

Table des matières

I.	Introduction et état de l'art	4
A.	Le glutamate, un neurotransmetteur	4
B.	Les récepteurs cellulaires du glutamate	6
1.	Récepteurs métabotropiques ou couplés aux protéines G [mGluRs]	6
2.	Récepteurs ionotropes (canaux)[iGluRs]	8
C.	Structure des récepteurs AMPA.....	10
1.	L'édition Glutamine-Arginine (Q/R)	12
2.	Les bloqueurs de canal : les polyamines.....	12
3.	L'épissage alternatif, dit « flip-flop »	13
D.	Mode d'action et toxicité du glutamate	14
1.	Mode d'action	14
2.	Toxicité	15
E.	Modulateurs allostériques positifs.....	15
F.	Travaux réalisés sur la même famille de molécules.....	17
1.	Les benzamides	17
2.	Les N-biaryl(cyclo)alkyl-2-propanesulfonamides.....	20
3.	Exemple de composé récent.....	22
II.	Objectif du travail.....	24
III.	Stratégie et discussion.....	27
A.	Stratégie de synthèse	27
B.	Synthèse des benzothiadiazines dioxides	30
1.	Réaction de Sandmeyer-Meerwein	30
2.	Substitution nucléophile	30
3.	Cyclisation	31
4.	Réduction de la double liaison 2-3 des benzothiadiazines dioxides.....	31

C.	Synthèse de Suzuki-Miyaura	33
1.	Mode opératoire initial	34
2.	Optimisation du mode opératoire	35
D.	Métathèse de Grubbs	40
E.	Hydrogénation catalytique	49
IV.	Conclusions et perspectives	50
A.	Conclusions	50
B.	Perspectives	52
V.	Matériel et méthode	53
B.	Synthèse organique	53
C.	Mode opératoire	54
1.	Réaction de Sandmeyer-Meerwein	54
2.	Substitution nucléophile	56
3.	Cyclisation	58
4.	Réduction	60
5.	Fonctionnalisation de Suzuki-Miyaura	62
6.	Dimérisation de Grubbs	67
7.	Catalyse hydrogène	69
VI.	Annexes	71
VII.	Bibliographie	72

Remerciements

J'adresse mes remerciements aux personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.

En premier lieu, je remercie M. Bernard Pirotte, professeur à l'université de Liège, de m'avoir permis d'effectuer ce travail au sein de son service.

Je tiens à remercier également les membres du service de chimie pharmaceutique pour leur accueil et particulièrement mon encadrant, Thomas Drapier, qui a toujours été à l'écoute et disponible lors de la réalisation de ce mémoire.

Ensuite mes remerciements vont à mes collègues chimistes pour leur soutien, tant moral que scolaire, tout au long de mon cursus.

Je terminerai en remerciant ma famille et plus particulièrement mon grand-père pour la relecture de ce mémoire et d'un grand nombre de travaux durant ces années.

I. Introduction et état de l'art

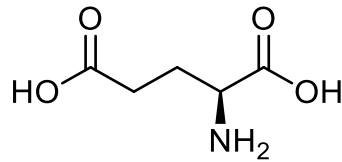
A. Le glutamate, un neurotransmetteur

Le L-glutamate (ou acide glutamique) (1) est un acide aminé non essentiel. Il est considéré comme étant le neurotransmetteur le plus important et le plus abondant chez le mammifère dans le système nerveux central, c'est-à-dire le cerveau et la moelle épinière. Son activité excitatrice des cellules nerveuses a été démontrée en 1960 par Curtis et al¹.

Un neurotransmetteur est un composé chimique synthétisé et stocké dans les cellules nerveuses à l'endroit de la terminaison présynaptique dans des vésicules. Le contenu de ces vésicules est libéré dans l'espace synaptique au moment de l'arrivée d'un potentiel d'action. C'est un événement court (d'une durée entre 1 et 2 millisecondes) pendant lequel le potentiel électrique d'une cellule augmente puis diminue rapidement. Une membrane plasmique possède une perméabilité sélective vis-à-vis de différents ions (en particulier les ions sodium, chlore, potassium et calcium). Au repos, le neurone possède un potentiel d'une valeur d'environ -70mV. Le potentiel d'action, qui va modifier ce potentiel, se compose de trois événements successifs²:

- une dépolarisation transitoire : le potentiel de la membrane interne passe de -70mV à +30mV
- une repolarisation : le potentiel retourne à -70mV
- une hyperpolarisation : le potentiel redescend à -80mV ; c'est ce qu'on appelle la période réfractaire pendant laquelle le potentiel d'action ne peut plus être induit.

Suite à ce potentiel d'action, les neurotransmetteurs sont libérés dans l'espace synaptique et atteignent la membrane post-synaptique par diffusion pour rencontrer le récepteur correspondant³ ; la vitesse de diffusion est de l'ordre de la milli-seconde⁴. La liaison d'un transmetteur sur un récepteur post-synaptique induit un flux ionique qui lui-même induit un changement de polarisation dans la cellule nerveuse.



1

Le glutamate (**1**) ne passe pas la barrière hémato-encéphalique⁵. Ceci consiste en soi en une protection du cerveau vis-à-vis de l'activité du glutamate. C'est pourquoi il doit être directement synthétisé dans les neurones à partir de précurseurs. Les deux précurseurs les plus cités sont la glutamine et le 2-oxoglutarate (appelé également α -ketoglutarate ou α -KG).

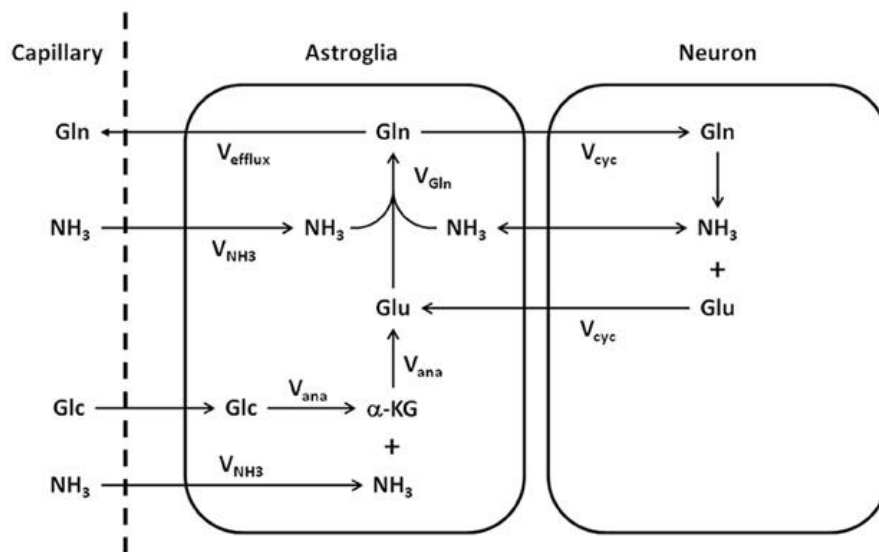


Figure 1 Représentation schématique du cycle glutamate-glutamine entre les neurones et les cellules gliales et la voie de détoxification de l'ammoniac (adaptée de Sibson et al. 1997)

Pour modéliser le métabolisme du glutamate et sa neurotransmission dans le SNC, Sibson et al. (1997) ont proposé un modèle à deux compartiments (Figure 1) où le glutamate (Glu) est libéré par les cellules neuronales dans la fente synaptique est capturé par les astrocytes environnantes (astroglia en anglais) – cellules gliales, jouant un rôle de soutien et protection du tissu nerveux - et transformé en sa forme inactive, la glutamine (Gln) par la glutamine synthétase. Par la suite, la glutamine stockée dans des vésicules peut être expulsée par exocytose suite à une dépolarisation de la membrane et transformée en glutamate par la glutamate synthétase, ce qui complète le cycle.

Une partie du glutamate dans les vésicules peut être formé à partir du 2-oxoglutarate via l'action d'une aspartate-amino-transférase utilisant l'aspartate comme groupe donneur d'amine⁶ (Figure 2).

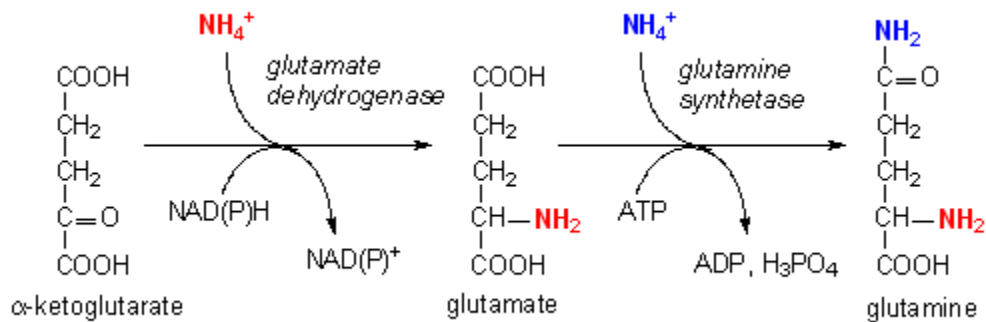


Figure 2 Métabolisme du α -KG, du glutamate et la glutamine

B. Les récepteurs cellulaires du glutamate

Il existe deux types de récepteurs cellulaires sur lesquels le glutamate intervient : les récepteurs ionotropiques et les récepteurs métabotropiques.

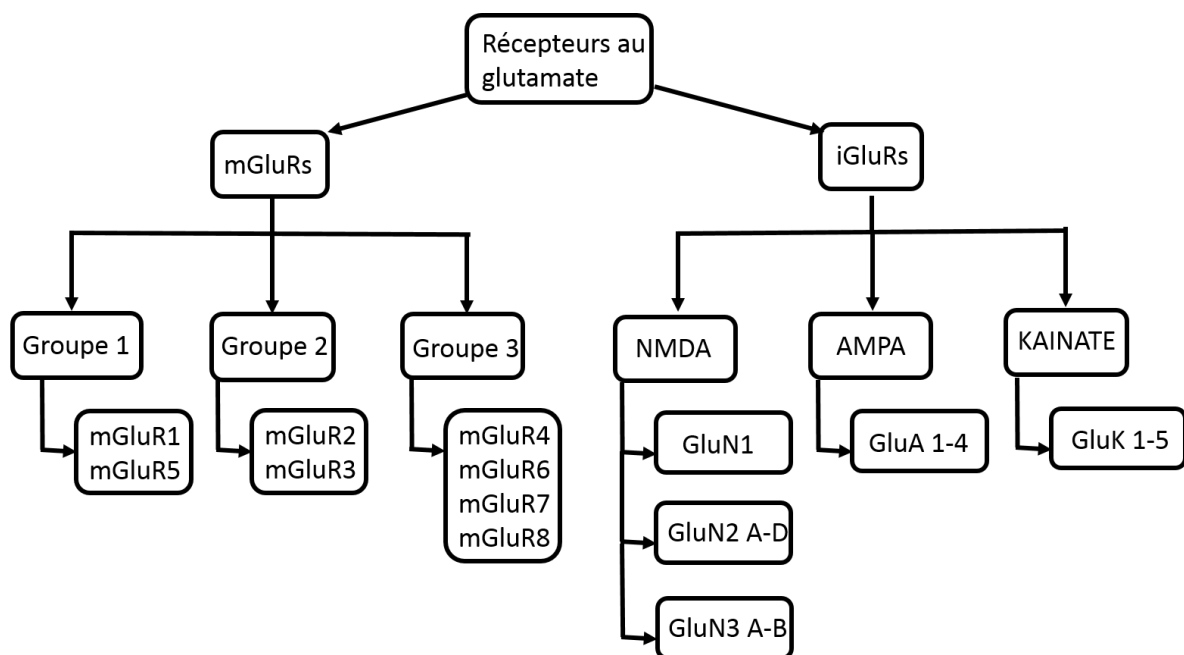


Figure 3 Classification des récepteurs au glutamate

1. Récepteurs métabotropiques ou couplés aux protéines G [mGluRs]

Les récepteurs couplés aux protéines G (Figure 4) se composent de sept hélices alpha transmembranaires, contenant chacune environ vingt résidus d'acides aminés, d'où leur autre dénomination de récepteur à sept domaines transmembranaires. La liaison du ligand au

récepteur entraîne un déplacement des hélices transmembranaires provoquant le changement de conformation de la protéine G. Ces changements de conformation dans la cellule vont jusqu'à avoir un impact sur les protéines intra-cytoplasmiques, via notamment des seconds messagers⁷ (Principes de toxicologie, TOXI0004-1, CHARLIER Corinne, Ulg). C'est pourquoi ces récepteurs sont plus lents que les récepteurs ionotropiques. En effet, la vitesse de transmission du message dépend du nombre d'étapes (seconds messagers) requis pour produire une réponse. Cependant, une fois activés, les seconds messagers peuvent traverser la cellule et atteindre une plus grande gamme de réponses.

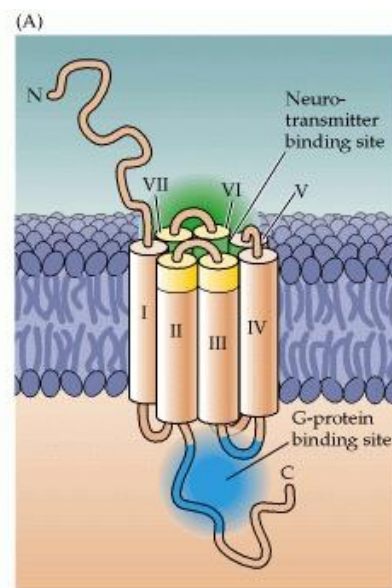


Figure 4 Représentation de la structure générale d'un récepteur couplé à une protéine G.
(Neuroscience, 2001)

Il existe huit types de récepteurs couplés aux protéines G spécifiques au glutamate, commençant par mGluR1 et finissant par mGluR8. Ceux-ci sont divisés en trois groupes (Figure 3), leur différence étant le mode d'activation par leur ligand.

2. Récepteurs ionotropes (canaux)[iGluRs]

Les récepteurs ionotropiques^{8,9}, situés sur la surface extérieure de la membrane, possèdent des sites de liaison pour des ligands. Ces ligands se fixent sur ce site et cela a pour conséquence l'ouverture du canal, ce qui va permettre le passage des ions – pour lesquels le canal est perméable - dans le sens du gradient de concentration.

Les iGluRs sont des assemblages de plusieurs protéines appelées sous-unités. Pour chaque famille de récepteurs, ils peuvent contenir de 3 à 5 sous-unités, qui partagent une structure commune.

Ceux-ci peuvent être classés en trois familles, nommés après leur ligand préférentiel: acide *N*-methyl-D-aspartique (**NMDA**), acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (**AMPA**) et acide kaïnique (**KA**).

Ces récepteurs sont tous perméables à Na^+ et K^+ mais ils peuvent être différenciés par leur affinités pour le glutamate, leur durée d'ouverture et leur perméabilité pour le calcium.

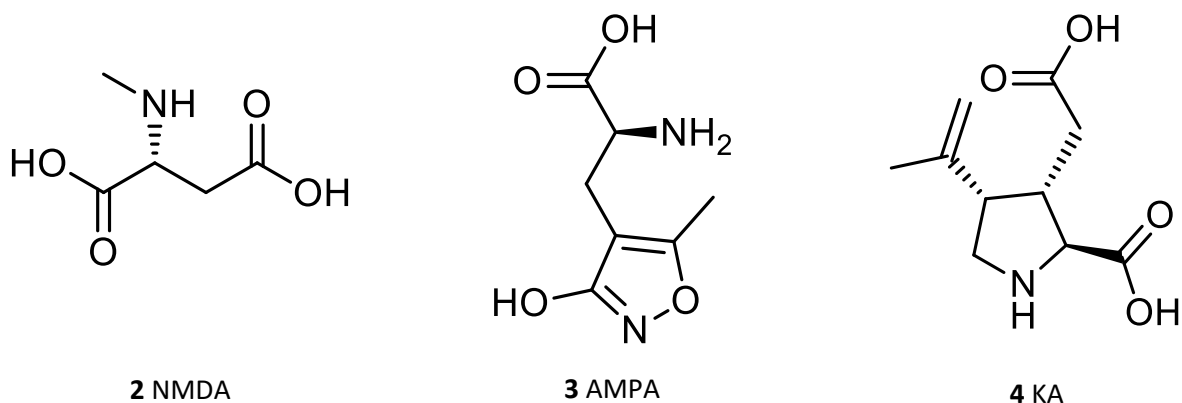


Figure 5 Structures de l'acide *N*-méthyl-D-aspartique, de l'acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolpropionique et l'acide kaïnique

Historiquement, les récepteurs du glutamate ont été séparés en deux catégories : les récepteurs NMDAs et les récepteurs non-NMDAs, ces derniers étant divisés en deux sous-groupes : les Kaïnates et les AMPAs⁵. Le clonage de nombreuses sous-unités de récepteur de glutamate^{10,11} a légitimé la classification pharmacologique initiale. Ensuite, la découverte que les 2,3-benzodiazépines, en particulier GYKI 53655 (LY300268), antagonisent l'AMPA mais pas les récepteurs kaïnate a permis d'élucider le rôle des deux types de récepteurs dans la transmission synaptique.

- Les récepteurs NMDA¹² sont des récepteurs hétérotetramériques composés de deux sous-unités GluN1 et deux sous-unités variables (Figure 3). Ils nécessitent pour être activés une liaison simultanée de glutamate et de glycine en combinaison avec une dépolarisation membranaire permettant l'expulsion de l'atome de Mg^{2+} qui git dans le creux du canal le rendant de fait imperméable à tout ion. Concernant l'activation, ce récepteur a la plus grande affinité pour le glutamate parmi les autres récepteurs du glutamate et ne se désensibilise pas complètement avec la liaison d'un agoniste. Avec une exposition prolongée au glutamate, le récepteur NMDA crée des augmentations soutenues de calcium intracellulaire, ce qui surexcite les neurones, conduisant souvent à la mort cellulaire, phénomène principal lié à l'excitotoxicité.
- Les récepteurs KA sont des canaux tétramériques constitués par l'assemblage de cinq sous-unités différentes (GluK1-5). Ils sont activés par l'acide kaïnique (de manière sélective mais pas spécifique) et par le glutamate¹³. Ces récepteurs sont perméables aux ions Na^+ et K^+ et, en fonction des sous-unités qui constituent le récepteur, ils peuvent être perméables au Ca^{2+} .
- Les récepteurs AMPA¹⁴ sont des récepteurs transmembranaires qui régulent la transmission synaptique rapide dans le système nerveux central. Leur activation ne nécessite pas la présence d'un co-agoniste. Ils sont principalement présents dans la densité postsynaptique des synapses glutamatergiques et sont essentiels pour la formation de synapses excitatrices, pour la consolidation et la restitution, la plasticité neuronale et la formation de circuits neuronaux.

C. Structure des récepteurs AMPA

Les récepteurs AMPA sont des associations tant homomériques qu'hétérotétramériques des sous-unités iGluA1, iGluA2, iGluA3 et iGluA4¹⁵ (Figure 4).

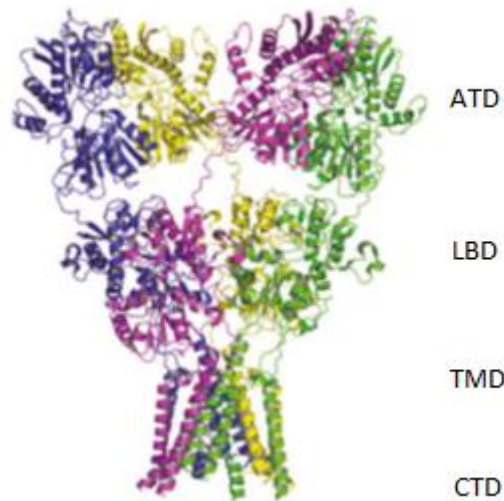


Figure 6 Représentation 3D du récepteur AMPA¹⁶

Chaque dimère peut être construit à partir de deux sous-unités parmi les quatre existantes : GluA1, GluA2, GluA3 et GluA4. Ces sous-unités du récepteur sont modulables et contiennent quatre domaines semi-autonomes [Paas, 1998] (Figure 6) discrets : le domaine amino-terminal (**ATD**), le domaine de liaison du ligand (**LBD**), le domaine transmembranaire (**TMD**) et un domaine carboxyle-terminal (**CTD**).

- Le domaine amino-terminal¹⁶ se situe dans la région extracellulaire. C'est la région la plus structurellement et fonctionnellement différente des autres sous unités. L'ATD facilite l'assemblage des sous-unités et contrôle les propriétés d'ouverture du canal.
- Le domaine de liaison du ligand se situe dans la région extracellulaire. C'est l'endroit où se lie l'agoniste. L'endroit de la liaison de l'agoniste est situé au niveau des régions S1 et S2 du récepteur¹⁷ (Figure 7) qui forment une pince pour capter le ligand. La liaison de l'agoniste induit un changement de conformation relayé au pore induisant l'ouverture du canal. Au total un récepteur AMPA peut fixer 4 molécules de glutamate et la liaison d'un ou deux agonistes permet l'ouverture du canal¹⁸. C'est également à cet endroit que les modulateurs allostériques se lient.

- Le domaine transmembranaire¹⁹ se situe dans la bicouche lipidique. Il contient des hélices alpha (TM1, TM3 et TM4) et une boucle (TM2) qui ne traverse pas la membrane. Les hélices 1 et 3 participent à la formation du canal tandis que la fonction de l'hélice 4 n'est pas encore connue avec précision, mais semble impliquée dans le phénomène de désensibilisation.

