



HAL
open science

Synthèse de traceurs bimodaux utilisables en imagerie médicale TEP/IRM

Sybille Kennel

► **To cite this version:**

Sybille Kennel. Synthèse de traceurs bimodaux utilisables en imagerie médicale TEP/IRM. Imagerie. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : 2015BORD0190 . tel-01249613

HAL Id: tel-01249613

<https://theses.hal.science/tel-01249613v1>

Submitted on 4 Jan 2016

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

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

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE Sciences de la Vie et de la Santé
SPÉCIALITÉ Chimie Interface Biologie

Par Sybille KENNEL

**Synthèse de traceurs bimodaux utilisables en imagerie médicale
TEP/IRM**

Sous la direction de : Jürgen Schulz

Soutenue le 26 Octobre 2015

Membres du jury :

M. BARTHELEMY, Philippe, Professeur, Université de Bordeaux,
M. DENAT, Franck, Professeur, Université de Bourgogne,
M. PELLET-ROSTAING, Stéphane, Directeur de Recherche CNRS,
M. JANIER, Marc, Professeur Praticien Hospitalier, Université de Lyon 1,
M. MISHRA, Anil, Scientifique « G » et Directeur adjoint, INMAS, Delhi
M. FERNANDEZ, Philippe, Professeur Praticien Hospitalier, Université de Bordeaux
M. SCHULZ, Jürgen, Ingénieur de recherche, CNRS,

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Invité
Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'Institut des Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine (INICIA) dans l'équipe Neuroimagerie et Cognition humaine dirigée par Michèle Allard que j'en profite pour remercier de m'avoir accueillie dans son équipe.

Je voudrai tout d'abord remercier les Professeurs Franck Denat et Stéphane Pellet-Rostaing d'avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce travail de thèse. Je tiens également à remercier les Professeurs Marc Janier et Philippe Barthélémy d'avoir accepté de participer à ce jury.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au Docteur Jürgen Schulz pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet de thèse. Je ne saurai pas comment te remercier pour ces quatre années, pour la confiance que tu m'as donnée et pour tout ce que tu as pu m'apprendre. Je te remercie aussi de ton soutien sans faille pendant la période de rédaction et de ta disponibilité.

Je tiens également à remercier Anil Mishra qui malgré la distance a largement contribué à ce projet de thèse. Avec ta grande connaissance de la chimie de l'imagerie, tu as su nous aiguiller et nous aider à appréhender un peu mieux la chimie des DOTA.

Je remercie toute l'équipe Neuroimagerie et Cognition Humaine de l'INICIA pour avoir accepté dans son labo une nouvelle espèce pour eux, des chimistes. Je remercie tout particulièrement Amandine Pelletier et Charlotte Bernard. Amandine, même si je n'ai toujours rien compris à la FA du Fornix merci pour tous ces moments partagés au labo et en dehors, pour tes folles virées shopping, ces goûters au Parlement by Alex et tes petits verres du pineau de ton papy... Charlotte, merci pour ton écoute et ton soutien inconditionnel. Tu as toujours été là pour moi au moindre moment de doute mais aussi pour m'accompagner dans mes descentes au CHU pour aller chercher du chocolat ou

autres sucreries ! Je pense que j'ai trouvé plus gourmande que moi ! Merci les filles, vous êtes devenus plus que des collègues de vrais amis.

Je remercie également Sandra et Georges toujours à se soucier du bien être des autres. Votre bureau à l'entrée, est presque un petit sas de confiance.

Je n'oublie pas de remercier le basque du labo, Bixente à qui j'espère avoir réussi en 4 ans à donner une meilleure impression de ma ville natale.

Je n'oublie pas Colette, toujours à rendre service, Catherine pour ces discussions, Clément et Fred avec qui j'ai eu la chance de partager les journées inoubliables de l'école doctorale ! Je remercie également tout le personnel du labo qui a partagé mon quotidien pendant ces quelques années, Gwen, Martine, Willy, Micha, Joachim, Paolo, Jérôme, Frédéric, Charlotte C, Marion, Marie, Mickaël et Pierre.

Je remercie également une nouvelle fois le Professeur Philippe Barthélémy mais aussi toute son équipe d'avoir acceptés de nous héberger dans son laboratoire afin que je puisse mener à bien toutes les expériences de chimie organique. Je remercie en particulier Sébastien Benizri, pour ces séances de fous rires avec tes appels désespérés, pour ces pauses café, ces férias loupées et ton bœuf bourguignon ! Je remercie également Michaël Ramin, qui est un vrai passionné de chimie et avec qui j'ai pu réfléchir sur les problèmes rencontrés lors de mes synthèses. Je tiens aussi à remercier Brune Vialet, qui a toujours été là pour moi pendant ces années. Je remercie également Valérie Desvergues de m'avoir soutenu pendant la rédaction de ce manuscrit et d'avoir accepté d'en relire une partie. Je n'oublie pas Laurent Latxague et son esprit blagueur, Arnaud Gissot qui a gentiment accepté de m'héberger dans son bureau, Khalid Oumzil, Amit Patwa, Deepak Jain et Laurent Azéma.

Je ne pourrais pas continuer ces remerciements sans les adresser à Aref Hassan et Nataliia Betzinna avec qui j'ai partagé successivement le petit labo de chimie. Vous êtes tous les deux devenus de véritables amis pour moi. Aref, merci pour ces longues discussions, ça a été un plaisir de travailler à tes côtés. Merci de m'avoir initiée à la culture de ton pays et surtout à sa cuisine en me rapportant des petits gâteaux et des petits plats traditionnels. Tu es un papa génial, je vous souhaite à tous les trois le meilleur. Nataliia, que de fous rires dans ce labo, que de souvenirs ensemble, entre nos

soirées sport, nos soirées « filles » et ces cours de cuisine !!! Merci grâce à toi je suis une pro des sushis ! Tu vas énormément me manquer !

Je tiens à remercier également le CESAMO pour avoir réalisé toutes les analyses en spectrométrie de masse et le RMSB et en particulier Gérard et Bassem d'avoir réalisé et de m'avoir expliqué les mesures de relaxivités.

Pour terminer, je tiens à remercier ma famille et en particulier mes parents qui n'ont jamais cessé de croire en moi et qui m'ont donné les moyens et l'envie de poursuivre ces longues études. Je remercie également mes frères qui m'ont toujours soutenu. Cyril si tu fais l'effort de lire une partie de ce manuscrit tu pourras voir à quoi ressemble un Modop'. Jérémy merci pour tes appels quotidiens de soutien pendant la rédaction de ce manuscrit ça m'a beaucoup aidé. Je remercie aussi ma Sophie, même si techniquement parlant tu n'es pas de ma famille tu as été pour moi comme une sœur. Ton amitié sans limite et ton soutien infailible m'ont accompagnés tout au long de cette thèse. Bien sûr je n'oublie pas les nouveaux venus dans la famille, Jenifer, Mathys et bébé Emma !

Enfin, je voudrais te remercier, Ananda, d'avoir été là pour moi cette année. Tu as su me reconforter et me faire sourire pendant ces moments difficiles mais tu as eu aussi bien du courage de me supporter pendant la rédaction de ce manuscrit ! Merci d'avoir pris le temps de m'aider, de m'écouter et d'être tout simplement là pour moi...

SOMMAIRE

LISTE DES ABBREVIATIONS	8
INTRODUCTION GENERALE	11
<u>PARTIE 1 : INTRODUCTION</u>	15
1. Techniques d'imagerie médicale	17
1.1 La radiographie	17
1.2. L'échographie	18
1.3. L'Imagerie Par Résonance Magnétique	19
1.3.1. Principe	19
1.3.2. Agents de contraste utilisés en IRM	21
1.4. L'Imagerie Nucléaire	25
1.4.1. Description des techniques	25
1.4.2. Radiotraceurs	27
1.5. L'imagerie optique	30
2. Apports de la bimodalité	32
2.1. IRM/Imagerie optique	32
2.2. Imagerie Nucléaire/Imagerie Optique	37
2.3. IRM/Imagerie nucléaire	41
3. Description du projet	48
<u>PARTIE 2 : SYNTHÈSE D'UN TRACEUR BIMODAL : APPROCHE « COCKTAIL »</u>	51
1. Synthèse de monomères de biomolécules	53
1.1. Stratégie d'introduction de la biomolécule par chimie « click »	53
1.2. Utilisation de la « click » catalysée au ruthénium	60
1.2.1. Optimisation des conditions	62
1.2.2. Application au couplage de différentes biomolécules	66
1.3. Déprotection et complexation du DO3A-Biotine	74
1.3.1. Déprotection du DO3A-Biotine	75
1.3.2. Complexation du gallium	76
1.3.3. Complexation du gadolinium et mesures de relaxivité	80
2. Synthèse de dimères de biomolécules	83
2.1. Synthèse des plateformes difonctionnalisées sans espaceur	84
2.1.1. Synthèse d'une plateforme diaminée	84
2.1.2. Synthèse de la plateforme diol	88
2.1.3. Synthèse de la plateforme diazoture	90
2.1.4. Synthèse de la plateforme dialcyne	91
2.1.4.1. Synthèse de la plateforme difonctionnalisée	91
2.1.4.2. Essais de bioconjugaison par chimie « click » catalysée au ruthénium	97
2.2. Synthèse d'une plateforme difonctionnalisée avec un espaceur	99
2.2.1. Synthèse la plateforme dipropargylée	99
2.2.2. Couplage par chimie « click » au ruthénium des biomolécules	105
Conclusion :	107

PARTIE 3 : SYNTHÈSE D'AGENTS BIMODAUX : APPROCHE MOLECULE UNIQUE	108
1. Synthèse du traceur sans espaceur	110
1.1. Stratégie de synthèse	110
1.2. Synthèse de la plateforme trifonctionnalisée	113
1.2.1. Approche <i>via</i> le solketal	113
1.2.2. Approche <i>via</i> l'épichlorhydrine	116
1.3. Introduction du macrocycle D03A et de la biomolécule	119
1.3.1. Introduction du macrocycle D03A	119
1.3.2. Bioconjugaison de l'azoture de biotine	120
1.3.3. Déprotection du macrocycle et complexation du gadolinium	121
2. Synthèse du traceur comportant un espaceur	123
2.1. Synthèse de la plateforme trifonctionnalisée	123
2.2. Couplage au macrocycle et introduction du gadolinium	126
2.2.1. <i>N</i> -Alkylation et bioconjugaison de la biotine	126
2.2.3. Déprotection et complexation du gadolinium	127
Conclusion	128
CONCLUSION GENERALE	129
EXPERIMENTAL PART	133
BIBLIOGRAPHIE	221

LISTE DES ABBREVIATIONS

15-C-5 : 15-Couronne-5
ACN : Acétonitrile
AMM : Autorisation de mise sur le marché
Boc : *t*-Butoxycarbonyle
Bodipy : Bore-dipyrométhène
CAN : Nitrate d'ammonium cérique
CCM : Chromatographie sur couche mince
CE : Capture électronique
CT : Tomographie computationnelle
Cy : Cyanine
DBU : 1,8-Diazabicyclo(5.4.0)undéc-7-ène
DCC : *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimide
DCM : Dichlorométhane
DEAD : Azodicarboxylate de diéthyle
DIPEA : *N,N*-Diisopropyléthylamine
DMAP : 4-Diméthylaminopyridine
DMF : *N,N*-Diméthylformamide
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DO3A : Acide 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazacyclododécane-1,4,7-triyl)triacétique
DO3A(Et)₃ : Tri-éthyl 2,2',2''-(1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7-triyl)triacétate
DO3A(*t*Bu)₃ : Tri-*tert*-butyl 2,2',2''-(1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7-triyl)triacétate
DOPA : Déoxyphénylalanine
DOTA : Acide 1,4,7,10-tetraazacyclododécane-1,4,7,10-tetraacétique
DPPA : Azoture de diphénylphosphoryle
DTPA : Diéthylènetriaminepentaacétate
FDG : Fluorodéoxyglucose
FES : Fluoroestradiol
FITC : Isothiocyanate de fluorescéine
FLT: Fluorothymidine

Fmoc : Fluorénylméthoxycarbone
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
MPP : 1-(2-azidoéthyl)-4-(2-méthoxyphényl)pipérazine
NHS : *N*-Hydroxysuccinimide
NOTA : Acide 2,2',2''-(1,4,7-tétraazacyclononane-1,4,7-triyl)-triacétique
Pbf : 2,2,4,6,7-pentaméthyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyle
PMP : *p*-Méthoxyphénol
ppm : Partie par millions
Qd : Quantum Dot
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
TBDMS : *t*-Butyldiméthylsilane
TBDPS : *t*-Butyldiphénylsilane
TEMP : Tomographie par Emission Monophotonique
TEMPO : (2,2,6,6-Tétraméthylpipéridin-1-yl)oxy
TEP : Tomographie par Emission de Positons
TFA : Acide trifluoroacétique
THF : Tétrahydrofurane
TMS : Triméthylsilane
Trityl : Triphénylméthyle
UV : Ultraviolets
 Δ : Chauffage thermique
 μ W : Chauffage sous microondes

INTRODUCTION GENERALE

La naissance de l'imagerie médicale remonte à la découverte des rayons X par Wilhelm Röntgen à la fin du XIX^{ème} siècle. Rapidement, d'autres découvertes ont permis de développer ce domaine. En effet, au début du XX^{ème} siècle, la découverte de la radioactivité naturelle et plus tard de la radioactivité artificielle ont permis l'émergence de l'imagerie nucléaire dès les années 60. En 1946, Félix Bloch et Edward Mills Purcell mettent en avant le phénomène de résonance magnétique nucléaire qui a permis le développement de l'IRM à partir des années 1970. Plus récemment, les techniques optiques ont permis le développement de l'imagerie optique.

Ainsi, de nos jours, les médecins disposent de plusieurs modalités d'imagerie afin d'étudier le fonctionnement de l'organisme et d'aider au diagnostic en clinique. Ces techniques peuvent apporter des informations de type structurelles, fonctionnelles ou moléculaires. Dans certains cas, l'injection d'un agent de contraste peut être nécessaire afin de révéler ou d'améliorer la détection d'une structure ou d'un fonctionnement anormal. En imagerie nucléaire en particulier, des traceurs spécifiques d'un organe ou d'une fonction métabolique sont injectés. Ils portent des radioisotopes, émetteurs des rayonnements détectés par les caméras. Pour d'autres modalités, comme l'IRM morphologique, des agents de contraste peuvent être injectés aux patients afin d'améliorer le contraste entre tissu sain et tissu pathologique, sur les images. Ainsi en IRM, des agents, le plus souvent des complexes de gadolinium sont injectés afin de diminuer le temps de relaxation des protons de l'eau. En radiographie, des agents iodés peuvent également être utilisés afin d'absorber les rayons X dans les tissus où ils sont distribués et ainsi d'augmenter le contraste.

Par ailleurs, chacune de ces modalités possède ses avantages et ses inconvénients en termes de résolution, de sensibilité, de spécificité et de type de rayonnement utilisé. Elles sont plus ou moins adaptées aux différentes pathologies et apportent souvent des informations complémentaires. Ainsi, afin d'établir le diagnostic le plus précis et le plus précoce possible, il est parfois nécessaire de confronter les informations obtenues par différentes modalités.

C'est pourquoi depuis quelques années, l'imagerie multimodale, associant plusieurs modalités pour un même patient, est souvent utilisée. Il s'agit alors d'acquérir des images selon plusieurs modalités afin de bénéficier des informations complémentaires,

obtenues par chacune d'elle. Parmi les acquisitions multimodales, dites imagerie hybrides, la combinaison TDM/TEP permet de superposer des images anatomiques à des images métaboliques de la distribution du radiotracteur. L'inconvénient de cette bimodalité est l'exposition du patient à deux types de radiations ionisantes. Les chercheurs se sont donc orientés vers une combinaison de l'IRM avec les méthodes d'imagerie nucléaire ce qui limite l'exposition du patient aux radiations ionisantes, l'IRM n'étant pas irradiante et fournissant une meilleure résolution spatiale de l'image structurelle.

Le développement de méthodes bi- ou multi-modales implique d'une part le développement d'appareils permettant l'acquisition simultanée des données, mais aussi de molécules traceuses pouvant être efficace dans les 2 modalités, IRM et TEP.

L'objectif de ce travail de thèse a donc consisté à développer des traceurs bimodaux utilisables à la fois en IRM et en TEP.

Après une introduction sur les méthodes d'imagerie médicale ainsi que sur les traceurs bimodaux développés, la synthèse de ces traceurs sera présentée.

PARTIE 1 :
INTRODUCTION

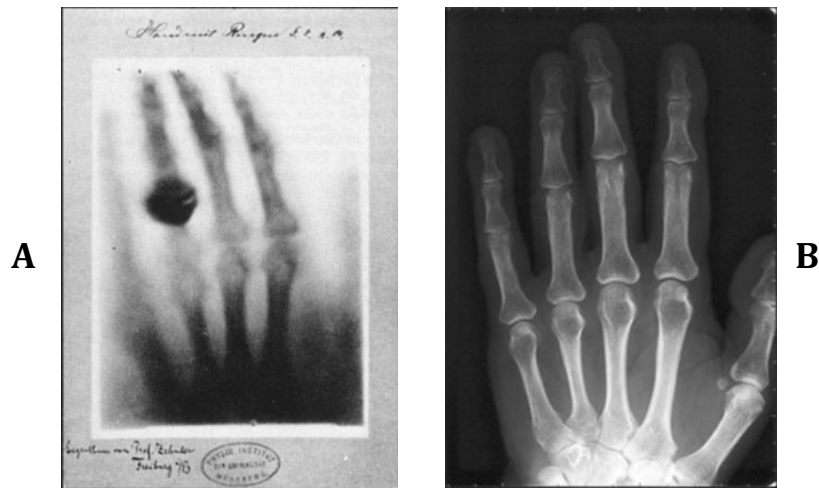
1. TECHNIQUES D'IMAGERIE MEDICALE

Depuis son invention, l'imagerie médicale a pris une place importante dans le domaine de la médecine. Elle a rendu en effet possible, la visualisation de l'intérieur de l'organisme facilitant ainsi son étude et celui de ses dysfonctionnements. Aujourd'hui, le médecin dispose de plusieurs méthodes d'imagerie afin de lui permettre d'établir des diagnostics plus précoces et plus précis. Parmi ces méthodes, on compte la radiographie, l'échographie, l'IRM et l'imagerie nucléaire. Par ailleurs, l'imagerie optique, très utilisée dans le domaine *in vitro* connaît un fort développement qui laisse à penser que son utilisation sur l'homme va s'accroître.

1.1 LA RADIOGRAPHIE

La radiographie utilise les rayons X découverts par Wilhelm Röntgen en 1895 et prix Nobel de Physique en 1901. Les rayons X sont des ondes électromagnétiques de haute énergie qui possèdent la particularité d'être absorbées par la matière. Ainsi, quand un corps humain est exposé aux rayons X, ils vont le traverser en étant plus ou moins atténués selon la densité des tissus rencontrés. Le rayonnement transmis, pourra alors imprimer une image sur une plaque photographique placée en sortie. Si le contraste de l'image est insuffisant, un produit de contraste à base d'iode ou de baryum pourra alors être injecté. L'émergence de nouvelles techniques informatiques a permis de remplacer l'utilisation des plaques photographiques et ainsi obtenir des images plus précises. Ces différentes avancées technologiques ont également permis de pouvoir moduler l'intensité des rayons X. Cette nouvelle technique dérivée est appelée scanner CT ou tomodensitométrie.

La radiographie aux rayons X permet d'obtenir des images structurales avec un bon contraste entre les tissus mous et les os de manière rapide. Cependant, les rayons X sont des rayonnements ionisants, nocifs pour la santé. Par ailleurs, le contraste entre les différents tissus peut ne pas être suffisant pour aider au diagnostic.



*Figure 1.1 : A, Première Radiographie de la main réalisée en 1895 ;
B, radiographie actuelle de la main*

1.2. L'ECHOGRAPHIE

L'échographie repose sur l'utilisation d'ondes sonores : les ultrasons. Une sonde émettant des ultrasons (en général un système piézo-électrique) est appliquée contre la peau face à l'organe à analyser. Les ondes ultrasonores sont en partie réfléchies et c'est ce contingent, renvoyé vers la source, qui est à l'origine de la reconstruction de l'image. Avec les progrès de la technologie il est maintenant possible de réaliser des échographies en 3D et 4D (le paramètre temps est ajouté aux 3 dimensions spatiales et constitue ainsi la 4^{ème} dimension). De faible résolution, cette modalité d'imagerie présente l'avantage majeur de ne pas être irradiante. C'est pourquoi elle est majoritairement utilisée en obstétrique, mais elle peut également être contributive au diagnostic dans les pathologies de type cardiaque ou vasculaire mais aussi tumorales (par exemple l'échographie hépatique pour détecter des métastases)



Figure 1.2 : Echographies 2D et 3D prénatales

1.3. L'IMAGERIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE

1.3.1. Principe

La découverte du concept de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) par Bloch et Purcell en 1946, pour laquelle ils ont obtenu le prix Nobel en 1952, a permis le développement d'une nouvelle technique d'imagerie, l'Imagerie par Résonance Magnétique ou IRM. Cette technique permet d'obtenir des images anatomiques en trois dimensions avec une excellente résolution. Depuis sa première utilisation sur l'Homme en 1979, cette technique est devenue incontournable dans le domaine de l'imagerie médicale.



Figure 1.3 : Image IRM d'un cerveau sain

Elle utilise les propriétés magnétiques des protons de l'eau contenue dans l'organisme. Soumis à un champ magnétique \vec{B}_0 les spins des protons s'orientent selon deux états d'énergie stable $+1/2$ et $-1/2$ (cf Figure 1.4).

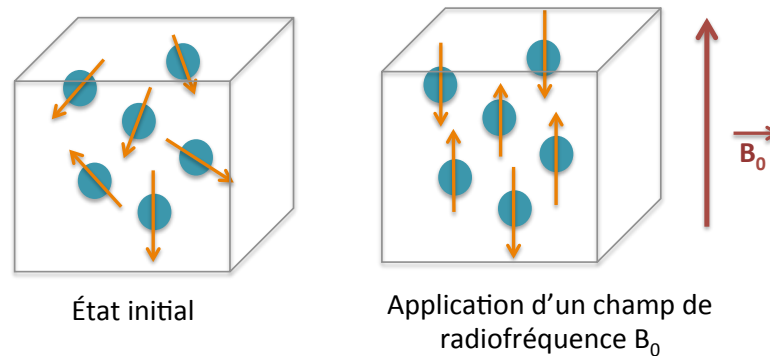


Figure 1.4 : Représentation des spins des protons de l'eau

L'application d'un champ magnétique \vec{B}_1 , perpendiculaire à \vec{B}_0 , fait entrer les spins en résonance, ils passent alors à un état d'énergie supérieur. Le vecteur \vec{M} représentant le spin a alors deux composantes : une selon l'axe z et l'autre selon l'axe y. Quand le champ \vec{B}_1 est coupé, le spin tend à revenir à son état d'énergie précédent, \vec{M}_0 , c'est à dire orientée selon l'axe z. Sa composante selon y diminue alors de façon exponentielle et engendre un courant sur une bobine située sur l'axe y (cf Figure 1.5).

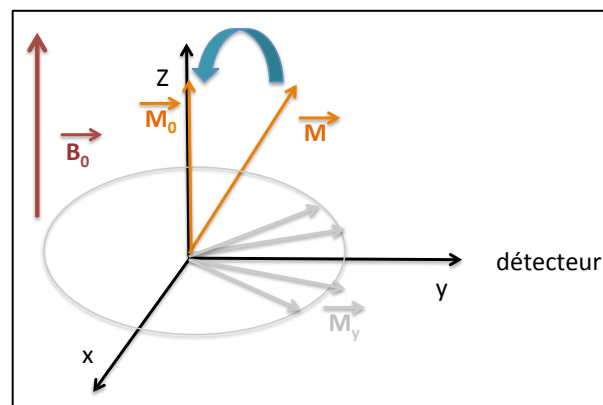


Figure 1.5 : Représentation du retour à l'équilibre des spins

Après traitement du signal par transformée de Fourier, des images peuvent être reconstruites. Deux phénomènes de relaxation ont lieu : la relaxation longitudinale, T_1 , représente une relaxation spin-réseau et la relaxation T_2 , dite transversale, représente une relaxation spin-spin.

Outre son excellente résolution, cette technique offre l'avantage de pouvoir visualiser les tissus mous. Cependant l'inconvénient majeur de cette technique reste sa mauvaise sensibilité. Afin d'obtenir des images de qualité, il est nécessaire de réaliser de longues acquisitions. L'injection au patient d'agent de contraste peut aussi être nécessaire dans certains cas afin d'apporter des informations supplémentaires.

1.3.2. Agents de contraste utilisés en IRM

Aujourd'hui environ 35% des examens IRM sont réalisés avec injection d'un agent de contraste non spécifique. Le Gd-DTPA, commercialisé sous le nom de Magnevist[®], a été le premier agent de contraste ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) en 1988, suivi par le Gd-DOTA, disponible sous le nom de Dotarem[®] dès 1989. Depuis, des recherches pour mettre au point des agents de contraste spécifiques ont été mises en oeuvre et sont encore actuellement très actives afin de permettre un diagnostic plus précis de certaines pathologies. Leur objectif est d'augmenter le temps de relaxation des protons de l'eau et ainsi d'obtenir un meilleur contraste.

- *Classification*

Du point de vue de leurs mécanismes sur les propriétés magnétiques des protons de l'eau, les agents de contraste peuvent être divisés en deux classes.

- Les agents « T₁ » diminuent à la fois les temps de relaxation T₁ et T₂ mais ont une plus forte influence sur le temps de relaxation longitudinale. Ils induisent alors une augmentation du signal et un contraste dit « positif ».
- Les agents « T₂ » diminuent de manière plus importante le temps de relaxation transversale. Ils induisent alors une diminution de l'intensité du signal et induisent un contraste dit « négatif ».¹

Les agents T₁ sont composés d'atomes paramagnétiques, c'est-à-dire d'éléments comportant un moment magnétique élevé du fait de leurs électrons non appariés. C'est le cas entre autres du manganèse, du fer et du dysprosium mais le gadolinium reste l'élément le plus utilisé. En effet, de par ses 7 électrons non appariés (S = 7/2) il possède un moment magnétique élevé mais son état électronique symétrique lui confère également un temps de relaxation plus long que les autres lanthanides (10⁻⁸, 10⁻⁹s).

Les agents T₂, sont composés d'éléments superparamagnétiques comme les particules d'oxyde de fer. Elles sont composées d'un cœur cristallin d'oxydes de fer enrobés dans une matrice de dextran ou de siloxane pour empêcher l'agrégation. Contrairement aux agents paramagnétiques, sous l'action d'un champ magnétique extérieur le moment magnétique entier du cristal est influencé et pas seulement celui de chacun de ses atomes individuellement. La taille de la particule détermine ainsi sa relaxivité.

Il existe trois grandes familles de particules d'oxyde de fer, classées selon leur taille :

- les USPIO (Ultra Small Particle Iron Oxide) qui possèdent un diamètre inférieur à 50 nm,
- les SPIO (Small Particle Iron Oxide) possédant un diamètre compris entre 50 nm et 1 µm,
- Les MION (Micron Iron Oxide Nanoparticle) dont le diamètre est de l'ordre du micromètre.

Les nanoparticules de fer représentent moins de 10% des injections d'agents de contraste. Pour la suite de ce travail, nous nous sommes intéressés aux agents T₁ et plus particulièrement aux complexes de gadolinium.

- Paramètres importants

D'après la théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan (SBM),²⁻⁶ différents paramètres physico-chimiques gouvernent la relaxivité (cf Figure 1.6) :

- le nombre de molécules d'eau coordonnées dans la première sphère de coordination, q . En général, une seule molécule d'eau est coordonnée mais la structure chimique de l'agent peut être modifiée pour permettre la coordination de deux molécules d'eau,
- le temps de résidence des molécules d'eau, τ_M , de l'ordre de 100 ns, sa valeur optimale est de 10 ns,
- le temps de rotation de l'agent, τ_R , proche de 0,1 ns mais optimal pour 10 ns,
- les interactions du complexe avec la seconde sphère et les sphères extérieures de coordination,
- des paramètres électroniques.

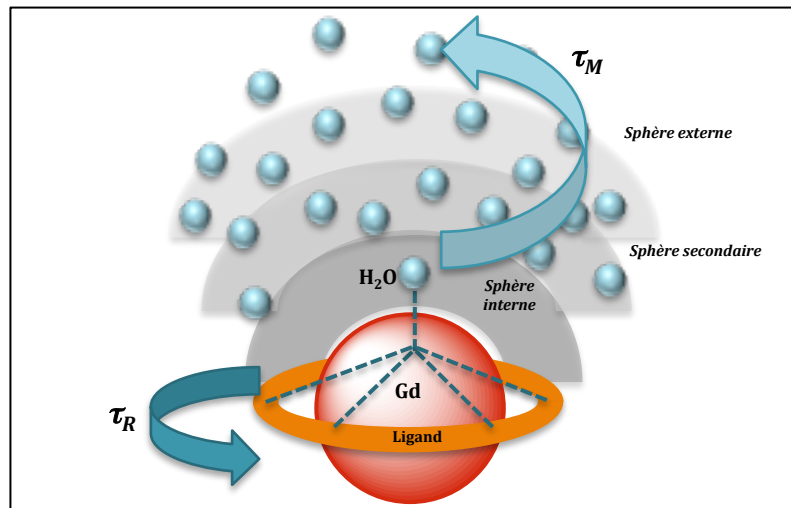


Figure 1.6 : Schéma des différents paramètres gouvernant la relaxivité

Certains de ces paramètres peuvent être affinés en modifiant la structure chimique de l'agent de contraste.^{1,7} En effet, le nombre de molécules d'eau coordonnées peut être augmenté en passant à 2 par exemple. Par ailleurs, l'augmentation du poids moléculaire de l'agent de contraste permet une augmentation de son temps de rotation et donc une meilleure relaxivité.

- *Le gadolinium et ses ligands*

L'inconvénient majeur du gadolinium en imagerie médicale est sa toxicité sous sa forme libre. Deux agents chélatants de première génération ont alors été développés afin de le complexer : le DOTA (l'acide 1,4,7,10-tétraaza cyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique)^{8,9} et le DTPA (penta(carboxyméthyl)diéthylène triamine).¹⁰ En se basant sur ces deux chélates, les premiers agents synthétisés ont été le Magnevist[®] commercialisé en 1988 par Schering et le Dotarem[®] commercialisé en 1989 par Guerbet. La modification chimique des bras portés par ces molécules a donné naissance à une grande variété d'agents de contraste (cf Schéma 1.1) tels que l'Omniscan^{®11} et l'OptiMark^{®12} (pour les dérivés du DTPA) et le ProHance^{®13,14} et le Gadovist^{®15,16} (pour les dérivés du DOTA).

