, 356, 2571-2581.

⁷⁷ M. A. Vannier-Santos *et al.*, *J. Eukaryot. Microbiol.*, **1995**, *42*, 337-346.

⁷⁸ F. Raffi et al., Clin. Infect. Dis., **1995**, 21, 1338-1339.

Le site actif de la lanostérol 14α -déméthylase (ou CYP51) possède une porphyrine plane ayant en son centre un noyau de fer. Par l'intermédiaire d'un des atomes d'azote de leur cycle imidazole ou triazole, ces inhibiteurs créent une coordination supplémentaire avec l'atome de fer de CYP51, empêchant ainsi la déméthylation des stérols et la synthèse de l'ergostérol. Le kétoconazole est globalement bien toléré même si quelques effets digestifs et cutanés sont possibles. L'itraconazole possède une hépatotoxicité beaucoup plus faible que le kétoconazole.

Ces deux molécules ont été utilisées avec succès dans des cas de leishmanioses cutanées. Cependant les réponses sont assez divergentes selon le type de parasite mis en cause. Les études menées sur des cas de leishmanioses viscérales restent contradictoires lorsque les conazolés sont utilisés en monothérapie.^{79,80}

3.3.1.2.2-Les analogues de la purine

Le parasite ne possède pas de propre voie métabolique de synthèse de la purine. L'inhibition d'enzymes parasitaires intervenant dans la cascade de prélèvement de la purine (principalement des phosphotransférases) permettrait de réduire l'approvisionnement du parasite et donc son développement. Ainsi, l'allopurinol (analogue de l'hypoxanthine) inhibe la synthèse de l'ARN par action d'un métabolite sur l'adényl succinate synthase ou l'adényl phosphoribosyl transférase des leishmanies.⁸¹ D'autres structures telles que l'acide mycophénolique⁸² ou la formycine B⁸³ ont un mécanisme d'action similaire. Elles se lient à l'ARN ou inhibent la synthèse du GTP et perturbent le fonctionnement métabolique du parasite (Figure 27).

⁷⁹ S. L. Croft *et al.*, *Trends Parasitol.*, **2003**, *19*, 502-508.

⁸⁰ S. Singh et al., J. Infect. Chemother., **2004**, 10, 307-315.

⁸¹ R. A. Neal *et al.*, *R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **1985**, 79, 122-128.

⁸² F. Dobie et al., Mol. Biochem. Parasitol., **2007**, 152, 11-21.

⁸³ L. L. Nolan *et al.*, *Biochem. Int.*, **1984**, *9*, 207-218.



Figure 27 : Analogues de la purine

3.3.1.2.3-Les alkylphosphocholines

Le représentant majeur de cette famille de molécules est la miltéfosine (Figure 28). Initialement conçues pour le traitement du cancer, la miltéfosine et l'ilmofosine ont montré une activité prometteuse sur des souches de *L. donovani*. Elles agiraient selon plusieurs mécanismes d'action comme la perturbation du métabolisme des phospholipides^{84,85} et l'inhibition de la synthèse de la phosphatidylcholine.⁸⁶ Elles inhiberaient aussi les acyltransférases et la protéine kinase C.⁸⁷



Figure 28 : Structure des deux principales alkylphosphocholines

La miltéfosine est le seul agent administré par voie orale ayant montré une activité sur les leishmanioses cutanées et viscérales bien qu'elle présente de sérieux problèmes gastrointestinaux.^{88,89} Elle est utilisée en Inde pour les leishmanioses viscérales.

⁸⁴ M. Rakotomanga et al., Antimicrob. Agents Chemother., 2007, 51, 1425-1430.

⁸⁵ R. Lira et al., J. Antimicrob. Chemother., 2001, 47, 537-546.

⁸⁶ R. M. Santa-Rita *et al.*, *Acta Trop.*, **2000**, 75, 219-228.

⁸⁷ S. Azzouz *et al.*, *J. Parasitol.*, **2006**, *92*, 877-883.

⁸⁸ J. Soto et al., Clin. Infect. Dis., **2004**, 38, 1266-1272.

⁸⁹ R. Prasad et al., Indian J. Pediatr., 2004, 71, 143-144.

3.4-Pistes étudiées en recherche

Aujourd'hui plus de 25 composés et formulations ont montré une activité antileishmanienne. La plupart de ces médicaments possèdent une ou plusieurs limitations à leur développement. Leur toxicité, leur mode d'administration, les traitements à long terme et les coûts inabordables pour les populations concernées sont autant d'inconvénients qui freinent l'usage de ces molécules. A ceci s'ajoutent encore les cas de patients co-infectés VIH/*Leishmania* dont les traitements sont plus complexes.

De plus, le problème majeur reste la résistance du parasite aux traitements proposés. Par conséquent il existe un réel besoin de développer de nouveaux agents antileishmaniens avec une forte activité sur plusieurs espèces de parasites, une administration par voie orale, un faible coût et une toxicité réduite.

Le parasite *Leishmania* est, comme nous l'avons vu, présent sous deux formes. Pour faire face aux attaques de l'organisme hôte, il a su mettre en place tout un arsenal enzymatique capable de lui apporter les éléments nécessaires à son développement. Ainsi, son métabolisme est complexe et fait intervenir plusieurs voies. Il est donc très difficile de choisir une voie métabolique par rapport à une autre. De plus, le parasite est en constante évolution et s'adapte à la multitude de composés que les pharmacochimistes et les biologistes ont imaginés pour limiter sa croissance. Ceci complique encore le problème et nécessite une perpétuelle réaction des chercheurs pour trouver des médicaments actifs mais aussi sélectifs sur une cible donnée. L'objectif est d'isoler une molécule active sur le parasite et possédant une faible toxicité réduite sur les cellules humaines. Plusieurs familles de composés ont ainsi été développées lors de ces dernières années.

Récemment, plusieurs travaux de recherche ont été menés sur l'étude des kinases parasitaires. Ces enzymes classiquement impliquées chez l'humain dans le développement cellulaire anarchique de cellules cancéreuses sont largement étudiées. De nombreux groupes de recherche ont également montré que l'inhibition de la Protéine Kinase C (PKC) ou de la kinase dépendante des cyclines CDK1 pouvait également conduire à une diminution de la prolifération du parasite.

La PKC intervient dans de nombreux mécanismes de contrôle. Il s'agit d'une protéine de phosphorylation qui utilise l'ATP comme source de phosphate. La PKC parasitaire intervient dans le phénomène de phagocytose facilitée puis dans la phosphorylation d'enzymes clés dans les processus de défense à l'intérieur du phagolysosome. Il a été montré que des imidazolin-2-ones inhiberaient l'action de la PKC parasitaire, son expression et sa

capacité d'infection du macrophage. Ces structures sont par ailleurs actives dans des modèles de leishmanies murines cutanées et viscérales.⁹⁰

Une autre classe de kinases est impliquée dans le développement cellulaire, les kinases dépendantes des cyclines et notamment la CDK1. Cette enzyme a pour rôle de contrôler le processus d'entrée en phase de mitose lors du cycle cellulaire. En présence de cycline, le site actif de l'enzyme s'ouvre, facilitant l'accès de l'ATP à sa poche spécifique. Il a été montré que le gène CRK3 code pour l'enzyme CDK1 chez *Leishmania*.⁹¹ Il intervient dans le développement au stade parasitaire.

⁹⁰ N. Alvarez et al., J. Enz. Inhib. Med. Chem., 2002, 17, 443-447.

⁹¹ K. M. Grant *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 10153-10159.

4-Les kinases fongiques et parasitaires

4.1-Les kinases fongiques

Le problème posé par la résistance clinique aux médicaments antifongiques azolés a été clairement souligné lors de plusieurs études transversales.⁴⁴ Contrairement aux lignées tumorales, chez *Candida* par exemple, l'implication de protéines des cascades de signalisation dans le phénomène de résistance a été peu explorée. Des résultats préliminaires obtenus par l'équipe IICiMed ainsi que ceux publiés par LaFayette *et al.* montrent que l'utilisation d'un inhibiteur spécifique de PKC et des MAP kinases Erk1/2 restaure la sensibilité de plusieurs souches de *C. albicans* aux azolés.⁹²

Chez *C. albicans*, la formation de l'hyphe et la croissance invasive sont régulées par différentes protéines kinases, notamment la protéine kinase A (PKA), la cascade des MAP kinases, et la kinase polo-like.⁹³ L'inhibition de ces kinases représente une stratégie de choix dans l'étude et la mise au point de traitements à visée antifongique.

Dans cette optique, de nombreuses protéines kinases sont étudiées : l'aspartate kinase,⁹⁴ l'histidine kinase,⁹⁵ les protéines CDK,⁹⁶ la CaCiv1 kinase,⁹³ les MAP kinases⁹⁷ et la protéine kinase C.⁹⁸ Notre intérêt se focalise sur les MAP kinases et la PKC, protéines kinases intervenant dans l'intégrité cellulaire, la réponse au stress osmotique, la morphogenèse et la croissance chez *C. albicans*.

4.1.1-Les MAP kinases fongiques

Les MAPKs sont conservées dans le règne fongique et ont été explorées à travers *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*⁹⁹ ou encore *Cryptococcus neoformans*. Elles ont un rôle majeur dans le sensing et l'adaptation à l'environnement (stress). Ces stress incluent les changements de température, le stress ionique, les changements d'osmolarité, le stress oxidatif et la modification de la membrane après traitement aux azolés.^{100,101} Ces stress sont

⁹² S. L. LaFayette *et al.*, *PLoS Pathog.*, **2010**, *6*, 1-23.

⁹³ F. Bordon-Pallier *et al.*, *BBA*, **2004**, *1697*, 211-223.

⁹⁴ D. C. Bareich et al., Chem. Biol., 2003, 10, 967-973.

⁹⁵ R. J. Deschenes et al., Antimicrob. Agents Chemother., **1999**, 43, 1700-1703.

⁹⁶ Y. Miyakawa et al., Yeast, **2000**, 16, 1045-1051.

⁹⁷ F. Navarro-Garcia et al., Microbiology, **1998**, 144, 411-424.

⁹⁸ G. Paravicini et al., Yeast, **1996**, 12, 741-756.

⁹⁹ R. Alonso Monge *et al.*, *Microbiology*, **2006**, *152*, 905-912.

¹⁰⁰ R. D. Cannon *et al.*, *Microbiology*, **2007**, *153*, 3211-3217.

¹⁰¹ L. A. Walker *et al.*, *PLOS pathogens*, **2008**, *4*, 1-12.

traduits à travers une diversité de récepteurs membranaires mais obtiennent des réponses à travers le réseau des MAPKs (Figure 29).



Figure 29 : Réseau de réponse au stress chez C. albicans¹⁰⁰

Les études faites chez la levure *S. cerevisiae* ont montré qu'il existe cinq voies de signalisation basées sur l'activation de la cascade de MAPK, constituées de modules de trois kinases très conservées chez les eucaryotes. La Fus3 et Kss1 MAPKs sont similaires aux kinases ERK1/2 chez l'homme, la Hog1 MAPK s'apparente plus à la kinase p38, quant à la Slt2, elle pourrait s'identifier à ERK5 chez l'homme (Figure 30).¹⁵



Figure 30 : Implication des MAP kinases : *Saccharomyces cerevisiae* (noir), *Candida albicans* (rose), *Cryptococcus neoformans* (vert)¹⁶

De même, chez *C. albicans* comme le montre la figure 31, la Cek2 et Cek1 MAPKs ressemblent aux kinases ERK1/2 chez l'homme, la Hog1 MAPK s'apparente plus à la kinase p38, quant à la Mkc1, elle pourrait aussi s'assimiler à ERK5 chez l'homme.¹⁵



Figure 31 : Voie des MAP kinases et de la voie de la protéine kinase C chez la levure¹⁵

La voie (Mkc1) est principalement impliquée dans l'intégrité de la paroi cellulaire, l'adaptation au stress et la croissance invasive. Quant à celle de Hog1, elle participe à la biogenèse, à la réponse au stress osmotique et à la formation de la paroi cellulaire alors que la voie Cek1 sert principalement à la prolifération et à la filamentation. Ainsi, les voies MAPK représentent un système multienzymatique très attractif pour la découverte de nouveaux traitements antifongiques.

La filamentation peut être due, comme nous l'avons vu précédemment, à l'implication des MAPKs. La morphologie unicellulaire de *C. albicans* présente certains avantages qui lui permettent de se disséminer à travers le système sanguin. La filamentation est aussi importante pour l'invasion permettant de pénétrer les tissus. La filamentation et les biofilms présentent un obstacle physique pour la phagocytose (Figure 32). En effet, les levures se développent préférentiellement en adhérant à un substrat formant ainsi un biofilm. Cette formation confère aux microorganismes qui s'y développent des propriétés spécifiques

notamment de résistance aux antifongiques. C'est pourquoi de nombreuses études sont menées pour lutter contre ces biofilms.



Figure 32 : Rôle des MAPKs dans la filamentation¹⁶

En ce qui concerne les champignons filamenteux, la paroi cellulaire d'*A. fumigatus* a été étudiée comme cible potentielle pour le développement de nouveaux antifongiques. La cascade des MAPK régule divers processus cellulaires en réponse à des signaux extracellulaires.¹⁰² La MAPK (MpkA) joue un rôle essentiel intervenant dans l'intégrité de la paroi cellulaire.¹⁰³

4.1.2-La protéine kinase C fongique (PKC)

Chez la levure *S. cerevisiae*, la protéine kinase C est impliquée dans la réponse à une large variété de stress incluant les stress nutritionnel et osmotique. L'activation de la voie de signalisation MAPK dépendante de Pkc1, la protéine kinase C chez *S. cerevisiae*, intervient suite à des stress pariétaux, des stress thermiques, des mutations de gènes de la paroi ainsi que par des agents perturbant l'assemblage de la paroi.¹⁰⁴

L'homologie de *S. cerevisiae* avec *C. albicans* a facilité l'identification et la caractérisation d'une voie de transduction équivalente chez ce dernier dans lequel les composantes clés Pkc1 et Mkc1 sont aussi présentes (Figure 33).

¹⁰² N. Rispail *et al.*, *Fungal Genet. Biol.*, **2009**, *46*, 287-298.

¹⁰³ R. Jain *et al.*, *Mol. Microbiol.*, **2011**, 82, 39-53.

¹⁰⁴ J. J. Heinisch, *BBA*, **2005**, *1754*, 171-182.



Figure 33 : Voie Pkc1 chez C. albicans¹⁰⁵

Sous des conditions de stress environnemental, la Mkc1 est activée par phosphorylation par la Pkc1. Puis, cette dernière active les facteurs de transcription Efg1, Czf1 et Bcr1 par différentes façons pour la morphogenèse chez *C. albicans*.¹⁰⁵

La PKC régule l'intégrité de la paroi cellulaire durant la croissance, la morphogenèse et la réponse au stress. La déficience pharmacologique ou génétique de Pkc1 confère une hypersensibilité à de multiples médicaments qui agissent sur la biosynthèse de l'ergostérol, comme les azolés.⁹² Cette approche associant d'une part les médicaments azolés et d'autre part des inhibiteurs de PKC pourrait être intéressante.

Par ailleurs, les PKCs ont été isolées pour d'autres pathogènes incluant les champignons filamenteux.¹⁰⁶ Chez *A. nidulans*, le gène codant pour la PKC est essentiel à la survie du champignon.¹⁰⁷ Comme nous l'avons vu, la voie pour l'intégrité de la paroi cellulaire a bien été caractérisée chez *S. cerevisiae*. Elle est contrôlée par la PKC et les MAPKs. Chez *Aspergillus*, les gènes intervenant dans cette voie sont conservés comme pour *S. cerevisiae*.¹⁰⁸

4.2-Les kinases chez Leishmania

Dans le domaine de la parasitologie, nombreux sont les axes de recherche concernant l'interaction entre l'agent pathogène et son hôte, mais il existe peu de données sur les voies de signalisation déclenchées à l'intérieur des cellules parasitaires et sur leurs fonctions intimes en termes de prolifération et de processus infectieux. L'étude de la littérature met en évidence

¹⁰⁵ S. Biswas et al., Microbiol. Mol. Biol. Rev., 2007, 71, 348-376.

¹⁰⁶ G. Mircus et al., J. Antimicrob. Chemother., **2009**, 64, 755-763.

¹⁰⁷ M. Ichinomiya et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., 2007, 71, 2787-2799.

¹⁰⁸ J. Kim et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 2008, 372, 266-271.

des travaux parcellaires qui ne permettent pas à l'heure actuelle d'obtenir une vision complète de l'identité biochimique, immunologique et de la fonction des protéines kinases chez les protozoaires.

En 2005, une étude a permis d'établir le kinôme de certains protozoaires¹⁰⁹ comme *L. major* et de définir pour cette dernière, 179 protéines kinases représentant environ un tiers du kinôme humain. Les familles STE et CMGC de protéines kinases ont pu être observées, celles-ci étant impliquées dans la régulation du cycle cellulaire, la différenciation et la réponse au stress. Récemment, des recherches de nouvelles cibles thérapeutiques se focalisent sur les voies biochimiques et métaboliques essentielles dans la survie du parasite.¹¹⁰

4.2.1-Les kinases cyclines-dépendantes (CDKs)

Les CDKS jouent un rôle crucial dans la division cellulaire, la transcription, l'apoptose et la différenciation. L'analyse du génome a reporté 10 cyclines orthologues chez l'espèce *Leishmania*. Chez *L. major*, il en existe une de plus (CYCA). Les CDKs afin d'être activées doivent s'associer avec une protéine régulatrice (la cycline). CRK3, une enzyme essentielle lors de la phase G2/M du cycle cellulaire, est responsable de la survie et de la croissance du parasite.¹¹¹ Chez *L. mexicana*, les inhibiteurs de CRK3 altèrent la viabilité du parasite à l'intérieur du macrophage.¹¹²

4.2.2-Les MAP kinases

Chez *L. mexicana*, 15 MAPKs ont été identifiées et sont impliquées dans la transformation et la croissance cellulaire.^{113,114} Les MAPKs ne sont pas seulement importantes pour les amastigotes mais aussi pour les promastigotes. En effet, elles jouent un rôle important pour les promastigotes ; leur délétion entraîne une perte d'activité après leur transformation en amastigotes pour la prolifération. La preuve directe vient du fait d'une étude *in vitro* sur la surexpression de la MAPK *Leishmania major* montrant une activité phosphotransférase et l'accumulation d'amastigotes et non de promastigotes.¹¹⁵ La kinase LmxMAPK4 de *L. mexicana* a également révélé être essentielle lors de la prolifération et la

¹⁰⁹ C. Naula *et al.*, *BBA*, **2005**, *1754*, 151-159.

¹¹⁰ N. Singh et al., Asian Pac. J. Trop. Med., **2012**, 485-497.

¹¹¹ L. A. T. Cleghorn et al., Chem. Med. Chem., 2011, 6, 2214-2224.

¹¹² K. M. Grant et al., Antimicrob. Agents Chemother., 2004, 48, 3033-3042.

¹¹³ M. Wiese *et al.*, *Int. J. Parasitol.*, **2007**, *37*, 1053-1062.

¹¹⁴ M. J. Brumlik *et al.*, *J. Signal Transduct.*, **2011**, 1-16.

¹¹⁵ M. A. Morales et al., Int. J. Parasitol., 2007, 37, 1187-1199.

survie des formes amastigotes et promastigotes.¹¹⁶ Une étude a également montré que la résistance aux composés antimoniés était associée à une sous-régulation de la MAPK1 chez *L*. *donovani*.¹¹⁷

4.2.3-La protéine kinase C (PKC)

Le Laboratoire de Parasitologie de l'équipe IICiMed de Nantes a démontré que *L. mexicana* possède une activité protéine kinase C et que celle-ci était largement impliquée dans l'interaction protozoaire-macrophage.¹¹⁸ Par ailleurs, cette activité PKC intervient dans la régulation de nombreux processus tels que le cycle cellulaire du parasite. Des imidazolidin-2-ones ont aussi montré une activité antileishmanienne à travers l'inhibition de l'activité PKC et du processus d'invasion de la cellule hôte par le parasite.⁹⁰ L'inhibition de l'activité phosphorylante de cette protéine kinase semble donc être une voie à privilégier dans la recherche de nouveaux médicaments contre les leishmanioses.

4.2.4-La caséine kinase 1 (CK1)

Il a été montré que les promastigotes de *L. major* possédaient des ecto-protéines kinases qui sont capables de phosphoryler à la fois des substrats endogènes et des protéines étrangères. Ces parasites phosphorylent les sulfates de protamine ainsi que la caséine. Sacerdoti-Sierra *et al.*¹¹⁹ ont alors identifié la protéine kinase CK1 en examinant la phosphorylation de peptides spécifiques à CK1. CK1 a aussi été identifiée chez *L. mexicana* et l'inhibition de la prolifération du parasite a montré que CK1 pouvait être une cible intéressante.¹²⁰ Une étude a confirmé les différences structurales entre les enzymes CK1 de l'hôte et du parasite. Ceci permet d'envisager des inhibiteurs de CK1 comme agents antiparasitaires.¹²¹ Il a été suggéré que cette kinase jouait un rôle important dans l'interaction hôte-parasite, peut-être par phosphorylation des protéines de l'hôte pour faciliter le processus d'invasion. Alloco *et al.* ont reporté que des inhibiteurs de CK1 de type imidazopyridine et pyrrole bloquaient la croissance des promastigotes de *L. major in vitro.*¹²²

¹¹⁶ P. Saravanan *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 5662-5670.

¹¹⁷ Ashutosh et al., Antimicrob. Agents Chemother., **2012**, 56, 518-525.

¹¹⁸ N. Alvarez-Rueda *et al.*, *PLoS ONE*, **2009**, *4*, e7581.

¹¹⁹ N. Sacerdoti-Sierra et al., J. Biol. Chem., **1997**, 272, 30760-30765.

¹²⁰ M. Knockaert et al., Chem. Biol., 2000, 7, 411-422.

¹²¹ R. G. K. Donald et al., Mol. Biochem. Parasitol., 2005, 141, 15-27.

¹²² J. J. Allocco et al., Int. J. Parasitol., 2006, 36, 1249-1259.

5-Stratégie d'inhibition des protéines kinases

Comme nous l'avons vu précédemment, la dérégulation de l'activité kinasique peut être à l'origine de nombreuses pathologies. L'inhibition de ces enzymes est donc devenue un des plus importants sujets de recherche actuel et différentes stratégies ont été mises en place ces dernières années grâce notamment à la connaissance de leur organisation structurale. Plusieurs types d'inhibiteurs existent les inhibiteurs de type I, de type II, covalents ou allostériques.

Actuellement, la majorité des inhibiteurs de type I utilisés en clinique sont des mimes de l'un des substrats de l'enzyme : l'ATP. Ces molécules ciblent la kinase dans une conformation active. Elles agissent comme des leurres, se fixent dans son site catalytique et l'empêchent de progresser dans sa réaction de phosphorylation. Idéalement, ces inhibiteurs possèdent une structure polyhétérocyclique capable de reproduire les interactions fondamentales par liaisons hydrogène qu'effectue le noyau adénine de l'ATP sur l'enzyme (« hinge region »). Toutefois, les caractéristiques essentielles du site de fixation de l'ATP des kinases étant conservées, un même composé peut se fixer de manière similaire sur différentes kinases et aboutir à une inhibition indésirable, par manque de sélectivité.

Des études cristallographiques ont été menées sur le site de fixation de l'ATP sur des kinases activées.¹²³ Celles-ci ont révélé les cinq grandes régions suivantes (Figure 34) :

- une zone de fixation (en bleu) où le noyau adénine se lie à la kinase par deux liaisons hydrogènes,

- une région du ribose (en violet),

- une région des groupements phosphates (en vert),

- une poche hydrophobe spécifique (en orange) non-occupée par l'ATP qui peut différer structurellement d'une kinase à l'autre. Son accessibilité est gouvernée par l'encombrement stérique d'un acide aminé particulier appelé « gate-keeper » (en noir),

- une région accessible au solvant (en jaune) également non-occupée par l'ATP qui est orientée vers l'extérieur du site actif.

¹²³ P. Traxler et al., Pharmacol. Ther., **1999**, 82, 195-206.



Figure 34 : Régions présentes dans le site de fixation de l'ATP

A partir de là, les laboratoires ont cherché à mettre en place des inhibiteurs ATPcompétitifs capables, dans un premier temps, d'interagir avec la protéine au niveau de la zone de fixation et, dans un deuxième temps, d'occuper les régions non occupées par l'ATP (poche hydrophobe spécifique et région accessible au solvant).

Une deuxième stratégie peut également consister à cibler le site de liaison à l'ATP de certaines kinases et une poche adjacente créée lorsque la boucle d'activation est dans une conformation inactive « DFG-out ». N. Gray¹²⁴ a ainsi proposé une stratégie générale pour créer de telles structures chimiques en greffant des substituants hydrophobes sur un scaffold hétérocyclique aromatique capable de reconnaître le site de liaison à l'ATP (quinazolines, pyrimidines, purines, imidazoles, pyrazoles, oxindole …). Ces inhibiteurs de type II sont généralement plus puissants et plus sélectifs¹²⁵ que les inhibiteurs plus classiques de type I. Cette sélectivité accrue pourrait s'expliquer d'une part par le fait que les kinases cibles doivent posséder un motif DFG dont la conformation est compatible avec ce type d'inhibition et d'autre part que les acides aminés composant cette poche adjacente sont moins conservés que ceux ciblant uniquement le site ATP.

Tout comme les inhibiteurs de type I, les inhibiteurs covalents agissent sur la forme active de la kinase (« DFG-in ») mais, une fois liés au site de liaison à l'ATP, créent une liaison covalente irréversible supplémentaire, le plus fréquemment avec une cystéine nucléophile du site actif.¹²⁶ Un grand nombre d'enzymes pourrait être ciblé par cette stratégie même si le principe de l'irréversibilité peut conduire à une toxicité non souhaitée.

¹²⁴ Y. Liu et al., Nat. Chem. Biol., 2006, 2, 356-364.

¹²⁵ C. Pargellis et al., Nat. Struct. Mol. Biol., 2002, 9, 268-272.

¹²⁶ M. S. Cohen *et al.*, *Science*, **2005**, *308*, 1318-1321.

La classe d'inhibiteurs allostériques ne se fixe pas au sein du site de liaison à l'ATP mais au niveau du site allostérique. Cette liaison va moduler l'activité de la kinase de manière allostérique c'est-à-dire qu'en se fixant elle va induire un changement de conformation de la kinase la rendant inactive. Ce type d'inhibiteur présente le plus haut degré d'affinité vis-à-vis d'une kinase car il exploite un site de liaison et un mécanisme de régulation propre à chaque kinase. Ces inhibiteurs sont dits non ATP-compétitifs.

Notre approche s'est orientée vers des inhibiteurs de type I (ATP-compétitifs). Cependant, les structures cristallographiques des protéines kinases fongiques n'étant pas connues, aucune étude de docking n'a pu être effectuée. De nombreux travaux antérieurs ont été réalisés sur la mise au point d'inhibiteurs de MAP et PKC kinases. Ils possèdent des structures hétérocycliques mono- ou bicycliques généralement azotées. Comme inhibiteurs de la voie des MAP kinases, on pourra citer par exemple les imidazoles,¹²⁷ les anilinoquinazolines, les anilinopyrimidines (Figure 35).¹²⁸



Figure 35 : Structures d'inhibiteurs de la voie de transduction MAP kinases

¹²⁷ A. K. Takle et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2006, 16, 378-381.

¹²⁸ J. G. Cumming et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 14, 5389-5394.

La staurosporine ainsi que ses dérivés bisindolylmaléimides sont quant à eux des inhibiteurs ATP-compétitifs de la PKC et ont été très étudiés (Figure 36).¹²⁹



bisindolylmaléimides

Figure 36 : Structures d'inhibiteurs de la voie PKC

L'objectif des travaux est donc de concevoir des inhibiteurs ATP-compétitifs capables d'intéragir avec la protéine au niveau de la zone de fixation. C'est la raison pour laquelle la synthèse d'azahétérocycles de type imidazo[1,2-*a*]pyridine et imidazo[1,2-*a*]pyrazine a été envisagée. Initialement, deux séries d'imidazo[1,2-*a*]pyridines fonctionnalisées par des groupements amines, amides ou urées en position 2 ou 3 du noyau permettant ainsi d'avoir un enchaînement de groupes donneurs et accepteurs de liaisons hydrogènes nécessaire pour intéragir avec la protéine ont été développées.



Figure 37

En complément, la synthèse de la série 2,3-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridine a été envisagée par analogie avec des inhibiteurs de la voie des MAP kinases, comme les imidazoles.¹²⁷

¹²⁹ R. A. Bit et al., J. Med. Chem., **1993**, 36, 21-29.



Figure 38

Finalement, il nous ait paru intéressant afin d'améliorer l'activité pharmacologique des composés d'introduire un atome d'azote sur le bicycle et donc de concevoir des composés de type imidazo[1,2-*a*]pyrazine. En effet, à la suite d'une étude de docking sur la structure cristallisée de GSK3, la synthèse d'imidazo[1,2-*a*]pyrazines substituées en position 6 par des groupements urées a révélé des interactions de type liaisons hydrogènes avec la zone de fixation de la protéine.



Figure 39

II-Partie théorique : Apercu bibliographique

1-Les imidazo[1,2-a]pyridines

Imidazopyridine est le terme qui désigne un système bicyclique aromatique avec un azote angulaire résultant de la fusion de la pyridine et de l'imidazole. Il existe deux isomères dont la structure varie en fonction de la position relative des azotes sur l'hétérocycle (Figure 40).



pyrazolo[1,5-a]pyridine

Figure 40

La pyrazolo[1,5-a]pyridine possède elle aussi un azote angulaire reliant le cycle pyridinique et le cycle pyrazole. Les sites privilégiés de fonctionnalisation du noyau imidazopyridinique dépendront du type de régioisomère travaillé. La nomenclature de ce noyau et sa numérotation sont détaillées sur la figure 41.



Figure 41 : Nomenclature du cycle imidazo[1,2-a]pyridine

L'objectif de notre étude de pharmacochimie consistera à synthétiser et à fonctionnaliser des dérivés imidazo[1,2-a]pyridines. Tout d'abord, les cibles et les applications thérapeutiques de ce type de composés, déjà décrits dans la littérature, seront présentées. Les voies d'accès à cet hétérocycle ainsi que sa réactivité seront également rappelées.

1.1-Applications en Chimie Thérapeutique des imidazo[1,2-a]pyridines

Grâce à la facilité de la synthèse de cet hétérocycle, à sa bonne stabilité ainsi qu'aux récentes méthodes développées de fonctionnalisation, les imidazo[1,2-*a*]pyridines ont fait l'objet de nombreuses publications, illustrant la diversité des propriétés pharmacologiques de ces dérivés.

1.1.1-Médicaments de type imidazo[1,2-a]pyridine commercialisés

Parmi les composés de type imidazo[1,2-*a*]pyridine, le zolpidem (STILNOX[®], Figure 42) a été le premier à être commercialisé et est utilisé pour le traitement de l'insomnie occasionnelle, transitoire ou chronique.¹³⁰ En 1991, l'alpidem, agissant comme ligand du récepteur aux benzodiazépines, a été mis sur le marché en tant qu'anxiolytique mais retiré rapidement en 1995 en raison d'une toxicité hépatique.¹³¹ La zolimidine, quant à elle, agit comme anti-ulcéreux et a été commercialisée notamment aux Etats-Unis et en Italie.¹³² Finalement, l'olprinone, inhibiteur de la phosphodiestérase III (PDE 3), est prescrit pour le traitement à court terme des insuffisances cardiaques au Japon.¹³³ Un autre composé, le SCH 28080, décrit comme un inhibiteur de la pompe à protons (IPP), dont l'action principale est une réduction prononcée et de longue durée (18 à 24 h) de la production d'acidité gastrique en agissant sur la pompe à protons, n'a pas été retenu après les essais cliniques à cause de sa toxicité hépatique chez les animaux (Figure 42).¹³⁴

¹³⁰ H. T. Swainston *et al.*, *CNS Drugs*, **2005**, *19*, 65-89.

¹³¹ A. Berson et al., J. Pharm. Exp. Ther., 2001, 299, 793-800.

¹³² L. Almirante *et al.*, *J. Med. Chem.*, **1965**, *8*, 305-312.

¹³³ T. Ueda *et al.*, *Curr. Vasc. Pharmacol.*, **2006**, *4*, 1-7.

¹³⁴ J. J. Kaminski et al., J. Med. Chem., **1987**, 30, 2047-2051.



Figure 42 : Structures des imidazo[1,2-*a*]pyridines commercialisées ou développées pour leurs potentialités thérapeutiques

1.1.2-Imidazo[1,2-a]pyridines comme inhibiteurs d'enzymes

Un inhibiteur enzymatique est une substance se liant à une enzyme et qui en diminue l'activité. L'inhibition des enzymes joue un rôle important dans le contrôle des mécanismes biologiques, et notamment dans la régulation des voies métaboliques.

1.1.2.1-Inhibition des kinases cyclines-dépendantes (CDKs)

Divers CDKs, des sérine/thréonine kinases qui phosphorylent le groupement hydroxyle d'une sérine ou d'une thréonine de leur substrat, sont impliquées dans la régulation du cycle cellulaire.¹³⁵ Les CDKs régulent la progression du cycle cellulaire et leurs dérégulations peuvent entraîner la prolifération anarchique des cellules tumorales. Il a notamment été démontré la surexpression des CDK4 dans le cas des cancers du sein, des poumons, du pancréas, la surexpression de CDK2 dans le cas des cancers du foie et des ovaires et la surexpression de CDK1 dans le cas de cancers du sein et de la muqueuse buccale.

Parmi les composés développés par les laboratoires Astra-Zeneca, le dérivé **1** a été identifié comme un inhibiteur de CDK4 avec une CI_{50} de 8 µM mais aussi comme un inhibiteur de CDK2 (Figure 43, Tableau 3).¹³⁶ Une série d'analogues a alors été synthétisée et évaluée. Les composés **4** et **5** présentent une augmentation de l'activité inhibitrice vis-à-vis de CDK2 et CDK4, avec des CI_{50} submicromolaires.

¹³⁵ C. H. Golias et al., Int. J. Clin. Pract., 2004, 58, 1134-1141.

¹³⁶ M. Anderson et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2003, 13, 3021-3026.



Figure 43 : Structures d'imidazo[1,2-a]pyridines, inhibiteurs potentiels de CDKs

Composés	R	$CI_{50}\ CDK2\ (\mu M)$	$CI_{50}\ CDK4\ (\mu M)$
1	Н	4	8
2	COCH ₃	2,9	8,9
3	Ph	0,036	3,6
4	$p(H_2NSO_2)Ph$	< 0,003	2,5
5	<i>p</i> [Me ₂ NCH ₂ CH(OH)CH ₂ O]Ph	0,032	0,15

Tableau 3

1.1.2.2-Inhibition de PI3K

Les PI3K constituent une famille d'enzymes à activité lipide kinase ou sérine/thréonine protéine kinase.¹³⁷ Elles jouent un rôle dans la régulation de la survie, la prolifération, la croissance, la migration, le métabolisme, le trafic intracellulaire ou encore la morphologie cellulaire et sont fréquemment dérégulées dans les cancers. Certaines imidazo[1,2-a]pyridines convenablement substituées en position 3 ont été brevetées comme inhibiteurs potentiels de PI3K de sous-type p110a. Le composé 6 a une activité dix fois supérieur à l'inhibiteur connu LY294002 (Figure 44).¹³⁸

 ¹³⁷ R. Wetzer *et al.*, *Curr. Pharm. Des.*, **2004**, *10*, 1915-1922.
¹³⁸ M. Hayakawa *et al.*, *brevet*, **2002**, US 20020151549.


Figure 44 : Structure de l'imidazo[1,2-*a*]pyridine **6** et du LY 294002, inhibiteur potentiel de PI3K (p110α)

1.1.2.3-Inhibition de GSK3

GSK3 est une sérine/thréonine kinase, décrite tout d'abord comme une enzyme inhibitrice de la « Glycogen Synthase » (GS) par phosphorylation. Il a ensuite été montré que cette enzyme joue également un rôle au niveau d'autres substrats phosphorylés. GSK3 est elle-même inhibée par l'insuline, ce qui diminue la phosphorylation de la GS et ainsi augmente son activité.¹³⁹ Des inhibiteurs de GSK3 représentent ainsi une autre voie pour traiter le diabète de type 2. Des inhibiteurs ayant pour cible le site de liaison de l'ATP sur GSK3 ont été développés telle que la staurosporine. Astra-Zeneca a reporté que la 3-(pyrimidin-4-yl)imidazo[1,2-a]pyridine inhibait GSK3. Quant au laboratoire Eli Lilly, l'évaluation des composés bisarylmaléimides fonctionnalisés avec le noyau imidazo[1,2alpyridine a révélé des CI₅₀ de l'ordre de 1,1 à 5,2 µM contre 56 µM pour la staurosporine.^{140,141} Néanmoins, ces composés ont montré une biodisponibilité par voie orale modérée (Figure 45).

¹³⁹ S. Frame *et al.*, *Mol. Cell*, **2001**, *7*, 1321-1327.
¹⁴⁰ T. A. Engler *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3934-3937.

¹⁴¹ T. A. Engler et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2005, 15, 899-903.





1.1.3-Imidazo[1,2-a]pyridines comme ligands

Un ligand est une molécule qui se lie de manière réversible sur une macromolécule cible, protéine ou acide nucléique, avec en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude des protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans sa ou ses fonctions.

1.1.3.1-Inhibition de ALK-5

ALK-5 est un récepteur de type I du TGF- β (tumor growth factor β).¹⁴² Ces récepteurs sont des protéines dimériques transmembranaires dont les domaines cytosoliques exercent une activité de sérine/thréonine kinase. Les inhibiteurs d'ALK-5 sont importants dans le traitement des cancers et des fibroses.

¹⁴² J. M. Yingling et al., Nat. Rev. Drug Discov., 2004, 3, 1011-1022.

Deux dérivés imidazo[1,2-*a*]pyridines **7** et **8**¹⁴³ont révélés des CI_{50} respectives de 11 et 15 nM comme modulateurs des récepteurs ALK-5 et des CI_{50} de 125 et 127 nM vis-à-vis de l'activité cellulaire de TGF- β (Figure 46, Tableau 4).



Figure 46 : Structures des imidazo[1,2-a]pyridines, inhibiteurs potentiels de ALK-5

Composés	R ₁	\mathbf{R}_2	CI ₅₀ ALK-5 (nM)	Activité cellulaire CI ₅₀ TGF-β (nM)
7	Н	SO_2CH_3	11	125
8	CH ₃	,r ^a r ^a O NH	15	127

Tableau 4

1.1.3.2-Inhibition de KDR

Les récepteurs du facteur de croissance vasculaire VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor) sont des acteurs très importants pour l'angiogenèse et constituent une cible très intéressante pour le traitement des tumeurs solides.¹⁴⁴ Les recherches fondamentales sur ce récepteur et ses voies de transduction intracellulaires ont donné naissance à deux types de médicaments : les anticorps monoclonaux et les inhibiteurs des tyrosines kinases associées au récepteur du VEGF. Cette inhibition entraîne le blocage des voies de la transduction intracellulaire à partir de l'EGFR-1/flt-1 et du VEGFR-2/KDR/flk1 qui inhibent les plus puissants facteurs angiogéniques connus, à ce jour.

¹⁴³ N. Dodic et al., Compounds, brevet, **2004**, WO 2004013138.

¹⁴⁴ S. J. Boyer et al., Curr. Top. Med. Chem., 2002, 2, 973-1000.

KDR est un récepteur de type VEGFR. Les laboratoires Merck ont développé des analogues de type 3,7-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines.¹⁴⁵ A partir des résultats pharmacologiques de ces dérivés, une série possédant un cycle à cinq chaînons¹⁴⁶ a fait l'objet de recherches et les composés **9** et **10** ont été obtenus avec des CI_{50} respectivement de 42 et 50 nM en tant qu'inhibiteurs de KDR (Figure 47).



Figure 47 : Structures des imidazo[1,2-a]pyridines, inhibiteurs potentiels de KDR

1.1.3.3-Antagonistes des récepteurs mGluR5

Les récepteurs mGluR5 appartiennent au groupe des récepteurs métabotropes au glutamate, récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) aussi connus sous le nom de récepteurs à 7 domaines transmembranaires. Ils peuvent être utilisés pour le traitement des maladies neurologiques comme la maladie d'Alzheimer par exemple.¹⁴⁷ En 2002, Mutuel *et al.* ont découvert des imidazo[1,2-*a*]pyridines, potentiellement antagonistes de mGluR5. Le composé **11** (Figure 48) avec une bonne CI₅₀ de 0,037 μ M a cependant montré une faible affinité avec les récepteurs aux benzodiazépines.¹⁴⁸ Plus récemment, l'équipe de Campbell *et al.* a décrit le scaffold **12** en tant qu'antagoniste de mGluR5.¹⁴⁹



R = CH₃, pyridin-2-yl

Figure 48 : Structures des imidazo[1,2-a]pyridines, antagonistes de mGluR5

¹⁴⁵ Z. Wu et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 14, 909-912.

¹⁴⁶ M. Bilodeau *et al.*, *brevet*, **2003**, WO 03092595.

¹⁴⁷ A. Slassi et al., Curr. Top. Med. Chem., **2005**, *5*, 897-911.

¹⁴⁸ V. Mutel *et al.*, *brevet*, **2002**, WO 02092086.

¹⁴⁹ B. T. Campbell *et al.*, *brevet*, **2004**, WO 2004024074.

1.1.3.4-Agonistes/Antagonistes des récepteurs 5-HT

Beaucoup d'imidazo[1,2-a]pyridines ont été brevetées comme agonistes ou antagonistes des récepteurs sérotoninergiques (5-HT₃ et 5-HT₄). Les composés 13 à 15 sont des composés antagonistes ou agonistes de ces récepteurs (Figure 49, Tableau 5).^{150,151}



Figure 49 : Structures des imidazo[1,2-a]pyridines, antagonistes ou agonistes de 5-HT

Composés	\mathbf{R}_1	Fonctions
13	nd n	Antagoniste 5-HT ₃
14	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	Antagoniste 5-HT ₄
15	Ard N	Agoniste 5-HT ₄

Tableau 5

Par ailleurs, le composé SC-53606¹⁵² a été évalué comme antagoniste potentiel 5-HT₄ (Figure 50).



Figure 50 : Structure du SC-53606, antagoniste de 5-HT₄

¹⁵⁰ D. P. Becker *et al.*, *brevet*, **1991**, WO 9215593.
¹⁵¹ F. D. King *et al.*, *brevet*, **1994**, WO 9408998.
¹⁵² D. C. Yang *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1993**, 266, 1339-1347.

1.1.3.5-Ligands pour les récepteurs D₄

En 1999, l'équipe de Löber et al. a établi que le dérivé 16 avait une forte affinité et sélectivité pour le récepteur D₄ (Figure 51).¹⁵³ Les récepteurs dopaminergiques sont une classe de récepteurs couplés aux protéines G et sont des plus importants dans le système nerveux central (SNC). Le neurotransmetteur dopamine est le ligand endogène primaire des récepteurs dopaminergiques. Ils sont impliqués dans plusieurs processus neurologiques, dont la motivation, le plaisir, la cognition, la mémoire, l'apprentissage et la motricité fine. Une signalisation anormale des récepteurs et des fonctions nerveuses de la dopamine est impliquée dans plusieurs troubles neuropsychiatriques. Ainsi, les récepteurs de la dopamine sont des cibles communes de médicaments neurologiques.



Figure 51 : Ligand pour les récepteurs D₄

1.1.4-Imidazo[1,2-a]pyridines comme agents anti-infectieux

Le cytomégalovirus (CMV) appartient à la famille des herpesvirus qui comprend : le virus de l'herpès simplex (HSV), le virus d'Epstein-Barr et le virus varicelle-zona. Cette famille de virus est caractérisée par sa capacité à produire des infections latentes et persistantes. Sa structure comporte un génome, un capside et une enveloppe recouverte de glycoprotéines. D'après les travaux réalisés par Gueiffier et al.,¹⁵⁴ les composés 17 à 19 ont montré une bonne sélectivité en tant qu'inhibiteurs de CMV et VZV (Figure 52).

 ¹⁵³ S. Löber *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 97-102.
 ¹⁵⁴ A. Gueiffier *et al.*, *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 5108-5112.



Figure 52 : Inhibiteurs de CMV et VZV

Smithkline Beecham a breveté les dérivés décrit sur la figure 53 comme antagonistes de CXCR4, un récepteur membranaire qui joue un rôle dans la réponse immunitaire. Ils sont également antagonistes du récepteur CCR5, situés à la surface des leucocytes et impliqués dans l'immunité.¹⁵⁵ Ils possèdent une activité anti-HIV.



Figure 53 : Antagonistes de CXCR4 et/ou de CCR5

Ainsi, depuis la découverte du zolpidem, de nombreuses imidazo[1,2-a]pyridines sont apparues dans la littérature avec des activités intéressantes dans différents domaines de la chimie médicinale, c'est pour cette raison que la description précédente n'est pas exhaustive.

1.2-Synthèse et réactivité des dérivés imidazo[1,2-a]pyridiniques

Pour réaliser la synthèse de ce scaffold, plusieurs approches peuvent être envisagées. Deux des méthodes les plus connues sont la condensation de la 2-aminopyridine avec des αhalogénocarbonyles ainsi que la réaction multicomposant entre le même substrat aminé, un composé carbonylé et un isonitrile. Ce bicycle imidazo[1,2-a]pyridine a été décrit par Chichibabin en 1925.¹⁵⁶ Pendant longtemps, l'étude de ce squelette a été occultée, en partie à cause du manque de méthodes efficaces de fonctionnalisation permettant une synthèse rapide de ce bicycle, notamment sur le noyau pyridinique.

 ¹⁵⁵ K. S. Gudmundsson *et al.*, *brevet*, **2006**, WO 2006026703.
 ¹⁵⁶ A. E. Chichibabin *et al.*, *Ber.*, **1925**, *58B*, 1704-1706.

1.2.1-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-a]pyridiniques

1.2.1.1-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-*a*]pyridiniques à partir des αhalogénocarbonyles

La formation du substrat 2-aminopyridine a tout d'abord été accomplie à partir de la pyridine et de l'amidure de sodium. Cette réaction a été découverte par Chichibabin en 1914.¹⁵⁷ La synthèse traditionnelle du bicycle imidazo[1,2-*a*]pyridine est effectuée en utilisant la 2-aminopyridine comme substrat. La réaction avec les halogénocarbonyles est régiosélective, l'attaque se faisant sur l'atome d'azote du cycle pyridinique.

L'imidazo[1,2-*a*]pyridine a été obtenue avec le chloroacétaldéhyde en présence de bicarbonate de sodium dans l'éthanol¹⁵⁸ (Schéma 1) puis dans un mélange éthanol/eau au reflux pendant 2 h selon la méthode décrite par Lombardino.¹⁵⁹



Les imidazo[1,2-*a*]pyridines ont par la suite été préparées par réaction entre la 2aminopyridine et une α -halogénocétone dans l'acétone permettant de fonctionnaliser la position 2 du noyau (Schéma 2).¹⁶⁰



Schéma 2

En 1965, Lombardino a formé le bromhydrate d'imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle dans le diméthoxyéthane avec un rendement de 84% qui s'effectue par l'intermédiaire non cyclisé (Schéma 3).

¹⁵⁷ A. E. Chichibabin et al., Zh. Russk. Fiz. -Khim. Obshch., **1914**, 46, 1216-1236.

¹⁵⁸ A. Roe, J. Med. Soc., **1963**, 2195-2200.

¹⁵⁹ J. G. Lombardino, J. Org. Chem., **1965**, 30, 2403-2407.

¹⁶⁰ M. H. Fisher et al., J. Med. Chem., **1972**, 15, 982-985.



La condensation de 2-aminopyridines diversement substituées a alors été élaborée avec le bromoacétaldéhyde ou le bromopyruvate d'éthyle (Schéma 4). Les composés cyclisés possédant en position 2 soit un atome d'hydrogène, soit un groupement ester sont isolés avec des rendements d'environ 70%.¹⁶¹





Cette méthode permettant d'introduire le groupement ester en 2 a été exploitée par de nombreuses équipes. Ainsi Xia *et al.*¹⁶² ont synthétisé ce dérivé à partir de 2-aminopyridines substituées par un brome et un méthyle. Quant à l'équipe de Starr *et al.*,¹⁶³ le substrat fonctionnalisé par un brome et un groupement ester permet d'isoler le dérivé avec un rendement de 75%.

La fonctionnalisation simultanément de la position 3 par cette approche a aussi été élaborée à partir du 3-bromo-2-oxo-4-phénylbutyrate d'éthyle toujours dans l'éthanol (Schéma 5) et le composé est formé avec un rendement moyen de 51%.¹⁶⁴



¹⁶¹ A. Gueiffier et al., J. Med. Chem., **1996**, 39, 2856-2859.

¹⁶² G. Xia et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2005, 15, 2790-2794.

¹⁶³ J. T. Starr et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009, 19, 5302-5306.

¹⁶⁴ C. Enguehard et al., Chem. Pharm. Bull., 2000, 48, 935-940.

En utilisant divers α -halogénocarbonyles, plusieurs imidazo[1,2-*a*]pyridines substituées en 2 ont fait leur apparition que ce soit par l'introduction de groupement alkyle comme le *tert*-butyle^{165,166}ou de divers aryles¹⁶⁷ (Schéma 6, Schéma 7) obtenus avec des rendements modérés.



Schéma 7

Pour pharmacomoduler par des groupements aryles en position 2, une méthode simple, permettant de mettre en œuvre les principes de la chimie verte, a été élaborée afin de former les bicycles imidazo[1,2-*a*]pyridiniques sans catalyseur ni solvant.^{168,169} Pour cela, la réaction est effectuée à température ambiante dans un mortier avec des 2-aminopyridines substituées en position 5 et diverses α -bromocétones en quantités équimolaires. Les rendements sont élevés et les temps de réaction courts (Schéma 8, Tableau 6).



¹⁶⁵ A. Chaouni-Benabdallah *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, *49*, 1631-1635.

¹⁶⁶ J. M. Chezal *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 2044-2047.

¹⁶⁷ C. Burkholder *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 3077-3080.

¹⁶⁸ D. Zhu et al., J. Chem. Res., **2009**, 2, 84-86.

¹⁶⁹ D. Zhu et al., J. Braz. Chem. Soc., 2009, 20, 482-487.

Ar	R	Temps	Rendements
ran and a second s	Н	20 min	90%
OMe	Н	10 min	95%
r ^r r ^r	Н	30 min	90%
ran and a second s	CH ₃	10 min	91%
OMe	CH ₃	20 min	94%
r ^r r ^r	CH ₃	25 min	90%

Tableau 6

L'accès aux dérivés halogénés en position 2 a aussi été traité^{170,171} et s'effectue en deux étapes par l'intermédiaire acide acétique formé à partir de la 2-aminopyridine et de l'acide chloroacétique en présence de triéthylamine avec un rendement de 76% (Schéma 9).¹⁷² Puis la chloration s'effectue avec le chlorure de phosphoryle. Cette réaction sera plus amplement détaillée dans le chapitre III ainsi que la formation de l'analogue bromé.



¹⁷⁰ R. Clark *et al.*, *brevet*, **2010**, WO 2010138576.
¹⁷¹ C. Bode *et al.*, *brevet*, **2010**, WO 2010132598.
¹⁷² B. D. Maxwell *et al.*, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2005**, 48, 397-406.

1.2.1.2-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-a]pyridiniques par réaction multicomposant

Les réactions multicomposant constituent l'un des outils les plus puissant de la synthèse organique car des structures complexes sont rapidement obtenues à partir de substrats très simples.

Les 2-aminopyridines substituées, dont plusieurs sont commerciales, peuvent aussi faire l'objet de ce type de réaction impliquant un isonitrile et un aldéhyde. Cette méthode de cyclisation est très intéressante et conduit au bicycle imidazo[1,2-a]pyridinique substitué en position 2 et 3 par divers groupements.

De nos jours, les réactions multicomposant avec les isonitriles^{173,174} sont perfectionnées à partir des travaux réalisés par Passerini et Ugi (Schéma 10). La réaction de Passerini mettant en jeu un acide carboxylique, un composé carbonylé et un isonitrile pour conduire à la formation d'un α -acyloxycarboxamide a été découverte en 1921.¹⁷⁵ Elle est la première réaction multicomposant impliquant des isonitriles.

La réaction de Ugi (dénommée aussi Ugi-4CR ou U-4CR), découverte en 1960, est une réaction à quatre composants mettant en jeu une amine, un aldéhyde, un acide carboxylique et un isonitrile pour donner un α -acétamidoamide.¹⁷⁶

De nombreuses études ont permis d'étendre la portée synthétique de ces réactions à des partenaires sensiblement différents. Ces extensions induisent souvent la mise en œuvre de nouveaux mécanismes réactionnels, notamment dans les dernières étapes de la réaction. Si ces efforts ont surtout été consacrés aux couplages de type Ugi, la réaction de Passerini a donné lieu à des études proches mais de portée synthétique plus faible.



Schéma 10

¹⁷³ A. Dömling et al., Angew. Chem., **2000**, *39*, 3168-3210.

¹⁷⁴ A. Dömling, *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, 17-89.

¹⁷⁵ M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.*, **1921**, *51*, 181-189.

¹⁷⁶ I. Ugi et al., Angew. Chem., **1960**, 72, 267-268.

En 1998, Groebke,¹⁷⁷ Blackburn et Bienaymé^{178,179,180} ont établi indépendamment une méthode efficace afin de synthétiser les composés de type imidazo[1,2-*a*]hétérocycliques. En s'appuyant sur la réaction de Ugi largement étudiée avec une variété d'isonitriles, d'aldéhydes, d'acides carboxyliques et d'amines, il a été démontré que la formation des différents produits dépend de l'amine utilisée. Ainsi, les 3-aminoimidazo[1,2-*a*]azines ont été isolées lorsque l'aldéhyde réagit avec une 2-aminoazine comme amine aromatique et l'isonitrile. Cependant, elle donne lieu également à des produits secondaires difficilement séparables et les rendements sont plutôt faibles. De manière générale, la formation du bicycle s'effectue par l'intermédiaire iminium de la même façon que la réaction de Ugi. La cycloaddition avec l'isonitrile est ensuite suivie par aromatisation du cycle (Schéma 11).



Schéma 11: Mécanisme de l'hétérocyclisation de la réaction de Groebke

L'obtention de deux isomères est parfois décrite. En effet, l'iminium peut être généré par addition de l'aldéhyde, soit sur le groupement 2-amino, soit sur l'atome d'azote du cycle (Schéma 12).



Schéma 12 : Formation des isomères lors de la réaction de Groebke

¹⁷⁷ K. Groebke *et al.*, *Synlett*, **1998**, *6*, 661-663.

¹⁷⁸ C. Blackburn *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3635-3638.

¹⁷⁹ C. Blackburn, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 5469-5472.

¹⁸⁰ H. Bienaymé et al., Angew. Chem., **1998**, 37, 2234-2237.

Pour la réaction de Groebke,¹⁷⁷ les trois composés sont mis en réaction en quantité équimolaire dans le méthanol à température ambiante pendant une nuit. L'addition d'un ou deux équivalents d'acide acétique permet d'accélérer considérablement la condensation dépendant du pH. Les différents composés sont synthétisés avec des rendements corrects (Schéma 13, Tableau 7). L'isomère de ces composés est aussi décrit comme produit secondaire.







Blackburn^{178,179} a quant à lui développé cette réaction multicomposant en faisant intervenir un acide de Lewis, le trifluorométhanesulfonate de scandium (Sc(OTf)₃) comme catalyseur de la condensation. Le temps de réaction est cependant très long autour de 72 h.

Cette réaction a ensuite été améliorée selon les conditions décrites par Bienaymé¹⁸⁰ en utilisant l'acide perchlorique, un des plus puissants acides de Brönsted (Schéma 14).



Schéma 14

Plus tard, afin de perfectionner cette méthodologie, l'utilisation des micro-ondes a fait son apparition. Selon la méthode publiée par Varma,¹⁸¹ l'amine et l'aldéhyde sont irradiés en présence de montmorillonite K 10 clay, catalyseur peu onéreux et recyclable, et sans solvant. Puis l'isonitrile est additionné. Le temps de réaction est fortement réduit (environ 3 h) et les rendements sont d'environ 85%.

Divers bicycles 3-aminoimidazoles ont été synthétisés sous irradiations micro-ondes catalysés par le trifluorométhanesulfonate de scandium dans le méthanol à 160 °C.¹⁸² Les rendements allant de 65 à 93% ont été obtenus après seulement 10 min de temps de réaction. A noter qu'en l'absence du catalyseur, la conversion n'est seulement que de 25% au bout de 2 h. Ce type de réaction a aussi été développé sous irradiations micro-ondes avec diverses 2-aminopyridines substituées en présence de chlorure de magnésium, comme catalyseur, menant aux composés cyclisés avec des temps de réactions courts et des rendements d'environ 60% (Schéma 15).¹⁸³





Par ailleurs, afin d'éviter la formation des deux isomères, la réaction a été menée en présence de liquides ioniques.^{184,185,186} En présence de solvant non polaire comme le toluène, Parchinsky *et al.*¹⁸⁷ ont également décrit la formation d'un unique produit (Schéma 16).

¹⁸¹ R. S. Varma et al., Tetrahedron Lett., **1999**, 40, 7665-7669.

¹⁸² S. M. Ireland *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 4369-4371.

¹⁸³ L. R. Odell et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009, 19, 4790-4793.

¹⁸⁴ N. Jain et al., Tetrahedron, **2005**, 61, 1015-1060.

¹⁸⁵ T. Welton, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2071-2083.