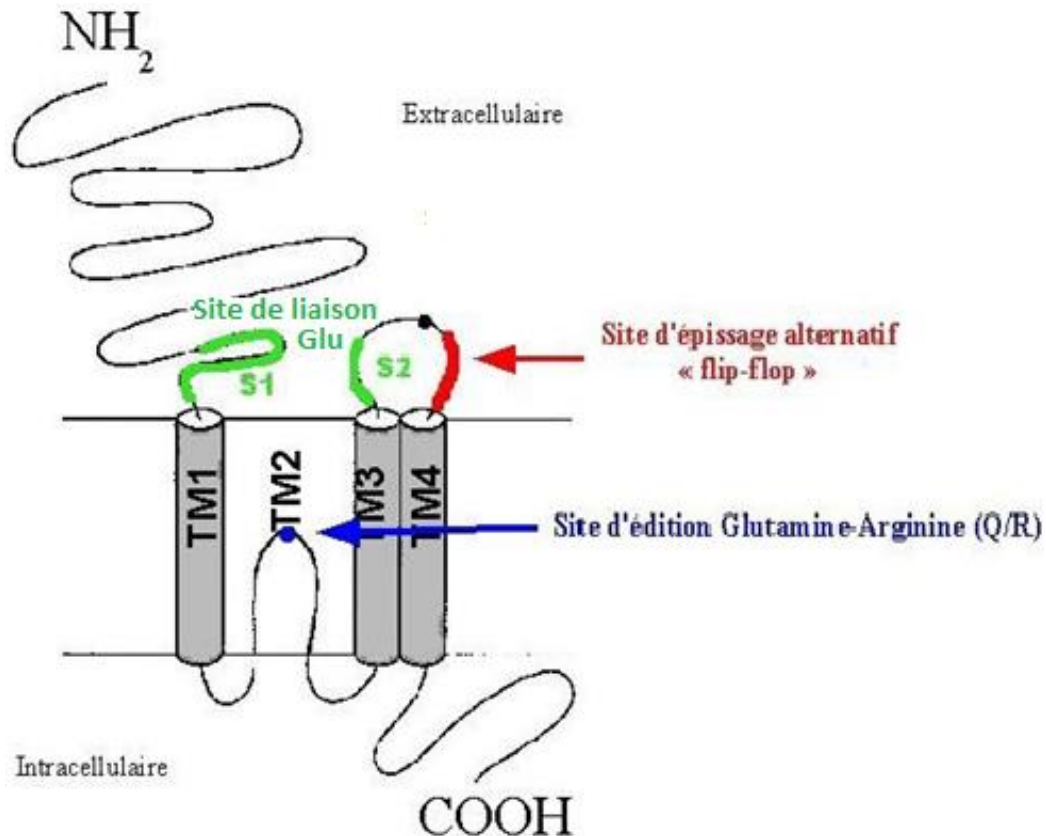


Figure 7 Diagramme schématisé de la structure d'une sous-unité¹⁵

- Le domaine carboxyl-terminal se situe dans la région intracellulaire. Celui-ci varie beaucoup en taille et en séquence entre les différents récepteurs au glutamate et est sujet à l'épissage alternatif. On pense que le CTD influence le ciblage membranaire, la stabilisation, les modifications post-traductionnelles et le ciblage de la dégradation. Pour certaines sous-unités de récepteur de glutamate (par exemple, GluA1, GluA2), la suppression de ce domaine n'abolit pas la fonction, mais altère la régulation (Köhr et Seeburg, 1996, Ehlers et al., 1998, Vissel et al., 2001), car les CTD contiennent différents sites de phosphorylation et sites de liaison pour les protéines intracellulaires importantes pour la régulation du trafic membranaire et de la fonction du récepteur (Sheng and Lee, 2001; Collingridge et al., 2004).

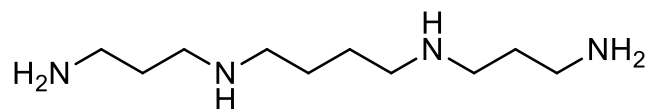
Il est intéressant de noter deux points remarquables concernant la structure des sous-unités. Celles-ci possèdent toutes un site d'édition (Q/R) au niveau du canal dans le segment TM2 ainsi qu'un site d'épissage alternatif dit « flip-flop » au niveau de la boucle 3-4 (Figure 7).

1. L'édition Glutamine-Arginine (Q/R)

C'est un mécanisme post-transcriptionnel qui s'effectue au niveau du noyau sur l'ARNm non mature (avant élimination des séquences introniques). L'édition ne se produit pas sur les unités GluA1, GluA3 et GluA4 mais sur toutes les sous-unités GluA2. L'action de l'enzyme adénosine dé-aminase permet de dé-aminer l'adénosine d'un codon CAG, ce qui le transforme en codon CIG. Cette transformation entraîne après traduction le remplacement d'une glutamine par une arginine. La présence d'une arginine positivement chargée diminue la conductance du canal ainsi que sa perméabilité au calcium et sensibilité aux bloqueurs de canal²⁰⁻²²²³. D'un point de vue fonctionnel, la présence d'une unité éditée (GluA2) au sein d'un récepteur AMPA bloque toute perméabilité calcique du canal.

2. Les bloqueurs de canal : les polyamines

Les polyamines²⁴ sont des polycations qui interagissent avec des molécules chargées négativement comme l'ADN, l'ARN ou encore les protéines. Ce sont des composés de faible poids moléculaire possédant une structure du type de la spermine (5).



5 Spermine

Contrairement aux AMPARs qui contiennent des unités GluA2, les récepteurs ne contenant pas cette unité GluA2 sont perméables au calcium et sont sujets au blocage par les polyamines. En fonction du nombre de sous-unités GluA2 présentes dans le tétramères, le canal AMPA sera plus ou moins sensible à l'action des polyamines.

Par exemple, si 3 sous-unités ou plus sont GluA2, le canal sera imperméable au calcium et sensible aux polyamines. Par contre s'il y a une seule sous-unité GluA2, le canal sera toujours imperméable au calcium mais moins sensible aux polyamines. Enfin l'absence complète de sous-unités GluA2 rend le canal à la fois perméable au calcium et sensible aux polyamines.

L'intérêt donc de ces toxines est de pouvoir inhiber sélectivement les canaux AMPA ne contenant pas GluA2.

Les polyamines endogènes intracellulaires interagissent fortement avec le canal AMPA ouvert ne contenant pas d'unité GluA2 résultant en un blocage potentiel-dépendant. Elles ont aussi une action par la voie extracellulaire où elles bloquent les courants AMPA au potentiel de repos. D'un point de vue physiologique, les polyamines sont libérées dans certaines conditions comme en cas de crise d'épilepsie ou d'ischémie, par la glie et les neurones. Leur rôle inhibiteur sur les canaux AMPA calcium-perméable pourrait réduire les flux calciques, consistant donc en un mécanisme de protection des neurones vis-à-vis d'une surcharge calcique²⁵.

Ces molécules²² se retrouvent également dans des toxines issues d'araignées et de guêpes.

3. L'épissage alternatif, dit « flip-flop »

L'épissage d'un gène²⁶ se produit pendant la maturation de l'ARN messager. Selon les exons qui sont retenus on obtiendra deux protéines différentes pour un même gène ou une protéine avec des parties différentes. Toutes les sous-unités GluAs sont susceptibles de subir un épissage alternatif. On obtient pour chaque sous-unité une variante dite flip ou flop. Cette différence a une forte influence sur la désensibilisation du récepteur.

Les récepteurs composés d'un plus grand nombre de sous-unités « flop » sont plus rapidement désensibilisés par rapport à ceux qui contiennent des sous-unités « flip ». En conséquence, leur vitesse de désensibilisation va dépendre de la proportion différente des sous-unités.

Comme tous les récepteurs sont formés par association de plusieurs sous-unités de protéine pouvant se combiner d'un grand nombre de façons, il en résulte qu'il n'y a pas « un » mais « des » récepteurs AMPA, les différentes associations pouvant produire un grand nombre de récepteurs différents.

D. Mode d'action et toxicité du glutamate

1. Mode d'action

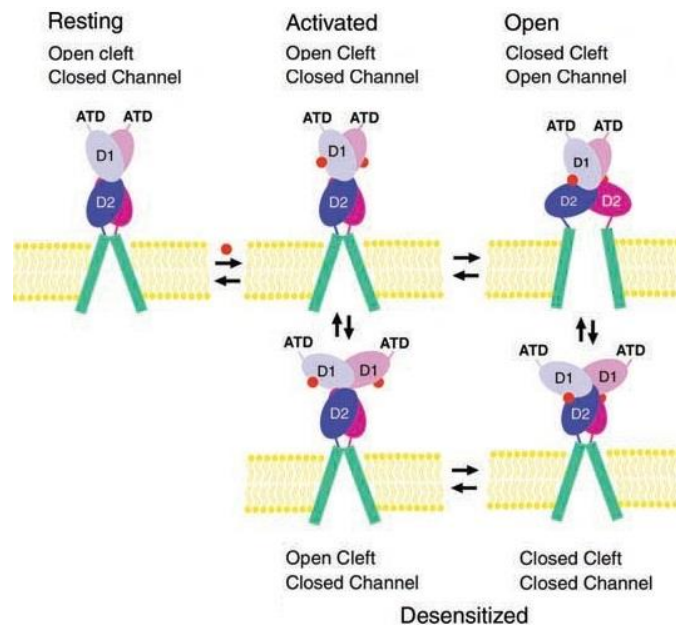


Figure 8 Représentation schématique du lien entre la liaison du ligand et les changements conformationnels

Sur la Figure 8 sont représentées deux sous-unités du tétramère. Le point rouge représente le glutamate qui vient se lier dans la pince entre le domaine S1 et le domaine S2 (appelés également D1 et D2). Au repos (Resting), l'agoniste n'est pas lié, la pince est ouverte et le canal est fermé donc aucun influx d'ion n'est possible. Lorsque que le glutamate vient se fixer (Activated) et que la pince se referme, le canal s'ouvre et l'influx d'ions est possible (Open). Ce phénomène¹⁵ est réversible et le ligand peut être libéré ce qui va induire la fermeture du canal – dans ce cas on parle de désactivation. Un autre phénomène également possible - appelé désensibilisation^{27,28} - induit la fermeture du canal malgré la liaison d'un agoniste sur le site orthostérique.

Les travaux effectués depuis plusieurs années affichent un grand nombre d'argument démontrant le rôle du glutamate dans les processus cognitifs comme la mémoire via la potentialisation à long terme (PLT) –renforcement synaptique suite à une stimulation brève à répétition d'un système neuronal. La PLT est une manifestation de la plasticité neuronale, c'est-à-dire la capacité du cerveau de créer, défaire ou réorganiser les réseaux de neurones et les connexions de ces neurones - des neurones de l'hippocampe et d'autres régions du cortex^{29,30}.

2. Toxicité

Il a été démontré que bloquer sélectivement les récepteurs NMDA perturbe les phases d'encodage, ce qui correspond au traitement d'informations sensorielles pour être mises en mémoire. Cela affecte également les phases de consolidation – maintien dans le temps des informations apprises –, sans concerner la phase de restitution – capacité de restituer une information préalablement apprise^{29,31}. Par contre, le blocage des récepteurs AMPA et KA par un antagoniste sélectif n'affecte pas uniquement la phase d'encodage, mais également la consolidation et la restitution, notamment dans le cadre de la mémoire spatiale^{29,32}.

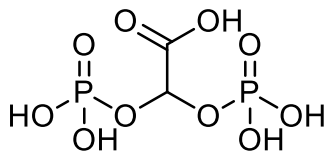
Le glutamate étant un messenger essentiel dans le CNS, il est important que celui-ci puisse induire une réponse précise en fonction de sa concentration et de son affinité avec le site orthostérique. En effet, la mauvaise capacité des récepteurs à lier le glutamate peut être directement la cause de problèmes pathologiques. De plus, une excitation prolongée due à une ouverture anormalement longue des récepteurs peut mener à la mort cellulaire.

Parmi ceux-ci donc, le récepteur AMPA, est considéré comme étant d'une importance majeure pour la maladie d'Alzheimer et est impliqué dans les maladies neurovégétatives comme la schizophrénie¹⁵.

C'est dans le but de soigner ces maladies liées à une mauvaise transmission du message initial du glutamate que la recherche scientifique s'est dirigée vers les modulateurs allostériques.

E. Modulateurs allostériques positifs

Un modulateur allostérique est une molécule qui se lie à un récepteur et qui va influencer les effets d'un ligand endogène. Comme le modulateur se fixe dans une poche dite allostérique, différente de la poche de fixation principale dite orthostérique, il n'induit aucune action à lui seul. Les modulateurs fonctionnent en général par induction d'un changement de conformation dans la structure de la protéine.



6 2,3 Diphosphoglycerate (2,3 DPG)

Un exemple généralement vu dans les cours de biochimie est le 2,3 DPG (**6**). Cette petite molécule possède une plus grande affinité pour l'hémoglobine désoxygénée que pour l'hémoglobine oxygénée. Sa liaison à l'hémoglobine va induire un changement de conformation dans celle-ci tel que cela diminue son affinité pour l'oxygène. Ce mécanisme va permettre donc de libérer de l'oxygène dans les tissus en ayant le plus besoin. Cette fonction a été découverte en 1967 par Reinhold Benesch et Ruth Benesch³³.

Il existe plusieurs types de modulateurs allostériques³⁴: les modulateurs allostériques négatifs (MANs) – qui inhibent la réponse du ligand natif - ; les modulateurs allostériques silencieux (MASS) – également appelés ligands allostériques neutres qui se lient au récepteur mais n'ont pas d'effet sur l'efficacité ou l'affinité du ligand nati ; et finalement les modulateurs allostériques positifs (MAPs). Ce sont ces derniers qui vont nous intéresser dans ce cas-ci.

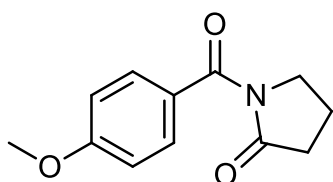
Comme son nom l'indique, un modulateur allostérique positif (ou activateur) induit une amplification du signal en augmentant l'affinité de la liaison entre deux entités ou en améliorant l'efficacité fonctionnelle de l'agoniste.

Les MAPs peuvent agir soit sur la vitesse de désactivation soit celle de la désensibilisation, soit les deux à la fois³⁵. Ces deux activités influencent l'effet du neurotransmetteur sur les récepteurs. La fermeture du canal induit la désactivation et cela est suivi par l'élimination du ligand. L'utilité des modulateurs allostériques positifs est d'induire une modification de la structure à l'endroit de la liaison afin de retarder la fermeture du canal, ce qui se traduit en une action de plus longue durée.

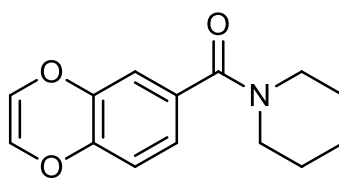
F. Travaux réalisés sur la même famille de molécules

1. Les benzamides

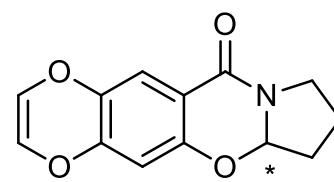
Les premiers exemples de modulateurs allostériques étaient de la famille des benzamides, avec comme première molécule l'aniracetam (**7**) ($EC_{50} = 134 \mu M$)³⁶. Suite à cette molécule, toute une série de modifications de la structure initiale ont été effectuées par Cortex, le but étant d'améliorer l'activité du composé, sa stabilité métabolique et sa biodisponibilité ainsi que d'éventuellement découvrir le groupement pharmacophore de la molécule. Aucun de ces composés n'a atteint le marché du médicament même si certains sont entrés en phase clinique.



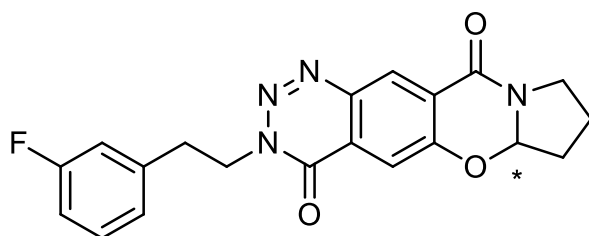
7 Aniracetam



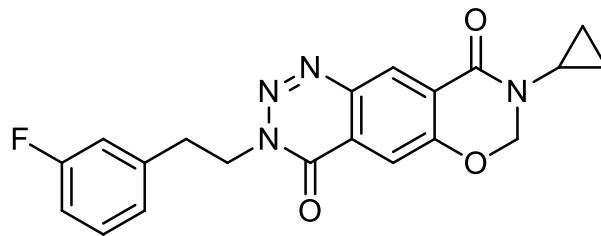
8 CX546



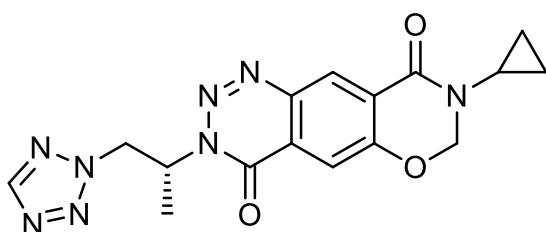
9 CX614



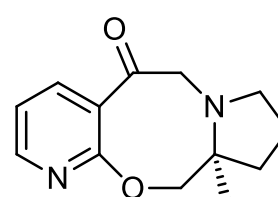
10



11



12



13 Org 26576

Figure 9 Résumé des modulateurs allostériques des récepteurs AMPA de type Benzamide

Des travaux ont ensuite été réalisés sur des dérivés de la molécule CX614 (**9**). Parmi ceux-ci, les molécules affichant une meilleure activité *in vitro* sont les composés **14** ($EC_{50} = 0.0037 \mu M$) et **15** ($EC_{50} = 0.0007 \mu M$). Ils proposent donc une activité jusqu'à presque $2 \cdot 10^5$ fois supérieure à la première molécule aniracetam (**7**).

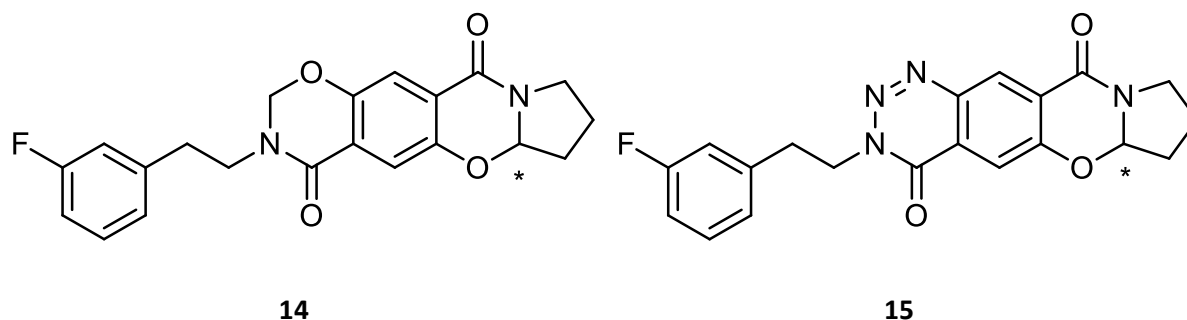


Figure 10 Exemple d'un composé dérivé de CX614

Une autre classe importante de modulateurs allostériques des récepteurs AMPA sont les benzothiadiazines dioxides (Figure 11). Le premier représentant étant le cyclothiazide **16**, un diurétique thiazidique qui était connu pour réduire la désensibilisation des récepteurs au glutamate et prolonger les courants post-synaptiques dans les neurones de l'hippocampe chez le rat^{37,38}. Le diazoxide **17**, un activateur des canaux potassiques utilisé en tant qu'antihypertenseur, a ensuite été identifié comme un potentiateur des récepteurs AMPA. Le composé IDRA21 **18** a montré, par la suite, une réponse *in vitro* trois fois plus grande que le diazoxide et était capable de passer la barrière hématoencéphalique, contrairement au cyclothiazide.

Lors de ce mémoire la notation des emplacements des différents groupes sur des squelettes des benzothiadiazines dioxides sera identique à celle affichée sur la molécule **19** quand la molécule est cyclisée. La numérotation sera identique à la molécule **20** quand celle-ci est 'ouverte'.

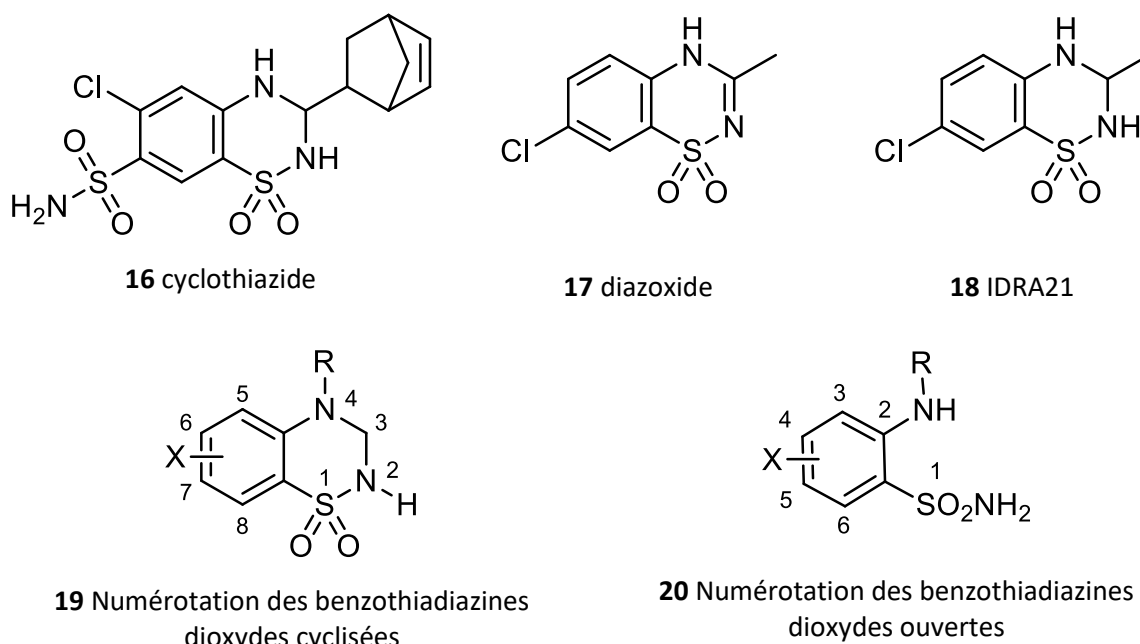
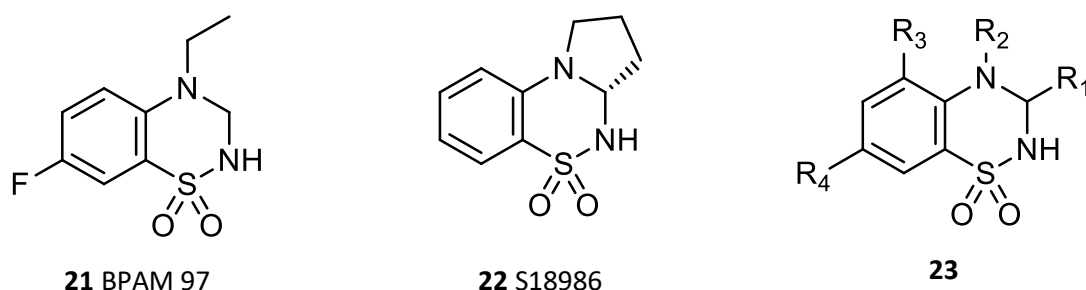


Figure 11 Dioxydes de benzothiadiazine

Les études suivantes ont donc été réalisées sur le composé **18**, celui-ci étant une petite molécule avec une activité intéressante et avec la capacité de passer la barrière hématoencéphalique, contrairement au cyclothiazide. Par la suite, toute une série de molécules a été étudiée en faisant varier le nombre de cycles ou les substituants sur la structure de base. Il est ressorti récemment par des observations cristallographiques que le composé **21** se liait de la même façon que le composé IDRA 21 au niveau du domaine de liaison des ligands (LBD) des récepteurs AMPA³⁹. Le composé **22** est entré en tests cliniques mais n'est pas arrivé au bout. La littérature de l'époque (2012) montrait clairement que l'industrie pharmaceutique manifestait un très grand intérêt pour les molécules répondant à la formule générale (**23**).