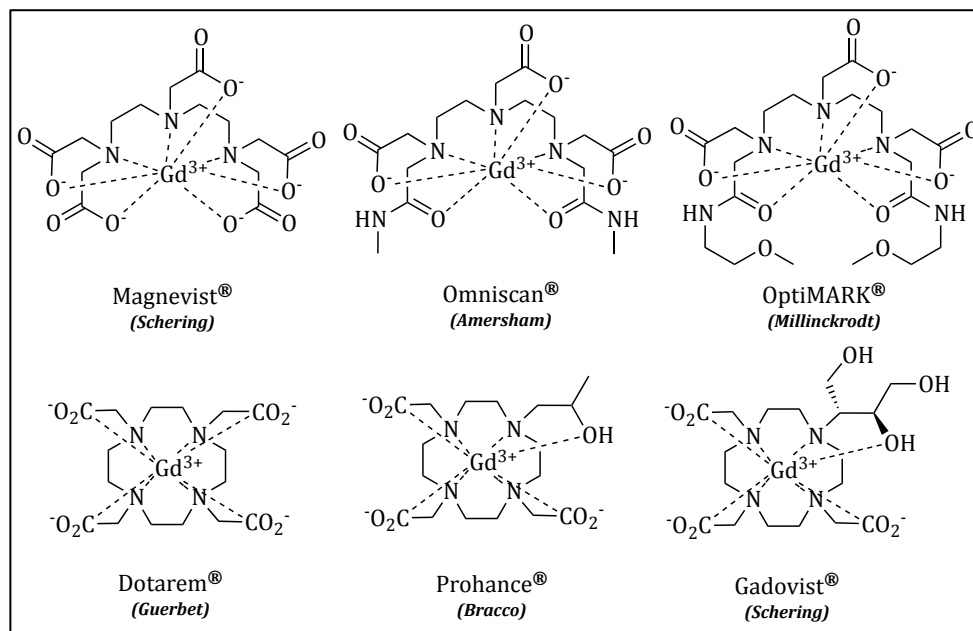


Schéma 1.1 : Structure de différents dérivés DOTA et DTPA commercialisés

Depuis de nombreux agents de contraste, composés de chélates de gadolinium ont été développés.¹⁷⁻²²

Différents facteurs sont à prendre en compte quant à la préparation de complexes de gadolinium utilisables en IRM. Du fait de sa toxicité, le principal est de s'assurer qu'il n'y ait pas de relargage de Gd(III) libre. Il est à noter que le Gd(III) a un rayon ionique de 1,05 Å similaire à celui du Ca(II) (1,12 Å). Le Gd(III) libre peut être un compétiteur du calcium *in vivo* et inhiber les effets du calcium dans les systèmes biologiques. Ce phénomène a été mis en avant il y a 5 ans par la découverte d'une pathologie appelée NSF pour Fibrose Néphrogénique Systémique causée par la décomplexation du Gd(III) en milieu acide chez certains patients, conduisant à des défaillances rénales.²³ Cette pathologie a été observée après injections de complexes de Gd-DTPA non chargés tels que l'Omniscan® et l'OptiMark®. Cependant, aucun cas n'a été recensé après injection d'un complexe de Gd-DOTA. Ces derniers présentent une plus grande stabilité de par leur aspect cyclique et sont donc plus largement utilisés (70% des examens avec injection d'agents de contraste depuis les années 1980).²¹

Durant les 15 dernières années, la recherche s'est orientée vers la synthèse d'agents de contraste fonctionnalisés permettant le ciblage d'un récepteur. Ainsi, une ou des biomolécules, permettant la reconnaissance de leur récepteur, sont attachées à un des bras du macrocycle.^{24,25} Des pathologies spécifiques peuvent être ainsi explorées. De

nombreuses équipes travaillent également sur la synthèse d'agents de contraste dits « intelligents ». Ces derniers répondent par une modification de la relaxivité à un processus biologique ou biochimique tel qu'un changement de pH,²⁶⁻²⁹ de concentration en ion métallique^{30,31} ou encore à la présence d'une enzyme.³²⁻³⁴

1.4. L'IMAGERIE NUCLEAIRE

L'imagerie nucléaire désigne un ensemble de techniques d'imagerie reposant sur l'injection au patient d'un traceur radiomarqué, appelé radiotraceur. Elles fournissent des images de nature moléculaire et fonctionnelle donnant des informations sur des processus biochimiques avec une haute sensibilité, grâce à la quantification de l'accumulation du traceur dans l'organisme.

Il existe principalement deux modalités d'imagerie nucléaire : la Tomographie par Emission MonoPhotonique (TEMP ou SPECT en anglais) et la Tomographie par Emission de Positons (TEP ou PET en anglais) différant selon le type de radioélément utilisé.

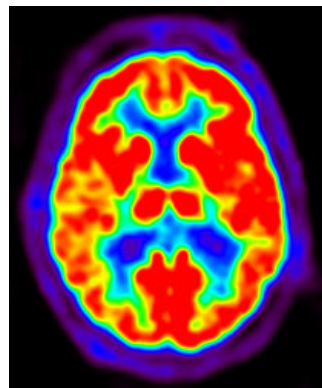


Figure 1.7 : Image TEP au ¹⁸FDG d'un cerveau sain

1.4.1. Description des techniques

- *Tomographie par Emission Monophotonique (TEMP)*

La TEMP utilise des isotopes émetteurs de rayonnements γ . Une fois dans l'organisme, le radioélément se désintègre en émettant un seul photon γ qui est détecté par une caméra

en rotation autour du patient. Après reconstruction informatique, des images de la biodistribution du traceur sont obtenues (cf Figure 1.8).

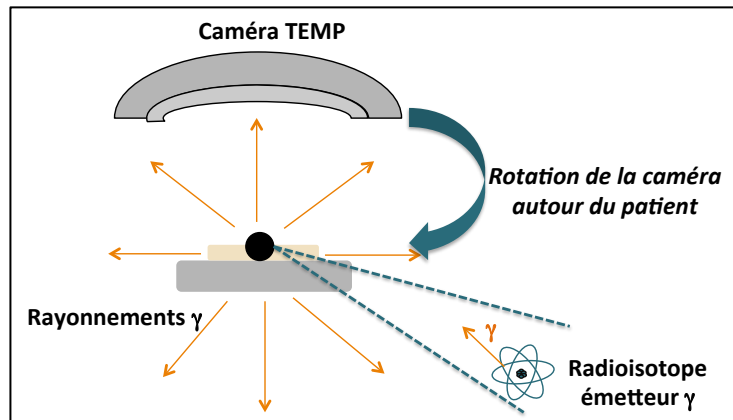


Figure 1.8 : Principe de fonctionnement d'un examen TEMP

- *Tomographie par Emission de Positons (TEP)*

La TEP repose quant à elle sur l'injection au patient d'un radiotracer émetteur de positons (β^+). Une fois dans l'organisme et après avoir traversé quelques millimètres de matière, le positon (ou antiélectron) entre en collision avec un électron entraînant un phénomène d'annihilation. Deux photons γ , de 511 KeV, sont alors émis en coïncidence et détectés simultanément par des détecteurs disposés en couronne autour du patient. De même que pour la TEMP, un traitement informatique permet l'obtention d'images sur la distribution du radiotracer (cf Figure 1.9).

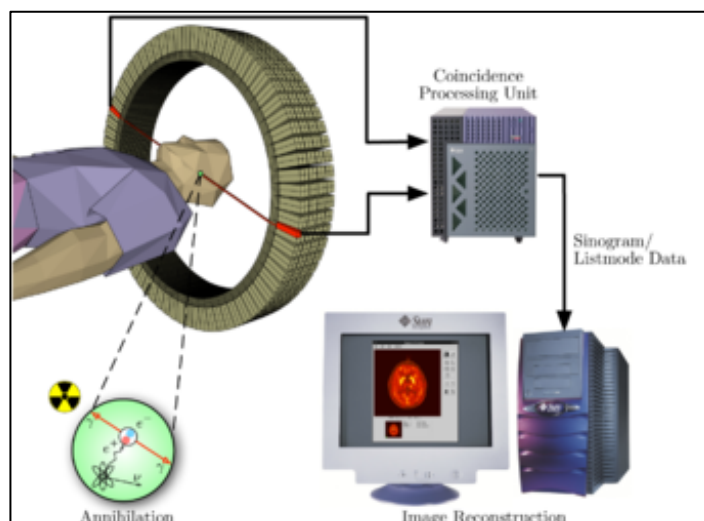


Figure 1.9 : Principe de la TEP

Ainsi, l'émission en coïncidence des deux photons permet d'injecter une concentration plus faible en traceur tout en ayant une meilleure précision par rapport à la TEMP. Cependant, la TEMP reste très largement utilisé du fait de son coût plus faible, de sa facilité de mise en place et du large choix de radioisotopes disponibles.

1.4.2. Radiotraceurs

Ces deux techniques nécessitent l'injection aux patients de radiotraceurs. Ces derniers sont généralement constitués d'un vecteur biologique permettant de cibler le processus physiologique à visualiser et d'un isotope radioactif permettant la visualisation de la fixation du traceur. Ces deux entités sont liées chimiquement (cf Figure 1.10).

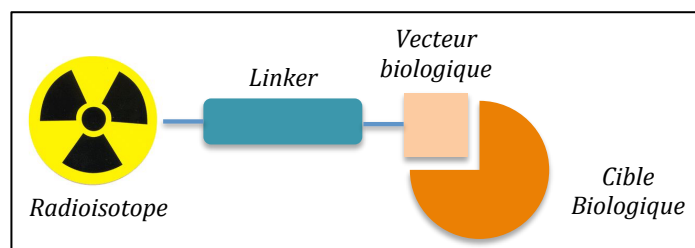


Figure 1.10 : Architecture des radiotraceurs TEP ou TEMP

Le choix du radioisotope est primordial dans la stratégie de synthèse du radiotraceur et plusieurs critères sont alors à prendre en compte tels que :

- la modalité d'imagerie, elle détermine si un émetteur β^+ ou γ est requis,
- la pharmacocinétique du processus biologique. Ainsi, pour des processus biologiques rapides, des radioisotopes à faible demi-vie seront préférées afin de limiter un maximum l'exposition du patient aux radiations alors que dans le cas de processus présentant une pharmacocinétique plus longue, des radioisotopes présentant une longue période seront nécessaires,
- la disponibilité du radioélément et son coût,
- la facilité de radiomarquage ainsi que le type de chimie nécessaire à son introduction. En effet, selon le radioélément, le radiomarquage se fera soit par chimie covalente soit par chimie de coordination.

Radioisotope	Rayonnement	Demi-vie	Mode de production	Chimie
^{99m}Tc	γ	6 h	Générateur	Coordination
^{123}I	γ	13 h	Cyclotron	Covalente
^{111}In	γ (CE)	67 h	Cyclotron	Coordination
^{67}Ga	γ	78 h	Cyclotron	Coordination
^{11}C	β^+	20 min	Cyclotron	Covalente
^{18}F	β^+	109 min	Cyclotron	Covalente
^{68}Ga	β^+	68 min	Générateur	Coordination
^{64}Cu	β^+/β^-	12,7 h	Cyclotron	Coordination

Tableau 1.1 : Présentation des différents radioisotopes utilisés en imagerie médicale

- Radiotraceurs utilisés en TEMP

Le technétium ^{99m}Tc est le radioisotope le plus utilisé en TEMP. Il possède, en effet, une demi-vie moyenne de 6 h et est produit facilement au moyen d'un générateur par désintégration β du molybdène 99. Ainsi, parmi les radiotraceurs TEMP commercialisés on peut citer le Cardiolite[®] (ou ^{99m}Tc -Sestamibi), qui est le premier agent contenant du technétium ^{99m}Tc approuvé par la FDA. Il est utilisé pour détecter des maladies artérielles par perfusion myocardique. Le Myoview[®] ou (^{99m}Tc -Tetrafosmin) est utilisé dans des cas similaires mais également pour la réalisation de mammographies scintigraphiques. Des dérivés phosphonates du technétium comme le ^{99m}Tc -MéthylèneDiPhosphonate (MDP) et le ^{99m}Tc -HydroxyDiPhosphonate (HDP) sont quant à eux utilisés pour l'imagerie de l'activité ostéoblastique.

D'autres radioisotopes sont également utilisés, tels que l'iode 123 et l'indium 111. En effet, dans le domaine de l'oncologie, le méta-iodobenzylguanidine radiomarké à l' ^{123}I (MIBG commercialisé sous le nom d'Adreview[®]) est utilisé pour la localisation de tumeurs telles que des neuroblastomes ou des phéochromocytomes. L'Octreoscan[®] (pentétréotide marqué à l'indium 111) est quant à lui utilisé pour la visualisation de tumeurs neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (cf Schéma 1.2).

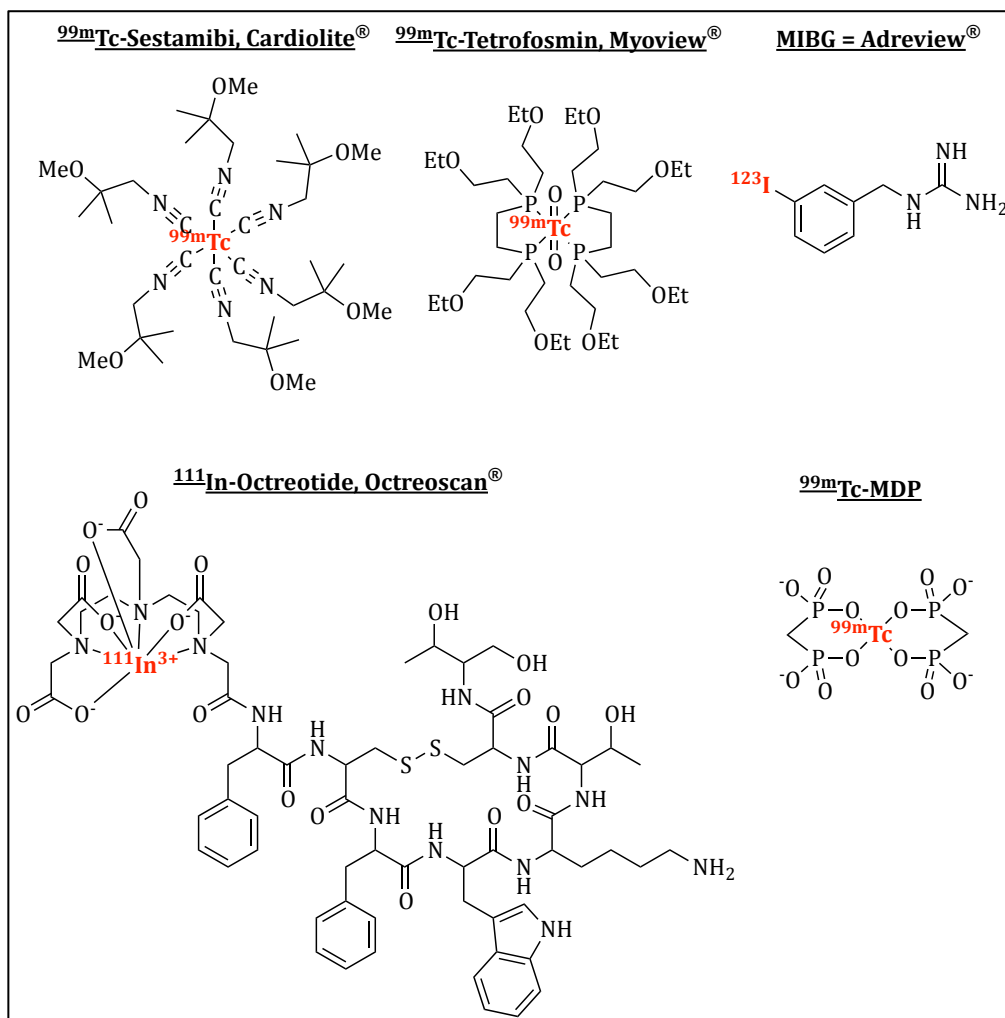


Schéma 1.2 : Principaux radiotraceurs utilisés en TEMP

- Radiotraceurs utilisés en TEP

Le premier radiotraceur TEP ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché est un analogue du glucose marqué au fluor 18, le ^{18}F -FDG (FluoroDéoxyGlucose). C'est un traceur métabolique principalement utilisé en oncologie pour détecter des tumeurs mais également en neurologie. Malgré son manque de spécificité, ce traceur reste majoritairement utilisé aujourd'hui en clinique.

La recherche s'est donc orientée vers des traceurs plus spécifiques de phénomènes biologiques à étudier. Parmi ces traceurs, le ^{18}F -DOPA (Déoxyphénylalanine),^{35,36} précurseur de la dopamine, a obtenu une AMM en France et est commercialisé sous le nom de DOPACIS® et de Iasodopa®. Il est ainsi recommandé, en neurologie, pour le diagnostic de la maladie de Parkinson ainsi qu'en oncologie pour la détection entre

autres de tumeurs cérébrales primitives. La ^{18}F -Choline,³⁷ traceur métabolique, a également obtenu une AMM en France. Elle est ainsi commercialisée sous le nom de IASOcholine® pour la détection des cancers prostatiques et des carcinomes hépatocellulaires. Le ^{18}F -Na (commercialisé sous les noms de CISNAF® ou IASOfu®) est quant à lui utilisé pour l'imagerie osseuse, en particulier pour la détection de métastases osseuses.

D'autres traceurs sont encore en cours d'évaluation tels que le ^{18}F -MISO, traceur de l'hypoxie cellulaire,³⁸ la ^{18}F -FLT (fluorothymidine), traceur métabolique,³⁹ le ^{18}F -FES (Fluoroestradiol),^{40,41} utilisé pour la détection de cancers du sein, ou le ^{18}F -Annexin V,⁴² traceur de l'apoptose (cf Schéma 1.3).

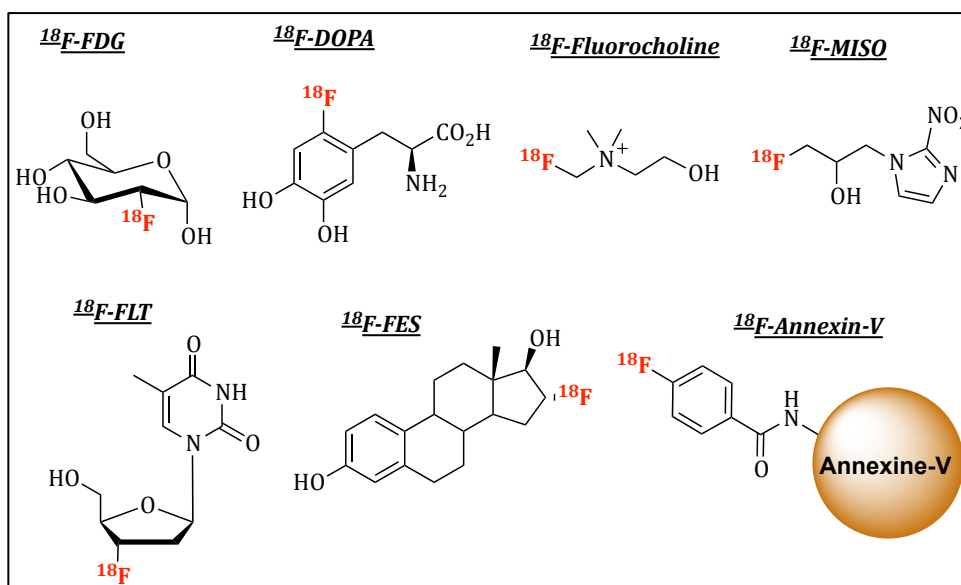


Schéma 1.3 : Structures des principaux traceurs développés pour l'imagerie TEP

1.5. L'IMAGERIE OPTIQUE

L'imagerie optique regroupe un ensemble de techniques reposant sur l'utilisation de rayonnements non ionisants absorbant dans le domaine du visible et du proche infrarouge (environ de 400 à 1500 nm). Différents mécanismes sont utilisables en imagerie optique tels que l'absorption et la dispersion de la lumière, la fluorescence et la

bioluminescence.⁴³⁻⁴⁵ L'imagerie de fluorescence est la technique la plus développée. Malgré des avantages certains tels qu'une excellente résolution, un moindre coût et une bonne sensibilité, elle reste peu utilisée en imagerie *in vivo* du fait d'un manque de pénétrabilité dans les tissus. De plus, le phénomène d'autofluorescence des organes peut rendre la localisation de la sonde difficile.

La synthèse de nouvelles sondes optiques est un réel enjeu dans le domaine de la chimie appliquée à l'imagerie. De nombreuses molécules ont ainsi été synthétisées et sont détaillées dans diverses revues.⁴⁶⁻⁴⁸ En ce qui concerne la fluorescence, différentes catégories de fluorophores peuvent être utilisés tels que :

- des fluorophores organiques, on peut ainsi citer l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) et les dérivés de la cyanine (Cy3, Cy5.5),
- des complexes métalliques, principalement de lanthanides,
- des quantum dots (cf Schéma 1.4).

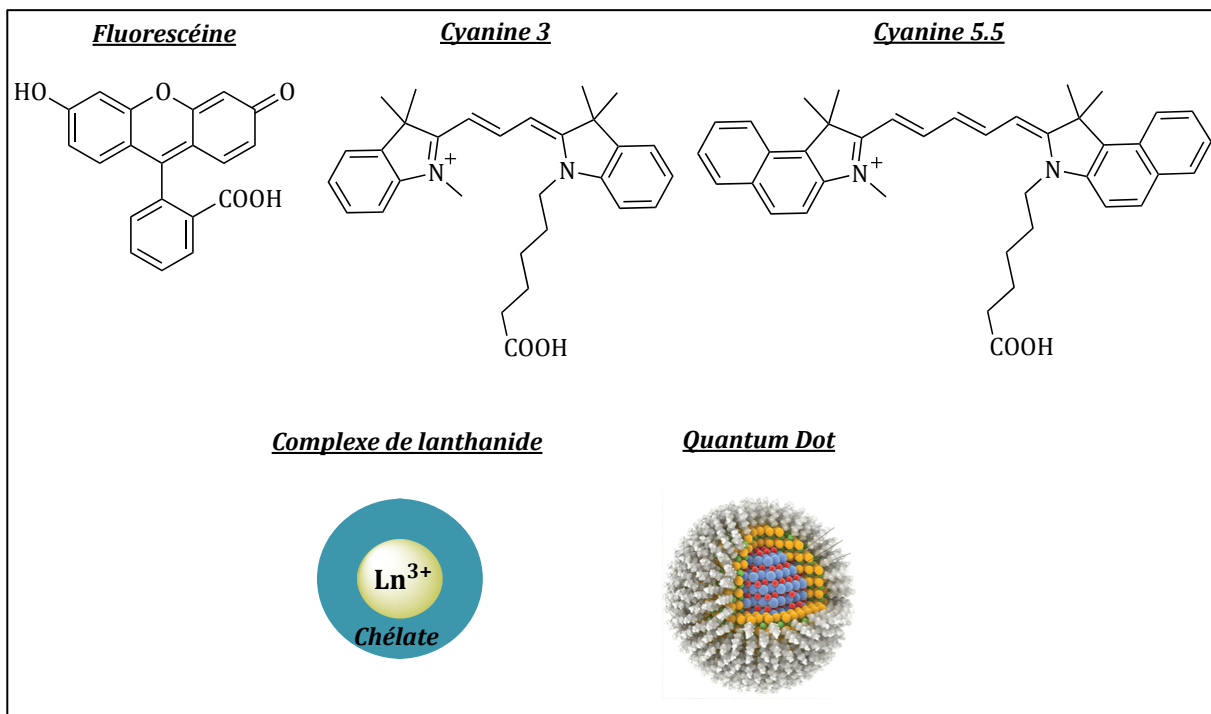


Schéma 1.4 : Exemples de fluorophores utilisés en imagerie optique

Ces fluorophores sont la plupart du temps couplés à une biomolécule, utilisée en tant que vecteur, afin de visualiser un processus moléculaire spécifique.

2. APPORTS DE LA BIMODALITE

Aucune technique d'imagerie ne peut permettre d'apporter toutes les informations nécessaires à un diagnostic complet, c'est pourquoi les patients sont généralement soumis à différents examens médicaux afin de déterminer la pathologie dont ils sont atteints.

Une nouvelle approche, appelée imagerie bi(multi)modale, consiste à combiner différentes modalités d'imagerie en un seul examen. Les avantages d'une technique compensent alors les inconvénients d'une autre. Il est alors possible d'obtenir des images avec à la fois une haute sensibilité et une haute résolution, et d'avoir des informations de type structurelles et fonctionnelles. Les combinaisons bimodales développées les plus utilisées sont IRM/imagerie optique, imagerie optique/imagerie nucléaire et IRM/imagerie nucléaire (cf Tableau 1.2).

Afin d'utiliser ces nouvelles techniques, il est nécessaire d'injecter aux patients de nouvelles sondes « multimodales » utilisables par chacune des modalités employées.⁴⁹⁻⁵² Idéalement, des agents bimodaux comporteraient sur la même entité moléculaire des sondes optimisées pour chacune des techniques tout en gardant un design simple et une biodistribution identique.

	IRM	TEP/TEMP	Imagerie optique
Résolution	40 µm-1 mm	1-5 mm	0,3 µm-10 mm
Sensibilité	µM-mM	fM-pM	fM-nM
Pénétrabilité tissulaire	Non limitée	Non limitée	0,01mm-50mm
Rayonnement	Non Ionisant	Ionisant	Non ionisant

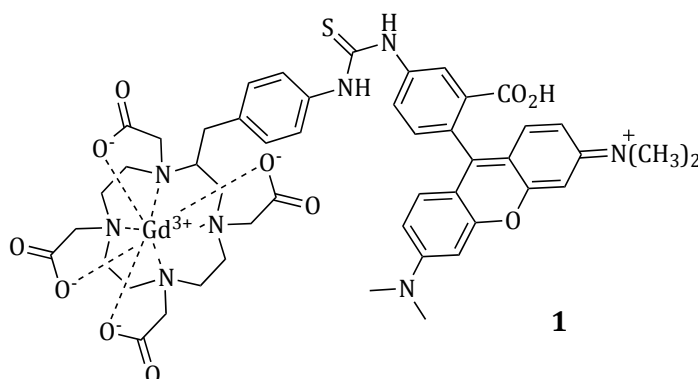
Tableau 1.2 : Comparaison de différentes modalités d'imagerie

2.1. IRM/IMAGERIE OPTIQUE

L'IRM couplée à l'imagerie optique constitue la méthode bimodale la plus développée en recherche préclinique. Elle permet d'allier l'excellente résolution spatiale et temporelle obtenue avec des images IRM avec la très bonne sensibilité des sondes optiques. Elle nécessite alors l'utilisation d'agents bimodaux permettant la réalisation simultanée des deux examens. De nombreuses molécules traceuses ont alors été synthétisées et

étudiées.^{49-51,53} Elles peuvent être classées en différentes catégories selon les types d'agent de contraste et de fluorophores employés. L'amélioration de la relaxivité peut être apportée soit par un complexe de gadolinium soit par une nanoparticule d'oxyde de fer et l'examen optique peut être assuré par toute molécule ou particule fluorescente. Il peut alors s'agir d'un fluorophore organique, d'un complexe métallique ou encore d'un quantum dot. On citera ici quelques exemples afin d'illustrer les différentes classes de traceurs IRM/Imagerie optique.

La stratégie la plus développée consiste à coupler un fluorophore organique sur un complexe de gadolinium. Le premier agent bimodal a ainsi été synthétisé selon cette méthode en 1998 par Hüber *et al.*⁵⁴ Il s'agit d'un complexe de Gd-DOTA-aminobenzyl conjugué à un dérivé tétraméthylrhodamine (cf Schéma 1.5) utilisé afin d'étudier la perméabilité membranaire. Le caractère hydrophobe de ce traceur entraîne son accumulation dans les tissus adipeux. Hélas, dans ce type de tissus, peu d'échanges de molécules d'eau se produisent, ce qui résulte en une absence totale de signal IRM. Cette équipe a alors développé d'autres agents de type polymérique moins hydrophobes.

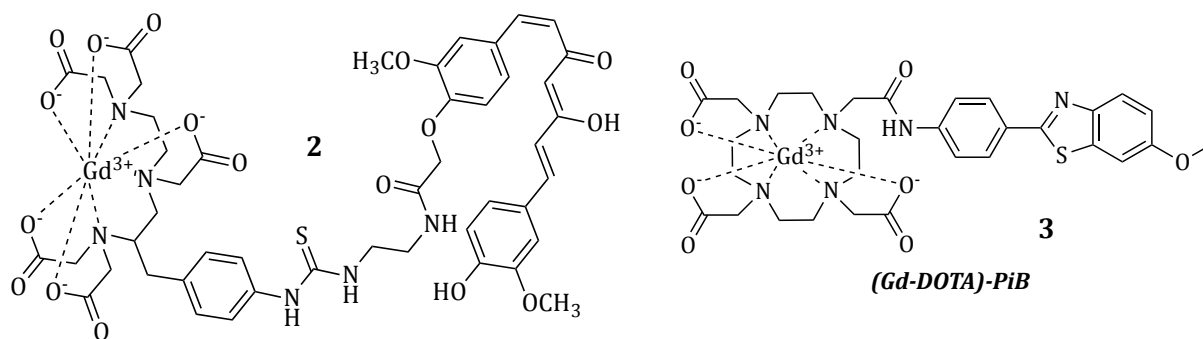


*Schéma 1.5 : Agent bimodal développé par Hüber et al.*⁵⁴

D'autres fluorophores organiques ont par la suite été introduits sur des chélates de Gd(III) tels que l'isothiocyanate de fluoresceine,⁵⁵ des spirobenzopyranes⁵² ou encore des complexes de rhénium.⁵⁶ Ces agents présentent des relaxivités comparables à celle du Magnevist® et d'excellentes propriétés de fluorescence.

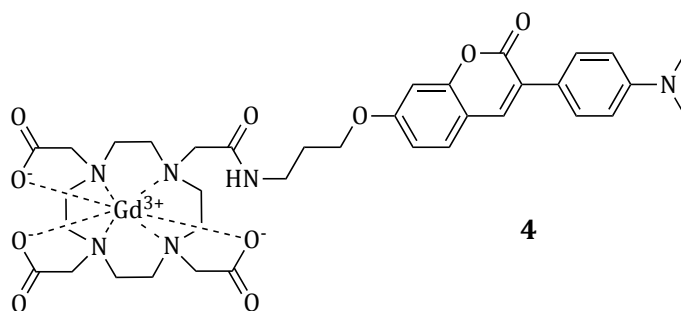
Depuis quelques années, la recherche s'oriente de plus en plus vers le couplage de biomolécules fluorescentes permettant elles-même un ciblage biologique afin de diagnostiquer une pathologie. Ainsi, Vithanarachchi *et al.*⁵⁷ ont couplé la curcumine à un complexe Gd-DTPA. La curcumine permet à la fois de cibler les plaques β amyloïdes

pour un diagnostic de la maladie d'Alzheimer mais présente aussi l'intérêt d'être fluorescente. De même Martins *et al.*^{58,59} ont couplé le composé B de Pittsburg (PiB), également fluorescent et utilisé pour la visualisation des plaques β amyloïdes à un complexe Gd-DOTA. L'existence des plaques amyloïdes avait d'ailleurs été mise en évidence par l'utilisation d'un colorant, le Rouge Congo, par Paul Divry dans les années 1930.