Les liquides ioniques ont ensuite été exploités comme le bromure de 1-butyl-3méthylimidazolium ([bmim]Br). Le traitement est simple et le liquide ionique peut facilement être séparé du produit cible et de plus être réutilisé. Les 3-aminoimidazo[1,2-*a*]pyridines sont alors obtenues au bout de 3 h à température ambiante avec d'excellents rendements (70 à 99%).¹⁸⁸

1.2.1.3-Cyclisation à partir d'α-diazocétones

Le couplage entre les 2-aminopyridines et les α -diazocétones en présence d'un catalyseur le triflate de cuivre Cu(OTf)₂ conduit aussi aux imidazo[1,2-*a*]pyridines correspondantes substituées en position 2 avec d'excellents rendements (Schéma 17).¹⁸⁹ En raison de leurs relatives stabilités, de leurs disponibilités, ainsi que de leurs décompositions sous certaines conditions (thermiques, photochimiques, catalyses avec les métaux de transition), les composés α -diazocarbonylés sont des intermédiaires très utilisés en synthèse organique.¹⁹⁰



Schéma 17

Pour cette cyclisation, différents catalyseurs ont été testés comme les sels de cuivre par exemple. Le triflate de cuivre reste la meilleure alternative, cependant équivalent à la réactivité de l'acétate de rhodium ($Rh_2(OAc)_4$). La réaction procède *via* la formation initiale d'une imine, suivie du départ de diazote qui permet la formation de l'imidazo[1,2-*a*]pyridine (Schéma 18).

¹⁸⁶ M. J. Earle et al., Pure Appl. Chem., 2000, 72, 1391-1398.

¹⁸⁷ V. Z. Parchinsky et al., *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 947-951.

¹⁸⁸ A. Shaabani *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 3031-3034.

¹⁸⁹ J. S. Yadav et al., Tetrahedron Lett., 2007, 48, 7717-7720.

¹⁹⁰ T. Ye et al., Chem. Rev., **1994**, 94, 1091-1160.



Cette réaction a ensuite été largement développée avec diverses α -diazocétones et 2aminopyridines pour accéder à des 2-aryl- et 2-alkylimidazo[1,2-*a*]pyridines avec des temps de réaction allant de 2 à 3 h et d'excellents rendements autour de 90%.

1.2.1.4-Cyclisation à partir de 2-(1,2-dihydro-2-iminopyridin-1-yl)acétamides

Afin de parvenir à des 2-aminoimidazo[1,2-*a*]pyridines, l'emploi de 2-(1,2-dihydro-2iminopyridin-1-yl)acétamides a été nécessaire. Après la *N*-tosylation de la 2-aminopyridine, la *N*-alkylation de l'azote pyridinique est effectuée par un 2-halogénoacétamide approprié dans le diméthylformamide en présence d'une base de Hünig. La cyclisation résulte de la réaction avec l'anhydride trifluoroacétique (TFAA) dans le dichlorométhane à température ambiante (Schéma 19). Cette méthode publiée par Hamdouchi¹⁹¹ a permis d'étendre la fonctionnalisation de l'hétérocycle et, par ailleurs, a été exploitée dans de nombreux brevets.^{192,193}



¹⁹¹ C. Hamdouchi et al., J. Med. Chem., **1999**, 42, 50-59.

¹⁹² R. J. Sciotti *et al.*, *brevet*, **2009**, US 20090275577.

¹⁹³ T. E. Christos *et al.*, *brevet*, **2009**, WO 2009026254.

De nouvelles conditions ont permis d'optimiser la synthèse des 2-aminoimidazo[1,2-a]pyridines¹⁹⁴ utilisant la 2-chloropyridine. La substitution du chlore par le cyanamide est réalisée en présence de *tert*-butanolate de potassium dans le diméthylsulfoxyde. La *N*-alkylation avec différentes bromoacétophénones est ensuite effectuée. Finalement, l'addition d'un mélange acétate d'éthyle/H₂O permet la cyclisation de la molécule cible (Schéma 20).





1.2.1.5-Cyclisation à partir d'α-bromo-β-cétoesters

Une approche récente de la synthèse des dérivés imidazo[1,2-*a*]pyridiniques est envisagée sans solvant et sans catalyseur sous irradiations micro-ondes.¹⁹⁵ La 2aminopyridine réagit avec un α -bromo- β -cétoester (Schéma 21). La réaction est très rapide et les produits sont formés avec d'excellents rendements allant de 91 à 95% et des temps de réaction inférieurs à 2 min.



Schéma 21

¹⁹⁴ C. Jaramillo *et al.*, *Synlett*, **2002**, *9*, 1544-1546.

¹⁹⁵ K. C. Chunavala et al., Synthesis, **2011**, 4, 635-641.

Un mécanisme est proposé dans la publication pour la formation de ces produits (Schéma 22). La 2-aminopyridine réagit avec l' α -bromo- β -cétoester pour former le premier intermédiaire. L'élimination d'une molécule d'eau mène à l'intermédiaire conjugué plus stable que le précédent. Finalement, la cyclisation intramoléculaire permet d'isoler les dérivés imidazo[1,2-*a*]pyridines.



Un autre mécanisme peut être envisagé. La première étape consisterait en une *N*-alkylation de l'atome d'azote pyridinique, suivie d'une réaction d'addition-élimination puis aromatisation du bicycle (Schéma 23).



Schéma 23

1.2.2-Réactivité des imidazo[1,2-a]pyridines

Sur le bicycle imidazo[1,2-*a*]pyridine, le cycle imidazole est la partie π -excédentaire et le cycle pyridine est π -déficitaire. Mosby¹⁹⁶ a établi que les plus importantes formes de résonance du noyau imidazo[1,2-*a*]pyridine sont les structures **Ia** et **Ib** (Figure 54).



Figure 54

1.2.2.1-Halogénation et nitration des imidazo[1,2-a]pyridines

Compte tenu des formes de résonance et de la répartition électronique obtenue sur l'hétérocycle, l'attaque électrophile se fait de façon privilégiée en position 3 même si une réaction en position 2 est à priori envisageable. Les substitutions électrophiles aromatiques comme les halogénations ou la nitration sont donc favorisées en C-3 (Schéma 24, Tableau 8).¹⁹⁷



 $R = Br, CI, NO_2$

Schéma 24

R	Réactifs	Solvants	Conditions	Rendements
Br	Br ₂ , NaOH	H_2O	TA, 5 min	80%
Br	N-bromoacétamide	CHCl ₃	rfx, 10 min	63%
Cl	NCS	CHCl ₃	TA, 1 h	43%
NO ₂	H_2SO_4 , HNO_3		TA, 20 min	86%

Tableau 8

 ¹⁹⁶ W. L. Mosby, Heterocyclic systems with bridgehead nitrogen atoms, **1961**, 460.
 ¹⁹⁷ J. P. Paolini *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1965**, *30*, 4085-4090.

Si la position 3 est déjà substituée, les substitutions électrophiles se font en C-5 et non pas en C-2 comme le montrait la répartition électronique obtenue sur l'hétérocycle (Schéma 25).



Schéma 25

Les travaux menés par Paudler et Blewitt¹⁹⁸ avaient précédemment démontré que la bromation s'effectuait bien en position 3 du noyau imidazo[1,2-*a*]pyridine et ont révélé qu'il était possible d'obtenir sélectivement le dérivé mono-bromé (Schéma 26, Tableau 9).



Schéma 26

Essais	Réactifs	Solvants	Conditions	Rendements
1	Br ₂	EtOH	TA, 8 h	91%
2	NBS	CCl_4	rfx, 2 h puis TA, 12 h	80%

Tableau 9

En 1982, l'équipe de *Teulade et al.*¹⁹⁹ s'est intéressée à la réaction de nitration sur le bicycle. Les résultats obtenus sont rassemblés dans la figure 55. Les dérivés substitués en position 3, 5, 6 et 8 par un groupement nitro ont ainsi pu être synthétisés. Suivant la fonctionnalisation de l'imidazo[1,2-*a*]pyridine, des dérivés mono ou disubstitués ont été isolés. Comme on peut le constater, la nitration s'effectue préférentiellement en position 3 de l'hétérocycle.

¹⁹⁸ W. W. Paudler et al., J. Org. Chem., **1965**, 30, 4081-4084.

¹⁹⁹ J. C. Teulade et al., Aust. J. Chem., **1982**, 35, 1761-1768.



Figure 55 : Résultats de la nitration : m, mononitration ; d, dinitration avec le 3-NO₂

L'iodation a tout d'abord été réalisée avec le diiode dans l'éthanol²⁰⁰ ou la pyridine.²⁰¹ Plus récemment, plusieurs exemples de iodation ont été publiés dans la littérature avec différents composés imidazo[1,2-*a*]pyridiniques avec le *N*-iodosuccinimide^{202,203} dans le chloroforme²⁰⁴ ou l'acétonitrile (Schéma 27).¹⁹¹



1.2.2.2-Métallation des imidazo[1,2-a]pyridines

La métallation, en particulier la lithiation, d'un carbone non substitué, peut être réalisée sur les imidazo[1,2-*a*]pyridines. L'activation se fait par coordination de l'atome d'azote au lithium, suivie de l'élimination du proton par le groupement butyle. Ces composés lithiés ont une liaison σ carbone-lithium et sont solubles dans les solvants organiques, la sphère de coordination du lithium étant complétée par des molécules de tétrahydrofurane (Schéma 28).

²⁰⁰ E. S. Hand *et al.*, J. Org. Chem., **1978**, 43, 658-663.

²⁰¹ N. O. Salbadol *et al.*, *Chem. Heterocycl. Compd.*, **1976**, *12*, 1155-1162.

²⁰² C. Enguehard *et al.*, J. Org. Chem., **2000**, 65, 6572-6575.

²⁰³ C. Enguehard-Gueiffier et al., Eur. J. Pharm. Sci., 2005, 24, 219-227.

²⁰⁴ K. S. Gudmundsson *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 6275-6278.



Schéma 28

Plusieurs conditions pour la déprotonation régiosélective de ce noyau hétérocyclique ont été testées²⁰⁵ (Schéma 29). Le phényllithium (PhLi) et le *tert*-butyllithium (*t*-BuLi) favorisent l' α -lithiation en position 3, alors que l'emploi du diisopropylamidure de lithium ou du sel de lithium de la 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine (LiTMP) entraîne la déprotonation en position 5 majoritairement (Tableau 10).



Essais	Bases	1	2	3	4	5
1	<i>i</i> -PrMgCl		81			19
2	PhLi, t-BuLi			55	32	13
3	LDA	44		13	43	
4	LiTMP	17		28	54	1

Tableau 10 : Ratios des composés 1 à 5 calculés par RMN du proton

Ces dérivés lithiés sont très réactifs et réagissent avec la plupart des électrophiles, ici le chlorure de 2,6-difluorobenzoyle (Schéma 30). L'utilisation du *n*-BuLi permet dans ce cas d'isoler le composé avec un rendement de 85%.

²⁰⁵ C. Jaramillo et al., Tetrahedron Lett., 2002, 43, 9051-9054.



Schéma 30

1.2.2.3-Hydroxyméthylation des imidazo[1,2-a]pyridines

L'hydroxyméthylation directe se réalise suivant la procédure publiée par Teulade²⁰⁶ comme le montre le schéma 31. Les imidazopyridines réagissent avec le formaldéhyde et l'acétate de sodium dans l'acide acétique pour former des alcools méthyliques avec des rendements variés allant de 9 à 92%.



Schéma 31

1.2.2.4-Amination des imidazo[1,2-a]pyridines

L'amination en position 2 peut aussi avoir lieu par substitution nucléophile aromatique avec l'hydroxylamine (Schéma 32).²⁰⁷ Le groupement nitro en position 3 permet de favoriser la réaction grâce à son effet électroattracteur.



Schéma 32

Ces composés peuvent alors être utilisés comme précurseurs dans la synthèse de nouveaux dérivés.

²⁰⁶ J. C. Teulade et al., J. Chem. Res., **1986**, 1842-1874.

²⁰⁷ M. Rahimizadeh et al., Mendeleev Commun., **2009**, 19, 161-162.

2-Les imidazo[1,2-a]pyrazines

Dans cette partie, l'ajout d'un atome d'azote sur le cycle pyridinique de l'hétérocycle précédent conduit au noyau imidazo[1,2-*a*]pyrazine, un système bicyclique aromatique résultant de la fusion de la pyrazine et de l'imidazole. Cet hétérocycle possède donc aussi un azote angulaire reliant les deux cycles. La nomenclature et la numérotation de ce noyau sont détaillées sur la figure 56.



Figure 56 : Nomenclature du cycle imidazo[1,2-a]pyrazine

Le but de notre travail réside en la synthèse et la fonctionnalisation de ce type de composés. Comme auparavant, les applications thérapeutiques des composés déjà décrits dans la littérature ainsi que leur synthèse et leur réactivité seront évoquées.

2.1-Applications en Chimie Thérapeutique des imidazo[1,2-a]pyrazines

Les imidazo[1,2-*a*]pyrazines ont été illustrées dans de nombreuses publications montrant ainsi la multitude de leurs applications pharmacologiques.

2.1.1-Imidazo[1,2-a]pyrazines comme inhibiteurs d'enzymes

2.1.1.1-Inhibition de MAPK-APK5

La polyarthrite rhumatoïde est la plus fréquente des diverses formes de rhumatismes inflammatoires chroniques regroupées sous l'appellation arthrite.²⁰⁸ Elle entraîne une inflammation de plusieurs articulations à la fois, qui enflent, deviennent douloureuses et sont limitées dans leur amplitude de mouvement. Ces articulations peuvent se déformer progressivement.

Récemment, une nouvelle cible a été identifiée, les MAPK-APK5, aussi connues sous le nom des MAP kinases p38 ("Mitogen-activated protein kinase p38") des mammifères. Elles sont activées par de nombreux stress cellulaires mais aussi en réponse à des cytokines liées à

²⁰⁸ S. E. Sweeney et al., Int. J. Biochem. Cell Biol., **2004**, *36*, 372-378.

l'inflammation. La sous-famille des MAP kinases p38 contient 4 membres : p 38α , p 38β , p 38γ et p 38δ . Cependant, elles différent quant à leurs profils d'expression, à leurs spécificités de substrat et à leurs sensibilités aux inhibiteurs chimiques.

L'activité des MAP kinases p38 est capitale pour une réponse immunitaire et inflammatoire normale : en effet, la voie de signalisation des MAP kinases p38 est un élément clé de la régulation de la biosynthèse des cytokines pro-inflammatoires au niveau transcriptionnel et traductionnel.

En conséquence, nombre de molécules impliquées dans cette voie sont des cibles thérapeutiques pour la mise au point de médicaments contre certaines maladies auto-immunes et contre l'inflammation. Des composés imidazo[1,2-*a*]pyraziniques ont été découverts comme inhibiteurs de la kinase MAPK-APK5²⁰⁹ et ont montré une activité *in vitro* et *in vivo* dans la polyarthrite rhumatoïde (Figure 57). Les CI₅₀ de plusieurs dérivés sont de l'ordre du submicromolaire (Tableau 11).



Figure 57 : Structures des imidazo[1,2-a]pyrazines, inhibiteurs potentiels de MAPK-APK5

R	CI ₅₀ MAPK-APK5 (nM)
4-pyrazolyl, X = O	829
5-isoindolin-1-one, $X = O$	239
4-(2-pyridonyl), X = NMe	290

Tableau 11

²⁰⁹ M. J. I. Andrews et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2012, 22, 2266-2270.

2.1.1.2-Inhibition des kinases Aurora

Les kinases Aurora, découvertes en 1995, sont des sérine/thréonine kinases dont l'activité est essentielle pour la progression mitotique.²¹⁰ Trois membres ont été identifiés : Aurora A qui intervient au tout début de la mitose et qui est plus particulièrement impliquée dans la phase G2 du cycle cellulaire²¹¹ ; Aurora B qui intervient en fin de mitose lors de l'anaphase et de la cytokinèse ; enfin Aurora C, dont la fonction biologique reste encore méconnue.

Des dérivés imidazo[1,2-*a*]pyrazines ont été décrits comme inhibiteurs potentiels d'Aurora (Figure 58, Tableau 12).²¹² L'évaluation biologique de ces composés a révélé des CI_{50} de l'ordre du subnanomolaire.



Figure 58 : Structures des imidazo[1,2-a]pyrazines, inhibiteurs potentiels d'Aurora A et B

R	CI ₅₀ Aurora A (nM)	CI ₅₀ Aurora B (nM)
Н	≤ 4	≤ 13
Me	\leq 4	≤13
Et	≤ 4	≤ 13
SMe	≤ 4	≤ 13

Tableau 12

Un nouvel inhibiteur potentiel d'Aurora a par la suite été décrit par la même équipe, montrant une activité anti-tumorale (Figure 59).²¹³ Les CI_{50} sur Aurora A et Aurora B sont du même ordre que les composés décrits précédemment cependant ce composé peut aussi être administré par voie orale.

²¹⁰ P. D. Andrews *et al.*, *Oncogene*, **2005**, *24*, 5005-5015.

²¹¹ J. R. Pollard et al., J. Med. Chem., **2009**, 52, 2629-2651.

²¹² D. B. Belanger et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., **2010**, 20, 5170-5174.

²¹³ D. B. Belanger et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., **2010**, 20, 6739-6743.



Figure 59 : Structure d'imidazo[1,2-a]pyrazine, inhibiteur potentiel d'Aurora A et B

En 2012, une nouvelle série de composés a été développée.²¹⁴ La fonctionnalisation par des groupements acide acétique a montré une excellente activité inhibitrice dont un des dérivés a révélé une CI₅₀ de 1,8 nM sur Aurora A (Figure 60).



Figure 60 : Structure d'imidazo[1,2-a]pyrazine, inhibiteur potentiel d'Aurora A ou B

2.1.1.3-Inhibition des kinases cyclines-dépendantes (CDKs)

Les CDKs, des sérine/thréonine kinases, ont été détaillées précédemment pour les composés imidazo[1,2-a]pyridines. Une nouvelle classe de composés imidazo[1,2a]pyraziniques a été brevetée comme inhibiteurs des kinases cyclines-dépendantes CDK2 (Figure 61).²¹⁵

 ²¹⁴ M. E. Voss *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 3544-3549.
 ²¹⁵ K. Paruch *et al.*, *brevet*, **2004**, WO 2004026310.



Figure 61 : Structures d'imidazo[1,2-a]pyrazines, inhibiteurs potentiels de CDK2

2.1.1.4-Inhibition de PI3K

En 2012, certaines imidazo[1,2-*a*]pyrazines ont aussi été publiées comme étant des inhibiteurs de PI3K. Les séries 8-morpholinyl-imidazo[1,2-*a*]pyrazines (Figure 62, Tableau 13) sont des inhibiteurs potentiels des isoformes PI3K δ et α et montrent une amélioration de la sélectivité par rapport à la kinase mTOR.²¹⁶



Figure 62 : Structures d'imidazo[1,2-a]pyrazines, inhibiteurs potentiels de PI3K

R	CI ₅₀ PI3K (p110a) (µM)
Н	0,107
Me	0,110
Et	0,092
rand N	0,038
, ^r r ^r N	0,035

²¹⁶ S. M. Gonzalez et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2012, 22, 1874-1878.



Tableau 13

2.1.2-Imidazo[1,2-a]pyrazines comme ligands

2.1.2.1-Inhibition de la somatostatine

La somatostatine est une hormone qui a deux formes actives produites par un clivage alternatif d'une même pré-protéine : une de quatorze acides aminés, une autre de vingt-huit acides aminés. Toutes les actions de cette hormone sont des inhibitions du relargage de l'hormone de croissance (GH), de suppression du relargage des hormones gastro-intestinales ou d'hormones pancréatiques. Il existe cinq types de récepteurs à la somatostatine, nommés de SSTR1 à SSTR5. Ils font partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G. Seul SSTR5 montre une préférence de liaison pour le peptide de 28 acides aminés.

Plusieurs dérivés imidazopyrazines ont été synthétisés (Figure 63) et leurs affinités à chaque sous-type de récepteur ont été déterminées.²¹⁷ Les valeurs des constantes d'inhibition sont réunies dans le tableau 14. Ces valeurs ont montré que ces composés se liaient préférentiellement au récepteur SSTR5. Le composé substitué par un groupement cyclohexyle est le plus actif et présente une sélectivité dix à trente fois supérieure vis-à-vis des autres sous-types du récepteur.



Figure 63 : Structures d'imidazo[1,2-a]pyrazines, inhibiteurs potentiels de SSTR5

²¹⁷ M. O. Contour-Galcéra et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2001, 11, 741-745.





2.1.3-Imidazo[1,2-a]pyrazines comme ligands des récepteurs GABA

L'acide γ -aminobutyrique (ou GABA) est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central chez les mammifères. C'est un neuromodulateur qui est reconnu comme étant inhibiteur à l'âge adulte mais qui est excitateur lors du développement embryonnaire de l'homme. Il joue un rôle important chez l'adulte en empêchant l'excitation prolongée des neurones.

A ce jour, deux types de récepteurs de ce neurotransmetteur ont été identifiés : une famille de récepteurs ionotropes perméables aux anions (chlorure et hydrogénocarbonate principalement), nommée $GABA_A$ et une famille de récepteurs métabotropes nommée $GABA_B$.

Les imidazo[1,2-*a*]pyrazines substituées en position 3 par un groupement phényle fonctionnalisé sont des ligands potentiels pour les récepteurs GABA_A (Figure 64).²¹⁸

²¹⁸ S. C. Goodacre *et al.*, *brevet*, **2000**, WO 0210170.



Figure 64 : Structures d'imidazo[1,2-a]pyrazines, inhibiteurs potentiels de GABA

2.1.4-Imidazo[1,2-a]pyrazines comme ligands pour les récepteurs CXCR3

Les chimiokines forment une famille d'au moins quarante petites protéines basiques apparentées qui dirigent la migration des cellules du système immunitaire vers les sites d'inflammation ou encore dans et à travers les organes lymphoïdes. Les chimiokines agissent sur les cellules par l'intermédiaire d'une famille d'au moins dix-huit récepteurs à sept segments transmembranaires couplés à des protéines G. Le grand nombre de chimiokines et de récepteurs dont dispose le système immunitaire des mammifères permet un contrôle très fin des processus inflammatoires parce que différentes chimiokines attirent différents types de cellules immunitaires.

Il a été montré que le composé représenté sur la figure 65 possède une efficacité *in vivo* en bloquant la migration des leucocytes dans les poumons comparé à la bléomycine.²¹⁹



Figure 65 : Structure d'imidazo[1,2-*a*]pyrazine, inhibiteur potentiel de CXCR3

²¹⁹ X. Du et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009, 19, 5200-5204.

2.2-Synthèse et réactivité des dérivés imidazo[1,2-a]pyraziniques

2.2.1-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-a]pyraziniques

Pour la synthèse de ce noyau, plusieurs démarches peuvent être abordées dont les deux les plus connues ont été citées auparavant pour les imidazopyridines. La condensation de la 2aminopyrazine avec des α -halogénocarbonyles et la réaction multicomposant avec le même dérivé aminé, un composé carbonylé et un isonitrile.

2.2.1.1-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-*a*]pyraziniques à partir des αhalogénocarbonyles

Le premier dérivé imidazo[1,2-*a*]pyrazinique a été caractérisé par DePompei et Paudler en 1975.²²⁰ L'hétérocycle a été synthétisé par condensation entre la 2-aminopyrazine et le chloroacétaldéhyde. A partir de ces travaux, une série de dérivés substitués a été réalisée par condensation entre des α -halogénoaldéhydes et cétones avec les aminopyrazines (Schéma 33).^{221,222}



A noter cependant que pour les 2-aminopyrazines, l'atome d'azote qui n'est pas adjacent à la fonction amine est le plus nucléophile. L'alkylation par les α -bromoacétophénones, par exemple, se fait alors préférentiellement sur ce site, empêchant ainsi la synthèse du bicycle désiré. Ceci peut être contourné en substituant par un atome de chlore la 2-aminopyrazine, en ortho de l'amine, ce qui réduit la nucléophilie de l'atome d'azote et l'alkylation peut ainsi se faire sur l'atome d'azote adjacent à la fonction amine.

Le bicycle peut alors être obtenu par condensation des α -bromoacétophénones avec la 2-amino-3-chloropyrazine. L'atome de chlore peut ensuite être enlevé par hydrogénation catalytique (Schéma 34).²²³

²²⁰ M. F. DePompei et al., J. Heterocycl. Chem., 1975, 12, 861-863.

²²¹ L. M. Werbel et al., J. Org. Chem., 1965, 2, 287.

²²² W. C. Lumma et al., J. Med. Chem., **1983**, 26, 357-363.

²²³ W. A. Spitzer et al., J. Med. Chem., 1988, 31, 1595-1598.



De même, la condensation à partir de la 3,5-dibromo-2-aminopyrazine échoue, à cause probablement d'un manque de réactivité de l'azote en position 1. Lorsque le brome en position 3 est substitué par un groupement électrodonneur, les produits sont isolés avec des rendements d'environ 30% (Schéma 35).²²⁴





Sablayrolles *et al.* avait également montré que ce type de condensation entraînait trois réactions compétitives. Pour les deux premiers composés **I** et **II**, la condensation résulte d'une attaque nucléophile classique de l'atome d'azote en position 1, du cycle aminopyrazine, sur la position halogénée du 2-chloroacétoacétate d'éthyle, suivie par une cyclisation. Pour le dernier composé **III**, le mécanisme est similaire mais dans ce cas, la fonction amine primaire de l'aminopyrazine est responsable de l'attaque nucléophile (Schéma 36).²²⁵

²²⁴ O. Vitse et al., Bioorg. Med. Chem., **1999**, 7, 1059-1065.

²²⁵ C. Sablayrolles et al., J. Med. Chem., 1984, 27, 206-212.





2.2.1.2-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-a]pyraziniques par réaction multicomposant

Les réactions multicomposant constituent l'une des méthodes les plus intéressantes car des structures complexes sont rapidement obtenues à partir de substrats très simples, ici les 2-aminopyrazines. Cette réaction a été détaillée pour les imidazo[1,2-*a*]pyridines. Seuls quelques exemples feront l'objet de cette partie.

Selon la méthode de Varma *et al.*,¹⁸¹ la 2-aminopyrazine et l'aldéhyde sont irradiés sous micro-ondes en présence de montmorillonite K 10 clay et sans solvant (Schéma 37). Puis l'isonitrile est ajouté. Le tableau 15 rassemble les rendements de cette réaction de l'ordre de 80%.



Schéma 37



L'accès à ces dérivés peut aussi se faire sous irradiations micro-ondes catalysées par le trifluorométhanesulfonate de scandium dans le méthanol à 160 °C.¹⁸² Le rendement obtenu après seulement 10 min de temps de réaction est de 65% (Schéma 38).



Cette méthode permet de fonctionnaliser l'hétérocycle en une seule étape avec des rendements corrects. Cette démarche est très intéressante afin d'obtenir une diversité chimique de composés.

2.2.1.3-Synthèse des dérivés imidazo[1,2-a]pyraziniques à partir d'acétals

Cette synthèse s'effectue en deux étapes : tout d'abord, la déprotection de l'acétal, suivie d'une condensation avec une 2-aminopyrazine substituée.

L'acétal est déprotégé par une solution d'acide bromhydrique, ce qui permet d'obtenir le bromoacétaldéhyde correspondant. La condensation de ce dernier avec la dibromoaminopyrazine permet d'obtenir le composé imidazo[1,2-*a*]pyrazinique isolé avec un rendement de 94% (Schéma 39).^{226,227}

²²⁶ S. A. Mitchell et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009, 19, 6991-6995.


Schéma 39

L'équipe de Matthews *et al.* a également employé cette voie de synthèse avec la 2amino-5-bromopyrazine (Schéma 40) en fonctionnalisant directement la position 3 de l'imidazo[1,2-*a*]pyrazine en présence d'un bromoacétaldéhyde substitué.²²⁸ La réaction s'effectue sous irradiations micro-ondes permettant de réduire considérablement le temps de réaction, cependant le rendement est deux fois plus faible.





2.2.2-Réactivité des dérivés imidazo[1,2-a]pyrazines

Afin de pharmacomoduler les imidazo[1,2-*a*]pyrazines, l'étude de la réactivité a été réalisée et décrite dans diverses publications.

2.2.2.1-Halogénation des imidazo[1,2-a]pyrazines

En accord avec les prédictions théoriques de réactivité de ces dérivés de type imidazo[1,2-*a*]azines (cf imidazo[1,2-*a*]pyridines), la position la plus réactive pour l'attaque électrophile est la position 3, suivie par la position 5. Les substitutions nucléophiles, quant à elles, se font préférentiellement en position 5 et 8. Par exemple pour la bromation,²²⁹ en utilisant le *N*-bromosuccinimide, il est possible d'obtenir sélectivement le dérivé monobromé

²²⁷ N. Bouloc et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2010, 20, 5988-5993.

²²⁸ T. P. Matthews *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 4045-4049.

²²⁹ J. Bradac et al., J. Org. Chem., **1977**, 42, 4197-4201.

en position 3. Quant à l'emploi du dibrome, la bromation s'effectue aussi en position 5 (Schéma 41).





L'utilisation de l'éthanol comme solvant avec le dibrome a permis d'obtenir le composé monobromé en position 5 avec un rendement de 95%.²³⁰

Bonnet et al.²³¹ se sont également intéressés à la substitution nucléophile du brome par un groupement méthoxy permettant d'isoler la 6-bromo-8-méthoxyimidazo[1,2-a]pyrazine en présence de méthanolate de sodium avec un rendement de 72% (Schéma 42).



Schéma 42

Pour la iodation, de récents exemples ont été publiés avec le N-iodosuccinimide et l'attaque électrophile se fait bien en position 3.



Schéma 43

 ²³⁰ A. R. Harris *et al.*, *Tetrahedron*, **2011**, *67*, 9063-9066.
 ²³¹ P. A. Bonnet *et al.*, *Aust. J. Chem.*, **1984**, *37*, 1357-1361.

2.2.2.4 Métallation des imidazo[1,2-a]pyrazines

Les lithiations des imidazo[1,2-*a*]pyrazines ont été testées dans le tétrahydrofurane avec le *n*-butyllithium, suivies par la réaction avec divers électrophiles (Schéma 44, Tableau 16).²³²



R ₆	R ₈	Réactifs	Ε	Observations
Н	Н	D_2O	D	aucune réaction
Н	OMe	CH ₃ CH ₂ CHO	CH ₃ CH ₂ CHOH	aucune réaction
Br	OMe	CH ₃ CH ₂ CHO	CH ₃ CH ₂ CHOH	C-5 : 60% C-3 et C-5 : 20%

Tableau 16

Seul le dérivé substitué par un brome en position 6 réagit, permettant d'accéder aux imidazo[1,2-*a*]pyrazines mono et disubstituées. La lithiation avec le lithium 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine (LTMP) permet d'obtenir les produits monosubstitués en position 3 et 5. Pour le composé bromé en position 6, seul le composé monosubstitué en 5 est isolé, à cause de l'effet ortho-directeur du brome (Schéma 45, Tableau 17).



Schéma 45

²³² O. Vitse *et al.*, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 6485-6496.

R ₆	R ₈	Réactifs	Ε	Observations
Н	Н	CH ₃ CH ₂ CHO	CH ₃ CH ₂ CHOH	C-3 : 15% C-5 : 15%
Н	OMe	CH ₃ CH ₂ CHO	CH ₃ CH ₂ CHOH	aucune réaction
Br	OMe	CH ₃ CH ₂ CHO	CH ₃ CH ₂ CHOH	C-5:20%

Tableau 17

2.2.2.3-Hydroxyméthylation des imidazo[1,2-a]pyrazines

L'hydroxyméthylation directe s'accomplit, suivant la procédure publiée par Teulade *et al.*,⁷³ sélectivement en position 3. L'imidazopyrazine est mis en réaction avec le formaldéhyde et l'acétate de sodium dans l'acide acétique pour obtenir l'alcool méthylique avec un rendement de 45% (Schéma 46).²³³



Schéma 46

²³³ P. A. Bonnet et al., J. Med. Chem., **1992**, 35, 3353-3358.

III-Partie théorique : Travaux réalisés

1-Pharmacomodulations à partir de la 2-phénylimidazo[1,2*a*]pyridin-3-amine

Nous décrirons dans le présent chapitre les travaux de synthèse mis en œuvre pour l'accès aux dérivés imidazo[1,2-*a*]pyridines de structure générale **I** (Figure 66).



R = COCH₃, COPh, Ph, 3-Pyridyl, 4-ClPh, 4-NO₂Ph, CONHEt, CONH*i*Pr, CONHBu, CONHCyclohexyl, CONHPh, CONHBn

Figure 66

Les imidazo[1,2-*a*]pyridines seront substituées en position 2 par un phényle et en position 3 par un amide, une amine (hétéro)aromatique ou une urée.

1.1-Stratégie de synthèse

Ces composés peuvent être obtenus facilement en six étapes. Le schéma rétrosynthétique mis en place pour accéder aux molécules cibles est décrit sur le schéma 47. Ainsi, pour synthétiser les 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridines **VI** substituées en position 3 par divers groupements amides, amines ou urées, la stratégie de synthèse a été envisagée à partir de l'intermédiaire clé **V**, la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amine, obtenu par réduction du précurseur nitré **IV**. Il conviendra de réaliser le couplage de Suzuki, conduisant à l'introduction d'un phényle en position 2 du noyau imidazo[1,2-a]pyridine, après la réaction de nitration en position 3 des 2-halogénoimidazo[1,2-a]pyridines **II**. Ceci va favoriser la réactivité de l'halogène sur le dérivé **III** pour la formation de la liaison carbone-carbone. Enfin, la synthèse des 2-halogénoimidazo[1,2-a]pyridines **II** s'effectuera à partir de la 2-aminopyridine **I**.



Schéma 47 : Voie d'accès aux dérivés 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridines fonctionnalisés en position 3

1.2-Synthèse de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amine

1.2.1-Synthèse des 2-halogénoimidazo[1,2-a]pyridines

Les 2-halogénoimidazo[1,2-*a*]pyridines sont classiquement préparées en deux étapes à partir de la 2-aminopyridine $\mathbf{1}$.¹⁷² Une alkylation de l'azote pyridinique en présence d'un ester acétique α -halogéné permet d'abord l'introduction des deux carbones nécessaires à l'obtention du bicycle fusionné. Les réactions de cyclisation intramoléculaire et d'halogénation, dans une même étape, permettent ensuite d'élaborer l'hétérocycle imidazole.

Dans un premier temps, la synthèse du bromhydrate de (2-iminopyridin-1(2H)-yl)acétate d'éthyle **2** a été effectuée à partir de la 2-aminopyridine **1** et du bromoacétate d'éthyle conduisant au composé **2** avec un rendement de 97% (Schéma 48).²³⁴



Schéma 48 : Synthèse du bromhydrate de (2-iminopyridin-1(2H)-yl)acétate d'éthyle 2

L'accès aux 2-halogénoimidazo[1,2-*a*]pyridines peut aussi se faire à partir du bromhydrate d'imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-one **3** qui est obtenu à partir du composé **2** dans l'éthanol au reflux. Un mélange du produit cyclisé et non cyclisé est obtenu et sera engagé sans séparation dans l'étape suivante (Schéma 49). Les deux composés ont pu être identifiés

²³⁴ S. Delombaert *et al.*, *brevet*, **2008**, WO 2008045688.

par UPLC-MS et par RMN. En s'appuyant sur le spectre RMN du proton, le composé **3** représente 3/4 du mélange avec un rendement global de 70%.



Schéma 49

Pour la première étape, un autre intermédiaire a été synthétisé à partir de la 2aminopyridine **1** et de l'acide chloroacétique en présence de triéthylamine permettant d'obtenir le composé **4** avec un rendement de 71% (Schéma 50).¹⁷²



Schéma 50 : Synthèse de l'acide (2-iminopyridin-1(2H)-yl)acétique 4

Dans la seconde étape, la cyclisation intramoléculaire suivie de l'halogénation est réalisée en présence de chlorure ou bromure de phosphoryle. Le mécanisme de cette réaction est présenté sur la schéma 51. La réaction commence par l'halogénation de l'acide carboxylique pour conduire à un chlorure d'acide intermédiaire, suivie d'une réaction d'addition-élimination. Après la cyclisation intramoléculaire, l'équilibre céto-énolique conduit à l'imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-ol. De nouveau, l'halogénation classique de l'alcool est effectuée menant aux 2-halogénoimidazo[1,2-*a*]pyridines.



Schéma 51 : Mécanisme de l'hétérocyclisation

Plusieurs conditions ont été testées avant d'optimiser cette synthèse, à partir des composés 2, 3 ou 4 en présence d'halogénures de phosphoryle au reflux avec ou sans solvant (Schémas 52-54).

En présence des composés 2 ou 3 et de chlorure de phosphoryle, la 2chloroimidazo[1,2-*a*]pyridine 5 est obtenue avec un rendement de 32% sans solvant et de 41 à 59% dans le toluène (Schéma 52). Cependant, dans les trois cas un produit secondaire, la 3chloroimidazo[1,2-*a*]pyridine 5' se forme. Les deux isomères restent non séparables malgré différents essais de purification. Le composé 5' est identifié en RMN du proton, le déplacement chimique du proton en position 2 et 3 étant légèrement différent.



Schéma 52 : Synthèse de la 2-chloroimidazo[1,2-a]pyridine 5

Finalement, l'utilisation du dérivé acide acétique **4** dans le toluène sera privilégiée (Schéma 53), conduisant uniquement au composé **5** avec un bon rendement (88%).



Schéma 53 : Synthèse de la 2-chloroimidazo[1,2-a]pyridine 5

Les mêmes types d'essais, en remplaçant notamment le toluène par l'acétonitrile, ont été effectués pour synthétiser la 3-bromoimidazo[1,2-*a*]pyridine **6** (Schéma 54). A partir du mélange de dérivés **2** et **3**, la 2-bromoimidazo[1,2-*a*]pyridine **6** est synthétisée en mélange avec la 3-bromoimidazo[1,2-*a*]pyridine **6'** en proportions équivalentes. Par ailleurs, le composé bromé **6** est obtenu avec un très faible rendement que ce soit à partir des dérivés 2^{235} ou **4** malgré une conversion totale des produits de départ. Ce faible rendement est essentiellement dû à des problèmes d'extraction lors du traitement et de purification. De même que pour le composé **5'**, le déplacement chimique du proton en position 2 et 3 est légèrement différent entre les dérivés **6** et **6'**. En UPLC-MS, les temps de rétention sont par contre identiques.



Schéma 54 : Synthèse de la 2-bromoimidazo[1,2-a]pyridine 6

²³⁵ M. Soeberdt *et al.*, *brevet*, **2009**, WO 2009080291.

1.2.2-Nitration de la 2-chloroimidazo[1,2-a]pyridine

La 2-chloroimidazo[1,2-*a*]pyridine **5** a été utilisée par la suite, contrairement à son analogue bromé **6** obtenu avec de très faible rendement. Il est établi que les substitutions électrophiles aromatiques se font en position 3 du noyau imidazo[1,2-*a*]pyridine.¹⁹⁷ La nitration est donc effectuée régiosélectivement en position 3 par réaction avec l'acide nitrique fumant dans l'acide sulfurique concentré permettant d'isoler le composé **7** avec un rendement de 81% (Schéma 55).¹⁶⁵



Schéma 55 : Synthèse de la 2-chloro-3-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 7

1.2.3-Synthèse de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine

1.2.3.1-Couplage de Suzuki

Le couplage de Suzuki²³⁶ permet la formation d'une liaison carbone-carbone. L'intérêt de cette réaction réside dans l'utilisation d'esters ou d'acides boroniques, composés stables et peu toxiques. De plus, un grand nombre de ces produits sont disponibles commercialement. Cette réaction tolère aussi la présence d'une large variété de groupes fonctionnels et conduit généralement à de bons rendements avec une bonne sélectivité. Les autres avantages de ce couplage sont la faible quantité de catalyseur requise, l'utilisation possible de nombreux solvants à différentes températures.²³⁷

Le cycle catalytique proposé pour cette réaction de couplage catalysée par le palladium entre un dérivé halogéné ou un triflate et un composé organométallique est décrit sur le schéma 56.²³⁸

²³⁶ N. Miyaura *et al.*, *Chem. Rev.*, **1995**, *95*, 2457-2483.

²³⁷ J. P. Corbet *et al.*, *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, 2651-2710.

²³⁸ M. Moreno-Manas et al., J. Org. Chem., **1996**, 61, 2346-2351.



Schéma 56 : Cycle catalytique du couplage de Suzuki

Ce couplage implique des catalyseurs au palladium (0) (par exemple $Pd(PPh_3)_4$) commerciaux ou alors générés *in situ* à partir d'un sel de palladium (II) (par exemple $PdCl_2$ ou $Pd(OAc)_2$) facilement réduit en complexe Pd(0) actif.

Le cycle est initié par l'addition oxydante du dérivé halogéné (ou de son analogue) sur le métal pour former un complexe de palladium (II). Cette étape s'effectue concomitamment avec un échange de deux ligands autour de la sphère de coordination du complexe de palladium. La vitesse de l'addition oxydante va dépendre de la nature du groupement partant sur l'aromatique : I > OTf > Br >> Cl. L'encombrement stérique de l'halogénure d'aryle n'est pas un facteur déterminant. Par contre, les aryles substitués par un groupement électroattracteur seront plus réactifs que ceux possédant un groupement électrodonneur. De plus, l'addition oxydante est également influencée par la nature des phosphines entourant le complexe de palladium.

La base joue ensuite un rôle important : elle active le complexe palladié en formant, par substitution de l'halogénure, un complexe R_1 -Pd(II)-OH qui facilite la réaction de transmétallation. La base permet aussi la formation d'un « ate » complexe par association avec l'acide boronique. La nucléophilie du groupe porté par le bore est ainsi augmentée.

Lors de l'étape de transmétallation, l'atome d'halogène est remplacé par un résidu organique au sein du complexe trans R₁Pd(II)X. Elle s'accompagne d'une libération d'acide borique et de base.

Enfin, le cycle catalytique se termine par une double élimination réductrice. Cette étape permet la formation de la liaison R_1 - R_2 et régénère le catalyseur palladié. L'élimination ne peut s'opérer que si les résidus R₁ et R₂ sont en position *cis* dans le complexe plan carré. Cette isomérisation s'effectue juste avant la formation de la liaison carbone-carbone.

Depuis la publication des travaux de Suzuki et Miyaura en 1981, de nombreuses applications et variantes de cette réaction ont été développées pour conduire à différents produits de couplage. Ainsi différents systèmes de catalyseurs ont été développés. Nous citerons par exemple Pd(PPh₃)₄, (PPh₃)₂PdCl₂, (CH₃CN)₂PdCl₂, (dppf)PdCl₂, Pd(dba)₂, Pd(OAc)₂, Pd(OAc)₂/dppf, Pd/C, le palladium supporté, ou encore des catalyseurs au nickel comme (PPh₃)₂NiCl₂ ou NiCl₂.6H₂O. Les trialkyles phosphines moins onéreuses sont aussi utilisées lors de certains couplages. Une autre alternative aux ligands phosphines (sensibles à l'air) est l'emploi de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (Dabco), une amine tertiaire stable et peu chère.239

De même, lors de ce couplage plusieurs bases peuvent être employées suivant les conditions opératoires mises en place (Na₂CO₃, K₂CO₃, NaOH, *t*-BuOK, K₃PO₄, Cs₂CO₃...).

Ce couplage peut aussi se réaliser à partir de sels de bore. Ainsi, Darses et Genêt ont décrit le couplage d'acides arylboroniques avec des sels de diazonium tétrafluoroborates aromatiques.²⁴⁰ De même, par la suite le couplage de sels de potassium trifluoroborates d'aryles ou d'hétéroaryles avec des halogénures d'aryles ou d'hétéroaryles est rapporté par Molander.²⁴¹ En général, les sels de trifluoroborates sont plus nucléophiles que les analogues acides boroniques, et plus stables lors de leur stockage.

1.2.3.2-Arylation de la 2-chloro-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridine 7

Le composé 7 est arylé en utilisant l'acide phénylboronique, avec une catalyse au tétrakis(triphénylphosphine)palladium (Pd(PPh₃)₄) en présence de carbonate de sodium comme base. Différents essais ont permis de constater que le meilleur rendement est obtenu dans les conditions classiques de reflux en milieu DME/H₂O (Schéma 57, Tableau 18 : essais 1 et 4). En effet, lorsque la réaction s'effectue en tube scellé au reflux ou sous irradiations

²³⁹ J. H. Li *et al.*, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 2809-2811.

 ²⁴⁰ S. Darses *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 3857-3860.
 ²⁴¹ G. A. Molander *et al.*, *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 1867-1870.

micro-ondes, des produits de dégradation se forment diminuant ainsi le rendement (Tableau 18 : essais 2 et 3).



Essais **Solvants** Conditions Rendements 1 DME/H₂O rfx, 16 h 90% 2 DME/H₂O tube scellé, rfx, 15 h 72% 3 DME/H₂O MO, tube scellé, 75 °C, 100 W, 3 h 70% 4 dioxane/H₂O rfx, 16 h 74%

Schéma 57 : Synthèse de la 3-nitro-2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine 8

Tableau 18

Très récemment, Yan *et al.*²⁴² ont développé une méthode cuprocatalysée pour la synthèse des 2-(hétéro)aryl-3-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridines à partir de 2-aminopyridines et de nitrooléfines en utilisant l'air comme agent oxydant (Schéma 58). L'intérêt de cette voie d'accès est qu'elle se déroule en une seule étape et qu'elle conduit rapidement à des composés diversement substitués avec des rendements globalement très corrects de 49 à 95%.

En ce qui concerne l'influence des effets électroniques sur cette réaction, les nitrooléfines ou les 2-aminopyridines riches en électrons présentent une meilleure réactivité et donnent des rendements supérieurs à leurs analogues déficients en électrons. Par ailleurs, il a été démontré que l'encombrement stérique des substituants sur le cycle pyridinique peut affecter les rendements.



Schéma 58 : Accès aux 2-(hétéro)aryl-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines

²⁴² R. L. Yan et al., J. Org. Chem., 2012, 77, 2024-2028.

Concernant le mécanisme réactionnel plausible décrit dans cette publication, la première étape implique la condensation des substrats 1 et 2 par une addition de Michael pour produire l'intermédiaire 4 (Schéma 59). Un radical cation 5 est ensuite généré, grâce à l'oxydation du catalyseur au cuivre (I) libérant un électron, suivie par l'extraction d'un hydrogène et par une oxydation conduisant à la formation de l'ion nitrénium 6. L'imine 7 est alors formée par l'élimination d'un proton et est en équilibre avec la forme énamine 8. Par le même processus, l'ion nitrénium 10 est ensuite généré et subit une addition nucléophile intramoléculaire pour donner l'intermédiaire 11 et l'élimination ultérieure du proton pour conduire à la 3-nitroimidazo[1,2-a]pyridine 3.



Schéma 59 : Mécanisme envisagé

Ainsi, en cas de résultats biologiques prometteurs, cette approche pourrait être mise en œuvre ultérieurement dans le cadre d'une pharmacomodulation générale de cette série, en position 2 du noyau 3-nitroimidazo[1,2-a]pyridine, évitant les quatre étapes de synthèse à partir de la 2-aminopyridine **1**.

1.2.4-Réduction de la 3-nitro-2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine

Beaucoup de procédés ont été préconisés pour la réduction des composés nitrés aromatiques : métaux en milieu acide, sels métalliques réduits, procédés catalytiques et électrolytiques...Les rendements sont, en général, très bons.^{165,243}

La réduction peut être réalisée par Sn/HCl, mais l'hydrogénation catalytique est beaucoup plus simple. La réaction se fait habituellement dans l'éthanol avec comme catalyseur Pt ou

²⁴³ R. E. Beevers et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2006, 16, 2539-2542.

Pd/C, et il peut être nécessaire d'ajouter un acide faible pour empêcher l'amine obtenue d'empoisonner le catalyseur.

La réduction de la 3-nitro-2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridine **8** a tout d'abord été effectuée en présence du couple Sn/HCl suivant la méthode utilisée par A. Gueiffier qui permet d'obtenir l'amine hétérocyclique **9** avec un rendement de 94% (Schéma 60, Tableau 19 : essai 1). Un autre essai avec Sn/HBr a aussi permis de synthétiser le composé désiré avec un rendement de 86%. L'hydrogénation catalytique en flux continu, mise en œuvre grâce au H-Cube®, a été effectuée en présence de Pd/C mais sans succès. La catalyse au nickel de Raney, conduit cependant au dérivé **9** avec un excellent rendement de 96% (Tableau 19 : essais 3 et 4). Cette dernière méthode s'avère donc particulièrement intéressante grâce aussi à la grande facilité de traitement et de purification, sans la présence de sels d'étain.



Schéma 60 : Synthèse de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amine 9

Essais	Réactifs	Conditions	Rendements	
1	Sn, HCl (37%) _{aq}	TA, 3 h	94%	
2	Sn, HBr (48%) _{aq}	TA, 3 h	86%	
3	H ₂ , 10% Pd/C, EtOH/THF	H-Cube®, TA,	dágradation	
3	(9/1)	P = 1 puis 10 bars	uegrauation	
1	H ₂ , Ni Raney,	H-Cube®, 40 °C,	96%	
4	EtOH/THF (9/1)	P = 10 bars	9070	

Tableau 19

La pharmacomodulation de la 2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** va alors permettre l'introduction de divers groupements amides, amines (hétéro)aromatiques ou urées, en position 3 de l'hétérocycle.

1.2.5-Fonctionnalisation en position 3 de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amine

1.2.5.1-Amidification

La méthode la plus ancienne est celle de Schotten-Baumann.²⁴⁴ La réaction entre l'amine et l'halogénure d'acyle est effectuée en milieu aqueux avec une solution diluée d'ions

²⁴⁴ W. Freudenberg, *brevet*, **1958**, US 2844610.

hydroxydes dont le rôle est de neutraliser l'acide formé. L'amine est suffisamment nucléophile pour que la réaction concurrente des ions hydroxyde vis-à-vis de l'halogénure d'acyle soit négligeable. Au début du siècle, A. Einhorn a modifié le protocole initial en remplaçant les ions hydroxyde par la pyridine. Plus récemment, W. Steglich et L. M. Litvinenko ont introduit la diméthylaminopyridine qui s'est révélé un catalyseur extrêmement efficace dans ce type de réactions.²⁴⁵

L'acylation des amines est donc possible avec les chlorures et anhydrides d'acide (formes activées du carboxyle), ainsi que les esters. Cette addition-élimination consécutive à une attaque nucléophile du carbonyle par le doublet de l'azote se fait naturellement avec les amines primaires et secondaires, mais les premières ne sont acylées qu'une seule fois, en raison de la désactivation de l'azote par le C=O amidique qui diminue la basicité de cet hétéroatome et, en conséquence sa nucléophilie. L'acylation des amines primaires ou secondaires par un halogénure d'acide en milieu organique en présence d'une base, se fait avec de bons rendements. La base utilisée, qui peut être une amine tertiaire, sert à piéger l'acide formé.

Un premier essai a alors été réalisé par réaction de l'amine hétérocyclique **9** avec le chlorure d'acétyle dans le dichlorométhane permettant la synthèse du dérivé acétamide **10** avec un rendement de 34% (Schéma 61, Tableau 20). Dans un second essai, l'ajout d'une amine tertiaire, la triéthylamine, conduit à la formation du composé **10** avec un meilleur rendement de 62%. Finalement, l'acétylation de l'amine **9**, en présence d'anhydride acétique dans le toluène à 110 °C, permet l'accès au dérivé **10** avec un rendement supérieur de 65%. L'analogue benzoylé **11** est synthétisé à partir du chlorure de benzoyle, en présence de la triéthylamine dans le THF, avec un rendement de 43% (Schéma 61, Tableau 20).



Schéma 61 : Amidifications de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amine 9

²⁴⁵ L. M. Litvinenko *et al.*, Reaktsionnaya Sposobnost Organicheskikh Soedinenii, **1971**, 8, 523-537.

Produits	R	Réactifs	Solvants	Conditions	Rendements
10	CH ₃	0 0 0	CH ₂ Cl ₂	40 °C, 32 h	34%
10	CH ₃	CI, Et ₃ N	THF	TA, 48 h	62%
10	CH ₃		toluène	110 °C, 16 h	65%
11	r ^r r ^r r	CI , Et ₃ N	THF	TA, 48 h	43%

Tableau 20

1.2.5.2-Synthèse des N-(Hétéro)aryl-2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amines

1.2.5.2.1-Couplage de Buchwald / Hartwig

Depuis les premiers travaux publiés par Buchwald et Hartwig^{246,247} sur l'amination d'halogénures d'aryles, un intérêt considérable s'est développé autour de ces réactions de couplage. Ainsi, par une combinaison appropriée de la source de palladium, du ligand, de la base et du solvant, le couplage permet la création d'une liaison carbone-azote. Cette réaction présente de nombreux intérêts. En effet, elle peut s'appliquer à de nombreuses amines et à de nombreux dérivés halogénés, avec une large flexibilité de groupes fonctionnels.

Ce couplage peut être réalisé dans des conditions douces. Le cycle catalytique général de création de liaison C-N proposé comporte trois principales étapes (Schéma 62).²³⁷

²⁴⁶ J. Louie *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 3609-3612.
²⁴⁷ A. S. Guram *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, *34*, 1348-1350.



Schéma 62 : Cycle catalytique du couplage de Buchwald / Hartwig

Une première étape d'addition oxydante s'effectue par réaction du complexe de palladium (0) avec le dérivé halogéné (ou analogue). La seconde étape consiste en la coordination et la déprotonation de l'amine. Un intermédiaire de type amide tertiaire au palladium est obtenu par arrachement du proton de l'amine coordinée. Lors de cette étape, la capacité de la base à arracher le proton est un paramètre primordial.

La troisième étape est l'élimination réductrice au cours de laquelle l'amine souhaitée est obtenue et le palladium (0) régénéré. Il est à noter qu'au cours de ce cycle catalytique une élimination supplémentaire peut avoir lieu. Cette réaction secondaire formant une imine et un complexe palladium-H, peut ensuite conduire à la formation d'un sous produit R_1 -H par β -élimination réductrice.

L'utilisation de ligands chélatants (en général des phosphines) peut réduire fortement l'impact de cette réaction secondaire. Les ligands riches en électrons augmentent la densité électronique autour du palladium facilitant ainsi l'étape d'addition oxydante. Les ligands encombrés eux, favorisent l'élimination réductrice. Actuellement, il existe une large variété de ligands permettant ces réactions de couplage, notamment des ligands phosphines bidentés ou aminophosphines.

1.2.5.2.2-Couplages réalisés

Dans le cadre de nos travaux, un couplage de type Buchwald / Hartwig a été mis en œuvre à partir de l'intermédiaire clé **9** et de différents halogénoaryles. Ces composés sont mis en réaction en tube scellé, à 110 °C dans le toluène en présence de tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium (Pd₂(dba)₃), de *tert*-butanolate de sodium, base la plus couramment utilisée, et comme ligand du (\pm) -2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle (BINAP) (Schéma 63).



Schéma 63 : Couplage de Buchwald / Hartwig à partir l'amine hétérocyclique 9

Produits	R	Réactifs	Temps	Rendements
12	"hand have been been been been been been been be	Br	4,5 h	70%
13	N North North North	Br	16 h	29%
14	C		20 h	31%
15	NO2	Br NO ₂	16 h	66%

Tableau 21

Cette méthode conduit aux produits finaux **12** à **15** avec des rendements variables compris entre 29 et 70% (Tableau 21). La conversion du produit de départ est totale dans chaque cas. La variation des rendements est due à des problèmes de purification pour certains composés. Plusieurs colonnes chromatographiques et des triturations pour certains dérivés ont été nécessaires afin de les isoler purs.

1.2.5.3-Synthèse des (2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urées en présence d'isocyanates

Dans un premier temps, la série des (2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urées a été développée en mettant la 2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** en présence d'un isocyanate²⁴⁸ dans le diméthylformamide à 80 °C. L'attaque nucléophile de la fonction amine sur l'isocyanate a conduit aux urées **16-21** avec des rendements très divers allant de 16 à 70% (Schéma 64, Tableau 22).



Schéma 64 : Synthèse des urées 16-21

Produits	R	Réactifs	Temps	Rendements
16	un norther and the second seco	OCN	16 h	55%
17	n n n n n n n n n n n n n n n n n n n	OCN	24 h	41%
18	nn nn	OCN	16 h	16%
19	and the second s	OCN	16 h	45%
20	r ^t r	OCN	24 h	70%
21	r ^t r	OCN	16 h	54%

Tableau 22

²⁴⁸ C. Blackburn *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 1495-1500.

Comme précédemment, la conversion du produit de départ est totale pour chaque réaction. De nombreux produits de dégradation ont cependant été observés par UPLC-MS impliquant dans certains cas des problèmes de purification des composés (colonnes chromatographiques, triturations, recristallisation).

1.2.6-Voie d'accès annexe aux composés cibles

Cette voie annexe (Schéma 65), certes plus longue, a été envisagée afin d'évaluer l'importance du groupement nitro lors du couplage de Suzuki (Schéma 57). Ainsi, la réduction a été effectuée, avant l'arylation, sur le dérivé nitré 7 en présence du couple Sn/HBr qui permet d'obtenir l'amine aromatique **22** avec un rendement de 69%. Il convient d'utiliser ici une méthode chimique de réduction et non catalytique en présence de dihydrogène pour éviter une réaction secondaire de déchloration.

Une étape de protection de l'amine est ensuite effectuée. Les amines peuvent être protégées par différents groupements protecteurs²⁴⁹ comme le carboxybenzyle ou benzyloxycarbonyle, encore appelé groupe Z ou CBz ou le *t*-butyloxycarbonyl (Boc). Ce dernier a été greffé en utilisant le dicarbonate di-*tert*-butyle en présence de la 4-diméthylaminopyridine permettant d'obtenir le composé **23** avec un rendement faible de 30%. Ce groupement protecteur est clivable avec une solution aqueuse diluée d'acide chlorhydrique par exemple ou en présence d'acide trifluoroacétique.

Enfin, un essai d'arylation de l'amine Boc protégée **23** a été réalisé, sans succès, par couplage de Suzuki dans les mêmes conditions que précédemment. La comparaison avec les résultats obtenus dans la première voie de synthèse, nous a permis de vérifier l'importance du groupement nitro, électroattracteur, lors de l'étape d'addition oxydante sachant aussi que l'encombrement stérique de l'halogénure d'aryle n'est pas le facteur déterminant.