Les benzathiadiazines ont ensuite été modifiées par l'apparition d'un cycle à 7 pièces comme le composé **24** (Les Laboratoires Servier, 2010) qui affichait le même profil pharmacologique de modulateur allostérique ainsi qu'une activité antagoniste des récepteurs NMDA.

Cela démontre qu'il n'est pas nécessaire d'avoir un cycle à 6 pièces pour avoir une activité de modulateur allostérique positif des récepteurs AMPA.

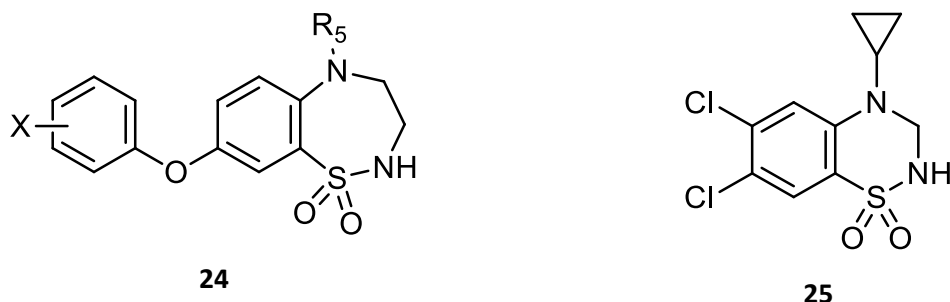


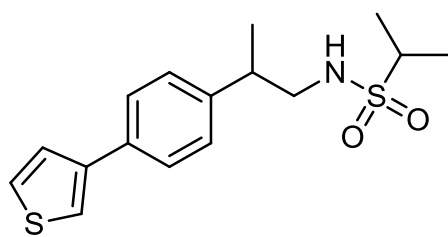
Figure 12 Modifications des cyclobenzothiadiazides

Un brevet décrivant les modulateurs allostériques de récepteurs AMPA concernait des benzothiadiazines de formule générale (**23**), une série de nouveaux composés plus étroitement liés à IDRA 21⁴⁰. L'introduction d'un groupe aryle, en particulier un groupe furyle à la position 5 de l'hétérocycle, améliore l'efficacité in vitro sur les récepteurs AMPA. Le composé **25** (EC₅₀ : 1 µM), porteur d'un groupement cyclopropyle en position 4, est également actif in vivo après administration orale donnant une amélioration des capacités de mémorisation chez la souris³⁵.

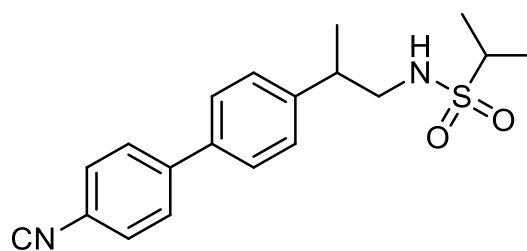
Ensuite d'autres types de modulateurs allostériques ont été étudiés, voici quelques exemples de structure que l'on peut retrouver dans la littérature.

2. Les N-biaryl(cyclo)alkyl-2-propanesulfonamides

La firme Lilly a développé les premiers exemples de N-biaryl(cyclo)alkyl-2-propanesulfonamides. Cette famille de composés tels que le LY392098 (**26**) et le LY404187 (**27**) possèdent le même squelette (Figure 13), c'est-à-dire qu'ils sont constitués d'un fragment 2-biarylpropyle lié à l'atome d'azote d'une fonction 2-propanesulfonamide. Un composé du même type LY451395²⁷ a progressé jusqu'en phase clinique 2 ; néanmoins il n'a pas réussi à montrer une amélioration de la déficience cognitive dans la maladie d'Alzheimer²⁷. Ces composés ont évolué de différentes façons, dans le but d'améliorer la biodisponibilité orale, suite aux travaux de GSK^{28,41,42} et de Pfizer⁴³.



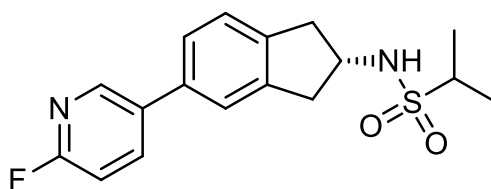
26



27

Figure 13 LY392098 (gauche) et LY404187 (droite)

Un exemple cité dans un article⁴¹ de janvier 2017 montre qu'aujourd'hui ces molécules ont encore un grand intérêt. Le composé UoS12258 (**28**) a démontré une puissante activité in vitro (EC50 de 10 nM) et une bonne distribution dans le système nerveux central in vivo.



28 UoS12258

3. Exemple de composé récent

En 2014, Citti et al. ont développé et étudié en 2014 le composé **29**⁴², celui-ci étant un dérivé analogue de l'IDRA21 (**18**) montrant une activité AMPA-MAP in vitro intéressante.

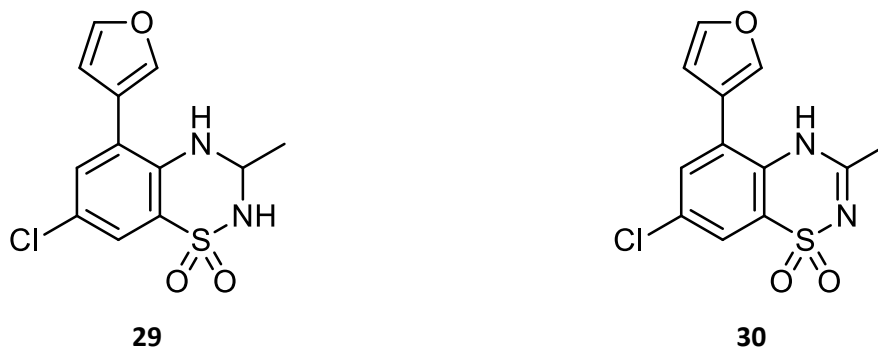


Figure 14 7-Chloro-5-(furan-3-yl)-3-methyl-3,4-dihydro-2H-benzo[e][1,2,4]thiadiazine 1,1-dioxide
Ils le considèrent comme étant un des composés de type benzothiadiazine dioxyde les plus actifs décrits (2016). Celui-ci passe facilement la barrière hémato-céphalique.

En réalité, le composé **29**, qui est métabolisé in vivo en **30** par le cytochrome P450⁴³, a montré par modélisation moléculaire de meilleures interactions qu'IDRA21 (Figure 15).

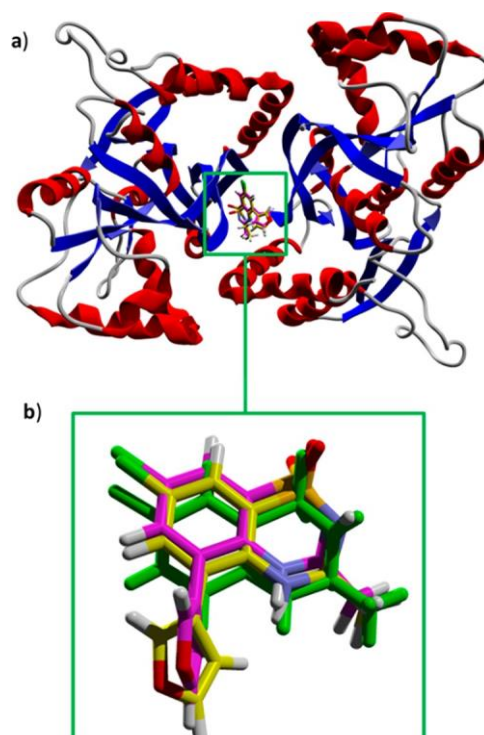


Figure 15 (a) Composé 1 (jaune) et 2 (magenta) dans un dimer de GluA2.
(b) Mode de liaison de 1 (jaune), 2 (magenta) et IDRA21 (vert).

La Figure 15 permet d'observer visuellement le mode de liaison du ligand sur le récepteur ainsi que la comparaison avec le composé de référence IDRA21 (**18**). La principale différence entre

le composé 1 et le composé 2 réside dans l'interaction polaire avec Pro494. L'absence d'atome d'hydrogène à la position N-2 dans le composé 2 à cause de la double liaison ne permet pas d'interaction avec l'oxygène du carbonyl de Pro494.

Cela montre bien qu'aujourd'hui les benzothiadiazines restent des molécules d'intérêt et que des travaux sont nécessaires pour en apprendre plus sur les MAPs des récepteurs AMPA et pour découvrir des molécules possédant une meilleure activité in vitro et in vivo et ainsi optimiser les différents paramètres qui permettront de passer les phases cliniques.

II. Objectif du travail

Une étude cristallographique³⁹ a été réalisée sur co-cristallisation d'un dimère du LBD de la sous-unité GluA2 en présence de benzothiadiazines différentes (IDRA 21, cyclothiazide et BPAM97). Les résultats montrent que le site de fixation des modulateurs allostériques est le même pour les trois molécules. De plus, il se trouve à l'interface des deux sous-unités monomériques du récepteur. On peut également observer que deux benzothiadiazines se fixent à l'interface entre ces deux unités. Concernant le mode de fixation, celui de BPAM97 (**21**) s'apparente à celui d'IDRA21 (**18**) alors que le Cyclothiazide (**16**) s'oriente d'une façon différente dans la poche.

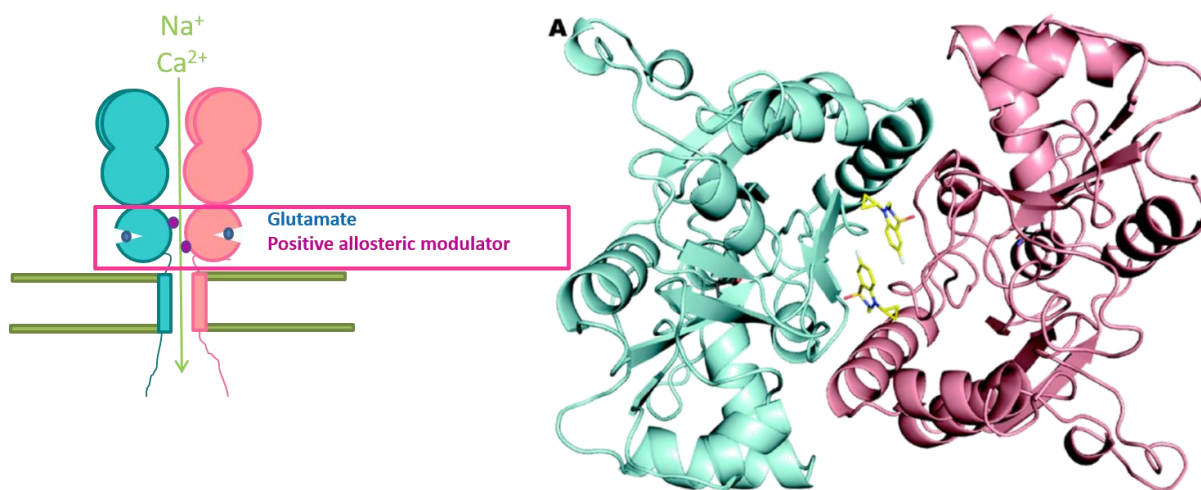


Figure 16 Structure d'un dimère du LBD de GluA2 avec BPAM97 (**20**) fixé (jaune) sur son site et le glutamate (gris) lié au site de fixation des agonistes. Pastille bleu : Glutamate ; Pastille orange :MAPs

Comme les deux modulateurs allostériques sont situés à une distance assez courte l'un de l'autre, nous avons pensé les lier, c'est-à-dire, synthétiser un dimère afin d'augmenter son affinité pour la poche du récepteur et donc obtenir un pont, « linker », entre les deux molécules.

Afin de vérifier ces hypothèses, le Dr S. Dilly a effectué des expériences de modélisation moléculaire à partir des données cristallographiques obtenues avec le composé **21** (BPAM97). Deux paramètres importants pour envisager la synthèse de dimères ont été investigués : premièrement, la longueur du pont doit être de type éthylène ou propylène. Concernant l'encrage du linker sur le noyau benzothiadiazine, sa position optimale semble être en 6.

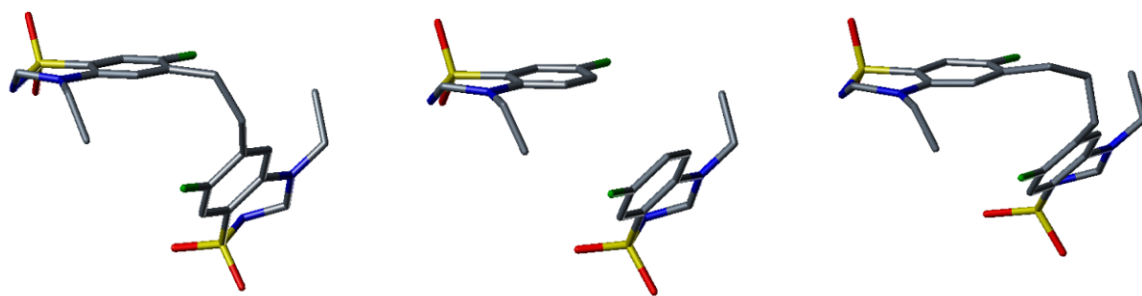
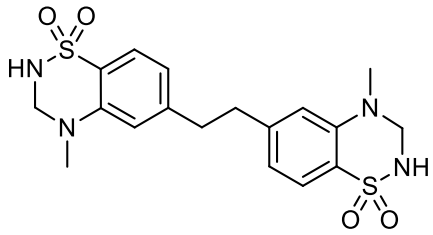
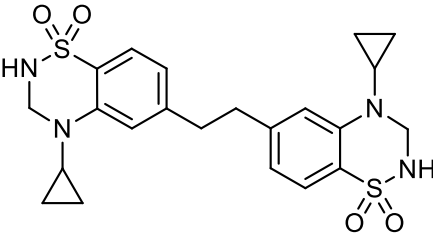
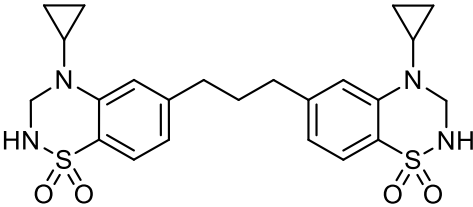
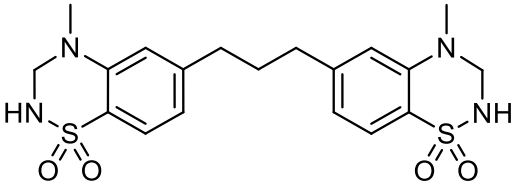
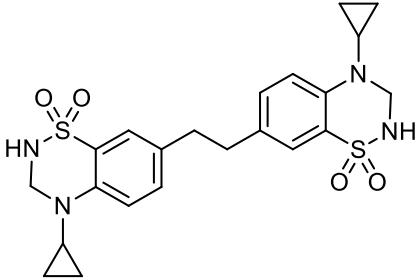


Figure 17 Modélisation des dimères potentiels. De gauche à droite : linker -CH₂-CH₂-, monomères de référence, linker -CH₂-CH₂-CH₂-

Un docking a permis de classer, d'un point de vue théorique, les différents dimères en fonction de leur énergie de liaison. Celle-ci est une valeur négative qui rend compte de l'énergie libérée lors de la formation du complexe entre le récepteur et le ligand ; plus celle-ci est élevée, plus l'affinité théorique est grande. Ce docking confirme les indications sur la longueur du linker et le lieu de fixation du ligand. De plus, il détermine également que le lien éthylène est plus intéressant que le lien propylène et il nous donne des informations concernant les substituants en position 4. En effet, ceux-ci influencent la configuration vis-à-vis du site de coordination du récepteur. Les groupements méthyles sont plus intéressants que les groupements cyclopropyles parce qu'ils imposent moins de contraintes stériques.

Des précédents travaux réalisés par Thomas Drapier, Alice Clamart et Antoine Lorion ont permis de synthétiser le dimère **31**. Dans la continuité de ce travail, l'objectif de ce stage est de synthétiser les autres dimères afin de voir si la pratique confirme la théorie.

Molécule	Energie de liaison (kcal/mol)
 <p>31</p>	-55.6828
 <p>32</p>	-54.8251
 <p>33</p>	-53.2375
 <p>34</p>	-45.4065
 <p>35</p>	-25,0000

III. Stratégie et discussion

A. Stratégie de synthèse

Dans le but d'obtenir les dimères **32**, **33**, **34** et **35** deux schémas de synthèse ont été envisagés, représentés dans la Figure 18 et la Figure 19. Pour ce faire, nous nous sommes d'abord inspirés des modes opératoires établis au préalable par le laboratoire de chimie pharmaceutique ainsi que par Thomas et ses différents stagiaires. Ces modes opératoires durent être optimisés voir même remplacés afin que notre objectif soit atteint.

Le dimère **31** a pu être synthétisé par Antoine Lorion et Thomas Drapier via la première méthode de synthèse (Figure 18). Il s'est avéré que l'étape limitante pour la synthèse des autres dimères était la fonctionnalisation de Suzuki-Miyaura, pour laquelle il était impossible d'obtenir le produit pur dans les mêmes conditions que le dimère **31**. Celle-ci a donc été la première étape d'optimisation lors de ce stage et a mené à d'autres modifications nécessaires par rapport au mode opératoire d'origine.

L'objectif ultime du travail étant l'évaluation pharmacologique des dimères et celle-ci nécessitant un produit pur (>99%), les dimères synthétisés doivent être isolés et purifiés.