*Schéma 1.6 : Agents bimodaux ciblant les plaques β amyloïdes développées par Vithanararchchi *et al.*⁵⁷ et Martins *et al.*^{58,59}*

Frullano *et al.*^{60,61} ont quant à eux étudié le phénomène de myélination en synthétisant un composé doté d'un complexe Gd-DOTA lié à un groupement 3(*p*-diméthylaminophényl)coumarine fluorescent (composé MIC pour Myelin Imaging Compound) permettant de pénétrer dans le cerveau et de se lier aux fibres myélinisées.



*Schéma 1.7 : Structure du composé bimodale MIC développé par Frullano *et al.*^{60,61}*

Crich *et al.*⁶² ont développé une nouvelle stratégie utilisant un cocktail d'un même chélate, le HPDO3A, complexant du Gd(III) ou de l'Eu(III) afin de visualiser les cellules endothéliales progénitrices (EPC). Le complexe Gd-HPDO3A est commercialisé par Bracco sous le nom de Prohance[®] et présente une relaxivité de $4,2 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$. Le complexe Eu-HPDO3A a montré d'excellentes propriétés de fluorescence détectées par

microscopie. Les deux complexes ont présenté des biodistributions identiques permettant ainsi d'avoir une très bonne localisation du signal.

Manning *et al.*⁶³ ont utilisé la même stratégie afin de cibler la surexpression des récepteurs aux benzodiazépines périphériques dans les cellules C6 des gliomes. Un ligand de ces récepteurs (PK11195) a été introduit sur un dérivé DOTA qui par la suite a été marqué avec du Gd(III) et de l'Eu(III). La fonction quinoline présente sur le macrocycle joue le rôle d'antenne afin de capter la lumière et de la transférer par des mécanismes intramoléculaire au complexe de lanthanide afin de provoquer sa fluorescence.⁶⁴ Le complexe Gd-PK11195 présente une relaxivité similaire à celle du Magnevist (5,94 s⁻¹mM⁻¹ pour Gd-PK11195 et 6,45 s⁻¹mM⁻¹ pour le Magnevist à 4,7 T). Le complexe Eu-PK11197 a montré une fluorescence nette et localisée.

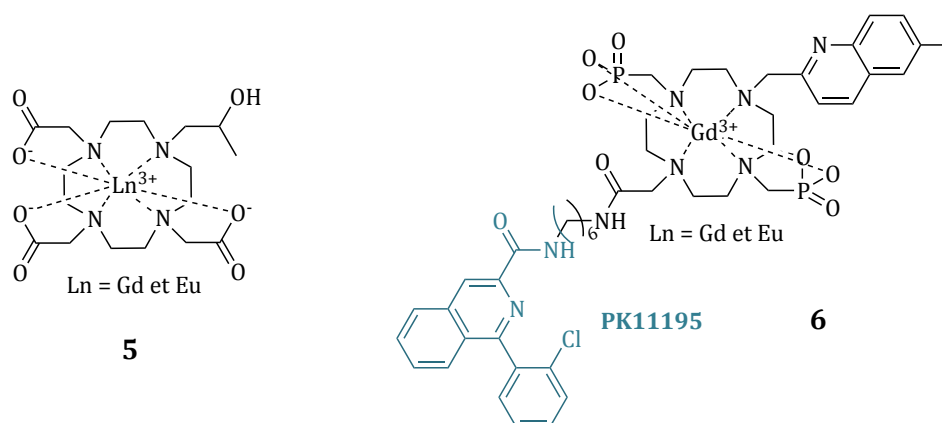


Schéma 1.8 : Mélange d'agents bimodaux développés par Crich et al.⁶² et Manning et al.⁶³

D'autres équipes ont choisi de travailler avec des quantum dots (Qds) qui sont très utilisés en imagerie optique. Les quantum dots sont des clusters de nanoparticules de matériau semi-conducteur présentant entre autres d'excellentes propriétés de fluorescence gouvernées par la taille du nanoobjet. Ainsi, Gerion *et al.*⁶⁵ ont utilisé des chélates de Gd(III) qu'ils ont liés à de la silice dopée en Qds CdSe/ZnS afin d'obtenir une sonde bimodales (cf Schéma 1.9). Ces traceurs présentent de hautes relaxivités dues au nombre important d'atomes de gadolinium incorporés par molécule. Plus récemment, Stasiuk *et al.*⁶⁶ ont développé des Qds de InP/ZnS non toxiques contrairement aux Qds de CdSe, liés de manière covalente par des fonctions thiols ou dithiols à plus de 80 complexes de gadolinium. Le greffage d'un peptide a permis une meilleure perméabilité cellulaire. Ils ont par la suite développés 3 structures dérivées différant par la nature du

linker afin de montrer son importance sur la relaxivité.⁶⁷ Ainsi, plus de 115 complexes de gadolinium sont introduits avec 3 molécules d'eau coordonnées dans la première sphère (cf Schéma 1.9) permettant ainsi d'obtenir une relaxivité de 2523mM⁻¹s⁻¹ à 35 MHz (0,82 T).

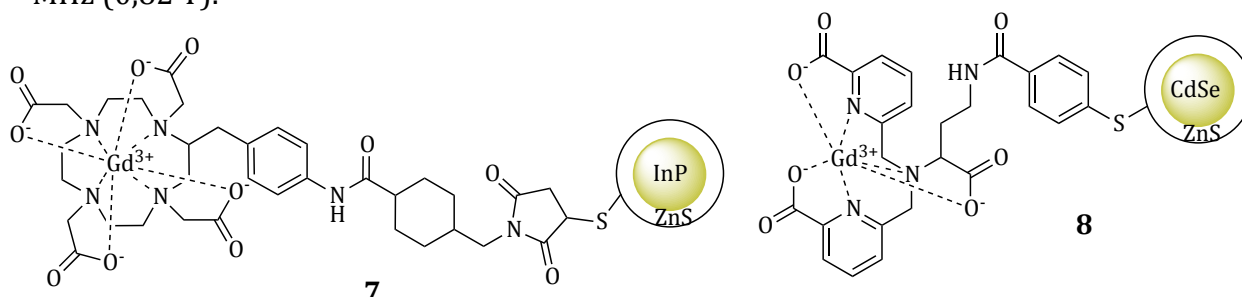


Schéma 1.9 : Quantum dots fonctionnalisés par Gerion *et al.*⁶⁵ et Stasiuk *et al.*⁶⁷

Enfin, des nanoparticules d'oxyde de fer ont également été utilisées afin de jouer le rôle de sonde IRM. Ainsi un des premiers agents bimodal IRM/Imagerie optique a été développé, selon cette stratégie, en 2002 par Josephson *et al.*⁶⁸ Il consiste en des nanoparticules d'oxydes de fer CLIO (Cross Linked Iron Oxide) fonctionnalisées par des fonctions amines afin de pouvoir introduire par une liaison peptidique une sonde absorbant dans le proche infrarouge, l'indocyanate Cy5.5. Veiseh *et al.*⁶⁹ ont également utilisé cette stratégie pour le ciblage de gliomes. Des lors d'autres équipes ont utilisé cette stratégie en modifiant la sonde optique, par exemple par l'utilisation de fluorescéine,⁷⁰ ou en combinant deux sondes optiques différentes sur une nanoparticule d'oxyde de fer.⁷¹

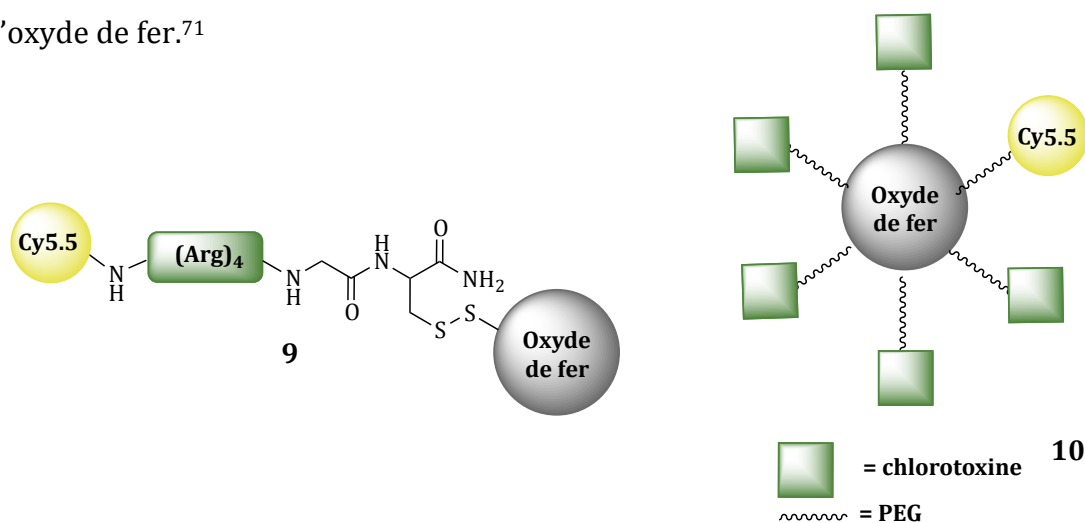


Schéma 1.10 : Nanoparticules d'oxyde de fer décrites par Josephson *et al.*⁶⁸ et Veiseh *et al.*⁶⁹

2.2. IMAGERIE NUCLEAIRE/IMAGERIE OPTIQUE

Le couplage de l'imagerie nucléaire avec l'imagerie optique est une stratégie moins présente dans la littérature, mais qui possède certains intérêts. Elle permet en effet d'obtenir une résolution excellente, de l'ordre du micromètre (donnée par l'imagerie optique) tout en pouvant quantifier l'accumulation de la sonde bimodale (possible grâce à la TEP ou TEMP). La stratégie souvent employée pour la synthèse de sondes bimodales TEP ou TEMP/Imagerie optique est d'utiliser des radioisotopes introduits par complexation dans des chélates et ainsi de mimer les sondes IRM/Imagerie optique basées sur l'introduction de gadolinium.

Pandey *et al.*⁷² ont synthétisé un des premiers agents bimodaux TEP/Imagerie optique composé d'un dérivé porphyrinique photosensible sur lequel un atome d'iode 124 est introduit par substitution électrophile aromatique. Ce composé est prometteur pour l'imagerie bimodale afin de visualiser des tumeurs mais également pour la thérapie.

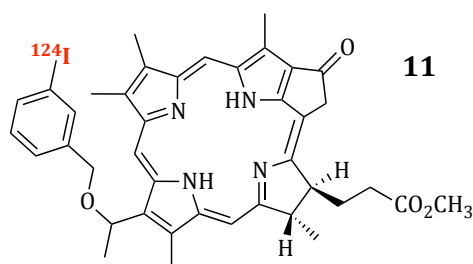
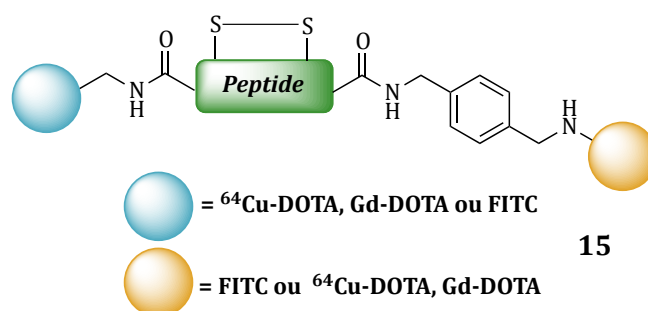


Schéma 1.11 : Dérivé porphyrinique marqué à l'iode 124 pour l'imagerie bimodale de tumeurs⁷²

Bernhard *et al.*⁷³ ont choisi quant à eux d'introduire un motif bodipy (abréviation de bore-dipyrométhène) sur un dérivé DOTA marqué par la suite avec de l'indium (III), du gallium (III) ou du cuivre (II) (cf Schéma 1.12). Les bodipys sont des chromophores de types cyanines, stabilisés par un atome de bore, ce qui induit une vive fluorescence. Les complexes métalliques ainsi synthétisés présentent de très bonnes propriétés de fluorescence mais également une bonne solubilité dans l'eau. Cette même équipe a décrit ultérieurement, un dérivé similaire basé sur le couplage d'un DOTAGA et d'un bodipy.⁷⁴

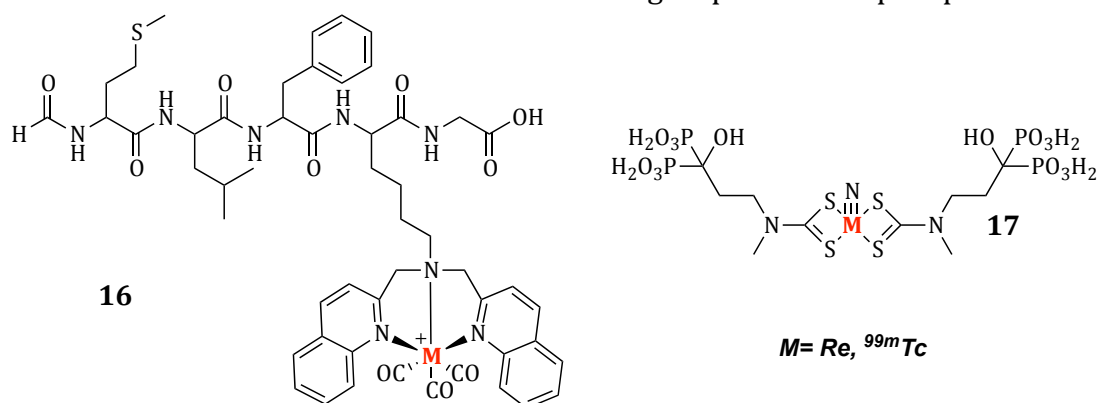
l'imagerie des récepteurs VEGF en couplant une sonde Cy5.5 à un chélate de technétium 99m ou à un DOTA chélatant le cuivre 64.

Plus récemment, Uppal *et al.*⁸¹ ont développé une sonde bimodale en incorporant un macrocycle DOTA afin de complexer du cuivre 64 (ou du gadolinium) et un isothiocyanate de fluorescéine sur un peptide afin de cibler les fibrines et ainsi faire de l'imagerie des thromboses.



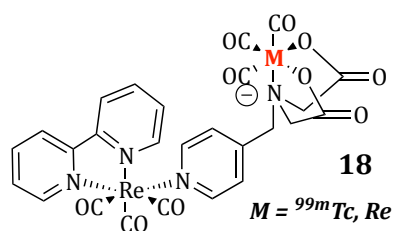
*Schéma 1.14 : Traceur développé par Uppal et al.*⁸¹

Une autre stratégie souvent employée est d'utiliser les propriétés similaires du technétium et du rhénium afin de synthétiser deux sondes isostructurales dans le but d'obtenir des images à la fois en imagerie optique et en TEMP et de pouvoir recouper ces données. Stephenson *et al.*⁸²⁻⁸⁴ ont de cette manière introduit sur un ligand SAACQ (dérivé de la lysine sur lequel deux groupements quinolines sont greffés sur l'amine de la chaîne latérale) du rhénium ou du technétium 99m afin de pouvoir visualiser les neutrophiles en ciblant des récepteurs peptidiques formyles (FPR) par imagerie optique et par TEMP. Récemment, Bordoloi *et al.*⁸⁵ ont également utilisé cette méthode pour réaliser de l'imagerie de la calcification vasculaire et osseuse. Pour cela, ils ont lié un complexe de rhénium ou de technetium 99m à deux groupements bisphosphonates.



*Schéma 1.15 : Traceurs Tc/Re développés par Stephenson et al.*⁸²*et Bordoloi et al.*⁸⁵

D'autres équipes comme par exemple Boulay *et al.*⁸⁶ ont quant à elles choisi d'introduire ces deux métaux sur une même molécule en synthétisant un traceur bimétallique rhénium/technétium 99m.



*Schéma 1.16 : Structure du traceur bimétallique décrit par Boulay et al.*⁸⁶

Les sondes bimodales Imagerie nucléaire/Imagerie optique basées sur l'utilisation de quantum dots pour la sonde fluorescente ont également été largement développées. Ainsi, Cai *et al.*⁸⁷ ont étudié la vascularisation cellulaire en couplant des peptides RGD (environ 90 RGD introduits) sur un quantum dot CdTe/ZnS ainsi qu'à un macrocycle DOTA chélatant du cuivre 64 pour la TEP. Ducongé *et al.*⁸⁸ ont choisi quant à eux de former une micelle phospholipidique marquée au fluor 18 dans laquelle un Qd CdSe/CdZnS est encapsulé.

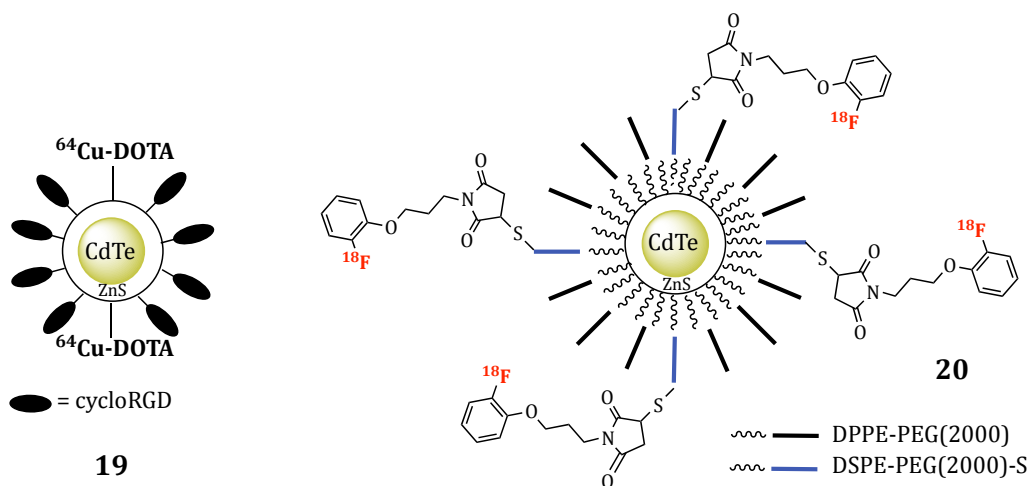


Schéma 1.17 : Structure des Qds fonctionnalisés pour la TEP développés par

*Cai et al.*⁸⁷ *et Ducongé et al.*⁸⁸

2.3. IRM/IMAGERIE NUCLEAIRE

Depuis quelques années, la communauté scientifique s'oriente également vers une combinaison de l'IRM avec l'imagerie nucléaire (TEP ou TEMP).^{89,90} Cette combinaison permet d'avoir des informations de type physiologiques et métaboliques en parallèle d'une image anatomique de haute résolution. Par ailleurs, l'excellente sensibilité fournie par l'imagerie nucléaire permet une quantification de l'accumulation du traceur utilisé.

La synthèse d'agents d'imagerie utilisables simultanément en TEP/TEMP et en IRM représente alors un challenge considérable dans le domaine de la chimie du vivant. Pour pouvoir réaliser de tels examens il est nécessaire de retrouver sur les molécules à la fois un radioisotope et un ou des atomes para/superparamagnétiques.

Deux approches peuvent alors être abordées. La première consiste à injecter au patient un « cocktail » d'agents d'imagerie c'est-à-dire d'injecter un mélange de traceur complémentaires : l'un permettant une visualisation par IRM et le second par TEP ou TEMP. L'idéal est alors d'avoir une biodistribution identique afin d'avoir accès au même type d'informations. L'idée est alors de synthétiser des molécules proches structurellement.

La seconde approche consiste à marquer une seule et même molécule ou particule pour à la fois l'IRM et l'imagerie nucléaire.⁹¹

La première approche consistant à injecter un cocktail d'agents d'imagerie a été peu développée dans la littérature. Un exemple a été décrit par Gianolio *et al.*⁹² Il s'agit de la synthèse d'un « cocktail » d'agents IRM/TEMP. Cette molécule est composée d'un macrocycle DO3A conjugué à un bras sulfonamide. Le DO3A sert ainsi à chélater un atome de gadolinium (III) pour réaliser l'examen IRM ou un atome d'holmium 166 (III) pour réaliser l'examen TEMP (cf Schéma 1.18). Le bras sulfonamide, sensible au pH permet d'avoir un agent dit « intelligent » répondant au pH.

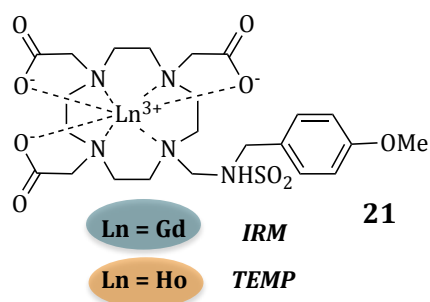


Schéma 1.18 : Traceur IRM/TEMP décrit par Gianolio et al.⁹²

La seconde approche, consistant à utiliser une seule molécule marquée pour les deux techniques, a été plus explorée. Différents radioisotopes ont alors été utilisés pour constituer la sonde TEP ou TEMP tels que le fluor 18, le gallium 68 ou encore le cuivre 64, l'iode 125 ou le technétium 99m.

Le Fluor 18, introduit par chimie covalente a été utilisé par Frullano *et al.*⁹³ afin de synthétiser un radiotracteur IRM/TEP sensible au pH. La stratégie développée a été d'utiliser un agent de contraste déjà connu pour permettre de cartographier le pH, le GdDOTA-4AMP,⁹⁴ et de le modifier en vue de l'introduction du fluor 18 par chimie « click » (cf Schéma 1.19).

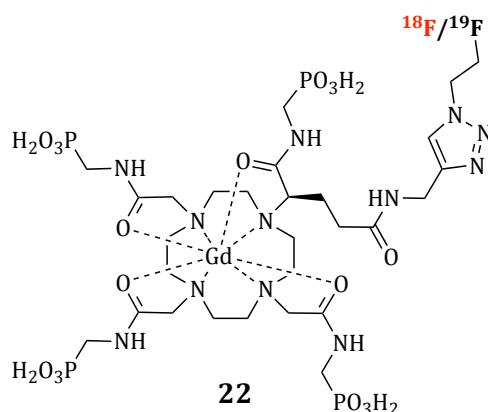


Schéma 1.19 : Traceur bimodal IRM/TEP pH sensible synthétisé par Frullano et al.⁹³

D'autres équipes ont choisi d'utiliser du gallium 68 ou du cuivre 64 comme radioisotope. Cette approche apporte une difficulté supplémentaire puisque ces deux radioéléments sont introduits par chimie de coordination. Il est alors nécessaire d'utiliser deux macrocycles protégés de manière orthogonale.

Suchy *et al.*⁹⁵ ont choisi de travailler avec deux macrocycles similaires pour la chélation du gallium et du gadolinium, le DO3A. Afin de pouvoir les différencier ils ont réalisé en

parallèle la synthèse d'un macrocyle DO3A possédant un groupement propargyle marqué avec du gadolinium et celle d'un DO3A fonctionnalisé avec un azoture marqué avec un radioisotope (cuivre 64, gallium 68 ou indium 111). Les deux molécules ont ensuite été couplées par chimie « click ». Les relaxivités mesurées à champ moyen (20 MHz) sont comparables à celle du Dotarem® (cf Schéma 1.20)

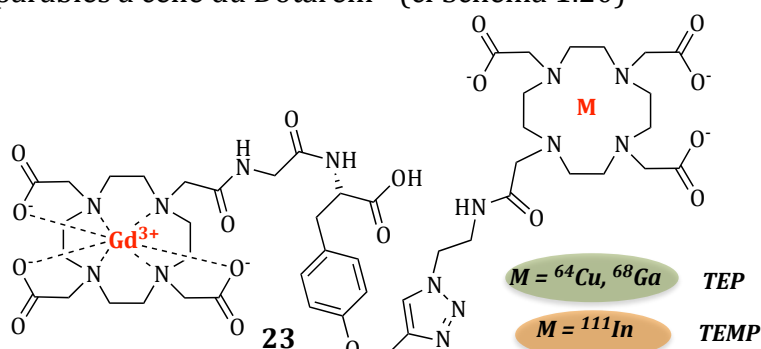


Schéma 1.20 : Traceur bimodal TEP/IRM (ou TEMP/IRM)

développé par Suchy et al.⁹⁶

L'inconvénient majeur de ce travail est la longueur ainsi que la complexité de cette synthèse due à l'utilisation de deux macrocycles similaires.

Ainsi, Vologdin *et al.*⁹⁷ ont choisi d'utiliser un ligand AAZTA (acide 6-amino-6-méthylperhydro-1,4-diazépinetetraacétique) pour la chélation du gallium et un macrocyle DO3A pour celle du gadolinium. Les deux macrocycles étant ensuite liés par un bras arylsulfonamide sensible au pH qui est un biomarqueur de certaines pathologies telles que des infections, des maladies des reins ou encore des cancers.

Notni *et al.*⁹⁸ ont quant à eux choisi de travailler avec un ligand TRAP afin d'assurer la chélation du gallium. Ce ligand présentant une forte affinité pour le gallium aucune transmétallation n'a été observée. Dans le cadre de ce travail, trois macrocycles DO3A ont été insérés afin d'introduire le gadolinium et ainsi obtenir une bonne relaxivité (cf Schéma 1.21).

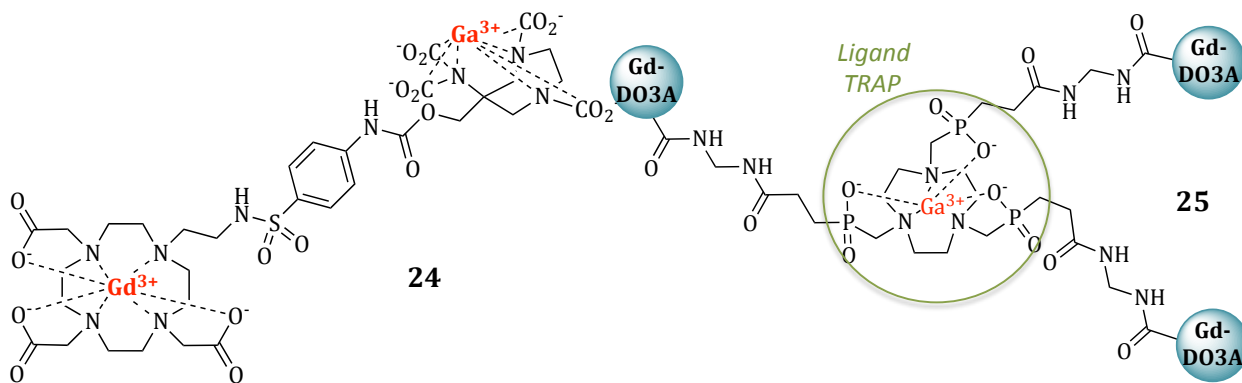


Schéma 1.21 : Structures des agents bimodaux développés par Vologdin et al.⁹⁷ et Notni et al.⁹⁸

Une stratégie différente développée par Gros *et al.*⁹⁹ a été d'utiliser du cuivre 64 comme radioisotope et de le chélater avec une porphyrine (cf Schéma 1.22). La porphyrine présente l'avantage supplémentaire d'être fluorescente et donc de pouvoir être utilisé en imagerie optique. Des mesures de relaxivité ont été réalisées à haut champ et à champ moyen. A 300 MHz, la valeur obtenue est comparable à celle du DOTAREM® mais à champ moyen elle est nettement supérieure. Ceci peut être attribué à l'augmentation de la taille de la molécule et donc à celle de son temps de rotation.

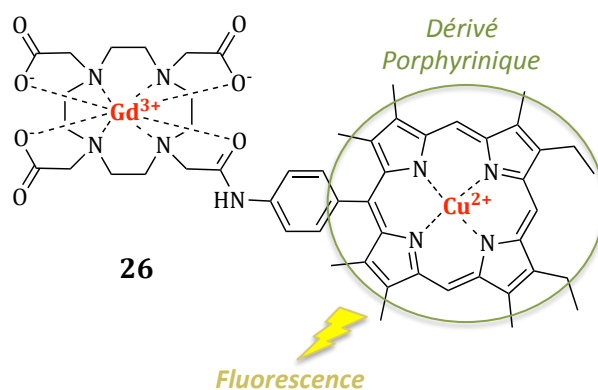


Schéma 1.22 : Structure du dérivé DOTA conjugué à une porphyrine

Par la suite, en utilisant cette stratégie, des dimères et un tétramère de DO3A-Gd ont été développés (cf Schéma 1.23).¹⁰⁰ En comparaison de leur précédent de travail le temps de relaxation du monomère et d'un des dimères a pu être amélioré. Pour le second dimère et le tétramère, les temps de relaxation obtenus sont similaires aux précédents résultats. Cela est attribué à une plus grande flexibilité et à un encombrement stérique plus

important dû à la présence d'un carbone supplémentaire. L'approche et la coordination d'une molécule d'eau paraissent alors plus difficiles.

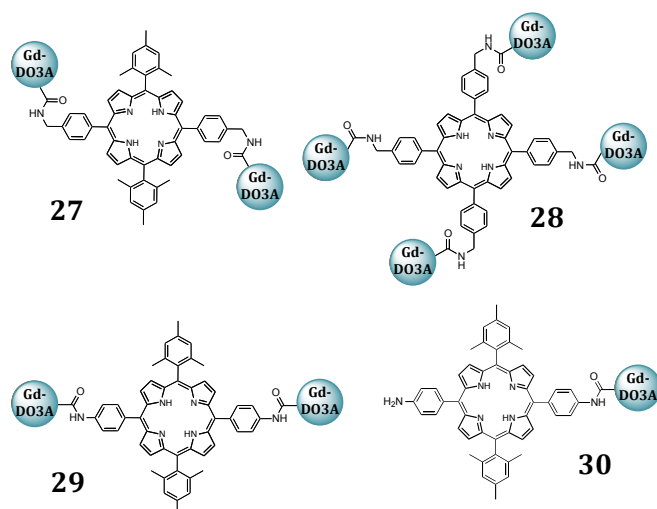


Schéma 1.23 : Structures développées par Eggenspiller et al.¹⁰⁰

Park *et al.*¹⁰¹ ont quant à eux choisi de synthétiser des molécules trimétalliques constituées d'un atome de gadolinium chélaté par un DTPA et de deux atomes de rhénium ou de technétium 99m chélatés par des motifs histidines (cf Schéma 1.24). Le technétium et le rhénium présentent des caractéristiques chimiques similaires, les deux complexes sont donc équivalents.