²⁴⁹ R. K. Konat, *Praxis der Naturwissenschaften, Chemie*, **1995**, 44, 19-21.



Schéma 65 : Voie d'accès annexe aux composés cibles

1.2.7-Conclusion

Douze molécules finales de structure générale **I** (Figure 66) et appartenant à trois sousséries chimiques différentes (amide, amine et urée) ont été synthétisées. L'approche a été réalisée par synthèse linéaire en six étapes avec des rendements divers pour la dernière étape de fonctionnalisation allant de 16 à 70%.

2-Pharmacomodulations à partir de la 3-phénylimidazo[1,2*a*]pyridin-2-amine

Ce chapitre concerne les travaux de synthèse mis en œuvre pour l'accès aux dérivés imidazo[1,2-*a*]pyridiniques de structure générale **II** (Figure 67).



$$\label{eq:R} \begin{split} R &= \text{COCH}_3, \text{ CONHPh, CONH}(3\text{-}MeO)\text{Ph},\\ \text{CONH}(3\text{-}Cl)\text{Ph}, \quad \text{CONHBz, CONHBn},\\ \text{CONH}(4\text{-}MeO)\text{Bn} \end{split}$$

Figure 67

2.1-Stratégie de synthèse

Pour synthétiser les 3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridines **VI** substituées en position 2 par un acétamide et diverses urées, deux voies de synthèse ont été choisies permettant l'accès au précurseur clé **V** : la 3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine (Schéma 66).

Dans la première stratégie (voie A), les composés cibles peuvent être obtenus facilement en cinq étapes selon la méthode décrite par Hamdouchi *et al.*.¹⁹¹ Ainsi, il conviendra d'accéder au dérivé trifluoroacétamide **IV**, facilement hydrolysable en **V**. Le composé **IV** sera lui même obtenu par cyclisation de l'intermédiaire **III** dont l'accès est envisagé, après *N*-tosylation de la 2-aminopyridine **I**, par *N*-alkylation en présence de 2-bromo-2-phénylacétamide.

Pour la seconde approche (voie B), la synthèse se déroulera en sept étapes suivant la méthode publiée par Christos *et al.*¹⁹³ Le carbamate **IX**, précurseur de l'amine hétérocyclique **V**, sera obtenu par un réarrangement de Curtius après hydrolyse de l'ester **VIII**. L'arylation en position 3 du dérivé imidazo[1,2-*a*]pyridinique **VII** est envisagée soit, après iodation, par couplage de Suzuki ou soit par arylation directe. Enfin la condensation de la 2-aminopyridine **I** avec le bromopyruvate d'éthyle fournira l'ester **VII**.



Schéma 66 : Voie d'accès aux dérivés 3-phénylimidazo[1,2-a]pyridines fonctionnalisés en position 2

2.2-Synthèse de la 3-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-2-amine (Voie A)

2.2.1-Tosylation de la 2-aminopyridine

Dans un premier temps, le sulfonamide **25** est préparé par réaction d'additionélimination, après attaque nucléophile du groupement NH_2 de la 2-aminopyridine **1** sur le chlorure de paratoluènesulfonyle (TsCl) dans la pyridine à 90 °C avec un rendement de 63% (Schéma 67).



Schéma 67 : Synthèse du sulfonamide 25

2.2.2-Synthèse du 2-[2-{[(4-méthylphényl)sulfonyl]imino}pyridin-1(2H)-yl]-2phénylacétamide

Il convient dans un premier temps d'accéder au 2-bromo-2-phénylacétamide, non commercial. Deux étapes de synthèse sont effectuées à partir de l'acide phénylacétique : une bromation suivie d'une amidification.

La bromation radicalaire de Wohl-Ziegler²⁵⁰ s'effectue en présence de *N*bromosuccinimide (NBS) et de peroxyde de benzoyle, amorceur de la réaction radicalaire. En effet, ce dernier subit une homolyse par simple chauffage conduisant à la formation de phényle radicalaire (initiation) qui réagit dans un premier temps avec le dibrome, toujours présent en faible quantité dans le NBS, pour générer le brome radicalaire (Schéma 68). Le radical formé va extraire un atome d'hydrogène en α du carbonyle, position benzylique de l'acide phénylacétique, suivi de la réaction d'halogénation α du carbonyle grâce au brome moléculaire présent dans le milieu (propagation). Ce dernier est régénéré par réaction entre le NBS et l'acide bromhydrique, produit secondaire de la réaction. Enfin la réaction de terminaison correspond à la combinaison du brome radicalaire avec le radical issu de l'acide phénylacétique.

²⁵⁰ C. Djerassi, Chem. Rev. (Washington, DC), **1948**, 43, 271-317.



Schéma 68 : Mécanisme de la réaction de bromation de Wohl-Ziegler

La réaction est réalisée sous irradiations UV dans le tétrachlorure de carbone et conduit à la formation du composé bromé **27** utilisé par la suite sans purification. En effet, des essais de purification chromatographique et de recristallisation n'ont pas permis de l'isoler pur (Schéma 69).



Schéma 69 : Synthèse du 2-bromo-2-phénylacétamide

L'amidification de l'acide carboxylique **27** se fait ensuite en deux étapes par réaction avec le chlorure d'oxalyle en présence de *N*,*N*-diméthylformamide (DMF) comme catalyseur

afin de former le chlorure d'acyle.¹⁹¹ Cette réaction peut aussi être mise en œuvre à partir d'autres agents halogénants comme le chlorure de thionyle, le trichlorure de phosphore, ou encore le pentachlorure de phosphore. Concernant le mécanisme réactionnel, la première étape consiste en la formation d'un cation iminium par réaction entre le chlorure d'oxalyle et le DMF (Schéma 70). L'intermédiaire réactif est très électrophile et il réagit rapidement avec l'acide carboxylique pour conduire à une forme activée de l'acide qui subit l'attaque nucléophile d'un ion chlorure pour donner le chlorure d'acyle souhaité et régénérer le DMF.



Schéma 70 : Mécanisme d'halogénation de l'acide carboxylique

Finalement, la réaction du chlorure d'acyle en présence d'ammoniac gazeux dans un milieu toluène / hexane conduit au 2-bromo-2-phénylacétamide **28** avec un rendement de 52% sur 2 étapes (Schéma 69).

Pour obtenir l'amide **29**, la *N*-alkylation, sur l'azote pyridinique de la 2-aminopyridine *N*-tosylé **25**, est réalisée avec le 2-bromo-2-phénylacetamide **28** dans le DMF en présence de la base de Hünig, la *N*,*N*-diisopropyléthylamine, base organique faiblement nucléophile. Un essai à température ambiante a conduit à l'amide **29** avec un rendement de 77% au bout de 2 jours de réaction. Afin d'améliorer les conditions expérimentales, le milieu réactionnel a été chauffé à 100 °C permettant de diminuer le temps de réaction à 4,5 h et d'isoler le composé souhaité avec un rendement équivalent de 75% (Schéma 71).



Schéma 71 : Synthèse de l'amide 29

2.2.3-Synthèse de la 3-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-2-amine

La synthèse se poursuit alors par la cyclisation du dérivé **29** en présence d'anhydride trifluoroacétique dans le dichlorométhane, à température ambiante, entraînant la formation de deux produits: le composé **30**, en majorité (ratio de 3/4 en RMN du proton), mais aussi l'intermédiaire clé **31**, résultant de l'hydrolyse de la fonction trifluoroacétamide sur le premier produit formé. Le mélange de ces deux composés est donc engagé directement dans l'étape suivante d'hydrolyse. Elle s'effectue dans un mélange *N*,*N*-diisopropyléthylamine/méthanol au reflux permettant la formation de l'amine hétérocyclique **31** avec un rendement global sur les deux étapes de 80% (Schéma 72).



Schéma 72 : Synthèse de l'intermédiaire clé 31

2.3-Synthèse de la 3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine (Voie B)

Comme nous l'avons vu dans l'approche rétrosynthétique (Schéma 66), une seconde stratégie de synthèse de l'intermédiaire **31** a été envisagée en sept étapes selon la méthode décrite par Christos *et al.*.¹⁹³

2.3.1-Synthèse du bromhydrate d'imidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylate d'éthyle

La condensation de la 2-aminopyridine **1** avec le bromopyruvate d'éthyle dans l'éthanol au reflux conduit à l'ester **32** avec un très bon rendement de 92% (Schéma 73).¹⁶⁴



Schéma 73 : Synthèse de l'imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle 32

2.3.2-Arylation en position 3 du noyau imidazo[1,2-a]pyridinique

L'arylation du composé **32** a été envisagée selon deux méthodes classiques. Dans un premier temps, une iodation sélective en position 3 suivie d'un couplage de Suzuki a été mise en œuvre¹⁶⁴ et dans un second temps, une arylation directe en position 3 de l'hétérocycle.²⁵¹

2.3.2.1-Arylation par couplage de Suzuki

Pour l'iodation, une méthode consiste à ajouter du diiode au composé en présence de pyridine.²⁰² La pyridine attaque les électrophiles par son atome d'azote, entraînant la formation de l'espèce réactive, l'ion *N*-iodopyridinium, qui est attaqué par le dérivé imidazo[1,2-*a*]pyridinique **32** dans sa position réactive. L'ion pyridinium est en effet un meilleur groupe partant que l'iode. Cette voie mène au dérivé iodé **33** avec un rendement de 87% (Schéma 74).



Schéma 74 : Iodation par I₂/pyridine du dérivé imidazo[1,2-*a*]pyridinique 32

Par ailleurs, un autre essai a été réalisé par l'intermédiaire du *N*-iodosuccinimide (NIS) dans l'acétonitrile à température ambiante et le produit iodé **33** a été isolé avec un très bon rendement de 94% (Schéma 75).

²⁵¹ B. Liégault et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 1826-1834.



Schéma 75 : Iodation par NIS du dérivé imidazo[1,2-a]pyridinique 32

Le composé **33** est alors arylé en utilisant l'acide phénylboronique, avec une catalyse au tétrakis(triphénylphosphine)palladium en présence de carbonate de sodium comme base. Différents essais ont été réalisés en milieu diméthoxyéthane/eau ou dioxane/eau (Schéma 76, Tableau 23). Lorsque la réaction est effectuée en tube scellé dans le diméthoxyéthane et sous irradiations micro-ondes, le rendement est meilleur par rapport au chauffage classique (Tableau 23 : essais 1-3). Cependant, le plus fort rendement (86%) est obtenu dans le dioxane, en tube scellé, à 100 °C sans irradiations micro-ondes et au bout de 30 minutes (Tableau 23 : essai 4). En effet, cela évite la formation de produits de dégradation influant sur le rendement. Afin d'obtenir le produit **34** en plus grandes quantités (sur 6 g), l'utilisation du réacteur Parr a permis d'isoler le dérivé **34** avec un rendement de 76% (Tableau 23 : essai 5).



Schéma 76 : Arylation du dérivé 3-iodoimidazo[1,2-a]pyridine 33

Essais	Solvants	Conditions	Rendements
1	DME/H ₂ O	rfx, 48 h	36%
2	DME/H ₂ O	MO 100 W, tube scellé, rfx, 1 h	54%
3	dioxane/H ₂ O	MO 100 W, tube scellé, rfx, 1 h	25%
4	dioxane/H ₂ O	tube scellé, 100 °C, 30 min	86%
5	dioxane/H ₂ O	Parr, rfx, 1 h	76%

Tableau 23

2.3.2.2-Arylation directe

L'arylation directe par couplage palladocatalysé a été détaillée cette dernière décennie permettant ainsi de développer de nouvelles stratégies de synthèse.²⁵¹ L'utilisation des acides ou esters boroniques est remplacée par l'emploi de simples halogénoaryles, méthode que nous exposerons plus précisément dans le chapitre suivant. Dans le cadre de nos travaux, cette arylation a été mise en œuvre à partir de l'imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **32** et du bromobenzène. Ces deux composés sont mis en réaction en tube scellé, à 100 °C dans le diméthylacétamide en présence d'acétate de palladium, de tétrafluoroborate de tricyclohexylphosphine et d'acide pivalique. Le composé **34** est isolé avec un rendement de 43% (Schéma 77).



Schéma 77 : Arylation directe de l'imidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylate d'éthyle 32

Dans les conditions d'arylation développées par K. Fagnou,²⁵¹ le rendement reste cependant faible, en comparaison du rendement global de 82% obtenu pour les 2 étapes d'iodation et d'arylation de Suzuki précédentes, même si cela permet de réduire le nombre d'étapes dans cette voie de synthèse.

Cependant, D. Sames²⁵² a décrit la synthèse du composé **34** avec un rendement de 98% par arylation directe utilisant les conditions décrites dans le schéma 78 en présence d'un complexe palladié possédant un ligand imidazolylcarbène **1a**. Ce précurseur de catalyseur est très stable (purifiable par chromatographie sur colonne de gel de silice) et présente une haute tolérance à l'air et à l'humidité. En outre, il réduit la formation secondaire de dérivé biphényle.

²⁵² B. B. Touré et al., Org. Lett., 2006, 8, 1979-1982.



Schéma 78 : Optimisation de l'arylation directe de l'imidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylate d'éthyle

2.3.3-Synthèse de l'acide carboxylique

L'hydrolyse de l'ester **34** se fait classiquement en présence d'hydroxyde de potassium en milieu méthanol/eau. L'acide carboxylique **35** est isolé avec un rendement de 95%. Cependant, lors des synthèses sur plus grandes quantités, le rendement diminue de moitié, sûrement dû à un problème au niveau de l'extraction car la conversion du produit de départ est totale (Schéma 79).



Schéma 79 : Hydrolyse de l'ester 34

2.3.4-Synthèse de la 3-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-2-amine

2.3.4.1-Réarrangement de Curtius

La décomposition thermique (pyrolyse) des azotures d'acyle en isocyanates correspondant est connue sous le nom de réarrangement de Curtius.^{253,254,255} Le réarrangement est catalysé par des acides protiques ou des acides de Lewis et la température de décomposition est considérablement réduite par rapport aux réactions non catalysées.

Les azotures d'acyles peuvent être préparés de plusieurs façons, par exemple : 1) par réaction des chlorures d'acides²⁵⁶ ou anhydrides mixtes²⁵⁷ avec des azotures alcalins ou

²⁵³ P. A. S. Smith, Org. React., **1946**, *3*, 337-349.

²⁵⁴ T. Shioiri, In *Comprehensive Organic Synthesis*, Degradation Reactions Trost, B. M., Fleming, I., Eds.; Pergamon Press: Oxford, **1991**, *6*, 795-828.

²⁵⁵ E. F. V. Scriven *et al.*, *Chem. Rev.*, **1988**, 88, 297-368.

²⁵⁶ J. W. Van Reijendam et al., Synthesis, **1973**, 7, 413-414.

²⁵⁷ J. Weinstock et al., J. Org. Chem., **1961**, 26, 3511.

l'azoture de triméthylsilyle²⁵⁸ ; 2) par traitement d'acylhydrazines avec l'acide nitreux ou le tétrafluoroborate de nitrosonium²⁵⁹ ; ou 3) par traitement d'acides carboxyliques avec l'azoture de diphénylphosphoryle (dppa).²⁶⁰ L'isocyanate obtenu peut être isolé si la pyrolyse est effectuée en l'absence de réactif nucléophile. Si la réaction est réalisée en présence d'eau, d'amines ou d'alcools, les amines, les urées et les carbamates correspondants sont formés. Le réarrangement de Curtius est une réaction très générale et peut être appliqué à partir d'acides carboxyliques contenant une large gamme de groupes fonctionnels. Il est également possible d'induire un réarrangement de Curtius dans des conditions photochimiques, mais cette voie donne naissance à plusieurs produits secondaires en plus de l'isocyanate désiré.²⁶¹

Dans notre cas, l'acide carboxylique **35** est mis en réaction avec la triéthylamine, l'azoture de diphénylphosphoryle (dppa) dans le *tert*-butanol et le carbamate **36** est alors synthétisé avec un rendement de 62% (Schéma 80).



Schéma 80 : Synthèse du carbamate 36

L'intérêt d'utiliser le dppa comme réactif est l'obtention directe du carbamate, à partir de l'acide carboxylique **35**, *via* un réarrangement de Curtius sans isoler l'azoture d'acyle intermédiaire. Au niveau du mécanisme, la réaction se déroule par la formation initiale d'un anhydride mixte acide carboxylique/acide phosphorique intermédiaire, avec libération de l'ion azoture (Schéma 81). Ce nucléophile attaque alors le carbonyle de l'anhydride mixte, pour donner l'azoture d'acyle et la perte de l'anion du phosphate de diphényle, connu pour être un bon groupe partant. Après la formation de l'azoture d'acyle, le groupement R migre du carbone vers l'atome d'azote, déficitaire en électrons, du nitrène obtenu par départ d'une molécule d'azote. L'isocyanate formé subit finalement l'attaque du *tert*-butanol sur le groupement carbonyle donnant ainsi le carbamate souhaité.

²⁵⁸ G. K. S. Prakash et al., J. Org. Chem., **1983**, 48, 3359-3360.

²⁵⁹ V. Pozsgay et al., Tetrahedron Lett., **1987**, 28, 5091-5092.

²⁶⁰ T. Shioiri et al., J. Am. Chem. Soc., **1972**, 94, 6203-6205.

²⁶¹ E. Eibler *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1974**, *30*, 2569-2572.



Schéma 81 : Réarrangement de Curtius en présence de dppa

2.3.4.2-Déprotection de l'amine

L'intermédiaire clé de la synthèse, la 3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **31**, est finalement synthétisé par hydrolyse du carbamate **36** avec une solution d'acide chlorhydrique 4 M dans le dioxane à température ambiante avec un rendement de 59% (Schéma 82).



Schéma 82 : Hydrolyse du carbamate 36

2.4-Fonctionnalisation en position 2 de la 3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2amine

2.4.1-Amidification

L'amine **31** a été mise en présence du chlorure d'acétyle et de la triéthylamine dans le tétrahydrofurane menant à la formation de l'acétamide **37** avec un bon rendement de 80% (Schéma 83).



Schéma 83 : Synthèse du composé 37

2.4.2-Synthèse des (3-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)urées

De la même manière que précédemment décrit, les (3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2yl)urées ont été synthétisées en mettant la 3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **31** en présence d'un isocyanate dans le diméthylformamide. Il est à noter que, contrairement à la série précédente, la réaction a lieu à température ambiante et non par chauffage à 80 °C. Il apparaît donc que la fonction amine est plus réactive, c'est-à-dire plus nucléophile en position 2 par rapport à la position 3 sur le noyau imidazo[1,2-*a*]pyridine. D'autre part, les temps de réaction sont beaucoup plus courts pour cette série (1 à 3,5 h contre 16 à 24 h). Ainsi, les composés **38-42** ont été isolés avec des rendements très divers allant de 29 à 84% (Schéma 84, Tableau 24). Les faibles rendements sont dus à des problèmes de purification.



Schéma 84 : Synthèse des urées 38-42

Produits	R	Réactifs	Conditions	Rendements
38	hand the second se	OCN	3,5 h	84%
39	OMe	OCN	1 h	33%

40	Cl	OCN	1 h	55%
41	o o	OCN	1 h	29%
42	r ¹	OCN	3 h	54%

Tableau 24

Cependant, ces mêmes conditions appliquées au composé **31** en présence de l'isocyanate de 4-cyanophényle sont restées sans succès conduisant au produit de départ. Par ailleurs, la purification de l'urée synthétisée à partir de l'isocyanate de 4-nitrophényle a échoué malgré une conversion totale du produit de départ.

Certains isocyanates ne sont pas commercialement disponibles ou sont très onéreux, c'est pourquoi, dans un deuxième temps, nous avons appliqué une seconde méthode au triphosgène afin d'accéder aux urées désirées.^{262,243}

Comme son nom l'indique, la molécule de triphosgène est génératrice, *in situ*, de trois molécules de phosgène. Donc, étant données la grande toxicité et la grande volatilité de ce dernier, cette alternative cristalline²⁶³ présente un réel avantage. Le mécanisme réactionnel se divise en deux phases (Schéma 85).²⁶⁴

L'attaque nucléophile de la triéthylamine sur le triphosgène initie le mécanisme. Celui-ci va ensuite libérer un équivalent de phosgène ainsi qu'un ion chlorure. Puis, ce dernier va attaquer le carbonyle à son tour pour libérer un deuxième équivalent de phosgène. La réaction se réalisant avec trois (ou plus) équivalents de triéthylamine, le phosgène généré dans le milieu va être piégé par la triéthylamine n'ayant pas encore réagi.

L'amine attaque ensuite le carbonyle du chlorure de carbamidium, préalablement formé, en libérant de la triéthylamine. Un chlorure de carbamoyle est alors obtenu et, dans le cas du couplage d'une amine primaire, il va évoluer vers la formation de l'isocyanate *in situ*. Celui-ci est ensuite classiquement mis en présence d'une deuxième amine pour donner l'urée attendue.

²⁶² F. Bigi et al., Green Chem., **2000**, 2, 140-148.

²⁶³ H. Eckert et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **1987**, 26, 894-895.

²⁶⁴ L. Cotarca *et al.*, *Synthesis*, **1996**, *5*, 553-576.


Schéma 85 : Mécanisme de la synthèse d'urées par la méthode au triphosgène

Le composé **31** a donc été mis en réaction avec du triphosgène et de la triéthylamine dans le dichlorométhane. Après une heure de réaction, la 4-méthoxybenzylamine est ajoutée. Malheureusement, la synthèse de l'urée **43** est restée sans résultat, la dégradation du milieu réactionnel est observée (Schéma 86).



Schéma 86 : Synthèse de l'urée 43 par la méthode au triphosgène

Une autre stratégie de synthèse a été développée, consistant à obtenir l'urée par réaction entre un carbamate "activé" et une amine convenablement choisis. Ainsi, il convient d'abord d'accéder au carbamate désiré. Ce dernier est obtenu par condensation entre la 4-méthoxybenzylamine **44** et le chloroformiate de 4-nitrophényle en présence de triéthylamine avec un rendement de 64% (Schéma 87).



Schéma 87 : Synthèse du carbamate intermédiaire 45

Le carbamate **45** réagit ensuite avec l'amine **31** en présence de triéthylamine dans le tétrahydrofurane permettant enfin l'accès à l'urée **43** avec un rendement de 34% (Schéma 88).



Schéma 88 : Synthèse de l'urée 43 par la méthode au carbamate

Le rendement est certes faible mais cette nouvelle méthode permet d'étendre la fonctionnalisation en introduisant sur les urées des groupements benzyliques diversement substitués.

2.5-Conclusion

En conclusion de cette deuxième partie, la voie A convergente est constituée de quatre étapes avec un rendement global de 38%. La voie B, quant à elle, est linéaire et s'effectue en six étapes avec un rendement global de 26%. La voie A apparaît donc la plus appropriée pour cette série. Sept molécules finales ont été synthétisées de structure générale **II** (Figure 67) avec des rendements variables pour la dernière étape allant de 29 à 84%.

3-Pharmacomodulations à partir de l'imidazo[1,2-*a*]pyridin-2amine

Ce chapitre concerne les travaux de synthèse mis en œuvre pour l'accès aux dérivés imidazo[1,2-*a*]pyridiniques de structure générale **III** (Figure 68).



Figure 68

3.1-Stratégie de synthèse

Pour synthétiser les (imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urées **VI**, la voie de synthèse envisagée à partir de la 2-aminopyridine **I**, *via* l'obtention de l'imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **V**, reprend la stratégie adoptée pour la voie A dans la série précédente (Schéma 89).¹⁹¹



Schéma 89 : Voie d'accès aux (imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)urées

3.2-Synthèse de l'imidazo[1,2-a]pyridin-2-amine

Dans un premier temps, après la tosylation de la 2-aminopyridine **1**, une *N*-alkylation du sulfonamide **25** est mise en œuvre avec le 2-iodoacétamide dans le diméthylformamide en présence de la base de Hünig, la *N*,*N*-diisopropyléthylamine à température ambiante pendant 16 h. Le composé **46** est isolé avec un rendement de 83%. Ce dernier est alors mis en réaction avec l'anhydride trifluoroacétique dans le dichlorométhane à 30 °C entraînant la formation du composé cyclisé trifluoroacétamide **47** (Schéma 90).



Schéma 90 : Synthèse de l'imidazo[1,2-a]pyridin-2-amine 48

Différentes méthodes ont été exploitées afin d'hydrolyser le groupement trifluoroacétamide. Tout d'abord, un essai a été réalisé comme auparavant dans un mélange *N*,*N*-diisopropyléthylamine/méthanol au reflux qui permet la formation de l'intermédiaire aminé **48**. Cependant la conversion du produit de départ n'étant pas totale au bout de 48 h et tenant compte de la dégradation du milieu réactionnel, une autre méthode a été examinée utilisant une solution d'hydroxyde de sodium.¹⁹³ La conversion est totale au bout de 4 h à température ambiante. Une autre possibilité est l'hydrolyse à partir du carbonate de potassium dans un mélange méthanol/eau.²⁶⁵ Après 5 h à 80 °C, l'amine **48** est aussi formée avec aucune trace de produit de départ. Cette amine hétérocyclique ne peut pas être isolée par purification sur gel de silice, étant très instable et se dégradant très rapidement. Cette dernière méthode a alors été exploitée présentant moins de produits de dégradation.

²⁶⁵ S. P. East et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2009, 19, 894-899.

3.3-Fonctionnalisation en position 2 de l'imidazo[1,2-a]pyridin-2-amine

Comme dans les autres séries, les urées ont été synthétisées de plusieurs manières. L'urée **49** a été élaborée en mettant l'imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **48** en présence de l'isocyanate de benzyle dans le diméthylformamide à température ambiante. Le composé **49** a alors été isolé avec un rendement global sur les deux étapes de 42% à partir du trifluoroacétamide **47** (Schéma 91).



Schéma 91 : Synthèse de l'urée 49

La méthode au triphosgène n'ayant pas été concluante pour la série précédente, nous avons introduit le groupement 4-méthoxybenzylurée grâce au carbamate intermédiaire **45**, synthétisé auparavant. Le composé **45** réagit avec l'amine **48** en présence de triéthylamine dans le tétrahydrofurane permettant l'accès à l'urée **50** avec un rendement de 44% (Schéma 92).



Schéma 92 : Synthèse de l'urée 50

3.4-Conclusion

En conclusion de cette partie, deux molécules finales ont été synthétisées de structure générale **III** (Figure 68) permettant ainsi une comparaison des relations structure-activité directe avec leurs analogues phénylés en position 3.

4-Pharmacomodulations en série 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridine

Nous décrirons dans le présent chapitre les travaux de synthèse mis en œuvre pour l'accès aux dérivés 2,3-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridiniques de structure générale **IV** (Figure 69).



4.1-Stratégie de synthèse

L'accès aux diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines cibles **IV**, pharmacomodulées par différents groupements (hétéro)aryles dans les positions 2 et 3, repose, à partir des 2-arylimidazo[1,2-*a*]pyridines **III** :

- soit sur une arylation en position 3 par couplage de Suzuki après halogénation,
- soit sur une arylation directe en position 3 par divers halogénures d'aryles.

Auparavant, un couplage de Suzuki-Miyaura avec une diversité d'acides boroniques sera réalisé à partir des 2-halogénoimidazo[1,2-a]pyridines et de leur analogue triflate **II**, euxmêmes provenant de la 2-aminopyridine **I** (Schéma 93).



Schéma 93 : Voie d'accès aux dérivés 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridines

4.2-Synthèse des 2-arylimidazo[1,2-a]pyridines

4.2.1-Synthèse des intermédiaires halogénés et du triflate

Les 2-halogénoimidazo[1,2-a]pyridines **5** et **6** sont préparées en deux étapes à partir de la 2-aminopyridine **1** comme nous l'avons développé dans la première partie (Schéma 94). La synthèse de l'analogue triflate **51** a aussi été envisagée car il pourrait être un substrat efficace dans la réaction de couplage de Suzuki-Miyaura. A partir du mélange des composés **2** et **3**, deux méthodes ont été testées. La première implique l'anhydride trifluorométhanesulfonique dans la pyridine à température ambiante, malheureusement la dégradation du milieu réactionnel est observée. Quant au deuxième essai, l'utilisation du *N*-phénylbis(trifluorométhanesulfonimide) en présence de triéthylamine mène au composé désiré **51** avec un rendement satisfaisant de 67% sur les deux étapes (Schéma 94).²⁶⁶ Le composé n'étant pas très stable, il est conservé à basse température sous atmosphère inerte et est engagé dans les autres étapes assez rapidement.



Schéma 94 : Synthèse des 2-halogénoimidazo[1,2-a]pyridines 5, 6 et de l'analogue triflate 51

4.2.2-Arylation par couplage de Suzuki-Miyaura

L'arylation par couplage palladocatalysé a été appliquée aux différents substrats synthétisés **5**, **6** et **51** pour déterminer le plus réactif en utilisant tout d'abord l'acide phénylboronique, avec une catalyse au tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) en présence de carbonate de sodium comme base. Comme attendu, nous avons pu noter que la 2-chloroimidazo[1,2-*a*]pyridine **5** était moins réactive que son analogue bromé **6**, le composé **52**

²⁶⁶ F. Thompson *et al.*, *brevet*, **2008**, FR 2907453.

n'étant isolé qu'avec un rendement de 25% à partir du dérivé chloré **5** contre 51% pour le dérivé bromé **6** (Schéma 95, Tableau 25 : essais 1 et 2). Par ailleurs, le composé triflate **51** s'est montré efficace comme intermédiaire de couplage, avec un temps de réaction plus court et le même ordre de rendement que le composé bromé **6** (Tableau 25 : essai 3). Aucune amélioration n'a été constatée lors du changement de solvant (Tableau 25 : essai 4) ; le temps de réaction est même plus long en présence de dioxane à la place du diméthoxyéthane. Ainsi, ces résultats nous ont orientés vers l'emploi de cet analogue triflate **51** comme substrat pour généraliser le couplage de Suzuki en présence de divers acides arylboroniques.²⁶⁷



Schéma 95 : Couplage de Suzuki sur les 2-halogénoimidazo[1,2-a]pyridines 5, 6 et sur l'analogue triflate 51

Essais	Substrats	Solvants	Conditions	Rendements
1	5	DME/eau (2/1)	tube scellé, rfx, 6 h	25%
2	6	DME/eau (2/1)	tube scellé, rfx, 6 h	51%
3	51	DME/eau (2/1)	tube scellé, 100 °C, 4 h	46%
4	51	dioxane/eau (2/1)	tube scellé, 100 °C, 7 h	43%

Tableau 25

Par ailleurs, une autre méthode plus classique pour accéder aux 2-arylimidazo[1,2*a*]pyridines consiste en la condensation de la 2-aminopyridine **1** avec les 2bromoacétophenones convenablement substituées.^{168,268} Cependant, cette stratégie est limitée par la disponibilité commerciale des précurseurs acétophénones. Un essai a été effectué à partir de la 2-bromoacétophénone pour obtenir la 2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridine **52**. La

²⁶⁷ S. Marhadour *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, 297-300.

²⁶⁸ M. Adib et al., Synlett, **2010**, 11, 1606-1608.

réaction s'opère par mélange des deux réactifs dans un mortier, sans solvant, méthode originale qui permet d'isoler le composé **52** avec un rendement de 84% (Schéma 96).



Schéma 96 : Synthèse de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine 52 par hétérocyclisation

Avec les conditions expérimentales optimales mises au point, le triflate **51** est engagé dans le couplage de Suzuki-Miyaura avec divers acides boroniques conduisant aux 2-arylimidazo[1,2-*a*]pyridines **52** à **60** (Schéma 97, Tableau 26). Les produits sont isolés avec des rendements très variés allant de 9 à 97%, dépendant de l'influence des effets électroniques sur les acides boroniques.

Les acides boroniques possédant des groupements électroattracteurs conduisent aux dérivés arylés avec des rendements faibles (Tableau 26 : composés **57** et **58**). Les composés halogénés **53**, **54**, et **56** sont synthétisés avec des rendements moyens, à l'exception du dérivé fluoré **55** qui est isolé, de manière surprenante, avec un excellent rendement de 97%. Les rendements sont faibles pour le dérivé nitré **58** et l'ester **57**, à cause également des purifications difficiles. En effet, des produits de dégradation formés dans le milieu réactionnel sont difficiles à séparer de ces dérivés **58** et **57**. Néanmoins, les composés **59** et **60** fonctionnalisés par un groupement méthoxy, électrodonneur, permettent d'atteindre de bons rendements d'arylation.



Schéma 97 : Arylation de Suzuki du triflate 51

Produits	Ar	Temps	Rendements
52	"hand ha	7 h	43%
53	Cl	6 h	45%
54	CI	45 min	35%
55	F	1 h	97%
56	F	1 h	41%
57	cO ₂ Et	45 min	9%
58	NO ₂	4 h	26%
59	OMe	45 min	78%
60	OMe	1 h	94%

Tableau 26

4.3-Synthèse des 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridines

Afin de pharmacomoduler la position 3 de l'hétérocyle de base, deux démarches ont été exploitées. Initialement, les 2-arylimidazo[1,2-*a*]pyridines peuvent être halogénées en position 3, constituant des précurseurs pour un couplage de Suzuki. La seconde voie consiste en une arylation directe, palladocatalysée, en position 3 du noyau imidazo[1,2-*a*]pyridinique.

4.3.1-Halogénation puis couplage de Suzuki-Miyaura

Cette première approche a été mise en œuvre afin de mieux comprendre la réactivité du scaffold imidazo[1,2-a]pyridine, notamment la sélectivité de la réaction de Suzuki en présence de groupements partants compétitifs sur les positions 2 et 3. L'halogénation du triflate **51** se pratique, comme dans les chapitres précédents, avec les halogénosuccinimides respectifs aboutissant aux différents composés halogénés **61** à **63** avec des rendements allant de 64 à 95% (Schéma 98, Tableau 27). Une autre méthode a été utilisée, avec le brome dans l'acide acétique à température ambiante pendant 24 h, fournissant le dérivé bromé **62** avec un rendement plus faible de 29%.



Schéma 98 : Halogénations en position 3 du triflate 51

Produits	X	Réactifs	Solvants	Conditions	Rendements
61	Cl	NCS	EtOH	80 °C, 30 min	64%
62	Br	NBS	acétonitrile	TA, 30 min	88%
63	Ι	NIS	acétonitrile	TA, 30 min	95%

Tableau 27

Ces dérivés halogénés sont alors arylés par couplage pallodacatalysé avec l'acide phénylboronique en présence du tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) et de carbonate de sodium dans un mélange dioxane/eau (2/1) (Schéma 99, Tableau 28). Pour le composé chloré

61 et l'analogue bromé **62**, le couplage s'effectue sélectivement en position 2 avec des rendements plutôt faibles bien que la conversion du produit de départ soit totale. Pour le dérivé iodé **63**, le composé biphénylé est obtenu en majorité, à cause sans doute de la réactivité trop proche du groupement triflate et de l'atome d'iode lors du couplage.



Schéma 99 : Arylation de Suzuki sur les composés 61, 62 et 63

Produits	X	Conditions	Rendements
64	Cl	12 h	24%
65	Br	4 h	32%
66	Ι	TA, 30 min	Х

Tableau 28

Il apparaît donc clairement que, dans les conditions expérimentales classiques choisies pour la réaction de Suzuki, le manque de sélectivité ne nous permet pas d'obtenir les composés souhaités avec des rendements acceptables. Il conviendrait donc de chercher à optimiser les différents paramètres (base, ligand, solvant, température..) afin de juger de la portée de cette réaction. Ce travail ne sera pas présenté dans ce mémoire.

Ainsi, nous avons opté pour l'halogénation de la 2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridine **52** dans les mêmes conditions opératoires. Les dérivés bromé et iodé sont synthétisés facilement avec des temps de réaction courts et de bons rendements de 95 et 75%, respectivement (Schéma 100, Tableau 29).



Schéma 100 : Halogénations en position 3 de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine 52

Produits	X	Réactifs	Solvants	Conditions	Rendements
65	Br	NBS	acétonitrile	TA, 2 h	95%
66	Ι	NIS	acétonitrile	TA, 1 h	75%

Tableau 29

Le couplage de Suzuki-Miyaura est ensuite mis en œuvre, comme précédemment, permettant l'accès à deux dérivés diarylés cibles. Les composés sont mis en réaction avec l'acide phénylboronique et le (4-pyridyl)boronate de pinacol (Schéma 101, Tableau 30). Les composés **67** et **68** sont isolés avec d'excellents rendements, supérieurs à 90%, que ce soit en tube scellé ou non.



Schéma 101 : Arylation des 3-halogéno-2-phénylimidazo[1,2-a]pyridines 65 et 66

Produits	Substrats	Réactifs	Conditions	Rendements
67	65	PhB(OH) ₂	110 °C, 2 h	90%
68	65	(4-pyridyl)boronate de pinacol	110 °C, 2 h	93%
67	66	PhB(OH) ₂	tube scellé, rfx, 12 h	93%
68	66	(4-pyridyl)boronate de pinacol	tube scellé, rfx, 12 h	95%

Cette voie d'accès permet donc, en deux étapes (halogénation-arylation), d'aboutir aux dérivés finaux attendus avec de très bons rendements, 88% pour le composé **67** et 71% pour le composé **68** à partir de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine **52**. Cependant, il nous est apparu intéressant de pouvoir développer une méthode d'arylation directe, conduisant aux molécules cibles en une seule étape, à partir du composé **52** et de ses analogues **53-60**, diversement substitués au niveau du phényle.

4.3.2-Arylation directe

4.3.2.1-Aperçu bibliographique

Jusqu'à présent, nous nous sommes intéressés, avec succès, à la fonctionnalisation du noyau imidazo[1,2-*a*]pyridinique en position 3 *via* des réactions de couplage catalysées par le palladium de type Suzuki-Miyaura. L'inconvénient de ces séquences est qu'elles nécessitent l'introduction préalable d'un halogène dans cette position. La réaction d'arylation directe catalysée par les métaux de transition est une approche qui implique la formation de la liaison carbone sp2–carbone sp2 à partir de la liaison C-H (Schéma 102).^{251,269}



HetAr : thiophène, furane, pyrrole, indolizine, imidazole, thiazole...

Schéma 102 : Principe de la réaction d'arylation directe

Elle offre une alternative intéressante aux méthodes traditionnelles de couplage. Bien que cette stratégie présente plusieurs avantages, la fonctionnalisation régiosélective de la liaison C-H reste une question non résolue pour certaines structures. Cependant, pour d'autres comme les imidazo[1,2-*a*]pyrimidines²⁷⁰ ou les indolizines,²⁷¹ l'arylation directe s'effectue bien en position 3.

Dans les entités hétérocycliques, la régiosélectivité de la réaction d'arylation directe intermoléculaire dépend certes du type d'hétérocycle, mais aussi de la nature des réactifs utilisés. L'emploi de l'acide pivalique, par exemple, a permis de synthétiser des composés non obtenus dans les conditions classiques (Schéma 103).²⁵¹

²⁶⁹ D. Alberico *et al.*, *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 174-238.

²⁷⁰ W. Li et al., Org. Lett., **2003**, *5*, 4835-4837.

²⁷¹ C. H. Park *et al.*, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 1159-1162.



Schéma 103 : Rôle de l'acide pivalique

Le mécanisme proposé pour l'arylation directe en présence de l'acide pivalique commence par l'addition oxydante. Le cycle est initié par la formation *in situ* de l'espèce $Pd(0)L_2$, très réactive, à partir de sels de palladium (II) ou de complexes de palladium (0) stables. Sous la forme $Pd(0)L_2$, le palladium est électroniquement riche, donc nucléophile. Il peut facilement réagir avec des électrophiles de type Ar-Br *via* une étape d'addition oxydante, pour former l'intermédiaire [Ar-Pd-Br], le palladium (0) s'insère dans la liaison Ar-X avec oxydation du métal au degré d'oxydation II. Cette étape est suivie par un échange de ligand halogène/pivalate qui génère un intermédiaire *in situ* à partir de l'acide pivalique présent en quantité catalytique et du carbonate insoluble. L'étape clé se produit *via* un mécanisme concerté de métallation et déprotonation (CMD) avec l'hétéroaryle. Ce mécanisme met en évidence le rôle important du pivalate soluble qui agit comme base. Puis l'étape d'élimination réductrice fournit le biaryle désiré et régénère l'espèce catalytique Pd(0)L₂ (Schéma 104).



Schéma 104 : Cycle catalytique proposé pour l'arylation directe en présence d'acide pivalique²⁷²

²⁷² M. Schnürch et al., Curr. Org. Chem., 2011, 15, 2694-2730.

Plus récemment, d'autres facteurs ont été étudiés tels que : les solvants ou les additifs. Les ligands utilisés dans la réaction d'arylation directe dépendent fortement de la nature des dérivés halogénoaryliques utilisés. Pour les composés iodoaryliques par exemple, les phosphines monodentates moyennement riches en électrons telle que la triphénylphosphine (PPh₃) sont fréquemment utilisées. Ces mêmes phosphines ont été également employées, avec succès, avec les analogues bromés, même si, dans certains systèmes l'utilisation de ligands plus encombrants et riches en électrons a permis d'obtenir des rendements plus élevés.²⁷³ Très récemment, Fu *et al.*²⁷⁴ ont décrit l'arylation directe avec les imidazo[1,2-*a*]pyridines en utilisant des quantités très faibles de catalyseur (0,1 à 0,01% mol) avec le Pd(OAc)₂ que ce soit avec des bromures d'aryles électroattracteurs ou électrodonneurs.

De nombreux travaux font état de la réaction d'arylation directe en position 3 du noyau imidazo[1,2-a]pyridine. Par exemple, dans la méthode décrite par Guillaumet et al.,²⁷⁵ l'arylation directe fait intervenir l'acétate de palladium comme catalyseur, la triphénylphosphine, le carbonate de potassium et un halogénoaryle.

Une méthode efficace «one-pot» pour la synthèse d'imidazo[1,2-*a*]pyridines 2,3,6trisubstituées sous irradiations micro-ondes a été décrite soit en deux étapes : couplage de Suzuki et hétéroarylation, soit en trois étapes : cyclisation, couplage de Suzuki et hétéroarylation. Les composés sont obtenus avec de bons rendements (Schéma 105).²⁷⁶



Schéma 105

²⁷³ J. P. Wolfe et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **1999**, 38, 2413-2416.

²⁷⁴ H. Y. Fu et al., J. Org. Chem., **2012**, 77, 4473-4478.

²⁷⁵ J. Koubachi et al., Synlett, **2006**, 19, 3237-3242.

²⁷⁶ J. Koubachi et al., J. Org. Chem., **2007**, 72, 7650-7655.

Récemment, une méthode a été publiée *via* une arylation intramoléculaire palladocatalysée. Cette voie de synthèse a permis d'obtenir des dérivés polycycliques avec de bons rendements et des temps de réaction très variés (Schéma 106).²⁷⁷



Schéma 106

4.3.2.2-Travaux réalisés

Afin de comparer l'arylation directe à la stratégie précédente, la synthèse des composés **67** et **68** a été mise en œuvre à partir de la 2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridine **52** avec le bromobenzène ou le bromhydrate de 4-bromopyridine dans les conditions décrites par Guillaumet et *al.*²⁷⁵ (Schéma 107, Tableau 31). Le composé **67** est alors isolé par cette méthode avec un rendement de 37%, à cause de la présence du produit de départ même audelà de 2 h de réaction. Nous avons tenté d'améliorer le rendement de cette réaction en utilisant la méthode d'arylation directe publiée par Fagnou et *al.*²⁵¹ Le composé **52** est mis en réaction en tube scellé à 100 °C dans le diméthylacétamide en présence d'acétate de palladium, de tétrafluoroborate de tricyclohexylphosphine et d'acide pivalique. A partir du bromhydrate de 4-bromopyridine, le composé **68** est arylé avec un rendement de 85% (Schéma 107, Tableau 31).



Schéma 107 : Arylation directe à partir de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine 52

²⁷⁷ J. Koubachi et al., Tetrahedron, **2010**, 66, 1937-1946.

Produits	Réactifs	Ligands (bases)	Solvants	Conditions	Rendements
67	PhBr	PPh ₃ (K ₂ CO ₃)	1,4-dioxane/EtOH (2/1)	MO 100 W, 130 °C, 1 h	37%
67	PhBr	PCy ₃ .HBF ₄ , (K ₂ CO ₃ + PivOH)	diméthylacétamide	tube scellé, 100 °C, 16 h	95%
68	bromhydrate de 4- bromopyridine	PCy ₃ .HBF ₄ , (K ₂ CO ₃ + PivOH)	diméthylacétamide	tube scellé, 100 °C, 16 h	85%

Tableau 31

Grâce à ces conditions optimales, la fonctionnalisation des 2-arylimidazo[1,2-a]pyridines **52-60** a été effectuée avec divers halogénures d'(hétéro)aryles possédant des groupements fonctionnels électroattracteurs ou électrodonneurs.²⁶⁷ Tout d'abord, la fonctionnalisation de la 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridine **52**, en position 3, a abouti à dix-sept composés finaux (Schéma 108, Tableau 32).



Schéma 108 : Généralisation de l'arylation directe à partir du composé 52.

Produits (het)Ar		Temps	Rendements
67	n ⁿ n ⁿ	16 h	95%
68	N	16 h	85%
69	ran	48 h	45%

70	OMe	24 h	81%
71	H	12 h	53% ^a
72	OPiv	12 h	6% ^b
73	NO2	36 h	93%
74	C	18 h	99%
75	cO ₂ Et	18 h	98%
76		12 h	68%°
77	Z	48 h	90%
78	N	12 h	73%
79	, and share a start of the star	48 h	14%

^a halogénure d'aryle : acétate de 4-iodophényle

^b Produit secondaire issu de **71**

^c halogénure d'aryle : 1,3-dichloro-5-iodobenzène

Tableau 32

D'une manière générale, cette réaction est compatible avec une grande variété d'halogénures d'aryles et d'hétéroaryles (Tableau 32). La présence de groupements électroattracteurs sur l'halogénure d'aryle semble favorable pour l'arylation directe (composés **73** à **75** : rendements supérieurs à 93%). Cependant les rendements restent très bons pour les dérivés phényle **67** et 4-méthoxyphényle **70**. Les composés **69** et **71** sont isolés avec des rendements moyens en utilisant le 4-bromotoluène et l'acétate de 4-iodophényle **81**, synthétisé à partir du 4-iodophénol **80** et de l'anhydride acétique dans la pyridine (Schéma 109). En effet, l'étape de couplage en présence de l'intermédiaire **81** s'accompagne d'une hydrolyse de la fonction ester pendant la réaction. Par ailleurs, le composé **72**, isolé en faible quantité, résulte d'une réaction secondaire entre le dérivé **71** et l'acide pivalique présent dans le milieu réactionnel. L'introduction d'hétérocycles azotés, pyridyle : **68** et **77**, 5-pyrimidyle : **78**, conduit à de bon rendements de 73 à 90 %. Cependant, le rendement de la réaction avec le 3-bromothiophène est faible à cause de la dégradation du milieu réactionnel (composé **79**).



Schéma 109 : Synthèse de l'acétate de 4-iodophényle 81

Cette méthodologie peut alors être appliquée aux dérivés 2-arylimidazo[1,2*a*]pyridines **53-60**, conduisant ainsi aux composés finaux **82-96** possédant une diversité chimique. D'une manière générale, sauf pour les composés **91** et **92**, la réaction d'arylation directe conduit à des rendements très corrects (56-85%) en présence de bromobenzène et 3bromopyridine (Schéma 110, Tableau 33).

Les substrats fluoré **56** et méthoxylé **59** ont été arylés avec divers bromures d'aryles afin d'établir l'influence d'un substituant électroattracteur ou électrodonneur sur le phényle en position 2 de l'hétérocycle. On peut noter que, quel que soit le substrat, le bromobenzène et le 3-bromonitrobenzène sont des réactifs appropriés pour le couplage (60 à 92% de rendement). Au contraire, l'utilisation du 3-bromoanisole, possédant un groupement électrodonneur, donne les dérivés **90** et **95** avec de plus faibles rendements (40 et 44%) malgré un excès de ces réactifs dans le milieu réactionnel. Ces deux rendements ont été évalués à partir des spectres RMN du proton car malgré plusieurs tentatives de purification, ces composés n'ont pas pu être isolés avec une pureté acceptable (< 85%).

Cependant, les composés portant un groupement électroattracteur plus fort qu'un halogène (ester **91** ou dérivé nitré **92**), sur le phényle en position 2, sont isolés avec de faibles rendements (15-27%). En se basant sur ces résultats, l'arylation directe en position 3 des 2-arylimidazo[1,2-*a*]pyridines est influencée par les effets électroniques du substituant sur l'aryle en 2 mais aussi sur les halogénures d'aryles.



Schéma 110

Produits	Substrats	Ar	(het)Ar'	Temps	Rendements
82	53	Cl	^{ru} nn nn	21 h	83%
83	54	,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	under the second s	18 h	83%
84	54		N	15 h	69%
85	- 55	н. г.	run	31 h	64%
86			N	14 h	85%
87	56	, r ^a r ^a r ^a F	res and the second seco	15 h	60%
88			N	15 h	56%
89			NO2	16 h	92%

90			OMe	72 h	44% ^a
91	57	CO ₂ Et	¹⁴ ¹⁴	13 h	27%
92	58	NO ₂	¹² ¹⁴ ¹⁴ ¹⁴	18 h	15%
93			under the	10 h	81%
94	59	OMe	NO ₂	21 h	67%
95			OMe	72 h	40% ^a
96	60	OMe	r ^r r ^r	21 h	84%

^a Non isolé pur ; pureté RMN 1H < 85%

Tableau 33

Par la suite, nous avons entrepris d'étendre la pharmacomodulation par fonctionnalisation des 2,3-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines **71** et **73-75** (Schéma 111, Tableau 34). Ainsi, le dérivé phénolique **71** a été acétylé par réaction avec l'anhydride acétique, dans la pyridine et à température ambiante, conduisant à l'acétate **97** avec un rendement de 63%. Le composé nitré **73** subit une hydrogénation catalytique, en présence de Nickel de Raney, dans un mélange éthanol/tétrahydrofurane (5/1) permettant l'accès à l'amine hétérocyclique **98**. Le dérivé nitrile **74** est hydraté en amide primaire **99**, en présence de peroxyde d'hydrogène et de carbonate de potassium dans le diméthylsulfoxyde, avec un rendement de 66%. Enfin, l'acide carboxylique **100** est formé par hydrolyse de l'ester **75** au moyen de l'hydroxyde de sodium dans l'éthanol avec un faible rendement de 19%, le produit étant en partie soluble en phase aqueuse lors de l'étape d'extraction.



Schéma 111 : Fonctionnalisation des 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridines 71 et 73-75

Produits	R'	Substrats	R	Conditions	Rendements
97	OAc	71	ОН	Ac ₂ O, pyridine, TA, 12 h	63%
98	NH ₂	73	NO ₂	H-Cube [®] , H ₂ , Ni Raney, P = 10 bars, EtOH/THF (5/1), TA	81%
99	CONH ₂	74	CN	H ₂ O ₂ , K ₂ CO ₃ , DMSO, TA, 12 h	66%
100	CO ₂ H	75	CO ₂ Et	NaOH, EtOH, rfx, 1,5 h	19%

Tableau 34

4.4-Conclusion

En résumé, nous avons élaboré une méthode simple de synthèse de 2,3diarylimidazo[1,2-a]pyridines à partir du composé triflate **51**. Ces composés, préparés *via* un couplage de Suzuki en position 2 et une arylation directe en position 3, est une approche originale permettant la fonctionnalisation par divers groupements chimiques. Trente-deux composés finaux ont été synthétisés et feront l'objet d'une évaluation biologique.

5-Pharmacomodulations en série (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urée

Nous décrirons dans le présent chapitre les travaux de synthèse mis en œuvre pour l'accès aux dérivés imidazo[1,2-a]pyraziniques de structure générale **V** (Figure 70).



Figure 70

Les imidazo[1,2-a]pyrazines seront substituées en position 6 par une fonction urée.

5.1-Stratégie de synthèse

Ces molécules cibles peuvent être obtenues, en trois ou quatre étapes, à partir de la 2aminopyrazine I. Ainsi, pour synthétiser les imidazo[1,2-a]pyrazines V, substituées en position 6 par diverses urées, la première voie de synthèse (voie A) a été envisagée par hétéroarylation palladocatalysée d'une urée monosubstituée, à partir de l'intermédiaire bromé III (Schéma 112). La 6-bromoimidazo[1,2-a]pyrazine III sera issue de la condensation entre la 5-bromopyrazin-2-amine II et le 2-bromo-1,1-diéthoxyéthane. Enfin, la synthèse du précurseur II s'effectuera par bromation sélective en position 5 de la 2-aminopyrazine I. La deuxième voie de synthèse implique la formation de l'amine hétérocyclique intermédiaire IV, à partir de la 6-bromoimidazo[1,2-a]pyrazine III. En effet, cette amine conduira de manière classique aux urées V souhaitées.



Schéma 112 : Voies d'accès aux (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urées

5.2-Synthèse de la 6-bromoimidazo[1,2-a]pyrazine

5.2.1-Synthèse de la 5-bromopyrazin-2-amine

La bromation de la 2-aminopyrazine **101** en position 5 a été mise en œuvre avec le *N*bromosuccinimide dans un premier essai dans un mélange diméthylsulfoxyde/eau²⁷⁸ puis dans l'acétonitrile.²⁷⁹ La présence du composé dibromé **102'** est confirmée dans les deux cas par spectrométrie de masse et par RMN du proton. Pour le premier essai, ce composé dibromé est présent avec un ratio de 1/4. Lorsque la réaction est réalisée dans l'acétonitrile, le rendement du composé monobromé s'élève à 89% avec des traces du composé dibromé avant purification. C'est donc cette dernière méthode qui sera retenue (Schéma 113, Tableau 35).



Schéma 113 : Synthèse de la 5-bromopyrazin-2-amine 102

Essais	Solvants	Conditions	Rendements
1	DMSO/H ₂ O	TA, 4 h	54%
2	acétonitrile	TA, 2 h	89%

Tableau 35

5.2.2-Synthèse de l'intermédiaire clé, la 6-bromoimidazo[1,2-a]pyrazine

Après traitement par l'acide bromhydrique, le 2-bromo-1,1-diéthoxyéthane est condensé avec la 5-bromopyrazin-2-amine **102** pour former le bicycle imidazo[1,2-a]pyrazine. Le composé **103** est finalement isolé, en milieu basique, avec un rendement de 45% (Schéma 114).^{226,228}

²⁷⁸ J. F. Cavalier *et al.*, *Synthesis*, **2001**, *5*, 768-772.

²⁷⁹ F. De Wael et al., Bioorg. Med. Chem., 2009, 17, 4336-4344.



Schéma 114 : Synthèse de la 6-bromoimidazo[1,2-a]pyrazine 103

Le mécanisme de cette réaction se divise en deux parties. Tout d'abord, la déprotection de l'acétal, le 2-bromo-1,1-diéthoxyéthane, s'effectue en présence d'acide bromhydrique et conduit à l'aldéhyde correspondant. La condensation de la 5-bromopyrazin-2-amine **102** est alors accomplie avec l'aldéhyde (Schéma 115).



Schéma 115 : Synthèse de la 6-bromoimidazo[1,2-a]pyrazine 103

Un deuxième essai de condensation de la 5-bromopyrazin-2-amine **102**, directement à partir du chloroacétaldéhyde, a été tenté permettant d'isoler le composé **103** avec un rendement de 48%, équivalent à la première méthode (Schéma 116). Cependant, le temps de réaction est presque six fois plus long que la précédente approche.



Schéma 116 : Synthèse de la 6-bromoimidazo[1,2-a]pyrazine 103

5.3-Fonctionnalisation du noyau imidazo[1,2-*a*]pyrazine, en position 6 par des urées

Afin de pharmacomoduler le cycle imidazo[1,2-*a*]pyrazine en position 6 par diverses urées, deux stratégies de synthèse ont été exploitées. Une des voies consiste à coupler la 6bromoimidazo[1,2-*a*]pyrazine **103** avec des urées monosubstituées, par couplage palladocatalysé. L'autre voie, plus classique, se fait en deux étapes, par amination intermédiaire puis synthèse des urées.

5.3.1-Synthèse des urées, par couplage palladocatalysé, à partir de la 6bromoimidazo[1,2-*a*]pyrazine

Une procédure aisée et rapide pour la préparation d'urées monosubstituées est décrite dans la littérature *via* une réaction entre le cyanate de potassium et une amine, dans l'eau en milieu acide chlorhydrique.²⁸⁰ Cette démarche a été améliorée par réaction sous irradiations micro-ondes. Le mécanisme de la réaction résulte de l'attaque de l'atome d'azote de l'amine sur l'acide cyanique avec la formation d'un intermédiaire dipolaire. Le transfert d'un proton permet la conversion de l'intermédiaire zwitterion, initialement formé, en urée neutre (Schéma 117).



Ainsi, à partir de la benzylamine **104** et de l'aniline **105**, la formation de deux urées est réalisée, sous irradiations micro-ondes à 80 °C, avec des temps de réaction courts et des rendements respectifs de 89 et 65% (Schéma 118, Tableau 36).



Schéma 118 : Accès aux urées monosubstituées 106 et 107

²⁸⁰ L. De Luca *et al.*, *Synlett*, **2010**, *16*, 2439-2442.

Produits	Substrats	R	Temps	Rendements
106	104	r r r r r r r r r r r r r r r r r r r	30 min	89%
107	105	r ^{rrrr}	15 min	65%

Tableau 36

Par la suite, différents essais de couplage palladocatalysé ont été réalisés entre la 6bromoimidazo[1,2-*a*]pyrazine **103** et la benzylurée **106** ou phénylurée **107**, en utilisant divers catalyseurs, ligands, bases et solvants (Schéma 119, Tableau 37).