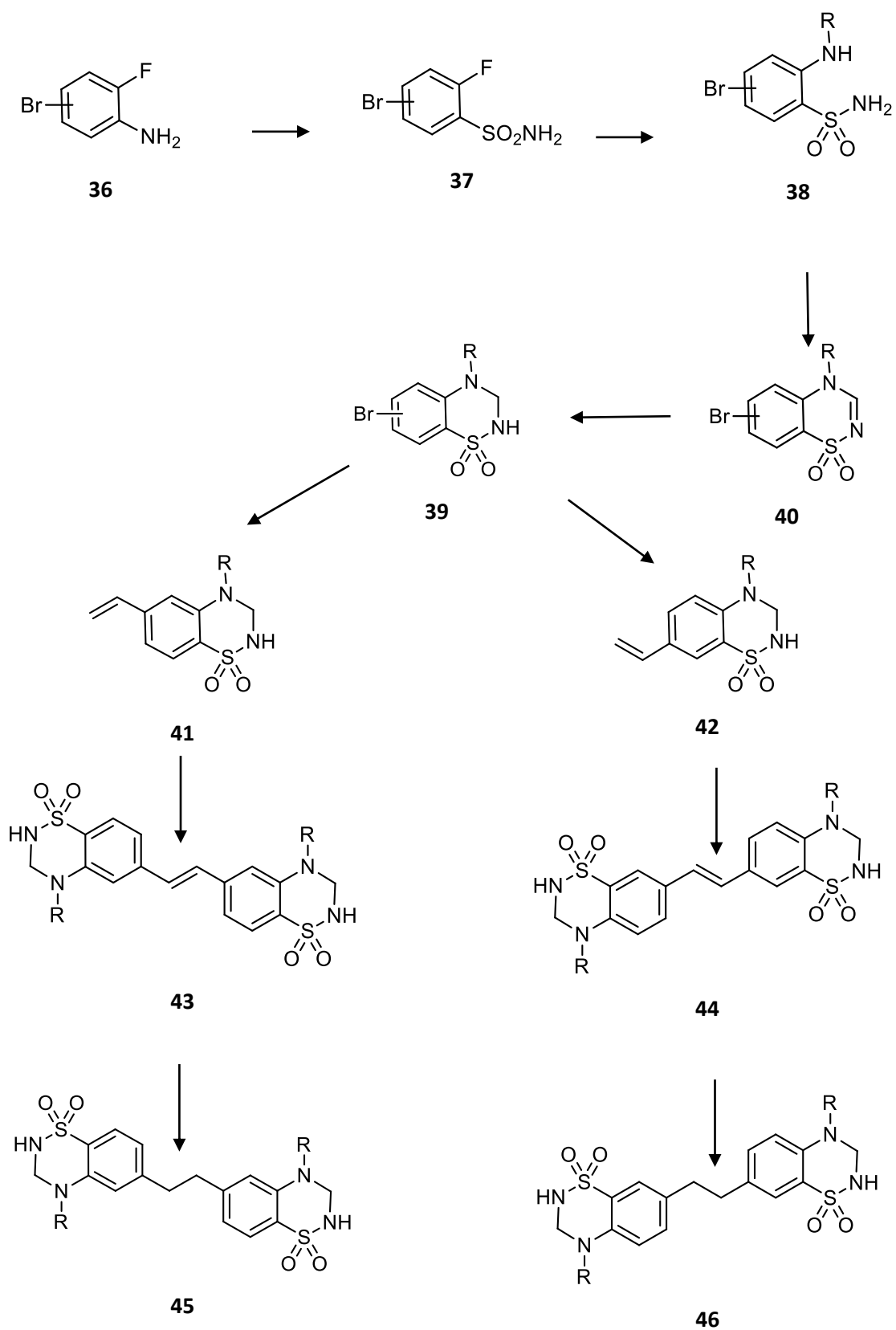


Figure 18 Premier schéma de synthèse envisagé

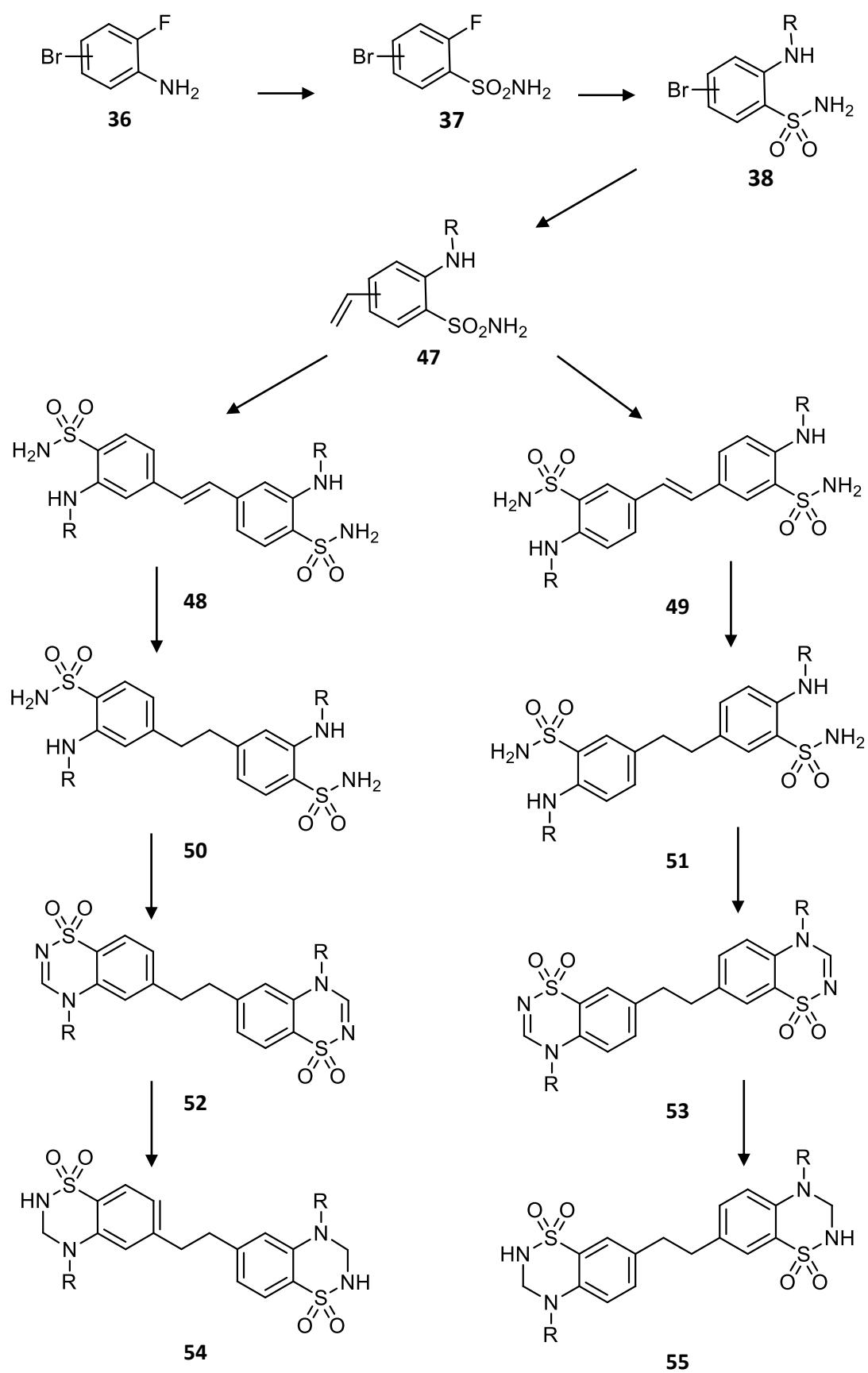
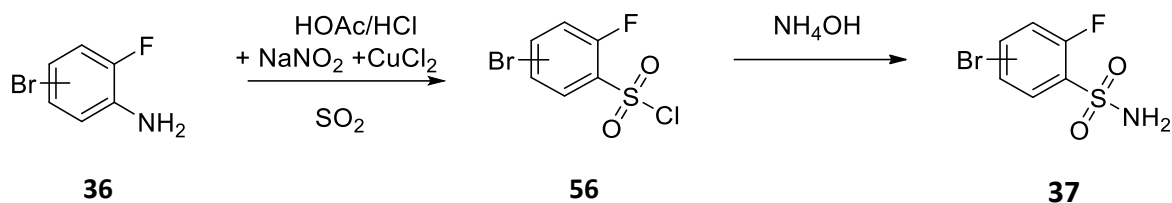


Figure 19 Deuxième schéma de synthèse envisagé

B. Synthèse des benzothiadiazines dioxydes

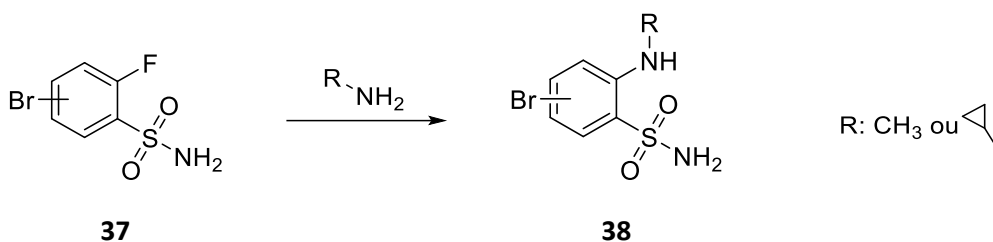
1. Réaction de Sandmeyer-Meerwein



La synthèse réalisée pour cette étape est une réaction de Sandmeyer-Meerwein (H., et al., 1957). L'aniline est convertie en benzènesulfonamide. La réaction se produit en milieu acide (acide chlorhydrique et acide acétique) et implique la réaction entre une aniline et un nitrite. Un intermédiaire sel de diazonium est formé suite à la réaction entre l'aniline et l'acide nitreux. Celui-ci se décompose grâce à la présence d'ions cuivreux formés in situ par réduction des ions cuivriques par du SO₂ saturant le milieu. Par la suite, le chlorure de sulfonyle formé est placé dans une solution d'ammoniaque afin d'obtenir la sulfonamide correspondante.

Cette réaction est la même quel que soit l'emplacement du brome sur le cycle aromatique. Le mode opératoire se trouve à la section I.C.1

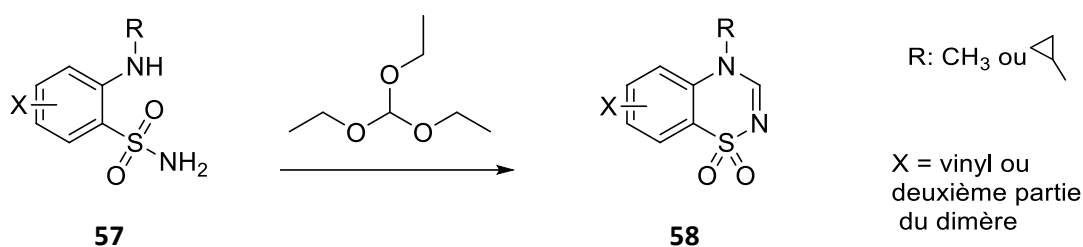
2. Substitution nucléophile



La synthèse réalisée pour cette étape est une réaction de substitution nucléophile sur un noyau aromatique. Le fluor est substitué par une amine primaire. Cette réaction est facilitée par l'appauvrissement de la distribution électronique du cycle par la sulfonamide, celle-ci activant les positions para et ortho. De plus, le fluor activé est un très bon groupe partant.

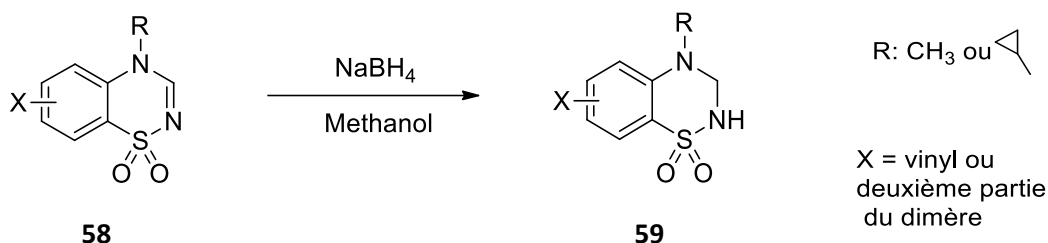
Cette réaction est identique quel que soit l'emplacement du brome sur le cycle aromatique. Le mode opératoire se trouve dans le travail de P. Francotte à la section I.C.2.

3. Cyclisation



La synthèse réalisée pour cette étape est une réaction de cyclisation. Le composé est cyclisé par l'action d'orthoformiate de triéthyle à une température de 135°C en vase ouvert. Cette réaction fonctionne quelle que soit la nature du substituant X utilisé lors du stage. Le mode opératoire complet se trouve à la section I.C.3.

4. Réduction de la double liaison 2-3 des benzothiadiazines dioxides



C'est une réduction de la fonction N-Sulfonyl imine par le NaBH₄.

Lors de précédents travaux (mémoire d'Alice Clamart), les conditions opératoires de synthèse définies par Ann-Beth Nørholm et al⁴⁴ ont été suivies. La procédure consiste à réduire le composé via le NaBH₄ dans l'isopropanol à 55°C pendant une durée ne dépassant pas 10 minutes. Des problèmes ont été rencontrés pour le composé avec le brome en position 7. En effet, dans ces conditions, le brome serait substitué par un atome d'hydrogène.

Cette réaction a été optimisée par Alice Clamart qui a pu déterminer que faire la réaction dans du méthanol à la place de l'isopropanol permettait d'empêcher la formation de produit secondaire. Pour réduire un maximum la réaction entre le méthanol et le NaBH₄, la réaction est effectuée sur bain de glace à 0°C.

Des problèmes de rendement dus à la mauvaise qualité de l'agent réducteur – vieux de 3-4ans – avaient également été observés. Depuis un nouveau lot plus efficace a été utilisé.

Cette synthèse permet d'obtenir le composé réduit sans formation de produits secondaires visibles en CCM quelle que soit la nature du substituant X. L'avancement de la réaction est suivi en CCM. On n'observe pas de dégradation du produit d'intérêt. La réaction est ensuite stoppée par l'ajout d'acide chlorhydrique 1N.

C. Synthèse de Suzuki-Miyaura

Dans le but de pouvoir par après former des dimères par réaction de couplage, il est nécessaire de fonctionnaliser au préalable les monomères. Pour ce faire une réaction de Suzuki-Miyaura est choisie. Celle-ci se produit en plusieurs étapes et se fait en présence d'un catalyseur de Pd(0).

- Premièrement, le Pd(0) subit une addition oxydative (AO) de l'halogénure aromatique. Le catalyseur forme donc un intermédiaire Pd(II).
- Deuxièmement, celui-ci subit une réaction de transmétallation (TM) avec l'alcénylboronate. L'organoboré confère son groupement vinyle au palladium.
- Finalement, la transmétallation induit une élimination réductrice (ER). Cela expulse le produit d'intérêt, régénérant ainsi le catalyseur Pd (0).

Comme le borane tel quel (BR_3) n'est pas suffisamment réactif, on le fait réagir avec une base qui dans notre cas est du fluorure de potassium (KF)⁴⁵ suite aux optimisations d'AC et de TD. Le borane est converti en composé plus réactif, le boronate (RB(OH)_3^-) qui induit une polarisation plus importante de l'atome de bore et facilite l'étape de transmétallation (Clayden, seconde édition).

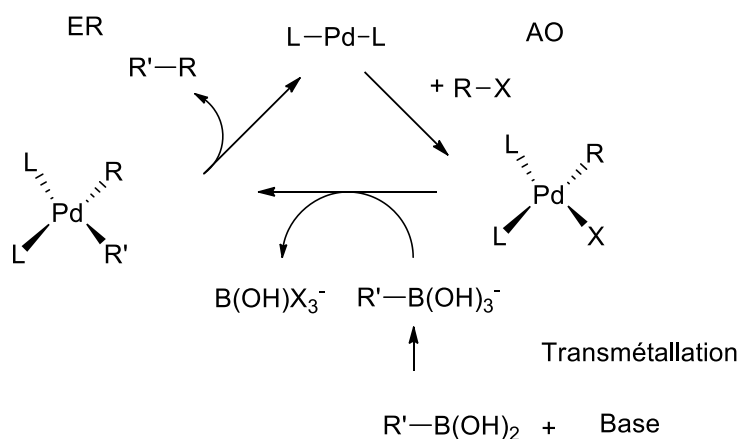
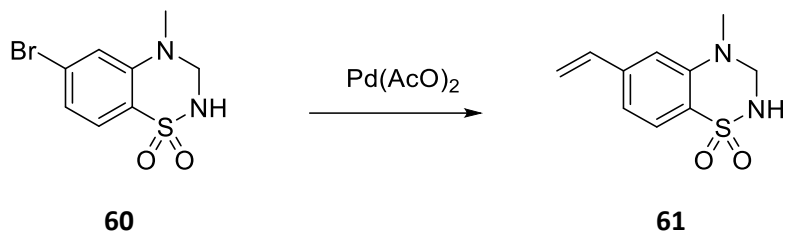


Figure 20 : Mécanisme général du couplage de la réaction de Suzuki-Miyaura

Cette synthèse a fonctionné dans certaines conditions pour former le dimère **31** lors du stage d'Antoine Lorion, mais n'a pas donné de résultats intéressants pour la formation des autres dimères. Des optimisations du mode opératoire furent donc nécessaires, celles-ci seront développées dans les paragraphes suivants.

1. Mode opératoire initial

a) 4-méthyl-6-vinyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide



La synthèse initiale⁴⁶ envisagée par A.C et T.D. consistait à effectuer le couplage en solution hydrométhanolique en présence de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ comme catalyseur et de K_2CO_3 comme base. Ensuite le milieu était acidifié par HCl et le composé était extrait au dichlorométhane puis enfin, précipité à l'eau et filtré. Cette synthèse n'offrait pas de rendements suffisants et ne permettait pas d'isoler le produit à cause d'un très grand nombre de réactions secondaires. Il fut donc nécessaire d'optimiser les différents paramètres.

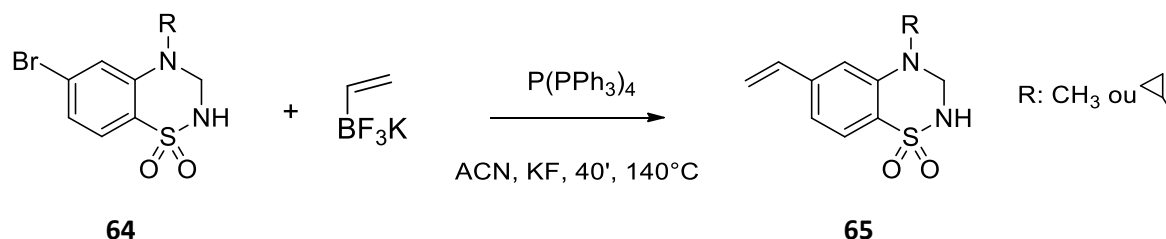
Une des raisons d'apparition des produits secondaires était la nature de l'espèce organoborée utilisée. En effet, l'ester de bore (**62**) induit la présence de produits secondaires, c'est pourquoi il a été remplacé par le vinyltrifluoroborate de potassium (**63**).



Ensuite, à partir de cette amélioration, Antoine Lorion s'est concentré sur l'optimisation du choix du solvant ainsi que de la base.

La base étant initialement présente pour activer le dérivé boré nucléophile, son utilité a donc été remise en question lors du changement en un dérivé boré déjà activé. C'est pourquoi il s'est basé sur les travaux de Grimaud L. et Jutand A. (2016)⁴⁵ qui ont préconisé l'utilisation de KF comme base ainsi que le remplacement du catalyseur par du $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ et ceci en solution dans de l'acétonitrile. La réaction se produit à 140°C pendant 30 minutes au micro-onde.

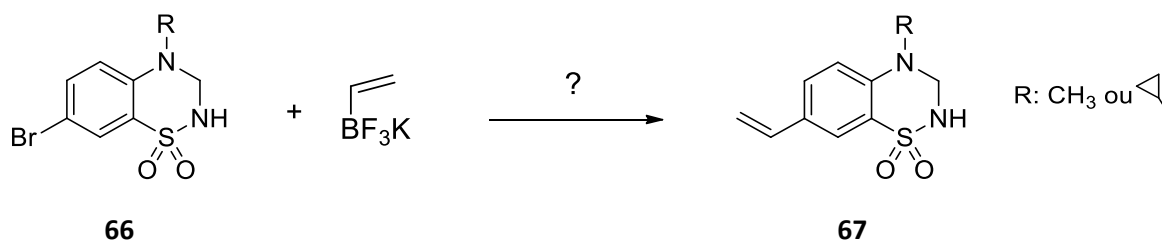
Voici donc la voie de synthèse optimisée qui a permis de fonctionnaliser le monomère suffisamment pur pour permettre la synthèse du dimère **31** et effectuer des tests pharmacologiques avec celui-ci suite au stage d'A.L. :



C'est à cette étape-ci que commence mon stage. En effet, si cette synthèse fonctionne correctement pour les monomères bromés en 6, elle ne permet pas d'obtenir les autres monomères fonctionnalisés en position 7. L'étape de fonctionnalisation de Suzuki-Miyaura nécessite donc des améliorations.

2. Optimisation du mode opératoire

a) Changement des conditions de réaction



La première approche fût de faire varier les différentes concentrations en réactifs de la manière suivante. Les variations appliquées aux conditions initiales dans le Tableau 1 sont mises en évidence par la couleur grise. Les conditions initiales sont celles qui ont permis d'obtenir le premier dimère lors du stage d'Antoine Lorion. Remarquons que la quantité de réactif **66** est toujours identique et vaut 200 mg et la réaction est effectuée dans 3 mL d'acétonitrile. Aucune amélioration ne peut non plus être espérée si on effectue la réaction dans le DMF.

Conditions	RBF ₃ K (mg)	KF (mg)	Pd(Ph ₃) ₄ (mg)	Temps (min)	Température (°C)	Produits secondaires
Initiales	110	60	10	20	140	Oui
1	1100	60	10	20	140	Oui
2	110	60	10	10	150	Oui
3	110	60	10	10	160	Oui
4	110	60	20	20	20	Oui
5	110	90	10	20	140	Oui
6	110	30	10	20	140	Oui
7	110	0	10	20	140	Oui

Tableau 1 modifications du mode opératoire initial pour la réaction de Suzuki-Miyaura

Cette tentative s'est révélée sans succès et il a donc fallu se tourner vers la littérature⁴⁷⁻⁵⁰ afin de comprendre pourquoi les produits fonctionnalisés en 6 (4 si ouvert) étaient formés alors que les autres composés homologues en 7 (5 si ouvert) ne l'étaient pas.

L'explication se trouve dans la distribution électronique de la molécule. En effet, la réaction de Suzuki-Miyaura s'effectue plus facilement avec un dérivé bromé pauvre en électrons.

Or, si on regarde la distribution électronique, on voit que deux composés vont influencer celle-ci.

- L'amine est activatrice en position ortho et en position para (cercle plein), c'est-à-dire qu'elle enrichit les positions 3 et 5 en électrons, ce qui les rend moins réactives vis-à-vis d'une réaction de Suzuki-Miyaura.
- La sulfonamide, elle, est désactivatrice en position ortho et para ; cela signifie que la position en méta de celle-ci (cercle pointillé) n'est pas appauvrie et est donc activée.

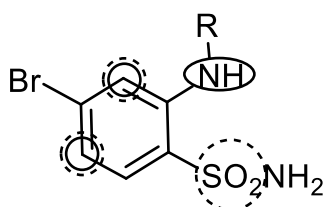


Figure 21 Brome en position 4

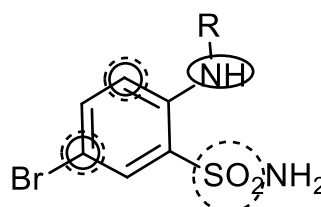
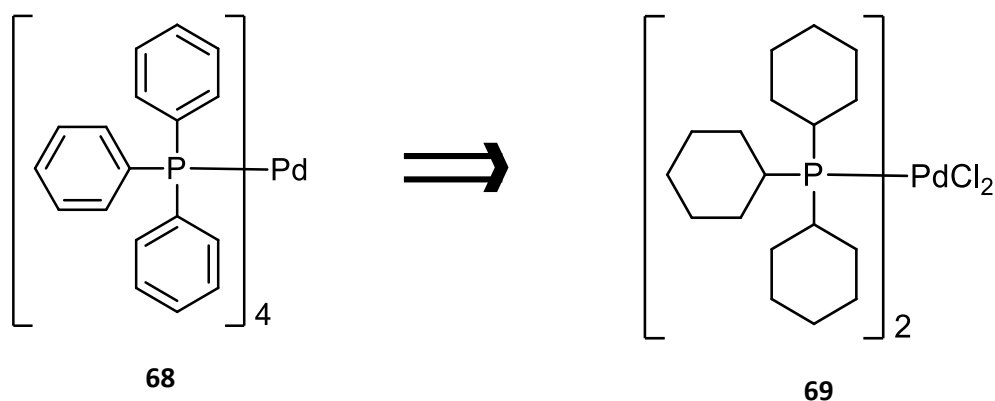


Figure 22 Brome en position 5

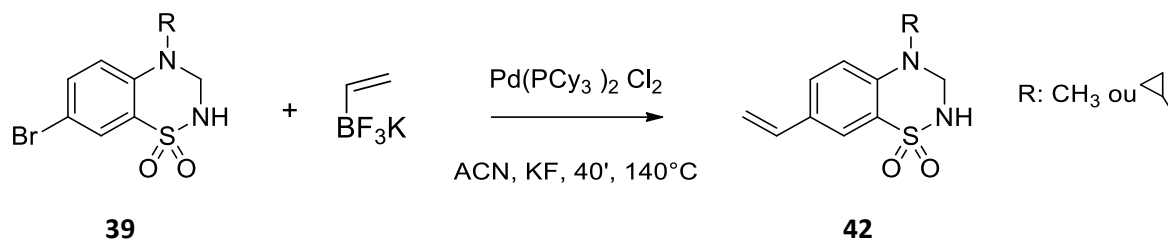
En conclusion, si on compare la position du brome en 4 et en 5 on observe bien que la position 5 est beaucoup plus riche en électrons. Etant donné que pour ce type de réaction, plus c'est appauvri, mieux cela marche, la théorie explique bien pourquoi il nous est difficile d'obtenir le dérivé fonctionnalisé en 7 (5 si ouvert).