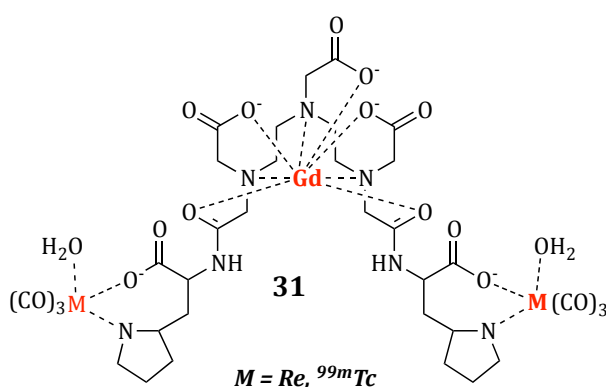


Schéma 1.24 : Structure du traceur IRM/TEMP bimétallique développé par Park et al.¹⁰¹

Plus récemment, cette équipe a décrit la synthèse d'un nouvel agent IRM/TEMP utilisé en oncologie pour la visualisation de tumeurs.¹⁰² Ils ont alors choisi d'introduire un atome d'iode 125 ou d'iode 127 (isotope stable) sur un cycloRGD qui est couplé lui-même à un macrocycle DOTA chélatant du gadolinium (cf Schéma 1.25).

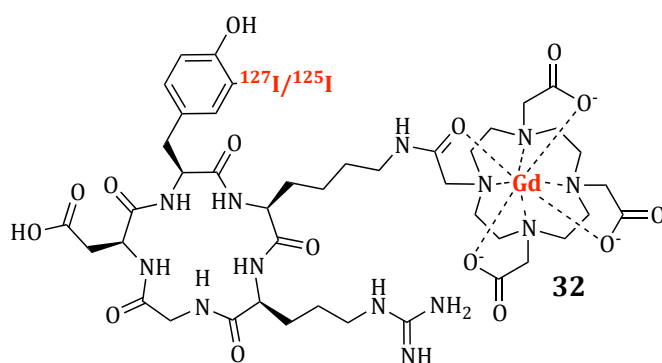


Schéma 1.25 : Structure du traceur IRM/TEMP marqué à l'iode développé par Park et al.¹⁰²

Enfin une des dernières approches ayant été envisagée par Scott *et al.*¹⁰³ a été de non plus travailler avec le gadolinium mais avec du fluor 19 détectable en IRM. Des chaînes perfluorées ont ainsi été introduites sur un macrocycle DO3A ou NOTA pour permettre la coordination d'un radioisotope utilisable en TEP ou en TEMP. Cette plateforme comporte également une fonction alcool libre en vue de l'introduction d'une biomolécule (cf Schéma 1.26). La synthèse seule de ces précurseurs a été présentée sans donner de résultats sur les éventuels radiomarquages ou de mesures IRM.

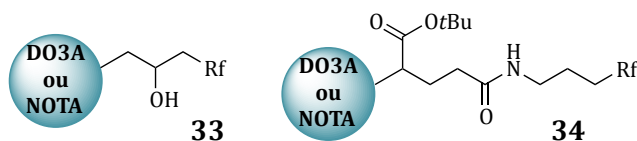


Schéma 1.26 : Précurseurs synthétisés par Scott et al.¹⁰³

L'utilisation de nanoparticules superparamagnétiques afin de constituer la sonde IRM a été également développée. Ainsi Lee *et al.*¹⁰⁴ ont fonctionnalisé une nanoparticule d'oxyde de fer par des chaînes d'acide polyaspartiques (PASP) afin d'introduire des macrocycles DOTA chélatant du cuivre 64 pour l'examen TEP et des motifs cycloRGD (cf Schéma 1.27). Ces derniers permettent le ciblage des intégrines surexprimées dans les tumeurs.

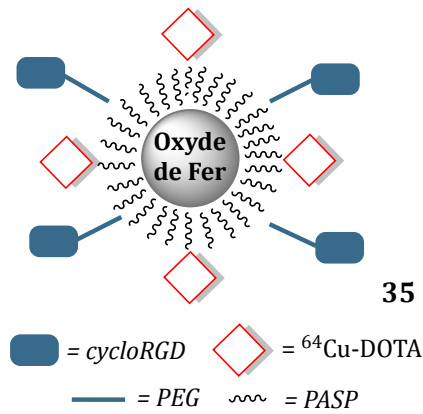


Schéma 1.27 : Nanoparticule d'oxyde de fer marqué au Cuivre 64 synthétisé par Lee et al.¹⁰⁴

Torres Martin de Rosales *et al.* ont quant à eux choisi d'utiliser des complexes biphosphonates afin de complexer le technétium 99m et le cuivre 64 (c Schéma 1.28). Ces complexes possèdent la particularité de se lier fortement à la surface des oxydes de fer. Ainsi, ils ont développé deux traceurs bimodaux, l'un utilisant du technétium 99m chélaté par un ligand dipicolylamine-alendronate (DPA-ale, TEMP)¹⁰⁵ et l'autre utilisant du cuivre 64 chélaté par un complexe bis-dithiocarbamate (dtcbp₂, TEP)¹⁰⁶ afin de détecter les ganglions lymphatiques sentinelles.

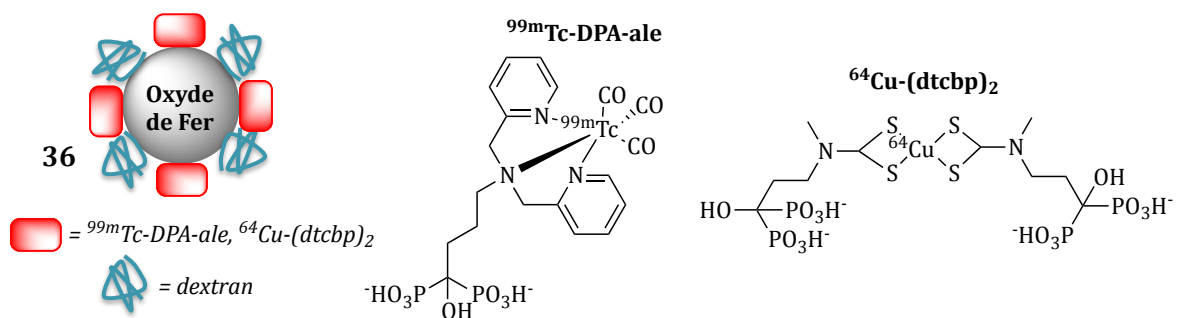


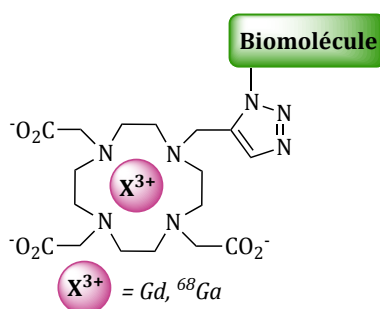
Schéma 1.28 : Traceurs bimodaux développés par Torres Martin de Rosales et al.^{105,106}

3. DESCRIPTION DU PROJET

Ce travail de thèse a eu pour objectif la synthèse de traceurs bimodaux utilisables en imagerie médicale IRM/TEP. En effet, comme il l'a été mentionné précédemment, cette combinaison présente un grand intérêt puisqu'elle permet d'obtenir à la fois une image anatomique avec une excellente résolution et une image métabolique avec une haute sensibilité. Il est alors possible de quantifier l'accumulation du traceur synthétisé.

En s'appuyant sur les travaux présentés dans la littérature,⁹¹ il a été choisi de suivre les deux approches présentées.

La première a consisté à synthétiser une molécule, basée sur un chélate, qui pourrait alors être marquée par un métal utilisable soit en IRM soit en TEP. La sonde bimodale pourrait alors être obtenue, sous forme de « cocktail », par mélange de ces traceurs. Cette approche a donc été développée en utilisant un macrocycle DO3A fonctionnalisé par un propargyle. Ce macrocycle permet la chélation soit de gadolinium (pour l'IRM) soit de gallium 68 (pour la TEP). La fonction propargyle a pour but d'introduire une biomolécule vectrice par chimie « click ». Pour cela, une approche originale a été développée, en utilisant la réaction de chimie « click » catalysée par des complexes de ruthénium. Un des précurseurs obtenus a ensuite été utilisé pour valider le marquage au gallium 68 et au gadolinium (cf Schéma 1.29).



*Schéma 1.29 : Structure du premier traceur bimodal envisagé
selon l'approche « cocktail »*

Une fois ce traceur obtenu, une nouvelle structure a été envisagée, en utilisant la même approche. Cette fois-ci l'idée a été d'introduire sur le macrocycle DO3A deux fonctions identiques afin de permettre le greffage non plus d'une mais de deux biomolécules (cf Schéma 1.30). Il a en effet été démontré dans la littérature,¹⁰⁷ que des dimères de

biomolécules pouvaient permettre d'augmenter l'affinité du traceur final vis-à-vis de sa cible biologique. Différentes plateformes bifonctionnalisées ont alors été synthétisées dans le but de pouvoir introduire des biomolécules comportant des fonctions chimiques différentes. Parmi, ces plateformes, une structure dipropargylée a été utilisée pour tester le couplage par chimie « click » catalysée au ruthénium d'une biomolécule fonctionnalisée par un azoture.

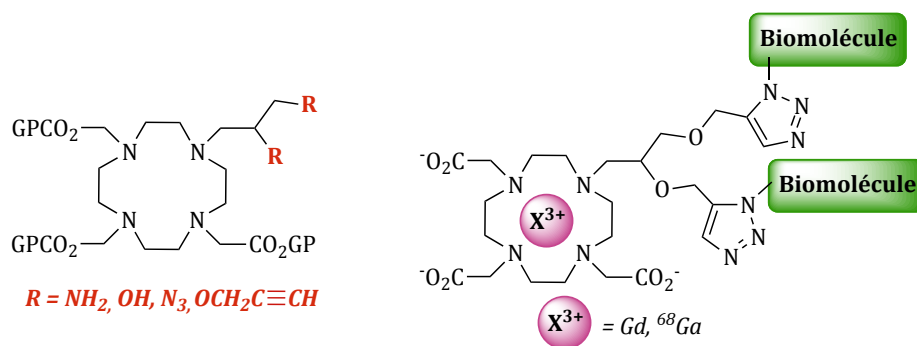


Schéma 1.30 : Structure des plateformes difonctionnalisées et du second traceur envisagé selon l'approche « cocktail »

Une structure similaire, différant par la présence d'un espaceur entre le macrocycle et les fonctions propargyles, a été également synthétisée. Le couplage de biomolécules a également été testée afin de déterminer l'influence de l'espaceur sur la réaction.

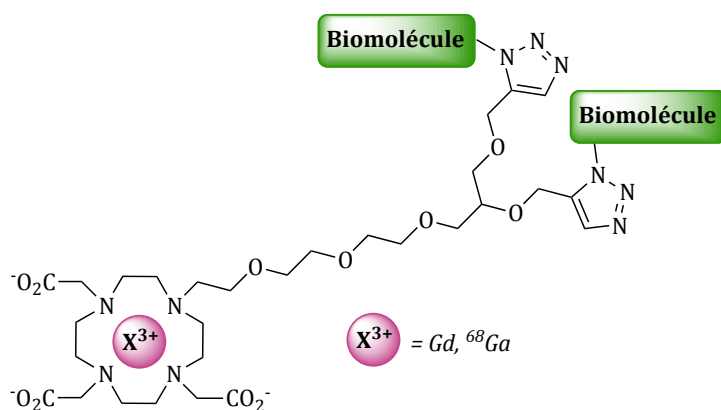


Schéma 1.31 : Traceur avec un espaceur envisagé selon l'approche « cocktail »

La seconde approche envisagée, a été de synthétiser une molécule unique sur laquelle le radioisotope (TEP) et le gadolinium (IRM) sont présents. L'architecture de ce second traceur offre plus de challenge. Il a alors été choisi de travailler avec un radioisotope

introduit par chimie covalente, le fluor 18. Ainsi, un seul macrocycle est nécessaire. Ce traceur doit donc comporter une plateforme trifonctionnalisée afin de permettre l'introduction :

- du gadolinium chélaté par un macrocycle, ici le DO3A
- du fluor 18 introduit sur un groupement di-*tert*butylsilane
- d'une biomolécule fonctionnalisée par un azoture, couplée par chimie « click ».

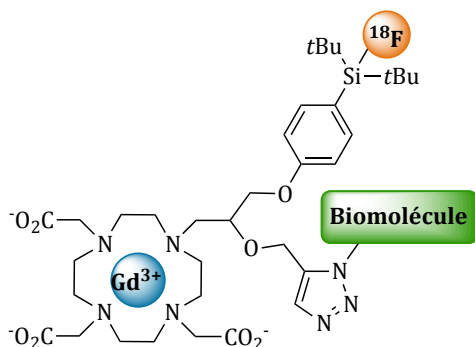


Schéma 1.32 : Structure du premier traceur envisagé selon l'approche « molécule unique »

Enfin, comme dans la partie précédente, il a été choisi de synthétiser un dérivé de cette plateforme. Cette nouvelle structure présente un espaceur entre le macrocycle et les parties biomolécules et silane (cf Schéma 1.33).

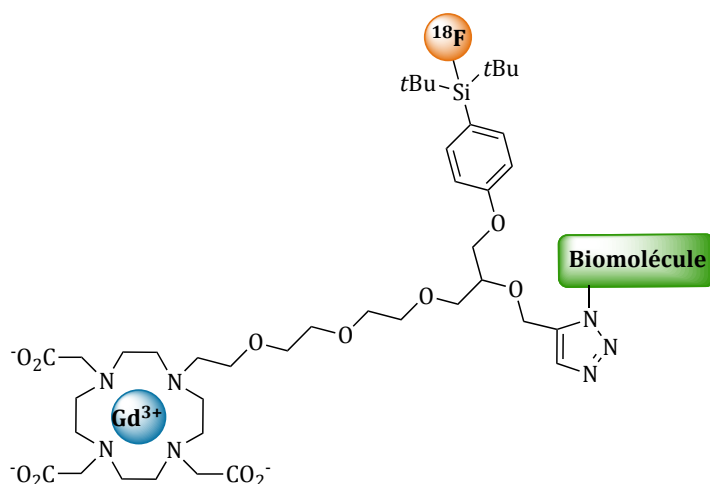


Schéma 1.33 : Traceur avec espaceur envisagé selon l'approche « molécule unique »

PARTIE 2 : SYNTHÈSE D'UN TRACEUR BIMODAL :
APPROCHE « COCKTAIL »

Dans cette partie, la synthèse de macrocycles DO3A fonctionnalisés par une ou des biomolécules sera décrite. Le macrocycle permettra ainsi la chélation de gadolinium et de gallium 68 afin de pouvoir visualiser le traceur à la fois en IRM et en TEP. Les deux traceurs isostructuraux présenteront à priori une biodistribution identique. De plus, en les mélangeant dans des proportions adéquates, un « cocktail » bimodal sera obtenu qui pourra être utilisé simultanément en imagerie bimodale IRM/TEP.

Dans un premier temps, la synthèse de monomères de biomolécule sera décrite. Une méthode innovante de bioconjugaison sera développée et appliquée à la synthèse de différents précurseurs.

La synthèse de dimères sera ensuite détaillée. Pour cela, différentes plateformes fonctionnalisées seront décrites et la réaction de bioconjugaison développée précédemment pourra être testée.

1. SYNTHÈSE DE MONOMÈRES DE BIOMOLÉCULES

1.1. STRATÉGIE D'INTRODUCTION DE LA BIOMOLÉCULE PAR CHIMIE « CLICK »

La stratégie envisagée a été de réaliser l'étape de bioconjugaison par cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen. Cette réaction fait intervenir un partenaire azoture avec un alcyne vrai pour conduire sous activation thermique à la formation de triazole. L'inconvénient majeur de cette réaction est une absence de régiosélectivité qui conduit à l'obtention des deux triazoles 1,4 et 1,5 disubstitués. L'utilisation de cuivre à l'état d'oxydation 1 permet alors de résoudre ce problème et d'obtenir exclusivement le régioisomère 1,4 (cf Schéma 2.1). Par ailleurs, il permet d'activer la réaction et des conditions généralement plus douces peuvent alors être utilisées.

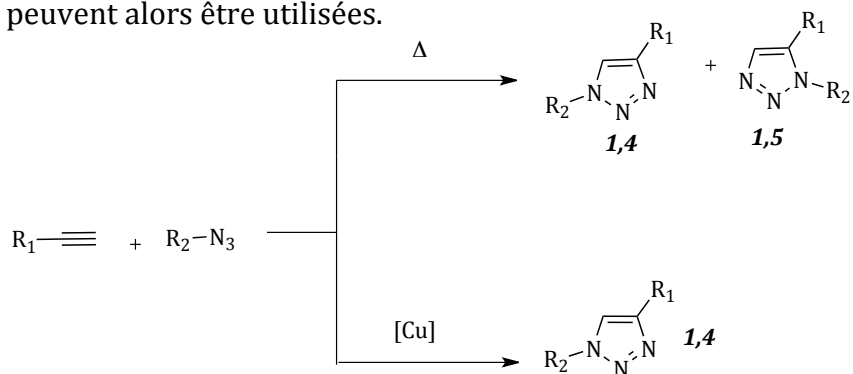


Schéma 2.1 : Comparaison des régioisomères obtenus par cycloaddition de Huisgen

Cette réaction fait partie de la grande famille de la chimie « click ». ¹⁰⁸ Depuis sa découverte en 2002 par Sharpless et Meldal, ^{109,110} le nombre d'applications pour cette réaction a explosé dans un grand nombre de domaines. ¹¹¹ En effet, elle présente différents intérêts dont l'obtention de triazoles avec de bons rendements dans des conditions expérimentales relativement simples à mettre en oeuvre. Par ailleurs, sa compatibilité avec un grand nombre de fonctions chimiques permet d'éviter des étapes de protection et déprotection, réduisant ainsi le nombre d'étapes total. De plus, le triazole est un bioisostère de la liaison peptidique mais présente également l'avantage d'être plus robuste vis-à-vis de la dégradation enzymatique. ^{110,112,113} C'est pourquoi cette réaction est particulièrement utilisée en chimie appliquée au vivant.

L'objectif de cette partie est de synthétiser un macrocycle DO3A fonctionnalisé par une fonction propargyle pouvant permettre l'introduction par chimie « click » de toute biomolécule comportant une fonction azoture. Après déprotection, le macrocycle permettra alors la chélation de gadolinium ou de gallium 68 afin d'obtenir des traceurs utilisables en IRM ou en TEP (cf Schéma 2.2).

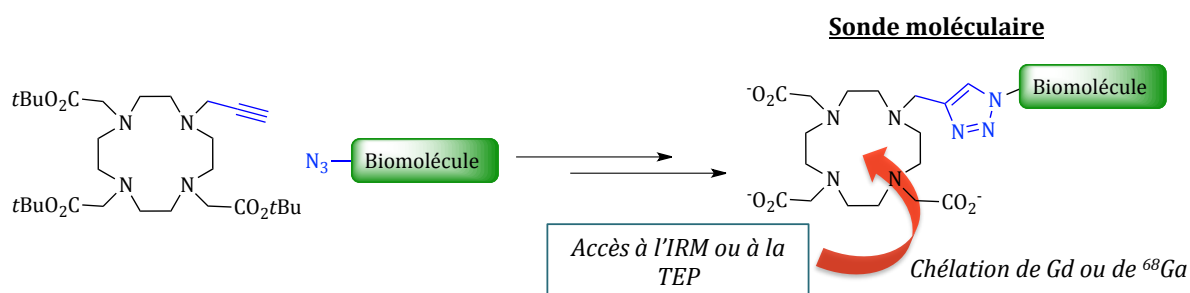


Schéma 2.2 : Conception de la plateforme

Il a été choisi dans un premier temps de travailler avec comme biomolécule modèle la biotine, aussi appelée vitamine H. Cette dernière est une co-enzyme qui intervient entre autres dans les processus de métabolisation des acides gras, des glucides et des acides aminés. Elle est également nécessaire pour la biosynthèse des vitamines B9 et B12.

Elle est par ailleurs souvent utilisée pour réaliser un pré-ciblage thérapeutique ou en imagerie médicale du fait de sa forte affinité pour les protéines avidines et streptavidines. ¹¹⁴ Par ailleurs, il est également intéressant de noter que la biocytin (biotin-L-lysine), assimilée et transportée par les neurones, est peut être utilisée afin de visualiser les connectivités cérébrales. ^{115,116}

En vue de l'obtention de ce monomère (**37**), la synthèse en parallèle des deux partenaires de la réaction de Huisgen a été réalisée. Il a été choisi d'introduire la fonction alcyne sur un dérivé DO3A triprotégé (**38**) alors que la fonction azoture a été placée sur la biomolécule, ici la biotine **39** (cf Schéma 2.3).

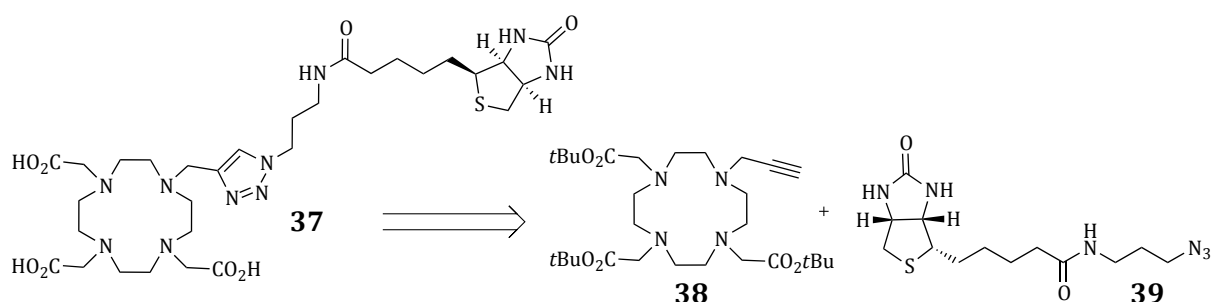


Schéma 2.3 : Stratégie de synthèse de la plateforme DO3A-propargyle

La première étape concernant la synthèse du dérivé DO3A propargylé est l'introduction de groupements *t*-butyliques afin de protéger les fonctions acides sous forme d'ester. Cette réaction a été réalisée dans les conditions décrites par Olsson et optimisées par l'équipe de Meade^{117,118} et présente l'avantage d'obtenir le dérivé DO3A protégé **40** par précipitation sous forme d'un sel hydrobromé avec un rendement de 88%.

Le dérivé propargylé a ensuite pu être obtenu par substitution nucléophile du bromure de propargyle en présence de carbonate de potassium. Après purification sur gel de silice le dérivé DO3A propargylé **38** a été obtenu avec un rendement de 89% (cf Schéma 2.4).

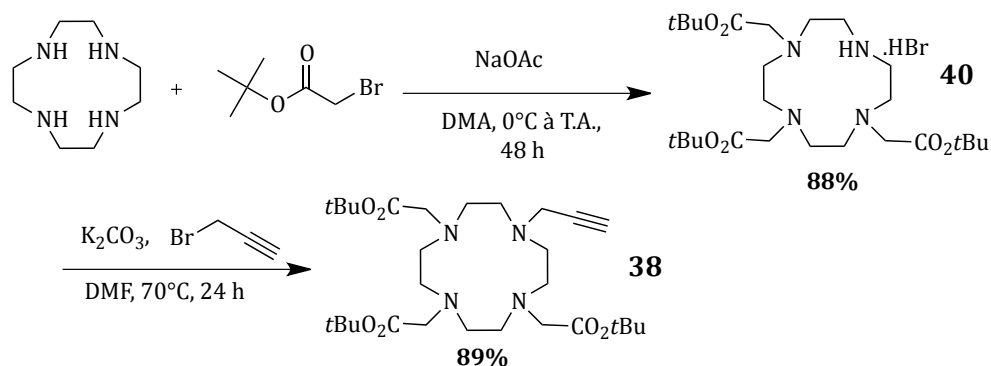


Schéma 2.4 : Synthèse du dérivé DO3A propargylé

Le dérivé azoture de la biotine est disponible commercialement, néanmoins son prix reste très élevé. Cette molécule est cependant accessible en deux étapes en utilisant la biotine comme produit de départ, ce qui permet d'en réduire le coût.

L'idée est ici de réaliser un couplage peptidique entre la biotine et une chaîne alkylamine comportant une fonction azoture. Il est nécessaire dans un premier temps d'activer la fonction acide de la biotine en formant l'ester activé par le *N*-hydroxysuccinimide (NHS), introduit en présence de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) dans le DMF (cf Schéma 2.5).¹¹⁹ Après simple précipitation dans l'éther diéthylique, la biotine activée **41** a été obtenue avec un rendement de 92%. En parallèle, la 3-azidopropylamine a été synthétisé par substitution nucléophile entre la 3-chloropropylamine hydrochlorée et l'azoture de sodium dans l'eau à 80°C d'après les conditions décrites par Landi *et al.*¹²⁰ Une chaîne propylique a été préférée à une chaîne éthylique en raison du caractère très volatile du dérivé azoture éthylamine. Une extraction dans l'éther permet d'obtenir l'azoture avec un rendement de 85%. La difficulté principale de cette réaction réside dans le fait que l'azoture formé reste volatil et donc délicat à concentrer.

La biotine azoture est obtenue par couplage peptidique entre ces deux intermédiaires en présence de triéthylamine dans le DMF. Après purification sur gel de silice le produit **39** est isolé avec un rendement de 87% (cf Schéma 2.5).

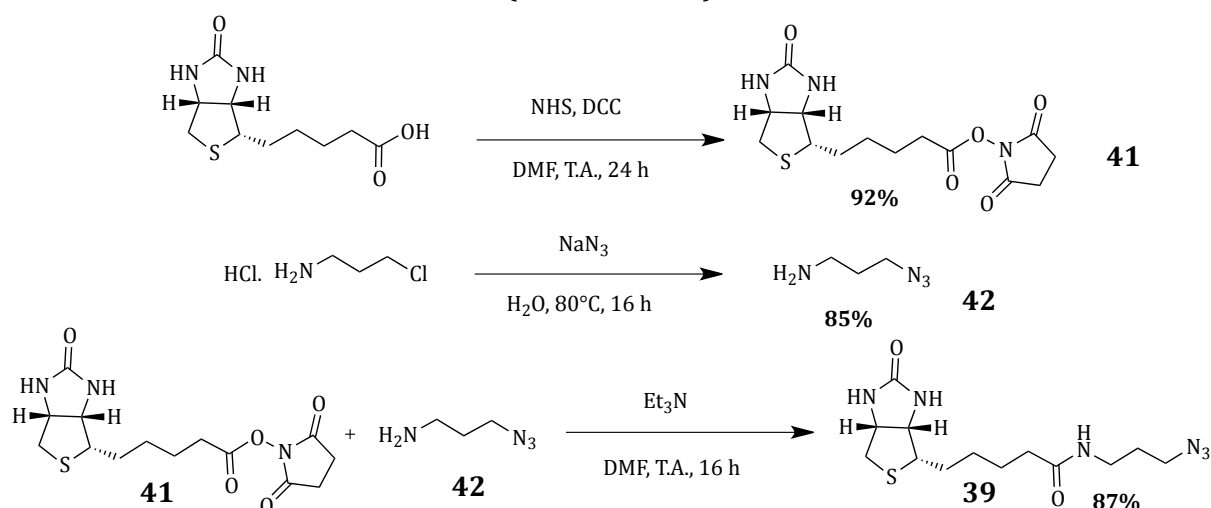


Schéma 2.5 : Synthèse du dérivé azoture de la biotine

Les partenaires DO3A-propargyle **38** et biotine-azoture **39** ayant été obtenus avec de bons rendements, le couplage par réaction de Huisgen catalysée au cuivre a pu être testé. Dans un premier temps, il a été décidé d'appliquer des conditions expérimentales

décrites par Uppal *et al.*¹²¹ en 2011 impliquant l'utilisation conjointe de sulfate de cuivre pentahydraté (0,1 éq) et d'ascorbate de sodium (0,2 éq) afin de réduire *in situ* le cuivre à l'état d'oxydation 1 dans un mélange *t*BuOH/eau à température ambiante (cf Schéma 2.6).

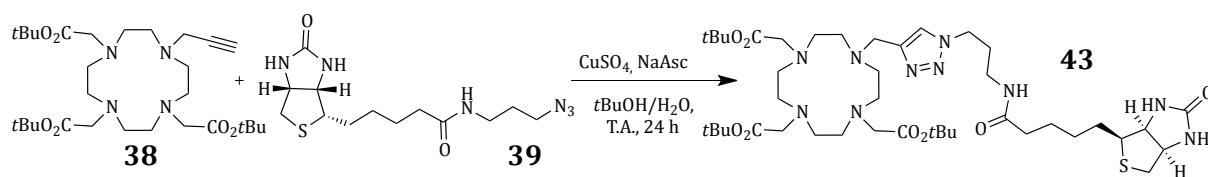
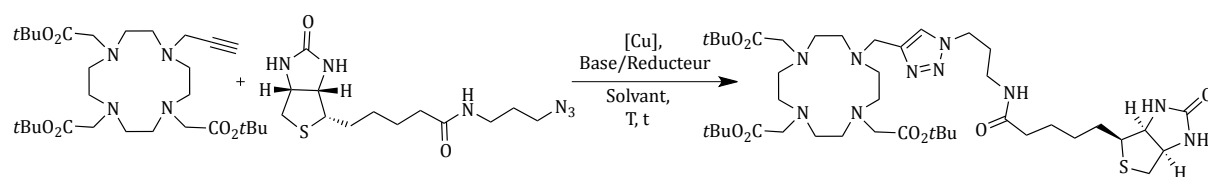


Schéma 2.6 : Couplage du DO3A propargylé 38 et de l'azoture de biotine 39 par réaction de Huisgen

Contrairement à ce qui est décrit dans la littérature,¹²¹ après 24 h d'agitation aucune réaction ne se produit. En effet, une CCM et une analyse en spectrométrie de masse du brut réactionnel ont révélé uniquement la présence des produits de départ. L'hypothèse émise est que le cuivre, ayant une excellente affinité pour le macrocycle DO3A, est chélaté et donc inefficace pour catalyser la réaction.

Afin de réaliser cette réaction, différentes conditions ont alors été testées et sont résumées dans le tableau 2.1.