D'après les conditions décrites par Abad et al.,²⁸¹ l'acétate de palladium a d'abord été utilisé comme catalyseur, le Xantphos comme ligand et le *tert*-butanolate de sodium comme base, dans un mélange dioxane/eau. Les urées **108** et **109** sont isolées respectivement avec des rendements de 27 et 20% (Tableau 37 : essais 1 et 5). L'essai 2, utilisant aussi le ligand Xantphos mais le catalyseur le tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium (Pd₂(dba)₃), ne conduit à l'urée **108** qu'avec un rendement très faible de 8%.²⁸² D'autres tentatives ont été réalisées selon les méthodes publiées par Kotecki et al..²⁸³ L'emploi du bippyphos comme ligand et du tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium ne permet ici d'obtenir que des traces des urées désirées (Tableau 37 : essais 4 et 8). De même, l'usage d'autres ligands comme le (±)-2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle (BINAP) ou le *t*-BuXPhos²⁸⁴ ne favorise pas la formation des urées (Tableau 37 : essais 3, 6 et 7). L'utilisation du Xantphos semble la meilleure alternative pour cette série, cependant les rendements restent faibles. Nous nous sommes alors orientés vers une autre voie de synthèse.

²⁸¹ A. Abad *et al.*, *Synthesis*, **2005**, *6*, 915-924.

²⁸² G. A. Artamkina *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 4381-4384.

²⁸³ B. J. Kotecki *et al.*, Org. Lett., **2009**, *11*, 947-950.

²⁸⁴ S. Breitler *et al.*, Org. Lett., **2011**, *13*, 3262-3265.



Schéma 119 : Synthèse des (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urées 108 et 109

Essais	Produits	Catalyseurs	Ligands	Bases	Solvants	Temps	Rendements
1	108	Pd(OAc) ₂	Xantphos	t-BuONa	dioxane/H ₂ O	6 h	27%
2	108	$Pd_2(dba)_3$	Xantphos	Cs ₂ CO ₃	dioxane	6 h	8%
3	108	Pd(OAc) ₂	t-BuXPhos	K ₃ PO ₄	dioxane/H ₂ O	23 h	traces
4	108	$Pd_2(dba)_3$	Bippyphos	K ₃ PO ₄	DME	21 h	traces
5	109	Pd(OAc) ₂	Xantphos	t-BuONa	dioxane/H ₂ O	6 h	20%
6	109	$Pd_2(dba)_3$	BINAP	K_3PO_4	DME	20 h	traces
7	109	Pd(OAc) ₂	t-BuXPhos	K ₃ PO ₄	dioxane/H ₂ O	24 h	traces
8	109	$Pd_2(dba)_3$	Bippyphos	K ₃ PO ₄	DME	21 h	traces

Tableau 37



Bippyphos

Figure 68 : Structures des ligands utilisés lors du couplage palladocatalysé

5.3.2-Synthèse des (imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)urées *via* l'imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6amine

Jusqu'à maintenant, nous nous sommes intéressés à la fonctionnalisation du noyau imidazo[1,2-*a*]pyrazine en position 6 *via* des réactions de couplage catalysées par le palladium. L'inconvénient de cette séquence est le faible rendement obtenu pour isoler les urées souhaitées. Une autre méthodologie a alors été mise en place en formant l'imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-amine qui sera alors fonctionnalisée comme dans les chapitres précédents par des groupements urées.

Différentes démarches ont été envisagées pour accéder, dans un premier temps, à l'imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-amine.

L'introduction de la benzylamine pouvait conduire après débenzylation, par hydrogénation catalytique, à l'amine désirée. Cependant, la réaction de substitution nucléophile aromatique (SNAr) ou le couplage cuprocatalysé²⁸⁵ ont échoué, seuls des produits de dégradation ont été observés dans le milieu réactionnel (Schéma 120).

Les travaux de Yang et Buchwald²⁸⁶ ont montré que la benzophénone imine pouvait être utilisée afin d'obtenir un aminoaryle à partir d'un halogénoaryle. Dans une première étape, l'halogénoaryle est converti en imine *via* une réaction palladocatalysée. Diverses conditions ont été utilisées pour le couplage entre l'halogénoaryle et la benzophénone imine ; les meilleurs résultats sont obtenus avec du tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium (Pd₂(dba)₃), du 2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle (BINAP), en présence de *tert*butanolate de sodium dans le toluène.^{287,288} L'imine est ensuite clivée pour conduire à l'amine correspondante. Différentes conditions de clivage de l'imine peuvent être employées²⁸⁹ : l'hydrogénation catalytique, la transamination avec l'hydroxylamine ou l'hydrolyse par de l'acide chlorhydrique dans le tétrahydrofurane. Malheureusement, la première étape de cette voie de synthèse est restée sans succès.

La synthèse d'un aminoaryle à partir d'un halogénoaryle peut aussi être réalisée *via* un azoture,^{255,290} formé par SNAr avec de l'azoture de sodium, qui peut ensuite être réduit en amine par différentes méthodes dont l'hydrure de lithium et d'aluminium dans le tétrahydrofurane ou la triphénylphosphine dans un mélange tétrahydrofurane/eau. De

²⁸⁵ J. Harris *et al.*, *brevet*, **2004**, GB 2400101.

²⁸⁶ B. H. Yang et al., J. Organometallic Chem., **1999**, 576, 125-146.

²⁸⁷ M. Prashad et al., J. Org. Chem., 2000, 65, 2612-2614.

²⁸⁸ H. Li et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., **2004**, 14, 3585-3588.

²⁸⁹ J. P. Wolfe *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 6367-6370.

²⁹⁰ P. Molina *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 6909-6912.

nouveau, l'accès au précurseur azoture n'a pas été possible car le produit de départ est largement majoritaire (>90%) au bout de trois jours de réaction au reflux du diméthylsulfoxyde.



Schéma 120 : Voies d'accès à l'imidazo[1,2-a]pyrazin-6-amine 110

L'amination directe, dans les conditions classiques (NH₃/MeOH, reflux, tube scellé, 4 h) ou par couplage cuprocatalysé en présence d'ammoniaque, d'acétylacétonate de cuivre I [Cu(acac)₂],²⁹¹ de carbonate de césium et du ligand 2,4-pentadione, dans le diméthylformamide à 90 °C, n'a pas permis d'accéder à l'amine hétérocyclique **110** désirée.

Finalement, la réaction est effectuée dans l'ammoniaque en présence de sulfate de cuivre pentahydraté à 90 °C et conduit à l'amine **110** en une seule étape.²⁹² Cependant, le composé ne peut pas être purifié car il se dégrade sur colonne chromatographique de gel de silice ; il est alors engagé directement dans l'étape suivante. L'imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-amine **110** est mis en présence d'un isocyanate dans le diméthylformamide à température ambiante. Cette approche a conduit aux urées **108**, **109** et **111-114** avec des rendements faibles, de

²⁹¹ N. Xia *et al.*, *Angew. Chem.*, **2009**, *48*, 337-339.

²⁹² M. Nilssonet *al.*, *brevet*, **2010**, WO 2010064020.

l'ordre de 20% sur les deux étapes à cause de problèmes d'extraction lors de la première étape et à des problèmes de dégradation de l'amine **110** dans le milieu réactionnel (Schéma 121, Tableau 38).



Schéma	121 :	Synthèse	des urées à	partir de la	6-bromoimida:	zo[1.2- <i>a</i>]pyrazine	103
Schema		by milese	ueb ureeb u	pui ili de la	0 bioinonnau	Loli, 2 alphiatine	100

Produits	R	Réactifs	Temps	Rendements à partir de 103
108	¹ ¹ ¹ ¹ ¹ ¹ ¹ ¹ ¹ ¹	OCN	2 h	33%
109	under and a second seco	OCN	16 h	15%
111	OMe	OCN	15 h	23%
112	OMe	OCN OMe	2 h	22%
113	C	OCN	30 min	22%
114	OBn	OCN OBn	16 h	14%

Tableau 38

Afin de pharmacomoduler avec un autre groupement benzylique, la méthode au triphosgène a été expérimentée. Le composé **110** a donc été mis en réaction avec du triphosgène et de la triéthylamine dans le dichlorométhane. Après l'ajout de la 4-

méthoxybenzylamine, l'urée 115 est isolée avec un très faible rendement de 5% (Schéma 122).



Schéma 122 : Synthèse de l'urée 115 par la méthode au triphosgène

La démarche développée dans les autres séries, faisant appel au carbamate **45**, est alors réalisée en présence de triéthylamine dans le tétrahydrofurane permettant finalement l'accès à l'urée **115** avec un rendement de 11 % (Schéma 123).



Schéma 123 : Synthèse de l'urée 115 par la méthode au carbamate

Malgré le faible rendement, cette méthodologie permet quand même d'étendre la pharmacomodulation en introduisant le groupement 4-méthoxybenzyle sur l'urée.

5.4-Conclusion

Sept molécules finales originales, de structure générale V (Figure 70), possédant une fonction urée en position 6 de l'hétérocycle imidazo[1,2-a]pyrazine, ont été synthétisées. L'approche a été réalisée par synthèse convergente ou linéaire en trois ou quatre étapes avec des rendements globalement moyens à faibles.

IV-Etude et résultats pharmacologiques

1-Evaluation pharmacologique et discussion

1.1-Evaluation antifongique

1.1.1-Principe des tests d'évaluation antifongique

Les souches utilisées proviennent de la biothèque du Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie Médicale de l'équipe IICiMed. Elles sont issues de prélèvements biologiques au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie Médicale du CHU de Nantes. Ces protocoles ont été standardisés au sein du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Nantes. Les tests fluorimétriques sont réalisés sur une microplaque de 96 puits.²⁹³

1.1.1.1-Test in vitro sur des souches de Candida albicans

Le milieu de culture est constitué de RPMI 1640 (100 mL, Sigma Aldrich), du tampon MOPS (0,0165 M, Sigma Aldrich) et de glucose (2 g, Sigma Aldrich) ; le pH du milieu est de 7. Une solution mère à 10 mM du produit testé est obtenue en solubilisant le dérivé dans une solution de 2 mL de DMSO. Une série de dilutions du produit à tester est effectuée par dilutions successives de la solution mère au $1/10^{\text{ème}}$ dans le DMSO puis dans le milieu de culture au $1/50^{\text{ème}}$. Les molécules de références, l'amphotéricine B, le fluconazole et l'itraconazole, sont solubilisées dans le DMSO à une concentration de 10 mM. Une suspension de *C. albicans* est également préparée à partir d'une culture de 24 h sur milieu Sabouraud, dans un mélange sérum physiologique/tween 80 (0,01%). Le dénombrement des *C. albicans* par une cellule de Malassez permet de réaliser ensuite une dilution afin de placer dans chaque puits 10^3 levures par mL.

Le blanc du test est constitué de trois puits, chaque puits recevant 200 μ L du milieu de culture. Le témoin de pousse du test est également constitué de trois puits, chaque puits recevant 100 μ L du milieu de culture et 100 μ L de la suspension de *C. albicans*. Les autres puits sont remplis avec 100 μ L de la suspension de *C. albicans*, puis 100 μ L de chaque concentration de la solution à tester est placée dans trois puits.

²⁹³ F. Pagniez et al., J. Mycol. Med., **2001**, 11, 73-78.

La plaque est ensuite incubée à 37 °C pendant 24 h. Ensuite, 10 μ L d'une solution aqueuse de fluorochrome (résazurine, Sigma, préparée à 700 μ M) est ajoutée dans chaque puits et la plaque est à nouveau placée dans l'incubateur à 37 °C pendant 4 h. Le fluorochrome est ainsi réduit et la lecture se fait à l'aide d'un spectrofluorimètre (excitation 550 nm, émission 590 nm).

1.1.1.2-Test in vitro sur la souche d'Aspergillus fumigatus

Le milieu de culture est constitué de RPMI 1640 (100 mL, Sigma Aldrich), du tampon MOPS (0,0165 M, Sigma Aldrich) et de glucose (2 g, Sigma Aldrich) ; le pH du milieu est de 7. Une solution mère à 10 mM du produit testé est obtenue en solubilisant le dérivé dans une solution de 2 mL de DMSO. Une série de dilutions du produit à tester est effectuée par dilutions successives de la solution mère au $1/10^{\text{ème}}$ dans le DMSO puis dans le milieu de culture au $1/50^{\text{ème}}$. Une suspension de spores d'*A. fumigatus*, préparée à partir d'une culture de 7 jours sur milieu Sabouraud, est également préparée, dans un mélange eau physiologique/tween 80 (0,01%). Le dénombrement des conidies *d'A. fumigatus* par une cellule de Malassez permet de réaliser ensuite une dilution afin de placer dans chaque puit 10⁴ conidies par mL.

Le blanc du test est constitué de trois puits, chaque puits recevant 200 μ L du milieu de culture. Le témoin du test est également constitué de trois puits, chaque puits recevant 100 μ L du milieu de culture et 100 μ L de la suspension de spores. Les autres puits sont remplis avec 100 μ L de la suspension de spores, puis 100 μ L de chaque concentration de la solution à tester est placée dans trois puits.

100 μ L de chaque concentration de la solution à tester est placée dans trois puits et la plaque est ensuite incubée à 37 °C pendant 24 h. Ensuite, une solution de Resazurine (Sigma, préparée à 700 μ M) (10 μ L) est ajoutée dans chaque puits et la plaque est à nouveau placée dans l'incubateur à 37 °C pendant 20 h. La solution de fluorochrome est ainsi réduite par les cellules vivantes et le milieu se colore en rose. La lecture des résultats se fait à l'aide d'un spectrofluorimètre, aux longueurs d'ondes de 550 nm pour l'excitation et de 590 nm pour l'émission.

1.1.2-Résultats biologiques et discussion

48 molécules ont été testées dans les séries imidazo[1,2-*a*]pyridines et imidazo[1,2-*a*]pyrazines. Ces composés ont été évalués sur des souches de *Candida albicans* CA98001 (sensible au fluconazole) et d'*Aspergillus fumigatus* AF7. Les tableaux 39 à 42 présentent les résultats obtenus.



Figure 72 : Série 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-urée, amide et amine

Composés	р	C. albicans CA98001	A. fumigatus AF7
Composes	K	CI ₈₀ (µM)	CI ₈₀ (µM)
10	COCH ₃	>100	>100
11	COPh	>100	>100
12	Ph	>100	>100
13	3-Pyridyl	>100	>100
16	CONHEt	>100	>100
17	CONH <i>i</i> Pr	>100	>100
19	CONHCyclohexyl	>100	>100
20	CONHPh	>100	>100
21	CONHBn	>100	>100
Amphotéricine B			0.59
Fluconazole		0.28±0.01	
Itraconazole			0.52

Tableau 39 : Evaluation en série 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-urée, amide et amine


Figure 73 : Série 3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-urée et carbamate

Composés	D	C. albicans CA98001	A. fumigatus AF7
Composes	К	CI ₈₀ (μM)	$CI_{80}\left(\mu M ight)$
36	$CO_2(t-Bu)$	>100	20±6
38	CONHPh	>100	>100
39	CONH(3-MeO)Ph	>100	>100
40	CONH(3-Cl)Ph	>100	>100
42	CONHBn	>100	>100
Amphotéricine B			0.59
Fluconazole		0.28±0.01	
Itraconazole			0.52

Tableau 40 : Evaluation en série 3-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-2-urée et carbamate



Figure 74 : Série 2,3-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridine

Composés	A	(hat) A z ²	C. albicans CA98001	A. fumigatus AF7
Composes	Ar	(net)Ar	CI ₈₀ (µM)	CI ₈₀ (µM)
67	Ph	Ph	>100	>100
68	Ph	4-Pyridyl	43.5	41.7±3.6
69	Ph	(4-Me)Ph	>100	>100
70	Ph	(4-MeO)Ph	>100	>100
71	Ph	(4-OH)Ph	>100	>100
72	Ph	(4-PivO)Ph	>100	>100
73	Ph	(4-NO ₂)Ph	>100	>100
74	Ph	(4-CN)Ph	>100	>100
75	Ph	(4-CO ₂ Et)Ph	>100	>100
76	Ph	(3,5-Cl)Ph	>100	>100
77	Ph	3-Pyridyl	>100	>100
78	Ph	5-Pyrimidyl	>100	>100
79	Ph	3-Thiényl	>100	>100
82	(3-Cl)Ph	Ph	>100	>100
83	(3,5-Cl)Ph	Ph	>100	>100
84	(3,5-Cl)Ph	3-Pyridyl	>100	>100

85	(2-F)Ph	Ph	>100	>100
86	(2-F)Ph	3-Pyridyl	>100	>100
87	(4-F)Ph	Ph	>100	84±14
88	(4-F)Ph	3-Pyridyl	>100	>100
89	(4-F)Ph	(3-NO ₂)Ph	>100	>100
91	(4-CO ₂ Et)Ph	Ph	>100	>100
92	(4-NO ₂)Ph	Ph	>100	>100
93	(4-MeO)Ph	Ph	>100	>100
94	(4-MeO)Ph	(3-NO ₂)Ph	>100	>100
96	(2-MeO)Ph	Ph	>100	46±5
97	Ph	(4-AcO)Ph	>100	>100
98	Ph	(4-NH ₂)Ph	>100	>100
99	Ph	(4-CONH ₂)Ph	>100	>100
100	Ph	(4-CO ₂ H)Ph	>100	>100
Amphotéricine B				0.59
Fluconazole			0.28±0.01	
Itraconazole				0.52

 Tableau 41 : Evaluation en série 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridine



Figure 75 : Série (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urée

Composós	D	C. albicans CA98001	A. fumigatus AF7
Composes	K	CI ₈₀ (µM)	CI ₈₀ (µM)
109	Ph	>100	>100
111	(4-MeO)Ph	>100	>100
112	(3-MeO)Ph	>100	>100
114	(4-BnO)Ph	>100	>100
Amphotéricine B			0.59
Fluconazole		0.28±0.01	
Itraconazole			0.52

 Tableau 42 : Evaluation en série (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urée

Sur la souche de *Candida albicans*, l'évaluation des composés n'a pas permis d'observer l'émergence d'une activité. Seul le composé **68** (Tableau 41) de la série 2,3diarylimidazo[1,2-*a*]pyridine possède une activité inhibitrice avec une CI_{80} de 43.5 μ M mais qui reste largement supérieure à celle du fluconazole (CI_{80} de 0.28 μ M), composé de référence. Sur la souche d'*Aspergillus fumigatus*, le carbamate **36** (Tableau 40) et les composés **68**, **96** en série 2,3-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridine (Tableau 41) présentent des CI_{80} de plusieurs dizaines de micromolaires, donc des activités bien inférieures à celles de l'amphotéricine B et de l'itraconazole. Les autres composés restent inactifs.

En conclusion, aucun des composés ne possède d'activité antifongique malgré le travail de pharmacomodulation dans les différentes séries développées. Il conviendra donc d'essayer, en poursuivant ce travail, d'obtenir des composés actifs sur les différentes souches avant d'évaluer l'implication des kinases fongiques dans les mécanismes biologiques.

1.2-Evaluation antileishmanienne

1.2.1-Principe des tests d'évaluation antileishmanienne

La souche de *Leishmania major 1* (MHOM/IL/81/BNI) est cultivée dans du milieu Schneider's insect (Sigma Aldrich) supplémenté avec 13% de sérum bovin foetal (SBF, Sigma-aldrich), de pénicilline (100 UI/mL) et de streptomycine (100 mg/mL) à 26 °C et un repiquage est effectué tous les 7 jours.

1.2.1.1-Activité antileishmanienne in vitro

La préparation des échantillons est réalisée dans les mêmes dilutions que précédemment pour les champignons avec comme référence la pentamidine (Sigma Aldrich) diluée dans l'eau.

1.2.1.1.1-Activité antileishmanienne in vitro sur les promastigotes

L'étude *in vitro* sur les promastigotes est réalisée à partir d'une suspension à 10^6 cellules/mL. Les promastigotes sont incubés à 26 °C pendant 96 h. La viabilité des promastigotes est évaluée par spectrofluorimétrie (excitation 530 nm, émission 590 nm) après ajout de 10 µL de résazurine (700 µM) et une incubation de 4 h. L'activité de chaque composé est évaluée par la valeur de la concentration inhibant 50% (CI₅₀) de la fluorescence mesurée dans les puits témoins.²⁹⁴

1.2.1.1.2-Activité antileishmanienne in vitro sur les amastigotes

Pour tester l'action antileishmanienne des composés sur les amastigotes, des macrophages de souris Balb-c sont infectés par des promastigotes intrapéritonéaux. 150 μ L d'une suspension à 1,5.10⁵ macrophages par mL sont cultivés sur des lamelles de verre disposées dans les puits d'une plaque de culture à 24 puits pendant 24 h à 37 °C en atmosphère à 5% de CO₂, dans un milieu RPMI 1640 (Sigma) contenant 10% de SBF.²⁹⁵

En parallèle, les promastigotes sont cultivés pendant 6 jours dans du Schneider's insect medium supplémenté par 13% de plasma à 26 °C. Au bout de 6 jours, une suspension de promastigotes à 3.10^6 cellules par mL est préparée dans du RPMI 1640 + 10% de SBF. Après lavage de la culture de macrophages, 100 µL de cette suspension sont déposés sur

²⁹⁴ P. Le Pape *et al*, *Acta Parasitol.*, **2002**, *47*, 79-81.

²⁹⁵ F. Pagniez et al., J. Enzym. Inhib. Med. Chem., 2006, 21, 277-283.

chaque lamelle. Ensuite, les plaques sont à nouveau incubées pendant 24 h à 37 °C et sous atmosphère à 5% de CO₂. Deux dilutions des composés à tester sont réalisées dans du RPMI 1640 + 10% de SBF. Après lavage des puits, les différentes solutions de composés (10 μ M et 1 μ M) sont mises en contact avec les macrophages infestés. Les plaques sont incubées pendant 4 jours à 37 °C sous atmosphère à 5% de CO₂. Les lamelles sont retirées des puits et collées sur une lame. Elles sont ensuite colorées par la trousse de coloration rapide RAL555 (réactifs RAL, Martillac, France). Les amastigotes présents dans les macrophages sont comptabilisés. Une moyenne est réalisée sur 100 macrophages par lamelles. Le pourcentage d'inhibition de croissance est déterminé pour chaque molécule évaluée.

1.2.1.1.3-Cytotoxicité

L'étude se fait sur une culture de cellules HeLa dans le RPMI 1640 medium supplémenté par 10% de SBF (Sigma-aldrich). Les cellules d'une culture de 3 jours sont utilisées après une incubation de 5 minutes avec une solution de trypsine (Sigma-aldrich). Les cellules HeLa sont déposées dans les puits d'une plaque de culture à 96 puits, contenant 100 μ L d'une suspension à 10⁵ par mL. Après 24 h d'incubation à 37 °C sous atmosphère à 5% de CO₂, 100 μ L des solutions des molécules sont additionnées en double. Après 96 heures, 10 μ L d'une solution de résazurine (700 μ M) sont ajoutés. Et enfin, la fluorescence est mesurée à 590 nm avec une excitation à 550 nm après une incubation à 37 °C.

1.2.1.1.4-Activité inhibitrice des kinases

1.2.1.1.4.1-Inhibition de PKC

L'activité PKC est mesurée à l'aide du kit PKC kinase activity (Enzo Life Sciences) qui fonctionne sur le principe d'un test ELISA. Les leishmanies sont cultivées pendant 6 jours à 26 °C puis les protéines sont extraites. Le tampon d'extraction est composé de 1 mL de MPER (Pierce), 10 μ L de cocktail inhibiteur de phosphatase (Sigma), 10 μ L de cocktail inhibiteur de protéase (PIC-Y)(Sigma), 10 μ L de PMSF (Sigma), 2 μ L de leupeptine (Sigma) et 10 μ L d'aprotinine (Sigma). Les protéines extraites sont dosées et une dilution à 0,2 μ g/ μ L est réalisée dans le tampon d'extraction. Cette concentration a été choisie après une étude préliminaire permettant de mettre en évidence l'activité PKC chez cette espèce et de choisir la concentration la mieux adaptée pour l'évaluation de l'activité inhibitrice des composés étudiés. L'inhibiteur de PKC de référence est le RO32-0432 utilisé à la concentration de 0,1

 $\mu g/\mu L$. Trois blancs sont réalisés pour vérifier que l'activité PKC ne peut être due qu'à une protéine contenue dans l'extrait de leishmanies : un blanc ne contenant que les réactifs du kit, un blanc contenant le DMSO et un blanc contenant le tampon d'extraction. Le témoin positif est réalisé à l'aide de la PKC active fournie avec le kit. Ensuite, l'activité PKC est mesurée en présence des molécules. Les concentrations testées correspondent aux CI₅₀ calculées dans l'essai sur les promastigotes.

Après avoir placé l'extrait protéique dans les puits contenant le peptide cible, l'ATP est ajouté puis les molécules à évaluer ou le RO32-0432. Après une incubation de 90 minutes à 30 °C, les puits sont lavés puis l'anticorps anti-phosphopeptide est ajouté. Après 60 minutes d'incubation à 30 °C, les puits sont lavés et l'anticorps secondaire marqué à l'HRP est déposé. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, le substrat (tétraméthylbenzidine) est ajouté puis la réaction est stoppée après 40 minutes. L'absorbance est mesurée à 450 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé pour chaque concentration évaluée.

1.2.1.1.4.2-Inhibition de CK1 et LmCK1

Le tampon d'extraction est composé de 60 mM de β -glycérophosphate, de 30 mM de phosphate de *p*-nitrophényle, de 25 mM de Mops (pH 7,2), de 5 mM de EGTA, de 15 mM de MgCl₂, de 1 mM de DTT, de 0,1 mM de vanadate de sodium et de 1 mM de phosphate phényle.

Les activités des kinases sont testées dans le tampon d'extraction à 30 °C, à une concentration finale d'ATP de 15 μ M. Les valeurs des blancs sont soustraites et les activités sont exprimées en % de l'activité maximale, c'est-à-dire en l'absence d'inhibiteur. Les mesures sont accomplies avec les dilutions appropriées dans le DMSO. Les substrats peptidiques de CK1 et de *Lm*CK1 sont obtenus chez Proteogenix (Oberhausbergen, France).

CK1 δ/ϵ (cerveau de porc) est testée dans trois dilutions de la solution tampon mais en utilisant 25 μ M du peptide CKS (RRKHAAIGpSAYSITA), un substrat spécifique de CK1.^{296,297,298} Son activité est testée dans la solution tampon, avec 1 mg d'histone H1/mL, en présence de 15 μ M [γ -³³P] ATP (3.000 Ci/mmol ; 10 mCi/mL) dans un volume final de 30 μ L. Après une incubation de 30 minutes à 30 °C, la réaction est stoppée sur papier phosphocellulose P81 (Whatman) utilisant un FilterMate (Perkin Elmer) qui est lavé par une solution d'acide phosphorique à 1%. Un scintillateur est ajouté et la radioactivité est mesurée

²⁹⁶ S. Leclerc *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 251-260.

²⁹⁷ S. Bach *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 31208-31219.

²⁹⁸ J. Reinhardt et al., Protein Expression Purif., 2007, 54, 101-109.

grâce à un compteur (Perkin Elmer). *Lm*CK1 (CK1 de *Leishmania major*, recombinante, protéine de fusion chez *E. coli*) est purifiée par chromatographie d'affinité sur des billes de cobalt et son activité est déterminée comme CK1.

1.2.1.1.5-Détermination de la lipophilie par RP-CLHP

La lipophilie des composés testés a été déterminée expérimentalement. Afin de mesurer rapidement les coefficients de partage (Log P) ou les coefficients de distribution (Log D), nous avons utilisé une méthode CLHP en phase inverse, à partir de produits de référence et des droites de corrélation.²⁹⁹ En effet, les logarithmes des facteurs de rétention des solutés sont linéairement corrélés avec le logarithme de leur coefficient de partage ou de distribution, comme décrit initialement par Collander.³⁰⁰ Le logarithme du coefficient de distribution (Log D) des composés, entre une phase organique (méthanol) et une phase aqueuse (tampon), a été obtenu à un pH de 4,5 et 7,5, à proximité des valeurs de pH des essais.

Le méthanol HPLC et l'eau déionisée sont utilisés pour la préparation des solvants d'élution qui sont dégazés avant utilisation. Les injections sont réalisées sur un appareil de chromatographie liquide haute performance de type Dionex Ultimate 3000 équipé d'un détecteur à barrettes de diodes. La température de la colonne est fixée à 30 °C. Les composés sont dilués dans le méthanol, le volume d'injection est de 0,5 µL et le débit est de 0,2 mL/min. Les données sont collectées en utilisant le logiciel Chromeleon 7. La phase stationnaire se compose d'une colonne C-18 XBridge (75 x 2,1 mm d.i., 2,5 µm tailles des particules, volume des pores de $0.70 \text{ cm}^3/\text{g}$). La phase mobile est le méthanol et une solution tampon appropriée (une solution d'acétate d'ammonium 0,01 M pour un pH de 7,5 et une solution d'acide acétique 0,01 M pour un pH de 4,5). Pour chaque composé, le facteur de rétention (k = $(t_R-t_0)/t_0$) est déterminé pour différentes proportions de méthanol (trois points sont utilisés pour tracer le log k en fonction du pourcentage de méthanol) et il est extrapolé à 0% de méthanol par méthode linéaire pour déterminer le Log k_w. Dans tous les cas, le carré du coefficient de corrélation est au-dessus de 0,99. Le temps mort t₀ est mesuré par injection de la thiourée (substance non retenue). Trente composés ont été choisis parmi les soixante décrits comme références dans le «guideline» de l'Organisation de Coopération et Développement économique (OCDE).³⁰¹ Pour chaque référence, le Log k_w est tracé en fonction du Log D issu de la littérature (SciFinder). Le Log k_w de la librairie d'imidazo [1,2-*a*] pyridines est également

²⁹⁹ A. Nasal et al., Curr. Med. Chem., **2003**, 10, 381-426.

³⁰⁰ R. Collander, Acta Chem. Scand., **1951**, *5*, 774-780.

³⁰¹ OECD, Guideline for Testing of Chemicals, vol. 117, **1989**, http://www.oecd.org.

déterminé comme indiqué ci-dessus et le coefficient de distribution (Log D) est obtenu à partir des droites de régression des produits de références à chaque valeur de pH souhaité.

1.2.2-Résultats pharmacologiques et discussion

Comme précédemment, les molécules ont fait l'objet de l'évaluation antileishmanienne dans les séries imidazo[1,2-*a*]pyridines et imidazo[1,2-*a*]pyrazines sur *Leishmania major 1* que ce soit sur la forme promastigote ou amastigote. Afin d'étudier le mécanisme d'action des composés, des études d'activité sur les kinases PKC et CK1 ont été réalisées.

1.2.2.1-Activité antileishmanienne in vitro sur les promastigotes

Les concentrations inhibitrices 50 (CI_{50}) sur les promastigotes de *L. major* sont résumées dans les tableaux suivants. La pentamidine est utilisée comme composé de référence.

Les dérivés 2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridines (Tableau 43) présentent des activités inhibitrices moyennes (CI₅₀ de l'ordre de 50 μ M pour les plus actifs) sur la forme promastigote. La série 3-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridine (Tableau 44) fournit de meilleurs résultats mais avec des CI₅₀, de l'ordre de 15 μ M, qui restent décevantes. La comparaison entre les dérivés **20** et **38** ainsi que **21** et **42** montre des écarts d'activité importants ; la fonctionnalisation par des groupements urées semble plus favorable en position 2 qu'en position 3.



Figure 76 : Série 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-urée, amide et amine

Composós	р	L. major 1 promastigotes
Composes	ĸ	$CI_{50} \pm SEM \ (\mu M)$
Pentamidine		4.8±0.8
10	COCH ₃	>100
11	COPh	67.5±12.1
12	Ph	>100
13	3-Pyridyl	48±3
16	CONHEt	>100
17	CONH <i>i</i> Pr	>100
19	CONHCyclohexyl	33±3
20	CONHPh	47.0±0.4
21	CONHBn	54±2

Tableau 43 : Evaluation en série 2-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-3-urée, amide et amine



Figure 77 : Série 3-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-2-urée et carbamate

Composés	D	L. major 1 promastigotes
Composes	К	$CI_{50} \pm SEM \ (\mu M)$
Pentamidine		4.8±0.8
36	$CO_2(t-Bu)$	16±1
38	CONHPh	14±3
39	CONH(3-MeO)Ph	19±4
40	CONH(3-Cl)Ph	>100
42	CONHBn	17±3

Tableau 44 : Evaluation en série 3-phénylimidazo[1,2-a]pyridin-2-urée et carbamate

En série (imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)urée, le dérivé **114** présente l'activité la plus intéressante (CI₅₀ de 19 μ M) bien que moyenne (Tableau 45). L'augmentation de longueur de la chaîne carbonée sur l'urée en position 6 semble avoir un effet favorable sur l'activité anti-leishmanienne, corrélée avec une augmentation de la lipophilie de la molécule.



Figure 78 : Série (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urée

Composés	р	L. major 1 promastigotes		
Composes	K	$CI_{50} \pm SEM \ (\mu M)$		
Pentamidine		4.8±0.8		
109	Ph	>100		
111	(4-MeO)Ph	67±5		
112	(3-MeO)Ph	>100		
114	(4-BnO)Ph	19±6		

Tableau 45 : Evaluation en série (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urée

Huit composés (**69**, **70**, **72**, **73**, **75**, **76**, **68** et **82**) dans la série des 2,3diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines possèdent une activité inférieure à 10 μ M et sont considérés comme aussi actifs que la pentamidine au stade promastigote (Tableau 46). Globalement, la plupart des composés actifs sont obtenus à partir de la série 2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridine (**67-79**, **97-100**), excepté le composé **82**. Le 2,3-diphénylimidazo[1,2-*a*]pyridine **67** dispose d'une activité modérée. En se basant sur la comparaison des composés **70**, **73**, **75**, **76** (CI₅₀ de 7.2, 4.9, 5.2 et 7.7 μ M, respectivement) avec leurs analogues **93**, **92**, **91**, **83** (CI₅₀ de 26.6, 30.0, 40.0 et 39.0 μ M, respectivement), l'inversion des substituants entre les positions 2 et 3 du noyau imidazo[1,2-*a*]pyridine mène à une diminution de l'activité. En effet, dans la deuxième série des composés imidazo[1,2-*a*]pyridines **83-96**, fonctionnalisés en position 2 par un groupement phényle substitué et en position 3 par un phényle substitué ou non, sont moins actifs ou inactifs sur la forme promastigote de *L. major* présentant des CI₅₀ supérieures à 10 μ M.

Considérant la relation structure-activité des 2-phénylimidazo[1,2-*a*]pyridines (**67-79**, **97-100**), l'introduction des substituants 4-Me (**69**), 4-OMe (**70**), 4-OPiv (**72**) mais aussi 4-NO₂ (**73**) ou 4-CO₂Et (**75**) sur le groupement phényle conduit à une bonne activité potentielle antileishmanienne. Ainsi, que ce soit des groupements électroattracteurs ou électrodonneurs, il n'y a pas d'incidence sur l'activité des dérivés. La présence des substituants hydrophiles (4-OH (**71**), 4-NH₂ (**98**), 4-CO₂H (**100**)) semble par contre délétère pour l'activité menant à des CI₅₀ plus élevées ou à des composés inactifs. Par ailleurs, le dérivé cyano (**74**) ainsi que l'amide correspondant (**99**) sont inactifs. Finalement, le composé acétylé **97**, ayant une CI₅₀ de 16.0 μ M, conduit à une activité moindre que son analogue pivaloyle plus encombrant. L'exemple du composé **76**, substitué par deux atomes de chlore, fournit également des résultats intéressants avec une CI₅₀ de 7.7 μ M.

L'influence de l'introduction d'un hétérocycle en position 3 a aussi été prise en considération. L'analogue 5-pyrimidyl **78** est totalement inactif, alors que les dérivés **79** (3-thiényl) et **77** (3-pyridyl) ont une activité inhibitrice moyenne. Le déplacement de l'atome d'azote de la position méta en para du cycle pyridyle montre un écart d'activité important, le dérivé 4-pyridyle **68** ayant une CI₅₀ de 6.5 μ M.



Figure 79 : Série 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridine

					Index de	
			L. major 1	Cytotoxicité sur	sélectivité	L. major 1
Composés	Ar	(het)Ar'	promastigotes	les cellules HeLa	(IS)	amastigotes
composes		()	$\mathbf{C}\mathbf{I} \rightarrow \mathbf{SFM}(\mathbf{uM})$	$CI \rightarrow SEM(M)$	cytotoxicité (CI ₅₀)/	% inhibition
			$C1_{50} \pm SEWI (\mu WI)$	$C1_{50} \pm SEWI (\mu WI)$	activité anti -	(µM)
					promastigotes (CI ₅₀)	
Pentamidine			4.8±0.8	15±0.2	3.13	99 (10)
67	Ph	Ph	22.5±0.6	31±3	1.38	84 (10)
68	Ph	4-Pyridyl	6.5±1.6	25±11	3.85	32 (10)
69	Ph	(4-Me)Ph	4.0±0.4	4±2	1.00	96 (10)
70	Ph	(4-MeO)Ph	7.2±0.3	14±2	1.92	71 (10)
71	Ph	(4-OH)Ph	40.0±6.1	16±6	0.40	-
72	Ph	(4-PivO)Ph	7.0±1.0	38±7	5.43	95 (10)
73	Ph	(4-NO ₂)Ph	4.9±0.2	27±3	5.51	68 (10)
74	Ph	(4-CN)Ph	>100	-	-	-
75	Ph	(4-CO ₂ Et)Ph	5.2±1.0	5±1	0.96	18 (10)
76	Ph	(3,5-Cl)Ph	7.7±0.2	18±3	2.34	79 (10)
77	Ph	3-Pyridyl	22.5±6.0	4±1	0.18	-
78	Ph	5-Pyrimidyl	>100	-	-	-
79	Ph	3-Thiényl	14.3±2.2	35±2	2.45	-
82	(3-Cl)Ph	Ph	4.4±1.9	5±1	1.14	94 (10)
83	(3,5-Cl)Ph	Ph	39.0±1.0	67±2	1.71	71 (1)
84	(3,5-Cl)Ph	3-Pyridyl	31.4±2.8	28±5	0.89	-
85	(2-F)Ph	Ph	39.0±1.0	18±3	0.46	-
86	(2-F)Ph	3-Pyridyl	34.8±1.9	29±1	0.83	-
87	(4-F)Ph	Ph	23±4	72±2	3.13	-
88	(4-F)Ph	3-Pyridyl	38.3±7.4	87±25	2.27	-
89	(4-F)Ph	(3-NO ₂)Ph	>100	-	-	-
91	(4-CO ₂ Et)Ph	Ph	40.0±1.1	346±174	8.65	86 (10)
92	(4-NO ₂)Ph	Ph	30.0±2.0	554±48	18.46	84 (10)
93	(4-MeO)Ph	Ph	26.6±1.5	48±2	1.80	85 (10)
94	(4-MeO)Ph	(3-NO ₂)Ph	14±2	30±2	2.14	-
96	(2-MeO)Ph	Ph	18.2±3.4	24±14	1.32	-
97	Ph	(4-AcO)Ph	16.0±6.1	40±1	2.50	-
98	Ph	(4-NH ₂)Ph	43.0±2.0	28.1±8.7	0.65	-
99	Ph	(4-CONH ₂)Ph	27.0±3.2	27±2	1.00	-
100	Ph	(4-CO ₂ H)Ph	>100	-	-	-

1.2.2.2-Cytotoxicité

La cytotoxicité sur la lignée cellulaire HeLa a été évaluée pour les composés 2,3diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines présentant une activité antileishmanienne prometteuse sur promastigotes ($CI_{50} < 45 \mu M$). La lignée cellulaire humaine HeLa a été choisie pour l'étude de toxicité afin d'identifier quelles molécules seraient les moins toxiques pour les cellules humaines. Les CI₅₀ s'étendent de 4 à 554 μ M mais pour la plupart des molécules sont inférieures à 100 μ M (Tableau 46). L'index de sélectivité (IS) a été calculé par le rapport entre la cytotoxicité (valeur de la CI₅₀ sur les cellules HeLa) et l'activité inhibitrice sur les promastigotes.

In vitro, les composés **91** et **92** ont de bons index de sélectivité, respectivement de 8.65 et 18.46. Parmi les composés les plus actifs sur les promastigotes de *L. major*, les molécules **69**, **70**, **75**, **76** et **82** montrent de faibles IS, inférieurs ou égaux à 2.34. Elles sont donc moins appropriées pour des études plus poussées. Finalement, l'IS est meilleur que celui de la pentamidine (3.13) pour cinq molécules : **72**, **73**, **68**, (IS = 5.43 ; 5.51 et 3.85, respectivement) sont issus de la première sous-série et les composés **91-92**, les plus sélectifs, viennent de la seconde.

1.2.2.3-Activité antileishmanienne in vitro sur les amastigotes

Pour cette étude d'activité antileishmanienne contre les amastigotes, les composés testés ont été sélectionnés par rapport à leur activité inhibitrice contre les promastigotes et/ou leur index de sélectivité. Trois profils biologiques ont été observés. Tout d'abord, les composés **69**, **70**, **72**, **73**, **76** et **82** disposent à la fois d'une activité antileishmanienne sur les promastigotes et sur les amastigotes de *L. major* comme le montrent le tableau 46 et la figure 80.



Figure 80

De plus, les dérivés 72 et 73 possèdent une faible toxicité. Par ailleurs, l'activité antipromastigotes n'est pas conservée sur la forme amastigote intracellulaire pour les composés 75 et 68. Finalement, les composés 67, 91, 92, 93, 83, faiblement actifs sur la forme promastigote, se sont montrés très actifs sur les macrophages infectés lors de traitement à 10 μ M (84 à 95% d'inhibition de la charge parasitaire amastigote). Les composés 72, 91 et 92 sont également capables de réduire le pourcentage de macrophages infectés (Figure 81)



Figure 81

1.2.2.4-Détermination de la lipophilie

Des différences physiques entre les tests sur les formes promastigote et amastigote de *L. major* permettraient d'expliquer les divers résultats obtenus. Le modèle promastigote est extracellulaire, dans cette forme le parasite est probablement plus accessible que dans le modèle amastigote intracellulaire. Effectivement, durant le processus d'invasion, le parasite initie la formation d'une vacuole parasitophore, membrane qui entoure le parasite. La pénétration de la membrane est donc un paramètre important et peut différer d'un composé à l'autre, dépendant de son caractère hydrophobe. De plus, dans les macrophages, les amastigotes sont dans un environnement acide (pH 4.7-5.2),³⁰² alors que les essais sur la forme promastigote sont réalisés à pH 7. Ce facteur peut influer sur les résultats biologiques puisque les propriétés physicochimiques des composés, associées à une forme ionisée ou non, sont liées à leur pKa et le pH du milieu.

La lipophilie a aussi été déterminée expérimentalement. Afin de mesurer les coefficients de distribution, une méthode HPLC en phase inverse a été utilisée. Le logarithme du coefficient de distribution des composés entre une phase organique (méthanol) et une phase aqueuse (solution tampon) est obtenu au pH 4.5 et 7.5, proche des valeurs de pH des tests biologiques (Tableau 47).

Composés	Ar	(het)Ar'	<i>L. major 1</i> promastigotes CI ₅₀ ± SEM (µM)	L. major 1 amastigotes % inhibition (µM)	Log D pH 7.5	Log D pH 4.5
67	Ph	Ph	22.5±0.6	84 (10)	4.50	2.15
68	Ph	4-Pyridyl	6.5±1.6	32 (10)	2.87	2.03
69	Ph	(4-Me)Ph	4.0±0.4	96 (10)	5.13	2.61
70	Ph	(4-MeO)Ph	7.2±0.3	71 (10)	4.58	2.31
72	Ph	(4-PivO)Ph	7.0±1.0	95 (10)	5.90	4.04
73	Ph	(4-NO ₂)Ph	4.9±0.2	68 (10)	4.35	3.29
75	Ph	(4-CO ₂ Et)Ph	5.2±1.0	18 (10)	5.19	3.59
76	Ph	(3,5-Cl)Ph	7.7±0.2	79 (10)	5.88	4.53
82	(3-Cl)Ph	Ph	4.4±1.9	94 (10)	5.25	3.91
83	(3,5-Cl)Ph	Ph	39.0±1.0	71 (1)	6.10	5.58
91	(4-CO ₂ Et)Ph	Ph	40.0±1.1	86 (10)	5.46	4.26
92	(4-NO ₂)Ph	Ph	30.0±2.0	84 (10)	4.65	4.20
93	(4-MeO)Ph	Ph	26.6±1.5	85 (10)	4.59	2.04
Pentamidine			4.8±0.8	99 (10)		

Tableau 47

Une variation de lipophilie a été notée pour les composés entre les deux valeurs de pH. En effet en prenant en compte le pKa de 5.30, calculé à l'aide du logiciel MarvinSketch de ChemAxon, les molécules ne sont pas ionisées au pH 7.5 alors qu'au pH 4.5 la forme protonée est majoritaire dans le milieu. En conclusion, les propriétés physicochimiques des molécules diffèrent selon les conditions. Considérant le Log D (coefficient de distribution) au pH de 7.5, il semble que l'activité anti-promastigote n'est pas liée à la lipophilie des dérivés testés car les valeurs du Log D ne changent pas que ce soit pour les molécules actives ou non

³⁰² J. C. Antoine *et al.*, *Infect. Immun.*, **1990**, *58*, 779-787.

comme le montre par exemple les dérivés **76** et **83** (Log $D_{7.5} = 5.88$ et 6.10 : Tableau 47). Il est intéressant de noter que les activités antileishmaniennes prometteuses sur les amastigotes sont en corrélation avec l'augmentation de la lipophilie comme l'indiquent les composés **72**, **73**, **76**, **82**, **91**, **92** et **83** pour lesquels le Log D est compris entre 3.91 et 5.58. Cependant, les résultats ne sont pas en accord avec cette tendance pour les composés **67**, **69**, **70**, **75** et **93**. En effet d'autres paramètres sont à prendre en compte pour expliquer plus précisément les résultats observés, notamment les profils métaboliques des composés testés. Enfin, l'expression de la cible peut différer entre les deux stades du parasite, fournissant ainsi une autre hypothèse de la variabilité des résultats.

1.2.2.5-Activités inhibitrices de kinase

Pour essayer de comprendre le mécanisme d'action, l'inhibition de l'activité PKC de *L. major* des composés **72**, **91**, **92** et **83** a été évaluée mais sans résultat positif. Ainsi, les activités anti-promastigote et anti-amastigote ne semblent pas être le résultat de l'inhibition de l'activité PKC.

L'inhibition de l'activité de LmCK1 a également été évaluée sur treize composés comme l'indique le tableau 48. En prenant en considération les premiers résultats, l'activité antileishmanienne contre les promastigotes n'est pas la conséquence de l'inhibition de LmCK1, excepté pour les dérivés **70**, **75** et **68**. De plus, la sélectivité n'a pas été observée pour le modèle mammifère correspondant (CK1 de cerveau de porc). A noter que le dérivé **68**, le plus actif sur les kinases CK1, possède une des plus basses activités anti-amastigotes sur *L. major* et il a de plus une faible lipophilie. Globalement, l'activité anti-amastigote des 2,3diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines n'est pas en corrélation avec l'inhibition de LmCK1. Il apparaît clairement qu'une cible différente est à envisager pour expliquer l'activité prometteuse de ces nouvelles molécules antileishmaniennes.

Composés	Ar	(het)Ar'	<i>L. major 1</i> promastigotes CI ₅₀ ± SEM (µM)	L. major 1 amastigotes % inhibition (µM)	CI ₅₀ (μM) L. major CK1	CI ₅₀ (μM) CK1δ/ε cerveau de porc
67	Ph	Ph	22.5±0.6	84 (10)	>10	>10
68	Ph	4-Pyridyl	6.5±1.6	32 (10)	0.30	0.25
69	Ph	(4-Me)Ph	4.0±0.4	96 (10)	>10	>10
70	Ph	(4-MeO)Ph	7.2±0.3	71 (10)	1.20	0.63
72	Ph	(4-PivO)Ph	7.0±1.0	95 (10)	>10	>10
73	Ph	(4-NO ₂)Ph	4.9±0.2	68 (10)	>10	>10
75	Ph	(4-CO ₂ Et)Ph	5.2±1.0	18 (10)	4.00	7.10
76	Ph	(3,5-Cl)Ph	7.7±0.2	79 (10)	>10	>10
82	(3-Cl)Ph	Ph	4.4±1.9	94 (10)	>10	>10
83	(3,5-Cl)Ph	Ph	39.0±1.0	71 (1)	>10	>10
91	(4-CO ₂ Et)Ph	Ph	40.0±1.1	86 (10)	>10	>10
92	(4-NO ₂)Ph	Ph	30.0±2.0	84 (10)	>10	>10
93	(4-MeO)Ph	Ph	26.6±1.5	85 (10)	>10	>10

Tableau 48

1.3-Evaluation sur les kinases humaines

1.3.1-Principe des tests réalisés sur kinases isolées

Les tests sur les kinases isolées sont réalisés par l'équipe du Dr S. Ruchaud, Chargée de Recherche, au sein de la station biologique de Roscoff (CNRS USR3151) et en collaboration avec le Dr L. Meijer, Directeur de Recherche CNRS, Manros Therapeutics, Roscoff.

Les tests, réalisés en triplicate avec le même mode opératoire que CK1, mesure le taux de phosphorylation des protéines substrats associées aux différentes kinases : l'histone H1 pour les complexes CDK1/cyclin B, CDK2/cyclin A, CDK5/p25, le peptide GS-1 pour GSK-3 et la protéine basique myéline pour DYRK1A.

1.3.2-Résultats pharmacologiques et discussion

26 Molécules ont été testées parmi les séries imidazo[1,2-*a*]pyridines et imidazo[1,2*a*]pyrazines. Ces composés ont été évalués sur les kinases CDK1, Cdk2/A, CDK5, CLK1 DYRK1A, GSK3 et CK1. Les tableaux 49 à 51 présentent les résultats obtenus.



Figure 82 : Série imidazo[1,2-a]pyridin-2-urée

Composés	R	R'	CDK1/B	CDK2/A	CDK5	DYRK1A rat	GSK3	CK1δ/ε cerveau de porc
43	CONH(4-MeO)Bn	Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
49	CONHBn	Н	>10	>10	>10	>10	>10	>10
50	CONH(4-MeO)Bn	Н	>10	>10	>10	>10	>10	>10

Tableau 49 : Evaluation en série imidazo[1,2-a]pyridin-2-urée - CI₅₀ (µM)



Figure 83 : Série 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridine

Composés	Ar	(het)Ar'	CDK1/B	CDK2/A	CDK5	DYRK1A rat		CK1 δ/ε
							GSK3	cerveau
								de porc
67	Ph	Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
71	Ph	(4-OH)Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
72	Ph	(4-PivO)Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
76	Ph	(3,5-Cl)Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
77	Ph	3-Pyridyl	>10	>10	>10	>10	>10	>10
78	Ph	5-Pyrimidyl	>10	>10	>10	>10	>10	>10
79	Ph	3-Thiényl	>10	>10	>10	>10	>10	>10
82	(3-Cl)Ph	Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
83	(3,5-Cl)Ph	Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
84	(3,5-Cl)Ph	3-Pyridyl	>10	>10	>10	>10	>10	>10
85	(2-F)Ph	Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
86	(2-F)Ph	3-Pyridyl	>10	>10	>10	>10	>10	>10
87	(4-F)Ph	Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
88	(4-F)Ph	3-Pyridyl	>10	>10	>10	>10	>10	>10
89	(4-F)Ph	(3-NO ₂)Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
92	(4-NO ₂)Ph	Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
94	(4-MeO)Ph	(3-NO ₂)Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
96	(2-MeO)Ph	Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
97	Ph	(4-AcO)Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
98	Ph	(4-NH ₂)Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10

Tableau 50 : Evaluation en série 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridine - CI₅₀ (µM)



Figure 84 : Série (imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urée

Composés	R	CDK1/B	CDK2/A	CDK5	DYRK1A rat	GSK3	CK1δ/ε cerveau de porc
108	Bn	>10	>10	>10	>10	>10	>10
113	(3-Cl)Ph	>10	>10	>10	>10	>10	>10
115	(4-MeO)Bn	>10	>10	>10	>10	>10	>10

Tableau 51 : Evaluation en série (imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)urée - CI₅₀ (μM)

D'une manière générale, au niveau des kinases testées, aucune de ces molécules ne possède d'activité inhibitrice ($CI_{50} > 10 \mu M$) malgré la diversité chimique des dérivés synthétisés. Il est donc évident que les hétérocycles de base choisis, et surtout les substitutions ne permettent pas d'obtenir les interactions adéquates avec le site actif des kinases ciblées.

V-Partie expérimentale

All reactions were carried out under argon. All reactions were monitored by TLC analysis using Merck silicagel 60F-254 thin-layer plates. Column chromatography was carried out on silicagel Merck 60 (70-230 mesh ASTM). Melting points were determined on an Electrothermal IA 9000 melting point apparatus and are uncorrected. Infrared spectra (IR) were recorded on a Paragon 1000 PC Perkin-Elmer spectrometer. ¹H and ¹³C NMR spectra were performed in DMSO-*d*₆ using a Bruker AVANCE 400 MHz spectrometer. Chemical shifts are reported as δ values in parts per million (ppm) relative to tetramethylsilane as internal standard and coupling constants (*J*) are given in hertz (Hz). The following abbreviations are used to describe peak patterns when appropriate: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet). Mass spectra were recorded using an Electrospray Ionization Method with Waters ZQ 2000 spectrometer. Elemental analyses were performed on a Thermo Scientific Elemental Analyser Flash EA 1112 and were found within ±0.4% of the theoretical values.

Ethyl (2-iminopyridin-1(2H)-yl)acetate hydrobromide (2)

Pink powder $C_9H_{13}BrN_2O_2$ Mr = 261.12 Rf = 0.20 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 241-242 °C Yield = 97%



To ethyl bromoacetate (24.7 mL, 223 mmol) was added portionwise 2-aminopyridine **1** (6.0 g, 64 mmol). After stirring for 30 min at room temperature, the resulting solid was filtered and washed with hexane to give ethyl (2-iminopyridin-1(2H)-yl)acetate hydrobromide **2** as a light pink powder (16.2 g, 97% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.65 (s, 1H, NH), 8.06 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₆[•]), 7.96 (ddd, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, H₄[•]), 7.14 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₃[•]), 6.98 (ddd, 1H, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₅[•]), 5.19 (s, 2H, H₂), 4.25 (q, 2H, ³*J* = 6.8 Hz, H_a), 1.29 (t, 3H, ³*J* = 6.8 Hz, H_b).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 166.08 (C=O), 154.84 (C₂), 143.17 (C₆), 140.64 (C₄), 115.23 (C₃), 112.91 (C₅), 62.18 (C_a), 53.88 (C₂), 14.13 (C_b).

IR (KBr), cm⁻¹: 3265 (vNH); 3044 (vC-H_{ar}); 1740 (vC=O); 1224 (vC-O).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 181.1 (100) [M+H]⁺.

(2-Iminopyridin-1(2H)-yl)acetic acid(4)

White powder $C_7H_8N_2O_2$ Mr = 152.15 Rf = 0.05 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) $Mp = 257\text{-}258 \ ^\circ\text{C}$ Yield = 71%



To chloroacetic acid (19.0 g, 201 mmol) in water (31 mL) was added triethylamine (32 mL, 232 mmol) dropwise at room temperature. After stirring for 10 min, 2-aminopyridine **1** (23.0 g, 244 mmol) was added and the resulting brown solution was warmed to 90 °C for 5 h. After cooling to room temperature, ethanol (21 mL) was added and the suspension was stirred at 5 °C for 2 h. The precipitate was collected by filtration and rinsed with cold ethanol to afford (2-iminopyridin-1(2*H*)-yl)acetic acid **4** as a white powder (26.4 g, 71% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 7.35 (d, 1H, ³*J* = 6.4 Hz, H₆[,]), 6.90 (ddd, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 6.4 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, H₄[,]), 6.42 (d, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, H₃[,]), 5.78 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*[,] = 6.4 Hz, H₅[,]), 3.32 (s, 2H, H₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 158.34 (C=O), 139.38 (C₆, C₄), 135.32 (C₂), 119.07 (C₃), 103.36 (C₅), 38.76 (C_a).

IR (KBr), cm⁻¹: 3246 (vNH); 3041 (vOH); 1701 (vC=O); 1627, 1586 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 153.0 (100) [M+H]⁺.

2-Chloroimidazo[1,2-*a*]pyridine (5)

White powder $C_7H_5ClN_2$ Mr = 152.58 Rf = 0.65 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 76-77 °C Yield = 88%



To (2-iminopyridin-1(2*H*)-yl)acetic acid **4** (23.0 g, 151 mmol) in toluene (200 mL) at reflux was added dropwise phosphorus oxychloride (42.0 mL, 453 mmol). After refluxing for 16 h and cooling to room temperature, cold water (500 mL) was added and the solution was stirred for 15 min. The layers were separated. In an ice bath, the aqueous layer was neutralized with 10% sodium hydroxide aqueous solution. The precipitate was filtered, dissolved in dichloromethane and dried over sodium sulfate. The aqueous filtrate was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (4/6) as eluent to afford 2-chloroimidazo[1,2-*a*]pyridine **5** as a white powder (20.0 g, 88% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.53 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.08 (s, 1H, H₃), 7.56 (d, 1H, ³*J* = 9.0 Hz, H₈), 7.35 (ddd, 1H, ³*J* = 9.0 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 7.02 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 143.22 (C_{8a}), 133.94 (C₂), 126.78 (C₅), 125.86 (C₇), 116.20 (C₈), 113.08 (C₆), 109.12 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3106 (vC-H_{ar}); 1509, 1484 (vC=C and vC=N); 744 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 152.9 (100) [M+H]⁺, 155.0 (40) [M+H+2]⁺.