Le catalyseur choisi pour son efficacité décrite dans la littérature⁴⁸⁻⁵⁰ ainsi que pour son prix intéressant est le $\text{Pd}(\text{PCy}_3)_2\text{Cl}_2$.



Il est décrit que les réactions de Suzuki-Miyaura à partir de dérivés riches en électrons sont difficiles à réaliser et nécessitent un catalyseur plus riche en électrons. Cela explique pourquoi les groupements hexyles sont plus intéressants que les groupements phényles, ceux-ci étant moins électro-attracteurs et rendant le groupement PX_3 moins appauvrissant.

b) 4-méthyl-7-vinyl-4*H*-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide, 4-cyclopropyl-7-vinyl-4*H*-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide

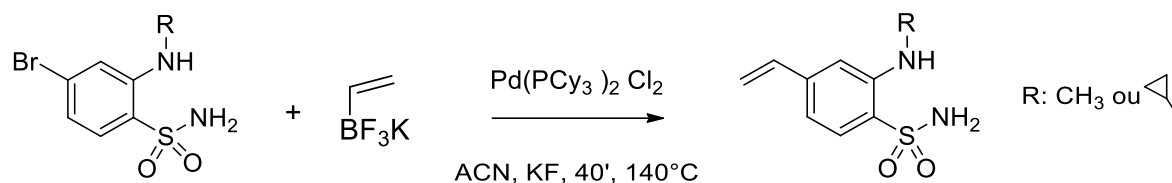


Le nouveau catalyseur a permis de fonctionnaliser les composés fonctionnalisés en 7 et d'obtenir le composé **42** en quantité suffisante pour pouvoir l'isoler grâce à une séparation par DCVC et continuer les étapes suivantes jusqu'à l'obtention du dimère pur.

Néanmoins, le rendement était très mauvais, car il y avait apparition d'un produit secondaire en grande quantité. Ce produit a pu être isolé également et analysé par RMN. Même si la structure exacte du composé n'a pas pu être déterminée, il a pu être déterminé qu'il correspondait à l'ouverture du cycle qui se produisait pendant la réaction.

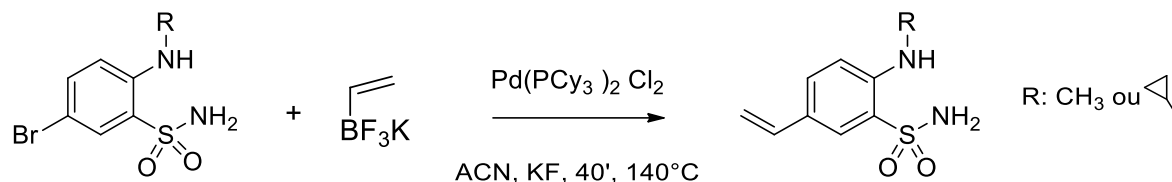
C'est suite à ces observations qu'il a été décidé de changer de stratégie de synthèse et d'adopter la deuxième voie (Figure 19). Afin d'éviter cette ouverture de cycle, la fonctionnalisation s'effectuera après l'étape de substitution nucléophile et est directement suivie d'une métathèse de Grubbs. En effet, des tests préliminaires ont déterminé qu'il était indispensable de réduire le groupement vinylique en position 6 et 7 pour faire la réaction de cyclisation.

c) 2-(*N*-méthylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide ; 2-(*N*-cyclopropylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide



Cette voie de synthèse permet de synthétiser en grande quantité les composés fonctionnalisés **47**. Ceux-ci nécessitent par la suite une étape de purification qui peut être soit de la recristallisation dans un mélange AcOEt/ Hexane, soit une séparation par colonne DCVC.

d) 2-(*N*-méthylamino)-5-vinylbenzenesulfonamide ; 2-(*N*-cyclopropylamino)-5-vinylbenzenesulfonamide



Cette réaction fonctionne et permet d'obtenir les composés en 5 fonctionnalisés ouverts dont on a pu observer la purification par CCM.

Dans le cas où R=CH₃ : la réaction s'effectue sans donner de produits secondaires et permet d'obtenir le composé fonctionnalisé isolé après purification. Ce composé peut ensuite être utilisé pour effectuer le couplage de Grubbs.

Dans le cas où R= : lors de la réaction - qui se passe pendant 40 minutes à 140°C - on observe l'apparition d'un produit secondaire qui n'a pas pu être isolé et caractérisé. Notons que cette réaction secondaire indésirable ne se produisait qu'à partir de 145°C dans le cas des dérivés fonctionnalisés en 4 et n'a donc pas posé problème dans ce cas-là.

Dans le but d'éviter cette réaction, la température a été diminuée à une valeur inférieure (120°C) en prenant en contrepartie un laps de temps plus long (60 minutes). Dans ces conditions, la réaction secondaire a également été observée. On suppose donc que celle-ci est due à la différence de distribution électronique entre les composés fonctionnalisés en 4 et en 5, comme c'est le cas lors de la réaction de Suzuki-Miyaura.

D. Métathèse de Grubbs

Une fois la fonctionnalisation faite sur le composé, nous réalisons une réaction de métathèse dans le but de former les dimères.

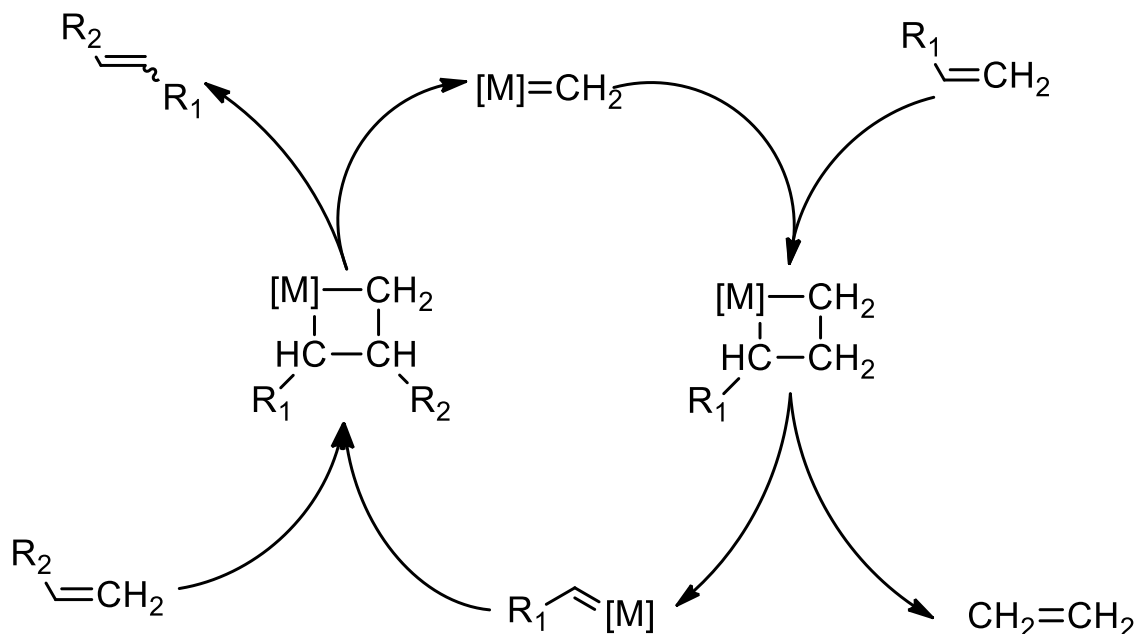
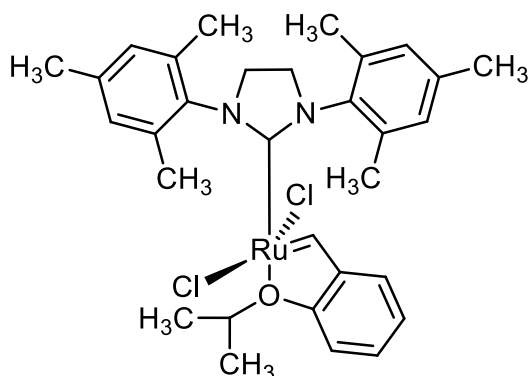


Figure 23 Mécanisme général de la réaction de Grubbs

Ce mécanisme de réaction (Chimie organique III, CHIM0278-1, DELAUDE Lionel, Ulg) a été proposé par Yves Chauvin de l'institut Français du Pétrole en 1970. Il propose que le catalyseur forme un carbène (appelé aussi alkylidene). Dans son cycle catalytique de la métathèse croisée (CM), le carbène réagit avec l'oléfine formant ainsi un intermédiaire métallacyclobutane. Cet intermédiaire se clive et donne lieu à de l'éthylène et un nouveau métal alkylidene. Celui-ci réagit avec une nouvelle oléfine ce qui reforme un intermédiaire métallacyclobutane. Par la suite il se décompose et donne le produit alcénique désiré et régénère le carbène métallique du début qui est prêt à recommencer le même cycle.

Le catalyseur utilisé pour cette réaction est un catalyseur de Hoveyda-Grubbs 2^{ème} génération.



70 Catalyseur de Hoveyda-Grubbs de 2^{ème} génération

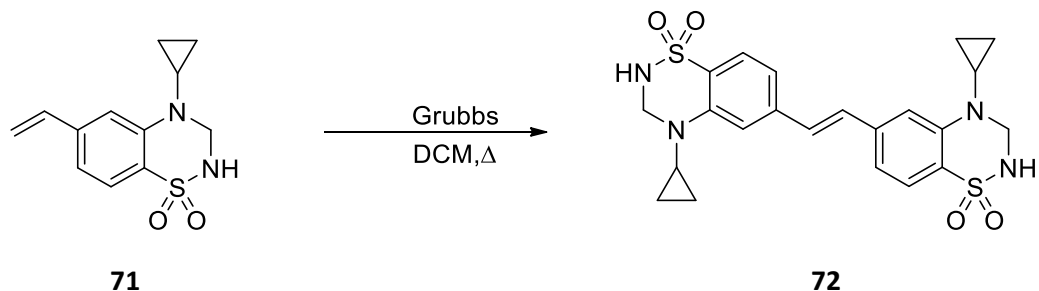
Cette réaction a permis d'obtenir (après réduction nécessaire) le composé **47** lors du stage d'Antoine Lorion. Le catalyseur étant très sensible aux composés insaturés non aromatiques, il est donc important d'éviter au maximum les impuretés qui pourraient induire des réactions secondaires. Il est également nécessaire d'utiliser un solvant inerte vis-à-vis du catalyseur, c'est-à-dire un solvant ne possédant pas d'insaturation et n'étant pas nucléophile. En effet, lors du cycle catalytique un intermédiaire formé est pauvre en électrons et donc est très réactif. C'est pour cela qu'il faut également travailler sous atmosphère inerte (azote dans ce cas-ci).

Le solvant choisi pour la réaction est le dichlorométhane. L'intérêt de celui-ci est qu'il solubilise tous les réactifs, mais ne solubilise pas les produits – dimères – formés, c'est donc un moyen intéressant de purification.

En dehors du dimère le plus actif – fonctionnalisé en position 6 et possédant un groupement méthyle - cette réaction n'a pas permis de synthétiser les autres dimères. En effet, la pureté des composés pour la réaction de Grubbs était bien insuffisante, ce qui avait pour conséquence de détruire le catalyseur.

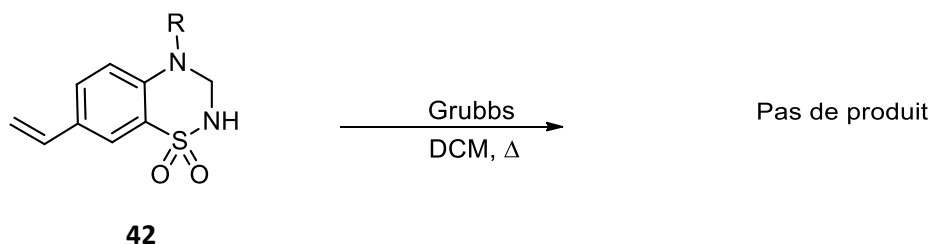
Lors de ce stage cette réaction a fonctionné pour former les composés dimériques à partir des différents composés monomériques – fonctionnalisés par un groupement vinyle - qui ont pu être préalablement purifiés.

e) (E)-6,6'-(éthène-1,2-diyl)bis(4-cyclopropyl-3,4-dihydro-2*H*-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide)



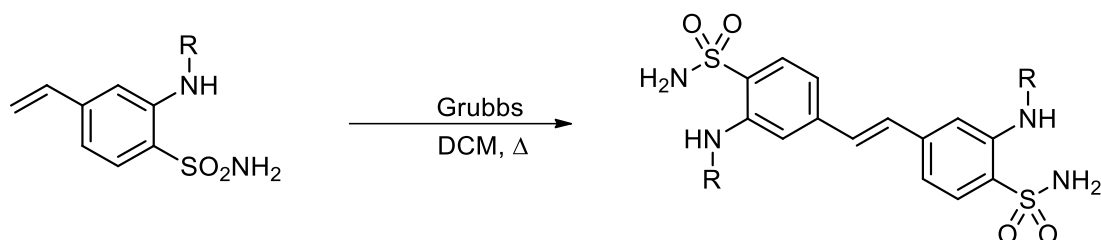
Cette réaction a fonctionné, une fois que le composé **71** a pu être purifié par DCVC. Ce fut le premier nouveau dimère synthétisé pur lors du stage et ceci en suivant la première stratégie de synthèse. Les quantités restant assez faibles, il fut nécessaire de le synthétiser également par la deuxième voie de synthèse.

f) (E)-7,7'-(éthène-1,2-diyl)bis(4-cyclopropyl-3,4-dihydro-2*H*-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide) ; (E)-7,7'-(éthène-1,2-diyl)bis(4-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide)



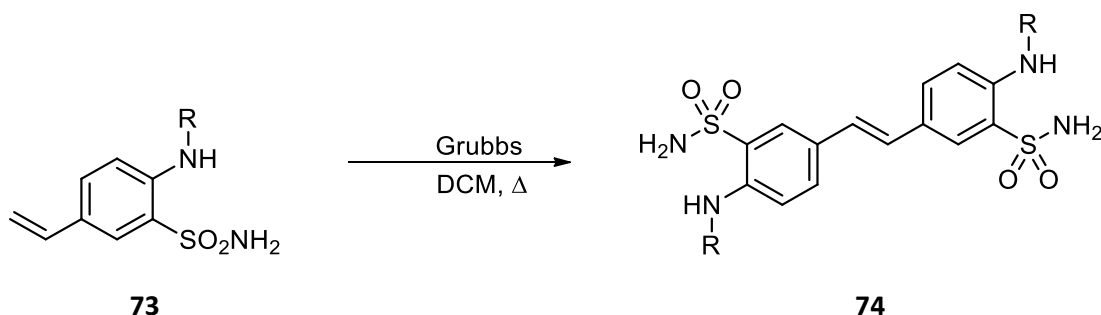
La réaction de Grubbs avec les composés fonctionnalisés en 7 cyclisés et réduits n'a pas permis d'obtenir le composé dimérique correspondant. En effet comme expliqué plus tôt l'ouverture du cycle qui se produit pendant la réaction et qui induit des produits secondaires ne permet pas d'isoler suffisamment de composé **42**. C'est pourquoi, par la suite, les Grubbs sont effectuées sur les composés ouverts, plus faciles à purifier (Figure 19).

- g) (E)-6,6'-(éthène-1,2-diyl)bis(2-(*N*-méthylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide); (E)-6,6'-(éthène-1,2-diyl)bis(2-(*N*-cyclopropylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide)



Le fait d'effectuer la réaction de Grubbs avant de cycliser les composés permet de faire la réaction à partir de produits purs grâce à l'absence de produits secondaires liés à l'ouverture du cycle. C'est pourquoi cette réaction effectuée selon la deuxième stratégie de synthèse a permis d'obtenir le dimère **32**, étant donné que les réactions suivantes ne sont pas limitantes.

- h) (E)-7,7'-(éthène-1,2-diyl)bis(2-(*N*-méthylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide); (E)-7,7'-(éthène-1,2-diyl)bis(2-(*N*-cyclopropylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide)



Cette étape se situe directement après la réaction de couplage de Suzuki Myaura qui a permis d'obtenir les composés **73**. Au début de la réaction, ceux-ci sont solubles et on peut observer l'avancement de celle-ci dû à l'apparition de précipité correspondant à la formation du dimère. Cette réaction a donc permis d'obtenir les composés **74**. Cependant, contrairement à la dimérisation des composés en 4, la complétion de la réaction n'est pas atteinte malgré la bonne pureté des réactifs de départ et plusieurs ajouts de catalyseur.

Ceci s'explique par l'instabilité du groupement vinylique attaché au cycle. En effet, toujours pour les mêmes raisons explicitées précédemment, la position 5 du cycle est très enrichie en électrons. Cela a pour conséquence de former un groupement vinylique très riche et donc très réactif menant à une dégradation du composé d'intérêt. Remarquons que l'on peut observer la dégradation de la fonction par CCM. En effet, le composé vinylique possède une lumière plus bleue (plus basse longueur d'onde) alors que le composé dégradé se situe plus vers le

brun (plus grande longueur d'onde). Cela montre bien que l'on a un changement dans la distribution électronique du système conjugué.

Néanmoins, même si il fut possible d'obtenir les composés **74**, il a été impossible de les isoler. En effet, la réaction de couplage se passe dans du DCM à température d'ébullition et le produit se dégrade directement après sa formation.

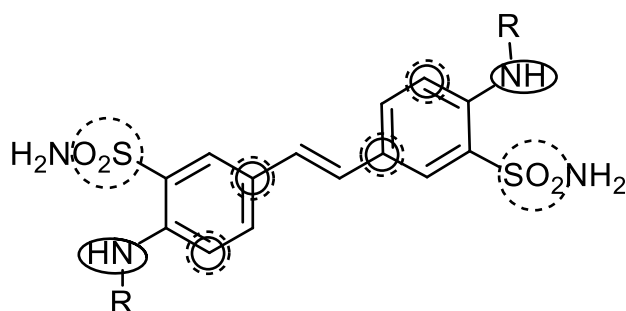
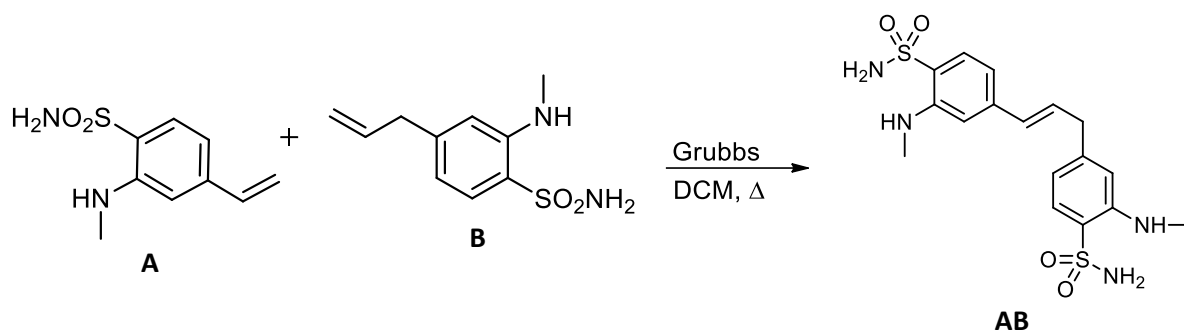


Figure 24 Enrichissement électronique 'double' du linker vinylique

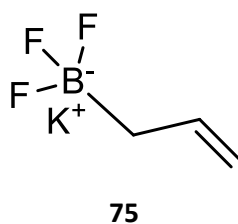
Comme démontré sur la Figure 24, la position 5 est activée par les groupes situés sur les deux cycles aromatiques (cercles pointillés et pleins représentent les positions enrichies). Le lien vinylique est donc doublement enrichi comparé au monomère pour lequel on observait déjà des phénomènes de dégradation. On peut donc aisément douter de la stabilité de cette molécule dimérique. Afin d'éviter tous ces phénomènes de dégradation il serait nécessaire de travailler à la température la plus basse possible ainsi que d'éviter la présence de composés capables de réagir avec un groupement vinylique aussi réactif que celui-ci. Dans notre cas, il aurait été souhaitable de directement traiter notre composé à l'hydrogénateur afin d'arrêter ces réactions indésirables.

i) (E)-6,6'-(butène-1,3-diyl)bis(2-(N-méthylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide)

Dans le but de synthétiser le dimère **34**, qui possède un 'linker' constitué de trois carbones, la deuxième stratégie de synthèse est également envisagée.



Le schéma de synthèse ci-dessus est la réaction souhaitée, à partir d'une même quantité molaire de **A** et de **B**. La molécule **B** étant obtenue de la même façon que pour l'homologue inférieur hormis que le réactif boré pour la Suzuki est le composé **75**.



Evidemment, il n'y a aucune sélectivité et **A** peut tout autant réagir avec **A** comme avec **B** et inversement. Les proportions attendues pour la réaction sont les suivantes :

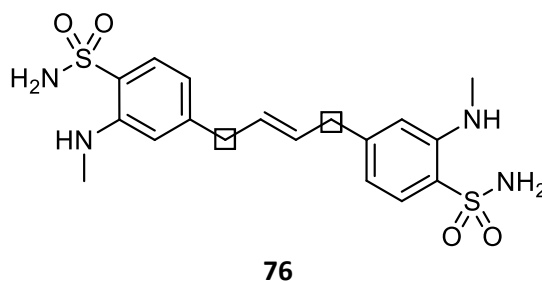


Figure 25 Distribution théorique des différents dimères obtenus. **AA** : dimère lien 2 carbones, **BB** : dimère lien 4 carbones, **AB** : dimère lien 3 carbones

On aura donc 25% de **AA** et de **BB** et le produit majoritaire présent à 50% devrait être le composé d'intérêt **AB**.

Comme ces trois composés se retrouveront dans la même solution et posséderont des propriétés similaires, il est intéressant de synthétiser au préalable **AA** et **BB** séparément afin de pouvoir les différencier des produits secondaires et éventuellement les séparer.