Entrée	Catalyseur [Cu]	Equivalents	Base/ Réducteur	Solvant	Température (°C)	Durée (h)
1	CuSO ₄	0,1	NaAsc	<i>t</i> BuOH/eau	T.A.	24
2	CuSO ₄	2	NaAsc	<i>t</i> BuOH/eau	T.A.	16
3	CuSO ₄	2	NaAsc	<i>t</i> BuOH/eau	80	16
4	CuSO ₄	2	NaAsc	<i>t</i> BuOH/eau	100, μW	0,5
5	CuI	2	-	<i>t</i> BuOH/eau	T.A.	20
6	CuI	2	DIPEA	<i>t</i> BuOH/eau	T.A.	24
7	CuI	2	DIPEA	Toluène	110°C	24

Tableau 2.1: Différentes conditions testées pour le couplage par chimie « click »

En premier lieu, le nombre d'équivalents de cuivre a été augmenté afin de passer en conditions sur-stœchiométriques et ainsi d'assurer la présence de cuivre non chélaté par le macrocycle dans le milieu réactionnel (entrée 2). Hélas, ces conditions n'amènent pas à la formation de produit. Il a alors été envisagé d'augmenter la température (entrée 3). Ici encore, seuls les produits de départ ont été récupérés. Un chauffage sous microondes (entrée 4) n'a pas donné de meilleurs résultats. Il a alors été décidé de changer l'espèce de cuivre, par utilisation de CuI qui présente l'avantage d'avoir accès directement au cuivre à l'état d'oxydation 1 (entrée 5). Le milieu réactionnel n'ayant toujours pas réagi il a été décidé d'ajouter une base aminé, la DIPEA (entrée 6). L'addition d'une base dans ce type de réaction est connue pour faciliter la formation du complexe cuivre-acétylide. Cependant, une fois encore, aucune réaction n'est observée. Enfin il a été décidé d'utiliser comme solvant le toluène permettant d'atteindre une température de réaction plus élevée (point d'ébullition à 110°C) (entrée 7). Hélas, le produit attendu ne se forme pas ici non plus et après 24 h le milieu réactionnel commence à se dégrader.

Face à l'absence de conversion quelles que soient les conditions expérimentales testées, il est apparu nécessaire de changer de méthode. L'approche principalement utilisée dans la littérature afin de contourner ce problème consiste à déprotéger préalablement le macrocycle et à complexer le lanthanide d'intérêt avant de réaliser l'étape de chimie « click » sur le complexe formé (cf Schéma 2.7).^{118,122-124} En effet, les métaux généralement chélatés pour l'imagerie médicale ont de meilleures constantes d'affinités pour les dérivés DOTA que le cuivre. L'objectif est d'obtenir une molécule pour laquelle différents métaux pourront être complexés afin de réaliser différentes modalités d'imagerie. Il est donc impératif dans notre cas d'effectuer l'insertion du métal en dernière étape et donc de trouver une alternative à cette stratégie.

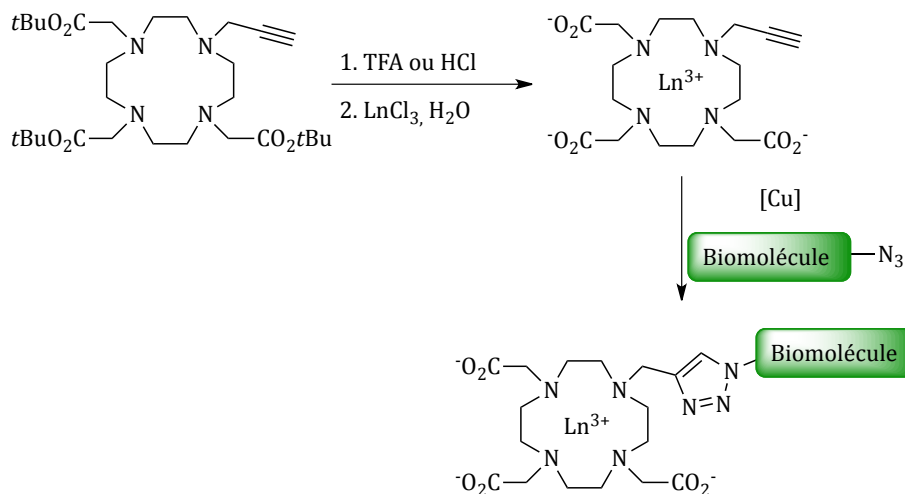


Schéma 2.7 : Stratégie de réaction par « click » après complexation d'un lanthanide

Une approche innovante, impliquant l'utilisation de la chimie « click » sans cuivre afin de lier la biomolécule à un macrocycle DOTA, a été développée par Schultz *et al.*^{125,126} Le concept de chimie « click » sans cuivre, développé par Bartozzi *et al.*,¹²⁷ implique l'utilisation de cycles « tendus » tels que des dérivés cyclooctynes en tant que partenaire alcyne. La déformation de l'angle de liaison (163° pour les cyclooctynes) entraîne une meilleure activation vis-à-vis de la réaction de Huisgen, la rendant alors possible à température ambiante. Schultz *et al.* ont alors introduit sur une biomolécule un dérivé cyclooctyne afin d'obtenir un intermédiaire alcyne (**45**) qu'ils ont ensuite couplé au dérivé DOTA azoture **44** (cf Schéma 2.8). Cependant, le contrôle de la régiosélectivité n'est pas total puisque les deux régioisomères 1,4 et 1,5 semblent être obtenus.

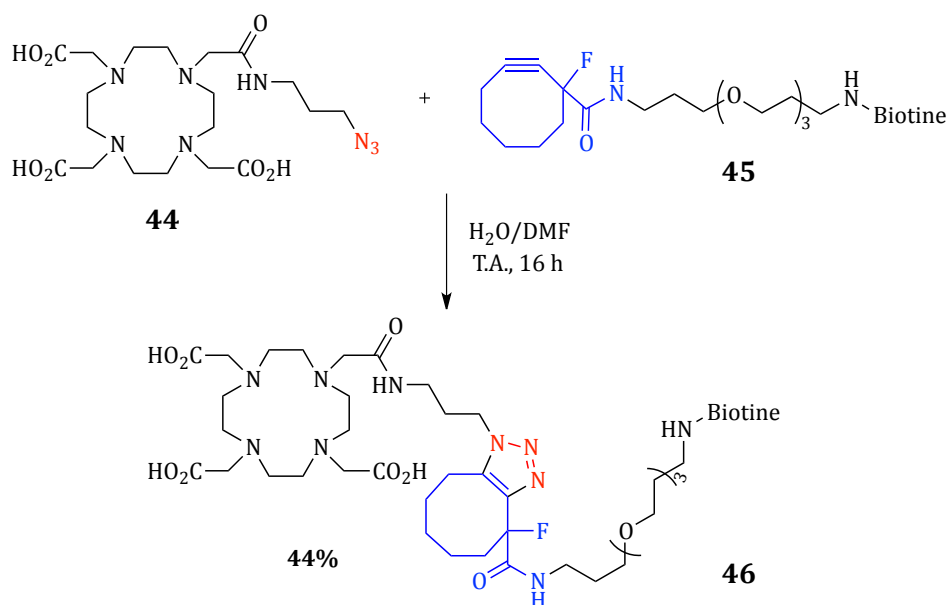


Schéma 2.8 : Couplage par chimie « click » sans cuivre développé par Schultz et al.

La recherche de nouvelles approches versatiles afin d'introduire une biomolécule sur un macrocycle de type DOTA suscite beaucoup d'intérêt. Parmi ces approches, on peut citer Rijkers *et al.*¹²⁸ ainsi que Yim *et al.*¹²⁹ qui ont choisi d'utiliser la réaction de « sulfo-click » afin de conjuguer un DOTA à un peptide dérivé de l'octréotide. Cette réaction, développée par Williams *et al.*,¹³⁰⁻¹³² fait intervenir un dérivé thio-acide avec un azoture sulfonyle afin de former une liaison *N*-acyle sulfonamide (cf Schéma 2.9). Elle est particulièrement utilisée en chimie des peptides.

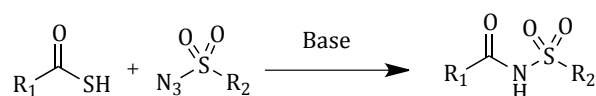


Schéma 2.9: Réaction de « sulfo-click »

Une approche également intéressante serait d'utiliser la chimie des isoxazoles.¹³³⁻¹³⁵ Ces derniers possèdent une grande stabilité hydrolytique ainsi que des capacités à faire du π -stacking et des liaisons hydrogènes. Par ailleurs, cet hétérocycle est un isostère des liaisons amides et esters. Leur synthèse est similaire à la réaction de Huisgen. Elle utilise un partenaire alcyne avec un oxyde de nitrile et permet la formation de l'isoxazole sans présence de cuivre (cf Schéma 2.10).

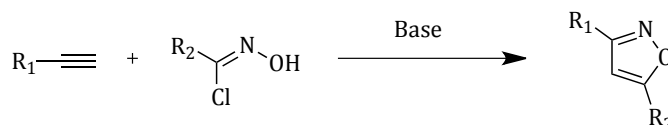


Schéma 2.10 : Formation des isoxazoles

Dans le cadre de ce travail de thèse, une approche originale a été envisagée. Elle consiste à utiliser la réaction de chimie « click » catalysée au ruthénium développée par Fokin *et al.*¹³⁶⁻¹³⁸ Il est à noter que cette approche n'a jamais été utilisée afin d'introduire une biomolécule sur un macrocycle de type DOTA ou DO3A.

1.2. UTILISATION DE LA « CLICK » CATALYSEE AU RUTHENIUM

Comme il a été démontré dans la partie précédente, la formation d'un triazole entre le macrocycle DO3A et une biomolécule par réaction de Huisgen catalysée au cuivre reste

un défi majeur. En effet, l'affinité du cuivre pour le macrocycle rend la réaction difficile voire impossible dans notre cas. Nous avons donc cherché à utiliser un autre métal, connu pour ne pas être complexé par les macrocycles polyazotés et pouvant catalyser la réaction de Huisgen. Le ruthénium est alors apparu comme un candidat idéal.

La chimie « click » catalysée par des complexes de ruthénium a été développée par Fokin *et al.* en 2005.¹³⁶⁻¹³⁸ Il a ainsi été démontré par les auteurs que l'utilisation de complexes de ruthénium permet de catalyser la réaction de Huisgen tout en garantissant un contrôle de la régiosélectivité. La particularité de cette réaction est l'obtention du triazole disubstitué en 1,5 et non en 1,4 comme cela est le cas avec l'utilisation de catalyseurs à base de cuivre (cf Schéma 2.11). Elle permet également de former des triazoles trisubstitués par réaction avec des alcynes internes.

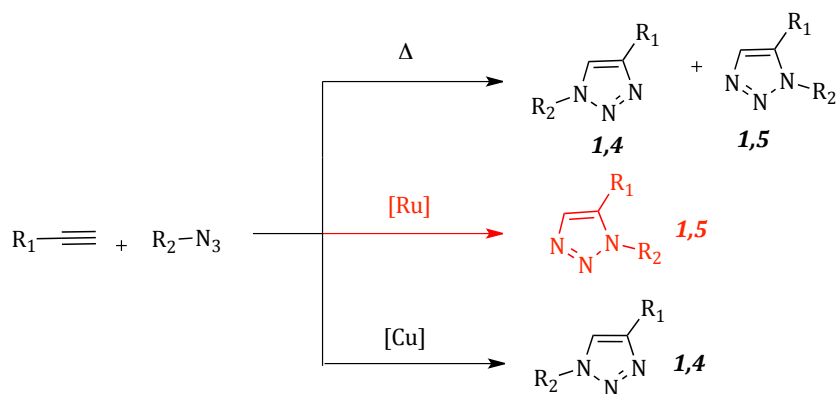


Schéma 2.11 : Réaction de chimie « click » catalysée au ruthénium

Le cycle catalytique de cette réaction explique l'obtention de ce régioisomère. La première étape consiste en un échange de ligand conduisant à la formation du complexe actif. Le ruthenacycle est alors obtenu par couplage oxydant. Cette étape contrôle la régiosélectivité de la réaction, la liaison C-N se créant entre le carbone le plus électronégatif et le moins encombré stériquement et l'azote terminal de la fonction azoture. Le cycle métallique subit alors une élimination réductrice permettant l'obtention du triazole et la régénération du catalyseur (cf Schéma 2.12).

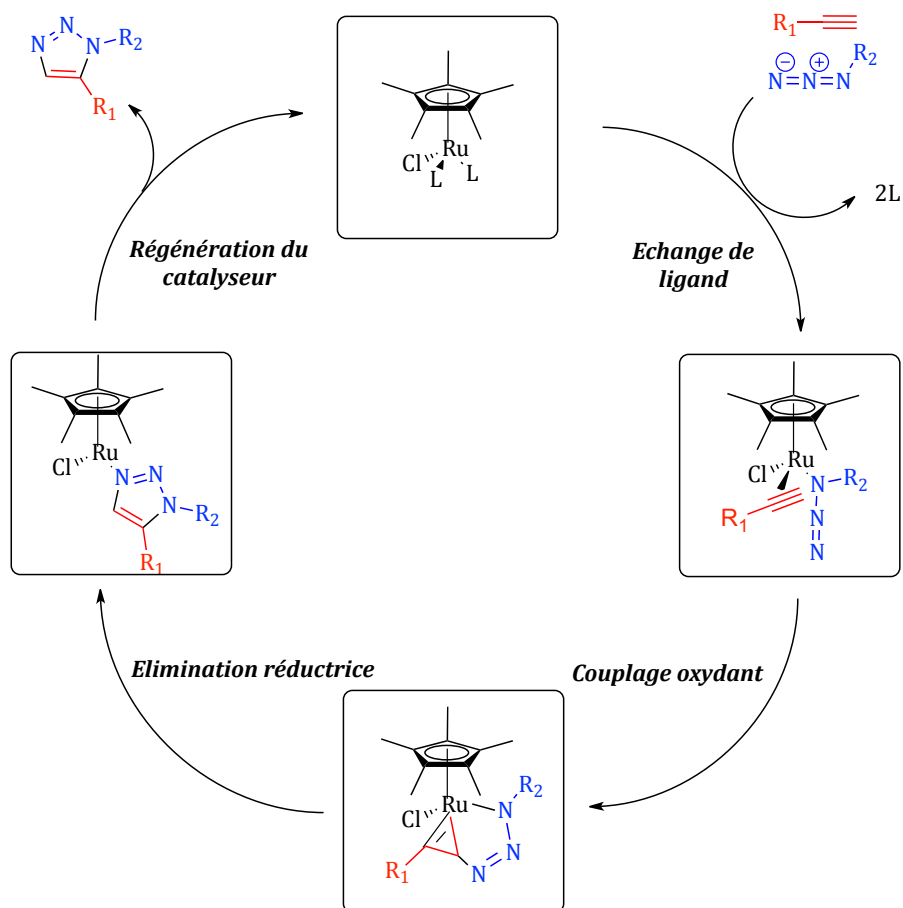


Schéma 2.12: Mécanisme réactionnel de la « click » au ruthénium

Il a été montré dans la littérature¹³⁶ que les complexes de ruthénium les plus efficaces pour cette réaction sont le $[\text{Cp}^*\text{RuCl}]_4$, le $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ et le $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{COD})$. Dans le but d'utiliser cette réaction pour coupler un DO3A alcyne à une biomolécule azoture, ces deux derniers catalyseurs ont été choisis.

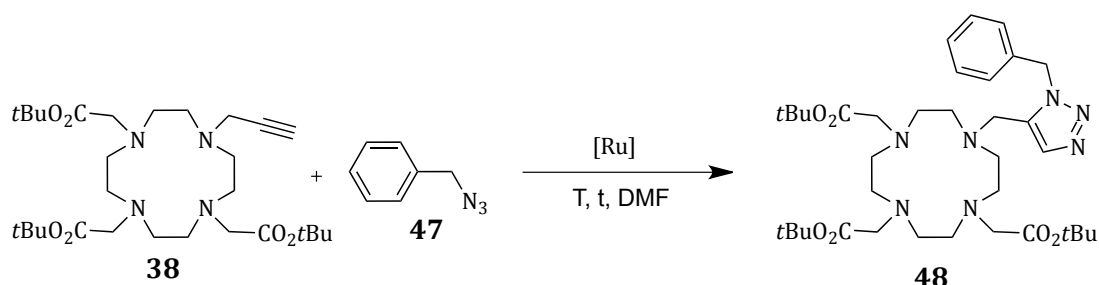
1.2.1. Optimisation des conditions

Cette méthode de conjugaison n'ayant jamais été utilisée sur des dérivés DO3A ou DOTA il a été choisi dans un premier temps de l'optimiser sur un azoture modèle, l'azoture de benzyle **47**.

Les conditions décrites par Fokin¹³⁶ consistent à additionner une solution des deux réactifs à une solution de catalyseur et de laisser la réaction sous agitation à 60°C pendant une nuit. Après purification le produit est obtenu avec des rendements de 55 et

56% respectivement pour les catalyseurs Cp^{*}RuCl(COD) et Cp^{*}RuCl(PPh₃)₂ (cf Tableau 2.2, entrées 1 et 2).

A partir de ce protocole, une optimisation de la réaction a été réalisée en faisant varier les conditions expérimentales tels que la concentration, la température ou le mode de chauffage (cf Tableau 2.2).



Entrée	Catalyseur [Ru]	Température (°C)	Concentration (M)	Durée (h)	Mode de Chauffage	Rendement (%)
1	Cp [*] RuCl(COD)	60	0,1	16	Δ	55
2	Cp [*] RuCl(PPh ₃) ₂	60	0,1	16	Δ	56
3	Cp [*] RuCl(COD)	100	0,1	16	Δ	47
4	Cp [*] RuCl(PPh ₃) ₂	100	0,1	16	Δ	55
5	Cp [*] RuCl(COD)	60	0,05	16	Δ	47
6	Cp [*] RuCl(PPh ₃) ₂	60	0,05	16	Δ	52
7	Cp [*] RuCl(COD)	110	0,1	0,3	μW	57
8	Cp [*] RuCl(PPh ₃) ₂	110	0,1	0,3	μW	64
9	Cp [*] RuCl(COD)	80	0,1	0,5	μW	45
10	Cp [*] RuCl(PPh ₃) ₂	80	0,1	0,5	μW	47

Tableau 2.2 : Optimisation des conditions expérimentales de la réaction de chimie « click » au ruthénium

Dans un premier temps, la température a été augmentée de 60 à 100°C (entrées 1 à 4). Le rendement obtenu avec Cp^{*}RuCl(COD) est légèrement plus faible (entrée 3) alors que celui obtenu avec Cp^{*}RuCl(PPh₃)₂ est similaire au précédent (entrée 4). Ce résultat peut être expliqué par l'instabilité et la dégradation à des températures élevées du catalyseur Cp^{*}RuCl(COD).

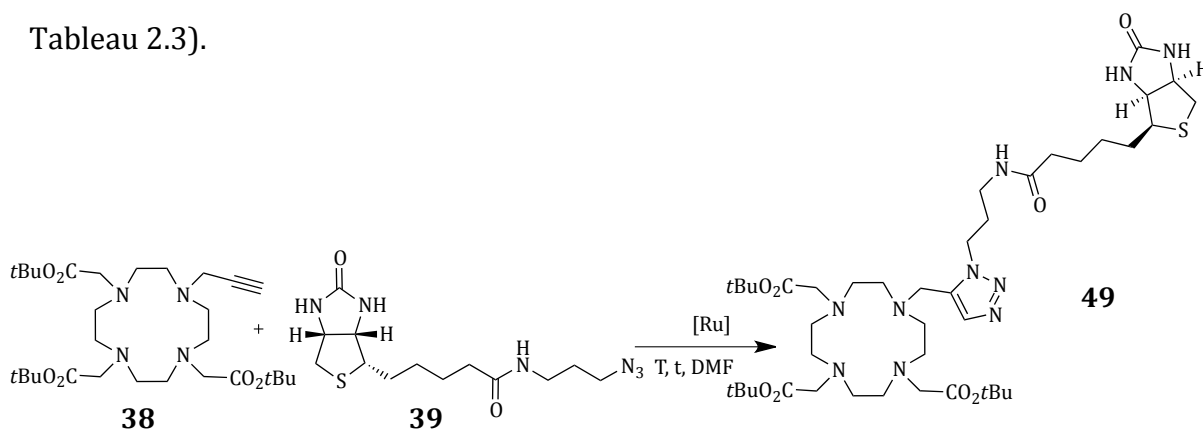
L'effet de la concentration a été ensuite étudié en effectuant la réaction à 0,05 M (entrées 5 et 6). Ce paramètre ne semble pas déterminant pour la réaction.

Il a alors été choisi de tester un chauffage sous microondes (entrées 7 à 10) cela pouvant mener à de meilleurs rendements sur des temps de réaction plus courts. Ainsi, un chauffage à 110°C pendant 20 min nous a permis d'obtenir des rendements meilleurs que ceux obtenus en conditions classiques (entrées 7 et 8). Ces conditions semblent prometteuses mais le chauffage à 110°C pourrait s'avérer incompatible avec des biomolécules plus fragiles.

C'est pourquoi une température plus faible (80°C) avec un temps plus long (30 min) a été également testé (entrées 9 et 10). Les rendements restent inférieurs à ceux obtenus à 110°C avec les deux catalyseurs.

Pour résumer, les meilleurs rendements ont été obtenus par chauffage sous microondes à 110°C pendant 20 min avec une concentration de 0,1 M.

Après avoir optimisé les conditions de cette réaction sur un azoture modèle, le couplage d'une molécule d'intérêt biologique, tel que l'azoture de biotine, a pu être testé (cf Tableau 2.3).



Entrée	Catalyseur	Température (°C)	Durée (h)	Mode de Chauffage	Rendement (%)
1	Cp* RuCl(COD)	60	16	Δ	60
2	Cp* RuCl(PPh ₃) ₂	60	16	Δ	52
3	Cp* RuCl(COD)	110	0,3	μW	29
4	Cp* RuCl(PPh ₃) ₂	110	0,3	μW	31
5	Cp* RuCl(COD)	60	0,5	μW	29
6	Cp* RuCl(COD)	80	0,5	μW	47

Tableau 2.3 : Optimisation de la réaction sur la biotine

Dans un premier temps les conditions dites classiques décrites par Fokin¹³⁶ ont été testées (entrée **1** et **2**) et ont permis d'obtenir la formation du produit désiré avec de meilleurs rendements que ceux obtenus avec l'azoture de benzyle.

La réaction testée dans les conditions optimisées sous microondes (entrées **3** et **4**) a amené des rendements inférieurs. Ce résultat s'explique par une dégradation du milieu visible en CCM par l'apparition de produits secondaires.

Un résultat plus surprenant concerne les réactions effectuées en présence du catalyseur $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$. En effet, après analyse RMN du produit purifié, il est apparu qu'un mélange des deux régioisomères 1,4 et 1,5 avait été formé. En effet cela est visible par la présence en RMN ^1H de deux pics à 7,79 et 7,87 ppm correspondant aux protons du triazole des deux régioisomères. Le produit purifié issu de la réaction avec $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{COD})$ (entrée **1**) ne présente quant à lui qu'un seul pic visible à 7,79 ppm correspondant au régioisomère 1,5 (cf Figure 2.1). L'utilisation de $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ a donc été abandonnée.

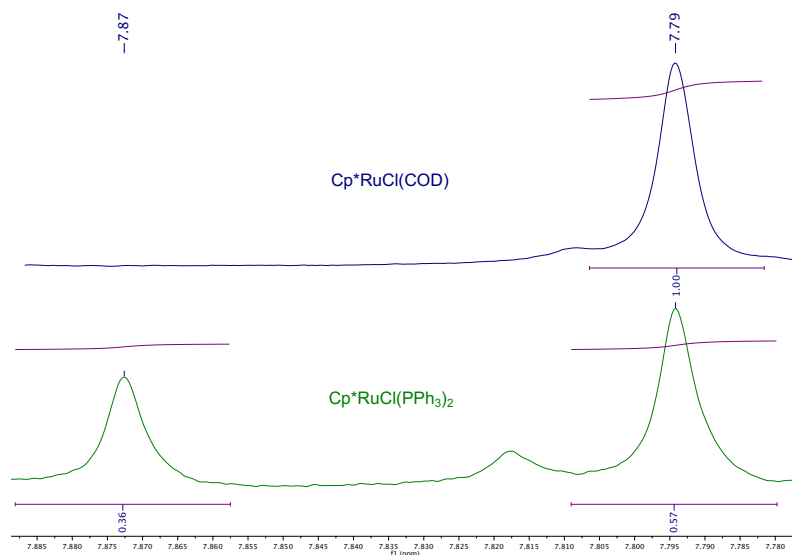


Figure 2.1 : Agrandissements des RMNs, correspondant au signal des triazoles du composé DO3A-biotine synthétisé avec les catalyseurs $\text{Cp}^\text{RuCl}(\text{COD})$ et $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$*

Les conditions microondes obtenues n'étant pas optimales il a été envisagé de tester des conditions plus douces pour éviter la dégradation des biomolécules. Ainsi, la température de la réaction a été abaissée à 60°C mais avec un temps de chauffage plus long de 30 min (entrée **5**). Le rendement obtenu de 29% est similaire à celui obtenu à

110°C pendant 20 min (entrée 3) mais s'explique ici non pas par une dégradation des produits mais par un manque de réactivité. En effet, les produits de départ restent visibles en CCM. En dernière approche, des conditions intermédiaires avec un chauffage à 80°C pendant 30 min (entrées 6) ont été testées et ont conduit à l'obtention du produit couplé **49** avec un rendement de 47%.

En conclusion, la réaction de chimie « click » catalysée au ruthénium a ainsi pu être appliquée au couplage de macrocycle DO3A-propargyle avec des azotures dans des conditions impliquant un chauffage soit thermique soit sous microondes. Comme supposé, les conditions de chauffage sous microondes optimisées avec l'azoture de benzyle (110°C, 20 min) entraînent une dégradation du milieu réactionnel et donc une baisse de rendement dans le cas de l'azoture de biotine. Cependant, les conditions classiques ainsi que le chauffage sous microondes à 80°C pendant 30 min amènent des résultats corrects dans les deux cas. Ces conditions ont alors été choisies afin de coupler d'autres molécules d'intérêt biologique afin d'élargir le champ d'application de cette réaction.

1.2.2. Application au couplage de différentes biomolécules

Cette méthode de bioconjugaison a donc ensuite été appliquée à un panel plus large de biomolécules en testant le couplage sur un désoxyribonucléoside (thymidine), un acide aminé (lysine), un peptide (cycloRGDfK) et sur un marqueur neurologique (MPP) en vue de l'obtention de nouveaux traceurs potentiels.

- Conjugaison d'un désoxyribonucléoside, la thymidine :

La bioconjugaison de la thymidine sur un macrocycle DO3A permettrait de valider la méthode de couplage pour des oligonucléotides. Par ailleurs, sa conjugaison sur un macrocycle DO3A, qui serait par la suite marqué pour l'imagerie, est intéressante car la molécule obtenue pourrait constituer un bon traceur métabolique. En effet, la thymidine marquée au fluor [¹⁸F]-FLT développée par Wilson *et al.*¹³⁹ est utilisée en TEP et est en cours d'évaluation clinique, en tant que traceur métabolique.

Afin d'introduire une fonction azoture en position 3', il est nécessaire de protéger la fonction alcool en position 5'. Il a été choisi de protéger cette fonction par un groupement TBDMS (*t*-butyldiméthylsilyl) introduit par réaction du chlorure de *t*-butyldiméthylsilane dans la pyridine.¹⁴⁰ Le TBDMS, comme les autres éthers silylés, est connu pour être un bon groupement protecteur des fonctions alcools. En comparaison aux autres membres de cette famille, il possède un encombrement stérique moyen ce qui lui confère une bonne stabilité mais le rend aussi facile à introduire et à cliver. La thymidine protégée en position 5' (**50**) est ainsi obtenue avec 95% de rendement. Un éther méthylthiométhyle est ensuite formé en position 3' par un réarrangement de Pummerer en présence d'un mélange d'acide acétique/anhydride acétique et de DMSO avec un rendement de 75% (cf Schéma 2.13).

La fonction azoture est ensuite générée en 2 étapes : la première implique le clivage de la fonction éther méthylthiométhyle par du chlorure de sulfuryle afin de générer l'éther méthylique portant une fonction chlorée. L'azoture est ensuite obtenu par substitution nucléophile avec l'azoture de sodium. Enfin une réaction avec le fluorure d'ammonium permet le clivage de l'éther silylé. L'azoture de thymidine **52** est ainsi obtenu avec un rendement sur ces trois étapes de 71% (cf Schéma 2.13).¹⁴¹

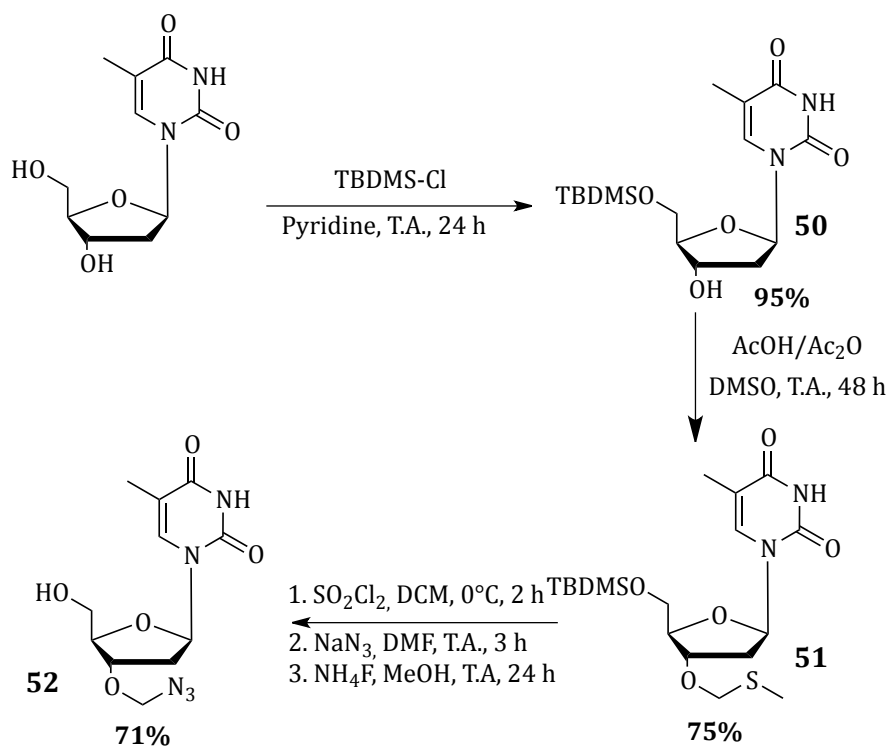
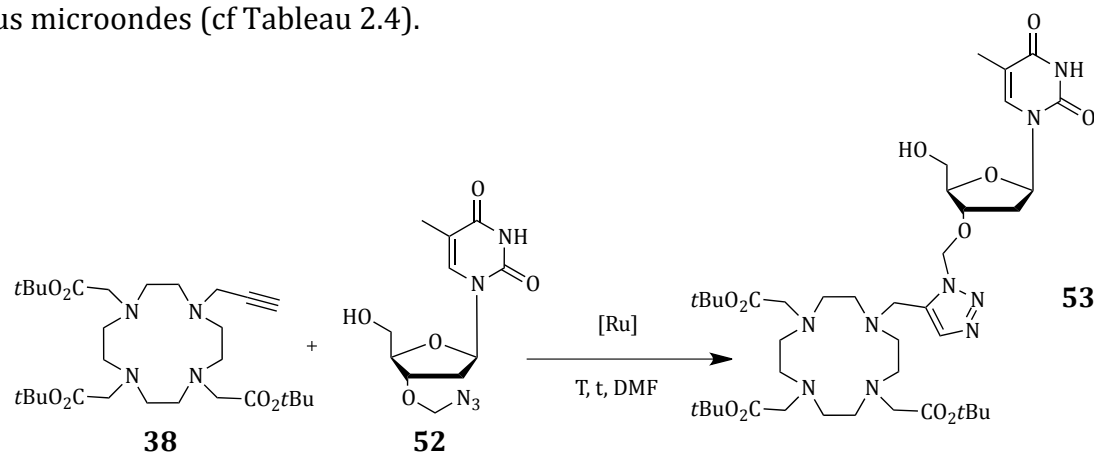


Schéma 2.13 : Synthèse de l'azoture de thymidine 52

L'azoture de thymidine a ensuite été couplé sur le macrocycle selon les deux conditions retenues dans la partie précédente, c'est-à-dire un chauffage classique ou un chauffage sous microondes (cf Tableau 2.4).