2-Bromoimidazo[1,2-*a*]pyridine (6)

White powder $C_7H_5BrN_2$ Mr = 197.03 Rf = 0.65 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 76-77 °C Yield = 13%



To a solution of ethyl (2-iminopyridin-1(2*H*)-yl)acetate hydrobromide **2** (2.0 g, 7.7 mmol) in acetonitrile (21 mL) was added dropwise a solution of phosphorus oxybromide (3.5 g, 12 mmol) in acetonitrile (7 mL). The reaction was refluxed for 16 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate and poured into an aqueous saturated solution of sodium bicarbonate. The organic layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to afford 2-bromoimidazo[1,2-*a*]pyridine **6** as a white powder (196 mg, 13% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.54 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.13 (s, 1H, H₃), 7.58 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₈), 7.34 (ddd, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 7.00 (ddd, 1H, ³*J* = 7.4 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.38 (C_{8a}), 126.62 (C₅), 125.85 (C₇), 121.29 (C₂), 116.13 (C₈), 113.06 (C₆), 112.26 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 2924 (vC-H_{ar}); 1500, 1465 (vC=C and vC=N); 751 (vC-Br).

MS (ESI), *m/z* (%): 198.0 (100) [M+H]⁺, 200.0 (95) [M+H+2]⁺.

2-Chloro-3-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine (7)

Yellow powder $C_7H_4ClN_3O_2$ Mr = 197.58 Rf = 0.70 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 175-176 °C Yield = 81%



2-Chloroimidazo[1,2-*a*]pyridine **5** (18.0 g, 118 mmol) was slowly added to concentrated sulfuric acid (178 mL) cooled to - 5 °C without the temperature rising above 5 °C. To the solution was added nitric acid (18 mL), also without allowing the temperature to rise above 5 °C. At the end of the addition, the mixture was allowed to reach room temperature and then stirred for 3.5 h. The mixture was poured onto ice and the formed precipitate was collected by filtration and dissolved in dichloromethane. The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum to give 2-chloro-3-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine **7** as a yellow powder (18.9 g, 81% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.39 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 7.2 Hz, H₅), 7.97-7.90 (m, 2H, H₇, H₈), 7.57 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 8.4 Hz, ${}^{3}J$ = 7.2 Hz, ${}^{4}J$ = 1.6 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 143.15 (C_{8a}), 138.67 (C₃), 132.84 (C₇), 128.66 (C₅), 127.50 (C₂), 117.75 (C₆), 117.38 (C₈).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3114 (vC-H_{ar}); 1507, 1450 (vC=C and vC=N); 1477 ($v_{as}NO_2$); 1347 ($v_{sy}NO_2$); 768 (vC-N); 749 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 197.9 (100) [M+H]⁺, 199.9 (35) [M+H+2]⁺.

3-Nitro-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (8)

Yellow powder $C_{13}H_9N_3O_2$ Mr = 239.23 Rf = 0.65 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 169-170 °C Yield = 90%



To a solution of 2-chloro-3-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine **7** (1.5 g, 7.6 mmol) in a mixture dimethoxyethane–water (67.5 mL, 2:1) was added phenylboronic acid (1.9 g, 15 mmol), sodium carbonate (3.2 g, 30 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (5% mol, 439 mg). The suspension was then purged with argon through the septum inlet for 5 min and heated at reflux for 16 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with dichloromethane. Water was added and the organic layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane as eluent to afford 3-nitro-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **8** as a yellow powder (1.6 g, 90% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 9.47 (d, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, H₅), 8.01 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.90-7.86 (m, 3H, H₇, H_a), 7.58-7.55 (m, 4H, H₆, H_b, H_c).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 149.32 (C_{8a}), 144.88 (C₃), 132.46 (C), 132.06 (C₇), 130.04 (2C_a), 129.97 (C_c), 129.03 (C), 128.61 (C₅), 128.08 (2C_b), 117.98 (C₈), 117.29 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3031 (vC-H_{ar}); 1479 (v_{as}NO₂); 1328 (v_{sy}NO₂); 752 (vC-N).

MS (ESI), *m/z* (%): 240.0 (100) [M+H]⁺.

2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine (9)

Brown powder $C_{13}H_{11}N_3$ Mr = 209.25 Rf = 0.30 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) $Mp = 206-207 \ ^{\circ}C$ Yield = 96%



Method A: To a solution of hydrochloric acid 37% (1.0 mL) cooled to 0 °C was added tin (1.5 g, 12 mmol), then 3-nitro-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **8** (1.5 g, 6.3 mmol) was added portionwise without the temperature rising above 0 °C. The reaction mixture was allowed to stand at room temperature and stirred for 3 h. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium bicarbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to give 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** as a brown powder (1.2 g, 94% yield).

Method B: To a solution of hydrobromic acid 48% (4.3 mL) cooled to 0 °C was added tin (1.5 g, 12 mmol), then 3-nitro-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **8** (1.5 g, 6.3 mmol) was added portionwise without the temperature rising above 0 °C. The reaction mixture was allowed to stand at room temperature and stirred for 3 h. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium bicarbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to give 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** as a brown powder (1.1 g, 86% yield).

Method C: Using the H-Cube[®] system in controlled mode, 3-nitro-2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **8** (1.5 g, 6.3 mmol) was dissolved in a mixture ethanol-tetrahydrofuran (163 mL, 9:1) and passed through a cartridge of Raney nickel at 40 °C with a flow rate of 0.8 mL/min at 10 bars. Afterwards, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was

purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to give 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amine **9** as a brown powder (1.3 g, 96% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.27 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 8.08 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_a), 7.47-7.43 (m, 3H, H₈, H_b), 7.27 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.2$ Hz, H_c), 7.09 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₇), 6.87 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆), 5.21 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 138.94 (C_{8a}), 135.35 (C₂), 128.47 (2C_b), 127.48 (C), 126.63 (C), 126.33 (2C_a), 126.05 (C_c), 122.68 (C₅), 122.08 (C₇), 116.72 (C₈), 111.06 (C₆).

IR (**KBr**), cm⁻¹: 3250, 3145 (νNH₂); 1625 (δNH₂); 1562, 1492 (νC=C and νC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 210.1 (100) [M+H]⁺.

General procedure for the synthesis of amides 10-11

To a solution of 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** (100 mg, 0.48 mmol, 1 equiv.) in tetrahydrofuran (25 mL) was added triethylamine (66 μ L, 0.48 mmol, 1 equiv.) and acyl chloride (0.48 mmol, 1 equiv.). The reaction mixture was purged with argon through the septum inlet for 5 min. After stirring for 48 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium bicarbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent.

N-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)acetamide (10)

Beige powder $C_{15}H_{13}N_3O$ Mr = 251.28 Rf = 0.10 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) $Mp = 215-216 \ ^{\circ}C$ Yield = 62%



Method A: Compound was obtained following the general procedure and using acetyl chloride (34 μ L, 0.48 mmol, 1 equiv.). Purification of the crude product afforded *N*-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)acetamide **10** as a beige powder (74 mg, 62% yield).

Method B: To a solution of 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** (100 mg, 0.48 mmol) in dichloromethane (56 mL) was added acetyl chloride (102 μ L, 1.4 mmol). After stirring for 32 h at 40 °C, the solvent was removed under reduced pressure. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium carbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to give *N*-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)acetamide **10** as a beige powder (41 mg, 34% yield).

Method C: To a solution of 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** (100 mg, 0.48 mmol) in toluene (25 mL) was added acetic anhydride (99 μ L, 1.1 mmol). After stirring for 16 h at 110 °C, the reaction mixture was poured onto ice and toluene was removed under reduced pressure. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium carbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to give *N*-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)acetamide **10** as a beige powder (78 mg, 65% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 10.20 (s, 1H, NH), 8.11 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.01 (d, 2H, ³*J* = 7.4 Hz, H_a), 7.64 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.50 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 7.4 Hz, H_b), 7.40-7.32 (m, 2H, H_c, H₇), 6.98 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆), 2.26 (s, 3H, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 170.55 (C=O), 142.03 (C), 137.36 (C), 133.73 (C), 128.71 (2C_b), 127.79 (C_c), 126.82 (2C_a), 125.23 (C₇), 124.01 (C₅), 117.02 (C₈), 115.81 (C), 112.18 (C₆), 22.86 (C_d).

IR (KBr), cm⁻¹: 3213 (vNH); 2925 (vC-H_{ar}); 1694 (vC=O); 1583, 1499 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 252.1 (100) [M+H]⁺.

N-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)benzamide (11)

Yellow powder $C_{20}H_{15}N_3O$ Mr = 313.35 Rf = 0.23 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 212-213 °C Yield = 43%



Compound was obtained following the general procedure and using benzoyl chloride (56 μ L, 0.48 mmol, 1 equiv.). Purification of the crude product afforded *N*-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)benzamide **11** as a yellow powder (64 mg, 43% yield)

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆), δ **ppm:** 10.75 (s, 1H, NH), 8.18-8.16 (m, 3H, H₅, H_d), 8.03 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 7.4 Hz, H_a), 7.75-7.63 (m, 4H, H₈, H_e, H_f), 7.48 (dd, 2H, ${}^{3}J$ = ${}^{3}J'$ = 7.4 Hz, H_b), 7.40-7.35 (m, 2H, H₇, H_c), 6.99 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 8.0 Hz, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, ${}^{4}J$ = 1.2 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 166.88 (C=O), 142.27 (C), 138.02 (C), 133.76 (C), 133.15 (C), 132.56 (C_f), 128.87 (2C_e), 128.74 (2C_b), 128.18 (2C_d), 127.87 (C_c), 126.81 (2C_a), 125.40 (C₇), 123.96 (C₅), 117.11 (C₈), 115.59 (C), 112.43 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3221 (vNH); 2925 (vC-H_{ar}); 1650 (vC=O); 1563, 1517 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 314.0 (100) [M+H]⁺.

General procedure for the synthesis of arylamines 12-15

To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** (100 mg, 0.48 mmol, 1 equiv.), (hetero)aryl halide (0.48 mmol, 1 equiv.), $Pd_2(dba)_3$ (22 mg, 0.02 mmol, 0.04 equiv.), BINAP (45 mg, 0.07 mmol, 0.15 equiv.) and sodium *tert*-butoxide (46 mg, 0.48 mmol, 1 equiv.) in toluene (3.0 mL). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was then heated at 110 °C for 4.5 to 20 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted, washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether as eluent.

N-2-Diphenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine (12)

Beige powder $C_{19}H_{15}N_3$ Mr = 285.34 Rf = 0.70 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 223-224 °C Yield = 70%



Compound was obtained following the general procedure, using bromobenzene (50 μ L, 0.48 mmol, 1 equiv.) and heating for 4.5 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (2/8) as eluent to afford *N*,2-diphenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **12** as a beige powder (96 mg, 70% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.28 (s, 1H, NH), 8.09 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, H_a), 7.98 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.67 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₈), 7.42 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.4$ Hz, H_b), 7.36-7.30 (m, 2H, H₇, H_c), 7.17 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.6$ Hz, H_e), 6.95 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 6.76 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.6$ Hz, H_f), 6.54 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 145.75 (C), 141.95 (C), 137.62 (C), 133.88 (C), 129.71 (2C_e), 128.61 (2C_b), 127.66 (C_c), 126.62 (2C_a), 125.28 (C₇), 123.24 (C₅), 119.11 (C), 118.68 (C_f), 117.32 (C₈), 113.06 (2C_d), 112.42 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3165 (vNH); 2920 (vC-H_{ar}); 1562, 1495 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 286.1 (100) [M+H]⁺.

2-Phenyl-*N*-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine (13)

Beige powder $C_{18}H_{14}N_4$ Mr = 286.33 Rf = 0.19 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 234-235 °C Yield = 29%



Compound was obtained following the general procedure, using 3-bromopyridine (46 μ L, 0.48 mmol, 1 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to afford 2-phenyl-*N*-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **13** as a beige powder (40 mg, 29% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.54 (s, 1H, NH), 8.07-8.04 (m, 4H, H₅, H_a, H_d), 7.99 (d, 1H, ${}^{3}J = 4.8$ Hz, H_g), 7.68 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₈), 7.44 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.2$ Hz, H_b), 7.39-7.31 (m, 2H, H₇, H_c), 7.15 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.2$ Hz, ${}^{3}J = 4.8$ Hz, H_f), 6.97 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 6.74 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.2$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H_e).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 142.13 (C), 142.02 (C), 139.99 (C_g), 137.69 (C), 136.15 (C_d), 133.67 (C), 128.70 (2C_b), 127.81 (C_c), 126.58 (2C_a), 125.48 (C₇), 124.35 (C_f), 123.24 (C₅), 119.21 (C_e), 117.97 (C), 117.40 (C₈), 112.64 (C₆).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3156 (vNH); 2920 (vC-H_{ar}); 1564, 1470 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 287.2 (100) [M+H]⁺.

N-(4-Chlorophenyl)-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine (14)

Yellow powder $C_{19}H_{14}ClN_3$ Mr = 319.79 Rf = 0.68 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 190-191 °C Yield = 31%



Compound was obtained following the general procedure, using 2-phenylimidazo[1,2*a*]pyridin-3-amine **9** (100 mg, 0.48 mmol, 1 equiv.), 1-chloro-4-iodobenzene (228 mg, 0.96 mmol, 2 equiv.), $Pd_2(dba)_3$ (44 mg, 0.05 mmol, 0.1 equiv.), BINAP (90 mg, 0.15 mmol, 0.3 equiv.), sodium *tert*-butoxide (92 mg, 0.96 mmol, 2 equiv.) and heating for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (2/8) as eluent to afford *N*-(4-chlorophenyl)-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **14** as a yellow powder (47 mg, 31% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.45 (s, 1H, NH), 8.06 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, H_a), 7.98 (d, 1H, ${}^{3}J = 7.0$ Hz, H₅), 7.67 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₈), 7.43 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.6$ Hz, H_b), 7.40-7.31 (m, 2H, H₇, H_c), 7.21 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H_e), 6.97 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.0$ Hz, H₆), 6.54 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.77 (C), 142.06 (C), 137.68 (C), 133.73 (C), 129.49 (2C_e), 128.67 (2C_b), 127.76 (C_c), 126.58 (2C_a), 125.42 (C₇), 123.20 (C₅), 122.13 (C-Cl), 118.58 (C), 117.37 (C₈), 114.63 (2C_d), 112.57 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3165 (vNH); 2920 (vC-H_{ar}); 1564, 1491 (vC=C and vC=N); 1092 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 320.1 (100) [M+H]⁺, 322.1 (35) [M+H+2]⁺.

N-(4-Nitrophenyl)-2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-amine (15)

Yellow powder $C_{19}H_{14}N_4O_2$ Mr = 330.34 Rf = 0.44 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 243-244 °C Yield = 66%



Compound was obtained following the general procedure, using 1-bromo-4-nitrobenzene (97 mg, 0.48 mmol, 1 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to afford N-(4-nitrophenyl)-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **15** as a yellow powder (104 mg, 66% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.44 (s, 1H, NH), 8.12 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H_e), 8.06-8.02 (m, 3H, H₅, H_a), 7.72 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H₈), 7.45 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.2$ Hz, H_b), 7.42-7.32 (m, 2H, H₇, H_c), 7.00 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 6.71-6.69 (m, 2H, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 152.27 (C), 142.40 (C), 139.10 (C), 137.94 (C), 133.36 (C), 128.80 (2C_b), 128.04 (C_c), 126.60 (2C_a, 2C_e), 125.82 (C₇), 123.24 (C₅), 117.49 (2C_d), 117.48 (C₈), 116.81 (C), 112.96 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3150 (vNH); 2922 (vC-H_{ar}); 1562, 1479 (vC=C and vC=N); 1501 (v_{as}NO₂); 1329 (v_{sv}NO₂); 1113 (vC-N).

MS (ESI), *m/z* (%): 331.1 (100) [M+H]⁺.
General procedure for the synthesis of ureas 16-21

To a solution of 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **9** (100 mg, 0.48 mmol, 1 equiv.) in dimethylformamide (2 mL) was added isocyanate (0.96 mmol, 2 equiv.). The suspension was heated at 80 °C for 16 to 24 h. After cooling, the solvent was removed under reduced pressure and the crude materiel was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether as eluent.

1-Ethyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)urea (16)

Beige powder $C_{16}H_{16}N_4O$ Mr = 280.32 Rf = 0.32 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 190-191 °C Yield = 55%



Compound was obtained following the general procedure, using ethyl isocyanate (75 μ L, 0.96 mmol, 2 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (4/6) as eluent to afford 1-ethyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urea **16** as a beige powder (74 mg, 55% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.32-8.29 (m, 2H, NH), 8.05 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.85 (d, 2H, ³*J* = 7.4 Hz, H_a), 7.70 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.49 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 7.4 Hz, H_b), 7.41-7.36 (m, 2H, H₇, H_c), 6.99 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆), 3.18-2.99 (m, 5H, H_d, H_e).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 154.30 (C=O), 143.10 (C), 139.37 (C), 133.33 (C), 128.82 (2C_b), 128.13 (C_c), 126.26 (2C_a), 125.80 (C₅), 123.30 (C₇), 117.31 (C₈), 114.65 (C), 112.85 (C₆), 35.03 (C_d), 14.96 (C_e).

IR (**KBr**), cm⁻¹: 3254 (vNH); 2970 (vC-H_{ar}); 1722 (vC=O); 1634 (δ C-N-H); 1501, 1485 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 281.1 (100) [M+H]⁺.

1-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)-3-propan-2-ylurea (17)

Beige powder $C_{17}H_{18}N_4O$ Mr = 294.35 Rf = 0.13 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 196-197 °C Yield = 41%



Compound was obtained following the general procedure, using isopropyl isocyanate (141 μ L, 1.45 mmol, 3 equiv.) and heating for 24 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (4/6) as eluent to afford 1-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)-3-propan-2-ylurea **17** as a beige powder (58 mg, 41% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.14 (s, 1H, NH), 8.03-8.01 (m, 3H, H₅, H_a), 7.61 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H₈), 7.49 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.2$ Hz, H_b), 7.38-7.30 (m, 2H, H₇, H_c), 6.99 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 6.55 (d, 1H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, NH), 3.87-3.79 (m, 1H, H_d), 1.14 (d, 6H, ${}^{3}J = 6.4$ Hz, H_e).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 155.57 (C=O), 141.79 (C), 137.73 (C), 134.05 (C), 128.56 (2C_b), 127.62 (C_c), 126.80 (2C_a), 125.02 (C₇), 123.51 (C₅), 116.96 (C₈), 116.88 (C), 112.12 (C₆), 41.65 (C_d), 23.11 (2C_e).

IR (KBr), cm⁻¹: 3294 (vNH); 2957 (vC-H_{ar}); 1632 (vC=O); 1557, 1531 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 295.1 (100) [M+H]⁺.

1-Butyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)urea (18)

Beige powder $C_{18}H_{20}N_4O$ Mr = 308.38 Rf = 0.15 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 209-210 °C Yield = 16%



Compound was obtained following the general procedure, using butyl isocyanate (106 μ L, 0.96 mmol, 2 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent. Trituration with diisopropylic ether afforded 1-butyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urea **18** as a beige powder (24 mg, 16% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.24 (s, 1H, NH), 8.04-8.02 (m, 3H, H₅, H_a), 7.61 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.48 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 7.2 Hz, H_b), 7.39-7.30 (m, 2H, H₇, H_c), 6.98 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆), 6.64 (s, 1H, NH), 3.12-3.10 (m, 2H, H_d), 1.44-1.31 (m, 4H, H_e, H_f), 0.91 (t, 3H, ³*J* = 6.8 Hz, H_g).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 156.26 (C=O), 141.85 (C), 137.80 (C), 134.03 (C), 128.53 (2C_b), 127.62 (C_c), 126.79 (2C_a), 125.03 (C₅), 123.44 (C₇), 116.98 (C₈), 116.78 (C), 112.12 (C₆), 32.04 (C_d), 19.57 (C_e, C_f), 13.88 (C_g).

IR (KBr), cm⁻¹: 3292 (vNH); 2957 (vC-H_{ar}); 1636 (vC=O); 1555, 1503 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 309.1 (100) [M+H]⁺.

1-Cyclohexyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)urea (19)

Orange powder $C_{20}H_{22}N_4O$ Mr = 334.41 Rf = 0.28 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) $Mp = 172-173 \ ^{\circ}C$ Yield = 45%



Compound was obtained following the general procedure, using cyclohexyl isocyanate (122 μ L, 0.96 mmol, 2 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent. Trituration with diisopropylic ether afforded 1-cyclohexyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urea **19** as an orange powder (72 mg, 45% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.23 (s, 2H, NH), 8.01 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.82 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, H_a), 7.69 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H₈), 7.48 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.4$ Hz, H_b), 7.40-7.36 (m, 2H, H₇, H_c), 6.98 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 3.53-3.51 (m, 1H, H_d), 1.77-1.52 (m, 10H, H_e, H_f, H_g).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 153.73 (C=O), 143.12 (C), 139.49 (C), 133.41 (C), 128.76 (2C_b), 128.07 (C_c), 126.25 (2C_a), 125.67 (C₇), 123.34 (C₅), 117.30 (C₈), 114.65 (C), 112.72 (C₆), 49.28 (C_d), 33.52 (2C_e), 32.19 (C_g), 24.63 (2C_f).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3316 (νNH); 2928 (νC-H_{ar}); 1722 (νC=O); 1624 (δC-N-H); 1495, 1485 (νC=C and νC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 335.2 (100) [M+H]⁺.

1-Phenyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urea (20)

Beige powder $C_{20}H_{16}N_4O$ Mr = 328.37 Rf = 0.21 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 226-227 °C Yield = 70%



Compound was obtained following the general procedure, using phenyl isocyanate (156 μ L, 1.45 mmol, 3 equiv.) and heating for 24 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to afford 1-phenyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urea **20** as a beige powder (110 mg, 70% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 9.28 (s, 1H, NH), 8.51 (s, 1H, NH), 8.18 (d, 1H, ³*J* = 6.4 Hz, H₅), 8.08 (d, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, H_a), 7.64 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.54-7.48 (m, 4H, H_b, H_d), 7.39-7.29 (m, 4H, H₇, H_c, H_e), 7.04-6.98 (m, 2H, H₆, H_f).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 153.78 (C=O), 141.99 (C), 139.83 (C), 138.12 (C), 133.93 (C), 128.89 (2C_e), 128.68 (2C_b), 127.76 (C_c), 126.83 (2C_a), 125.23 (C₇), 123.78 (C₅), 122.30 (C_f), 118.70 (2C_d), 117.01 (C₈), 116.10 (C), 112.25 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3295 (vNH); 2925 (vC-H_{ar}); 1642 (vC=O); 1548, 1501 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 329.1 (100) [M+H]⁺.

1-Benzyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urea (21)

Beige powder $C_{21}H_{18}N_4O$ Mr = 342.39 Rf = 0.21 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 222-223 °C Yield = 54%



Compound was obtained following the general procedure, using benzyl isocyanate (119 μ L, 0.96 mmol, 2 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent. Trituration with diisopropylic ether afforded 1-benzyl-3-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)urea **21** as a beige powder (88 mg, 54% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.44 (s, 1H, NH), 8.08-8.04 (m, 3H, H₅, H_a), 7.62 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₈), 7.48 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 7.6 Hz, H_b), 7.40-7.23 (m, 8H, H₇, H_c, H_e, H_f, H_g, NH), 6.99 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆), 4.33 (s, 2H, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 156.55 (C=O), 141.97 (C), 140.60 (C), 138.02 (C), 133.98 (C), 128.58 (2C_b), 128.39 (2C_f), 127.70 (C_c), 127.02 (2C_e), 126.87 (2C_a), 126.80 (C_g), 125.15 (C₇), 123.41 (C₅), 117.04 (C₈), 116.55 (C), 112.24 (C₆), 43.22 (C_d).

IR (KBr), cm⁻¹: 3199 (vNH); 3030 (vC-H_{ar}); 1651 (vC=O); 1530, 1495 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 343.1 (100) [M+H]⁺.

2-Chloroimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine (22)

Yellow powder $C_7H_6ClN_3$ Mr = 167.60 Rf = 0.53 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 137-138 °C Yield = 69%



To a solution of hydrobromic acid 48% (1.3 mL) cooled to 0 °C was added tin (480 mg, 4.0 mmol), then 2-chloro-3-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine **7** (400 mg, 2.0 mmol) was added portionwise without the temperature rising above 0 °C. The reaction mixture was allowed to stand at room temperature and stirred for 4 h. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium bicarbonate solution. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to give 2-chloroimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **22** as a beige powder (236 mg, 69% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.15 (d, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, H₅), 7.39 (d, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, H₈), 7.13 (ddd, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 7.2 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 6.94 (ddd, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₆), 5.07 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 136.92 (C_{8a}), 124.87 (C₂), 122.63 (C₅), 122.31 (C₇), 118.12 (C₃), 116.17 (C₈), 111.73 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3358, 3271 (vNH₂); 2922 (vC-H_{ar}); 1574, 1501 (vC=C and vC=N); 749 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 168.0 (100) [M+H]⁺, 170.0 (35) [M+H+2]⁺.

Tert-butyl (2-chloroimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)carbamate (23)

White powder $C_{12}H_{14}ClN_{3}O_{2}$ Mr = 267.71 Rf = 0.71 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 175-176 °C Yield = 30%



To a solution of 2-chloroimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-amine **22** (400 mg, 2.4 mmol) in dry tetrahydrofuran (16 mL) cooled to 0 °C was added di-tert-butyl dicarbonate (1.3 g, 6.0 mmol) and 4-dimethylaminopyridine (15 mg, 0.1 mmol). After stirring for 3.5 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. Water was added and the aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (3/7) as eluent to give *tert*-butyl (2-chloroimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)carbamate **23** as a white powder (192 mg, 30% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.25 (s, 1H, NH), 8.09 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.58 (d, 1H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, H₈), 7.41 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.6$ Hz, H₇), 7.10 (dd, 1H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₆), 1.52 (s, 9H, H_a).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 153.99 (C=O), 140.29 (C_{8a}), 126.80 (C₂), 125.84 (C₅), 123.49 (C₇), 116.61 (C₈), 114.80 (C₃), 113.28 (C₆), 80.42 (C_b), 28.10 (3C_a).

IR (KBr), cm⁻¹: 3119 (vNH); 2920 (vC-H_{ar}); 1724 (vC=O); 1537, 1495 (vC=C and vC=N); 746 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 268.1 (100) [M+H]⁺, 270.0 (38) [M+H+2]⁺.

4-Methyl-N-(pyridin-2-yl)benzenesulfonamide (25)

White powder $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ Mr = 248.30 Rf = 0.77 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 212-213 °C Yield = 63%



To a solution of 2-aminopyridine **1** (20.0 g, 212 mmol) in dry pyridine (165 mL) was added p-toluenesulfonyl chloride (44.6 g, 234 mmol). The suspension was then heated at 90 °C for 18 h. Solvent was removed under reduced pressure and water (500 mL) was added. After stirring for 1 h at room temperature, the precipitate was collected by filtration, washed with water and dried to give 4-methyl-*N*-(pyridin-2-yl)benzenesulfonamide **25** as a white powder (33.1 g, 63% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.05 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₃), 7.79 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, H_a), 7.74 (ddd, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, H₅), 7.37 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, H_b), 7.17 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₆), 6.90 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₄), 2.37 (s, 3H, H_c).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 153.17 (C), 143.84 (C), 142.65 (C₃), 140.35 (C₅), 139.09 (C), 129.57 (2C_b), 126.80 (2C_a), 115.97 (C₆), 113.71 (C₄), 21.12 (C_c).

IR (KBr), cm⁻¹: 1138 (v_{as}SO₂); 1086 (v_{sy}SO₂); 766 (vS-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 248.9 (100) [M+H]⁺.

2-Bromo-2-phenylacetamide (28)

White powder C_8H_8BrNO Mr = 214.06 Rf = 0.68 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 143-144 °C Yield = 52%



Phenylacetic acid 26 (10.0 g, 73 mmol), benzoyl peroxide (71.2 mg, 0.29 mmol) and Nbromosuccinimide (13.1 g, 73 mmol) were combined in carbon tetrachloride (280 mL) under argon and stirred under UV radiation for 5 h. The reaction was cooled to room temperature and the succinimide was filtered away. The solvent was removed under reduced pressure to afford 2-bromo-2-phenylacetic acid 27 as a yellow oil. Crude 2-bromo-2-phenylacetic acid 27 (15.6 g) in 130 mL of dry dichloromethane and three drops of N,N-dimethylformamide were cooled in an ice bath under argon. Oxalyl chloride (12.5 mL, 146 mmol) in 20 mL of dry dichloromethane was added dropwise over 25 min. After stirring at room temperature for 3 h, the solvents were removed under reduced pressure and then azeotroped with toluene. The remaining oil was dissolved in a mixture hexane-toluene (480 mL, 1:1) and stirred vigorously. Ammonia gas was then blown through a gas dispersion tube over the top of this solution for 1 h. The resulting solid was filtered and the solvents were removed under reduced pressure. The solid was dissolved in ethyl acetate/water and the organic layer was washed successively with 1 N hydrochloric acid aqueous solution, a saturated sodium bicarbonate aqueous solution and brine. The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The resulting solid was recrystallized from ethyl acetate/hexane (1/1) to afford 2-bromo-2-phenylacetamide 28 as a white powder (8.2 g, 52% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 7.86 (s, 1H, NH₂), 7.59 (d, 2H, ³*J* = 6.4 Hz, H_a), 7.47 (s, 1H, NH₂), 7.43-7.35 (m, 3H, H_b, H_c), 5.60 (s, 1H, H₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 168.77 (C=O), 137.71 (C_d), 128.86 (C_c), 128.72 (2C_a), 128.64 (2C_b), 49.71 (C₂).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3389, 3306 (νNH₂); 3181 (νC-H_{ar}); 1659 (νC=O); 1612 (δNH₂); 768 (νC-Br).

MS (ESI), *m/z* (%): 215.0 (100) [M+H]⁺.

2-[2-{[(4-Methylphenyl)sulfonyl]imino}pyridin-1(2*H*)-yl]-2phenylacetamide (29)

White powder $C_{20}H_{19}N_3O_3S$ Mr = 381.45 Rf = 0.20 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 180-181 °C Yield = 75%



To a solution of 4-methyl-*N*-(pyridin-2-yl)benzenesulfonamide **25** (100 mg, 0.40 mmol) in *N*,*N*-dimethylformamide (1.3 mL) was added *N*,*N*-diisopropylethylamine (133 μ L, 0.81 mmol) and 2-bromo-2-phenylacetamide **28** (172 mg, 0.81 mmol). The suspension was heated at 100 °C for 4.5 h. Water (24 mL) was added and after stirring for 1 h at room temperature, the precipitate was collected by filtration. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (5/5) as eluent to afford 2-[2-{[(4-methylphenyl)sulfonyl]imino}pyridin-1(2*H*)-yl]-2-phenylacetamide **29** as a white powder (115 mg, 75% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.18 (s, 1H, NH₂), 7.77 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, H_a), 7.74 (s, 1H, NH₂), 7.71 (ddd, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, H₅), 7.55-7.49 (m, 3H, H_e, H_f), 7.47-7.42 (m, 2H, H₃, H₆), 7.38 (dd, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, H_d), 7.34 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, H_b), 7.06 (s, 1H, H₂), 6.67 (ddd, 1H, ³*J* = 7.4 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₄), 2.39 (s, 3H, H_c).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 168.28 (C=O), 155.32 (C₁), 141.52 (C), 141.23 (C), 140.97 (C₅), 139.17 (C₃), 134.68 (C), 129.74 (2C_d), 129.55 (2C_e), 129.42 (C_f), 129.34 (2C_b), 126.17 (2C_a), 115.96 (C₆), 110.81 (C₄), 64.04 (C₂), 21.08 (C_c).

IR (KBr), cm⁻¹: 3404, 3300 (vNH₂); 1692 (vC=O); 1626 (δ NH₂); 1140 (ν _{as}SO₂); 1084 (ν _{sy}SO₂).

MS (ESI), *m/z* (%): 382.1 (100) [M+H]⁺.

3-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine (31)

Brown powder $C_{13}H_{11}N_3$ Mr = 209.25 Rf = 0.26 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 79-80 °C Yield = 80%



Method A: To a solution of 2-[2-{[(4-Methylphenyl)sulfonyl]imino}pyridin-1(2*H*)-yl]-2phenylacetamide **29** (4.5 g, 11.8 mmol) in dry dichloromethane (72 mL) was added trifluoroacetic anhydride (41.1 mL, 295 mmol). After stirring for 40 min at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The reaction mixture was diluted with ethyl acetate. The organic layer was washed successively with a saturated sodium bicarbonate aqueous solution and brine and then dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The product 2,2,2-trifluoro-*N*-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)acetamide **30** was used without further purification and was dissolved in a mixture methanol–*N*,*N*diisopropylethylamine (180 mL, 1:1). The suspension was then purged with argon and heated at reflux for 48 h. Solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent. Trituration with diisopropylic ether afforded 3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **31** as a brown powder (2.0 g, 80% yield).

Method B: 4 M hydrogen chloride in 1,4-dioxane (7.0 mL) was added to *tert*-butyl (3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)carbamate **36** (1.0 g, 3.2 mmol). After stirring for 1 h at room temperature, solvent was removed under reduced pressure. Then the reaction mixture was neutralized with 1 M sodium hydroxide aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent. Trituration with diisopropylic ether afforded 3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **31** as a brown powder (396 mg, 59% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.34 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, H₅), 7.62-7.53 (m, 4H, H_a, H_b), 7.37-7.31 (m, 2H, H₈, H_c), 7.14 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 8.4 Hz, ${}^{3}J$ = 7.4 Hz, ${}^{4}J$ = 1.2 Hz, H₇), 6.79 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 7.4 Hz, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, ${}^{4}J$ = 1.2 Hz, H₆), 5.19 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 146.93 (C_{8a}), 138.18 (C), 129.33 (2C_a), 128.63 (2C_b), 127.34 (C_c), 126.46 (C), 123.13 (C₇), 122.08 (C₅), 119.04 (C₈), 114.20 (C), 111.28 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3365, 3250 (νNH₂); 3059 (νC-H_{ar}); 1649 (δNH₂).

MS (ESI), *m/z* (%): 210.0 (100) [M+H]⁺.

Ethyl imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate hydrobromide (32)

White powder $C_{10}H_{11}BrN_2O_2$ Mr = 271.11 Rf = 0.26 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 175-176 °C Yield = 92%



To a solution of 2-aminopyridine **1** (10.0 g, 106 mmol) in dry tetrahydrofuran (130 mL) was added ethyl bromopyruvate (16.7 mL, 133 mmol). After 4 h of refluxing, the precipitate was collected by filtration and washed with diethyl ether. A solution of the crude product in absolute ethanol (400 mL) was refluxed for 7 h. The solvent was removed under reduced pressure. The resulting solid was washed with ethyl acetate and diisopropyl ether to give ethyl imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate hydrobromide **32** as white powder (26.6 g, 92% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.61-8.59 (m, 2H, H₃, H₅), 7.66 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 8.4 Hz, H₈), 7.38 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 8.4 Hz, ${}^{3}J$ = 7.0 Hz, ${}^{4}J$ = 1.2 Hz, H₇), 7.04 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 7.0 Hz, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz, H₆), 4.35 (q, 2H, ${}^{3}J$ = 7.2 Hz, H_a), 1.35 (t, 3H, ${}^{3}J$ = 7.2 Hz, H_b).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 162.86 (C=O), 144.68 (C_{8a}), 135.66 (C₂), 127.75 (C₇), 126.74 (C₅), 118.14 (C₈), 117.99 (C₆), 113.73 (C₃), 60.35 (C_a), 14.41 (C_b).

IR (KBr), cm⁻¹: 3105 (vC-H_{ar}); 1721 (vC=O); 1269 (v_{as}C-O); 1221 (v_{sy}C-O).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 191.0 (100) [M+H]⁺.

Ethyl 3-iodoimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate (33)

Yellow powder $C_{10}H_9IN_2O_2$ Mr = 316.10 Rf = 0.47 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 135-136 °C Yield = 94%



Method A: To a solution of ethyl imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate hydrobromide **32** (7.0 g, 25.8 mmol) in dry pyridine (28 mL) was added iodine (9.8 g, 38.7 mmol). After 5 h at 50 °C, the reaction mixture was diluted with dichloromethane and the organic layer was washed with water and then dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (4/6) as eluent to give ethyl 3-iodoimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate **33** as a white powder (7.1 g, 87% yield).

Method B: To a solution of ethyl imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate hydrobromide **32** (7.0 g, 25.8 mmol) in dry acetonitrile (63 mL) was added *N*-iodosuccinimide (7.6 g, 33.6 mmol). After stirring for 4 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with dichloromethane and the organic layer was washed successively with 10% sodium hydroxide aqueous solution, sodium thiosulfate and water and then dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (4/6) as eluent to give ethyl 3-iodoimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate **33** as a white powder (7.7 g, 94% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.49 (d, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, H₅), 7.70 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.48 (dd, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, ³*J* = 7.2 Hz, H₇), 7.18 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 7.2 Hz, H₆), 4.37 (q, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, H_a), 1.39 (t, 3H, ³*J* = 7.2 Hz, H_b).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 162.49 (C=O), 147.03 (C_{8a}), 137.75 (C₂), 127.89 (C₇), 127.58 (C₅), 118.41 (C₈), 115.07 (C₆), 72.91 (C₃), 60.65 (C_a), 14.35 (C_b).

IR (KBr), cm⁻¹: 2980 (vC-H_{ar}); 1707 (vC=O); 1273 (v_{as}C-O); 1203 (v_{sy}C-O); 656, 635 (vC-I).

MS (ESI), *m/z* (%): 316.9 (100) [M+H]⁺.

Ethyl 3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate (34)

Yellow powder $C_{16}H_{14}N_2O_2$ Mr = 266.29 Rf = 0.42 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 104-105 °C Yield = 86%



Method A: To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added ethyl 3-iodoimidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylate **33** (100 mg, 0.32 mmol), phenylboronic acid (42 mg, 0.35 mmol), sodium carbonate (74 mg, 0.70 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (5% mol, 18 mg) in a mixture 1,4-dioxane–water (3.0 mL, 2:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was then heated at 100 °C for 30 min. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate, filtered through Celite® and washed with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to afford ethyl 3-phenylimidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylate **34** as a beige powder (72 mg, 86% yield).

Method B: To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added ethyl imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate hydrobromide **32** (100 mg, 0.37 mmol), bromobenzene (39 μ L, 0.37 mmol), palladium(II) acetate (1 mg, 2% mol), tricyclohexylphosphine tetrafluoroborate (6 mg, 4% mol), pivalic acid (12 mg, 0.11 mmol) and potassium carbonate (128 mg, 0.92 mmol) in dimethylacetamide (3.3 mL). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 10 min. The suspension was heated at 100 °C for 48 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to afford ethyl 3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate **34** as a beige powder (42 mg, 43% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.10 (d, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, H₅), 7.74 (d, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, H₈), 7.61-7.57 (m, 5H, H_a, H_b, H_c), 7.44 (ddd, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, ³*J* = 7.2 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 7.01 (ddd, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₆), 4.20 (q, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, H_e), 1.17 (t, 3H, ³*J* = 7.2 Hz, H_f).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 162.97 (C=O), 143.77 (C_{8a}), 132.58 (C_d), 130.79 (2C_a), 129.29 (C_c), 128.86 (C), 128.78 (2C_b), 128.10 (C), 126.86 (C₇), 124.71 (C₅), 118.29 (C₈), 114.24 (C₆), 60.16 (C_e), 14.07 (C_f).

IR (KBr), cm⁻¹: 2980 (vC-H_{ar}); 1721 (vC=O); 1281 (v_{as}C-O); 1177 (v_{sy}C-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 267.0 (100) [M+H]⁺.

3-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylic acid (35)

White powder $C_{14}H_{10}N_2O_2$ Mr = 238.24 Rf = 0.05 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 203-204 °C Yield = 95%



To a solution of ethyl 3-phenylimidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylate **34** (3.0 g, 11.3 mmol) in a mixture water–methanol (48 mL, 11:1) was added potassium hydroxide (1.9 g, 33.8 mmol). The suspension was then heated at 80 °C for 1 h. Methanol was removed under reduced pressure and the reaction mixture was neutralized with 1M hydrochloric acid aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum to give 3phenylimidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylic acid **35** as a white powder (2.5 g, 95% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.07 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.72 (d, 1H, ³*J* = 9.0 Hz, H₈), 7.59-7.54 (m, 5H, H_a, H_b, H_c), 7.42 (dd, 1H, ³*J* = 9.0 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, H₇), 6.99 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 164.37 (C=O), 143.55 (C_{8a}), 133.34 (C_d), 130.79 (2C_a), 129.14 (C_c), 128.97 (C), 128.78 (2C_b), 128.34 (C), 126.67 (C₇), 124.63 (C₅), 118.18 (C₈), 114.09 (C₆).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 2922 (vC-H_{ar}); 2453 (vOH); 1692 (vC=O).

MS (ESI), *m/z* (%): 239.1 (100) [M+H]⁺.

Tert-butyl (3-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)carbamate (36)

Yellow powder $C_{18}H_{19}N_3O_2$ Mr = 309.36 Rf = 0.47 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 175-176 °C Yield = 62%



To a solution of 3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylic acid **35** (1.5 g, 6.3 mmol) in *tert*-butanol (11 mL) and triethylamine (1.1 mL, 7.6 mmol) was added diphenylphosphoryl azide (1.6 mL, 7.6 mmol). The suspension was then heated at 85 °C for 45 min. After cooling, water was added and *tert*-butanol was removed under reduced pressure. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (5/5) as eluent to afford *tert*-butyl (3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)carbamate **36** as a yellow powder (1.2 g, 62% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.96 (s, 1H, NH), 8.40 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.63-7.56 (m, 5H, H₈, H_a, H_b), 7.47 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 7.2 Hz, H_c), 7.34 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₇), 6.97 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆), 1.32 (s, 9H, H_e).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 154.22 (C=O), 141.56 (C_{8a}), 138.12 (C), 129.19 (2C_a), 128.64 (2C_b), 128.56 (C), 128.12 (C_c), 124.95 (C₇), 123.79 (C₅), 117.56 (C), 116.96 (C₈), 112.96 (C₆), 78.79 (C_f), 28.08 (3C_e).

IR (**KBr**), cm⁻¹: 3121 (νNH); 2967 (νC-H_{ar}); 1703 (νC=O); 1535 (δNH).

MS (ESI), *m/z* (%): 310.1 (100) [M+H]⁺.

N-(3-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)acetamide (37)

Beige powder $C_{15}H_{13}N_3O$ Mr = 251.28 Rf = 0.08 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 189-190 °C Yield = 80%



To a solution of 3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **31** (200 mg, 0.96 mmol) in tetrahydrofuran (35 mL) was added triethylamine (159 μ L, 1.1 mmol) and acetyl chloride (82 μ L, 1.1 mmol). The reaction mixture was purged with argon through the septum inlet for 5 min. After stirring for 1 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium bicarbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (8/2) as eluent to give *N*-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)acetamide **37** as a beige powder (192 mg, 80% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.86 (s, 1H, NH), 8.39 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.63-7.58 (m, 5H, H₈, H_a, H_b), 7.47 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 8.0$ Hz, H_c), 7.36 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₇), 6.98 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 1.99 (s, 3H, H_e).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 169.65 (C=O), 141.85 (C_{8a}), 138.05 (C), 129.23 (2C_a), 128.68 (2C_b), 128.45 (C), 128.22 (C_c), 125.06 (C₇), 123.90 (C₅), 117.81 (C), 116.99 (C₈), 112.99 (C₆), 22.95 (C_e).

IR (KBr), cm⁻¹: 3148 (vNH); 2970 (vC-H_{ar}); 1649 (vC=O); 1566, 1497 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 252.1 (100) [M+H]⁺.

General procedure for the synthesis of ureas 38-42

To a solution of 3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **31** (100 mg, 0.48 mmol, 1 equiv.) in dimethylformamide (2 mL) was added isocyanate (0.57 mmol, 1.2 equiv.). The suspension was stirred at room temperature for 1 to 3.5 h. The solvent was removed under reduced pressure and the crude materiel was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether as eluent.

1-Phenyl-3-(3-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)urea (38)

Beige powder $C_{20}H_{16}N_4O$ Mr = 328.37 Rf = 0.82 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 183-184 °C Yield = 84%



Compound was obtained following the general procedure, using phenyl isocyanate (62 μ L, 0.57 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 3.5 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent to afford 1-phenyl-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea **38** as a beige powder (132 mg, 84% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 9.86 (s, 1H, NH), 8.61 (s, 1H, NH), 8.35 (d, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, H₅), 7.69-7.58 (m, 5H, H₈, H_a, H_b), 7.52-7.47 (m, 3H, H_c, H_d), 7.39 (dd, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, H₇), 7.31 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 7.6 Hz, H_e), 7.03-6.98 (m, 2H, H₆, H_f).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 153.25 (C=O), 141.47 (C), 139.73 (C), 139.14 (C), 129.34 (2C_a), 129.31 (2C_b), 128.90 (2C_e), 128.30 (C), 128.00 (C_c), 125.20 (C₇), 123.61 (C₅), 122.20 (C_f), 118.79 (2C_d), 116.39 (C₈), 113.45 (C), 113.12 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3138 (vNH); 2922 (vC-H_{ar}); 1680 (vC=O); 1557, 1497 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 329.1 (100) [M+H]⁺.

1-(3-Methoxyphenyl)-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea (39)

Beige powder $C_{21}H_{18}N_4O_2$ Mr = 358.39 Rf = 0.76 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 150-151 °C Yield = 33%



Compound was obtained following the general procedure, using 3-methoxyphenyl isocyanate (76 μ L, 0.57 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 1 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent to afford 1-(3-methoxyphenyl)-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea **39** as a beige powder (57 mg, 33% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 9.31 (s, 1H, NH), 8.59 (s, 1H, NH), 8.35 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.70-7.58 (m, 5H, H₈, H_a, H_b), 7.49 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 7.2 Hz, H_c), 7.39 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 7.23-7.18 (m, 2H, H_d, H_f), 7.03-6.98 (m, 2H, H₆, H_g), 6.59 (dt, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H_e), 3.76 (s, 3H, H_h).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 159.83 (C-O), 153.22 (C=O), 141.49 (C), 140.96 (C), 139.05 (C), 129.66 (C_f), 129.36 (2C_a), 129.30 (2C_b), 128.33 (C), 128.00 (C_c), 125.22 (C₇), 123.63 (C₅), 116.45 (C₈), 114.00 (C), 113.14 (C₆), 111.13 (C_g), 107.54 (C_e), 104.65 (C_d), 55.12 (C_h).

IR (KBr), cm⁻¹: 3208 (vNH); 2918 (vC-H_{ar}); 1680 (vC=O); 1555, 1495 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 359.2 (100) [M+H]⁺.

1-(3-Chlorophenyl)-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea (40)

Beige powder $C_{20}H_{15}CIN_4O$ Mr = 362.81 Rf = 0.82 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 187-188 °C Yield = 55%



Compound was obtained following the general procedure, using 3-chlorophenyl isocyanate (69 μ L, 0.57 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 1 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent to afford 1-(3-chlorophenyl)-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea **40** as a beige powder (95 mg, 55% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 9.90 (s, 1H, NH), 8.76 (s, 1H, NH), 8.36 (d, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, H₅), 7.74 (dd, 1H, ⁴*J* = ⁴*J*' = 2.0 Hz, H_d), 7.69 (d, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, H₈), 7.66-7.58 (m, 4H, H_a, H_b), 7.48 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 7.2 Hz, H_c), 7.39 (ddd, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₇), 7.36-7.30 (m, 2H, H_f, H_g), 7.05 (dt, 1H, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 3.2 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, H_e), 7.01 (ddd, 1H, ³*J* = 7.4 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 153.25 (C=O), 141.53 (C), 141.34 (C), 138.71 (C), 133.28 (C), 130.49 (C_f), 129.35 (2C_a), 129.30 (2C_b), 128.36 (C_c), 127.96 (C), 125.27 (C₇), 123.69 (C₅), 121.79 (C_e), 118.11 (C_d), 117.20 (C_g), 116.54 (C₈), 114.08 (C), 113.17 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 2920 (vC-H_{ar}); 1738 (vC=O); 1555, 1508 (vC=C and vC=N); 1169 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 363.1 (100) [M+H]⁺, 365.2 (35) [M+H+2]⁺.

N-[(3-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)carbamoyl]benzamide (41)

Beige powder $C_{21}H_{16}N_4O_2$ Mr = 356.38 Rf = 0.24 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 166-167 °C Yield = 29%



Compound was obtained following the general procedure, using benzoyl isocyanate (72 μ L, 0.57 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 1 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (4/6) as eluent to afford *N*-[(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)carbamoyl]benzamide **41** as a beige powder (49 mg, 29% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 11.12 (s, 1H, NH), 10.61 (s, 1H, NH), 8.40 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.04 (d, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, H_d), 7.71-7.65 (m, 4H, H₈, H_a, H_f), 7.62-7.53 (m, 4H, H_b, H_e), 7.49 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 7.2 Hz, H_c), 7.40 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 7.2 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 7.02 (ddd, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 152.00 (C=O), 151.98 (C=O), 141.85 (C), 136.80 (C), 133.22 (C_f), 132.36 (C), 132.25 (C), 129.34 (2C_e), 128.92 (2C_a), 128.74 (2C_b), 128.43 (2C_d), 128.14 (C_c), 125.30 (C₇), 123.89 (C₅), 116.93 (C₈), 116.90 (C), 113.16 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3279 (vNH); 2922 (vC-H_{ar}); 1711, 1657 (vC=O); 1516, 1470 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 357.1 (100) [M+H]⁺.

1-Benzyl-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea (42)

Beige powder $C_{21}H_{18}N_4O$ Mr = 342.39 Rf = 0.66 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 163-164 °C Yield = 54%



Compound was obtained following the general procedure, using benzyl isocyanate (71 μ L, 0.57 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 3 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (3/7) as eluent to afford 1-benzyl-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea **42** as a beige powder (88 mg, 54% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**)**, δ **ppm:** 8.35-8.33 (m, 2H, H₅, NH), 8.03-7.98 (m, 1H, NH), 7.64-7.57 (m, 5H, H₈, H_a, H_b), 7.49 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.2$ Hz, H_c), 7.37-7.25 (m, 6H, H₇, H_e, H_f, H_g), 6.97 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 4.38 (d, 2H, ${}^{3}J = 6.0$ Hz, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 155.96 (C=O), 141.40 (C), 140.60 (C), 139.83 (C), 129.33 (2C_a), 129.24 (2C_b), 128.41 (2C_f), 128.20 (C_c), 128.03 (C), 127.07 (2C_e), 126.76 (C_g), 124.98 (C₇), 123.48 (C₅), 116.22 (C₈), 113.00 (C₆), 112.71 (C), 42.95 (C_d).

IR (KBr), cm⁻¹: 3237 (vNH); 2922 (vC-H_{ar}); 1665 (vC=O); 1531, 1493 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 343.1 (100) [M+H]⁺.

1-(4-Methoxybenzyl)-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea (43)

Beige powder $C_{22}H_{20}N_4O_2$ Mr = 372.42 Rf = 0.58 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 151-152 °C Yield = 34%



To a solution of 4-nitrophenyl (4-methoxybenzyl)carbamate **45** (289 mg, 0.96 mmol) in dry tetrahydrofuran (14 mL) was added 3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **31** (100 mg, 0.48 mmol) and triethylamine (13 μ L, 0.1 mmol). The reaction mixture was purged with argon through the septum inlet for 5 min and the suspension was then heated at 60 °C for 48 h. Then the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (2/8) as eluent to give 1-(4-methoxybenzyl)-3-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)urea **43** as a beige powder (61 mg, 34% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.33 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 8.28 (s, 1H, NH), 7.64-7.57 (m, 5H, H₈, H_a, H_b), 7.49 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.2$ Hz, H_c), 7.34 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.6$ Hz, H₇), 7.24-7.19 (m, 2H, H_e), 6.97 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 0.8$ Hz, H₆), 6.93-6.89 (m, 2H, H_f), 6.32 (t, 1H, ${}^{3}J = 5.6$ Hz, NH), 4.18 (d, 2H, ${}^{3}J = 5.6$ Hz, H_d), 3.76 (s, 3H, H_g).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 158.24 (C-O), 155.80 (C=O), 141.38 (C), 139.90 (C), 132.97 (C), 129.35 (2C_a), 129.25 (2C_b), 128.51 (2C_e), 128.21 (C_c), 128.03 (C), 125.00 (C₇), 123.48 (C₅), 116.19 (C₈), 113.86 (2C_f), 113.01 (C₆), 112.52 (C), 55.22 (C_g), 42.60 (C_d).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3194 (vNH); 2932 (vC-H_{ar}); 1661 (vC=O); 1547, 1510 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 373.2 (100) [M+H]⁺.

4-Nitrophenyl (4-methoxybenzyl)carbamate (45)

White powder $C_{15}H_{14}N_2O_5$ Mr = 302.28 Rf = 0.93 (ethyl acetate) Mp = 136-137 °C Yield = 64%



A solution of 4-nitrophenyl chloroformate (147 mg, 0.73 mmol) in dry acetonitrile (2.25 mL) was cooled at 0 °C. A solution of 4-methoxybenzylamine **44** (95.2 μ L, 0.73 mmol) in dry acetonitrile (0.75 mL) and a solution of triethylamine (12.3 mL, 88.5 mmol) in dry acetonitrile (0.75 mL) were added. After stirring at room temperature for 24 h, water was added and the organic layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered, concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent to give 4-nitrophenyl (4-methoxybenzyl)carbamate **45** as a white powder (141 mg, 64% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 11.08 (s, 1H, NH), 8.29 (d, 2H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₃), 8.16 (d, 2H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₂), 7.45 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, H₂·), 7.31 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, H₃·), 4.27 (d, 2H, ${}^{3}J = 6.0$ Hz, CH₂), 3.78 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 163.88 (C), 158.41 (C), 156.19 (C), 153.34 (C), 144.13 (C), 128.61 (2C₃), 126.17 (2C₂), 125.13 (2C₃), 122.47 (2C₂), 55.05 (CH₃), 43.55 (CH₂).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 303.1 (100) [M+H]⁺.

2-[2-{[(4-methylphenyl)sulfonyl]imino}pyridin-1(2H)-yl]acetamide (46)

White powder $C_{14}H_{15}N_3O_3S$ Mr = 305.35 Rf = 0.06 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 193-194 °C Yield = 83%



To a solution of 4-methyl-*N*-(pyridin-2-yl)benzenesulfonamide **25** (5.0 g, 20 mmol) in *N*,*N*-dimethylformamide (63 mL) was added *N*,*N*-diisopropylethylamine (4.0 mL, 24 mmol) and iodoacetamide (4.5 g, 24 mmol). The suspension was then stirred at room temperature for 16 h. Water (700 mL) was added and after stirring for 1 h at room temperature, the precipitate was collected by filtration. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/ethanol (95/5) as eluent to afford $2-[2-\{[(4-methylphenyl)sulfonyl]imino\}pyridin-1(2H)-yl]acetamide$ **46**as a white powder (5.1 g, 83% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.03 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₃·), 7.82 (s, 1H, NH₂), 7.75 (ddd, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, H₅·), 7.70 (d, 2H, ³*J* = 8.2 Hz, H_a), 7.41 (s, 1H, NH₂), 7.33 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₆·), 7.30 (d, 2H, ³*J* = 8.2 Hz, H_b), 6.76 (ddd, 1H, ³*J* = 7.4 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₄·), 4.87 (s, 2H, H₂), 2.37 (s, 3H, H_c).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 167.62 (C=O), 155.41 (C), 142.45 (C₃·), 141.61 (C), 141.36 (C₅·), 141.10 (C), 129.26 (2C_b), 126.11 (2C_a), 116.26 (C₆·), 110.79 (C₄·), 54.45 (C₂), 21.07 (C_c).

IR (KBr), cm⁻¹: 3447, 3364 (vNH₂); 1695 (vC=O); 1632 (δ NH₂); 1132 (ν _{as}SO₂); 1080 (ν _{sy}SO₂).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 306.1 (100) [M+H]⁺.

2,2,2-trifluoro-N-(imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)acetamide (47)

Beige powder $C_9H_6F_3N_3O$ Mr = 229.16 Rf = 0.81 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 210-211 °C Yield = 66%



To a solution of 2-[2-{[(4-methylphenyl)sulfonyl]imino}pyridin-1(2*H*)-yl]acetamide **46** (4.5 g, 14.7 mmol) in dry dichloromethane (72 mL) was added trifluoroacetic anhydride (51.2 mL, 368 mmol). After stirring for 3 h at 30 °C, the solvent was removed under reduced pressure. The reaction mixture was diluted with ethyl acetate. The organic layer was washed successively with a saturated sodium bicarbonate aqueous solution and brine and then dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (2/8) as eluent to give 2,2,2-trifluoro-*N*-(imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)acetamide **47** as a beige powder (2.2 g, 66% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 12.50 (s, 1H, NH), 8.65 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, H₅), 8.28 (s, 1H, H₃), 7.55 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 8.4 Hz, H₈), 7.33 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 8.4 Hz, ${}^{3}J$ = 7.2 Hz, ${}^{4}J$ = 1.2 Hz, H₇), 6.98 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 7.2 Hz, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 154.15 (q, ²*J*_{CF} = 38 Hz, C=O), 141.42 (C), 139.47 (C), 127.28 (C₅), 125.64 (C₇), 115.93 (q, ^{*1*}*J*_{CF} = 286 Hz, CF₃), 115.88 (C₈), 112.59 (C₆), 102.73 (C₃).

IR (**KBr**), cm⁻¹: 2961 (νNH); 1705 (νC=O); 1545 (δNH); 1142 (νC-F).

MS (ESI), *m/z* (%): 230.0 (100) [M+H]⁺.

Imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine (48)

Yellow oil $C_7H_7N_3$ Mr = 133.15 Rf = 0.26 (dichloromethane/methanol: 98/2)



Method A: 2,2,2-Trifluoro-*N*-(imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)acetamide **47** (300 mg, 1.3 mmol) was dissolved in a mixture methanol–*N*,*N*-diisopropylethylamine (20.1 mL, 1:1). The suspension was then purged with argon and heated at 70 °C for 36 h. Solvent was removed under reduced pressure. The product was used in the next step without further purification.