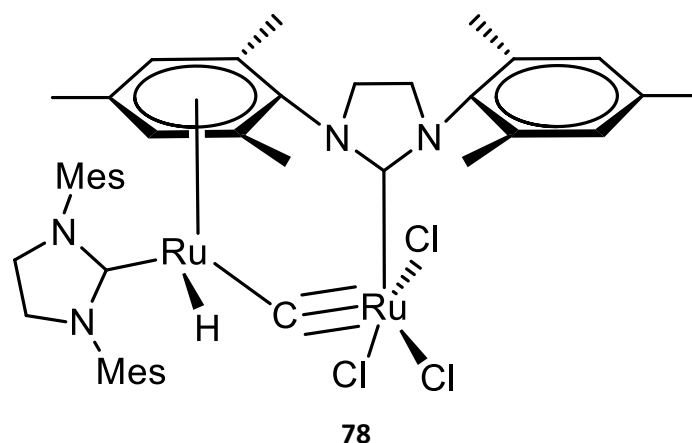
Le dimère AA a déjà été synthétisé puisqu'il s'inscrit dans les étapes pour obtenir le composé **31**. Le composé BB (**76**) a donc été synthétisé par la méthode identique pour produire le dimère avec un lien de 2 carbones à partir d'un lien plus long.



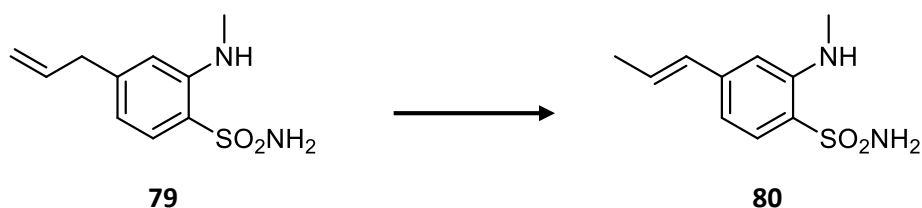
La réaction se passe comme attendue : les réactifs au départ solubles dans le DCM forment un précipité lors de l'avancement de la réaction. Ce solide est analysé par RMN mais le composé BB n'est pas obtenu. En effet, tous les pics correspondent à la molécule mais il manque les deux CH_2 encadrés sur la molécule dont le spectre en annexe (Figure 27). Le dimère n'est pas soluble dans d'autres solvants hormis le méthanol qui poserait le même problème. Un spectre HSQC a donc été enregistré afin de vérifier ces observations (Figure 28).

La synthèse est tout de même continuée afin de confirmer ces résultats, l'absence de pic à cet endroit pouvant être due à éventuel un manque de sensibilité. Après réduction et cyclisation, des spectres RMN sont pris également, mais ne permettent pas de montrer que l'on obtient la molécule **77** avec un lien contenant 4 carbones.

L'explication est la suivante^{51,52}: le mécanisme exact d'isomérisation n'est pas connu, mais la littérature indique qu'une espèce à base de Ruthénium se lie avec un hydruure suite à la décomposition du catalyseur. Cette espèce, qui est du type de la molécule **78**, peut catalyser la migration d'oléfines⁵³ dans les conditions de la réaction.

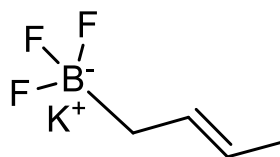


En effet, une oléfine est plus stable en interne qu'en externe. Cela signifie que, lorsque le catalyseur est dégradé, on va observer l'isomérisie suivante :



Cela explique pourquoi on n'observe pas le CH_2 qu'on espérait voir dans le cas où le dimère en 4 serait formé. Comme la réaction de métathèse s'effectue avec les alcènes en position 2 et 3 du lien, le composé formé est le dimère avec un lien de deux carbones qui s'apparente au composé **31**.

Plusieurs solutions sont envisageables. On peut réaliser la réaction à plus haute température dans un autre solvant comme le toluène. Il serait éventuellement possible de diminuer la présence d'hydruure de Ruthénium en mettant dans le milieu de la quinone qui va se réduire et permettre de désempoisonner le catalyseur. Une autre solution serait d'effectuer la réaction en partant avec un dérivé boré à 4 carbones (au lieu de 3) possédant la double liaison en interne comme le composé **81**.



81

Pour confirmer ces explications, la réaction entre **A** et **B** en quantités équimolaires a été effectuée. Visuellement la réaction se produit de la même manière, les réactifs sont solubles et précipitent à la formation du produit. Une analyse RMN du composé formé montre que l'on obtient le même spectre pour l'intermédiaire du composé **31** ainsi que pour le composé **76** obtenu à partir de BB.

En conclusion, l'isomérisation qui déplace la double liaison à une position interne est toujours observée à partir du composé **B** en présence du catalyseur et est due à une dégradation du Ruthénium.

E. Hydrogénation catalytique

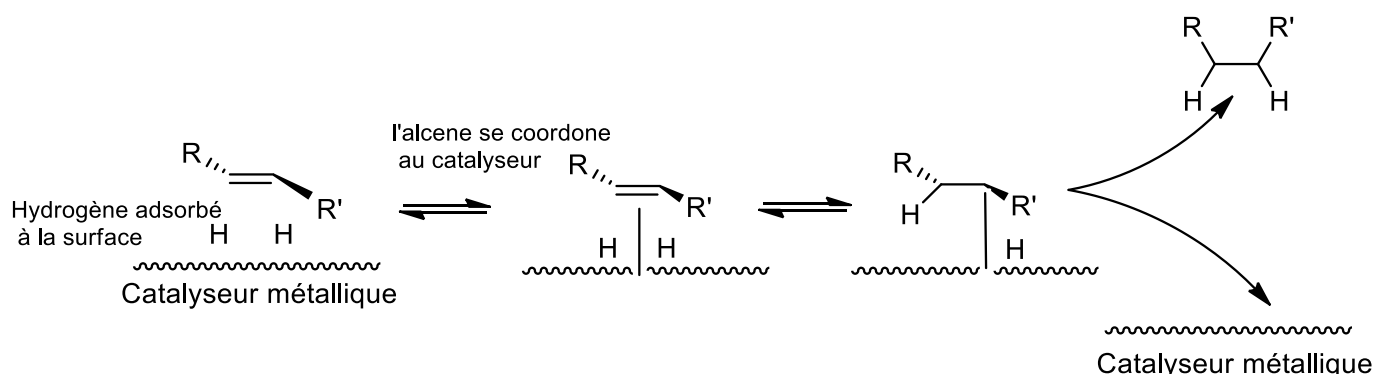


Figure 26 Schéma de l'hydrogénation catalytique (Clayden 2nd édition)

La réaction choisie pour réduire la double liaison du lien entre les deux dimères après l'étape de Grubbs est l'hydrogénation catalytique. Cette méthode est intéressante parce que l'hydrogène est le réducteur le plus simple et qu'il n'est pas assez nucléophile pour réduire les fonctions sulfoxydes mais est suffisant pour réduire une liaison plus faible comme le groupement vinylique.

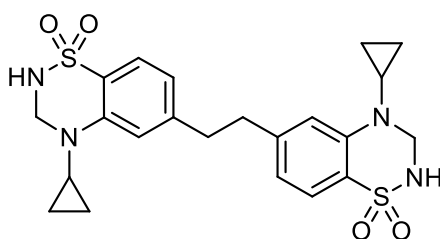
Cette réaction nécessite l'utilisation d'un catalyseur métallique (du palladium dans ce cas-ci) sur lequel la réduction prendra place. Pour ce faire la surface de catalyseur doit être la plus grande possible et c'est pour cela qu'il est déposé (par électrolyse par exemple) sur un support inerte de petite taille (du charbon dans ce cas-ci). Le catalyseur est mélangé avec le composé à réduire entièrement solubilisé dans un solvant adéquat et le milieu est mis sous 12 bares pression d'hydrogène dans un réacteur pendant 30 minutes.

La première étape consiste en l'absorption de l'hydrogène sur la surface du catalyseur par rupture de la liaison H-H et formation de nouvelles liaisons Métal – Hydrogène. Ensuite la double liaison se lie également avec le métal et les atomes d'hydrogènes sont transférés du métal à l'alcène.

IV. Conclusions et perspectives

A. Conclusions

Le dimère possédant la plus grande affinité théorique avec le récepteur (**31**) était synthétisé avant le début de ce stage. Le but de ce travail était d'envisager la synthèse de trois autres dimères benzothiadiazidiques 1,1-dioxides. Il fut donc possible de synthétiser la molécule **32**, le dimère possédant la deuxième meilleure affinité lors du stage permettant ainsi d'effectuer des tests pharmacologiques à partir de celui-ci pour la thèse de Thomas Drapier.



32

Les modes opératoires et méthodes sont basés sur les travaux effectués par le laboratoire de chimie pharmaceutique ainsi que par Thomas Drapier et ses stagiaires. En dehors de quelques modifications pour ceux-ci, ce fut la réaction de Suzuki-Miyaura qui nécessita la plus importante optimisation.

Dans un premier temps, nous sommes partis dans une première stratégie de synthèse qui consistait à synthétiser les deux parties du dimère pour ensuite les fonctionnaliser et les coupler. Nous avons constaté que cette approche ne permettait pas d'obtenir suffisamment de produit lors de la réaction de Suzuki-Miyaura et ce à cause de deux problèmes.

Premièrement, le catalyseur utilisé jusqu'ici pour la réaction ne permettait pas de fonctionnaliser le monomère cyclisé avec le brome en position 7. En effet, contrairement à la position 6, la position 7 possède une richesse électronique qui ne permet pas la réaction. Il a donc fallu se tourner vers un catalyseur moins appauvri afin de contourner le problème.

Deuxièmement, malgré la fonctionnalisation rendue possible par le changement de catalyseur, nous avons remarqué que le cycle du monomère s'ouvrait dans les conditions de réaction de la Suzuki-Miyaura. Il fut tout de même possible d'obtenir le dimère **32** par cette méthode. Cependant, cette réaction secondaire nous empêchait d'obtenir suffisamment de

produit pour obtenir le dimère en quantités suffisantes. C'est pourquoi il a fallu changer de stratégie de synthèse.

La deuxième stratégie consistait à effectuer la fonctionnalisation après la réaction de Sandmeyer-Meerwein et la substitution nucléophile. Comme le cycle n'était pas encore formé, il ne pourrait plus s'ouvrir lors de la Suzuki-Myaura. Cette approche permet de synthétiser le dimère **32** en quantités suffisantes pour effectuer des tests pharmacologiques sur celui-ci.

Par la suite nous nous sommes concentrés sur la série en 5 des dimères ouverts avec la deuxième stratégie de synthèse. Il nous fut impossible de les obtenir.

En effet, même si la réaction de Suzuki-Myaura permettait d'obtenir les composés fonctionnalisés, ceux-ci étaient trop instables à cause, une fois de plus, de la richesse électronique de la position qui rend le groupement vinylique extrêmement réactif. Cela mène à la dégradation des produits d'intérêt. Malgré cela, le couplage de Grubbs put être effectué sur les composés qui n'étaient pas encore dégradés pour donner un dimère 'ouvert'. Sur celui-ci, le problème de la richesse électronique s'est de nouveau posé. En effet, une fois le composé dimérisé, le groupement vinylique du lien était deux fois plus enrichi et donc beaucoup plus réactif et il s'est dégradé avant même l'étape de réduction. Ceci nous empêchant donc d'atteindre la synthèse des dérivés en 5 ouverts.

Et enfin, nous nous sommes concentrés sur la synthèse d'un homologue supérieur possédant un lien de trois carbones. La mise au point de la réaction de Suzuki-Myaura a permis la fonctionnalisation par le groupement 'plus long' propényle. Nous avons observé cependant qu'il était impossible d'obtenir les dimères avec un lien 3 et 4 carbones. En effet, un empoisonnement du catalyseur lors de la réaction de Grubbs induit une migration de la double liaison du monomère à une position interne. Cela a pour conséquence qu'il n'y a que le dimère avec un lien deux carbones qui est produit. Par conséquent cette méthode ne permet pas de produire le dimère avec un lien 3 carbones.

B. Perspectives

Dans le but de synthétiser les dimères en position 7, il faudrait dans un premier temps travailler quand cela est possible à basse température et travailler constamment en atmosphère inerte. Il faudrait également effectuer la réduction la plus rapidement possible après la dimérisation, l'objectif étant de diminuer au maximum la dégradation du groupement vinylique en position 7 de l'aromatique. Ceci permettrait peut-être d'obtenir suffisamment de produit pour pouvoir travailler en pharmacologie et confirmer le modèle théorique.

Concernant la synthèse de l'homologue supérieur, il existe des alternatives afin d'éviter la migration de la double liaison. Il faudrait travailler dans un solvant comme le toluène afin d'augmenter la température de la réaction. On peut également mettre de la quinone dans le milieu dans le but de désempoisonner le catalyseur. Une autre solution serait de travailler avec un dérivé boré de 4 carbones contenant la double liaison déjà en position interne. Une fois le dimère obtenu, le reste des réactions ne devrait pas poser de problème jusqu'à la formation des dimères. Cependant il restera encore à déterminer comment séparer les dimères avec un lien 2, 3 et 4 carbones. En effet ceux-ci posséderont des propriétés physiques similaires en plus d'être très peu solubles, ce qui rendra leur isolation difficile.

V. Matériel et méthode

B. Synthèse organique

Les réactifs et les solvants utilisés pour les synthèses sont fournis par les firmes Aldrich®, Sigma® et sont utilisés sans purification supplémentaire.

Les spectres RMN ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker® Avance 500 (500 MHz). Les composés sont mis en solution dans le DMSO. Les déplacements chimiques sont exprimés en δ (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Les abréviations « s, d, m » signifient respectivement « singulet, doublet, multiplet ».

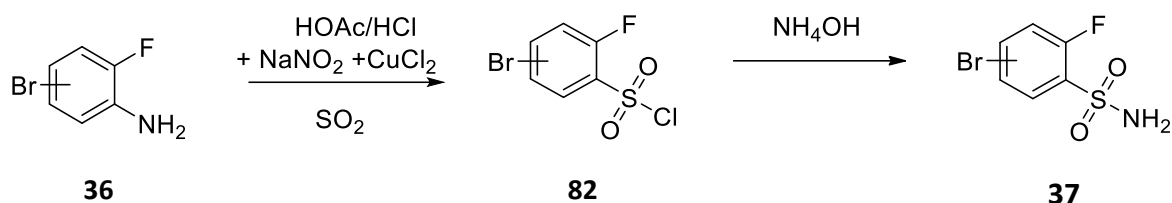
L'évolution des différentes réactions a été suivie par technique chromatographique sur couche mince (CCM). Pour suivre cette évolution, des plaques en aluminium recouvertes d'un gel de silice de porosité 60 (Silicagel 60F₂₅₄, Merck®) ont été utilisées. Après élution, ces plaques sont examinées sous une lampe ultra-violette aux longueurs de 254 et 366 nm.

Les purifications ont été faites sur colonne DCVC. Les colonnes sont remplies de gel de silice (Silicagel 60 (0,015-0,040 mm), Merck®).

C. Mode opératoire

1. Réaction de Sandmeyer-Meerwein

- 4-bromo-2-fluorobenzenesulfonamide et 5-bromo-2-fluorobenzenesulfonamide



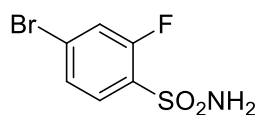
- Mode opératoire

Dans un ballon de 500 ml (1) mettre en contact pendant 30 minutes 70 ml d'acide acétique glacial avec du SO₂. Ajouter ensuite au goutte-à-goutte une solution de CuCl₂ (4,4 g dans 10 ml d'eau) sous agitation et sur bain de glace. La solution se colore en bleu-vert.

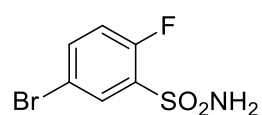
Parallèlement, ajouter 8 g (0,0421 mol) de 4-bromo-2-fluoroaniline (ou 5-bromo-2-fluoroaniline) à 70 ml d'acide acétique et 35 ml d'acide chlorhydrique fumant (37%) contenus dans un ballon de 250 ml (2). Refroidir celui-ci sur bain de glace puis ajouter au goutte-à-goutte, sous agitation, 20 ml d'une solution aqueuse de NaNO₂ (6,6 g), préparée extemporanément. La température ne doit pas s'élever au-delà de 5°C.

Ensuite, (2) est versé lentement mais continuellement dans (1). Il se produit un dégagement gazeux.

Laisser le tout sous agitation pendant 15 minutes puis jeter le contenu du ballon (1) dans un berlin contenant de l'eau et de la glace. Le produit précipite. Filtrer celui-ci sur un filtre G₃. Le mettre ensuite en suspension dans une solution ammoniacale (25% de NH₃ dans l'eau) contenue dans un erlenmeyer durant 1 heure. Transvaser le contenu de l'erlenmeyer dans un ballon de 500 ml et mettre à évaporer pour éliminer l'ammoniac. Récupérer ensuite la benzenesulfonamide en ajoutant de l'eau (ou du HCl 1N pour neutraliser) au milieu. Le précipité est récolté sur G₃, lavé à l'eau et placé au dessiccateur.



83

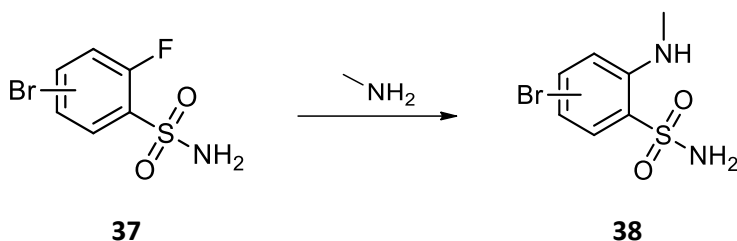


84

	83	84
Phase mobile	Hexane/Acétate d'éthyle (1/1)	
RF	0,7	0,6
Rendement	66%	65,2%
RMN		
83	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.84 (dd, J = 9.8, 1.9 Hz, 1H), 7.77 (s, 2H), 7.73 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.61 (dd, J = 8.4, 1.9 Hz, 1H).	
84	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.84 (dd, J = 9.8, 1.8 Hz, 1H), 7.79 (s, 2H), 7.73 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.62 (dd, J = 8.4, 1.7 Hz, 1H).	

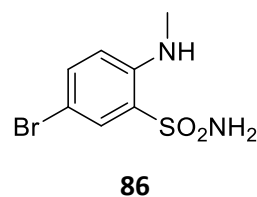
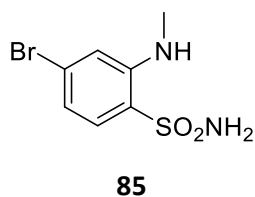
2. Substitution nucléophile

- 4-bromo-2-(*N*-méthylamino)benzenesulfonamide et 5-bromo-2-(*N*-méthylamino)benzenesulfonamide



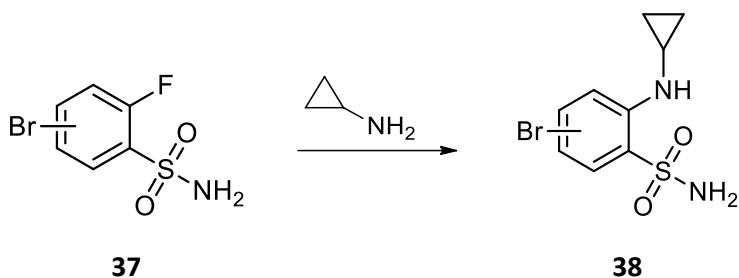
- Mode opératoire

Dans un berlin de 50 ml, dissoudre 2,80 g de 4-bromo-2-fluorobenzenesulfonamide (ou 5-bromo-2-fluorobenzenesulfonamide) dans 20 ml d'une solution aqueuse de *N*-méthylamine. Transvaser quantitativement dans une fiole pour micro-ondes. Mettre à réagir pendant 30 min, à 120°C avec une absorption 'very-high' aux micro-ondes. Après réaction, évaporer l'amine et faire précipiter à l'eau. Le précipité est récupéré sur G₃, lavé à l'eau et mis au dessiccateur.



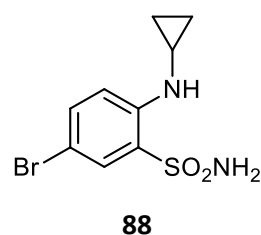
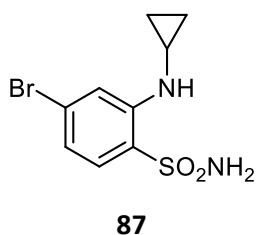
	85	86
Phase mobile	Hexane/Acétate d'éthyle (1/1)	
Rendement	75,4%	72%
RMN		
85	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9.86 (s, 2H), 7.33 – 7.24 (m, 1H), 7.13 – 7.06 (m, 1H), 6.80 (d, J = 8.6, 3.2 Hz, 2H), 6.83 (s, 1H) 5.15 (s, 3H).	
86	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.68 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 8.8, 2.5 Hz, 1H), 7.44 (s, 2H), 6.71 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 5.96 (q, J = 4.9 Hz, 1H), 2.81 (d, J = 4.9 Hz, 3H).	

- 4-bromo-2-(N-cyclopropylamino)benzenesulfonamide et 5-bromo-2-(N-cyclopropylamino)benzenesulfonamide



- Mode opératoire

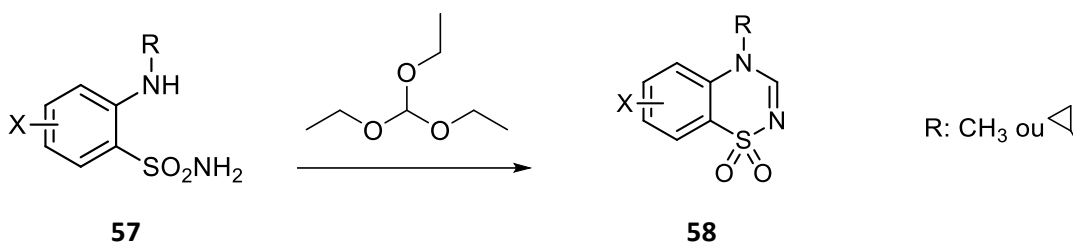
Dans un berlin de 50 ml, dissoudre 2,80 g de 4-bromo-2-fluorobenzenesulfonamide (ou 5-bromo-2-fluorobenzenesulfonamide) dans 15 ml d'une solution aqueuse de N-cyclopropylamine et 5 ml de dioxane. Transvaser quantitativement dans une fiole pour micro-ondes. Mettre à réagir pendant 30 min, à 120°C avec une absorption 'very-high' au micro-ondes. Après réaction, évaporer l'amine et faire précipiter à l'eau. Le précipité est récupéré sur G₃, lavé à l'eau et mis au dessiccateur.