Entrée	Azoture	Catalyseur	Température (°C)	Durée (h)	Mode de Chauffage	Rendement (%)
1	ThymidineN ₃	Cp* RuCl(COD)	60	16h	Δ	30
2	ThymidineN ₃	Cp* RuCl(COD)	80	0,5	μW	45
3	ThymidineN ₃	Cp* RuCl(COD)	110	0,3	μW	36

Tableau 2.4 : Conditions de couplage de l'azoture de thymidine par chimie « click » catalysée au ruthénium

La réaction sous chauffage thermique amène à la formation du produit **53** mais avec un rendement relativement faible, de 30% (entrée **1**). Des produits de dégradations sont visibles en CCM et expliquent ce résultat. La réaction a également été testée sous microondes à 80°C pendant 30 min et le rendement obtenu est supérieur (45%, entrée **2**). Enfin, un chauffage à 110°C pendant 20 min a été testé (entrée **3**) afin de voir si ce résultat pouvait être amélioré mais le rendement obtenu est similaire au premier et s'explique également par une dégradation du milieu réactionnel.

Les résultats obtenus pour le couplage par chimie « click » catalysée au ruthénium semblent différents en fonction du substrat utilisé. Néanmoins, le chauffage sous microondes à 80°C pendant 30 min semble apporter un compromis acceptable quel que soit le partenaire azoture utilisé. C'est pourquoi seules ces conditions ont été appliquées pour la suite de ce travail.

- Conjugaison d'un acide aminé, la lysine

La lysine est un acide aminé essentiel pour l'organisme. Elle est impliquée dans divers processus comme dans l'absorption du calcium, la production d'hormones, d'enzymes et d'anticorps. Des études ont également montré qu'elle peut avoir un effet bénéfique sur le virus de l'herpès et qu'elle possède un pouvoir anxiolitique en agissant sur les récepteurs de la sérotonine.

D'un point de vue structurel, elle possède une chaîne latérale avec une fonction amine qui peut servir de point d'ancrage en vue de l'introduction de modifications chimiques telles qu'une fonction azoture (cf Schéma 2.14).

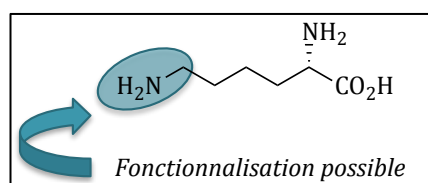


Schéma 2.14 : Structure de la L-lysine

Afin de modifier uniquement l'amine présente sur la chaîne latérale, il a été choisi de travailler avec la lysine protégée par un groupement Fmoc. L'azoture a alors été introduit selon une procédure décrite par Goddard-Borger *et al.*¹⁴² impliquant un transfert diazo grâce à un intermédiaire azoture diazo donneur : le sel hydrochloré de l'azoture d'imidazole-1-sulfonyle. Ce dernier est obtenu par réaction de l'azoture de sodium sur l'imidazole en présence de chlorure de sulfuryle. Afin de réaliser le transfert diazo, il est alors mis en solution en présence de la lysine protégée et de sulfate de cuivre. L'azoture de lysine **54** est ainsi obtenu avec un rendement de 77% (cf Schéma 2.15).

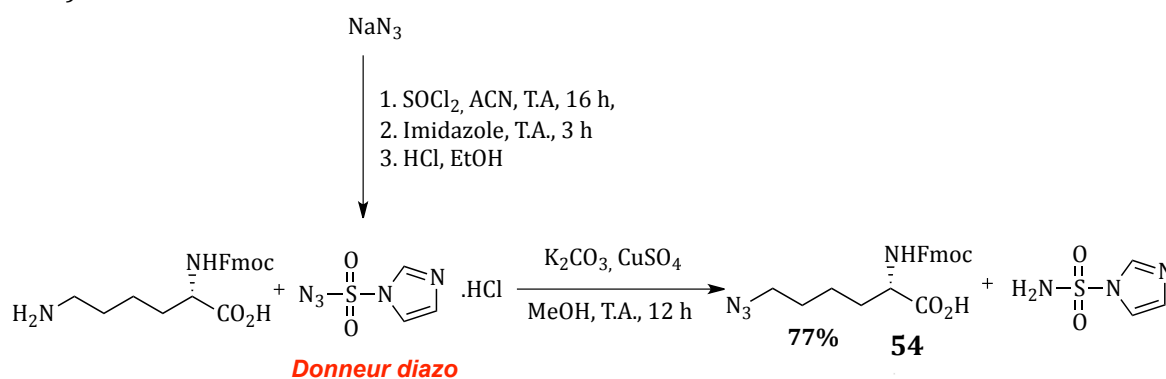
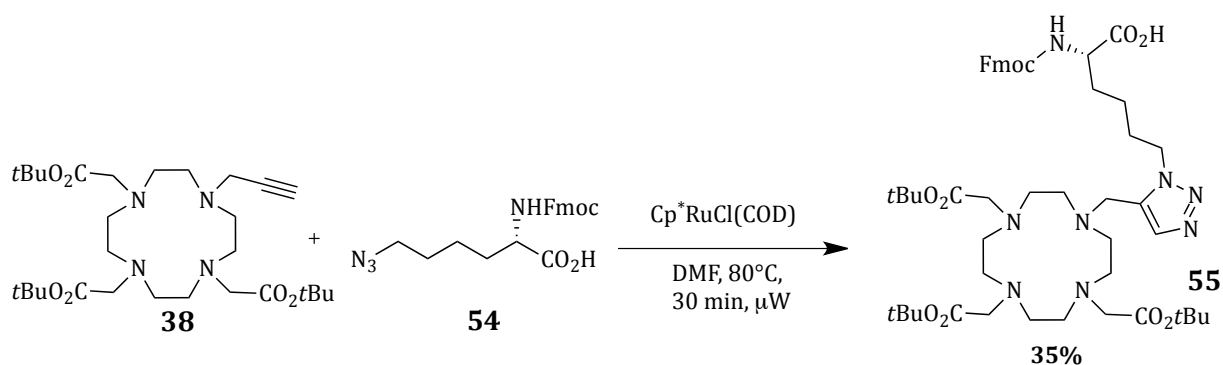


Schéma 2.15 : Synthèse de l'azoture de lysine protégé

Le couplage par chimie « click » a été réalisé en utilisant les conditions précédemment optimisées, c'est-à-dire avec un chauffage à 80°C sous microondes pendant 30 min. Le DO3A-Fmoc-Lys-OH **55** a ainsi pu être obtenu après purification avec un rendement de 35% (cf Schéma 2.16). Ce rendement plus faible s'explique par la difficulté de la purification par gel de silice, liée à la polarité du produit. En effet, malgré la présence d'un groupement Fmoc sur l'amine de la lysine, la fonction acide carboxylique rend cette molécule très polaire et donc difficile à désorber de la colonne, le produit est en effet dilué dans de nombreuses fractions.

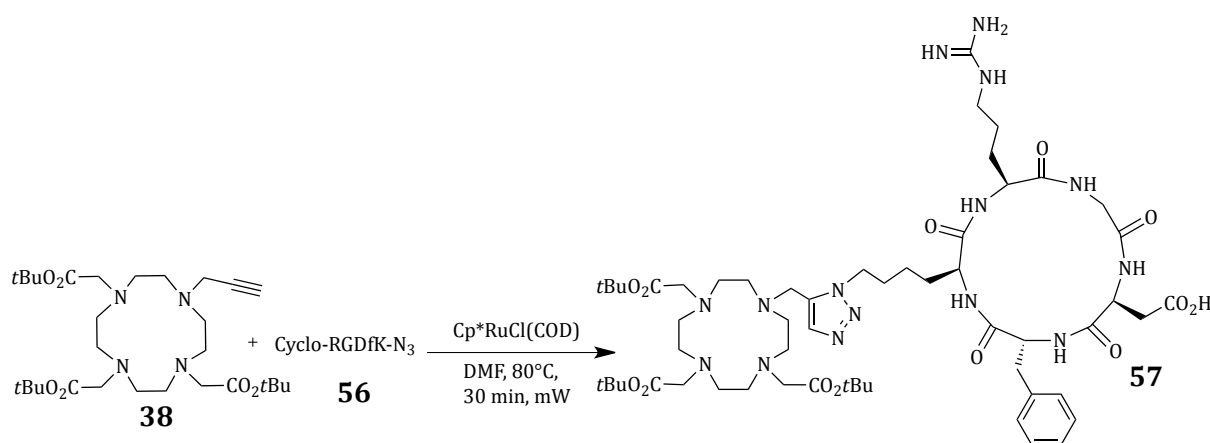


*Schéma 2.16 : Synthèse du DO3A-Fmoc-Lys-OH **55***

- Bioconjugaison d'un peptide, le cyclo-RGDfK

Le RGD est un tripeptide (Arginine-Glycine-Acide Aspartique) initialement identifié comme la séquence des fibronectines permettant la reconnaissance de leurs récepteurs, les intégrines $\alpha_5\beta_1$. Depuis, cet enchaînement d'acides aminés a été identifié comme pouvant reconnaître un grand nombre d'intégrines, dont les intégrines $\alpha_v\beta_3$.¹⁴³ Ces dernières sont impliquées dans le processus de néovascularisation et dans différentes pathologies telles que l'arthrite rhumatoïde, le psoriasis mais surtout dans le développement de cellules tumorales de certains cancers tels que les mélanomes ou les glioblastomes.¹⁴⁴ Dès lors, de nombreuses études ont visé à développer des analogues du RGD tel que le cyclo-RGDfK. Ce dernier possède deux acides aminés supplémentaires, la lysine et la D-phénylalanine, et une structure cyclique qui permet d'améliorer sa stabilité *in vivo*. De nombreux traceurs pour l'imagerie ont été synthétisés avec ce motif dont le [¹⁸F]-Galacto-RGDfK développé par Haubner *et al.*¹⁴⁵ Plus récemment Amigues *et al.*¹⁴⁶ ont également synthétisé un cyclo-RGDfK couplé à un sucre introduit par chimie « click » et marqué au fluor 18 par l'intermédiaire d'un groupement silane. La fonction

azoture est introduite sur l'amine de la chaîne latérale de la lysine. Deux stratégies peuvent alors être suivies. La première est l'introduction de la fonction azoture sur la lysine puis l'introduction de cet acide aminé au reste du peptide par synthèse sur support solide. La seconde est d'introduire cette fonction azoture une fois le cyclopentapeptide synthétisé. Il a été choisi de suivre la première stratégie et ainsi de synthétiser dans un premier temps l'azoture de lysine dans les conditions décrites précédemment (cf Schéma 2.15). Dans un second temps le peptide a été synthétisé sur support solide. Il est à noter que deux acides aminés ont été introduits protégés afin d'éviter que leurs fonctions présentes sur leur chaîne latérales n'interagissent avec la synthèse du peptide. La fonction guanidine de l'arginine a été protégée par un groupement 2,2,4,6,7-pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyle (Pbf) et la fonction acide carboxylique de l'acide aspartique par formation d'un ester *t*-butylique. Après clivage de la résine et cyclisation, le peptide a été complètement déprotégé par réaction avec du TFA et a permis d'obtenir l'azoture de cyclo-RGDfK. Le couplage de ce partenaire azoture sur le macrocycle DO3A-propargyle **38** a alors été testé dans les conditions décrites précédemment (80°C, 30 min, μ W, cf Schéma 2.17).



*Schéma 2.17 : Couplage par chimie « click » catalysée au ruthénium du DO3A-propargyle **38** avec l'azoture de cyclo-RGD **56***

Le brut réactionnel a été analysé par HPLC et spectrométrie de masse, malheureusement seuls les produits de départ sont visibles. L'hypothèse est que des fonctions présentes sur le peptide, telles que la fonction acide de l'acide aspartique et la fonction guanidine de l'arginine influent sur la réaction de couplage.

Cette réaction a alors été testée sur l'azoture du cyclo-RGD protégé c'est-à-dire avec la fonction guanidine de l'arginine protégée par un groupement Pbf et la fonction acide carboxylique de l'acide aspartique protégé par formation d'un ester *t*-butylique (cf Schéma 2.18).

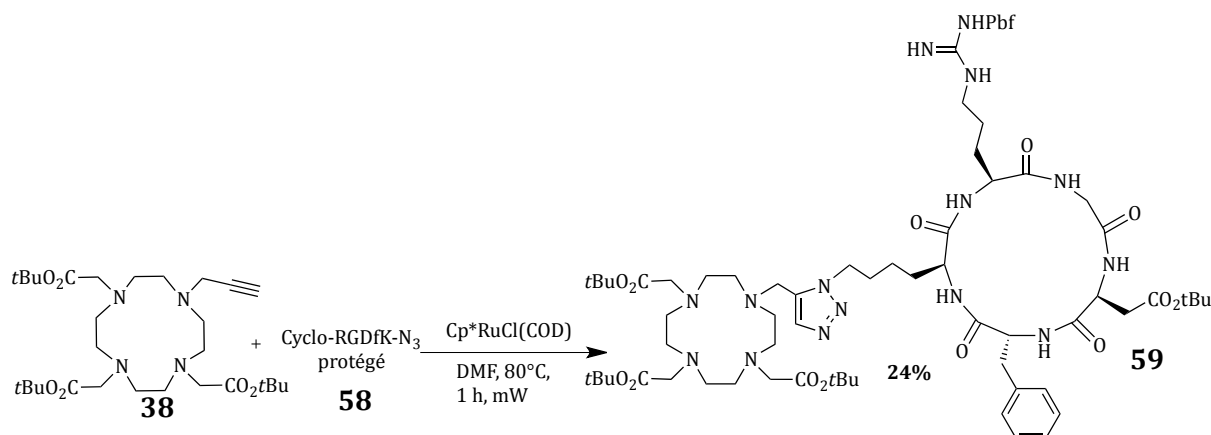


Schéma 2.18 : Couplage du DO3A-propargyle 38 avec l'azoture du cyclo-RGD protégé 58

Le brut réactionnel est alors analysé par HPLC et un nouveau pic à un temps de rétention légèrement inférieur à celui de l'azoture du cyclo-RGD protégé apparaît. Cependant, une grande quantité de produit de départ est également visible (Ratio de 60/40 Cyclo-RGD protégé/Produit formé). Afin d'augmenter le taux de conversion, la durée de la réaction a été augmentée à 1 h (Ratio 40/60 Cyclo-RGD protégé/Produit formé). Le produit correspondant a été isolé par HPLC semi-préparative et une analyse par spectrométrie de masse a confirmé qu'il s'agissait bien du produit attendu. Ainsi, le dérivé DO3A couplé au cyclo-RGDfK protégé a pu être obtenu avec un rendement de 24%. L'hypothèse avancée selon laquelle une fonction présente sur une chaîne latérale du peptide pourrait être à l'origine de l'échec de la réaction de chimie « click » sur l'azoture de cyclo-RGD déprotégée semble donc confirmée.

- Conjugaison d'un marqueur neurologique, le MPP

Pour terminer, il a été choisi de lier un marqueur du récepteur 5-HT_{1a} de la sérotonine. Ce récepteur exerce un contrôle sur les émotions et le comportement. Son dysfonctionnement peut mener à des cas de dépression et des tendances suicidaires.¹⁴⁷ Des ligands TEP du récepteur 5-HT_{1a} ont été décrits dans la littérature dont le [¹⁸F]-

MPPF qui agit comme un antagoniste compétitif réversible se liant avec une bonne affinité.¹⁴⁸ En se basant sur cette molécule, un autre traceur, un dimère de MPP (1(2-azidoethyl)-4-(2-methoxy phenyl)piperazine) a été synthétisé par chimie « click ».¹⁴⁹ Cette synthèse implique la synthèse d'un azoture de MPP que nous avons utilisé ici pour tester la compatibilité de la réaction de chimie «click » catalysée au ruthénium sur le DO3A-propargyle.

L'azoture de MPP est synthétisé en 2 étapes à partir du 2-méthoxyphénylpipérazine (cf Schéma 2.19). La première étape consiste en l'alkylation de l'amine secondaire du cycle pipérazine par le bromoéthanol en présence de carbonate de potassium. Après purification, le produit **60** est isolé avec un rendement de 97%. La fonction alcool introduite a ensuite été transformée en azoture selon la méthode décrite par Thompson *et al.*¹⁵⁰ Cette réaction est une alternative à la réaction de Mitsunobu décrite par Bose *et al.*¹⁵¹ où le DPPA (azoture de diphenylphosphoryle) est utilisé conjointement avec une base, le DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène). L'azoture **61** est ainsi obtenu avec 91% de rendement et le produit secondaire formé est le sel de DBU de diphenylphosphate (cf Schéma 2.19).

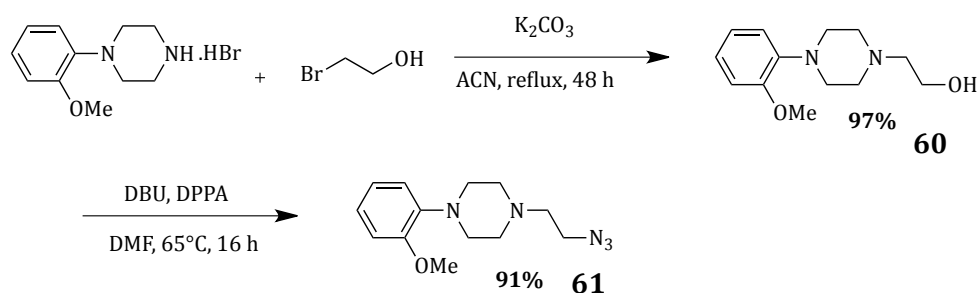


Schéma 2.19 : Synthèse de l'azoture de MPP **61**

En utilisant les conditions précédemment optimisées, le dérivé DO3A couplé avec le MPP a été obtenu après purification avec un rendement de 53% (cf Schéma 2.20).

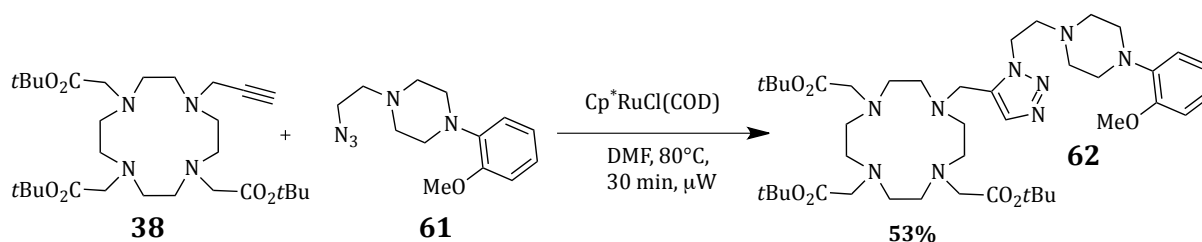


Schéma 2.20 : Synthèse du DO3A-MPP **62**

En conclusion, une méthode innovante et versatile de couplage de biomolécules à des macrocycles DO3A par chimie « click » catalysée par des complexes de ruthénium a été développée dans cette partie. Il est à noter que les rendements les plus faibles, notamment relatifs au couplage des azotures de lysine et de cyclo-RGDfK, s'expliquent par la difficulté des purifications. Cette méthode a ainsi permis le couplage de plusieurs types de biomolécules et donc l'obtention de plusieurs précurseurs qui pourront être utilisés en imagerie médicale (cf Schéma 2.21).

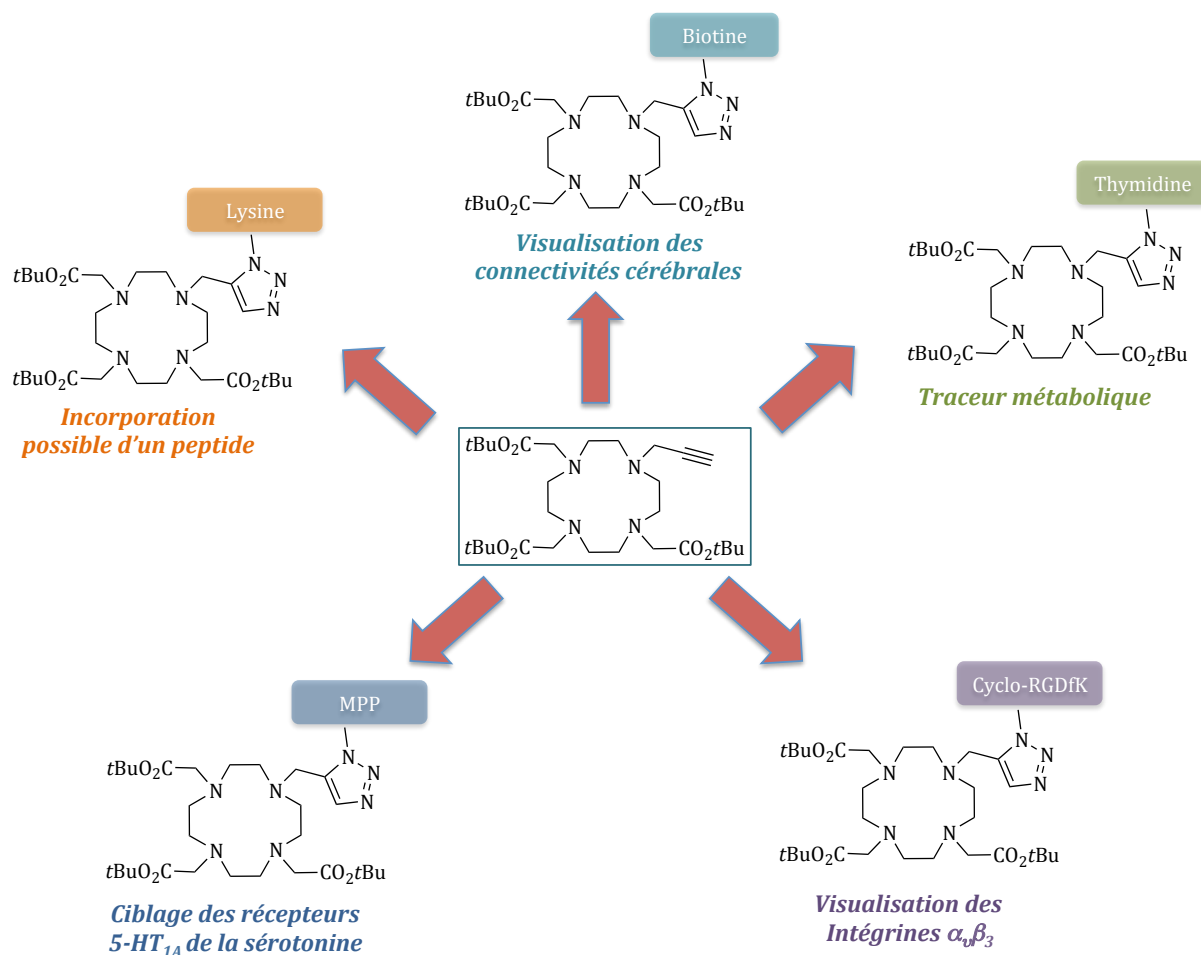


Schéma 2.21 : Résumé des différents précurseurs obtenus

1.3. DEPROTECTION ET COMPLEXATION DU DO3A-BIOTINE

Avant de pouvoir utiliser ces molécules en imagerie, les fonctions acides carboxyliques doivent être déprotégées afin de pouvoir complexer des métaux d'intérêt. L'idée étant de synthétiser des sondes bimodales IRM/TEP, il a été choisi de complexer d'une part du

gadolinium et d'autre part du gallium 68. Ces réactions ont été testées sur un précurseur modèle, le DO3A-biotine.

1.3.1. Déprotection du DO3A-Biotine

La déprotection des fonctions esters a été réalisée à température ambiante par réaction en milieu acide avec du HCl 37% pendant 30 min (cf Schéma 2.22). Après lyophilisation, une masse de produit supérieure à celle attendue a été obtenue. Ceci peut s'expliquer par la présence de sels. Il a été choisi alors de purifier le milieu réactionnel sur colonne Sep-Pak® C₁₈ pour le dessaler. Le principe des extractions solide liquide (ou SPE pour Solid Phase Extraction) repose sur l'adsorption du milieu réactionnel sur une cartouche d'une phase solide présentant une grande affinité avec le substrat à purifier. Les impuretés, qui elles ne sont pas retenues, sont donc éliminées dans un premier temps avec une solution de lavage. Dans un second temps, un solvant approprié permet d'éluer le substrat purifié. Ici, compte tenu de la polarité du produit il a été adsorbé sur silice C₁₈ en utilisant de l'eau Milli-Q, puis élué avec de l'acétonitrile. Après une seconde lyophilisation le DO3A-biotine **63** a été obtenu cette fois-ci dessalé avec un rendement quantitatif.

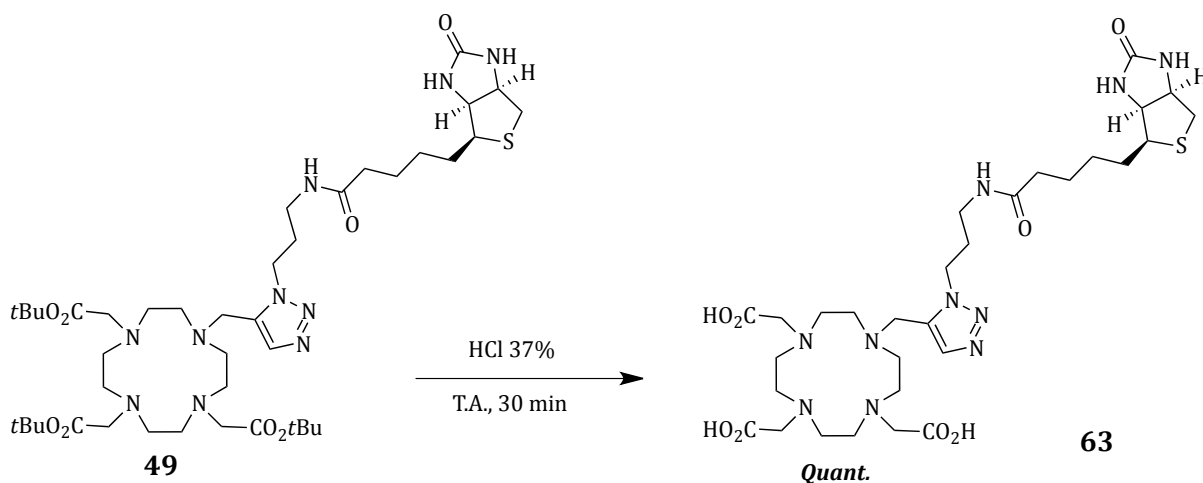


Schéma 2.22 : Déprotection du DO3A-biotine 49

Enfin la dernière étape consiste à réaliser la complexation avec soit du gallium soit du gadolinium.

1.3.2. Complexation du gallium

- Marquage à « froid » :

La complexation du gallium a été testée dans un premier temps sur du gallium froid par réaction du nitrate de gallium dans un tampon acétate à pH 4,6 (cf Schéma 2.23). Le brut réactionnel a été directement analysé par HPLC et le chromatogramme semble indiquer la disparition du DO3A-biotine libre de départ et l'apparition d'un nouveau pic à un temps de rétention très légèrement supérieur correspondant au produit marqué **64**. La différence entre les deux temps de rétention étant faible une analyse par spectrométrie de masse a été réalisée afin de confirmer la bonne incorporation du gallium.

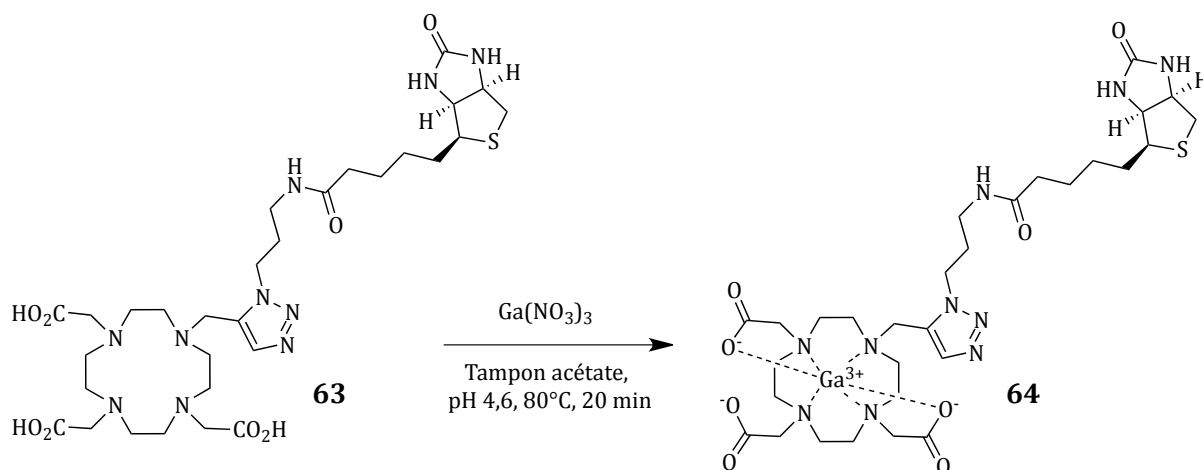


Schéma 2.23 : Complexation du gallium « froid »

Le macrocycle DO3A-biotine a donc permis une bonne complexation du gallium froid. Une référence « froide » a ainsi été obtenue qui a permis d'envisager le marquage à « chaud ».