Method B: 2,2,2-Trifluoro-*N*-(imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)acetamide **47** (300 mg, 1.3 mmol) was stirred in the presence of 0.5 N sodium hydroxide aqueous solution (28.8 mL) at room temperature for 4 h. Then the reaction mixture was neutralized by 5% hydrochloric acid aqueous solution. The aqueous layer was extracted with chloroform. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The product was used in the next step without further purification.

Method C: To a solution of 2,2,2-trifluoro-*N*-(imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)acetamide **47** (300 mg, 1.3 mmol) in a mixture methanol–water (38.0 mL, 3:2) was added potassium carbonate (905 mg, 6.5 mmol). The suspension was then heated at 80 °C for 5 h. After cooling, water was added and the organic layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The product was used in the next step without further purification.

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.30 (d, 1H, ³*J* = 6.6 Hz, H₅), 7.19 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₈), 7.04-6.99 (m, 2H, H₃, H₇), 6.70 (ddd, 1H, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 6.6 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₆), 5.03 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 152.26 (C_{8a}), 142.56 (C₂), 125.01 (C₅), 122.07 (C₇), 113.53 (C₈), 110.47 (C₆), 93.10 (C₃).

MS (ESI), *m/z* (%): 133.9 (100) [M+H]⁺.

1-Benzyl-3-imidazo[1,2-a]pyridin-2-ylurea (49)

White powder $C_{15}H_{14}N_4O$ Mr = 266.30 Rf = 0.25 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 225-226 °C Yield = 42%



To a solution of crude imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **48** (232 mg, 1.7 mmol) in *N*,*N*-dimethylformamide (5.2 mL) was added benzyl isocyanate (260 μ L, 2.1 mmol). The suspension was stirred at room temperature for 2 h. The solvent was removed under reduced pressure and the crude materiel was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate as eluent to afford 1-benzyl-3-imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-ylurea **49** as a white powder (195 mg, 42% yield from **47**).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.02 (s, 1H, NH), 8.51 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.6$ Hz, H₅), 7.79 (s, 1H, H₃), 7.40-7.34 (m, 6H, H₈, H_b, H_c, NH), 7.29 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H_d), 7.18 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₇), 6.85 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{3}J = 6.6$ Hz, ${}^{4}J = 0.8$ Hz, H₆), 4.39 (d, 2H, ${}^{3}J = 5.6$ Hz, H_a).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 154.70 (C=O), 143.51 (C), 141.13 (C), 140.37 (C), 128.51 (2C_c), 127.27 (2C_b), 126.94 (C_d), 126.36 (C₅), 123.90 (C₇), 114.80 (C₈), 111.55 (C₆), 97.76 (C₃), 42.93 (C_a).

IR (KBr), cm⁻¹: 3267 (vNH); 3040 (vC-H_{ar}); 1688 (vC=O); 1553, 1495 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 267.1 (100) [M+H]⁺.

1-Imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl-3-(4-methoxybenzyl)urea (50)

Yellow powder $C_{16}H_{16}N_4O_2$ Mr = 296.32 Rf = 0.15 (ethyl acetate/petroleum ether: 6/4) Mp = 137-138 °C Yield = 44%



To a solution of 4-nitrophenyl (4-methoxybenzyl)carbamate **45** (1.6 g, 5.2 mmol) in tetrahydrofuran (50 mL) was added imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-amine **48** (349 mg, 2.6 mmol) and triethylamine (73 μ L, 0.52 mmol). The reaction mixture was purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was then heated at 60 °C for 16 h. The solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (7/3) as eluent to afford 1-imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl-3-(4-methoxybenzyl)urea **50** as a yellow powder (341 mg, 44% yield from **47**).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆), δ **ppm:** 9.27 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 7.2 Hz, H₅), 7.68 (t, 1H, ${}^{3}J$ = 5.6 Hz, NH), 7.34-7.31 (m, 4H, H₇, H₈, H_b), 6.93-6.89 (m, 3H, H₆, H_c), 5.99-5.97 (m, 2H, H₃, NH), 4.46 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 5.6 Hz, H_a), 3.76 (s, 3H, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 161.19 (C-O), 158.28 (C=O), 153.69 (C), 144.52 (C), 132.30 (C), 128.78 (2C_b), 127.66 (C₅), 126.81 (C₇), 113.82 (C₈), 113.80 (2C_c), 111.63 (C₆), 100.16 (C₃), 55.21 (C_d), 41.63 (C_a).

IR (KBr), cm⁻¹: 3252 (vNH); 3129 (vC-H_{ar}); 1607 (vC=O); 1510, 1445 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 297.1 (100) [M+H]⁺.

Imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate (51)

White powder $C_8H_5F_3N_2O_3S$ Mr = 266.20 Rf = 0.48 (ethyl acetate/petroleum ether: 2/8) $Mp = 62-63 \ ^{\circ}C$ Yield = 67%



At 0 °C, 2-aminopyridine **1** (8.37 g, 89 mmol) was added portionwise to ethyl bromoacetate (34.5 mL, 311 mmol). The reaction mixture was stirred for 15 min at room temperature. The precipitate was collected and washed with diisopropylic ether. A solution of the crude product in absolute ethanol (200 mL) was then refluxed for 18 h. The reaction mixture was cooled to room temperature for 2 h and to 0 °C for 1 h. The precipitate was collected and washed with diisopropylic ether to give 18.24 g of crude product. This material was used in the next reaction without further purification. To a solution of the precipitate (5.0 g, 21 mmol) in toluene (300 mL) was added *N*-phenyl-bis(trifluoromethanesulfonimide) (13.0 g, 37 mmol) and triethylamine (5 mL). The reaction was refluxed. Triethylamine (2×12.5 mL) was then added after 2 and 4 h, respectively. The reaction mixture was refluxed for 20 h, cooled to room temperature and poured into water. The aqueous layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (9/1) as eluent to give imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **51** as a white powder (3.91 g, 67% yield, two steps).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.64 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 8.25 (s, 1H, H₃), 7.68 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, H₈), 7.48 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₇), 7.14 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 146.97 (C_{8a}), 140.35 (C₂), 127.90 (C₅), 127.12 (C₇), 118.38 (q, ${}^{I}J_{CF}$ = 319 Hz, CF₃), 116.99 (C₈), 114.13 (C₆), 101.69 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3157 (vC-H_{ar}); 1508, 1429 (vC=C and vC=N); 1219 (v_{as}SO₂); 1138 (v_{sy}SO₂); 883 (vS-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 267.0 (83) [M+H]⁺, 133.8 (100).

General procedure for the synthesis of 2-arylimidazo[1,2-a]pyridines 52-60

To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate 51 (400 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), arylboronic acid (1.8 mmol, 1.2 3.6 equiv.), sodium carbonate (382 mmol. 2.4 equiv.) mg, and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (87 mg, 5% mol) in a mixture of 1,4-dioxane-water (13.5 mL, 2:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was heated at 100 °C for 45 min to 7 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate, filtered through Celite® and washed with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate as eluent. Trituration with diisopropylic ether afforded 2-arylimidazo[1,2*a*]pyridine **52-60**.

2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (52)

Beige powder $C_{13}H_{10}N_2$ Mr = 194.23 Rf = 0.43 (ethyl acetate/petroleum ether: 4/6) Mp = 132-133 °C Yield = 43%



Method A: Compound was obtained following the general procedure, using imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **1** (400 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), phenylboronic acid (368 mg, 3.0 mmol, 2 equiv.), Na₂CO₃ (636 mg, 6.0 mmol, 4 equiv.), Pd(PPh₃)₄ (87 mg, 5% mol) and heating for 7 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (8/2) as eluent and to afford 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** as a beige powder (125 mg, 43% yield).

Method B: A mixture of 2-aminopyridine **1** (400 mg, 4.2 mmol) and 2-bromoacetophenone (846 mg, 4.2 mmol) is ground at room temperature with a glass pestle in the glass mortar. After 15 min, water was added and the aqueous layer was neutralized with 10% sodium

hydroxide aqueous solution. The aqueous layer was extracted twice with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (5/5) as eluent to give 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **52** as a beige powder (693 mg, 84% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.57 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.6$ Hz, H₅), 8.44 (s, 1H, H₃), 8.01 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_a), 7.62 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, H₈), 7.48 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.2$ Hz, H_b), 7.36 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.2$ Hz, H_c), 7.28 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, ${}^{3}J = 7.0$ Hz, ${}^{4}J = 0.8$ Hz, H₇), 6.93 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.0$ Hz, ${}^{3}J = 6.6$ Hz, ${}^{4}J = 0.4$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.99 (C), 144.52 (C), 134.09 (C), 128.87 (2C_b), 127.86 (C_c), 127.04 (C₅), 125.73 (2C_a), 125.10 (C₇), 116.81 (C₈), 112.43 (C₆), 109.26 (C₃).

IR (KBr), cm⁻¹: 3043 (vC-H_{ar}); 1505, 1474 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 195.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₃H₁₀N₂: C, 80.39; H, 5.19; N, 14.42. Found: C, 80.61; H, 5.28; N, 14.44.
2-(3-Chlorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (53)

Beige powder $C_{13}H_9ClN_2$ Mr = 228.68 Rf = 0.34 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 109-110 °C Yield = 45%



Compound was obtained following the general procedure, using 3-chlorophenylboronic acid (282 mg, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 6 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (8/2) as eluent to afford 2-(3-chlorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **53** as a beige powder (155 mg, 45% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.57 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.54 (s, 1H, H₃), 8.05 (dd, 1H, ⁴*J* = ⁴*J*' = 2.0 Hz, H_a), 7.97 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, ⁴*J* = 1.0 Hz, H_b), 7.63 (d, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, H₈), 7.51 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 8.0 Hz, H_c), 7.42 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, ⁴*J* = 1.0 Hz, H_d), 7.31 (ddd, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 6.96 (ddd, 1H, ³*J* = 7.4 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 145.04 (C), 142.95 (C), 136.30 (C), 133.75 (C-Cl), 130.84 (C_c), 127.58 (C_d), 127.21 (C₅), 125.55 (C₇), 125.29 (C_a), 124.26 (C_b), 116.94 (C₈), 112.74 (C₆), 110.16 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3035 (vC-H_{ar}); 1601, 1568 (vC=C and vC=N); 746 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 229.0 (100) [M+H]⁺, 231.0 (45) [M+H+2]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₃H₉ClN₂: C, 68.28; H, 3.97; N, 12.25. Found: C, 68.42; H, 4.13; N, 12.09.

2-(3,5-Dichlorophenyl)imidazo[1,2-a]pyridine (54)

White powder $C_{13}H_8Cl_2N_2$ Mr = 263.12 Rf = 0.64 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 142-143 °C Yield = 35%



Compound was obtained following the general procedure, using 3,5-dichlorophenylboronic acid (344 mg, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 45 min. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (9/1) as eluent to afford 2-(3,5-dichlorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **54** as a white powder (138 mg, 35% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.63 (s, 1H, H₃), 8.57 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 8.04 (d, 2H, ${}^{4}J = 2.0$ Hz, H_a), 7.64 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, H₈), 7.58 (t, 1H, ${}^{4}J = 2.0$ Hz, H_b), 7.33 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₇), 6.97 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 145.09 (C), 141.59 (C), 137.72 (C), 134.75 (2C-Cl), 127.34 (C₅), 127.00 (C_b), 125.89 (C₇), 124.09 (2C_a), 117.04 (C₈), 112.99 (C₆), 111.02 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3071 (vC-H_{ar}); 1600, 1574 (vC=C and vC=N); 800, 754 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 263.0 (100) [M+H]⁺, 265.0 (88) [M+H+2]⁺, 267.0 (16) [M+H+4]⁺.

Elemental analysis: Anal. Calcd for C₁₃H₈Cl₂N₂: C, 59.34; H, 3.06; N, 10.65. Found: C, 58.96; H, 3.22; N, 11.02.

2-(2-Fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (55)

Beige powder $C_{13}H_9FN_2$ Mr = 212.22 Rf = 0.40 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 112-113 °C Yield = 97%



Compound was obtained following the general procedure, using 2-fluorophenylboronic acid (252 mg, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 1 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (8/2) as eluent to afford 2-(2-fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **55** as a beige powder (309 mg, 97% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.65 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.39 (s, 1H, H₃), 8.32 (ddd, 1H, ³*J* = 9.6 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 2 Hz, H_b), 7.65 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.43-7.30 (m, 4H, H₇, H_a, H_c, H_d), 6.96 (ddd, 1H, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 159.75 (d, ${}^{1}J_{CF}$ = 247 Hz, C-F), 144.32 (C), 137.91 (C), 129.36 (d, ${}^{3}J_{CF}$ = 9 Hz, C_d), 128.62 (d, ${}^{3}J_{CF}$ = 3 Hz, C_b), 127.28 (C₅), 125.63 (C₇), 124.94 (C_c), 121.60 (d, ${}^{2}J_{CF}$ = 13 Hz, C), 116.78 (C₈), 116.02 (d, ${}^{2}J_{CF}$ = 22 Hz, C_a), 112.60 (C₆), 112.49 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3051 (vC-H_{ar}); 1546, 1483 (vC=C and vC=N); 1210 (vC-F).

MS (ESI), *m/z* (%): 213.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₃H₉FN₂: C, 73.57; H, 4.27; N, 13.20. Found: C, 73.51; H, 4.59; N, 13.56.

2-(4-Fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (56)

White powder $C_{13}H_9FN_2$ Mr = 212.22 Rf = 0.24 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 159-160 °C Yield = 41%



Compound was obtained following the general procedure, using 4-fluorophenylboronic acid (252 mg, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 1 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (8/2) as eluent to afford 2-(4-fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **56** as a white powder (131 mg, 41% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.56 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.42 (s, 1H, H₃), 8.04 (dd, 2H, ³*J* = 8.8 Hz, ⁴*J* = 5.2 Hz, H_a), 7.61 (d, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, H₈), 7.34-7.26 (m, 3H, H₇, H_b), 6.94 (ddd, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 162.01 (d, ^{*1*}*J*_{*CF*} = 242 Hz, C-F), 145.02 (C), 143.64 (C), 130.68 (d, ^{*4*}*J*_{*CF*} = 3 Hz, C), 127.69 (d, ^{*3*}*J*_{*CF*} = 9 Hz, 2C_a), 127.09 (C₅), 125.22 (C₇), 116.79 (C₈), 115.77 (d, ^{*2*}*J*_{*CF*} = 22 Hz, 2C_b), 112.51 (C₆), 109.13 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3069 (vC-H_{ar}); 1595, 1435 (vC=C and vC=N); 1217 (vC-F).

MS (ESI), *m/z* (%): 213.2 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₃H₉FN₂: C, 73.57; H, 4.27; N, 13.20. Found: C, 73.71; H, 4.43; N, 13.29.

Ethyl 4-(imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)benzoate (57)

Beige powder $C_{16}H_{14}N_2O_2$ Mr = 266.29 Rf = 0.24 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 141-142 °C Yield = 9%



Compound was obtained following the general procedure, using 4ethoxycarbonylphenylboronic acid (350 mg, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 45 min. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (8/2) as eluent to afford ethyl 4-(imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)benzoate **57** as a beige powder (36 mg, 9% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.60-8.59 (m, 2H, H₃, H₅), 8.15 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, H_b), 8.07 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, H_a), 7.64 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.0$ Hz, H₈), 7.32 (dd, 1H, ${}^{3}J = 9.0$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₇), 6.97 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 4.37 (q, 2H, ${}^{3}J = 7.0$ Hz, H_c), 1.38 (t, 3H, ${}^{3}J = 7.0$ Hz, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 165.74 (C=O), 145.23 (C), 143.22 (C), 138.66 (C), 129.86 (2C_a), 128.87 (C), 127.28 (C₅), 125.77 (2C_b), 125.67 (C₇), 117.03 (C₈), 112.82 (C₆), 110.81 (C₃), 60.86 (C_c), 14.39 (C_d).

IR (KBr), cm⁻¹: 3042 (vC-H_{ar}); 1708 (vC=O); 1270 (vC-O).

MS (ESI), m/z (%): 267.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₆H₁₄N₂O₂: C, 72.16; H, 5.30; N, 10.52. Found: C, 72.07; H, 5.62; N, 10.82.

2-(4-Nitrophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (58)

Yellow powder $C_{13}H_9N_3O_2$ Mr = 239.23 Rf = 0.14 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 265-266 °C Yield = 26%



Compound was obtained following the general procedure, using 4-nitrophenylboronic acid (301 mg, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 4 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (9/1) as eluent to afford 2-(4-nitrophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **58** as a yellow powder (93 mg, 26% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.69 (s, 1H, H₃), 8.61 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.35 (d, 2H, ³*J* = 8.6 Hz, H_b), 8.27 (d, 2H, ³*J* = 8.6 Hz, H_a), 7.67 (d, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, H₈), 7.35 (dd, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, H₇), 6.99 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 146.67 (C), 145.44 (C), 142.17 (C), 140.70 (C), 127.45 (C₅), 126.48 (2C_a), 126.11 (C₇), 124.37 (2C_b), 117.18 (C₈), 113.11 (C₆), 111.88 (C₃).

IR (KBr), cm⁻¹: 3070 (vC-H_{ar}); 1513 (v_{as}NO₂); 1336 (v_{sy}NO₂).

MS (ESI), *m/z* (%): 240.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₃H₉N₃O₂: C, 65.27; H, 3.79; N, 17.56. Found: C, 65.02; H, 3.83; N, 17.64.

2-(4-Methoxyphenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (59)

Beige powder $C_{14}H_{12}N_2O$ Mr = 224.26 Rf = 0.14 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 135-136 °C Yield = 78%



Compound was obtained following the general procedure, using 4-methoxyphenylboronic acid (274 mg, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 45 min. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (9/1) as eluent to afford 2-(4-methoxyphenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **59** as a beige powder (263 mg, 78% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.53 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 8.32 (s, 1H, H₃), 7.93 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H_a), 7.58 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, H₈), 7.25 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₇), 7.04 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H_b), 6.90 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆), 3.83 (s, 3H, H_c).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 159.19 (C-O), 144.90 (C), 144.62 (C), 127.04 (2C_a), 126.86 (C₅), 126.71 (C), 124.78 (C₇), 116.56 (C₈), 114.30 (2C_b), 112.20 (C₆), 108.18 (C₃), 55.30 (C_c).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3070 (vC-H_{ar}); 1612, 1482 (vC=C and vC=N); 1248 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 225.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₄H₁₂N₂O: C, 74.98; H, 5.39; N, 12.49. Found: C, 74.69; H, 5.56; N, 12.79.

2-(2-Methoxyphenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (60)

Beige powder $C_{14}H_{12}N_2O$ Mr = 224.26 Rf = 0.24 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 89-90 °C Yield = 94%



Compound was obtained following the general procedure, using 2-methoxyphenylboronic acid (274 mg, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 1 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (8/2) as eluent to afford 2-(2-methoxyphenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **60** as a beige powder (317 mg, 94% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.61 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.4$ Hz, H₅), 8.44 (s, 1H, H₃), 8.34 (d, 1H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, H_d), 7.60 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.2$ Hz, H₈), 7.35 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, H_b), 7.26 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.2$ Hz, H₇), 7.17 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, H_a), 7.09 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.6$ Hz, H_c), 6.90 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.4$ Hz, H₆), 4.01 (s, 3H, H_e).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 156.63 (C-O), 143.67 (C), 140.16 (C), 128.75 (C_b), 128.18 (C_d), 127.04 (C₅), 124.99 (C₇), 122.28 (C), 120.71 (C_c), 116.53 (C₈), 112.86 (C₃), 111.97 (C₆), 111.61 (C_a), 55.64 (C_e).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3065 (vC-H_{ar}); 1631, 1487 (vC=C and vC=N); 1239 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 225.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₄H₁₂N₂O: C, 74.98; H, 5.39; N, 12.49. Found: C, 75.13; H, 5.77; N, 12.80.

3-Chloroimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate (61)

White powder $C_8H_4ClF_3N_2O_3S$ Mr = 300.64 Rf = 0.63 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 58-59 °C Yield = 64%



To a solution of imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **51** (500 mg, 1.9 mmol) in ethanol (15.0 mL) was added *N*-chlorosuccinimide (301 mg, 2.3 mmol). The suspension was then heated at 80 °C for 30 min. Then the solvent was removed under reduced pressure and the reaction mixture was neutralized by a saturated sodium bicarbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent to give 3-chloroimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **61** as a white powder (361 mg, 64% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.53 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.80 (d, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, H₈), 7.61 (ddd, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 7.2 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 7.33 (ddd, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 142.09 (C), 139.00 (C), 127.87 (C₇), 124.82 (C₅), 118.23 (q, ${}^{I}J_{CF}$ = 319 Hz, CF₃), 117.62 (C₈), 115.36 (C₆), 98.00 (C₃).

MS (ESI), *m/z* (%): 301.0 (100) [M+H]⁺, 302.9 (40) [M+H+2]⁺.

3-Bromoimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate (62)

White powder $C_8H_4BrF_3N_2O_3S$ Mr = 345.09 Rf = 0.64 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 84-85 °C Yield = 88%



Method A: To a solution of imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **51** (500 mg, 1.9 mmol) in dry acetonitrile (8.0 mL) was added *N*-bromosuccinimide (368 mg, 2.1 mmol). After stirring for 30 min at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium bicarbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane as eluent to give 3-bromoimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **62** as a white powder (570 mg, 88% yield).

Method B: To a solution of imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **51** (500 mg, 1.9 mmol) in acetic acid (5.8 mL) was added dropwise a solution of bromine (116 μ L, 2.3 mmol) in acetic acid (1.4 mL). After stirring for 24 h at room temperature, the reaction mixture was neutralized by a saturated sodium carbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (2/8) as eluent to give 3-bromoimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **62** as a white powder (188 mg, 29% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.50 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.79 (d, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, H₈), 7.60 (ddd, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 7.31 (ddd, 1H, ³*J* = 7.4 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 145.23 (C), 140.82 (C), 127.91 (C₇), 125.83 (C₅), 118.23 (q, ${}^{I}J_{CF}$ = 319 Hz, CF₃), 117.58 (C₈), 115.45 (C₆), 85.07 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 2922 (vC-H_{ar}); 1535, 1422 (vC=C and vC=N); 1273, 1207, 1140 (v_{as}SO₂, v_{sy}SO₂, vC-F); 893 (vS-O); 648 (vC-Br).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 345.9 (100) [M+H]⁺, 347.9 (98) [M+H+2]⁺.

3-Iodoimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate (63)

White powder $C_8H_4F_3IN_2O_3S$ Mr = 392.09 Rf = 0.64 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 120-121 °C Yield = 95%



To a solution of imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **51** (500 mg, 1.9 mmol) in dry acetonitrile (8.0 mL) was added *N*-iodosuccinimide (465 mg, 2.1 mmol). After stirring for 30 min at room temperature, the reaction mixture was diluted with chloroform and the organic layer was washed successively with 10% sodium hydroxide aqueous solution, sodium thiosulfate and water and then dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (2/8) as eluent to give 3-iodoimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **63** as a white powder (697 mg, 95% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.47 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.73 (d, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, H₈), 7.57 (dd, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, H₇), 7.27 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 150.88 (C), 143.32 (C), 128.00 (C₇), 127.95 (C₅), 118.26 (q, ${}^{1}J_{CF}$ = 319 Hz, CF₃), 117.47 (C₈), 115.32 (C₆), 57.04 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 2928 (vC-H_{ar}); 1514, 1418 (vC=C and vC=N); 1271, 1209, 1140 (v_{as}SO₂, v_{sy}SO₂, vC-F); 893 (vS-O); 648, 609 (vC-I).

MS (ESI), *m/z* (%): 392.9 (100) [M+H]⁺.

3-Chloro-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (64)

Beige powder $C_{13}H_9ClN_2$ Mr = 228.68 Rf = 0.50 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 113-114 °C Yield = 24%



To a vial with a magnetic stir bar was added 3-chloroimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **61** (500 mg, 1.7 mmol), phenylboronic acid (243 mg, 2.0 mmol), sodium carbonate (423 mg, 4.0 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (5% mol, 96 mg) in a mixture 1,4-dioxane–water (18.8 mL, 2:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was then heated at 110 °C for 12 h. After cooling, water was added and the organic layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent to give 3-chloro-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **64** as a beige powder (91 mg, 24% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.45 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.14 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, H_a), 7.74 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.56 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 8.4 Hz, H_b), 7.48-7.42 (m, 2H, H₇, H_c), 7.17 (dd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.28 (C), 143.25 (C), 132.32 (C_d), 128.93 (2C_b), 128.55 (C_c), 127.12 (2C_a), 126.19 (C₇), 123.80 (C₅), 117.19 (C₈), 113.83 (C₆), 113.59 (C₃).

IR (KBr), cm⁻¹: 2922 (vC-H_{ar}); 754 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 229.0 (100) [M+H]⁺, 231.0 (38) [M+H+2]⁺.

3-Bromo-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (65)

White powder $C_{13}H_9BrN_2$ Mr = 273.13 Rf = 0.64 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 83-84 °C Yield = 95%



Method A: To a vial with a magnetic stir bar was added 3-bromoimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl trifluoromethanesulfonate **62** (500 mg, 1.4 mmol), phenylboronic acid (212 mg, 1.7 mmol), sodium carbonate (369 mg, 3.5 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (5% mol, 84 mg) in a mixture 1,4-dioxane–water (16.9 mL, 2:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was then heated at 110 °C for 4 h. After cooling, water was added and the organic layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (1/9) as eluent to give 3-bromo-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **65** as a white powder (128 mg, 32 % yield).

Method B: To a solution of 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **52** (500 mg, 2.6 mmol) in dry acetonitrile (8.0 mL) was added *N*-bromosuccinimide (504 mg, 2.8 mmol). After stirring for 2 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The reaction mixture was neutralized by a saturated sodium bicarbonate aqueous solution. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane as eluent to give 3-bromo-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **65** as a white powder (668 mg, 95% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.45 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.14 (d, 2H, ³*J* = 7.6 Hz, H_a), 7.72 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.56 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 7.6 Hz, H_b), 7.48-7.42 (m, 2H, H₇, H_c), 7.16 (dd, 1H, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 145.03 (C), 141.54 (C), 132.95 (C_d), 128.75 (2C_b), 128.43 (C_c), 127.48 (2C_a), 126.07 (C₇), 124.81 (C₅), 117.24 (C₈), 113.83 (C₆), 91.80 (C₃).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3022 (vC-H_{ar}); 1498, 1470 (vC=C and vC=N); 754 (vC-Br).

MS (ESI), *m/z* (%): 274.0 (100) [M+H]⁺, 276.0 (95) [M+H+2]⁺.

3-Iodo-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (66)

Yellow powder $C_{13}H_9IN_2$ Mr = 320.13 Rf = 0.63 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 169-170 °C Yield = 75%



To a solution of 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **52** (1.5 g, 7.7 mmol) in dry acetonitrile (25 mL) was added *N*-iodosuccinimide (1.9 g, 8.5 mmol). After stirring for 45 min at room temperature, the reaction mixture was diluted with dichloromethane and the organic layer was washed successively with 10% sodium hydroxide aqueous solution, sodium thiosulfate and water and then dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The resulting solid was suspended in methanol and collected by filtration to give 3-iodo-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **66** as a yellow powder (1.9 g, 75% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.47 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 8.10 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, H_a), 7.67 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₈), 7.55 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.6$ Hz, H_b), 7.47-7.39 (m, 2H, H₇, H_c), 7.12 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 147.46 (C), 146.75 (C), 133.95 (C_d), 128.53 (2C_b), 128.26 (C_c), 128.13 (2C_a), 127.23 (C₅), 126.17 (C₇), 117.10 (C₈), 113.73 (C₆), 63.37 (C₃).

IR (KBr), cm⁻¹: 3038 (vC-H_{ar}); 1499, 1464 (vC=C and vC=N); 723, 694 (vC-I).

MS (ESI), *m/z* (%): 320.9 (100) [M+H]⁺.

General procedure for the synthesis of 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridine 67-79

To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added 2-arylimidazo[1, 2-*a*]pyridine **52** (1.5 mmol, 1 equiv.), (hetero)aryl halides (1.5 mmol, 1 equiv.), palladium(II) acetate (7 mg, 2% mol), tricyclohexylphosphine tetrafluoroborate (22 mg, 4% mol), pivalic acid (46 mg, 0.45 mmol, 0.3 equiv.) and potassium carbonate (318 mg, 2.3 mmol, 1.5 equiv.) in dimethylacetamide (6.0 mL). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 10 min. The suspension was heated at 100 °C for 10 h to 48 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography. Trituration with appropriate solvent afforded 2,3-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridine **67-79**.

2,3-Diphenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (67)

Beige powder $C_{19}H_{14}N_2$ Mr = 270.33 Rf = 0.58 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 149-150 °C Yield = 95%



Method A: To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added 3-iodo-2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **66** (300 mg, 0.94 mmol), phenylboronic acid (229 mg, 1.9 mmol), sodium carbonate (397 mg, 3.7 mmol) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (54 mg, 5% mol) in a mixture of 1,4-dioxane–water (13.5 mL, 2:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was heated at reflux for 12 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate, filtered through Celite® and washed with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (7/3) as eluent to give 2,3-diphenylimidazo[1,2-a]pyridine **67** as a beige powder (236 mg, 93% yield).

Method B: To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol), bromobenzene (158 µL, 1.5 mmol), Pd(OAc)₂ (17 mg, 5% mol), triphenylphosphine (41 mg, 10% mol) and potassium carbonate (427 mg, 3.1 mmol) in a mixture 1,4-dioxane–ethanol (6.0 mL, 2:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 10 min. The suspension was then irradiated at 130 °C for 1 h. After cooling, water was added and the organic layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (7/3) as eluent to afford 2,3-diphenylimidazo[1,2-a]pyridine **67** as a beige powder (154 mg, 37% yield).

Method C: Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (158 μ L, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate (7/3) as eluent to afford 2,3-diphenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **67** as a beige powder (397 mg, 95% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.05 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.71 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.65-7.59 (m, 5H, H_a, H_e, H_f), 7.54 (dd, 2H, ³*J* = 6.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, H_d), 7.38-7.27 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.93 (ddd, 1H, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.15 (C), 141.42 (C), 134.38 (C), 130.86 (2C_d),
129.84 (2C_e), 129.56 (C), 129.25 (C_f), 128.44 (2C_b), 127.62 (2C_a), 127.58 (C_c), 125.37 (C₇),
123.88 (C₅), 120.88 (C), 117.09 (C₈), 112.89 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3061 (vC-H_{ar}); 1508, 1443 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 271.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₄N₂: C, 84.42; H, 5.22; N, 10.36. Found: C, 84.21; H, 5.20; N, 10.52.

2-Phenyl-3-(pyridin-4-yl)imidazo[1,2-a]pyridine (68)

Yellow powder $C_{18}H_{13}N_3$ Mr = 271.32 Rf = 0.08 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 181-182 °C Yield = 95%



Method A: To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added 3-iodo-2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **66** (300 mg, 0.94 mmol), 4-pyridylboronic acid pinacol ester (384 mg, 1.9 mmol), sodium carbonate (397 mg, 3.7 mmol) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (54 mg, 5% mol) in a mixture of 1,4-dioxane–water (13.5 mL, 2:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was heated at reflux for 12 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate, filtered through Celite® and washed with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (3/7) as eluent to give 2,3-diphenylimidazo[1,2-a]pyridine **67** as a beige powder (242 mg, 95% yield).

Method B: Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 4-bromopyridine hydrochloride (292 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether /ethyl acetate (6/4) as eluent and trituration with with diisopropylic ether afforded 2-phenyl-3-(pyridin-4-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **68** as a yellow powder (347 mg, 85% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.78 (d, 2H, ³*J* = 6.0 Hz, H_e), 8.30 (d, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, H₅), 7.75 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.60-7.56 (m, 4H, H_a, H_d), 7.44-7.33 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.99 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 150.98 (2C_e), 144.95 (C), 142.96 (C), 137.47 (C), 133.88 (C), 128.64 (2C_b), 128.12 (2C_d), 128.07 (C_c), 126.19 (C₇), 125.05 (2C_a), 124.21 (C₅), 118.36 (C), 117.25 (C₈), 113.37 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3043 (vC-H_{ar}); 1594, 1507 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 272.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₈H₁₃N₃: C, 79.68; H, 4.83; N, 15.49. Found: C, 79.66; H, 4.89; N, 15.76.

3-(4-Methylphenyl)-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (69)

Beige powder $C_{20}H_{16}N_2$ Mr = 284.35 Rf = 0.48 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 136-137 °C Yield = 45%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 4-bromotoluene (185 µL, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 48 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using cyclohexane as eluent and trituration with petroleum ether afforded 3-(4-methylphenyl)-2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **69** as a beige powder (192 mg, 45% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.03 (d, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, H₅), 7.69 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.65 (d, 2H, ³*J* = 6.8 Hz, H_a), 7.46-7.40 (m, 4H, H_d, H_e), 7.36-7.26 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.92 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆), 2.47 (s, 3H, H_f).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.14 (C), 141.29 (C), 138.78 (C), 134.49 (C), 130.74 (2C_e), 130.51 (2C_d), 128.48 (2C_b), 127.62 (2C_a), 127.58 (C_c), 126.56 (C), 125.32 (C₇), 123.91 (C₅), 120.92 (C), 117.08 (C₈), 112.85 (C₆), 21.22 (C_f).

IR (KBr), cm⁻¹: 3039 (vC-H_{ar}); 1513, 1478 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 285.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₀H₁₆N₂: C, 84.48; H, 5.67; N, 9.85. Found: C, 84.61; H, 5.78; N, 10.37.

3-(4-Methoxyphenyl)-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (70)

Beige powder $C_{20}H_{16}N_2O$ Mr = 300.35 Rf = 0.36 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 129-130 °C Yield = 81%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 1-bromo-4-methoxybenzene (194 µL, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 24 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent and trituration with petroleum ether afforded 3-(4-methoxyphenyl)-2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **70** as a beige powder (376 mg, 81% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 7.99 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, H₅), 7.69-7.65 (m, 3H, H₈, H_a), 7.45 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 8.6 Hz, H_d), 7.36-7.26 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 7.19 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 8.6 Hz, H_e), 6.91 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 7.6 Hz, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz, H₆), 3.89 (s, 3H, H_f).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 159.86 (C-O), 143.96 (C), 141.13 (C), 134.53 (C), 132.31 (2C_d), 128.43 (2C_b), 127.45 (2C_a), 127.43 (C_c), 125.15 (C₇), 123.92 (C₅), 121.37 (C), 120.73 (C), 117.01 (C₈), 115.32 (2C_e), 112.72 (C₆), 55.42 (C_f).

IR (KBr), cm⁻¹: 3040 (vC-H_{ar}); 1609, 1509 (vC=C and vC=N); 1240 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 301.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₀H₁₆N₂O: C, 79.98; H, 5.37; N, 9.33. Found: C, 80.23; H, 5.69; N, 9.34.

4-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)phenol (71)

White powder $C_{19}H_{14}N_2O$ Mr = 286.33 Rf = 0.21 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 296-297 °C Yield = 53%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 4-iodophenyl acetate **81** (394 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 12 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/dichloromethane (1/1) as eluent to afford 4-(2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)phenol **71** as a white powder (228 mg, 53% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.97 (s, 1H, OH), 7.99 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.2$ Hz, H₅), 7.68-7.66 (m, 3H, H₈, H_a), 7.34-7.27 (m, 6H, H₇, H_b, H_c, H_d), 7.01 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, H_e), 6.91 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.2$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 158.31 (C-O), 143.90 (C), 140.94 (C), 134.64 (C), 132.29 (2C_d), 128.45 (2C_b), 127.45 (2C_a), 127.43 (C_c), 125.11 (C₇), 123.98 (C₅), 121.18 (C), 119.61 (C), 117.00 (C₈), 116.77 (2C_e), 112.69 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 2916 (vOH); 1607, 1483 (vC=C and vC=N); 1275, 1234 (vC-O).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 287.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₄N₂O: C, 79.70; H, 4.93; N, 9.78. Found: C, 79.99; H, 4.66; N, 9.59.

4-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)phenyl 2,2dimethylpropanoate (72)

Beige powder $C_{24}H_{22}N_2O_2$ Mr = 370.44 Rf = 0.41 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 184-185 °C Yield = 6%



By-product 4-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)phenyl 2,2-dimethylpropanoate **72**, was obtained from the purification of compound **71** by silica gel chromatography as a beige powder (33 mg, 6% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.08 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.71 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₈), 7.63 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_a), 7.59 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, H_d), 7.39-7.28 (m, 6H, H₇, H_b, H_c, H_c), 6.95 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆), 1.39 (s, 9H, H_f).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 176.47 (C=O), 151.34 (C-O), 144.30 (C), 141.67 (C), 135.84 (C), 134.32 (C), 132.20 (2Cd), 131.76 (C), 128.58 (2Cb), 127.73 (2Ca), 126.95 (Cc), 125.59 (C7), 123.98 (C5), 123.26 (2Ce), 120.14 (C), 117.14 (C8), 113.07 (C6), 26.98 (3C_f).

IR (KBr), cm⁻¹: 3040 (vC-H_{ar}); 1750 (vC=O); 1509, 1478 (vC=C and vC=N); 1203 (vC-O).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 371.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₄H₂₂N₂O₂: C, 77.81; H, 5.99; N, 7.56. Found: C, 78.04; H, 6.11; N, 8.03.

3-(4-Nitrophenyl)-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (73)

Orange powder $C_{19}H_{13}N_3O_2$ Mr = 315.33 Rf = 0.24 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 141-142 °C Yield = 93%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 1-bromo-4-nitrobenzene (304 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 36 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent to afford 3-(4-nitrophenyl)-2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **73** as an orange powder (441 mg, 93% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆), δ **ppm:** 8.43 (d, 2H, ${}^{3}J = 9.0$ Hz, H_e), 8.29 (d, 1H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H₅), 7.84 (d, 2H, ${}^{3}J = 9.0$ Hz, H_d), 7.76 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₈), 7.59 (d, 2H, ${}^{3}J = 6.4$ Hz, H_a), 7.45-7.35 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 7.01 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 147.29 (C), 145.00 (C), 143.11 (C), 136.45 (C), 133.86 (C), 131.89 (2C_d), 128.68 (2C_b), 128.16 (2C_a), 128.08 (C_c), 126.27 (C₇), 124.79 (2C_e), 124.17 (C₅), 118.96 (C), 117.27 (C₈), 113.41 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3024 (vC-H_{ar}); 1516 (v_{as}NO₂); 1345 (v_{sy}NO₂).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 316.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₃N₃O₂: C, 72.37; H, 4.16; N, 13.33. Found: C, 72.27; H, 4.25; N, 13.56.

4-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)benzonitrile (74)

Beige powder $C_{20}H_{13}N_3$ Mr = 295.34 Rf = 0.26 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 186-187 °C Yield = 99%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 4-bromobenzonitrile (274 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 4-(2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)benzonitrile **74** as a beige powder (439 mg, 99% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.22 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.07 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, H_e), 7.77-7.73 (m, 3H, H₈, H_d), 7.58 (d, 2H, ³*J* = 6.8 Hz, H_a), 7.43-7.31 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.98 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*² = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.77 (C), 142.63 (C), 134.48 (C), 133.86 (C), 133.59 (2C_e), 131.66 (2C_d), 128.67 (2C_b), 128.08 (2C_a), 128.04 (C_c), 126.20 (C₇), 124.15 (C₅), 119.36 (CN), 118.82 (C), 117.18 (C₈), 113.37 (C₆), 111.45 (C-CN).

IR (KBr), cm⁻¹: 3038 (vC-H_{ar}); 1604, 1508 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 296.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₀H₁₃N₃: C, 81.34; H, 4.44; N, 14.23. Found: C, 81.51; H, 4.80; N, 14.48.

Ethyl 4-(2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)benzoate (75)

Beige powder $C_{22}H_{18}N_2O_2$ Mr = 342.39 Rf = 0.42 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 140-141 °C Yield = 98%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), ethyl 4-bromobenzoate (245µL, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded ethyl 4-(2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)benzoate **75** as a beige powder (504 mg, 98% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.19 (d, 1H, ${}^{3}J = 7.0$ Hz, H₅), 8.16 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.2$ Hz, H_e), 7.74 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H₈), 7.70 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.2$ Hz, H_d), 7.60 (d, 2H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H_a), 7.42-7.32 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.97 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.0$ Hz, H₆), 4.41 (q, 2H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_f), 1.40 (t, 3H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_g).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 165.58 (C=O), 144.68 (C), 142.32 (C), 134.36 (C), 134.09 (C), 131.07 (2C_d), 130.47 (2C_e), 130.14 (C), 128.63 (2C_b), 127.96 (2C_a), 127.92 (C_c), 125.93 (C₇), 124.08 (C₅), 119.86 (C), 117.23 (C₈), 113.26 (C₆), 61.20 (C_f), 14.40 (C_g).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3035 (vC-H_{ar}); 1714 (vC=O); 1274 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 343.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₂H₁₈N₂O₂: C, 77.17; H, 5.30; N, 8.18. Found: C, 77.12; H, 5.48; N, 8.04.

3-(3,5-Dichlorophenyl)-2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (76)

White powder $C_{19}H_{12}Cl_2N_2$ Mr = 339.22 Rf = 0.60 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 210-211 °C Yield = 68%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 1,3-dichloro-5-iodobenzene (410 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 12 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane as eluent and trituration with methanol afforded 3-(3,5-dichlorophenyl)-2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **76** as a white powder (347 mg, 68% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.19 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.84 (t, 1H, ⁴*J* = 1.6 Hz, H_e), 7.73 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.65 (d, 2H, ⁴*J* = 1.6 Hz, H_d), 7.61 (d, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, H_a), 7.42-7.32 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.98 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.55 (C), 142.40 (C), 135.27 (2C-Cl), 133.86 (C), 133.16 (C), 129.61 (2C_d), 128.87 (C_e), 128.64 (2C_b), 127.96 (C_c), 127.85 (2C_a), 125.96 (C₇), 124.43 (C₅), 118.18 (C), 117.05 (C₈), 113.16 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3036 (vC-H_{ar}); 1590, 1560 (vC=C and vC=N); 776, 750 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 339.0 (100) [M+H]⁺, 341.0 (80) [M+H+2]⁺, 343.0 (15) [M+H+4]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₂Cl₂N₂: C, 67.27; H, 3.57; N, 8.26. Found: C, 67.50; H, 3.23; N, 7.98.

2-Phenyl-3-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (77)

Orange powder $C_{18}H_{13}N_3$ Mr = 271.32 Rf = 0.07 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 128-129 °C Yield = 90%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 3-bromopyridine (221 µL, 2.3 mmol, 1.5 equiv.) and heating for 48 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (7/3) as eluent to afford 2-phenyl-3-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-a]pyridine **77** as an orange powder (367 mg, 90% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.77 (d, 1H, ${}^{3}J = 3.2$ Hz, H_g), 8.69 (s, 1H, H_d), 8.14 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.4$ Hz, H₅), 8.05 (d, 1H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_e), 7.74 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H₈), 7.68-7.58 (m, 3H, H_a, H_f), 7.41-7.32 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.96 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.4$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 151.31 (C_d), 150.02 (C_g), 144.68 (C), 142.62 (C), 138.63 (C_e), 134.07 (C), 128.60 (2C_b), 127.83 (C_c), 127.78 (2C_a), 125.90 (C), 125.84 (C₇), 124.63 (C_f), 124.12 (C₅), 117.72 (C), 117.13 (C₈), 113.13 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3028 (vC-H_{ar}); 1510, 1458 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 272.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₈H₁₃N₃: C, 79.68; H, 4.83; N, 15.49. Found: C, 79.83; H, 4.99; N, 15.12.

2-Phenyl-3-(pyrimidin-5-yl)imidazo[1,2-a]pyridine (78)

Beige powder $C_{17}H_{12}N_4$ Mr = 272.30 Rf = 0.07 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 154-155 °C Yield = 73%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 5-bromopyrimidine (239 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 12 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent to afford 2-phenyl-3-(pyrimidin-5-yl)imidazo[1,2-a]pyridine **78** as a beige powder (299 mg, 73% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 9.37 (s, 1H, H_e), 9.02 (s, 2H, H_d), 8.32 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.76 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₈), 7.58 (d, 2H, ³*J* = 6.8 Hz, H_a), 7.44-7.32 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.99 (ddd, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 0.4 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 158.74 (2C_d), 158.35 (C_e), 145.15 (C), 143.73 (C), 133.73 (C), 128.75 (2C_b), 128.08 (C_c), 128.00 (2C_a), 126.30 (C₇), 124.73 (C), 124.55 (C₅), 117.12 (C₈), 114.62 (C), 113.27 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3040 (vC-H_{ar}); 1560, 1498 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 273.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₇H₁₂N₄: C, 74.98; H, 4.44; N, 20.58. Found: C, 75.11; H, 4.17; N, 20.09.

2-Phenyl-3-(thiophen-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (79)

Beige powder $C_{17}H_{12}N_2S$ Mr = 276.36 Rf = 0.40 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 130-131 °C Yield = 14%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridine **52** (300 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 3-bromothiophene (216 µL, 2.3 mmol, 1.5 equiv.) and heating for 48 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using cyclohexane as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-phenyl-3-(thiophen-3-yl)imidazo[1,2-a]pyridine **79** as a beige powder (58 mg, 14% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.08 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.94 (s, 1H, H_d), 7.89 (d, 1H, ³*J* = 4.4 Hz, H_e), 7.70-7.68 (m, 3H, H₈, H_a), 7.39-7.29 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 7.25 (d, 1H, ³*J* = 4.4 Hz, H_f), 6.96 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.25 (C), 141.89 (C), 134.42 (C), 129.15 (C_f), 129.08 (C), 128.45 (2C_b), 128.19 (C_e), 127.65 (C_c), 127.50 (2C_a), 127.49 (C_d), 125.33 (C₇), 124.33 (C₅), 116.99 (C₈), 116.15 (C), 112.85 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3066 (vC-H_{ar}); 696 (vC-S).

MS (ESI), *m/z* (%): 277.0 (100) [M+H]⁺, 278.0 (25) [M+H+1]⁺, 279.0 (7) [M+H+2]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₇H₁₂N₂S: C, 73.88; H, 4.38; N, 10.14. Found: C, 74.01; H, 4.56; N, 9.88.

4-Iodophenyl acetate (81)

Yellow oil $C_8H_7IO_2$ Mr = 262.04 Rf = 0.81 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Yield = 98%



To a solution of 4-iodophenol **80** (400 mg, 1.8 mmol) in pyridine (0.2 mL) was added dropwise acetic anhydride (205 μ L, 2.2 mmol). After stirring for 12 h at room temperature, dichloromethane was added and the organic layer was washed with water and a saturated sodium bicarbonate aqueous solution. The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using cyclohexane/dichloromethane (1/1) as eluent to give 4-iodophenyl acetate **81** as a yellow oil (467 mg, 98% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 7.79 (d, 2H, ³*J* = 8.6 Hz, H₃), 7.01 (d, 2H, ³*J* = 8.6 Hz, H₂), 2.30 (s, 3H, H_a).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 169.10 (C=O), 150.53 (C-O), 138.36 (2C₃), 124.58 (2C₂), 90.63 (C₄), 20.98 (C_a).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 1757 (vC=O); 1184 (v_{as}C-O); 1165 (v_{sy}C-O); 704, 669 (vC-I).

2-(3-Chlorophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (82)

Beige powder $C_{19}H_{13}ClN_2$ Mr = 304.77 Rf = 0.66 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 143-144 °C Yield = 83%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(3-chlorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **53** (344 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (158 μ L, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 21 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(3-chlorophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **82** as a beige powder (380 mg, 83% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.04 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.72 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.68-7.60 (m, 4H, H_a, H_f, H_g), 7.55-7.51 (m, 3H, H_b, H_e), 7.40-7.35 (m, 3H, H₇, H_c, H_d), 6.95 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.22 (C), 139.70 (C), 136.55 (C), 133.28 (C-Cl), 130.89 (2C_e), 130.40 (C_c), 129.98 (2C_f), 129.59 (C_g), 129.10 (C), 127.37 (C_d), 127.09 (C_a), 125.88 (C₇), 125.82 (C_b), 124.08 (C₅), 121.53 (C), 117.20 (C₈), 113.20 (C₆).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3069 (vC-H_{ar}); 1598, 1506 (vC=C and vC=N); 742 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 305.0 (100) [M+H]⁺, 307.0 (50) [M+H+2]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₃ClN₂: C, 74.88; H, 4.30; N, 9.19. Found: C, 75.01; H, 4.39; N, 9.36.

2-(3,5-Dichlorophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (83)

Beige powder $C_{19}H_{12}Cl_2N_2$ Mr = 339.22 Rf = 0.78 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 155-156 °C Yield = 83%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(3,5-dichlorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **54** (395 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (158 μ L, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(3,5-dichlorophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **83** as a beige powder (423 mg, 83% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.05 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.73 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, H₈), 7.69-7.65 (m, 3H, H_d, H_e), 7.59 (dd, 2H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{4}J = 2.0$ Hz, H_c), 7.55 (d, 2H, ${}^{4}J = 2.0$ Hz, H_a), 7.54 (t, 1H, ${}^{4}J = 2.0$ Hz, H_b), 7.41 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₇), 6.98 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 144.26 (C), 138.17 (C), 137.89 (C), 134.27 (2C-Cl), 130.90 (2C_c), 130.07 (2C_d), 129.87 (C_e), 128.64 (C), 126.86 (C_b), 126.20 (C₇), 125.58 (2C_a), 124.27 (C₅), 122.15 (C), 117.27 (C₈), 113.45 (C₆).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3034 (vC-H_{ar}); 1588, 1561 (vC=C and vC=N); 753 (vC-Cl).

MS (ESI), *m/z* (%): 339.0 (100) [M+H]⁺, 341.0 (83) [M+H+2]⁺, 343.0 (15) [M+H+4]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₂Cl₂N₂: C, 67.27; H, 3.57; N, 8.26. Found: C, 66.95; H, 3.68; N, 8.34.

2-(3,5-Dichlorophenyl)-3-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (84)

Beige powder $C_{18}H_{11}Cl_2N_3$ Mr = 340.21 Rf = 0.18 (ethyl acetate/petroleum ether: 7/3) Mp = 161-162 °C Yield = 69%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(3,5-dichlorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **54** (395 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 3-bromopyridine (145 μ L, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 15 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (8/2) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(3,5-dichlorophenyl)-3-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **84** as a beige powder (353 mg, 69% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.83 (dd, 1H, ${}^{3}J = 5.0$ Hz, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, H_f), 8.76 (d, 1H, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, H_c), 8.15 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 8.10 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, H_d), 7.76 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, H₈), 7.71 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{3}J = 5.0$ Hz, ${}^{4}J = 0.8$ Hz, H_e), 7.58 (t, 1H, ${}^{4}J = 2.0$ Hz, H_b), 7.51 (d, 2H, ${}^{4}J = 2.0$ Hz, H_a), 7.44 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₇), 7.00 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.4$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 151.35 (C_c), 150.61 (C_f), 144.74 (C), 139.38 (C), 138.84 (C_d), 137.61 (C), 134.38 (2C-Cl), 127.15 (C_b), 126.60 (C₇), 125.83 (2C_a), 125.08 (C), 124.74 (C_e), 124.48 (C₅), 118.96 (C), 117.31 (C₈), 113.66 (C₆).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3020 (vC-H_{ar}); 1589, 1561 (vC=C and vC=N); 739 (vC-Cl).

MS (ESI), m/z (%): 340.0 (100) [M+H]⁺, 342.0 (70) [M+H+2]⁺, 343.0 (12) [M+H+3]⁺, 344.0 (12) [M+H+4]⁺.

Elemental analysis: Anal. Calcd for C₁₈H₁₁Cl₂N₃: C, 63.55; H, 3.26; N, 12.35. Found: C, 63.69; H, 3.59; N, 12.54.

2-(2-Fluorophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (85)

Beige powder $C_{19}H_{13}FN_2$ Mr = 288.32 Rf = 0.40 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 119-120 °C Yield = 64%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(2-fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **55** (319 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (189 μ L, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 31 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(2-fluorophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **85** as a beige powder (277 mg, 64% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.33 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.73 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₈), 7.64 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, ${}^{3}J = 7.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, H_b), 7.55-7.38 (m, 7H, H₇, H_d, H_e, H_f, H_g), 7.28 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.8$ Hz, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{4}J = 0.8$ Hz, H_c), 7.19 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, ${}^{4}J = 0.8$ Hz, H_a), 7.08 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 159.40 (d, ${}^{1}J_{CF}$ = 247 Hz, C-F), 144.41 (C), 137.56 (C), 132.29 (d, ${}^{3}J_{CF}$ = 3 Hz, C_b), 130.16 (d, ${}^{3}J_{CF}$ = 8 Hz, C_d), 129.47 (2C_e), 129.33 (2C_f), 129.16 (C_g), 128.58 (C), 125.50 (C₇), 124.49 (C_c), 123.97 (C₅), 122.77 (C), 122.56 (d, ${}^{2}J_{CF}$ = 15 Hz, C), 117.33 (C₈), 115.96 (d, ${}^{2}J_{CF}$ = 22 Hz, C_a), 113.16 (C₆).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3035 (vC-H_{ar}); 1507, 1478 (vC=C and vC=N); 1224 (vC-F).

MS (ESI), *m/z* (%): 289.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₃FN₂: C, 79.15; H, 4.54; N, 9.72. Found: C, 78.87; H, 4.87; N, 9.55.
2-(2-Fluorophenyl)-3-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (86)

Beige powder $C_{18}H_{12}FN_3$ Mr = 289.31 Rf = 0.07 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 133-134 °C Yield = 85%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(2-fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **55** (319 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 3-bromopyridine (145 μ L, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 14 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (6/4) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(2-fluorophenyl)-3-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **86** as a beige powder (370 mg, 85% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.66 (dd, 1H, ³*J* = 5.0 Hz, ⁴*J* = 1.8 Hz, H_h), 8.57 (d, 1H, ⁴*J* = 2.0 Hz, H_e), 8.37 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.96 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, ⁴*J* = 1.8 Hz, H_f), 7.77 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₈), 7.71 (ddd, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, H_b), 7.57 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 5.0 Hz, ⁴*J* = 0.4 Hz, H_g), 7.46-7.41 (m, 2H, H₇, H_d), 7.32 (ddd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H_c), 7.19 (ddd, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, ³*J* = 8.6 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H_a), 7.03 (ddd, 1H, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 159.15 (d, ${}^{1}J_{CF}$ = 246 Hz, C-F), 149.99 (C_e), 149.44 (C_h), 144.93 (C), 138.42 (C), 137.03 (C_f), 132.34 (d, ${}^{3}J_{CF}$ = 6 Hz, C_b), 130.44 (d, ${}^{3}J_{CF}$ = 7 Hz, C_d), 126.01 (C₇), 125.68 (C), 124.75 (C_c), 124.25 (C_g), 124.20 (C₅), 122.07 (d, ${}^{2}J_{CF}$ = 12 Hz, C), 119.74 (C), 117.35 (C₈), 116.06 (d, ${}^{2}J_{CF}$ = 19 Hz, C_a), 113.41 (C₆).

IR (**KBr**), cm⁻¹: 3032 (vC-H_{ar}); 1562, 1491 (vC=C and vC=N); 1224 (vC-F).

MS (ESI), *m/z* (%): 290.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₈H₁₂FN₃: C, 74.73; H, 4.18; N, 14.52. Found: C, 74.84; H, 4.23; N, 14.80.

2-(4-Fluorophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (87)

Yellow oil $C_{19}H_{13}FN_2$ Mr = 288.32 Rf = 0.51 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Yield = 60%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(4-fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **56** (319 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (158 μ L, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 15 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(4-fluorophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **87** as a yellow oil (260 mg, 60% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.05 (d, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, H₅**)**, 7.70 (d, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, H₈**)**, 7.66-7.59 (m, 5H, H_a, H_d, H_e**)**, 7.54 (dd, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, H_c**)**, 7.36 (ddd, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, ³*J* = 7.2 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₇**)**, 7.19 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 8.8 Hz, H_b**)**, 6.94 (ddd, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₆**)**.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 161.76 (d, ${}^{1}J_{CF}$ = 243 Hz, C-F), 144.15 (C), 140.50 (C), 130.89 (2C_c), 130.84 (C), 129.91 (2C_d), 129.49 (d, ${}^{3}J_{CF}$ = 8 Hz, 2C_a), 129.35 (d, ${}^{4}J_{CF}$ = 2 Hz, C), 129.34 (C_e), 125.49 (C₇), 123.93 (C₅), 120.70 (C), 117.05 (C₈), 115.41 (d, ${}^{2}J_{CF}$ = 21 Hz, 2C_b), 112.96 (C₆).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3055 (vC-H_{ar}); 1603, 1477 (vC=C and vC=N); 1221 (vC-F).

MS (ESI), *m/z* (%): 289.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₃FN₂: C, 79.15; H, 4.54; N, 9.72. Found: C, 78.96; H, 4.37; N, 9.91.

2-(4-Fluorophenyl)-3-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (88)

Beige powder $C_{18}H_{12}FN_3$ Mr = 289.31 Rf = 0.11 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 125-126 °C Yield = 56%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(4-fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **56** (319 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 3-bromopyridine (145 μ L, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 15 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(4-fluorophenyl)-3-(pyridin-3-yl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **88** as a beige powder (244 mg, 56% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.78 (dd, 1H, ${}^{3}J = 4.6$ Hz, ${}^{4}J = 1.4$ Hz, H_f), 8.70 (d, 1H, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, H_c), 8.14 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 8.05 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, ${}^{4}J = 1.4$ Hz, H_d), 7.73 (d, 1H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H₈), 7.67 (dd, 1H, ${}^{3}J = 7.8$ Hz, ${}^{3}J = 4.6$ Hz, H_e), 7.61 (dd, 2H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, ${}^{4}J = 5.6$ Hz, H_a), 7.40 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₇), 7.22 (dd, 2H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 8.8$ Hz, H_b), 6.97 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 6.8$ Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 161.89 (d, ${}^{1}J_{CF} = 244$ Hz, C-F), 151.31 (C_c), 150.12 (C_f), 144.66 (C), 141.70 (C), 138.67 (C_d), 130.58 (d, ${}^{4}J_{CF} = 3$ Hz, C), 129.72 (d, ${}^{3}J_{CF} = 9$ Hz, 2C_a), 125.97 (C₇), 125.73 (C), 124.70 (C_e), 124.18 (C₅), 117.60 (C), 117.10 (C₈), 115.60 (d, ${}^{2}J_{CF} = 21$ Hz, 2C_b), 113.20 (C₆).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 2925 (vC-H_{ar}); 1508, 1465 (vC=C and vC=N); 1225 (vC-F).