	87	88
Phase mobile	Hexane/Acétate d'éthyle (1/1)	
Rendement	75%	71%
RMN		
87	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.52 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.43 (s, 2H), 7.25 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.90 (dd, J = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 6.21 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 0.87 – 0.76 (m, 2H), 0.56 – 0.49 (m, 2H).	
88	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 8.16 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.96 (dd, J = 9.0, 2.3 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.43 (m, J = 7.1, 3.9 Hz, 1H), 1.24 – 1.14 (m, 2H), 1.10 – 1.04 (m, 2H)	

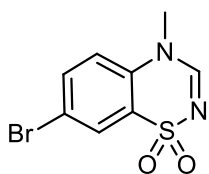
3. Cyclisation

- 7-bromo-4-méthyl-4H-benzo[e][1,2,4]thiadiazine 1,1-dioxyde;
- 6-bromo-4-cyclopropyl-4H-benzo[e][1,2,4]thiadiazine 1,1-dioxyde ;
- 7-bromo-4-cyclopropyl-4H-benzo[e][1,2,4]thiadiazine-1,1-dioxyde ;
- (E)-6,6'-(éthène-1,2-diyl)bis(4-cyclopropyl-4H-benzo[e][1,2,4]thiadiazine 1,1-dioxyde)
- Réaction:

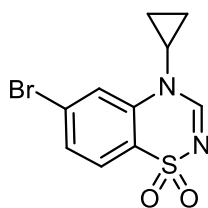


- Mode opératoire:

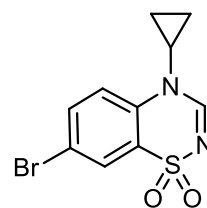
Dans un ballon de 25 ml, introduire 1,13 g de **57** et solubiliser cette quantité dans l'orthoformate de triéthyle de manière à obtenir une solution à 20%. Sous agitation et en vase ouvert, chauffer à 135°C. La réaction est suivie par CCM mais il est visuellement possible d'apprécier sa progression. Effectivement, plus la température augmente et plus la solubilité du réactif s'améliore. Il y a passage d'une suspension colloïdale à une solution translucide. Lorsque se produit la cyclisation, le produit réapparaît et trouble le milieu à cause d'une plus faible solubilité dans celui-ci. Après réaction, refroidir à température de la pièce et faire précipiter à l'éther, sur bain de glace. Le précipité est ensuite récolté sur G₃ et est mis à sécher au dessiccateur.



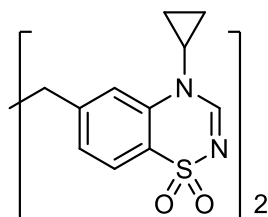
89



90



91

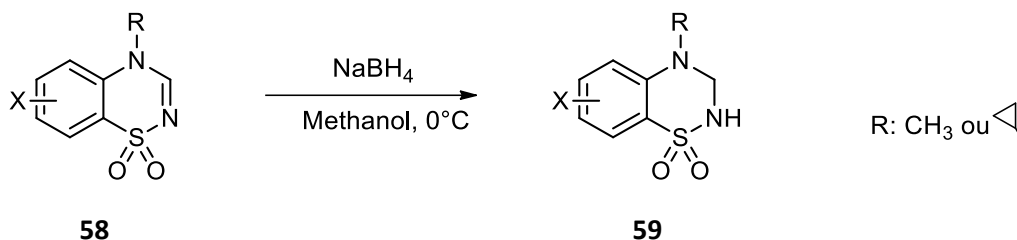


92

	89	90	91	92
Phase mobile	Acétate d'éthyle/Hexane (1/1)			
Rendement	73%	86%	84%	87%
RMN				
89	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 8.12 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.99 (dd, J = 9.0, 2.3 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.62 (s, 3H).			
90	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 8.16 (s, 1H), 7.98 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.76 (dd, J = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 3.40 (m, J = 7.1, 3.9 Hz, 1H), 1.22 – 1.12 (m, 2H), 1.06 – 1.00 (m, 2H).			
91	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 8.18 (s, 1H), 8.06 – 7.96 (m, 2H), 7.80 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 3.37 (m, 1H), 1.15 (m, 2H), 1.05 – 0.99 (m, 2H).			
92	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 8.09 (s, 1H), 7.81 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.47 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.15 (s, 2H), 1.09 (m, 2H), 0.93 – 0.84 (m, 2H).			

4. Réduction

- 7-bromo-4-méthyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide ;
- 6-bromo-4-cyclopropyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide ;
- 7-bromo-4-cyclopropyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide ;
- (E)-6,6'-(éthane-1,2-diyl)bis(4-cyclopropyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide)
- Réaction



- Mode opératoire

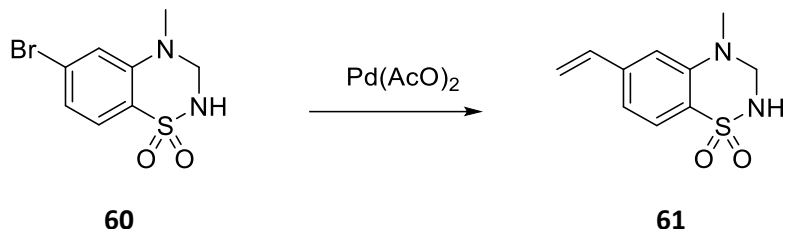
1 g de **58** est mis en suspension dans 30 mL de méthanol. La réaction s'opère à froid et sur glace. 0,80 g de NaBH₄ sont ajoutés à la mixture. Après 25 minutes, Il faut évaporer le méthanol avec un évaporateur rotatif. Le résidu est repris par de l'eau et auquel de l'acide chlorhydrique 1N est ajouté jusqu'à obtenir un pH de 1. Le précipité obtenu est récupéré sur G₃ et lavé au méthanol.

Remarque : dans le cas où le composé est un dimère difficile à solubiliser, il est nécessaire d'ajouter quelques gouttes de DMF pour améliorer la solubilité et donc la cinétique de la réaction.

5. Fonctionnalisation de Suzuki-Miyaura

a) Mode opératoire initial

- 4-méthyl-6-vinyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide
- Réaction



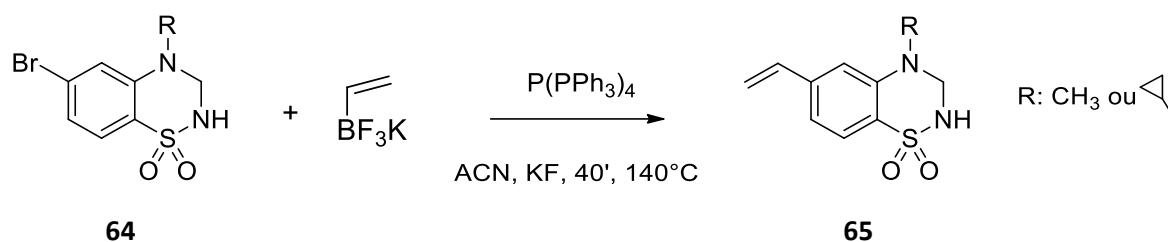
- Mode opératoire

500mg de **60** sont dissous dans 7,23 mL d'eau et 1,80 mL de MeOH ; 723 mg de K_2CO_3 sont ajoutés à la solution. Une fois que tout est dissous, 4 mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ sont ajoutés ; il faut attendre 20 minutes que tout soit bien dissous. 407 μL de B= sont ajoutés ; la solution est chauffée à 100°C à reflux.

Lorsque la réaction est complète, le méthanol peut être évaporé. L'acide chlorhydrique 1N est utilisé pour précipiter le produit. Une extraction est réalisée à l'AcOEt ; la phase organique est séchée avec MgSO_4 . L'AcOEt est ensuite évaporé. Le produit **61** est mis en suspension dans l'hexane. Il peut ensuite être filtré sur g3 et séché au dessiccateur.

	61
Phase mobile	Chloroforme/Méthanol (19/1) + qql gouttes d'acide formique
Rendement	25%
RMN	^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.92 (s, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.8, 2.1$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.69 (dd, $J = 17.6, 11.0$ Hz, 1H), 5.75 – 5.68 (m, 1H), 5.14 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 4.67 (s, 2H), 2.54 (dd, $J = 6.7, 3.6$ Hz, 1H), 0.92 (td, $J = 6.9, 4.7$ Hz, 2H), 0.70 – 0.63 (m, 2H).

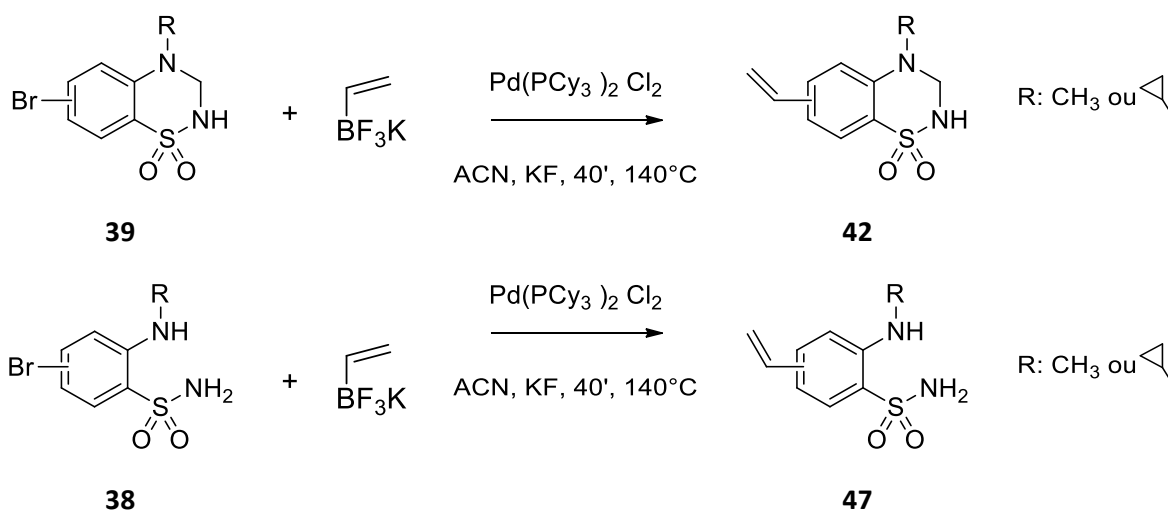
b) Mode opératoire de Thomas Drapier et Antoine Lorion



1000 mg de **64** sont mélangés avec 550 mg de dérivé boré, 300 mg de KF et 100 mg de Pd(PCy₃)₂Cl₂ et mis en solution dans 20mL d'acétonitrile dans une flasque destinée au microonde. La solution est ensuite chauffée au microonde à 140°C pendant 40 minutes en mode 'Very High'. L'avancement est apprécié par CCM dans un mélange acetate d'éthyl/hexane 1 :1. Le solvant est évaporé et le solide est repris à l'eau puis il est extrait par 3 fois 25 mL d'acétate d'éthyl. Ensuite celui-ci est évaporé et le solide est récupéré.

c) Fonctionnalisation des dérivés en 6 et 7 (4 et 5 si ouverts)

• Réaction



- 4-cyclopropyl-6-vinyl-4H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide; 4-méthyl-7-vinyl-4H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide ; 4-cyclopropyl-7-vinyl-4H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide ; 2-(N-cyclopropylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide ; 2-(N-méthylamino)-5-vinylbenzenesulfonamide ; 2-(N-cyclopropylamino)-5-vinylbenzenesulfonamide

• Mode opératoire

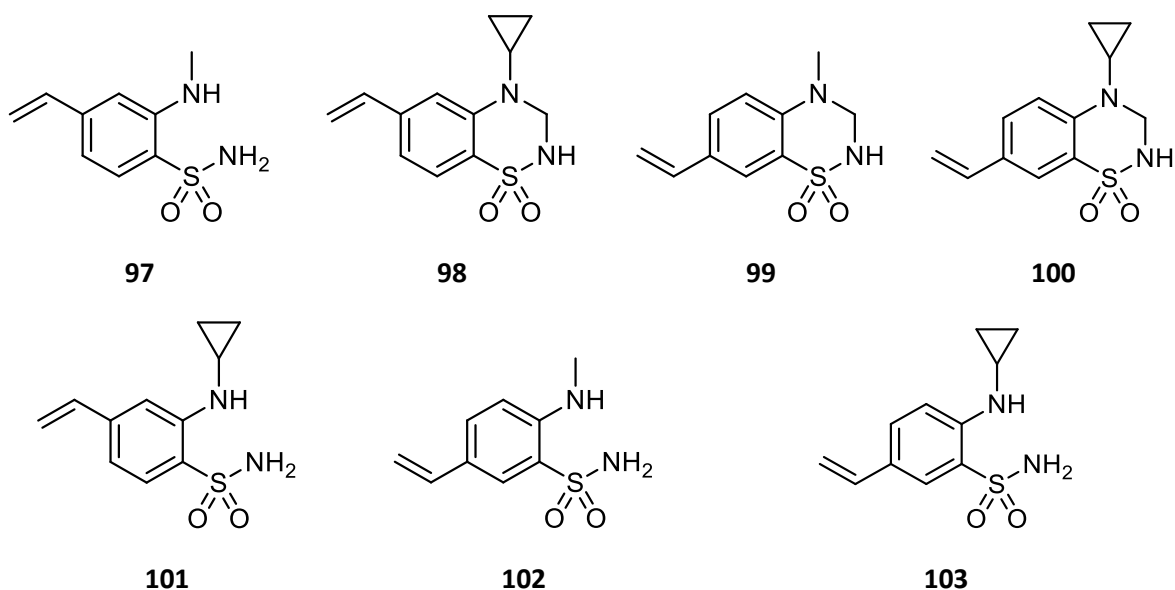
1000 mg de **39** (ou **38**) sont mélangés avec 550 mg de dérivé boré, 300 mg de KF et 100 mg de Pd(PCy₃)₂Cl₂ et mis en solution dans 20 mL d'acétonitrile dans une flasque destinée au micro-onde. La solution est ensuite chauffée au micro-onde à 140°C pendant 40 minutes en

mode 'Very High'. L'avancement est apprécié par CCM dans un mélange acétate d'éthyle/hexane 1 :1.

Le produit est ensuite récupéré par une petite quantité de méthanol et une grande quantité d'acétone (250 ml). Directement après la solution est traitée au carbone et filtrée par gravité. Le solvant est ensuite évaporé.

Les composés en 6 (ou 4 si ouvert) sont purifiés via l'extraction par l'acétate d'éthyle dans de l'eau.

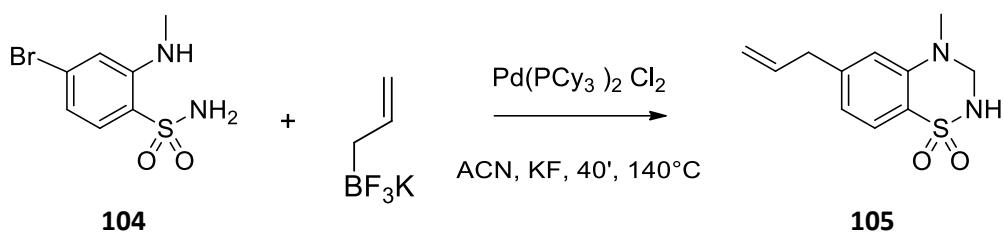
Les composés en 7 (ou 5 si ouvert) sont purifiés par recristallisation ou par colonne DCVC avec un mélange isocratique d'acétate d'éthyle et d'hexane en proportions 20:80. La recristallisation se passe de la façon suivante : le solide est repris par de l'acétate d'éthyle à chaud et est chauffé jusqu'à ébullition. Ensuite, 3 volumes d'hexane sont ajoutés à chaud et on observe l'apparition d'un trouble. La solution est amenée ensuite à 0°C sur glace et traitée au carbone. Le résultat est filtré par gravité et le solvant est évaporé. Le produit solide final est ensuite récupéré.



	97	98	99	100
Phase mobile	Acétate d'éthyle/Hexane (1/1)			
Rendement	76%	69%	25%	19%
RMN				
97	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 8.03 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.53 – 7.43 (m, 1H), 6.98 – 6.91 (m, 1H), 6.88 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 6.72 (dd, J = 17.6, 10.9 Hz, 1H), 5.95 (dd, J = 17.6, 0.8 Hz, 1H), 5.38 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 8.1 Hz, 3H), 2.97 (s, 3H)			
98	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.87 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (dd, J = 10.3, 8.2 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.03 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 6.75 (dd, J = 17.7, 10.9 Hz, 1H), 5.91 (d, J = 17.6 Hz, 1H), 5.39 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 4.67 (dd, J = 14.0, 8.0 Hz, 2H), 2.59 – 2.51 (m, 1H), 1.02 – 0.87 (m, 2H), 0.73 – 0.63 (m, 2H).			
99	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 8.19 (s, 1H), 7.61 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.56 (dd, J = 9.1, 2.5 Hz, 1H), 6.83 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 5.95 (dd, J = 17.6, 0.8 Hz, 1H), 5.38 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 4.68 (s, 2H), 2.93 (s, 3H).			
100	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.92 (s, 1H), 7.62 (dd, J = 8.8, 2.1 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.26 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.69 (dd, J = 17.6, 11.0 Hz, 1H), 5.75 – 5.68 (m, 1H), 5.14 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 4.67 (s, 2H), 2.54 (dd, J = 6.7, 3.6 Hz, 1H), 0.92 (td, J = 6.9, 4.7 Hz, 2H), 0.70 – 0.63 (m, 2H).			

	101	102	103
Phase mobile	Acétate d'éthyle/Hexane (1/1)		
Rendement	86%	62%	59%
RMN			
101	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.58 – 7.56 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7.31 (s, 2H), 7.15 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.2, 1.6 Hz, 1H), 6.74 (dd, J = 17.6, 10.9 Hz, 1H), 6.11 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 5.90 (d, J = 17.5 Hz, 1H), 5.37 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 0.88 – 0.72 (m, 2H), 0.57 – 0.43 (m, 2H).		
102	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.69 (dd, J = 4.9, 2.3 Hz, 1H), 7.53 (dd, J = 8.6, 2.2 Hz, 1H), 7.32 (s, 2H), 6.73 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.62 (dd, J = 17.6, 10.9 Hz, 1H), 5.97 (m, J = 5.0 Hz, 1H), 5.58 (d, J = 17.5 Hz, 1H), 5.06 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 2.84 (d, J = 4.9 Hz, 3H).		
103	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.69 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.59 – 7.52 (m, 1H), 7.40 (s, 2H), 7.11 (dd, J = 12.7, 8.7 Hz, 1H), 6.64 (dd, J = 17.6, 10.9 Hz, 1H), 6.19 (s, 1H), 5.60 (d, J = 17.6, 1H), 5.08 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 0.80 (m, 2H), 0.51 (m, 2H).		

d) Fonctionnalisation du dimère homologue supérieur

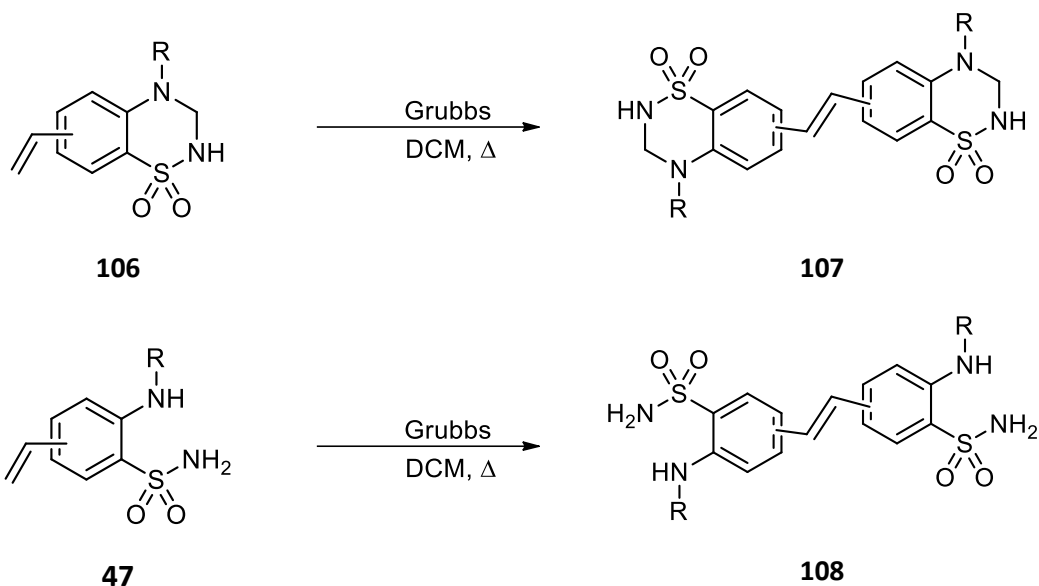


Le mode opératoire est identique à celui effectué au point a).

	105
Phase mobile	Acétate d'éthyle/Hexane 1/1
Rendement	86%
RMN	¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.52 (dd, J = 8.1, 2.8 Hz, 2H), 7.21 (d, J = 8.2 Hz, 3H), 6.54 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 6.49 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 5.94 (ddt, J = 16.9, 10.1, 6.8 Hz, 1H), 5.84 (m, J = 4.4 Hz, 2H), 5.12 (dq, J = 17.0, 1.7 Hz, 1H), 5.08 – 5.03 (m, 1H), 3.34 (d, J = 3.7 Hz, 4H), 2.85 – 2.82 (m, 2H), 2.81 (d, J = 4.9 Hz, 3H).

6. Dimérisation de Grubbs

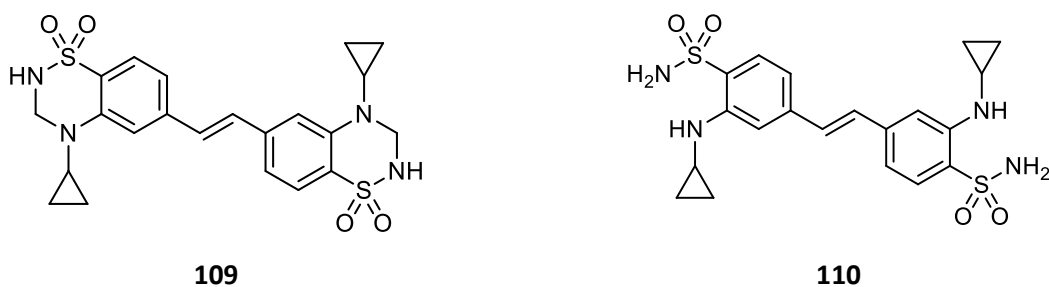
- (E)-6,6'-(éthène-1,2-diyl)bis(2-(N-cyclopropylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide) ; (E)-6,6'-(éthène-1,2-diyl)bis(4-cyclopropyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide)
- Réaction



- Mode opératoire

Dans un ballon de 25 ml, introduire 500 mg de **106** (ou **47**) et y solubiliser le composé dans le dichlorométhane. Porter le tout à reflux, sous agitation et sous atmosphère d'azote. Ajouter ensuite le catalyseur de Hoveyda-Grubbs à raison de 0,01 mol%. 30 min après l'ajout du catalyseur, renouveler l'atmosphère d'azote et remettre 0,01 mol% de catalyseur. Attendre de nouveau 30 min pour changer l'atmosphère d'azote et enfin, 1 heure après, ajouter une dernière quantité de catalyseur (0,01 mol%).