- Marquage « à chaud » :

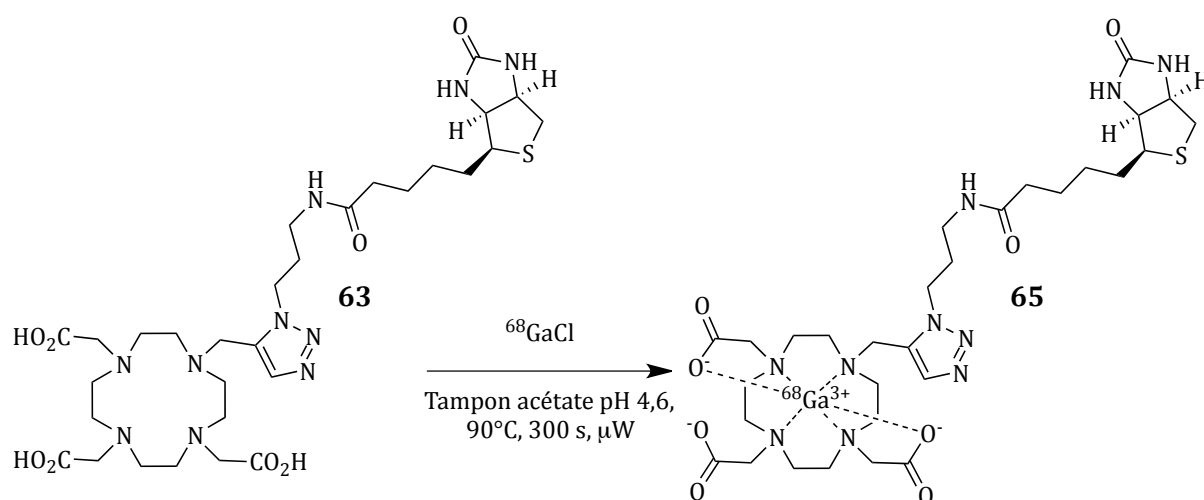


Schéma 2.24 : Marquage à chaud au gallium 68

Le gallium 68 est obtenu grâce à un générateur germanium 68/gallium 68. En effet, le germanium 68 décroît en gallium 68 avec une demi-vie de 270 jours. Le gallium 68 possède quant à lui une demi-vie de 68 min et décroît en un isotope stable, le zinc 68.

Le germanium 68 est adsorbé sur un support solide pour lequel il présente une excellente affinité, tels que de l'oxyde d'étain, l'oxyde de titane ou encore des résines échangeuses d'ions. Les ions Ge^{4+} et Ga^{3+} présentent des propriétés chimiques différentes, ce qui explique, que le support puisse permettre leur séparation. Le gallium 68 est généralement élué du générateur avec des impuretés métalliques (Zn^{2+} , $^{68}\text{Ge}^{3+}$, Mn^{2+} , Fe^{3+} , V^{4+} , Al^{3+} ...). Afin d'éviter qu'elles interfèrent avec le gallium 68 lors de l'étape de radiomarquage et ainsi qu'elles diminuent la pureté radiochimique du traceur, il est nécessaire de purifier l'éluat avant de l'utiliser.

Un synthétiseur FASTlab entièrement automatisé a été utilisé pour le radiomarquage. Une séquence de synthèse permet de réaliser les étapes d'éluion du générateur, de purification de l'éluat et de radiomarquage (cf Figure 2.2).

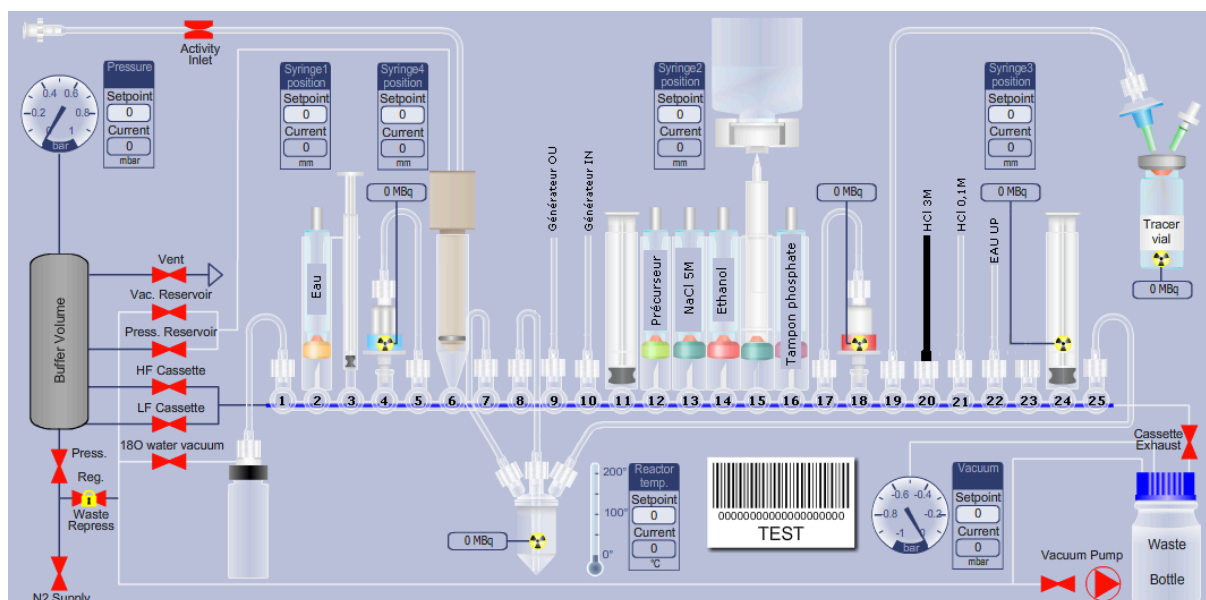


Figure 2.2 : Schéma du module FastLab utilisé pour le marquage au gallium 68

La première étape est l'envoi du précurseur en solution dans un tampon acétate (pH 4,6) dans le réacteur microondes. Le gallium 68 est ensuite élué avec de l'acide hydrochlorique 0,1 M, acidifié avec de l'acide hydrochlorique 30% ultrapur puis adsorbé sur une résine échangeuse d'anions. Cette étape permet d'éliminer les ions métalliques indésirables et de concentrer l'éluat de gallium 68. Après avoir été élué de la résine avec de l'eau Milli-Q, la solution de $^{68}\text{Ga}^{3+}$ est envoyée dans le réacteur microondes et le milieu réactionnel est chauffé à 90°C pendant 300 s. A la sortie du réacteur, le produit de radiomarquage peut être purifié sur une cartouche Sep-Pak C₁₈. Ici, il a été directement récupéré dans un flacon et analysé en HPLC couplée à un détecteur de radioactivité. Le chromatogramme révèle un seul pic correspondant au produit radiomarqué et donc une absence de gallium 68 libre indiquant que le radiomarquage a bien fonctionné (cf Figure 2.3 et 2.4). Une purification sur cartouche C₁₈ a été réalisée afin d'améliorer la pureté chimique du radiotraceur. Il a ainsi été obtenu avec un rendement radiochimique non corrigé de la décroissance de 58% avec une activité spécifique de 2,7 MBq/nmol pour un temps total de synthèse de 16 min.

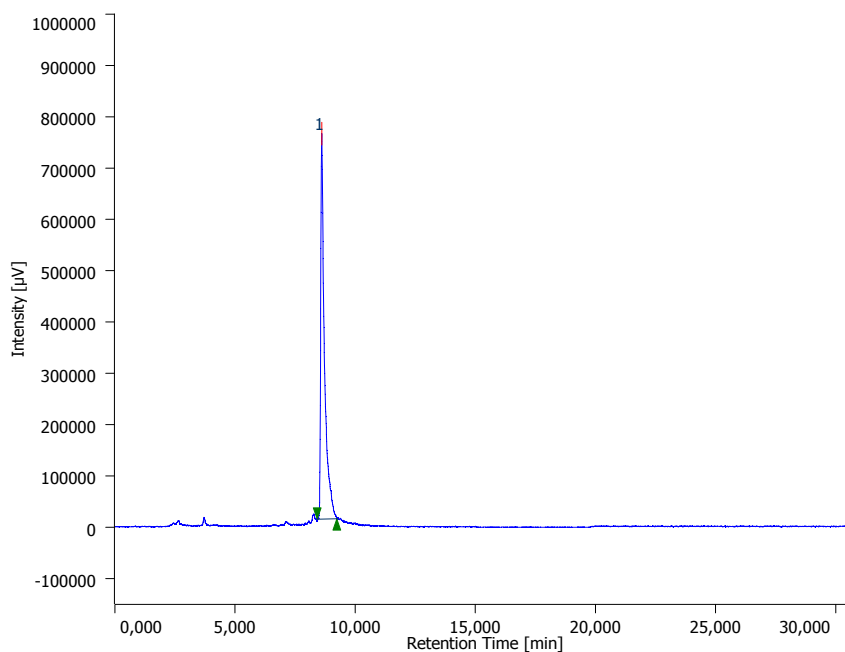


Figure 2.3 : Radiochromatogramme du traceur

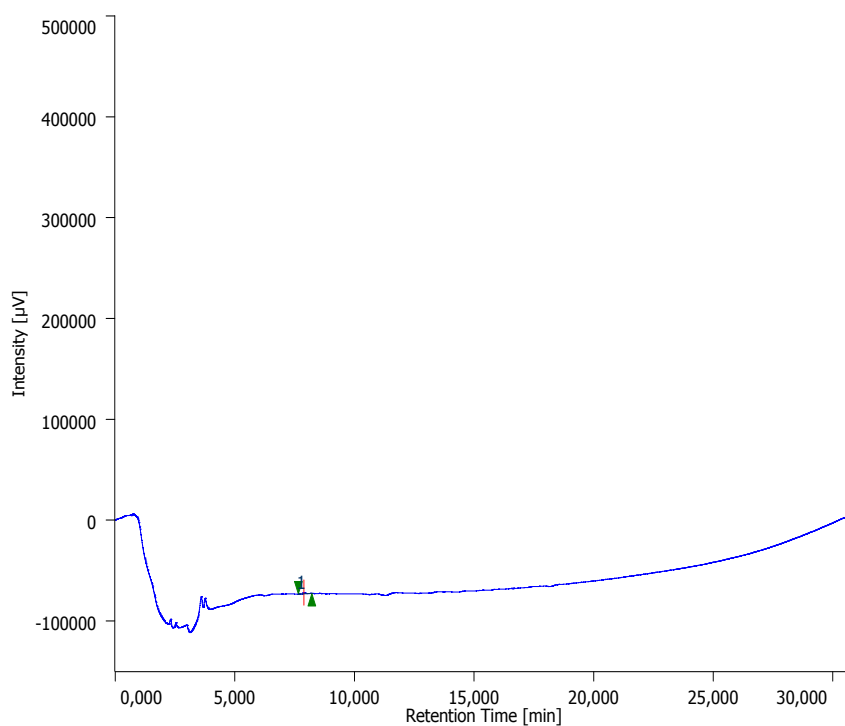


Figure 2.4 : Chromatogramme UV (230 nm) du traceur

Le précurseur DO3A-Biotine a ainsi pu être radiomarqué. Le traceur obtenu, présente un excellent rendement radiochimique ainsi qu'une bonne activité spécifique ce qui en fait un bon candidat pour une utilisation en TEP.

1.3.3. Complexation du gadolinium et mesures de relaxivité

En parallèle, le complexe de gadolinium a été formé. Pour cela, le DO3A-biotine déprotégé a été mis en solution dans l'eau en présence de trichlorure de gadolinium à 60°C sur une nuit. Le milieu réactionnel a été purifié sur une colonne de Chelex-100 permettant de complexer le gadolinium en excès. Le complexe **66** a pu être obtenu avec un rendement quantitatif (cf Schéma 2.25).

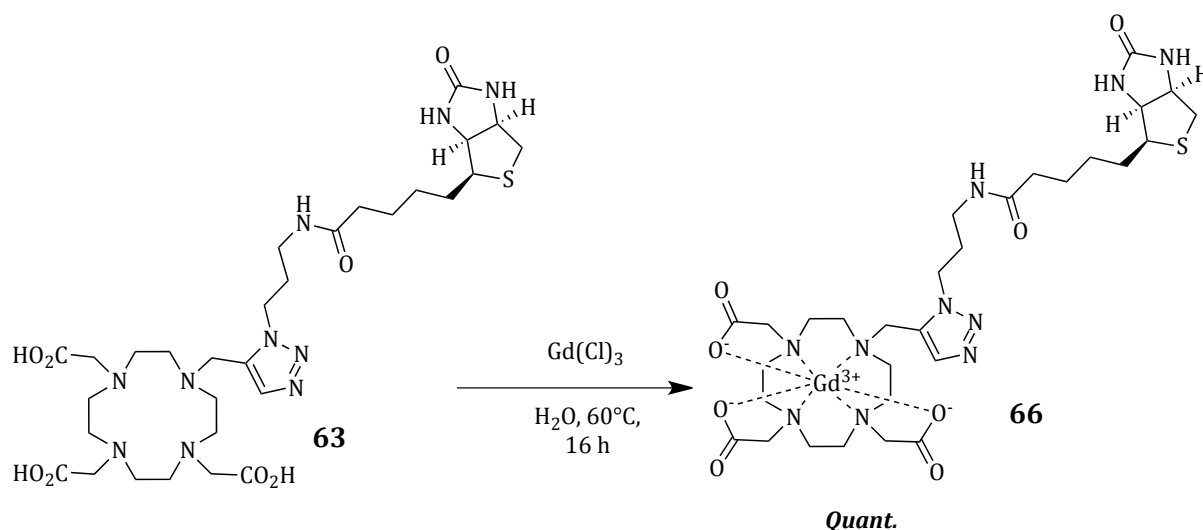


Schéma 2.25 : Formation du complexe Gd-DO3A-biotine 66

Afin de déterminer le potentiel en IRM de cet agent, des mesures de temps de relaxation ont été réalisées par le CRMSB (Centre de Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques). Les taux de relaxations R_1 et R_2 ($1/T_1$ et $1/T_2$) ont ainsi été mesurés à différentes concentrations de 50 mM à 0,4 mM à 4,7 T. Les valeurs de relaxivités sont alors obtenues par calcul de la pente de la droite de la relaxation en fonction de la concentration. La relaxivité r_1 est de $0,7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ et la relaxivité r_2 de $1,1 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (cf Figure 2.5 et 2.6). Les données sont bien linéaires, ce qui prouve que l'agent obtenu a bien un effet sur les temps de relaxation et qu'il est donc potentiellement utilisable afin d'améliorer le contraste en IRM.

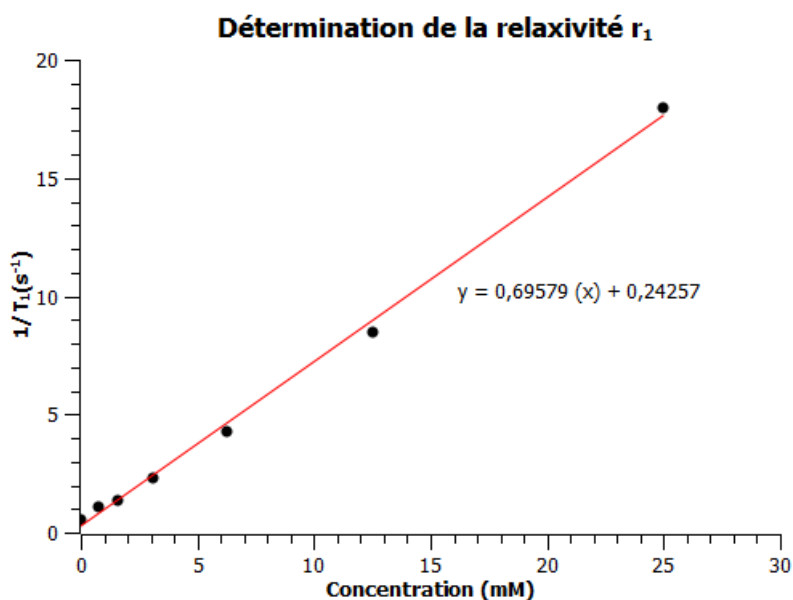


Figure 2.5 : Mesure de la relaxivité r_1 du Gd-DO3A-Biotine 66

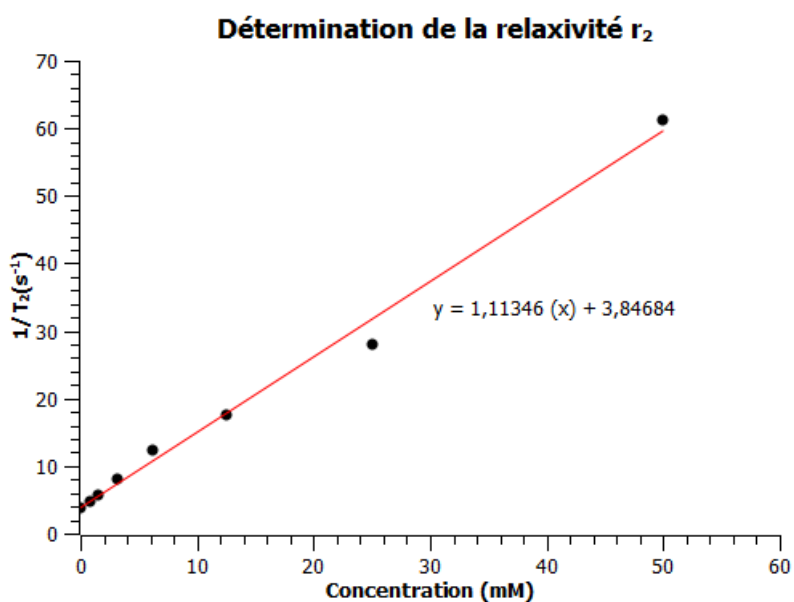


Figure 2.6 : Mesures de la relaxivité r_2 du Gd-DO3A-Biotine 66

Le précurseur DO3A-Biotine a été marqué avec succès à la fois par du gallium 68 et par du gadolinium. Le marquage au gallium 68 a été réalisé avec un très bon rendement radiochimique. De plus, le complexe de gadolinium induit bien un effet sur la relaxivité. Les valeurs de relaxivité calculées paraissent assez faibles en comparaison à celle du Dotarem® ($r_1 = 2,8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ et $r_2 = 3,7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 4,7 T).¹⁵² Cependant, contrairement à celui-ci, les agents développés dans cette partie, ont pour but d'être spécifiques et seront

donc à priori distribués sélectivement aux tissus et/ou aux organes ciblés afin d'améliorer leur contraste. Cet agent semble donc prometteur pour l'imagerie bimodale IRM/TEP.

De plus, contrairement au cuivre, les complexes de ruthénium utilisés pour catalyser la réaction de chimie « click » n'influent pas sur la complexation du gadolinium et du gallium 68. Il est donc possible de réaliser l'introduction du métal d'intérêt en dernière étape, comme il l'était envisagé, afin d'obtenir une plateforme utilisable pour différentes modalités d'imagerie.

2. SYNTHÈSE DE DIMÈRES DE BIOMOLÉCULES

Il a été démontré dans la littérature que l'affinité des traceurs vis-à-vis de leur cible biologique pouvait être améliorée en synthétisant des dimères de biomolécules.¹⁰⁷ Ce phénomène s'explique par un double effet : d'une part deux biomolécules peuvent se lier à deux récepteurs biologiques de manière simultanée et d'autre part la concentration locale en biomolécule est augmentée.

Il a donc été envisagé de synthétiser des macrocycles DO3A difonctionnalisés afin de permettre l'introduction de deux biomolécules identiques. L'idée a été de créer une banque de précurseurs portant différents types de fonctions pour permettre ainsi le greffage de biomolécules comportant des fonctions chimiques diverses (cf Schéma 2.26). En effet, de nombreuses molécules d'intérêt biologique sont commercialisées avec une fonction acide, activée par des groupements de type NHS, lesquelles pourraient alors réagir sur des plateformes de type diamminées pour former des liaisons peptidiques. En outre, un tel précurseur permettrait également de coupler des aldéhydes par amination réductrice ou encore des acides phosphoriques. Une grande variété de biomolécules est également disponible avec une fonction acide libre, il a donc été également envisagé de synthétiser un macrocycle fonctionnalisé par un diol qui permettrait une bioconjugaison sur cette fonction par estérification. Enfin, il a paru intéressant d'utiliser la chimie « click » catalysée par des complexes de ruthénium développée dans la partie précédente. Deux stratégies ont alors été suivies se traduisant par la synthèse soit d'un composé diazoture soit d'un dialcyne. Pour terminer, il a été envisagé d'introduire un espaceur de type triéthylène glycol entre le macrocycle et les biomolécules afin d'étudier son influence sur la réaction de bioconjugaison (cf Schéma 2.26).

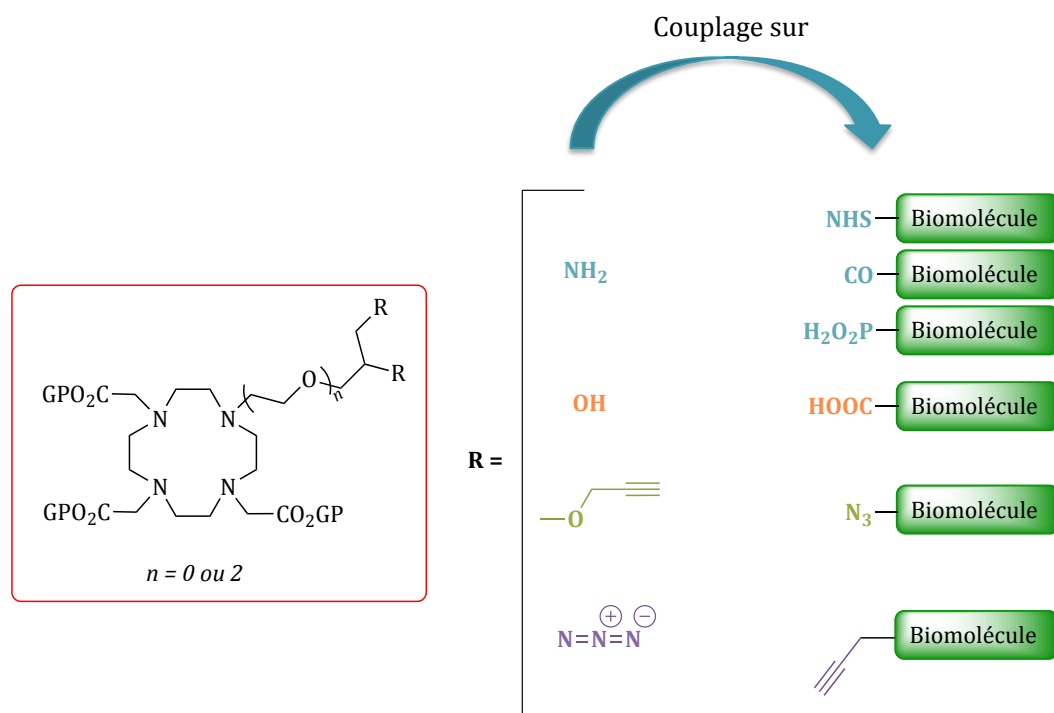


Schéma 2.26 : Structures des plateformes difonctionnalisées envisagées

2.1. SYNTHÈSE DES PLATEFORMES DIFONCTIONNALISÉES SANS ESPACEUR

2.1.1. Synthèse d'une plateforme diaminée

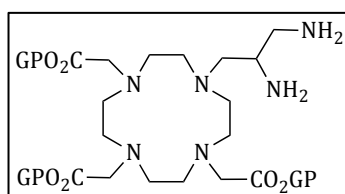


Schéma 2.27 : Structure de la plateforme di-aminée

L'acide di-aminopropionique présente deux fonctions amines et une fonction acide carboxylique et semble donc être un réactif de choix pour la synthèse de la plateforme diaminée. La stratégie envisagée a été d'introduire un atome de brome afin de permettre un couplage par *N*-alkylation sur le macrocycle DO3A protégé. Les fonctions amines ont alors dû être protégées afin d'éviter qu'elles ne réagissent une fois le brome introduit (cf Schéma 2.28).

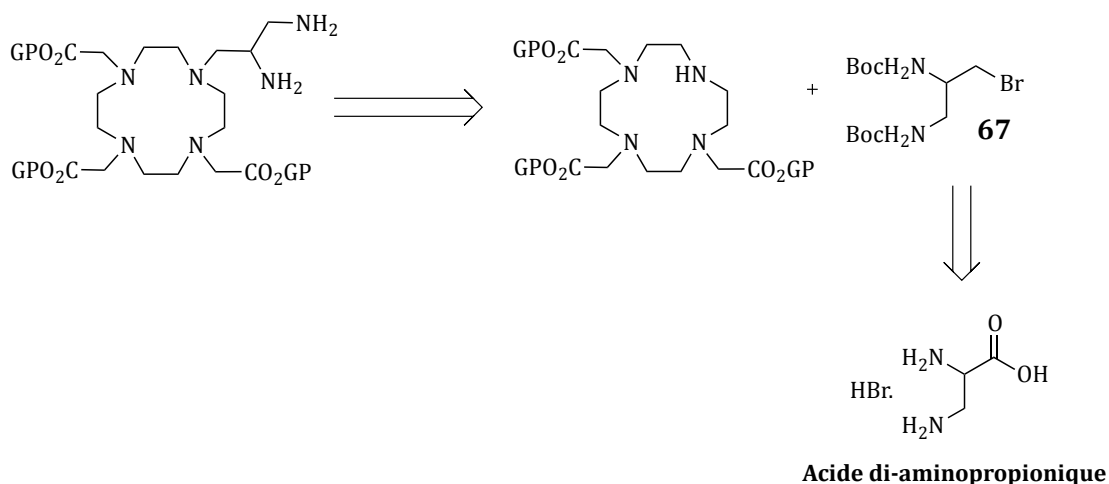


Schéma 2.28 : Stratégie pour la synthèse de la plateforme diaminée

Afin de pouvoir introduire un groupement bromo, une première stratégie a été de réduire l'acide en alcool avant de réaliser la bromation. Pour cela, dans un premier temps, les fonctions amines ont été protégées par un groupement Boc.

Les deux groupements Boc ont été introduits par réaction avec le dicarbonate de *t*-butyle en présence de triéthylamine à température ambiante pendant 24 h (cf Schéma 2.29). Le produit formé comporte une fonction acide le rendant très polaire et est par ailleurs difficile à révéler sur CCM. En effet, il ne réagit pas avec les révélateurs couramment utilisés au laboratoire tels que l'acide phosphomolibdique, le nitrate d'ammonium cérique ou le permanganate de potassium.

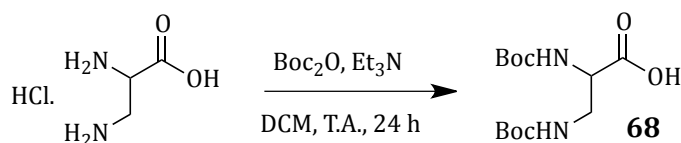


Schéma 2.29 : Protection de l'acide diaminopropionique

Afin de faciliter cette réaction, il a été choisi d'introduire en première étape un ester méthylique sur la fonction acide. L'ester méthylique présente ici un double avantage. En effet, la polarité du produit formé est diminuée et ainsi sa purification facilitée. De plus, la fonction ester sera plus facilement réduite en alcool.

Le composé di-amino ester **69** est obtenu après réaction avec du chlorure de thionyle dans le méthanol à reflux. Le composé est isolé de manière quantitative, après simple coévaporation avec du dichlorométhane afin d'éliminer le chlorure de thionyle. Les groupements Boc ont alors pu être ensuite introduits par réaction avec le dicarbonate de *t*-butyle en présence de triéthylamine dans le DMF. Le composé protégé **70** a ainsi pu être isolé avec un rendement de 92% (cf schéma 2.30).

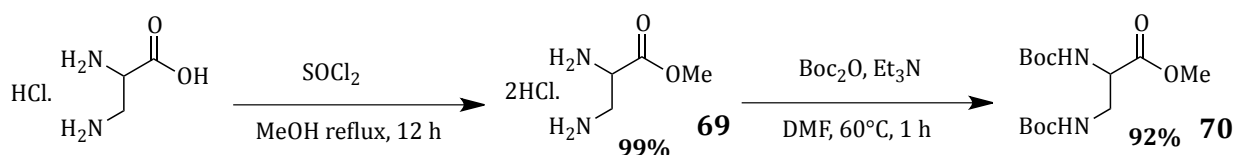


Schéma 2.30 : Synthèse du composé diamino ester 70

La réduction de la fonction ester par réaction avec le borohydrure de sodium dans du THF à reflux a permis d'obtenir l'alcool **71** avec 80% de rendement. Cette fonction a par la suite été tosylée selon les conditions décrites par Yoshida *et al.*¹⁵³ lesquelles nécessitent l'utilisation de chlorure de tosyloxy en présence de triéthylamine et de triméthylamine hydrochlorée en quantité catalytique. L'utilisation de triméthylamine hydrochlorée permet de générer *in situ* le sel « TsN⁺Me₃Cl⁻ » qui est un excellent agent de tosylation. Ainsi le composé tosylé a pu être isolé avec un très bon rendement de 93%. L'introduction de l'atome de brome a été réalisée par substitution du groupement tosyloxy par le bromure de lithium. Cependant, le tosyloxy **72** se dégradant lors du chauffage, la réaction de bromation a dû être réalisée à température ambiante, expliquant le rendement de 70% inférieur aux rendements habituellement obtenus (cf schéma 2.31).

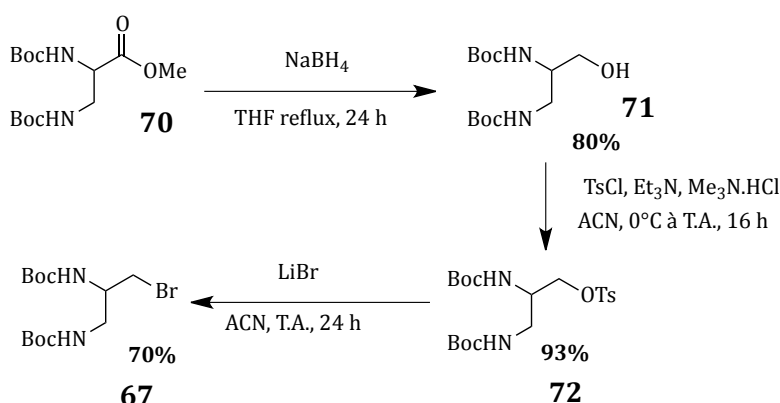


Schéma 2.31 : Synthèse du composé bromé 67

Le composé bromé a pu être ensuite introduit par *N*-alkylation sur le macrocycle DO3A triprotégé. Les groupements Boc et esters *t*-butyliques se clivant dans les mêmes conditions, il a été nécessaire de changer de groupement protecteur pour le macrocycle. Il a été choisi de travailler avec des esters éthyliques, qui eux se déprotègent en milieu basique. Le composé obtenu ne précipite pas sous forme de sel hydrobromé contrairement au composé protégé par les esters *t*-butyliques. Une chromatographie sur gel de silice est alors nécessaire. Le faible rendement obtenu de 35% s'explique en partie par la difficulté de cette purification, le produit **73** étant fortement retenu sur la silice (cf Schéma 2.32).