MS (ESI), *m/z* (%): 290.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₈H₁₂FN₃: C, 74.73; H, 4.18; N, 14.52. Found: C, 74.79; H, 4.00; N, 14.80.

2-(4-Fluorophenyl)-3-(3-nitrophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (89)

Yellow powder $C_{19}H_{12}FN_{3}O_{2}$ Mr = 333.32 Rf = 0.24 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 213-214 °C Yield = 92%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(4-fluorophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **56** (319 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 1-bromo-3nitrobenzene (304 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with a mixture diisopropylic ether-petroleum ether afforded 2-(4-fluorophenyl)-3-(3-nitrophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **89** as a yellow powder (461 mg, 92% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.42-8.40 (m, 2H, H_c, H_f), 8.23 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, H₅), 7.97 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 7.6 Hz, H_d), 7.89 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = ${}^{3}J'$ = 7.6 Hz, H_e), 7.74 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 8.6 Hz, H₈), 7.63 (dd, 2H, ${}^{3}J$ = 8.8 Hz, ${}^{4}J$ = 5.6 Hz, H_a), 7.41 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = 8.6 Hz, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, H₇), 7.21 (dd, 2H, ${}^{3}J$ = ${}^{3}J'$ = 8.8 Hz, H_b), 6.98 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = ${}^{3}J'$ = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 169.72 (C), 161.92 (d, ^{*1*}*J*_{*CF*} = 244 Hz, CF₃), 148.85 (C), 144.60 (C), 141.56 (C), 137.64 (C_d), 131.42 (C_e), 131.00 (C), 130.40 (d, ^{*4*}*J*_{*CF*} = 3 Hz, C), 129.86 (d, ^{*3*}*J*_{*CF*} = 8 Hz, 2C_a), 126.07 (C₇), 125.59 (C_c or C_f), 124.24 (C₅), 123.91 (C_c or C_f), 118.54 (C), 117.11 (C₈), 115.60 (d, ^{*2*}*J*_{*CF*} = 22 Hz, 2C_b), 113.22 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3063 (vC-H_{ar}); 1530 (v_{as}NO₂); 1346 (v_{sy}NO₂); 1222 (vC-F); 840 (vC-N).

MS (ESI), *m/z* (%): 334.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₂FN₃O₂: C, 68.46; H, 3.63; N, 12.61. Found: C, 68.57; H, 3.39; N, 12.71.

Ethyl 4-(3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl)benzoate (91)

Orange powder $C_{22}H_{18}N_2O_2$ Mr = 342.39 Rf = 0.41 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 138-139 °C Yield = 27%



Compound was obtained following the representative procedure, using ethyl 4-(imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)benzoate **57** (400 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (158 µL, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 13 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded ethyl 4-(3-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-2-yl)benzoate **91** as an orange powder (139 mg, 27% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.07 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.91 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.6$ Hz, H_b), 7.77-7.72 (m, 3H, H₈, H_a), 7.66-7.62 (m, 3H, H_f, H_g), 7.56 (dd, 2H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{4}J = 2.0$ Hz, H_e), 7.39 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₇), 6.97 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, ${}^{4}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆), 4.33 (q, 2H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_c), 1.34 (t, 3H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 165.62 (C=O), 144.36 (C), 140.12 (C), 139.02 (C), 130.81 (2C_e), 129.94 (2C_f), 129.51 (C_g), 129.32 (2C_b), 129.10 (C), 128.66 (C), 127.57 (2C_a), 125.87 (C₇), 124.09 (C₅), 122.12 (C), 117.26 (C₈), 113.23 (C₆), 60.80 (C_c), 14.31 (C_d).

IR (KBr), cm⁻¹: 3047 (vC-H_{ar}); 1702 (vC=O); 1277 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 343.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₂H₁₈N₂O₂: C, 77.17; H, 5.30; N, 8.18. Found: C, 77.42; H, 4.88; N, 8.39.

2-(4-Nitrophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (92)

Yellow powder $C_{19}H_{13}N_3O_2$ Mr = 315.33 Rf = 0.40 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 157-158 °C Yield = 15%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(4-nitrophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **58** (360 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (189 μ L, 1.8 mmol, 1.2 equiv.) and heating for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(4-nitrophenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **92** as a yellow powder (71 mg, 15% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.22 (d, 2H, ³*J* = 8.8 Hz, H_b), 8.07 (d, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, H₅), 7.87 (d, 2H, ³*J* = 8.8 Hz, H_a), 7.76 (d, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, H₈), 7.70-7.63 (m, 3H, H_d, H_e), 7.59 (dd, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, H_c), 7.42 (ddd, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 7.2 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₇), 6.99 (ddd, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 146.45 (C), 144.53 (C), 141.11 (C), 139.03 (C), 130.87 (2C_c), 130.11 (2C_d), 129.81 (C_e), 128.77 (C), 128.19 (2C_a), 126.32 (C₇), 124.28 (C₅), 123.89 (2C_b), 123.01 (C), 117.39 (C₈), 113.54 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3093 (vC-H_{ar}); 1506 (v_{as}NO₂); 1337 (v_{sy}NO₂).

MS (ESI), *m*/*z* (%): 316.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₃N₃O₂: C, 72.37; H, 4.16; N, 13.33. Found: C, 72.31; H, 4.28; N, 13.15.

2-(4-Methoxyphenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine (93)

Beige powder $C_{20}H_{16}N_2O$ Mr = 300.35 Rf = 0.31 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 101-102 °C Yield = 81%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(4-methoxyphenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **59** (337 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (158 μ L, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 10 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(4-methoxyphenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **93** as a beige powder (366 mg, 81% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.03 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 7.67 (d, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, H₈), 7.66-7.52 (m, 7H, H_a, H_c, H_d, H_e), 7.33 (ddd, 1H, ³*J* = 8.4 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, H₇), 6.93-6.90 (m, 3H, H₆, H_b), 3.77 (s, 3H, H_f).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 158.90 (C-O), 144.06 (C), 141.43 (C), 130.87 (2C_c), 129.84 (2C_d), 129.76 (C), 129.15 (C_e), 128.84 (2C_a), 126.79 (C), 125.13 (C₇), 123.73 (C₅), 119.93 (C), 116.87 (C₈), 113.94 (2C_b), 112.69 (C₆), 55.23 (C_f).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3047 (vC-H_{ar}); 1608, 1476 (vC=C and vC=N); 1250 (vC-O).

MS (ESI), m/z (%): 301.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₀H₁₆N₂O: C, 79.98; H, 5.37; N, 9.33. Found: C, 80.22; H, 5.55; N, 9.26.

2-(4-Methoxyphenyl)-3-(3-nitrophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine (94)

Orange powder $C_{20}H_{15}N_3O_3$ Mr = 345.35 Rf = 0.15 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 190-191 °C Yield = 67%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(4-methoxyphenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **59** (337 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), 1-bromo-3-nitrobenzene (304 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.) and heating for 21 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with methanol afforded 2-(4-methoxyphenyl)-3-(3-nitrophenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **94** as an orange powder (348 mg, 67% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**)**, δ **ppm:** 8.41-8.39 (m, 2H, H_c, H_f), 8.22 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, H₅), 7.96 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 7.6 Hz, H_d), 7.88 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = ${}^{3}J'$ = 7.6 Hz, H_e), 7.71 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 8.6 Hz, H₈), 7.53 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 8.8 Hz, H_a), 7.38 (ddd, 1H, ${}^{3}J$ = 8.6 Hz, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz, H₇), 6.97-6.92 (m, 3H, H₆, H_b), 3.78 (s, 3H, H_g).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 159.13 (C-O), 148.84 (C), 144.56 (C), 142.50 (C), 137.69 (C_d), 131.42 (C), 131.37 (C_e), 129.15 (2C_a), 126.26 (C), 125.77 (C₇), 125.54 (C_c or C_f), 124.03 (C₅), 123.74 (C_c or C_f), 117.79 (C), 116.95 (C₈), 114.13 (2C_b), 112.98 (C₆), 55.26 (C_g).

IR (KBr), cm⁻¹: 3052 (vC-H_{ar}); 1528 (v_{as}NO₂); 1348 (v_{sy}NO₂); 1257 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 346.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₀H₁₅N₃O₃: C, 69.56; H, 4.38; N, 12.17. Found: C, 69.62; H, 4.33; N, 12.36.

2-(2-Methoxyphenyl)-3-phenylimidazo[1,2-a]pyridine (96)

Beige powder $C_{20}H_{16}N_2O$ Mr = 300.35 Rf = 0.23 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 124-125 °C Yield = 84%



Compound was obtained following the representative procedure, using 2-(2-methoxyphenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine **60** (337 mg, 1.5 mmol, 1 equiv.), bromobenzene (210 μ L, 2.0 mmol, 1.3 equiv.) and heating for 21 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (9/1) as eluent and trituration with diisopropylic ether afforded 2-(2-methoxyphenyl)-3-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridine **96** as a beige powder (379 mg, 84% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.35 (d, 1H, ³*J* = 7.2 Hz, H₅), 7.69 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₈), 7.53-7.47 (m, 3H, H_d, H_f), 7.43-7.33 (m, 5H, H₇, H_b, H_e, H_g), 7.03 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 7.6 Hz, H_c), 6.98-6.96 (m, 2H, H₆, H_a), 3.29 (s, 3H, H_h).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 156.58 (C-O), 144.01 (C), 140.33 (C), 131.78 (C_d), 130.27 (C), 129.55 (C_b), 129.00 (2C_e), 128.87 (2C_f), 127.99 (C_g), 124.75 (C₇), 123.89 (C), 123.63 (C₅), 122.30 (C), 120.42 (C_c), 117.17 (C₈), 112.78 (C₆), 111.61 (C_a), 54.62 (C_h).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3070 (vC-H_{ar}); 1606, 1481 (vC=C and vC=N); 1246 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 301.0 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₀H₁₆N₂O: C, 79.98; H, 5.37; N, 9.33. Found: C, 79.70; H, 5.02; N, 9.39.

4-(2-Phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)phenyl acetate (97)

Beige powder $C_{21}H_{16}N_2O_2$ Mr = 328.36 Rf = 0.21 (ethyl acetate/petroleum ether: 7/3) Mp = 187-188 °C Yield = 63%



At room temperature, acetic anhydride (118 μ L, 1.3 mmol) was added portionwise to a solution of 4-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)phenol **71** (300 mg, 1.0 mmol) in pyridine (1.0 mL). The reaction mixture was stirred for 12 h at room temperature. Water was added and the aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were successively washed with a saturated aqueous solution of sodium bicarbonate, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. Trituration with methanol afforded 4-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)phenyl acetate **97** as a beige powder (218 mg, 63% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.08 (d, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, H₅), 7.71 (d, 1H, ³*J* = 9.2 Hz, H₈), 7.63 (d, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, H_a), 7.59 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, H_d), 7.40 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, H_e), 7.37-7.28 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.95 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 7.0 Hz, H₆), 2.37 (s, 3H, H_f).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 169.21 (C=O), 151.01 (C-O), 149.79 (C), 144.21 (C), 141.66 (C), 134.32 (C), 132.11 (2C_d), 128.48 (2C_b), 127.67 (2C_a), 126.92 (C_c), 125.45 (C₇), 123.96 (C₅), 123.27 (2C_e), 120.08 (C), 117.09 (C₈), 112.95 (C₆), 21.12 (C_f).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3039 (vC-H_{ar}); 1752 (vC=O); 1200 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 329.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₁H₁₆N₂O₂: C, 76.81; H, 4.91; N, 8.53. Found: C, 77.10; H, 4.77; N, 8.57.

4-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)aniline (98)

Orange powder $C_{19}H_{15}N_3$ Mr = 285.34 Rf = 0.12 (ethyl acetate/petroleum ether: 3/7) Mp = 216-217 °C Yield = 81%



Using the H-Cube[®] system in controlled mode, 3-(4-nitrophenyl)-2-phenylimidazo[1,2a]pyridine**73**(1.1 g, 3.5 mmol) was dissolved in a mixture ethanol-tetrahydrofuran (120 mL,5:1) and passed through a cartridge of Raney nickel at room temperature with a flow rate of0.8 mL/min at 10 bars. Afterwards, the solvent was removed under reduced pressure. Thecrude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ethyl acetate(9/1) as eluent to afford 4-(2-phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)aniline**98**as an orangepowder (806 mg, 81% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 7.99 (d, 1H, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, H₅), 7.72 (d, 2H, ${}^{3}J = 7.2$ Hz, H_a), 7.64 (d, 1H, ${}^{3}J = 9.2$ Hz, H₈), 7.35-7.24 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 7.13 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, H_d), 6.89 (ddd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{3}J = 6.8$ Hz, ${}^{4}J = 1.2$ Hz, H₆), 6.78 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.4$ Hz, H_e), 5.53 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 149.67 (C), 143.68 (C), 140.54 (C), 134.86 (C), 131.53 (2C_d), 128.33 (2C_b), 127.33 (2C_a), 127.24 (C_c), 124.79 (C₇), 123.93 (C₅), 121.91 (C), 116.94 (C₈), 115.49 (C), 114.82 (2C_e), 112.43 (C₆).

IR (**KBr**), cm⁻¹: 3321, 3215 (vNH₂); 2922 (vC-H_{ar}); 1607, 1481 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 286.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₁₉H₁₅N₃: C, 79.98; H, 5.30; N, 14.73. Found: C, 79.84; H, 5.56; N, 14.32.

4-(2-Phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)benzamide (99)

Yellow powder $C_{20}H_{15}N_{3}O$ Mr = 313.35 Rf = 0.14 (ethyl acetate/petroleum ether: 7/3) Mp = 277-278 °C Yield = 66%



At room temperature, a solution of hydrogen peroxide in water (35%, 360 μ L) and potassium carbonate (154 mg, 1.1 mmol) were added to a solution of 4-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)benzonitrile **74** (150 mg, 0.51 mmol) in dimethyl sulfoxide (2.0 mL). The reaction mixture was stirred for 12 h at room temperature. Water was added and the precipitate was collected by filtration to give 4-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)benzamide **99** as a yellow powder (105 mg, 66% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.18 (s, 1H, NH₂), 8.14 (d, 1H, ³*J* = 6.8 Hz, H₅), 8.10 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, H_e), 7.72 (d, 1H, ³*J* = 8.8 Hz, H₈), 7.64-7.60 (m, 4H, H_a, H_d), 7.56 (s, 1H, NH₂), 7.40-7.29 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.96 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 167.47 (C=O), 144.44 (C), 141.96 (C), 134.58 (C), 134.22 (C), 132.39 (C), 130.63 (2C_d), 128.86 (2C_e), 128.52 (2C_b), 127.81 (2C_a), 127.74 (C_c), 125.64 (C₇), 124.02 (C₅), 120.16 (C), 117.14 (C₈), 113.06 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3344, 3150 (vNH₂); 1670 (vC=O).

MS (ESI), *m/z* (%): 314.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₀H₁₅N₃O: C, 76.66; H, 4.82; N, 13.41. Found: C, 76.87; H, 4.99; N, 13.16.

4-(2-Phenylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)benzoic acid (100)

White powder $C_{20}H_{14}N_2O_2$ Mr = 314.34 Rf = 0.14 (ethyl acetate/petroleum ether: 7/3) Mp = 341-342 °C Yield = 19%



To a solution of ethyl 4-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)benzoate **75** (200 mg, 0.58 mmol) in ethanol (10 mL) was added a 2M sodium hydroxide aqueous solution (5 mL). After 1.5 h of reflux, the solvent was removed under reduced pressure. Afterwards, the reaction mixture was neutralized by a saturated aqueous ammonium chloride solution, poured into water, extracted with ethyl acetate and washed with brine. The combined organic layers were successively dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/ethanol (98/2) as eluent to give 4-(2-phenylimidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl)benzoic acid **100** as a white powder (35 mg, 19% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.11-8.09 (m, 3H, H₅, H_e), 7.70 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 9.2 Hz, H₈), 7.63 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 7.2 Hz, H_d), 7.47 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 7.6 Hz, H_a), 7.37-7.28 (m, 4H, H₇, H_b, H_c), 6.93 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = ${}^{3}J'$ = 6.8 Hz, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 167.00 (C=O), 144.52 (C), 142.07 (C), 134.17 (C), 133.21 (C), 130.71 (2C_e), 130.56 (2C_d), 130.46 (C), 128.54 (2C_b), 127.85 (2C_a), 127.79 (C_c), 125.73 (C₇), 124.06 (C₅), 120.13 (C), 117.17 (C₈), 113.12 (C₆).

IR (KBr), cm⁻¹: 3422 (vOH); 1701 (vC=O); 1240 (vC-O).

MS (ESI), *m/z* (%): 315.1 (100) [M+H]⁺.

Elemental analysis: Anal. calcd for C₂₀H₁₄N₂O₂: C, 76.42; H, 4.49; N, 8.91. Found: C, 76.69; H, 4.44; N, 8.76.

5-Bromopyrazin-2-amine (102)

Beige powder $C_4H_4BrN_3$ Mr = 174.00 Rf = 0.80 (ethyl acetate) Mp = 110-111 °C Yield = 89%



To a solution of aminopyrazine **101** (20.0 g, 210 mmol) in dry acetonitrile (700 mL) was added *N*-bromosuccinimide (41.2 g, 231 mmol). After stirring for 2 h at room temperature, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane as eluent to give 5-bromopyrazin-2-amine **102** as a beige powder (32.6 g, 89% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 8.06 (s, 1H, H₆), 7.71 (s, 1H, H₃), 6.69 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 155.47 (C₂), 143.73 (C₆), 132.27 (C₃), 123.80 (C₅).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3397, 3302 (vNH₂); 1566, 1530 (vC=C and vC=N); 646 (vC-Br).

MS (ESI), *m/z* (%): 174.9 (100) [M+H]⁺, 176.9 (97) [M+H+2]⁺.

A by-product: 3,5-dibromopyrazin-2-amine (102')

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.17 (s, 1H, H₆), 7.02 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 153.23 (C₂), 143.09 (C₆), 122.94 (C₃), 120.00 (C₅).

6-Bromoimidazo[1,2-a]pyrazine (103)

Beige powder $C_6H_4BrN_3$ Mr = 198.02 Rf = 0.50 (ethyl acetate) Mp = 159-160 °C Yield = 45%



Method A: To a solution of hydrobromic acid 48% (3.4 mL) was added 2-bromo-1,1diethoxyethane (15.5 mL, 101 mmol). The suspension was heated at reflux for 2 h. After cooling at room temperature, sodium bicarbonate (2.4 g, 28.7 mmol) was added in small portions. The resulting suspension was filtered and the precipitate was washed with isopropanol (58.0 mL). 5-Bromopyrazin-2-amine **102** (10.0 g, 57.5 mmol) was added and the reaction mixture was heated at reflux for 3 h. The suspension was cooled to 0 °C and filtered. The precipitate was washed with cold isopropanol (15.0 mL) and dried under vacuum. Water was added (58.0 mL) and the suspension was treated portionwise with potassium carbonate (7.9 g, 57.5 mmol). After stirring for 30 min, the resulting solid was collected by filtration and the precipitate was washed with water and ethanol. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (5/5) as eluent to afford 6bromoimidazo[1,2-a]pyrazine **103** as a beige powder (5.1 g, 45% yield).

Method B: To a solution of 5-bromopyrazin-2-amine **102** (10.0 g, 57.5 mmol) in dimethylformamide (50 mL) was added an aqueous solution of chloroacetaldehyde 50% (9.0 mL, 69.0 mmol). The reaction mixture was heated at reflux for 23 h. After cooling, water was added and the reaction mixture was neutralized with an aqueous saturated solution of sodium bicarbonate. The organic layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/ethanol (99/1) as eluent to afford 6-bromoimidazo[1,2-*a*]pyrazine **103** as a beige powder (5.5 g, 48% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆), δ **ppm:** 9.02 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 1.0 Hz, H₂), 8.99 (s, 1H, H₈), 8.16 (s, 1H, H₅), 7.92 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 1.0 Hz, H₃).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 142.47 (C₈), 139.62 (C_{8a}), 136.84 (C₃), 121.99 (C₆), 120.91 (C₂), 115.44 (C₅).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3040 (vC-Har); 1601, 1487 (vC=C and vC=N); 640 (vC-Br).

MS (ESI), *m/z* (%): 199.0 (100) [M+H]⁺, 201.0 (97) [M+H+2]⁺.

General procedure for the synthesis of monosubstituted ureas 106 and 107

To a vial microwave tube with a magnetic stir bar was added the amine (200 mg, 1 equiv.) in a mixture 1 N hydrochloric acid aqueous solution–water (2.7 mL, 2:1) and then potassium cyanate (5.0 equiv.). The reaction vessel was sealed and subjected to microwave irradiation for 15 to 30 min at 80 °C at 80 W. After cooling, the precipitate was collected by filtration and washed with hexane and diethyl ether. The resulting solid was dissolved in methanol and the precipitate was filtered. The organic extract was concentrated under vacuum to give the urea.

1-Benzylurea (106)

White powder $C_8H_{10}N_2O$ Mr = 150.18 Rf = 0.27 (ethyl acetate) Mp = 174-175 °C Yield = 89%



Compound **106** was obtained following the general procedure, using benzylamine **104** (175 μ L, 1.6 mmol, 1.0 equiv.), potassium cyanate (647 mg, 8.0 mmol, 5.0 equiv.) and heating for 30 min. Solvent was evaporated to afford 1-benzylurea **106** as a white powder (213 mg, 89% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**)**, δ **ppm:** 7.35 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 7.6 Hz, H₃), 7.29-7.24 (m, 3H, H₄, H₂), 6.47 (t, 1H, ³*J* = 5.8 Hz, NH), 5.57 (s, 2H, NH₂), 4.21 (d, 2H, ³*J* = 5.8 Hz, H_a).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 158.85 (C=O), 141.12 (C₁), 128.36 (2C₃), 127.18 (2C₂), 126.69 (C₄), 42.98 (C_a).

IR (**KBr**), cm⁻¹: 3428, 3327 (νNH₂); 1643 (νC=O); 1597 (δNH₂); 1555 (δC-N-H).

MS (ESI), m/z (%): 151.0 (100) [M+H]⁺.

1-Phenylurea (107)

White powder $C_7H_8N_2O$ Mr = 136.15 Rf = 0.49 (ethyl acetate) Mp = 138-139 °C Yield = 65%



Compound **107** was obtained following the general procedure, using aniline **105** (146 μ L, 1.6 mmol, 1.0 equiv.), potassium cyanate (649 mg, 8.0 mmol, 5.0 equiv.) and heating for 15 min. Solvent was evaporated to afford 1-phenylurea **107** as a white powder (142 mg, 65% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), \delta ppm:** 8.60 (s, 1H, NH), 7.43 (dd, 2H, ³*J* = 8.6 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₂), 7.24 (dd, 2H, ³*J* = 8.6 Hz, ³*J* = 8.0 Hz, H₃), 6.92 (dd, 1H, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, H₄), 5.90 (s, 2H, NH₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 156.16 (C=O), 140.75 (C₁), 128.74 (2C₃), 121.17 (C₄), 117.86 (2C₂).

IR (**KBr**), cm⁻¹: 3420, 3308 (νNH₂); 1649 (νC=O); 1612 (δNH₂); 1589 (δC-N-H).

MS (ESI), *m/z* (%): 136.9 (100) [M+H]⁺.

General procedure for the synthesis of ureas 108-109 and 111-114

To a solution of crude imidazo[1,2-a]pyrazin-6-amine **110** (339 mg, 2.5 mmol, 1 equiv.) in dimethylformamide (8 mL) was added isocyanate (3.0 mmol, 1.2 equiv.). The suspension was stirred at room temperature for 16 to 24 h. The solvent was removed under reduced pressure and the crude materiel was purified by silica gel chromatography.

1-Benzyl-3-(imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urea (108)





Method A: To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added 6-bromoimidazo[1,2-a]pyrazine **103** (200 mg, 1.0 mmol), 1-benzylurea **106** (152 mg, 1.0 mmol), sodium *tert*-butoxide (136 mg, 1.4 mmol), palladium (II) acetate (7 mg, 3% mol) and Xantphos (35 mg, 6% mol) in a mixture of 1,4-dioxane–water (3.0 mL, 11:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was heated at reflux for 6 h. After cooling, water was added and the organic layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (6/4) as eluent to afford 1-benzyl-3-(imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urea **108** as a beige powder (73 mg, 27% yield).

Method B: Compound was obtained following the general procedure, using benzyl isocyanate (377 μ L, 3.0 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 2 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/ethanol (99/1) as eluent to afford 1-benzyl-3-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)urea **108** as a beige powder (223 mg, 33% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.02 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 1.6 Hz, H₂), 8.93 (s, 1H, NH), 8.88 (s, 1H, H₈), 8.20 (s, 1H, H₅), 7.78 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 1.6 Hz, H₃), 7.40-7.35 (m, 4H, H_b, H_c), 7.29 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = ${}^{3}J'$ = 8.8 Hz, H_d), 7.04 (t, 1H, ${}^{3}J$ = 5.8 Hz, NH), 4.38 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 5.8 Hz, H_a).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 154.75 (C=O), 140.92 (C₈), 140.14 (C), 138.73 (C), 138.66 (C), 135.80 (C₃), 128.54 (2C_c), 127.35 (2C_b), 127.02 (C_d), 115.48 (C₅), 105.86 (C₂), 42.91 (C_a).

IR (**KBr**), **cm**⁻¹: 3300 (νNH); 2968 (νC-Har); 1661 (νC=O); 1626 (δNH₂); 1549, 1504 (νC=C and νC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 268.1 (100) [M+H]⁺.

1-(Imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)-3-phenylurea (109)

White powder $C_{13}H_{11}N_5O$ Mr = 253.26 Rf = 0.29 (ethyl acetate) Mp > 350 °C Yield = 15%



Method A: To a 10 mL vial with a magnetic stir bar was added 6-bromoimidazo[1,2*a*]pyrazine **103** (200 mg, 1.0 mmol), 1-phenylurea **107** (165 mg, 1.2 mmol), sodium *tert*butoxide (136 mg, 1.4 mmol), palladium (II) acetate (7 mg, 3% mol) and Xantphos (35 mg, 6% mol) in a mixture of 1,4-dioxane–water (3.0 mL, 11:1). The vial was sealed and purged with argon through the septum inlet for 5 min. The suspension was heated at reflux for 6 h. After cooling, water was added and the organic layer was extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using petroleum ether/ ethyl acetate (7/3) as eluent to afford 1-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)-3phenylurea **109** as a white powder (51 mg, 20% yield).

Method B: Compound was obtained following the general procedure, using phenyl isocyanate (330 μ L, 3.0 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/ethanol (99/1) as eluent to afford 1-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)-3-phenylurea **109** as a white powder (96 mg, 15% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆), δ **ppm:** 9.10 (s, 1H, H₂), 9.04-9.03 (m, 2H, NH), 8.93 (s, 1H, H₈), 8.26 (s, 1H, H₅), 7.81 (s, 1H, H₃), 7.51 (d, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, H_a), 7.35 (dd, 2H, ³*J* = ³*J*' = 7.2 Hz, H_b), 7.04 (dd, 1H, ³*J* = ³*J*' = 7.2 Hz, H_c).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 152.01 (C=O), 141.16 (C₈), 139.42 (C), 138.83 (C), 138.02 (C), 135.96 (C₃), 129.10 (2C_b), 122.38 (C_c), 118.31 (2C_a), 115.72 (C₅), 106.47 (C₂).

IR (KBr), cm⁻¹: 3298 (vNH); 3042 (vC-Har); 1715 (vC=O); 1549, 1497 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 254.1 (100) [M+H]⁺.

Imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-amine (110)

Yellow oil $C_6H_6N_4$ Mr = 134.14



In a sealed tube with a magnetic stir bar was added 6-bromoimidazo[1,2-*a*]pyrazine **103** (500 mg, 2.5 mmol), copper (II) sulfate pentahydrate (946 mg, 3.8 mmol) in a 25% aqueous ammonia solution (25 mL). The suspension was heated at 90 °C for 2 h. After cooling, the resulting mixture was diluted with ethyl acetate. Water was added and the organic layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was used without further purification.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 8.70 (s, 1H, H₈), 7.93 (s, 1H, H₅), 7.64 (d, 2H, ³J = 1.0 Hz, H₂, H₃), 5.41 (s, 2H, NH₂).

MS (ESI), *m/z* (%): 134.9 (100) [M+H]⁺.

1-(Imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)-3-(4-methoxyphenyl)urea (111)

Beige powder $C_{14}H_{13}N_5O_2$ Mr = 283.29 Rf = 0.28 (ethyl acetate) Mp = 230-231 °C Yield = 23%



Compound was obtained following the general procedure, using 4-methoxyphenyl isocyanate (393 μ L, 3.0 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 15 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/ethanol (99/1) as eluent to afford 1-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)-3-(4-methoxyphenyl)urea **111** as a beige powder (165 mg, 23% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.08 (d, 1H, ${}^{3}J = 1.0$ Hz, H₂), 8.94-8.92 (m, 2H, H₈, NH), 8.86 (s, 1H, NH), 8.24 (s, 1H, H₅), 7.80 (d, 1H, ${}^{3}J = 1.0$ Hz, H₃), 7.42 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H_a), 6.93 (d, 2H, ${}^{3}J = 8.8$ Hz, H_b), 3.76 (s, 3H, H_c).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 154.87 (C), 152.17 (C), 141.11 (C₈), 138.81 (C), 138.19 (C), 135.92 (C₃), 132.42 (C), 120.12 (2C_a), 115.66 (C₅), 114.29 (2C_b), 106.29 (C₂), 55.37 (C_c).

IR (KBr), cm⁻¹: 3339 (vNH); 2957 (vC-Har); 1703 (vC=O); 1555, 1504 (vC=C and vC=N); 1236 (v_{as}C-O-C); 1038 (v_{sv}C-O-C).

MS (ESI), *m/z* (%): 284.1 (100) [M+H]⁺.

1-(Imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)-3-(3-methoxyphenyl)urea (112)

Yellow powder $C_{14}H_{13}N_5O_2$ Mr = 283.29 Rf = 0.27 (ethyl acetate) Mp = 236-237 °C Yield = 22%



Compound was obtained following the general procedure, using 3-methoxyphenyl isocyanate (400 μ L, 3.0 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 2 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/ethanol (99/1) as eluent to afford 1-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)-3-(3-methoxyphenyl)urea **112** as a yellow powder (158 mg, 22% yield).

¹**H NMR** (**400 MHz, DMSO-***d*₆), δ **ppm:** 9.11 (d, 1H, ${}^{3}J = 1.2$ Hz, H₂), 9.05 (s, 1H, NH), 9.01 (s, 1H, NH), 8.93 (s, 1H, H₈), 8.26 (s, 1H, H₅), 7.81 (d, 1H, ${}^{3}J = 1.2$ Hz, H₃), 7.29 (s, 1H, H_a), 7.24 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 8.0$ Hz, H_c), 6.95 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, H_d), 6.63 (dd, 1H, ${}^{3}J = 8.0$ Hz, ${}^{4}J = 1.6$ Hz, H_b), 3.78 (s, 3H, H_e).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 159.93 (C), 151.94 (C), 141.15 (C₈), 140.64 (C), 137.94 (C), 137.86 (C), 135.96 (C₃), 129.86 (C_c), 115.75 (C₅), 110.59 (C_d), 107.92 (C_b), 106.53 (C₂), 103.95 (C_a), 55.12 (C_e).

IR (KBr), cm⁻¹: 3321 (vNH); 3099 (vC-Har); 1713 (vC=O); 1545, 1491 (vC=C and vC=N).

MS (ESI), *m/z* (%): 284.1 (100) [M+H]⁺.

1-(3-Chlorophenyl)-3-(imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)urea (113)

Beige powder $C_{13}H_{10}ClN_5O$ Mr = 287.70 Rf = 0.27 (ethyl acetate) Mp = 255-256 °C Yield = 22%



Compound was obtained following the general procedure, using 3-chlorophenyl isocyanate (367 μ L, 3.0 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 30 min. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (6/4) as eluent to afford 1-(3-chlorophenyl)-3-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)urea **113** as a beige powder (157 mg, 22% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.23 (s, 1H, NH), 9.11-9.10 (m, 2H, H₂, NH), 8.94 (s, 1H, H₈), 8.26 (s, 1H, H₅), 7.82-7.80 (m, 2H, H₃, H_a), 7.37 (dd, 1H, ${}^{3}J = {}^{3}J' = 7.6$ Hz, H_c), 7.30 (dd, 1H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, ${}^{4}J = 1.4$ Hz, H_d), 7.10 (dt, 1H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, ${}^{4}J = 1.4$ Hz, H_d), 7.10 (dt, 1H, ${}^{3}J = 7.6$ Hz, ${}^{4}J = 1.4$ Hz, H_b).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 151.89 (C=O), 141.18 (C₈), 140.94 (C), 138.85 (C), 137.74 (C), 136.02 (C₃), 133.47 (C), 130.71 (C_c), 122.01 (C_b), 117.72 (C_a), 116.81 (C_d), 115.76 (C₅), 106.80 (C₂).

MS (ESI), *m/z* (%): 288.1 (100) [M+H]⁺, 290.0 (34) [M+H+2]⁺.

1-[4-(Benzyloxy)phenyl]-3-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)urea (114)

Orange powder $C_{20}H_{17}N_5O_2$ Mr = 359.38 Rf = 0.33 (ethyl acetate) Mp = 203-204 °C Yield = 14%



Compound was obtained following the general procedure, using 4-benzyloxyphenyl isocyanate (683 mg, 3.0 mmol, 1.2 equiv.) and stirring for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography using dichloromethane/ethanol (99/1) as eluent to afford 1-[4-(benzyloxy)phenyl]-3-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)urea **114** as an orange powder (127 mg, 14% yield).

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 9.08 (s, 1H, H₂), 8.95-8.92 (m, 2H, H₈, NH), 8.88 (s, 1H, NH), 8.24 (s, 1H, H₅), 7.80 (s, 1H, H₃), 7.49-7.34 (m, 7H, H_a, H_d, H_e, H_f), 7.01 (d, 2H, ³*J* = 8.8 Hz, H_b), 5.11 (s, 2H, H_c).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 153.92 (C), 152.16 (C), 141.12 (C₈), 138.81 (C), 138.18 (C), 137.44 (C), 135.93 (C₃), 132.66 (C), 128.59 (2C_e), 127.94 (C_f), 127.82 (2C_d), 120.07 (2C_a), 115.67 (C₅), 115.31 (2C_b), 106.30 (C₂), 69.59 (C_c).

IR (KBr), cm⁻¹: 3219 (vNH); 3040 (vC-Har); 1680 (vC=O); 1564, 1495 (vC=C and vC=N); 1213 (v_{as}C-O-C); 1024 (v_{sv}C-O-C).

MS (ESI), *m/z* (%): 360.1 (100) [M+H]⁺.

1-(Imidazo[1,2-a]pyrazin-6-yl)-3-(4-methoxybenzyl)urea (115)

White powder $C_{15}H_{15}N_5O_2$ Mr = 297.31 Rf = 0.23 (ethyl acetate) Mp = 193-194 °C Yield = 11%



Method A: To a solution of crude imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-amine **110** (339 mg, 2.5 mmol) in dry dichloromethane (50.0 mL) was added triethylamine (12.3 mL, 88.5 mmol). The suspension was cooled to 0 °C and triphosgene (825 mg, 2.8 mmol) was added. After stirring at room temperature for 1 h, 4-methoxybenzylamine (693 μ L, 5.3 mmol) was added and the suspension was heated at reflux for 7 h. Water was added and the organic layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with water, dried over sodium sulfate, filtered, concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (7/3) as eluent to give 1-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)-3-(4-methoxybenzyl)urea **115** as a white powder (38 mg, 5% yield).

Method B: To a solution of 4-nitrophenyl (4-methoxybenzyl)carbamate **45** (1.5 g, 5.1 mmol) in dry tetrahydrofuran (75.0 mL) was added crude imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-amine **110** (339 mg, 2.5 mmol) and triethylamine (70.3 μ L, 0.51 mmol). The reaction mixture was purged with argon through the septum inlet for 5 min and the suspension was then heated at 60 °C for 16 h. The solvent was then removed under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography using ethyl acetate/petroleum ether (7/3) as eluent to give 1-(imidazo[1,2-*a*]pyrazin-6-yl)-3-(4-methoxybenzyl)urea **115** as a white powder (85 mg, 11% yield).

¹**H NMR (400 MHz, DMSO-***d*₆**), δ ppm:** 9.02 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 1.6 Hz, H₂), 8.88-8.87 (m, 2H, H₈, NH), 8.21 (s, 1H, H₅), 7.77 (d, 1H, ${}^{3}J$ = 1.6 Hz, H₃), 7.28 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 8.4 Hz, H_b), 6.96-6.93 (m, 3H, H_c, NH), 4.30 (d, 2H, ${}^{3}J$ = 5.6 Hz, H_a), 3.77 (s, 3H, H_d).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ ppm: 158.45 (C), 154.68 (C), 140.92 (C₈), 138.68 (C), 135.80 (C₃), 132.01 (C), 128.75 (2C_b), 128.29 (C), 115.48 (C₅), 113.96 (2C_c), 105.80 (C₂), 55.25 (C_d), 42.38 (C_a).

IR (KBr), cm⁻¹: 3310 (vNH); 2957 (vC-Har); 1697 (vC=O); 1531, 1512 (vC=C and vC=N); 1234 (v_{as}C-O-C); 1032 (v_{sy}C-O-C).

MS (ESI), *m/z* (%): 298.1 (100) [M+H]⁺.

VI-Conclusion et perspectives de recherche

L'objectif de ces travaux consistait à concevoir de nouveaux composés hétérocycliques, de structures imidazo[1,2-*a*]pyridine et imidazo[1,2-*a*]pyrazine, à visées antifongique et antileishmanienne. Un mécanisme d'action biologique original, ciblant les kinases fongiques et parasitaires, était notamment recherché.

Les différentes approches menées lors de ces travaux ont permis la synthèse et l'évaluation pharmacologique de 58 molécules finales.

L'accès aux composés cibles a été envisagé par des méthodes classiques d'hétérocyclisation à partir de 2-aminopyridines et 2-aminopyrazines convenablement substituées. Enfin, la fonctionnalisation des imidazo[1,2-a]azines a été réalisée par différentes réactions pallado-catalysées dont certains rendements sont cependant à optimiser. Enfin, nous avons développé une bibliothèque des 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridines par la mise au point d'une réaction d'arylation directe en position 3 de 2-arylimidazo[1,2-a]pyridines.

Les résultats de l'évaluation biologique sur les souches de *Candida albicans* et d'*Aspergillus fumigatus* ont malheureusement été décevants, puisque qu'aucune molécule ne s'est montrée active, ne permettant pas l'étude sur les kinases fongiques.

De manière très intéressante, la série 2,3-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridine a permis d'obtenir des composés anti-leishmaniens très actifs sur *L. major*, dont deux très prometteurs avec une faible cytotoxicité. Une étude de la cible parasitaire a pu mettre en évidence l'implication potentielle de la kinase *Lm*CK1 dans l'activité anti-promastigote ; cependant cette hypothèse n'a pu être validée au stade amastigote. D'autres cibles sont donc à étudier. Le caractère lipophile des molécules joue également un rôle important dans l'activité biologique.

Compte tenu de l'implication de l'équipe IICiMed au niveau du «Cancéropôle Grand-Ouest» et de la structure des molécules qui étaient susceptibles de se comporter comme des inhibiteurs de kinases ATP-compétitifs, nous avons évalué les composés sur différentes kinases disponibles sur la plate-forme d'évaluation. Malheureusement, aucune activité n'a pu être mise en évidence.

En gardant les hétérocycles imidazo[1,2-*a*]azines décrits dans ce mémoire, l'ensemble des résultats nous conduit à envisager les substitutions sur des positions différentes des hétérocyles pour faire émerger une interaction entre les molécules synthétisées et les protéines-cibles potentielles. En ce qui concerne les kinases fongiques et parasitaires, la

difficulté réside dans le fait que très peu de données cristallographiques sont disponibles dans la littérature, limitant ainsi une approche de conception rationnelle.

Cependant, les résultats anti-leishmaniens très prometteurs en serie 2,3diarylimidazo[1,2-*a*]pyridine nous incitent à poursuivre le pharmacomodulation, notamment par fonctionnalisation de la partie pyridinique, afin d'augmenter l'interaction avec la protéine *Lm*CK1 déjà observée pour 3 molécules, au stade promastigote (Schéma 124). Une meilleure sélectivité vis-à-vis de la CK1 de mammifère est également à développer. La modulation envisagée aura, suivant le type de substituant introduit, un impact sur les caractéristiques physicochimiques des molécules et ainsi sur l'activité biologique comme l'ont montré les résultats préliminaires.



Schéma 124 : Pharmacomodulations envisagées en série 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridine

VII-Bibliographie

1- T. Hunter, Protein kinases and phosphatases: The Yin and Yang of protein phosphorylation and signaling, *Cell*, **1995**, *80*, 225-236.

2- G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, The protein kinase complement of the human genome, *Sciences*, **2002**, *298*, 1912-1934.

3- www.cellsignal.com

4- S. R. Hubbard, J. H. Till, Protein tyrosine kinase structure and function, *Annu. Rev. Biochem.*, 2000, 69, 373-398.

5- M. K. Paul, A. K. Mukhopadhyay, Tyrosine kinase-Role and significance in cancer, *Int. J. Med. Sci.*, **2004**, *1*, 101-115.

6- D. S. Lawrence, J. Niu, Protein kinase inhibitors: the tyrosine-specific protein kinase, *Pharmacol. Ther.*, **1998**, *77*, 81-114.

7- D. A. Johnson, P. Akamine, E. Radzio-Andzelm, Madhusudan, S. S. Taylor, Dynamics of cAMP-Dependent Protein Kinase, *Chem. Rev.*, **2001**, *101*, 2243-2270.

8- Y. Nishizuka, Protein kinases 5: Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses, *FASEB J.*, **1995**, *9*, 484-496.

9- A. C. Newton, Protein kinase C: Structure, function, and regulation, *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 28495-28498.

10- P. J. Gallagher, B. P. Herring, J. T. Stull, Myosin light chain kinases, *J. Muscle. Res. Cell Motil.*, 1997, 18, 1-16.

11- A. Hudmon, H. Schulman, Neuronal Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase: the role of structure and autoregulation in cellular function, *Annu. Rev. Biochem.*, **2002**, *71*, 473-510.

12- R. J. Colbra, A. M. Brown, Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and synaptic plasticity, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **2004**, *14*, 318-327.

13- M. Malumbres, E. Harlow, T. Hunt, T. Hunter, J. M. Lahti, G. Manning, D. O. Morgan,
L. H. Tsai, D. J. Wolgemuth, Cyclin-dependent kinases: a family portrait, *Nat. Cell Biol.*,
2009, 11, 1275-1276.

14- P. T. Brinkkoetter, J. F. Pippin, S. J. Shankland, CyclinI-Cdk5 governs survival in postmitotic cells, *Cell Cycle*, **2010**, *9*, 1729-1731.

15- M. Qi, E. A. Elion, MAP kinase pathways, J. Cell Sci., 2005, 118, 3569-3572.

16- E. Roman, D. M. Arana, C. Nombela, R. Alonso-Monge, J. Pla, MAP kinase pathways as regulators of fungal virulence, *Trends*, **2007**, *15*, 181-190.

17- G. Pearson, F. Robinson, T. Beers Gibson, B. E Xu, M. Karandikar, K. Berma, M. H. Cobb, Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions, *Endocr. Rev.*, **2001**, *22*, 153-183.

18- C. Dong, R. J. Davis, R. A. Flavell, MAP kinases in the immune response, *Annu. Rev. Immunol.*, 2002, 20, 55-72.

19- J. R. Woodgett, EMBO J., 1990, 9, 2431-2438.

20- D. D. Williams, O. Marin, L. A. Pinna, C. G. Proud, Phosphorylated seryl and threonyl, but not tyrosyl, residues are efficient specificity determinants for GSK-3 β and Shaggy, *FEBS Lett.*, **1999**, *448*, 86-90.

21- H. Eldar-Finkelma, E. G. Krebs, Phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by glycogen synthase kinase 3 impairs insulin action, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1997**, *94*, 9660-9664.

22- S. Himpel, W. Tegge, R. Frank, S. Ledder, H. G. Joost, W. Becker, Specificity determinants of substrate recognition by the protein kinase DYRK1A, *J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*, 2431-2435.

23- J. K. Cheong, D. M. Virshup, Casein kinase 1: complexity in the family, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2011, *43*, 465-469.

24- U. Knippschild, A. Gocht, S. Wolff, N. Huber, J. Löhler, M. Stöter, The casein kinase 1 family: participation in multiple cellular processes in eukaryotes, *Cell. Signal.*, **2005**, *17*, 675-689.

25- M. Gallego, D. M. Virshup, Post-translational modifications regulate the ticking of the circadian clock, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **2007**, *8*, 139-148.

26- M. A. Price, CKI, there's more than one: casein kinase I family members in Wnt and Hedgehog signaling, *Genes Dev.*, **2006**, *20*, 399-410.

27- J. Liu, L. P. Carvalho, S. Bhattacharya, C. J. Carbone, K. G. Kumar, N. A. Leu, Mammalian casein kinase 1α and its leishmanial ortholog regulate stability of IFNAR1 and type I interferon signaling, *Mol. Cell. Biol.*, **2009**, *29*, 6401-6412.

28- Association Française Des Enseignants de Parasitologie, Parasitologie, Mycologie, Ed. C.R., 2002, 494 pages.

29- Institut de Veille Sanitaire, Prévalence et caractéristiques des patients traités par antifongiques dans les établissements de santé, France, 2006, *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 2009, *31-32*, 353-356.

30- G. Xie, X. Fang, Q. Fang, X. Wu, Y. Jin, J. Wang, Q. Guo, M. Gu, Q. Xu, D. Wang, Impact of invasive fungal infection on outcomes of severe sepsis: a multicenter matched cohort study in critically ill surgical patients, *Crit. Care*, **2008**, *12*, R5.

31- B. C. Monk, A. Goffeau, Outwitting multidrug resistance to antifungals, *Science*, **2008**, *321*, 367-369.

32- M. A. Pfaller, D. J. Diekema, Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem, *Clin. Microbiol. Rev.*, **2007**, *20*, 133-163.

33- M. K. Kathiravan, A. B. Salake, A. S. Chothe, P. B. Dudhe, R. P. Watode, M. S. Mukta, S. Gadhwe, The biological and chemistry of antifungal agents: a review, *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, *20*, 5678-5698.

34- Infections fongiques : résistances, nouvelles modalités thérapeutiques, Ed. optimed, 2003, 170 pages.

35- M. A. Ghannoum, L. B. Rice, Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance, *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**, *12*, 501-517.

36- J. Brajtburg, W. G. Powderly, G. S. Kobayashi, G. Medoff, Amphotericin B: current understanding of mechanisms of action, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1990**, *34*, 183-188.

37- G. R. Thompson, J. Cadena, T. F. Patterson, Overview of antifungal agents, *Clin. Chest Med.*, **2009**, *30*, 203-215.

38- D. W. Denning, W. W. Hope, Therapy for fungal diseases: opportunities and priorities, *Trends Microbiol.*, **2010**, *18*, 195-204.

39- H. Kakeya, Y. Miyazaki, H. Senda, T. Kobayashi, M. Seki, K. Izumikawa, K. Yanagihara, Y. Yamamoto, T. Tashiro, S. Kohno, Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2008**, *52*, 1868-1870.

40- F. C. Odds, A. J. P. Brown, N. A. R. Gow, Antifungal agents: mechanisms of action, *Trends Microbiol.*, **2003**, *11*, 272-279.

41- M. D. Johnson, C. MacDougall, L. Ostrosky-Zeichner, J. R. Perfect, J. H. Rex, Combination antifungal therapy, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, *48*, 693-715.

42- D. J. Sheehan, C. A. Hitchcock, C. M. Sibley, Current and emerging azole antifungal agents, *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**, *12*, 40-79.

43- R. Guillon, F. Giraud, C. Logé, M. Le Borgne, C. Picot, F. Pagniez, P. Le Pape, Design of new antifungal agents: synthesis and evaluation of 1-[(1*H*-indol-5-ylmethyl)amino]-2-phenyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 5833-5836.

44- F. Morio, C. Logé, B. Besse, C. Hennequin, P. Le Pape, Screening for amino acid substitutions in the *Candida albicans* Erg11 protein of azole-susceptible and azole-resistant clinical isolates: new substitutions and a review of the literature, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2010**, *66*, 373-384.

45- M. A. Pfaller, S. A. Messer, L. Boyken, C. Rice, S. Tendolkar, R. J. Hollis, D. J. Diekema, *In vitro* survey of triazole cross-resistance among more than 700 clinical isolates of *Aspergillus* species, *J. Clin. Microbiol.*, **2008**, *46*, 2568-2572.

46- F. Morio, G. G. Aubin, I. Danner-Boucher, A. Haloun, E. Sacchetto, D. Garcia-Hermoso, S. Bretagne, M. Miegeville, P. Le Pape, High prevalence of triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*, especially mediated by TR/L98H, in a French cohort of patients with cystic fibrosis, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2012**, *67*, 1870-1873.

47- A. Georgopoulos, G. Petranyi, H. Mieth, J. Drews, *In vitro* activity of naftifine, a new antifungal agent, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1981**, *19*, 386-389.

48- G. Petranyi, J. G. Meingassner, H. Mieth, Antifungal activity of the allylamine derivative terbinafine *in vitro*, *Antimicrob*. *Agents Chemother.*, **1987**, *31*, 1365-1368.

49- N. Ryder, B. Favre, Antifungal activity and mechanism of action of terbinafine, *Rev. Contemp. Pharmacother.*, **1997**, *8*, 275-288.

50- D. W. Denning, Echinocandin antifungal drugs, Lancet, 2003, 362, 1142-1151.

51- S. Das, M. R. Shivaprakash, A. Chakrabarti, New antifungal agents in pediatric practice, *Indian Pediatr.*, **2009**, *46*, 225-231.

52- F. Lanternier, O. Lortholary, Anidulafungine: une nouvelle option thérapeutique dans les candidoses systémiques, *Med. Maladies Infect.*, **2010**, *40*, 440-448.

53- J. Mora-Duarte, R. Betts, C. Rotstein, A. L. Colombo, L. Thompson-Moya, J. Smietana, R. Lupinacci, C. Sable, N. Kartsonis, J. Perfect, The Caspofungin Invasive Candidiasis Study Group, Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis, *N. Engl. J. Med.*, **2002**, *347*, 2020-2029.

54- M. Laverdiere, R. G. Lalonde, J. G. Baril, D. C. Sheppard, S. Park, D. S. Perlin, Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans* oesophagitis, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2006**, *57*, 705-708.

55- M. T. Baixench, N. Aoun, M. Desnos-Ollivier, D. Garcia-Hermoso, S. Bretagne, S. Ramires, C. Piketty, E. Dannaoui, Acquired resistance to echinocandins in *Candida albicans*: case report and review, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2007**, *59*, 1076-1083.

56- M. Krogh-Madsen, M. C. Arendrup, L. Heslet, J. D. Knudsen, Amphotericin B and caspofungin resistance in *Candida glabrata* isolates recovered from a critically ill patient, *Clin. Infect. Dis.*, **2006**, *42*, 938-944.

57- A. Madureira, A. Bergeron, C. Lacroix, M. Robin, V. Rocha, R. P. De Latour, C. Ferry, A. Devergie, J. Lapalu, E. Gluckman, G. Socié, M. Ghannoum, P. Ribaud, Breakthrough invasive aspergillosis in allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients treated with caspofungin, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2007**, *30*, 551-554.

58- M. A. Pfaller, Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment, *Am. J. Med.*, **2012**, *125*, 3-13.

59- S. Bretagne, De nouvelles molécules pour les infections fongiques ?, *Antibiotiques*, **2009**, *11*, 133-141.

60- Tropical Disease Research: Progress 2003-2004; World Health Organization. Geneva,2005. http://www.who.int/tdr/publications/pr17.htm.

61- F. E. G. Cox, History of human parasitology, Clin. Microbiol. Rev., 2002, 15, 595-612.

62- C. A. Hoare, Early discoveries regarding the parasites of oriental sore. Trans. R., Soc. *Trop. Med. Hyg.*, 1938, 32, 67-92.

63- Site internet: http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html

64- I. Bassenne, F. Pratlong, J. Dereure, Y. Balard, J. P. Dedet, La Leishmaniose humaine en Cévennes : étude rétrospective 1933-1994, *Med. Maladies Infect.*, **1997**, *27*, 591-595.

65- F. X. Weill, I. Accoceberry, F. Delage, F. Pratlong, B. Couprie, C. Beylot, J. P. Dedet, M. S. Doutre, Leishmaniose cutanée à Leishmania amazonensis contractée en Guyane française, *Med. Maladies Infect.*, **2000**, *30*, 47-49.

66- C. R. Davies, P. Kaye, S. L. Croft, S. Sundar, Leishmaniasis: new approaches to disease control, *Br. Med. J.*, 2003, *326*, 377-382.

67- J. Mishra, A. Saxena, S. Singh, Chemotherapy of leishmaniasis: Past, present and future, *Curr. Med. Chem.*, 2007, *14*, 1153-1169.

68- S. L. Croft, V. Yardley, Chemotherapy of leishmaniasis, *Curr. Pharm. Des.*, **2002**, *8*, 319-342.

69- M. A. Franco, A. C. Barbosa, S. Rath, J. G. Dorea, Antimony oxidation states in antileishmanial drugs, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1995, 52, 435-437.

70- M. K. Mittal, S. Rai, Ashutosh, Ravinder, S. Gupta, S. Sundar, N. Goyal, Characterisation of natural antimony resistance in *Leishmania donovani* isolates, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **2007**, *76*, 681-688.

71- J. C. Macharia, A. J. Bourdichon, M. M. Gicheru, Efficacy of Trypan: a diminazene based drug as antileishmanial agent, *Acta Trop.*, **2004**, *92*, 267-272.

72- M. Basselin, H. Denise, G. H. Coombs, M. P. Barrett, Resistance to pentamidine in *Leishmania mexicana* involves exclusion of the drug from the mitochondrion, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2002, *46*, 3731-3738.

73- V. Yardley, S. L. Croft, A comparison of the activities of three amphotericin B lipid formulations against visceral and cutaneous leishmaniasis, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2000**, *13*, 243-248.

74- J. Adler-Moore, R. T. Proffitt, AmBisome: liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2002**, *49*, 21-30.

75- H. M. Al-Abdely, J. R. Graybill, R. Bocanegra, L. Najvar, E. Montalbo, S. L. Regen, P. C. Melby, Efficacies of KY62 against *Leishmania amazonensis* and *Leishmania donovani* in experimental murine cutaneous leishmaniasis and visceral leishmaniasis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1998**, *42*, 2542-2548.

76- S. Sundar, T. K. Jha, C. P. Thakur, P. K. Sinha, S. K. Bhattacharya, Injectable paromomycin for visceral leishmaniasis in India, *N. Engl. J. Med.*, **2007**, *356*, 2571-2581.

77- M. A. Vannier-Santos, J. A. Urbina, A. Martiny, A. Neves, W. De Souza, Alterations induced by the antifungal compounds ketoconazole and terbinafine in *Leishmania*, *J. Eukaryot. Microbiol.*, **1995**, *42*, 337-346.

78- F. Raffi, D. Merrien, P. Le Pape, V. Reliquet, Use of an itraconazole/allopurinol combination for the treatment of visceral leishmaniasis in a patient with AIDS, *Clin. Infect. Dis.*, **1995**, *21*, 1338-1339.

79- S. L. Croft, G. H. Coombs, Leishmaniasis-current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs, *Trends Parasitol.*, **2003**, *19*, 502-508.

80- S. Singh, R. Sivakumar, Challenges and new discoveries in the treatment of leishmaniasis, *J. Infect. Chemother.*, **2004**, *10*, 307-315.

81- R. A. Neal, S. L. Croft, D. J. Nelson, Anti-leishmanial effect of allopurinol ribonucleoside and the related compounds, allopurinol, thiopurinol, thiopurinol ribonucleoside, and of formycin B, sinefungin and the lepidine WR6026. Trans., *R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **1985**, *79*, 122-128.
82- F. Dobie, A. Berg, J. M. Boitz, A. Jardim, Kinetic characterization of inosine monophosphate dehydrogenase of *Leishmania donovani*, *Mol. Biochem. Parasitol.*, 2007, 152, 11-21.

83- L. L. Nolan, J. D. Berman, L. Giri, The effect of formycin B on mRNA translation and uptake of purine precursors in *Leishmania mexicana*, *Biochem. Int.*, **1984**, *9*, 207-218.

84- M. Rakotomanga, S. Blanc, K. Gaudin, P. Chaminade, P. M. Loiseau, Miltefosine affects lipid metabolism in *Leishmania donovani* promastigotes, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, *51*, 1425-1430.

85- R. Lira, L. M. Contreras, R. M. Santa-Rita, J. A. Urbina, Mechanism of action of antiproliferative lysophospholipid analogues against the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*: potentiation of *in vitro* activity by the sterol biosynthesis inhibitor ketoconazole, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2001**, *47*, 537-546.

86- R. M. Santa-Rita, H. Santos Barbosa, M. N. Meirelles, S. L. De Castro, Effect of the alkyllysophospholipids on the proliferation and differentiation of *Trypanosoma cruzi*, *Acta Trop.*, **2000**, *75*, 219-228.