Refroidir à RT et faire précipiter à l'éther. Le précipité est ensuite filtré sur G₃ et mis au dessiccateur.

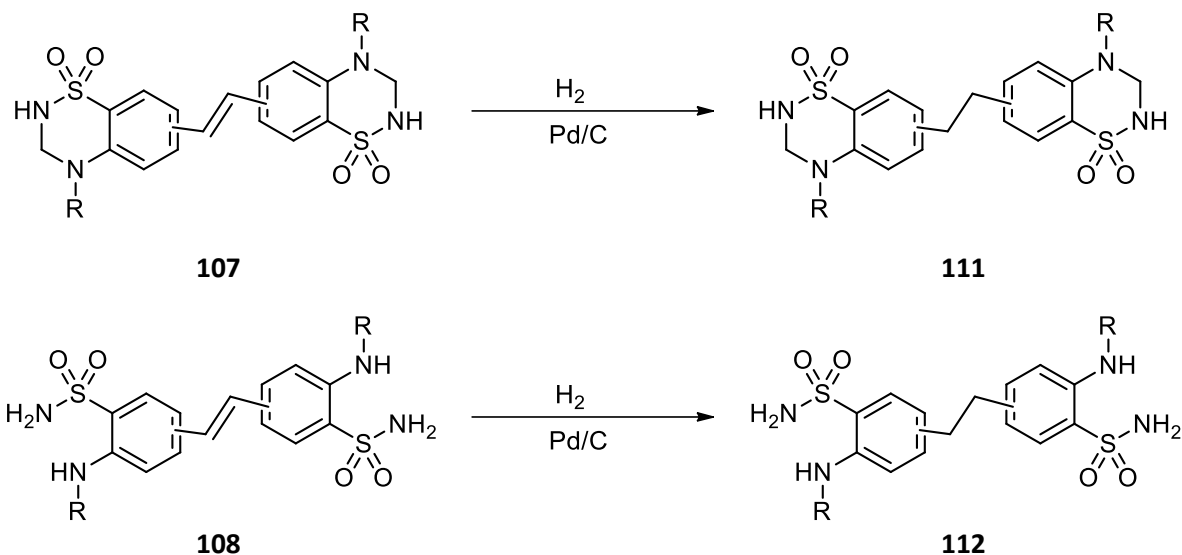


	109	110
Phase mobile	Acétate d'éthyle/ Hexane (1/1)	
Rendement	89%	82%
RMN		
109	¹ H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 7.89 (s, 2H), 7.55 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H), 7.44 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.25 (dd, <i>J</i> = 8.3, 1.6 Hz, 1H), 4.68 (s, 2H), 2.57 (m, 1H), 0.99 (m, 2H), 0.72 – 0.67 (m, 2H).	
110	¹ H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 7.61 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H), 7.37 – 7.28 (m, 4H), 7.09 (dd, <i>J</i> = 8.4, 1.5 Hz, 1H), 6.16 – 6.11 (m, 1H), 2.56 (m, <i>J</i> = 6.4, 3.3 Hz, 1H), 0.86 (dt, <i>J</i> = 6.6, 3.3 Hz, 2H), 0.55 (p, <i>J</i> = 4.4 Hz, 2H).	

7. Catalyse hydrogène

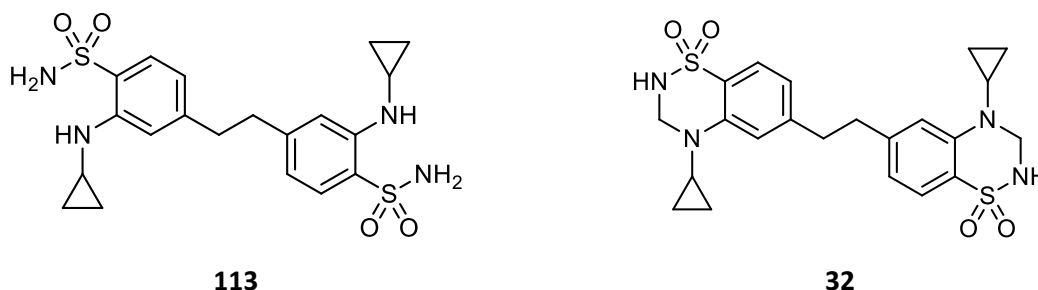
- (E)-6,6'-(éthane-1,2-diyl)bis(2-(N-cyclopropylamino)-4-vinylbenzenesulfonamide) ; (E)-6,6'-(éthane-1,2-diyl)bis(4-cyclopropyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide)

- Réaction



- Mode opératoire

Dans un cylindre en téflon pour hydrogénateur, introduire la quantité obtenue de **107** (ou **108**) avec 10% de cette masse en charbon palladié. Dissoudre avec de l'acétone ou du méthanol et s'assurer que le milieu est bien homogène (il ne doit pas y avoir de particules en suspension, si cela est le cas rajouter du DMF pour être sûr de la solubilité du produit). Mettre à l'hydrogénateur pendant minimum 30 min sous pression d'hydrogène. Après réaction, filtrer sur papier plissé afin d'éliminer le charbon palladié. Mettre à évaporer le DMF puis remettre en suspension avec un peu de méthanol. Filtrer sur G3 avant de mettre le tout au dessiccateur.



	113	32
Phase mobile	Acétate d'éthyle/ Hexane (1/1)	
Rendement	92%	94%
RMN		
113	¹ H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 7.50 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H), 7.23 (s, 2H), 6.94 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H), 6.62 (dd, <i>J</i> = 8.1, 1.7 Hz, 1H), 6.05 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H), 2.90 (s, 2H), 2.43 – 2.37 (m, 1H), 0.76 (dt, <i>J</i> = 6.6, 3.3 Hz, 2H), 0.50 – 0.41 (m, 2H).	
32	¹ H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 7.78 (t, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 7.43 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 7.02 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H), 6.75 (dd, <i>J</i> = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 4.61 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 2.92 (s, 2H), 2.41 (m, 1H), 0.90 – 0.84 (m, 2H), 0.58 (m, 2H).	

VI. Annexes

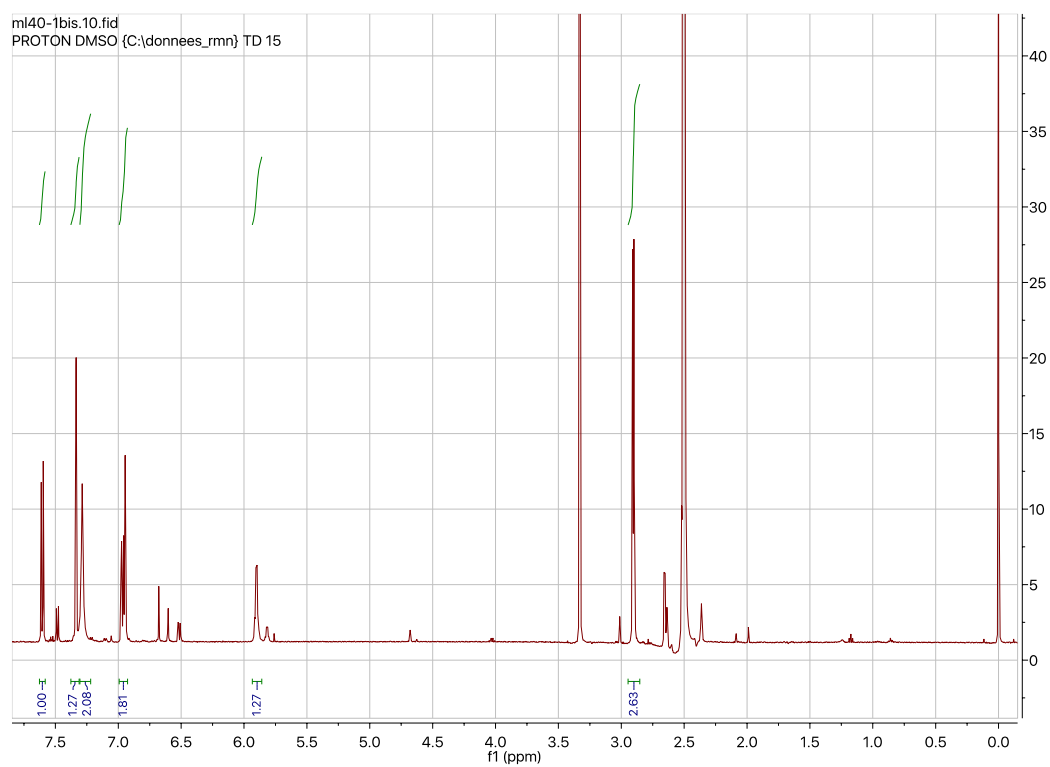


Figure 27 Spectre RMN du dimère possédant un lien butylique

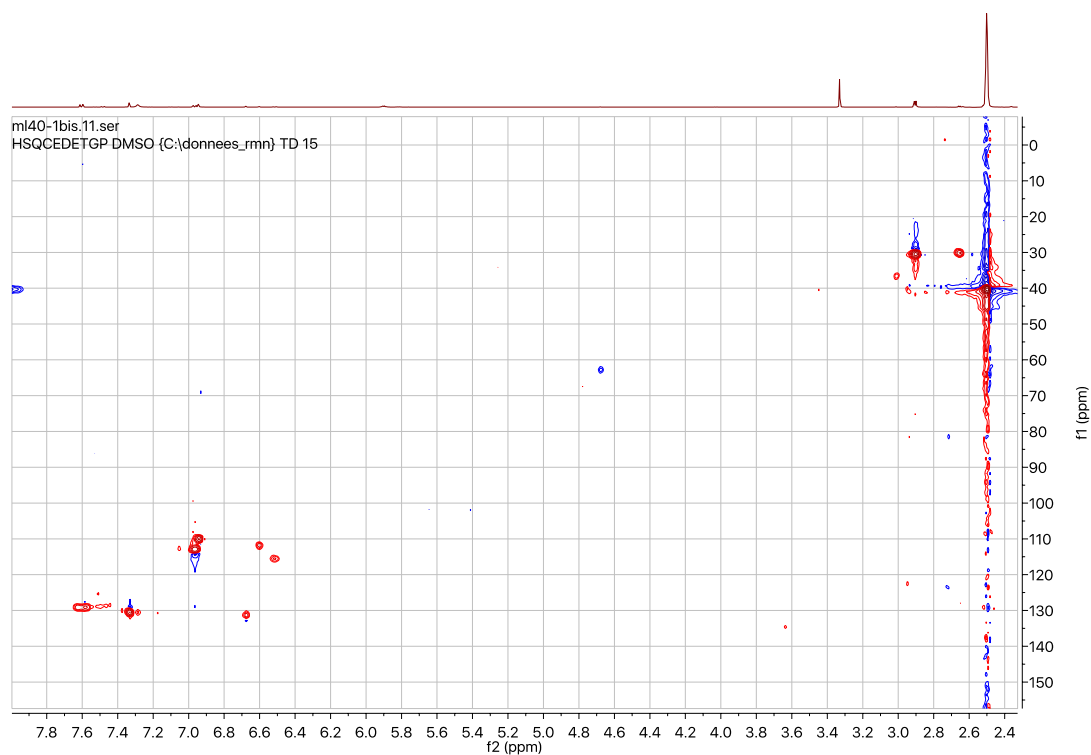


Figure 28 Spectre RMN HSQC du dimère possédant un lien butylique

VII. Bibliographie

1. Watkins JC. L-Glutamate As a Central Neurotransmitter: Looking Back. *Biochem Soc Trans.* 2000;28:297-309.
2. Colwell LJ, Brenner MP. Action potential initiation in the Hodgkin-Huxley model. *PLoS Comput Biol.* 2009;5(1):1-8.
3. Masson J, Sagné C, Hamon M, El Mestikawy S. Neurotransmitter transporters in the central nervous system. *Pharmacol Rev.* 1999;51(3):439-464.
4. Barbour B, Häusser M. Intersynaptic diffusion of neurotransmitter. *Trends Neurosci.* 1997;20(9):377-384. doi:10.1016/S0166-2236(96)20050-5.
5. Meldrum BS. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J Nutr.* 2000;130(4S Suppl):1007S-15S.
6. Takeda K, Ishida A, Takahashi K, Ueda T. Synaptic vesicles are capable of synthesizing the VGLUT substrate glutamate from ??-ketoglutarate for vesicular loading. *J Neurochem.* 2012;121(2):184-196.
7. Daikhin Y, Yudkoff M. Compartmentation of Brain Glutamate Metabolism in Neurons and Glia. *J Nutr.* 2000;130(4S Suppl):1026S-1031S.
8. Miyamoto E. Molecular mechanism of neuronal plasticity: induction and maintenance of long-term potentiation in the hippocampus. *J Pharmacol Sci.* 2006;100(5):433-442.
9. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, et al. *Neuroscience*. Vol 3.; 2004.
10. Paternain A V., Morales M, Lerma J. Selective antagonism of AMPA receptors unmasks kainate receptor-mediated responses in hippocampal neurons. *Neuron.* 1995;14(1):185-189.
11. Louis S. Differential Antagonism of α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4- isoxazolepropionic and Kainate-Preferring Receptors. 1995:582-587.
12. Waxman E a. N-methyl-D-aspartate Receptor Subtypes: Multiple Roles in Excitotoxicity and Neurological Disease. *Neurosci.* 2005;11(1):37-49.
13. F. TS. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev.* 1999;51(1):7.
14. Henley JM, Wilkinson KA. Synaptic AMPA receptor composition in development, plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci.* 2016;advance on(6):337-350.
15. Gouaux E. Structure and function of AMPA receptors. *J Physiol.* 2004;554(Pt 2):249-253.
16. Furukawa H. Structure and function of glutamate receptor amino terminal domains. *J Physiol.* 2012;590(1):63-72.
17. Stern-Bach Y, Bettler B, Hartley M, Sheppard PO, O'Hara PJ, Heinemann SF. Agonist selectivity of glutamate receptors is specified by two domains structurally related to bacterial amino acid-binding proteins. *Neuron.* 1994;13(6):1345-1357. doi:10.1016/0896-6273(94)90420-0.
18. Robert A, Howe JR. How AMPA receptor desensitization depends on receptor

- occupancy. *J Neurosci*. 2003;23(3):847-58. doi:23/3/847 [pii].
19. Terhag J, Gottschling K, Hollmann M. The Transmembrane Domain C of AMPA Receptors is Critically Involved in Receptor Function and Modulation. *Front Mol Neurosci*. 2010;3(December):117.
 20. Burnashev N, Monyer H, Seeburg PH, Sakmann B. Divalent ion permeability of AMPA receptor channels is dominated by the edited form of a single subunit. *Neuron*. 1992;8(1):189-198.
 21. Verdoorn TA, Burnashev N, Monyer H, Seeburg PH, Sakmann B. Structural Determinants of Ion Flow Through Recombinant Glutamate Receptor Channels. *Science (80-)*. 1991;252(5013):1715-1718.
 22. Poulsen MH, Lucas S, Strømgaard K, Kristensen AS. Inhibition of AMPA Receptors by Polyamine Toxins is Regulated by Agonist Efficacy and Stargazin. *Neurochem Res*. 2014;39(10):1906-1913.
 23. Mosbacher J, Schoepfer R, Monyer H, Burnashev N, Seeburg PH, Ruppersberg JP. A molecular determinant for submillisecond desensitization in glutamate receptors. *Science*. 1994;266(November):1059-1062.
 24. Minois N, Carmona-Gutierrez D, Madeo F. Polyamines in aging and disease. *Aging (Albany NY)*. 2011;3(8):716-732.
 25. Rozov a, Burnashev N. Polyamine-dependent facilitation of postsynaptic AMPA receptors counteracts paired-pulse depression. *Nature*. 1999;401(6753):594-598.
 26. Partin KM, Fleck MW, Mayer ML. AMPA receptor flip/flop mutants affecting deactivation, desensitization, and modulation by cyclothiazide, aniracetam, and thiocyanate. *J Neurosci*. 1996;16(21):6634-6647.
 27. Trussell LO, Zhang S, Ramant IM. Desensitization of AMPA receptors upon multiquantal neurotransmitter release. *Neuron*. 1993;10(6):1185-1196.
 28. Meyerson JR, Chittori S, Merk A, et al. Structural basis of kainate subtype glutamate receptor desensitization. *Nature*. 2016;537(7621):567-571.
 29. Robbins TW, Murphy ER. Behavioural pharmacology: 40+ Years of progress, with a focus on glutamate receptors and cognition. *Trends Pharmacol Sci*. 2006;27(3 SPEC. ISS.):141-148.
 30. Morris RGM, Anderson E, Lynch GS, Baudry M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*. 1986;319(6056):774-776.
 31. Bast T. Distinct Contributions of Hippocampal NMDA and AMPA Receptors to Encoding and Retrieval of One-Trial Place Memory. *J Neurosci*. 2005;25(25):5845-5856.
 32. Riedel G, Micheau J, Lam AG, et al. Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nat Neurosci*. 1999;2(10):898-905.
 33. Benesch RE, Benesch R, Yu CI. The oxygenation of hemoglobin in the presence of 2,3-diphosphoglycerate. Effect of temperature, pH, ionic strength, and hemoglobin

- concentration. *Biochemistry*. 1969;8(6):2567-2571.
34. Monod J, Wyman J, Changeux JP. on the Nature of Allosteric Transitions: a Plausible Model. *J Mol Biol*. 1965;12(1):88-118.
 35. Pirotte B, Francotte P, Goffin E, Tullio P De. a Patent Review (2013). 2013:10-15.
 36. Bernard K, Danober L, Thomas JY, et al. S 18986: A positive allosteric modulator of AMPA-type glutamate receptors pharmacological profile of a novel cognitive enhancer. *CNS Neurosci Ther*. 2010;16(5):193-212.
 37. Yamada KA, Rothman SM. Diazoxide blocks glutamate desensitization and prolongs excitatory postsynaptic currents in rat hippocampal neurons. *J Physiol*. 1992;458:409-423.
 38. Randle JCR, Biton C, Lepagnol JM. Allosteric potentiation by diazoxide of AMPA receptor currents and synaptic potentials. *Eur J Pharmacol Mol Pharmacol*. 1993;247(3):257-265.
 39. Krintel C, Frydenvang K, Olsen L, et al. Thermodynamics and structural analysis of positive allosteric modulation of the ionotropic glutamate receptor GluA2. *Biochem J*. 2012;441(1):173-178.
 40. Battisti UM, Jozwiak K, Cannazza G, et al. 5-arylbenzothiadiazine type compounds as positive allosteric modulators of AMPA/kainate receptors. *ACS Med Chem Lett*. 2012;3(1):25-29.
 41. Ward SE, Beswick P, Calcinaghi N, et al. Pharmacological characterization of *N*-[(2*S*)-5-(6-fluoro-3-pyridinyl)-2, 3-dihydro-1*H* -inden-2-yl]-2-propanesulfonamide: a novel, clinical AMPA receptor positive allosteric modulator. *Br J Pharmacol*. 2017;174(5):370-385.
 42. Carrozzo MM, Battisti UM, Cannazza G, et al. Design, stereoselective synthesis, configurational stability and biological activity of 7-chloro-9-(furan-3-yl)-2,3,3a,4-tetrahydro-1*H*-benzo[e]pyrrolo[2,1-*c*][1,2,4]thiadiazine 5,5-dioxide. *Bioorganic Med Chem*. 2014;22(17):4667-4676.
 43. Francotte P, Goffin E, Fraikin P, et al. New Fluorinated 1,2,4-Benzothiadiazine 1,1-Dioxides: Discovery of an Orally Active Cognitive Enhancer Acting through Potentiation of the 2-Amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl)propionic Acid Receptors. *J Med Chem*. 2010;53(4):1700-1711.
 44. Nørholm AB, Francotte P, Olsen L, et al. Synthesis, pharmacological and structural characterization, and thermodynamic aspects of GluA2-positive allosteric modulators with a 3,4-dihydro-2*H* -1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxide scaffold. *J Med Chem*. 2013;56(21):8736-8745.
 45. Grimaud L, Jutand A. Role of Fluoride Ions in Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions-. *Synthesis (Stuttg)*. 2016;49(6):1182-1189.
 46. Amini M, Bagherzadeh M, Rostamnia S. Efficient imidazolium salts for palladium-catalyzed Mizoroki-Heck and Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions. *Chinese Chem Lett*. 2013;24(5):433-436.

47. Pcy P-, Inchi P. Dichlorobis(tricyclohexylphosphine)- palladium. 2:1-4.
48. Bolliger JL, Frech CM. Dichloro-bis(aminophosphine) complexes of palladium: Highly convenient, reliable and extremely active suzuki-miyaura catalysts with excellent functional group tolerance. *Chem - A Eur J*. 2010;16(13):4075-4081.
49. Colacot TJ, Shea HA. Cp₂Fe(PR₂)₂PdCl₂ (R = i-Pr, t-Bu) complexes as air-stable catalysts for challenging Suzuki coupling reactions. *Org Lett*. 2004;6(21):3731-3734.
50. Shen W. Palladium catalyzed coupling of aryl chlorides with arylboronic acids. *Tetrahedron Lett*. 1997;38(32):5575-5578.
51. Alcaide B, Almendros P, Luna A. Grubbs ' Ruthenium-Carbenes Beyond the Metathesis Reaction : Less Conventional Non-Metathetic Utility. 2009;(Scheme 1):3817-3858.
52. Hong SH, Sanders DP, Lee CW, Grubbs RH. Prevention of olefin isomerization during olefin metathesis reactions. *Abstr Pap 229th ACS Natl Meet San Diego, CA, United States, March 13-17, 2005*. 2005;(Table 3):ORGN-080.
53. Hong SH, Grubbs RH. Efficient removal of ruthenium byproducts from olefin metathesis products by simple aqueous extraction. *Org Lett*. 2007;9(10):1955-1957.