87- S. Azzouz, M. Maache, M. F. Dos Santos, M. E. Sarciron, A. F. Petavy, A. Osuna, Aspects of the cytological activity of edelfosine, miltefosine and ilmofosine in *Leishmania donovani*, *J. Parasitol.*, **2006**, *92*, 877-883.

88- J. Soto, B. A. Arana, J. Toledo, N. Rizzo, J. C. Vega, A. Diaz, M. Luz, M. Gutierre-Arboleda, J. D. Berman, K. Junge, J. Engel, H. Sindermann, Miltefosine for new world cutaneous leishmaniasis, *Clin. Infect. Dis.*, **2004**, *38*, 1266-1272.

89- R. Prasad, R. Kumar, B. P. Jaiswal, U. K. Singh, Miltefosine: an oral drug for visceral leishmaniasis, *Indian J. Pediatr.*, **2004**, *71*, 143-144.

90- N. Alvarez, S. Robledo, I. D. Velez, J. M. Robert, G. Le Baut, P. Le Pape, Inhibition of parasite protein kinase C by new antileishmanial imidazolidin-2-one compounds, *J. Enz. Inhib. Med. Chem.*, **2002**, *17*, 443-447.

91- K. M. Grant, P. Hassan, J. S. Anderson, J. C. Mottram, The *crk3* gene of *Leishmania mexicana* encodes a stage-regulated cdc2-related histone H1 kinase that associates with p12cks1, *J. Biol. Chem.*, **1998**, *273*, 10153-10159.

92- S. L. LaFayette, C. Collins, A. K. Zaas, W. A. Schell, M. Betancourt-Quiroz, A. A. Leslie Gunatilaka, J. R. Perfect, L. E. Cowen, PKC signaling regulates drug resistance of the fungal pathogen *Candida albicans via* circuitry compromised of Mkc1, Calcineurin, and Hsp90, *PLOS pathogens*, **2010**, *6*, 1-23.

93- F. Bordon-Pallier, N. Jullian, P. Ferrari, A. M. Girard, M. T. Bocquel, J. Biton, N. Bouquin, J. L. Haesslein, Inhibitors of Civ1 kinase belonging to 6-aminoaromatic-2-cyclohexyldiamino purine series as potent anti-fungal compounds, *BBA*, 2004, *1697*, 211-223.
94- D. C. Bareich, I. Nazi, G. D. Wright, Simultaneous *in vitro* assay of the first four enzymes in the fungal aspartate pathway identifies a new class of aspartate kinase inhibitor, *Chem. Biol.*, 2003, *10*, 967-973.

95- R. J. Deschenes, H. Lin, A. D. Ault, J. S. Fassler, Antifungal properties and target evaluation of three putative bacterial histidine kinase inhibitors, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1999**, *43*, 1700-1703.

96- Y. Miyakawa, Identification of a *Candida albicans* homologue of the PHO85 gene, a negative regulator of the PHO system in *Saccharomyces cerevisiae*, *Yeast*, **2000**, *16*, 1045-1051.

97- F. Navarro-Garcia, R. Alonso-Monge, H. Rico, J. Pla, R. Sentandreu, C. Nombela, A role for the MAP kinase gene *MKC1* in cell wall construction and morphological transitions in *Candida albicans*, *Microbiology*, **1998**, *144*, 411-424.

98- G. Paravicini, The *Candida albicans PKC1* gene encodes a protein kinase C homolog necessary for cellular integrity but not dimorphism, *Yeast*, **1996**, *12*, 741-756.

99- R. Alonso Monge, E. Roman, C. Nombela, J. Pla, The MAP kinase signal transduction network in *Candida albicans*, *Microbiology*, **2006**, *152*, 905-912.

100- R. D. Cannon, E. Lamping, A. R. Holmes, K. Niimi, K. Tanabe, M. Niimi, B. C. Monk, *Candida albicans* drug resistance-another way to cope with stress, *Microbiology*, **2007**, *153*, 3211-3217.

101- L. A. Walker, C. A. Munro, I. De Bruijn, M. D. Lenardon, A. McKinnon, N. A. R. Gow, Stimulation of chitin synthesis rescues *Candida albicans* from echinocandins, *PLOS pathogens*, **2008**, *4*, 1-12.

102- N. Rispail, D. M. Soanes, C. Ant, R. Czajkowski, A. Grünler, R. Huguet, E. Perez-Nadales, A. Poli, E. Sartorel, V. Valiante, M. Yang, R. Beffa, A. A. Brakhage, N. A. R. Gow, R. Kahmann, M. H. Lebrun, H. Lenasi, J. Perez-Martin, N. J. Talbot, J. Wendland, A. Di Pietro, Comparative genomics of MAP kinase and calcium-calcineurin signalling components in plant and human pathogenic fungi, *Fungal Genet. Biol.*, **2009**, *46*, 287-298.

103- R. Jain, V. Valiante, N. Remme, T. Docimo, T. Heinekamp, C. Hertweck, J. Gershenzon, H. Haas, A. A. Brakhage, The MAP kinase MpkA controls cell wall integrity, oxidative stress response, gliotoxin production and iron adaptation in *Aspergillus fumigatus*, *Mol. Microbiol.*, **2011**, *82*, 39-53.

104- J. J. Heinisch, Baker's yeast as a tool for the development of antifungal kinase inhibitors-targeting protein kinase C and the cell integrity pathway, *BBA*, **2005**, *1754*, 171-182.

105- S. Biswas, P. Van Dijck, A. Datta, Environmental sensing and signal transduction pathways regulating morphopathogenic determinants of *Candida albicans*, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **2007**, *71*, 348-376.

106- G. Mircus, S. Hagag, E. Levdansky, H. Sharon, Y. Shadkchan, I. Shalit, N. Osherov, Identification of novel cell wall destabilizing antifungal compounds using a conditional *Aspergillus nidulans* protein kinase C mutant, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2009**, *64*, 755-763.

107- M. Ichinomiya, H. Uchida, Y. Koshi, A. Ohta, H. Horiuchi, A protein kinase C-encoding gene, pkcA, is essential to the viability of the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2007**, *71*, 2787-2799.

108- J. Kim, B. Campbell, N. Mahoney, K. Chan, R. Molyneux, G. May, Chemosensitization prevents tolerance of *Aspergillus fumigatus* to antimycotic drugs, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2008**, *372*, 266-271.

109- C. Naula, M. Parsons, J. C. Mottram, Protein kinases as drug targets in trypanosomes and *Leishmania*, *BBA*, **2005**, *1754*, 151-159.

110- N. Singh, M. Kumar, R. K. Singh, Leishmaniasis: Current status of available drugs and new potential drug targets, *Asian Pac. J. Trop. Med.*, **2012**, 485-497.

111- L. A. T. Cleghorn, A. Woodland, I. T. Collie, L. S. Torrie, N. Norcross, T. Luksch, C. Mpamhanga, R. G. Walker, J. C. Mottram, R. Brenk, J. A. Frearson, I. H. Gilbert, P. G. Wyatt, Identification of inhibitors of the *Leishmania* cdc2-related protein kinase CRK3, *ChemMedChem*, **2011**, *6*, 2214-2224.

112- K. M. Grant, M. H. Dunion, V. Yardley, A. L. Skaltsounis, D. Marko, G. Eisenbrand, S. L. Croft, L. Meijer, J. C. Mottram, Inhibitors of *Leishmania Mexicana* CRK3 Cyclindependent kinase: Chemical library screen and antileishmanial activity, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, *48*, 3033-3042.

113- M. Wiese, *Leishmania* MAP kinases-Familiar proteins in an unusual context, *Int. J. Parasitol.*, **2007**, *37*, 1053-1062.

114- M. J. Brumlik, S. Pandeswara, S. M. Ludwig, K. Murthy, T. J. Curiel, Parasite mitogenactivated protein kinases as drug discovery targets to treat human protozoan pathogens, *J. Signal Transduct.*, **2011**, 1-16. **115-** M. A. Morales, O. Renaud, W. Faigle, S. L. Shorte, G. F. Spath, Over-expression of *Leishmania major* MAP kinases reveals stage-specific induction of phosphotransferase activity, *Int. J. Parasitol.*, **2007**, *37*, 1187-1199.

116- P. Saravanan, S. K. Venkatesan, C. Gopi Mohan, S. Patra, V. Kumar Dubey, Mitogenactivated protein kinase 4 of *Leishmania* parasite as a therapeutic target, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, 45, 5662-5670.

117- Ashutosh, M. Garg, S. Sundar, R. Duncan, H. L. Nakhasi, N. Goyal, Downregulation of mitogen-activated protein kinase 1 of *Leishmania donovani* field isolates is associated with antimony resistance, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2012**, *56*, 518-525.

118- N. Alvarez-Rueda, M. Biron, P. Le Pape, Infectivity of *Leishmania mexicana* is associated with differential expression of Protein Kinase C-Like triggered during a cell-cell contact, *PLoS ONE*, **2009**, *4*, e7581.

119- N. Sacerdoti-Sierra, C. L. Jaffe, Release of ecto-protein kinases by the protozoan parasite *Leishmania major*, *J. Biol. Chem.*, **1997**, *272*, 30760-30765.

120- M. Knockaert, N. Gray, E. Damiens, Y. T. Chang, P. Grellier, K. Grant, D. Fergusson, J. Mottram, M. Soete, J. F. Dubremetz, K. Le Roch, C. Doerig, P. G. Schultz, L. Meijier, Intracellular targets of cyclin-dependent kinase inhibitors: identification by affinity chromatography using immobilised inhibitors, *Chem. Biol.*, **2000**, *7*, 411-422.

121- R. G. K. Donald, T. Zhong, L. Meijer, P. A. Liberator, Characterization of two *T. gondii* CK1 isoforms, *Mol. Biochem. Parasitol.*, 2005, *141*, 15-27.

122- J. J. Allocco, R. Donald, T. Zhong, A. Lee, Y. S. Tang, R. C. Hendrickson, P. Liberator, B. Nare, Inhibitors of casein kinase 1 block the growth of *Leishmania major* promastigotes *in vitro*, *Int. J. Parasitol.*, 2006, *36*, 1249-1259.

123- P. Traxler, P. Furet, Strategies toward the design of novel and selective protein tyrosine kinase inhibitors, *Pharmacol. Ther.*, **1999**, *82*, 195-206.

124- Y. Liu, N. S. Gray, Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformation, *Nat. Chem. Biol.*, **2006**, *2*, 356-364.

125- C. Pargellis, L. Tong, L. Churchill, P. F. Cirillo, T. Gilmore, A. G. Graham, P. M. Grob, E. R. Hickey, N. Moss, S. Pav, J. Regan, Inhibition of p38 MAP kinase by utilizing a novel allosteric binding site, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2002**, *9*, 268-272.

126- M. S. Cohen, C. Zhang, K. M. Shokat, J. Taunton, Structural bioinformatics-based design of selective, irreversible kinase inhibitors, *Science*, **2005**, *308*, 1318-1321.

127- A. K. Takle, M. J. B. Brown, S. Davies, D. K. Dean, G. Francis, A. Gaiba, A. W. Hird, F. D. King, P. J. Lovell, A. Naylor, A. D. Reith, J. G. Steadman, D. M. Wilson, The

identification of potent and selective imidazole-based inhibitors of B-Raf kinase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 378-381.

128- J. G. Cumming, C. L. McKenzie, S. G. Bowden, D. Campbell, D. J. Masters, J. Breed, P. J. Jewsbury, Novel, potent and selective anilinoquinazoline and anilinopyrimidine inhibitors of p38 MAP kinase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 5389-5394.

129- R. A. Bit, P. D. Davis, L. H. Elliott, W. Harris, C. H. Hill, E. Keech, H. Kumar, G. Lawton, A. Maw, Inhibitors of protein kinase C. 3. Potent and highly selective bisindolylmaleimides by conformational restriction, *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*, 21-29.

130- H. T. Swainston, G. M. Keating, Zolpidem: a review of its use in the management of insomnia, *CNS Drugs*, 2005, *19*, 65-89.

131- A. Berson, V. Descatoire, A. Sutton, D. Fau, B. Maulny, N. Vadrot, G. Feldmann, B. Berthon, T. Tordjmann, D. Pessayre, Toxicity of Alpidem, a peripheral benzodiazepine receptor ligand, but not Zolpidem, in rat hepatocytes: role of mitochondrial permeability transition and metabolic activation, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **2001**, *299*, 793-800.

132- L. Almirante, L. Polo, A. Mugnaini, E. Provinciali, P. Rugarli, A. Biancotti, A. Gamba, W. Murmann, Derivatives of imidazoles. I. Synthesis and reactions of imidazo[1,2-*a*]pyridines with analgesic, antiinflammatory, antipyretic, and anticonvulsant activity, *J. Med. Chem.*, **1965**, *8*, 305-312.

133- T. Ueda, K. Mizushige, The effects of Olprinone, a phosphodiesterase 3 inhibitor, on systemic and cerebral circulation, *Curr. Vasc. Pharmacol.*, **2006**, *4*, 1-7.

134- J. J. Kaminski, D. G. Perkins, J. D. Frantz, D. M. Solomon, A. J. Elliott, P. J. S. Chiu, J. F. Long, Antiulcer agents. 3. Structure-activity-toxicity relationships of substituted imidazo[1,2-*a*]pyridines and a related imidazo[1,2-*a*]pyrazine, *J. Med. Chem.*, 1987, *30*, 2047-2051.

135- C. H. Golias, A. Charalabopoulos, K. Charalabopoulos, Cell proliferation and cell cycle control: a mini review, *Int. J. Clin. Pract.*, **2004**, *58*, 1134-1141.

136- M. Anderson, J. F. Beattie, G. A. Breault, J. Breed, K. F. Byth, J. D. Culshaw, R. P. A. Ellston, S. Green, C. A. Minshull, R. A. Norman, R. A. Pauptit, J. Stanway, A. P. Thomas, P. J. Jewsbury, Imidazo[1,2-*a*]pyridines: A potent and selective class of Cyclin-Dependent Kinase inhibitors identified through structure-based hybridisation, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003, *13*, 3021-3026.

137- R. Wetzer, C. Rommel, Phosphoinositide 3-kinases as targets for therapeutic intervention, *Curr. Pharm. Des.*, **2004**, *10*, 1915-1922.

138- M. Hayakawa, H. Kaizawa, K. I. Kawaguchi, K. Matsuda, N. Ishikawa, T. Koizumi, M. Yamano, M. Okada, M. Ohta, *brevet*, **2002**, US 20020151549.

139- S. Frame, P. Cohen, R. M. Biondi, A common phosphate binding site explains the unique substrate specificity of GSK3 and its inactivation by phosphorylation, *Mol. Cell*, **2001**, *7*, 1321-1327.

140- T. A. Engler, J. R. Henry, S. Malhotra, B. Cunningham, K. Furness, J. Brozinick, T. P. Burkholder, M. P. Clay, J. Clayton, C. Diefenbacher, E. Hawkins, P. W. Iversen, Y. Li, T. D. Lindstrom, A. L. Marquat, J. McLean, D. Mendel, E. Misener, D. Briere, J. C. O'Toole, W. J. Porter, S. Queener, J. K. Reel, R. A. Owens, R. A. Brier, T. E. Eessalu, J. R. Wagner, R. M. Campbell, R. Vaughn, Substituted 3-imidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl-4-(1,2,3,4-tetrahydro-[1,4]diazepino-[6,7,1-*hi*]indol-7-yl)pyrrole-2,5-diones as highly selective and potent inhibitors of glycogen synthase kinase-3, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3934-3937.

141- T. A. Engler, S. Malhotra, T. P. Burkholder, J. R. Henry, D. Mendel, W. J. Porter, K. Furness, C. Diefenbacher, A. Marquart, J. K. Reel, Y. Li, J. Clayton, B. Cunningham, J. McLean, J. C. O'Toole, J. Brozinick, E. Hawkins, E. Misener, D. Briere, R. A. Brier, J. R. Wagner, R. M. Campbell, B. D. Anderson, R. Vaughn, D. B. Bennett, T. I. Meier, J. A. Cook, The development of potent and selective bisarylmaleimide GSK3 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, *15*, 899-903.

142- J. M. Yingling, K. L. Blanchard, J. S. Sawyer, Development of TGF- β signalling inhibitors for cancer therapy, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2004**, *3*, 1011-1022.

143- N. Dodic, F. J. Gellibert, Compounds, brevet, 2004, WO 2004013138.

144- S. J. Boyer, Small molecule inhibitors of KDR (VEGFR-2) kinase: an overview of structure activity relationships, *Curr. Top. Med. Chem.*, 2002, 2, 973-1000.

145- Z. Wu, M. E. Fraley, M. T. Bilodeau, M. L. Kaufman, E. S. Tasber, A. E. Balitza, G. D. Hartman, K. E. Coll, K. Rickert, J. Shipman, B. Shi, L. Sepp-Lorenzino, K. A. Thomas, Design and synthesis of 3,7-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines as inhibitors of the VEGF-receptor KDR, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 909-912.

146- M. Bilodeau, M. E. Fraley, Z. Wu, Tyrosine kinase inhibitors, *brevet*, 2003, WO 03092595.

147- A. Slassi, M. Isaac, L. Edwards, A. Minidis, D. Wensbo, J. Mattsson, K. Nilsson, P. Raboisson, D. McLeod, T. M. Stormann, L. G. Hammerland, E. Johnson, Recent advances in non-competitive mGlu5 receptor antagonists and their potential therapeutic applications, *Curr. Top. Med. Chem.*, 2005, *5*, 897-911.

148- V. Mutel, J. U. Peters, J. Wichmann, Imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives as mGluR5 antagonists, *brevet*, **2002**, WO 02092086.

149- B. T. Campbell, B. Munoz, B. A. Stearns, J. M. A. Vernier, B. Wang, J. L. Gunzner, Fused heterobicyclo substituted phenyl metabotropic glutamate-5 modulators, *brevet*, **2004**, WO 2004024074.

150- D. P. Becker, D. L. Flynn, A. E. Moormann, R. Nosal, C. I. Villamil, New imidazopyridines as serotoninergic 5-HT₃ antagonists, *brevet*, **1991**, WO 9215593.

151- F. D. King, M. L. Gaster, Imidazopyridine derivatives as 5-HT₄ receptor antagonists, *brevet*, **1994**, WO 9408998.

152- D. C. Yang, B. Goldstin, A. E. Moormann, D. L. Flynn, G. W. Gullikson, SC-53606, A potent and selective antagonist of 5-hydroxytryptamine 4 receptors in isolated rat esophageal tunica muscularis mucosae, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1993**, *266*, 1339-1347.

153- S. Löber, H. Hübner, P. Gmeiner, Azaindole derivatives with affinity for the dopamine D₄ receptor: synthesis, ligand binding studies and comparison of molecular electrostatic potential maps, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 97-102.

154- A. Gueiffier, S. Mavel, M. Lhassani, A. Elhakmaoui, R. Snoeck, G. Andrei, O. Chavignon, J. C. Teulade, M. Witvrouw, J. Balzarini, E. De Clercq, J. P. Chapat, Synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridines as antiviral agents, *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 5108-5112.

155- K. S. Gudmundsson, S. D. Boggs, Chemical compounds, *brevet*, 2006, WO 2006026703.

156- A. E. Chichibabin, Tautomerism of α -aminopyridine. IV. A method of preparation of pyrimidazole and its homologs, *Ber.*, **1925**, *58B*, 1704-1706.

157- A. E. Chichibabin, O. A. Zeide, New reaction for compounds containing the pyridine nucleus, *Zh. Russk. Fiz. -Khim. Obshch.*, 1914, 46, 1216-1236.

158- A. Roe, The thermal condensation of imidazoles with carbonyl compounds, *J. Med. Soc.*, **1963**, 2195-2200.

159- J. G. Lombardino, Preparation and new reactions of imidazo[1,2-*a*]pyridines, *J. Org. Chem.*, **1965**, *30*, 2403-2407.

160- M. H. Fisher, A. Lusi, Imidazo[1,2-*a*]pyridine anthelmintic and antifungal agents, *J. Med. Chem.*, **1972**, *15*, 982-985.

161- A. Gueiffier, M. Lhassani, A. Elhakmaoui, R. Snoeck, G. Andrei, O. Chavignon, J. C. Teulade, A. Kerbal, E. M. Essassi, J. C. Debouzy, M. Witvrouw, Y. Blache, J. Balzarini, E. De Clercq, J. P. Chapat, Synthesis of acyclo-C-nucleosides in the imidazo[1,2-*a*]pyridine and pyrimidine series as antiviral agents, *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 2856-2859.

162- G. Xia, J. Li, A. Peng, S. Lai, S. Zhang, J. Shen, Z. Liu, X. Chen, R. Ji, Synthesis and phosphodiesterase 5 inhibitory activity of novel pyrido[1,2-*e*]purin-4(3*H*)-one derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 2790-2794.

163- J. T. Starr, R. J. Sciotti, D. L. Hanna, M. D. Huband, L. M. Mullins, H. Cai, J. W. Gage, M. Lockard, M. R. Rauckhorst, R. M. Owen, M. S. Lall, M. Tomilo, H. Chen, S. P. McCurdy, M. R. Barbachyn, 5-(2-Pyrimidinyl)-imidazo[1,2-*a*]pyridines are antibacterial agents targeting the ATPase domains of DNA gyrase and topoisomerase IV, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, *19*, 5302-5306.

164- C. Enguehard, J. L. Renou, H. Allouchi, J. M. Leger, A. Gueiffier, Synthesis of diaryl-substituted imidazo[1,2-*a*]pyridines designed as potential aromatase inhibitors, *Chem. Pharm. Bull.*, **2000**, *48*, 935-940.

165- A. Chaouni-Benabdallah, C. Galtier, H. Allouchi, A. Kherbeche, O. Chavignon, J. C. Teulade, M. Witvrouw, C. Pannecouque, R. Snoeck, G. Andrei, J. Balzarini, E. De Clercq, F. Fauvelle, C. Enguehard, A. Gueiffier, 3-Benzamido, ureido and thioureidoimidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives as potential antiviral agents, *Chem. Pharm. Bull.*, 2001, 49, 1631-1635.
166- J. M. Chezal, J. Paeshuyse, V. Gaumet, D. Canitrot, A. Maisonial, C. Lartigue, A. Gueiffier, E. Moreau, J. C. Teulade, O. Chavignon, J. Neyts, Synthesis and antiviral activity of an imidazo[1,2-*a*]pyrrolo[2,3-*c*]pyridine series against the bovine viral diarrhea virus, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, 45, 2044-2047.

167- C. Burkholder, W. R. Dolbier, M. Médebielle, S. Ait-Mohand, Synthesis and electrontransfer reactions of some 3-difluoroacetylated imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 3077-3080.

168- D. Zhu, J. Chen, D. Wu, M. Liu, J. Ding, H. Wu, An efficient, catalyst- and solvent-free synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridines and 2,4-disubstituted thiazoles on grinding, *J. Chem. Res.*, **2009**, *2*, 84-86.

169- D. Zhu, J. Chen, M. Liu, J. Ding, H. Wu, Catalyst- and solvent-free synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridines, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2009, 20, 482-487.

170- R. Clark, R. L. Bell, N. Y. Ba-Maung, S. A. Ickson, S. D. Fidanze, R. A. Mantei, G. S. Sheppard, B. K. Sorensen, G. T. Wang, J. Wang, Pyrimidine inhibitors of kinase activity, *brevet*, 2010, WO 2010138576.

171- C. Bode, A. Boezio, A. C. Cheng, D. Choquette, J. R. Coats, K. W. Copeland, H. Huang, D. La, R. Lewis, H. Liao, M. Potashman, J. Stellwagen, S. Yi, M. Norman, M. Stec, E. A. Peterson, R. Graceffa, Heteroarylcompounds as PIKK inhibitors, *brevet*, **2010**, WO 2010132598.

172- B. D. Maxwell, O. G. Boyé, K. Ohta, The ¹⁴C, ¹³C and ¹⁵N syntheses of MON 37500, a sulfonylurea wheat herbicide, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2005**, *48*, 397-406.

173- A. Dömling, I. Ugi, Multicomponent reactions with isocyanides, *Angew. Chem.*, 2000, *39*, 3168-3210.

174- A. Dömling, Recent developments in isocyanide based multicomponent reactions in applied chemistry, *Chem. Rev.*, 2006, 106, 17-89.

175- M. Passerini, Isonitriles. II. Compounds with aldehydes or with ketones and monobasic organic acids, *Gazz. Chim. Ital.*, 1921, *51*, 181-189.

176- I. Ugi, C. Steinbruckner, Concerning a new condensation principle, *Angew. Chem.*, 1960, 72, 267-268.

177- K. Groebke, L. Weber, F. Mehlin, Synthesis of imidazo[1,2-*a*]annulated pyridines, pyrazines and pyrimidines by a novel three-component condensation, *Synlett*, **1998**, *6*, 661-663.

178- C. Blackburn, B. Guan, P. Fleming, K. Shiosaki, S. Tsai, Parallel synthesis of 3-aminoimidazo[1,2-*a*]pyridines and pyrazines by a new three-component condensation, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3635-3638.

179- C. Blackburn, A three-component solid-phase synthesis of 3-aminoimidazo[1,2-*a*]azines, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 5469-5472.

180- H. Bienaymé, K. Bouzid, A new heterocyclic multicomponent reaction for the combinatorial synthesis of fused 3-aminoimidazoles, *Angew. Chem.*, **1998**, *37*, 2234-2237.

181- R. S. Varma, D. Kumar, Microwave-accelerated three-component condensation reaction on clay: solvent-free synthesis of imidazo[1,2-*a*] annulated pyridines, pyrazines and pyrimidines, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 7665-7669.

182- S. M. Ireland, H. Tye, M. Whittaker, Microwave-assisted multi-component synthesis of fused 3-aminoimidazoles, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 4369-4371.

183- L. R. Odell, M. T. Nilsson, J. Gising, O. Lagerlund, D. Muthas, A. Nordqvist, A. Karlén, M. Larhed, Functionalized 3-amino-imidazo[1,2-*a*]pyridines: a novel class of drug-like *Mycobacterium tuberculosis* glutamine synthetase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 4790-4793.

184- N. Jain, A. Kumar, S. Chauhan, S. M. S. Chauhan, Chemical and biochemical transformations in ionic liquids, *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 1015-1060.

185- T. Welton, Room-temperature ionic liquids. Solvents for Synthesis and catalysis, *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2071-2083.

186- M. J. Earle, K. R. Seddon, Ionic liquids. Green solvents for the future, *Pure Appl. Chem.*, 2000, 72, 1391-1398.

187- V. Z. Parchinsky, O. Shuvalova, O. Ushakova, D. V. Kravchenko, M. Kravasin, Multicomponent reactions between 2-aminopyrimidine, aldehydes and isonitriles: the use of a nonpolar solvent suppresses formation of multiple products, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 947-951.

188- A. Shaabani, E. Soleimani, A. Maleki, Ionic liquid promoted one-pot synthesis of 3-aminoimidazo[1,2-*a*]pyridines, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 3031-3034.

189- J. S. Yadav, B. V. Subba Reddy, Y. Gopal Rao, M. Srinivas, A. V. Narsaiah, Cu(OTf)₂catalysed synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridines from α -diazoketones and 2-aminopyridines, *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 7717-7720.

190- T. Ye, M. A. McKervey, Organic synthesis with α -diazocarbonyl compounds, *Chem. Rev.*, **1994**, *94*, 1091-1160.

191- C. Hamdouchi, J. De Blas, M. Del Prado, J. Gruber, B. A. Heinz, L. Vance, 2-Amino-3-substituted-6-[(*E*)-1-phenyl-2-(*N*-methylcarbamoyl)vinyl]imidazo[1,2-*a*]pyridines as a novel class of inhibitors of human rhinovirus: stereospecific synthesis and antiviral activity, *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 50-59.

192- R. J. Sciotti, J. T. Starr, C. Richardson, G. W. Rewcastle, H. Chen, B. D. Palmer, H. S. Sutherland, J. A. Spicer, Imidazopyridine and imidazopyrimidine derivatives as antibacterial agents, *brevet*, **2009**, US 20090275577.

193- T. E. Christos, G. S. Amato, R. N. Atkinson, M. G. Barolli, L. A. Veia, M. J. Suto, Heterocycles as potassium channel modulators, *brevet*, **2009**, WO 2009026254.

194- C. Jaramillo, J. E. De Diego, C. Hamdouchi, A new approach to the synthesis of 2aminoimidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives through rapid parallel synthesis, *Synlett*, **2002**, *9*, 1544-1546.

195- K. C. Chunavala, G. Joshi, E. Suresh, S. Adimurthy, Thermal and microwave-assisted rapid syntheses of substituted imidazo[1,2-*a*]pyridines under solvent- and catalyst-free conditions, *Synthesis*, **2011**, *4*, 635-641.

196- W. L. Mosby, Heterocyclic systems with bridgehead nitrogen atoms, 1961, 460.

197- J. P. Paolini, R. K. Robins, Aromaticity in heterocyclic Systems. IV. Substitution reactions of imidazo[1,2-*a*]pyridine and related methyl derivatives, *J. Org. Chem.*, **1965**, *30*, 4085-4090.

198- W. W. Paudler, H. L. Blewitt, Ten π -electron nitrogen heterocyclic compounds. Bromination of imidazo[1,2-*a*]pyridines, *J. Org. Chem.*, **1965**, *30*, 4081-4084. **199-** J. C. Teulade, R. Escale, J. C. Rossi, J. P. Chapat, G. Grassy, M. Payard, New aspects of the nitration of some imidazo[1,2-*a*]pyridines. CNDO/2 calculations from X-Ray structures, *Aust. J. Chem.*, **1982**, *35*, 1761-1768.

200- E. S. Hand, W. W. Paudler, Imidazo[1,2-*a*]pyridine 1-oxide. Synthesis and chemistry of a novel type of *N*-oxide, *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 658-663.

201- N. O. Salbadol, S. A. Giller, Chem. Heterocycl. Compd., 1976, 12, 1155-1162.

202- C. Enguehard, J. L. Renou, V. Collot, M. Hervet, S. Rault, A. Gueiffier, Reactivity of 3iodoimidazo[1,2-*a*]pyridines using a Suzuki-type cross-coupling reaction, *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 6572-6575.

203- C. Enguehard-Gueiffier, F. Fauvelle, J. C. Debouzy, A. Peinnequin, I. Thery, V. Dabouis, A. Gueiffier, 2,3-Diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines as potential inhibitors of UV-induced keratinocytes apoptosis: synthesis, pharmacological properties and interactions with model membranes and oligonucleotides by NMR, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2005**, *24*, 219-227.

204- K. S. Gudmundsson, J. C. Drach, L. B. Townsend, Palladium catalyzed coupling of 2,6dichloro-3-iodoimidazo[1,2-*a*]pyridine and 2,3-dihydrofuran as an approach to novel imidazo[1,2-a]pyridine C-nucleosides, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 6275-6278.

205- C. Jaramillo, J. C. Carretero, J. E. De Diego, M. Del Prado, C. Hamdouchi, J. L. Roldan, C. Sanchez-Martinez, Regioselective synthesis of 3,6-disubstituted-2-aminoimidazo[1,2-*a*]pyridines, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 9051-9054.

206- J. C. Teulade, P. A. Bonnet, J. N. Rieu, H. Viols, J. P. Chapat, G. Grassy, A. Carpy, C-3hydroxylation of some imidazo[1,2-*a*]azines, *J. Chem. Res.*, **1986**, 1842-1874.

207- M. Rahimizadeh, M. Pordel, M. Bakavoli, H. Eshghi, A. Shiri, Vicarious nucleophilic substitution in nitro derivatives of imidazo[1,2-*a*]pyridine, *Mendeleev Commun.*, **2009**, *19*, 161-162.

208- S. E. Sweeney, G. S. Firestein, Rheumatoid arthritis: regulation of synovial inflammation, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **2004**, *36*, 372-378.

209- M. J. I. Andrews, J. A. Clase, G. Bar, G. Tricarico, P. J. Edwards, R. Brys, M. Chambers, W. Schmidt, A. MacLeod, K. Hirst, V. Allen, V. Birault, J. Le, J. Harris, A. Self, K. Nash, G. Dixon, Discovery of a series of imidazopyrazine small molecule inhibitors of the kinase MAPKAPK5, that show activity using *in vitro* and *in vivo* models of rheumatoid arthritis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 2266-2270.

210- P. D. Andrews, Aurora kinases: shining lights on the therapeutic horizon?, *Oncogene*, 2005, 24, 5005-5015.

211- J. R. Pollard, M. Mortimore, Discovery and development of Aurora kinase inhibitors as anticancer agents, *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 2629-2651.

212- D. B. Belanger, P. J. Curran, A. Hruza, J. Voigt, Z. Meng, A. K. Mandal, M. A. Siddiqui, A. D. Basso, K. Gray, Discovery of imidazo[1,2-*a*]pyrazine-based Aurora kinase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 5170-5174.

213- D. B. Belanger, M. J. Williams, P. J. Curran, A. K. Mandal, Z. Meng, M. P. Rainka, T. Yu, N. Y. Shih, M. A. Siddiqui, M. Liu, S. Tevar, S. Lee, L. Liang, K. Gray, B. Yaremko, J. Jones, E. B. Smith, D. B. Prelusky, A. D. Basso, Discovery of orally bioavailable imidazo[1,2-*a*]pyrazine-based Aurora kinase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 6739-6743.

214- M. E. Voss, M. P. Rainka, M. Fleming, L. H. Peterson, D. B. Belanger, M. A. Siddiqui, A. Hruza, J. Voigt, K. Gray, A. D. Basso, Synthesis and SAR studies of imidazo[1,2-*a*]pyrazine Aurora kinase inhibitors with improved off-target kinase selectivity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 3544-3549.

215- K. Paruch, T. J. Guzi, M. P. Dwyer, R. J. Doll, V. M. Girijavallabhan, Novel imidazopyrazines as cyclin dependent kinase inhibitors, *brevet*, **2004**, WO 2004026310.

216- S. M. Gonzalez, A. I. Hernandez, C. Varela, S. Rodriguez-Aristegui, R. M. Alvarez, A. B. Garcia, M. Lorenzo, V. Rivero, J. Oyarzabal, O. Rabal, J. R. Bischoff, M. Albarran, A. Cebria, P. Alfonso, W. Link, J. Fominaya, J. Pastor, Imidazo[1,2-*a*]pyrazines as novel PI3K inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 1874-1878.

217- M. O. Contour-Galcéra, L. Poitout, C. Moinet, B. Morgan, T. Gordon, P. Roubert, C. Thurieau, Synthesis of substituted imidazopyrazines as ligands for the human somatostatin receptor subtype 5, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, *11*, 741-745.

218- S. C. Goodacre, D. J. Hallett, L. J. Street, Imidazopyrazine derivatives as ligands for GABA receptors, *brevet*, **2000**, WO 0210170.

219- X. Du, D. J. Gustin, X. Chen, J. Duquette, L. R. McGee, Z. Wang, K. Ebsworth, K. Henne, B. Lemon, J. Ma, S. Miao, E. Sabalan, T. J. Sullivan, G. Tonn, T. L. Collins, J. C. Medina, Imidazopyrazine derivatives as potent CXCR3 antagonists, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 5200-5204.

220- M. F. DePompei, W. W. Paudler, Synthesis and some chemical and spectroscopic properties of imidazo[1,2-*a*]pyrazine, *J. Heterocycl. Chem.*, 1975, *12*, 861-863.
221- L. M. Werbel, M. L. Zamora, *J. Org. Chem.*, 1965, *2*, 287.

222- W. C. Lumma, W. C. Randall, E. L. Cresson, J. R. Huff, R. D. Hartman, T. F. Lyon, Piperazinylimidazo[1,2-*a*]pyrazines with selective affinity for *in vitro* α -adrenergic receptor subtypes, *J. Med. Chem.*, **1983**, *26*, 357-363.

223- W. A. Spitzer, F. Victor, G. Don Pollock, J. S. Hayes, Imidazo[1,2-*a*]pyrimidines and imidazo[1,2-*a*]pyrazines: the role of nitrogen position in inotropic activity, *J. Med. Chem.*, **1988**, *31*, 1595-1598.

224- O. Vitse, F. Laurent, T. M. Pocock, V. Bénézech, L. Zanik, K. R. F. Elliott, G. Subra, K. Portet, J. Bompart, J. P. Chapat, R. C. Small, A. Michel, P. A. Bonnet, New imidazo[1,2-*a*]pyrazine derivatives with bronchodilatory and cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibitory activities, *Bioorg. Med. Chem.*, **1999**, *7*, 1059-1065.

225- C. Sablayrolles, G. H. Cros, J. C. Milhavet, E. Rechenq, J. P. Chapat, M. Boucard, J. J. Serrano, J. H. McNeill, Synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyrazine derivatives with uterine-relaxing, antibronchospastic, and cardiac-stimulating properties, *J. Med. Chem.*, **1984**, 27, 206-212.

226- S. A. Mitchell, M. D. Danca, P. A. Blomgren, J. W. Darrow, K. S. Currie, J. E. Kropf, S. H. Lee, S. L. Gallion, J. M. Xiong, D. A. Pippin, R. W. DeSimone, D. R. Brittelli, D. C. Eustice, A. Bourret, M. Hill-Drzewi, P. M. Maciejewski, L. L. Elkin, Imidazo[1,2-*a*]pyrazine diaryl ureas: inhibitors of the receptor tyrosine kinase EphB4, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, *19*, 6991-6995.

227- N. Bouloc, J. M. Large, M. Kosmopoulou, C. Sun, A. Faisal, M. Matteucci, J. Reynisson, N. Brown, B. Atrash, J. Blagg, E. McDonald, S. Linardopoulos, R. Bayliss, V. Bavetsias, Structure-based design of imidazo[1,2-*a*]pyrazine derivatives as selective inhibitors of Aurora-A kinase in cells, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 5988-5993.

228- T. P. Matthews, T. McHardy, S. Klair, K. Boxall, M. Fisher, M. Cherry, C. E. Allen, G. J. Addison, J. Ellard, G. Wynne Aherne, I. M. Westwood, R. Van Montfort, M. D. Garrett, J. C. Reader, I. Collins, Design and evaluation of 3,6-di(hetero)aryl imidazo[1,2-*a*]pyrazines as inhibitors of checkpoint and other kinases, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 4045-4049.

229- J. Bradac, Z. Furek, D. Janezic, S. Molan, I. Smerkolj, B. Stanovnik, M. Tisler, B. Vercek, Telesubstitution and other transformations of imidazo[1,2-*a*]- and *s*-triazolo[4,3-*a*]pyrazines, *J. Org. Chem.*, **1977**, *42*, 4197-4201.

230- A. R. Harris, D. M. Nason, E. M. Collantes, W. Xu, Y. Chi, Z. Wang, B. Zhang, Q. Zhang, D. L. Gray, J. E. Davoren, Synthesis of 5-bromo-6-methyl imidazopyrazine, 5-bromo and 5-chloro-6-methylimidazopyridine using electron density surface maps to guide synthetic strategy, *Tetrahedron*, **2011**, *67*, 9063-9066.

231- P. A. Bonnet, C. Sablayrolles, J. P. Chapat, Imidazo[1,2-*a*]pyrazine, bromo and methoxy derivatives: a ¹³C N.M.R. determination applied to nucleophilic substitution studies, *Aust. J. Chem.*, **1984**, *37*, 1357-1361.

232- O. Vitse, J. Bompart, G. Subra, H. Viols, R. Escale, J. P. Chapat, P. A. Bonnet, Azaindolizine with bridgehead nitrogen. Metalation, halogen-metal exchange and directed *ortho*lithiation in the imidazo[1,2-*a*]pyrazine series, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 6485-6496.

233- P. A. Bonnet, A. Michel, F. Laurent, C. Sablayrolles, E. Rechencq, J. C. Mani, M. Boucard, J. P. Chapat, Synthesis and antibronchospastic activity of 8-alkoxy- and 8- (alkylamino)imidazo[1,2-*a*]pyrazines, *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 3353-3358.

234- S. Delombaert, M. J. Emmanuel, Chymase inhibitors, brevet, 2008, WO 2008045688.

235- M. Soeberdt, P. Weyermann, H. Siendt, S. Nordhoff, A. Feurer, M. Terinek, Substituted imidazopyridine derivatives as melanocortin-4 receptor antagonists, *brevet*, **2009**, WO 2009080291.

236- N. Miyaura, A. Suzuki, Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds, *Chem. Rev.*, 1995, 95, 2457-2483.

237- J. P. Corbet, G. Mignani, Selected patented cross-coupling reaction technologies, *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, 2651-2710.

238- M. Moreno-Manas, M. Perez, R. Pleixats, Palladium-catalyzed Suzuki-type self-coupling of arylboronic acids. A mechanistic study, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 2346-2351.

239- J. H. Li, W. J. Liu, Dabco as an inexpensive and highly efficient ligand for palladiumcatalyzed Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 2809-2811.

240- S. Darses, T. Jeffery, J. P. Genet, J. L. Brayer, J. P. Demoute, Cross-coupling of arenediazonium tetrafluoroborates with arylboronic acids catalysed by palladium, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 3857-3860.

241- G. A. Molander, B. Biolatto, Efficient ligandless palladium-catalyzed Suzuki reactions of potassium aryltrifluoroborates, *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 1867-1870.

242- R. L. Yan, H. Yan, C. Ma, Z. Y. Ren, X. A. Gao, G. S. Huang, Y. M. Liang, Cu(I)-Catalysed synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridines from aminopyridines and nitroolefins using air as the oxidant, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 2024-2028.

243- R. E. Beevers, G. M. Buckley, N. Davies, J. L. Fraser, F. C. Galvin, D. R. Hannah, A. F. Haughan, K. Jenkins, S. R. Mack, W. R. Pitt, A. J. Ratcliffe, M. D. Richard, V. Sabin, A. Sharpe, S. C. Williams, Novel indole inhibitors of IMPDH from fragments: synthesis and initial structure-activity relationships, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 2539-2542.

244- W. Freudenberg, Purification of products of the Schotten-Baumann reaction, *brevet*, 1958, US 2844610.

245- L. M. Litvinenko, A. S. Savchenko, A. I. Kirichenko, L. Y. Galushko, Kinetics of acylation of arylamines by some anhydrides in the presence of pyridine and *p-N,N*-dimethylaminopyridine, Reaktsionnaya Sposobnost Organicheskikh Soedinenii, **1971**, *8*, 523-537.

246- J. Louie, J. F. Hartwig, Palladium-catalyzed synthesis of arylamines from aryl halides. Mechanistic studies lead to coupling in the absence of tin reagents, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 3609-3612.

247- A. S. Guram, R. A. Rennels, S. L. Buchwald, A simple catalytic method for the conversion of aryl bromides to arylamines, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1995, *34*, 1348-1350.

248- C. Blackburn, B. Guan, A novel dealkylation affording 3-aminoimidazo[1,2-*a*]pyridines: access to new substitution patterns by solid-phase synthesis, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 1495-1500.

249- R. K. Konat, The BOC experiment. *Tert*-Butyloxycarbonyl (BOC) as temporary protective group for amines, *Praxis der Naturwissenschaften*, *Chemie*, **1995**, *44*, 19-21.

250- C. Djerassi, Brominations with N-bromosuccinimide and related compounds. The Wohl-Ziegler reaction, *Chem. Rev. (Washington, DC)*, **1948**, *43*, 271-317.

251- B. Liégault, D. Lapointe, L. Caron, A. Vlassova, K. Fagnou, Establishment of broadly applicable reaction conditions for the palladium-catalysed direct arylation of heteroatom-containing aromatic compounds, *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 1826-1834.

252- B. B. Touré, B. S. Lane, D. Sames, Catalytic C-H arylation of SEM-Protected azoles with palladium complexes of NHCs and Phosphines, *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 1979-1982.

253- P. A. S. Smith, Curtius Reaction, Org. React., 1946, 3, 337-349.

254- T. Shioiri, In *Comprehensive Organic Synthesis*, Degradation Reactions Trost, B. M., Fleming, I., Eds.; Pergamon Press: Oxford, **1991**, *6*, 795-828.

255- E. F. V. Scriven, K. Turnbull, Azides: their preparation and synthetic uses, *Chem. Rev.*, **1988**, 88, 297-368.

256- J. W. Van Reijendam, F. Baardman, An improved method for the synthesis of acyl azides, *Synthesis*, **1973**, *7*, 413-414.

257- J. Weinstock, A Modified Curtius reaction, J. Org. Chem., 1961, 26, 3511.

258- G. K. S. Prakash, P. S. Iyer, M. Arvanaghi, G. A. Olah, Synthetic methods and reactions. 121. Zinc iodide catalyzed preparation of aroyl azides from aroyl chlorides and trimethylsilyl azide, *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 3358-3359.

259- V. Pozsgay, H. J. Jennings, Azide synthesis with stable nitrosyl salts, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 5091-5092.

260- T. Shioiri, K. Ninomiya, S. Yamada, Diphenylphosphoryl azide. A new convenient reagent for a modified Curtius reaction and for the peptide synthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 6203-6205.

261- E. Eibler, J. Sauer, Contribution to isocyanate formation in the photolysis of acyl azides, *Tetrahedron Lett.*, **1974**, *30*, 2569-2572.

262- F. Bigi, R. Maggi, G. Sartori, Selected syntheses of ureas through phosgene substitutes, *Green Chem.*, **2000**, *2*, 140-148.

263- H. Eckert, B. Forster, Triphosgene, a crystalline phosgene substitute, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1987**, *26*, 894-895.

264- L. Cotarca, P. Delogu, A. Nardelli, V. Unji, Bis(trichloromethyl)carbonate in organic synthesis, *Synthesis*, **1996**, *5*, 553-576.

265- S. P. East, C. B. White, O. Barker, S. Barker, J. Bennett, D. Brown, E. A. Boyd, C. Brennan, C. Chowdhury, I. Collins, E. Convers-Reignier, B. W. Dymock, R. Fletcher, D. J. Haydon, M. Gardiner, S. Hatcher, P. Ingram, P. Lancett, P. Mortenson, K. Papadopoulos, C. Smee, H. B. Thomaides-Brears, H. Tye, J. Workman, L. G. Czaplewski, DNA gyrase (GyrB)/topoisomerase IV (ParE) inhibitors: Synthesis and antibacterial activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 894-899.

266- F. Thompson, P. Mailliet, J. M. Ruxer, H. Goulaouic, F. Vallee, H. Minoux, F. Pilorge, L. Bertin, S. Hourcade, *brevet*, **2008**, FR 2907453.

267- S. Marhadour, M. A. Bazin, P. Marchand, An efficient access to 2,3-diarylimidazo[1,2-*a*]pyridines via imidazo[1,2-*a*]pyridin-2-yl triflate through a Suzuki cross-coupling reactiondirect arylation sequence, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, 297-300.

268- M. Adib, A. Mohamadi, E. Sheikhi, S. Ansari, H. R. Bijanzadeh, Microwave-assisted, one-pot reaction of pyridines, α -bromoketones and ammonium acetate: an efficient and simple synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridines, *Synlett*, **2010**, *11*, 1606-1608.

269- D. Alberico, M. E. Scott, M. Lautens, Aryl-aryl bond formation by transition-metalcatalyzed direct arylation, *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 174-238. **270**- W. Li, D. P. Nelson, M. S. Jensen, R. S. Hoerrner, G. J. Javadi, D. Cai, R. D. Larsen, Palladium-catalyzed regioselective arylation of imidazo[1,2-*a*]pyrimidine, *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 4835-4837.

271- C. H. Park, V. Ryabova, I. V. Seregin, A. W. Sromek, V. Gevorgyan, Palladium-catalyzed arylation and heteroarylation of indolizines, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 1159-1162.

272- M. Schnürch, N. Dastbaravardeh, M. Ghobrial, B. Mrozek, M. D. Mihovilovic, Functionalization of saturated and unsaturated heterocycles *via* transition metal catalyzed C-H activation reactions, *Curr. Org. Chem.*, **2011**, *15*, 2694-2730.

273- J. P. Wolfe, S. L. Buchwald, A highly active catalyst for the room-temperature amination and Suzuki coupling of aryl chlorides, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1999**, *38*, 2413-2416.

274- H. Y. Fu, L. Chen, H. Doucet, Phosphine-free palladium-catalyzed direct arylation of imidazo[1,2-*a*]pyridines with aryl bromides at low catalyst loading, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 4473-4478.

275- J. Koubachi, S. El Kazzouli, S. Berteina-Rabouin, A. Mouaddib, G. Guillaumet, Regioselective palladium-catalyzed arylation and heteroarylation of imidazo[1,2-*a*]pyridines, *Synlett*, **2006**, *19*, 3237-3242.

276- J. Koubachi, S. E. Kazzouli, S. Berteina-Raboin, A. Mouaddib, G. Guillaumet, Synthesis of polysubstituted imidazo[1,2-*a*]pyridines *via* microwave-assisted one-pot Cyclisation/Suzuki coupling/Palladium-catalyzed heteroarylation, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 7650-7655.

277- J. Koubachi, S. Berteina-Raboin, A. Mouaddib, G. Guillaumet, Intramolecular arylation reactions: first efficient synthesis of novel fused pyridoimidazoquinolinones or pyridoimidazoazepinones libraries, *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 1937-1946.

278- J. F. Cavalier, M. Burton, C. De Tollenaere, F. Dussart, C. Marchand, J. F. Rees, J. Marchand-Brynaert, 2,6-Diamino-3,5-diaryl-1,4-pyrazine derivatives as novel antioxidants, *Synthesis*, **2001**, *5*, 768-772.

279- F. De Wael, P. Jeanjot, C. Moens, T. Verbeuren, A. Cordi, E. Bouskela, J. F. Rees, J. Marchand-Brynaert, *In vitro* and *in vivo* studies of 6,8-(diaryl)imidazo[1,2-*a*]pyrazin-3(7*H*)- ones as new antioxidants, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*, 4336-4344.

280- L. De Luca, A. Porcheddu, G. Giacomelli, I. Murgia, Microwave-assisted synthesis of *N*-monosubstituted urea derivatives, *Synlett*, **2010**, *16*, 2439-2442.

281- A. Abad, C. Agullo, A. C. Cunat, C. Vilanova, Regioselective preparation of pyridin-2yl ureas from 2-chloropyridines catalysed by Pd(0), *Synthesis*, **2005**, *6*, 915-924. **282-** G. A. Artamkina, A. G. Sergeev, I. P. Beletskaya, Palladium-catalysed reaction of aryl halides with ureas, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 4381-4384.

283- B. J. Kotecki, D. P. Fernando, A. R. Haight, K. A. Lukin, A general method for the synthesis of unsymmetrically substituted ureas *via* palladium-catalyzed amidation, *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 947-950.

284- S. Breitler, N. J. Oldenhuis, B. P. Fors, S. L. Buchwald, Synthesis of unsymmetrical diarylureas *via* Pd-catalysed C-N cross-coupling reactions, *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 3262-3265.

285- J. Harris, N. Church, A. Proud, M. Kling, B. D. Vickery, Preparation of libraries of compounds (e.g. pyridines, pyrazines, imidazopyrazines) capable of binding to the active site of protein kinases, *brevet*, **2004**, GB 2400101.

286- B. H. Yang, S. L. Buchwald, Palladium-catalyzed amination of aryl halides and sulfonates, *J. Organometallic Chem.*, **1999**, *576*, 125-146.

287- M. Prashad, B. Hu, Y. Lu, R. Draper, D. Har, O. Repic, T. J. Blacklock, β -Hydrogencontaining sodium alkoxides as suitable bases in palladium-catalyzed aminations of aryl halides, *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 2612-2614.

288- H. Li, Y. Wang, L. Yan, R. M. Campbell, B. D. Anderson, J. R. Wagner, J. M. Yingling, Novel and potent transforming growth factor beta type I receptor kinase domain inhibitor: 7-amino-4-[2-(pyridin-2-yl)-5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo[1,2-*b*]pyrazol-3-yl)]quinolines, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 3585-3588.

289- J. P. Wolfe, J. Ahman, J. P. Sadighi, R. A. Singer, S. L. Buchwald, An ammonia equivalent for the palladium-catalyzed amination of aryl halides and triflates, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 6367-6370.

290- P. Molina, P. M. Frsneda, M. A. Sanz, A new method for the formation of the imidazo[4', 5'; 3,4]pyrido[2,3-*b*]indole ring: formal synthesis of the alkaloids from marine grossularines –1 and 2, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 6909-6912.

291- N. Xia, M. Taillefer, A very simple copper-catalyzed synthesis of anilines by employing aqueous ammonia, *Angew. Chem.*, **2009**, *48*, 337-339.

292- M. Nilsson, M. Haraldsson, S. Henriksson, R. Emond, E. Savory, I. Simpson, Imidazopyridine compounds as SSAO inhibitors and their preparation and use for the treatment of diseases, *brevet*, **2010**, WO 2010064020.

293- F. Pagniez, P. Le Pape, New fluorometric screening test for possible antifungal drugs, *J. Mycol. Med.*, **2001**, *11*, 73-78.

294- P. Le Pape, F. Pagniez, H. Abdala-Valencia, A new automatized fluorometric assay for anti-*Leishmania* drug screening, *Acta Parasitol.*, **2002**, *47*, 79-81.

295- F. Pagniez, H. Abdala-Valencia, P. Marchand, M. Le Borgne, G. Le Baut, S. Robert-Piessard, P. Le Pape, 3-(α-Azolylbenzyl)indoles: *in vitro* and *in vivo* anti-*Leishmania* activity and mechanism of action, *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, **2006**, *21*, 277-283.

296- S. Leclerc, M. Garnier, R. Hoessel, D. Marko, J. A. Bibb, G. L. Snyder, P. Greengard, J. Biernat, E. M. Mandelkow, G. Eisenbrand, L. Meijer, Indirubins inhibit Glycogen Synthase Kinase-3β and CDK5/P25, two protein kinases involved in abnormal Tau phosphorylation in Alzheimer's disease, *J. Biol. Chem.*, **2001**, *276*, 251-260.

297- S. Bach, M. Knockaert, J. Reinhardt, O. Lozach, S. Schmitt, B. Baratte, M. Koken, S. P. Coburn, L. Tang, T. Jiang, D. C. Liang, H. Galons, J. F. Dierick, L. A. Pina, F. Meggio, F. Totzke, C. Schächtele, A. S. Lerman, A. Carnero, Y. Wan, N. Gray, L. Meijer, Roscovitine targets, protein kinases and pyridoxal kinase, *J. Biol. Chem.*, **2005**, *280*, 31208-31219.

298- J. Reinhardt, Y. Ferandin, L. Meijer, Purification of CK1 by affinity chromatography on immobilised axin, *Protein Expression Purif.*, **2007**, *54*, 101-109.

299- A. Nasal, D. Siluk, R. Kaliszan, Chromatographic retention parameters in medicinal chemistry and molecular pharmacology, *Curr. Med. Chem.*, **2003**, *10*, 381-426.

300- R. Collander, The partition of organic compounds between higher alcohols and water, *Acta Chem. Scand.*, **1951**, *5*, 774-780.

301- OECD, Guideline for Testing of Chemicals, vol. 117, 1989, http://www.oecd.org.

302- J. C. Antoine, E. Prina, C. Jouanne, P. Bongrand, Parasitophorous vacuoles of *Leishmania amazonensis*-infected macrophages maintain an acidic pH, *Infect. Immun.*, **1990**, 58, 779-787.

Résumé :

Les molécules basées sur les systèmes hétérocyliques imidazo[1,2a]pyridine et imidazo[1,2-a]pyrazine ont montré une large variété d'applications thérapeutiques. Ainsi, la conception de nouveaux dérivés d'imidazo[1,2-a]pyridine, substitués en position 2 et 3, mais également d'imidazo[1,2-a]pyrazine, fonctionnalisés en position 6, a été envisagée afin d'élargir le profil d'activité pharmacologique. En particulier, les infections fongiques (Candida albicans, Aspergillus fumigatus) et les maladies parasitaires (Leishmania) représentent un problème majeur de santé publique. Plusieurs classes de composés pour le traitement de ces infections sont couramment exploitées. Cependant, leur utilisation est limitée pour des raisons de toxicité, de biodisponibilité et surtout de résistance, ce dernier aspect étant le problème majeur nécessitant la découverte de nouveaux traitements. Des résultats préliminaires avaient montré que l'emploi d'un inhibiteur spécifique de PKC et des MAP kinases fongiques restaurait la sensibilité de plusieurs souches de C. albicans aux azolés, d'où l'intérêt de cibler cette cascade. De même, chez Leishmania une activité protéine kinase C a été démontrée. Parmi les composés testés, l'émergence d'une activité, que ce soit sur C. albicans ou A. fumigatus, n'a pu être observée alors que des activités prometteuses sur Leishmania major ont été établies.

Mots clés : imidazo[1,2-*a*]pyridine, imidazo[1,2-*a*]pyrazine, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Leishmania major*, résistance, inhibiteurs de kinases fongiques

Abstract:

Molecules based on imidazo[1,2-a]pyridine and imidazo[1,2-a]pyrazine heterocyclic systems showed a wide variety of therapeutic applications. Thus, the design of new imidazo[1,2-a]pyridine derivatives, substituted in also imidazo[1,2-a]pyrazine position 2 and 3. but derivatives functionalized at position 6, was considered in order to expand the profile of pharmacological activity. In particular, fungal infections (Candida albicans, Aspergillus fumigatus) and parasitic diseases (Leishmania) represent a major public health problem. Several classes of compounds for the treatment of these infections are currently in clinical use. However, their use is limited for reasons of toxicity, bioavailability and especially resistance which is the major problem requiring the discovery of new treatments. Preliminary results pointed out that the use of a specific inhibitor of PKC and MAP fungal kinases restored the sensitivity of several strains of C. albicans to azoles, hence the interest of targeting this cascade. Similarly, Leishmania protein kinase C activity has been demonstrated. Among the tested compounds, the emergence of an activity, whether on C. albicans or A. fumigatus, could not be observed while promising Leishmania major activities have been established.

Keywords: imidazo[1,2-*a*]pyridine, imidazo[1,2-*a*]pyrazine, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Leishmania major*, resistance, inhibitors of fungal kinases