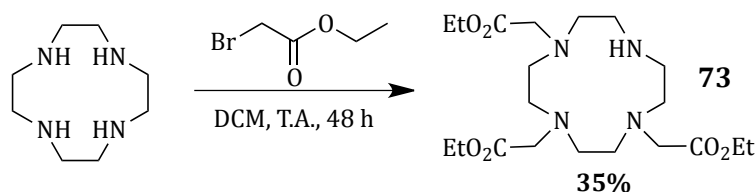


Schéma 2.32 : Protection du DO3A par des esters éthyliques

Le macrocycle protégé a pu alors être couplé au composé bromé **67** par réaction avec du carbonate de potassium dans le DMF à 70°C avec un rendement de 45%. Le TFA a ensuite été utilisé pour déprotéger les groupements Boc. Une grande quantité de sels de TFA a été générée, il a alors été nécessaire de purifier le milieu réactionnel sur une résine AG1-X2. Il s'agit d'une résine échangeuse d'anions qui permet d'échanger les ions TFA par des ions chlorures. Le composé DO3A-diaminé **75** a ainsi pu être obtenu avec un rendement quantitatif (cf Schéma 2.33).

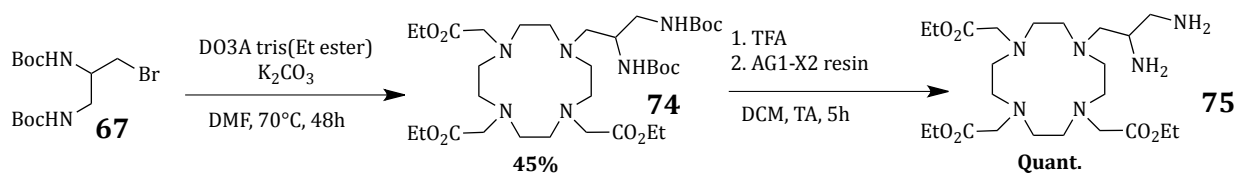


Schéma 2.33 : Synthèse du composé DO3A-Diaminé

Le DO3A-diaminé **75** a ainsi pu être synthétisé avec succès en 7 étapes avec un rendement global de 21%.

Il est alors possible d'utiliser ce composé pour coupler des biomolécules présentant entre autres des fonctions NHS, comme par exemple la biotine-NHS précédemment utilisée.

2.1.2. Synthèse de la plateforme diol

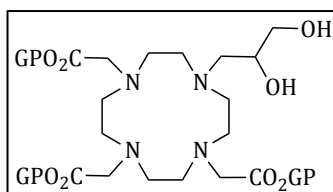
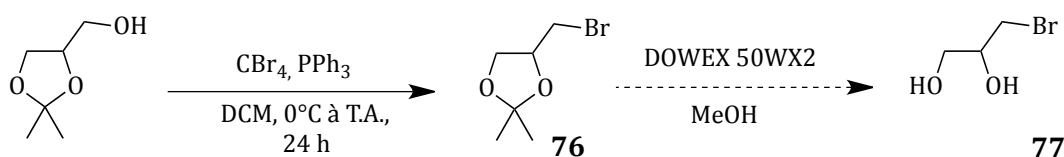


Schéma 2.34 : Structure de la plateforme diol

Afin d'obtenir la plateforme comportant les deux fonctions alcools, il a été choisi de travailler avec un dérivé commercial du glycérol, le solketal, qui présente deux fonctions alcools masquées par un groupement acétone. La stratégie de synthèse initiale a été de bromer la fonction alcool libre par réaction d'Appel avant de cliver l'acétone avec une résine acide, la DOWEX 50WX2. Malheureusement, le dérivé bromé du solketal **76** s'est avéré très volatil et difficile à isoler (cf Schéma 2.35).



*Schéma 2.35 : Synthèse du diol **77** par bromation du solketal*

Il a alors été décidé de réaliser l'introduction du brome et l'ouverture du solketal en synthèse monotope (« one pot synthesis »), avec de la DOWEX et de purifier le diol **77**. Malheureusement, quel que soit le système d'éluant utilisé (Hex/EtOAc, DCM/EtOAc, Et₂O/EtOAc) le diol formé migre au même niveau que l'oxyde de triphénylphosphine généré par la réaction d'Appel et il a été impossible de faire précipiter sélectivement l'oxyde de triphénylphosphine afin d'isoler le bromé **77** (cf Schéma 2.36).

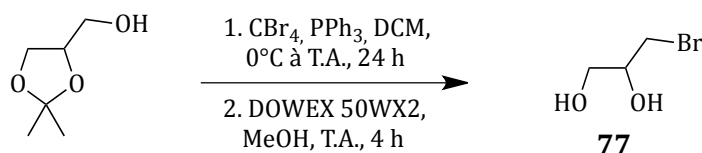


Schéma 2.36 : Synthèse monotope du diol 77

L'alternative a alors été de tosyler le solketal selon les conditions de Yoshida,¹⁵³ puis d'ouvrir le solketal par de la DOWEX 50WX2 et enfin de réaliser la bromation du diol par réaction avec du bromure de lithium. Le composé diol bromé **77** est ainsi obtenu avec un rendement global de 74% (cf Schéma 2.37).

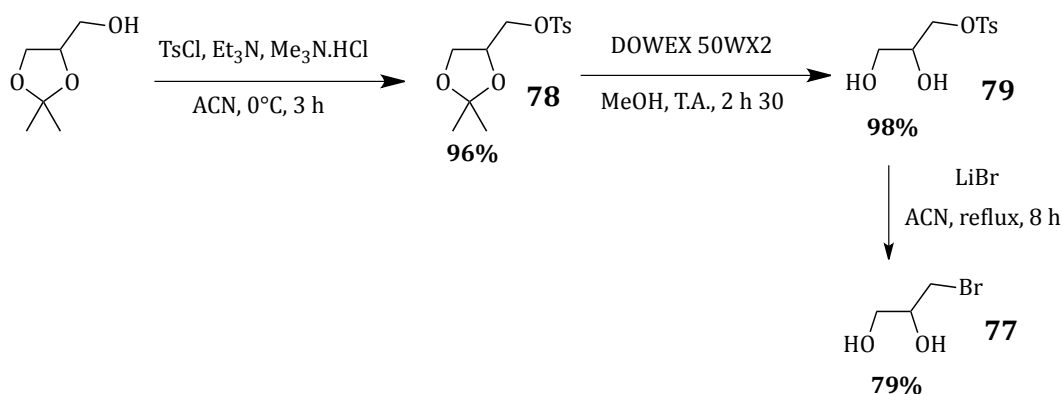


Schéma 2.37 : Synthèse du composé bromo-diols 77 en utilisant un intermédiaire tosylé 79

Ce composé a été introduit sur le dérivé DO3A protégé par des groupements esters *t*-butyliques dans les conditions précédemment décrites. Le DO3A diol **80** a ainsi été obtenu avec un rendement de 55% (cf Schéma 2.38).

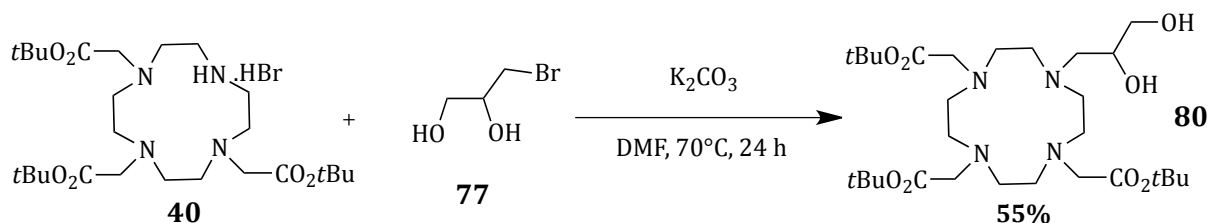


Schéma 2.38 : Synthèse de la plateforme DO3A-diol 80

L'accès à une nouvelle plateforme DO3A diol a donc finalement pu être réalisée en 4 étapes de synthèse.

2.1.3. Synthèse de la plateforme diazoture

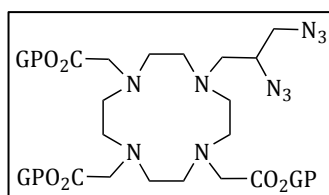
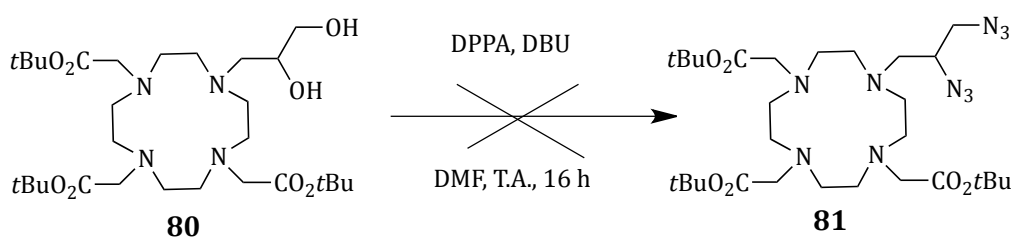


Schéma 2.39 : Structure de la plateforme diazoture

La méthode semblant la plus simple afin d'obtenir ce composé est d'utiliser la plateforme DO3A diol **80** précédemment synthétisé et d'introduire deux fonctions azotures par réaction avec le DPPA et une base, le DBU (cf Schéma 2.40).



*Schéma 2.40 : Synthèse de la plateforme diazoture **81** à partir du diol **80***

Par cette réaction, la plateforme DO3A-diazoture n'a pas pu être obtenue. Il a été envisagé de synthétiser l'azoture directement sur le composé bromodiol **77** afin de l'introduire ensuite sur le DO3A triprotégé.

Ici encore, du DBU et du DPPA ont été testés. La CCM indique bien la disparition du diol de départ (Schéma 2.41).

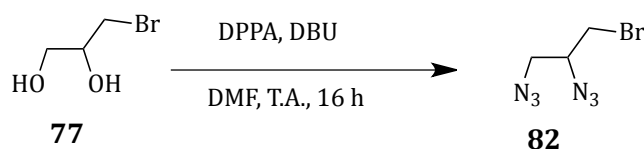


Schéma 2.41 : Synthèse du dérivé bromo-diazoture

Cependant, en l'absence de méthode adéquate pour révéler le produit formé, ce dernier n'a pas pu être purifié. Le diazoture étant plus difficile à obtenir que prévu, il a été choisi de se concentrer sur la synthèse du dialcyne qui peut lui aussi intervenir dans une réaction de chimie « click ».

2.1.4. Synthèse de la plateforme dialcyne

2.1.4.1. Synthèse de la plateforme difonctionnalisée

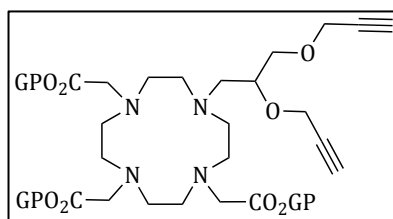
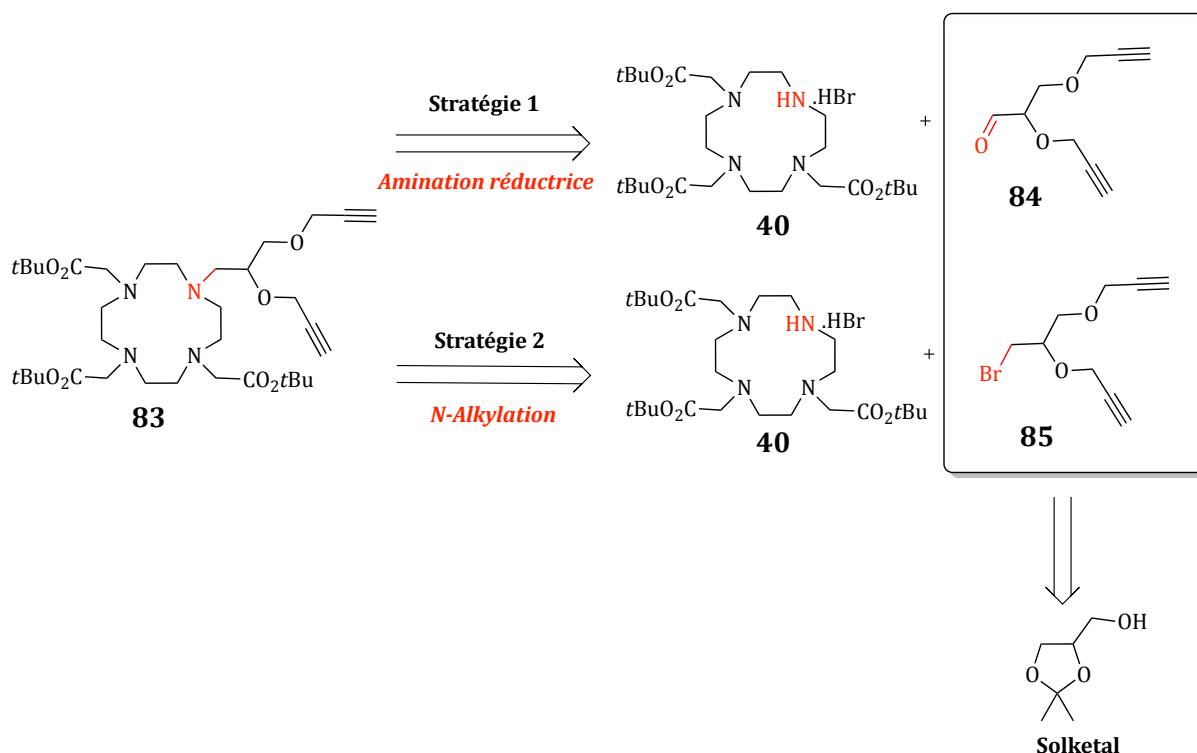


Schéma 2.42 : Structure de la plateforme dialcyne

L'obtention de ce composé a nécessité la synthèse d'une plateforme contenant deux fonctions propargyles qui pourraient être liées sur le macrocycle DO3A de manière simple avec de bons rendements. Deux stratégies ont été envisagées quant à l'introduction de cette plateforme dipropargylée sur le dérivé DO3A(*t*Bu)₃ (cf Schéma 2.43) :

- la première nécessite l'introduction sur la plateforme dipropargylée d'une fonction aldéhyde qui pourra ensuite réagir sur l'amine secondaire du DO3A par amination réductrice¹⁵⁴
- la seconde stratégie est d'introduire une fonction bromo sur le dipropargyle afin qu'il puisse réagir avec le macrocycle DO3A *via* une *N*-alkylation.

Comme il a été montré précédemment, les dérivés du glycérol constituent des composés de choix pour la synthèse de telles plateformes multifonctionnalisées puisqu'ils possèdent trois fonctions alcools qui peuvent être fonctionnalisées et qu'ils sont généralement commercialisés. Il a semblé judicieux de travailler une nouvelle fois avec le solketal.



*Schéma 2.43: Rétrosynthèse de la plateforme DO3A-dipropargylé **83***

- Stratégie 1 : Synthèse de l'aldéhyde dipropargylé :

Afin d'obtenir la plateforme dipropargylée, la première étape a concerné la protection de la fonction alcool primaire libre par un groupement protecteur de type silane : le TBDPS (*t*-butyldiphénylesilane). Il a été introduit par réaction entre la fonction alcool et le chlorure de *t*-butyldiphénylesilane (cf Schéma 2.44) en présence d'imidazole avec un rendement de 90%. Une fois l'alcool protégé, l'acétonide a été clivé en milieu acide par de l'acide acétique à reflux afin de générer le diol **87** avec un rendement de 91%. Les deux fonctions propargyles ont alors été introduites par réaction de Williamson : les fonctions alcools ont été déprotonées par de l'hydrure de sodium puis une substitution nucléophile du bromure de propargyle a conduit à la formation de l'éther dipropargylé **88** avec un rendement de seulement 19%. En effet, le groupement TBDPS ne semble pas résister aux conditions expérimentales et un mélange des composés monopropargylé, dipropargylés et tripropargylé est obtenu.

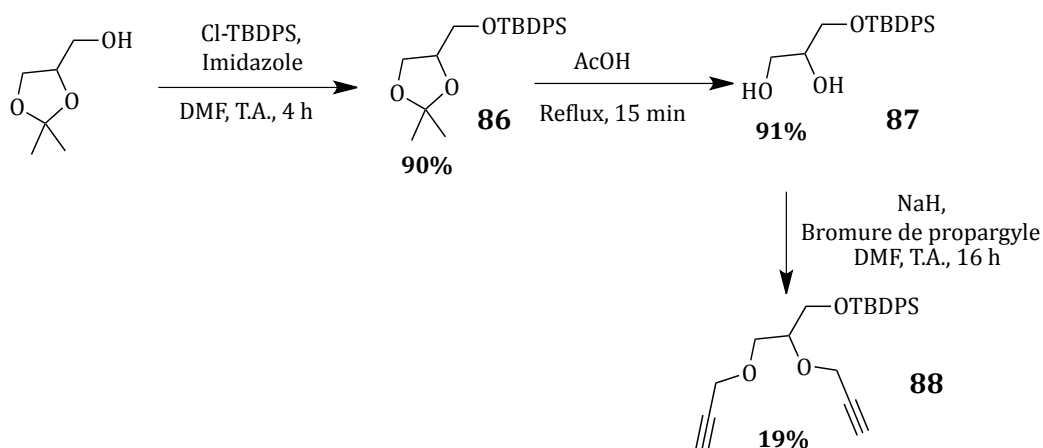


Schéma 2.44 : Synthèse du dipropargylé protégé par un TBDPS **88**

Il a alors été choisi de changer la nature de ce groupement protecteur par l'utilisation d'un *p*-methoxyphenol (PMP) qui permet de former un éther qui se clive en milieu oxydant. L'éther est synthétisé par réaction de Mitsunobu dans le toluène (cf Schéma 2.45). Après purification, le produit protégé **89** est obtenu avec un rendement de 93%. L'acetonide a été clivé après agitation en présence d'une résine acide, la DOWEX-50WX2, et purification sur gel de silice ou recristallisation (dans un mélange Hex/EtOAc) avec un rendement de 87%. Enfin, les deux fonctions propargyles ont été introduites ici encore par réaction de Williamson, avec l'utilisation d'un large excès d'hydrure de sodium et de bromure de propargyle (6 éq). Le composé dipropargylé protégé **91** a ainsi été isolé avec un excellent rendement de 94%.

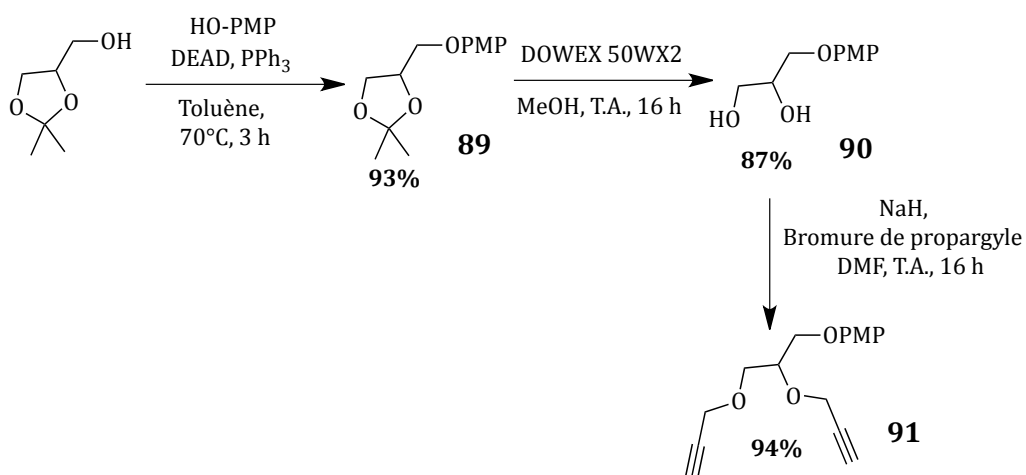


Schéma 2.45 : Synthèse du dipropargylé protégé par un PMP **91**

L'étape suivante a consisté en la déprotection de la fonction alcool primaire. Le PMP a été clivé par oxydation avec du CAN (nitrate d'ammonium cérique) avec 89 % de rendement (cf Schéma 2.46).

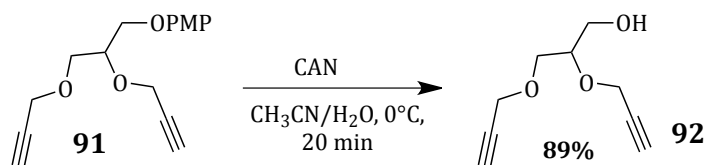


Schéma 2.46 : Synthèse de l'alcool 92

L'alcool généré a ensuite été réoxydé afin d'obtenir l'aldéhyde **84**. Pour cela, différentes conditions d'oxydation ont été testées. Cette réaction a été réalisée, en première approche, au moyen de composés iodés hypervalents tels que l'IBX (acide 2-iodobenzoïque), le periodane de Dess-Martin ou encore avec du phényliododiacétate. Les rendements obtenus étant de l'ordre de 30% cette réaction a ensuite été testée avec de l'hypochlorite de sodium et du TEMPO (2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-1-yl)oxy en présence de KBr. Malgré la volatilité du produit, l'aldéhyde **84** a pu être isolé dans ce cas avec un rendement de 65% (cf Schéma 2.47).

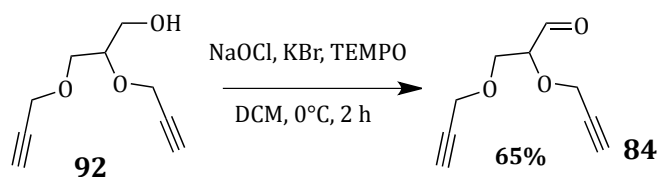


Schéma 2.47 : Oxydation de l'alcool 92

Le mécanisme de cette réaction passe par l'oxydation du TEMPO par l'hypochlorite de sodium. Le KBr permet alors d'échanger l'ion chlorure en bromure afin d'augmenter la solubilité de l'ion nitrosonium en phase organique qui est ensuite attaqué par l'alcool. Après β -élimination, l'aldéhyde est obtenu et le nitrosonium est régénéré par oxydation avec l'hypochlorite de sodium (cf Schéma 2.48).

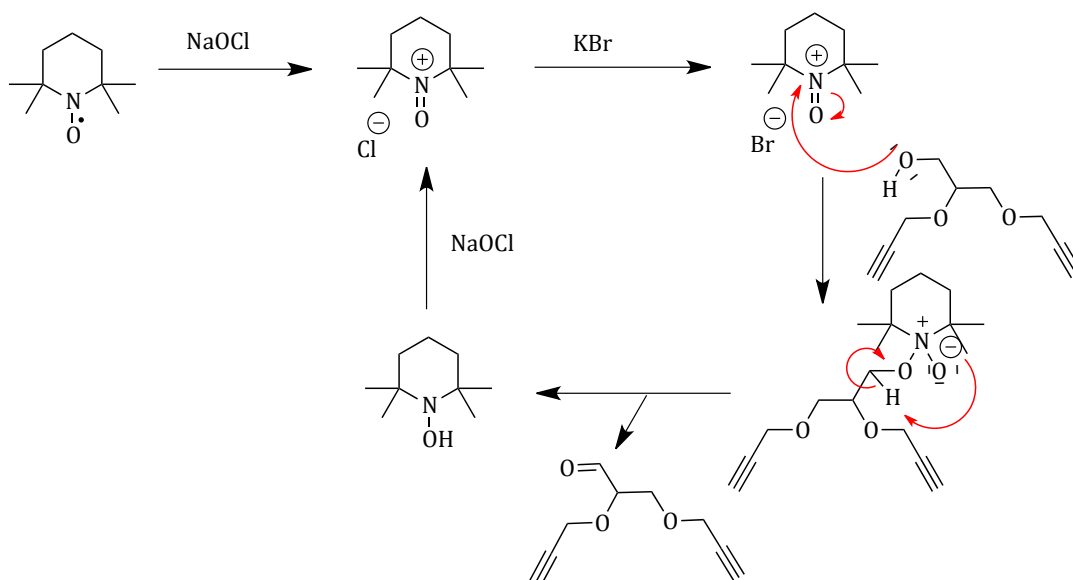
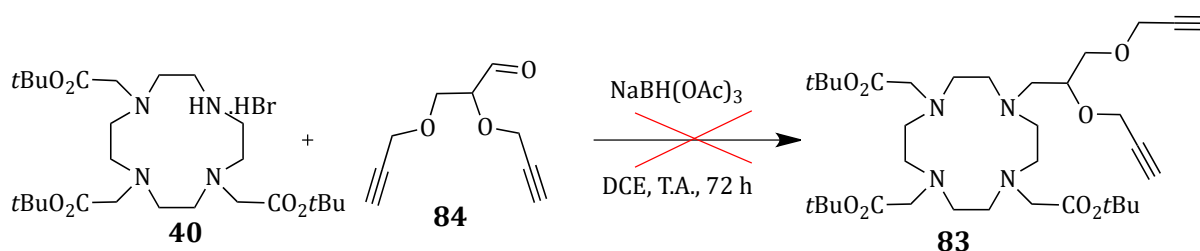


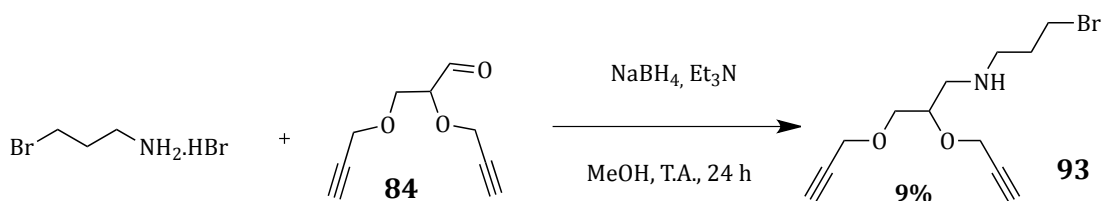
Schéma 2.48 : Mécanisme de l'oxydation par réaction avec l'hypochlorite de sodium et le TEMPO.

L'étape suivante a donc été le couplage de l'aldéhyde obtenu sur le dérivé DO3A(*t*Bu)₃ par amination réductrice en présence de triacétoxyborohydrure de sodium. Ces conditions ne permettent pas l'introduction de la plateforme dipropargylée (cf Schéma 2.49). L'hypothèse émise est que l'encombrement stérique du DO3A autour de la fonction amine empêche la réaction de se faire et de former l'iminium.



*Schéma 2.49 : Réaction d'amination réductrice entre le DO3A **40** et l'aldéhyde **84***

Afin d'éviter le problème d'encombrement stérique, l'aldéhyde **84** a été couplé sur un bras bromopropylamine qui pourra être par la suite introduit sur le DO3A(*t*Bu)₃. Différentes conditions ont été testées par changement de la nature du borohydrure, du solvant et de la température de la réaction. Le meilleur rendement obtenu, de 9%, l'a été avec l'utilisation de borohydrure de sodium en présence de triéthylamine dans le méthanol anhydre à température ambiante (cf Schéma 2.50).

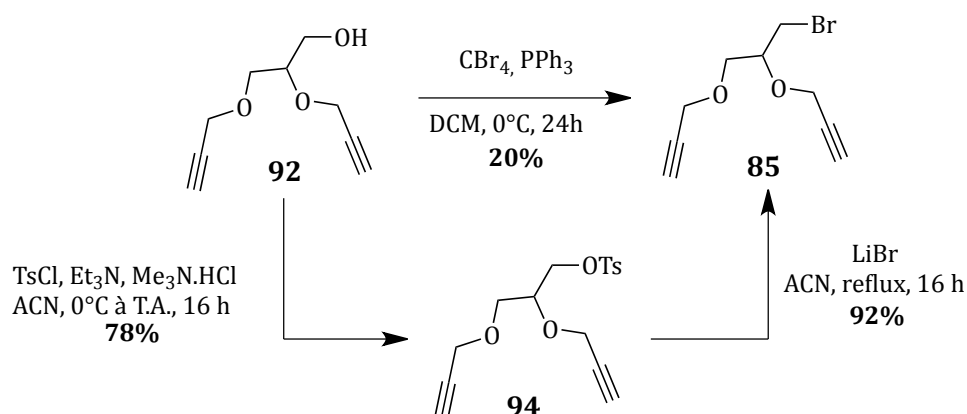


*Schéma 2.50 : Réaction d'amination réductrice entre l'hydrobromure de 3-bromopropylamine et l'aldéhyde **84***

Ce résultat n'étant pas satisfaisant, la deuxième stratégie qui consiste à faire le couplage de la plateforme dipropargylée sur le macrocycle DO3A par *N*-alkylation a été testée.

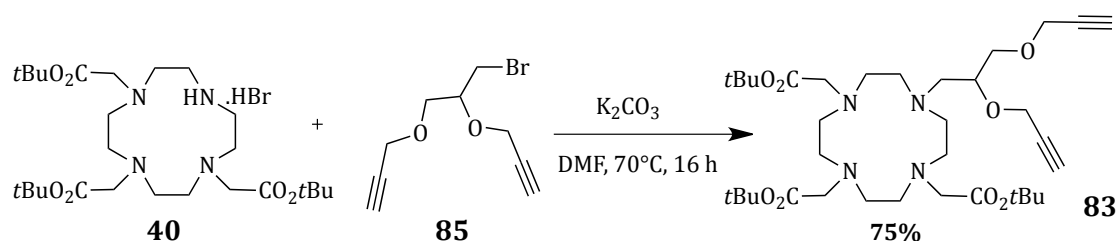
- Stratégie 2 : Synthèse du dérivé bromé et *N*-alkylation

Afin d'avoir accès au composé bromé dipropargylé **85**, la stratégie la plus simple a semblé être l'introduction d'un brome *via* une réaction d'Appel sur l'alcool **93** (cf Schéma 2.51). Par cette méthode, le composé bromé a été obtenu avec un rendement de seulement 20%. Afin d'améliorer le rendement, l'alternative adoptée a alors été d'incorporer encore une fois un groupement tosylo selon la méthode de Yoshida *et al.*¹⁵³ La bromation a ensuite pu être réalisée au moyen de bromure de lithium par substitution du groupement tosylo par l'ion bromure. Le rendement global obtenu sur ces deux étapes a été de 72%.



*Schéma 2.51 : Synthèse du bromodipropargyle **85***

Le couplage par *N*-alkylation entre le DO3A(*t*Bu)₃ et le composé bromé a été réalisé en présence de carbonate de potassium dans le DMF à 70°C. Le composé **83** a été isolé après purification sur colonne de silice avec un rendement de 75% (cf schéma 2.52).

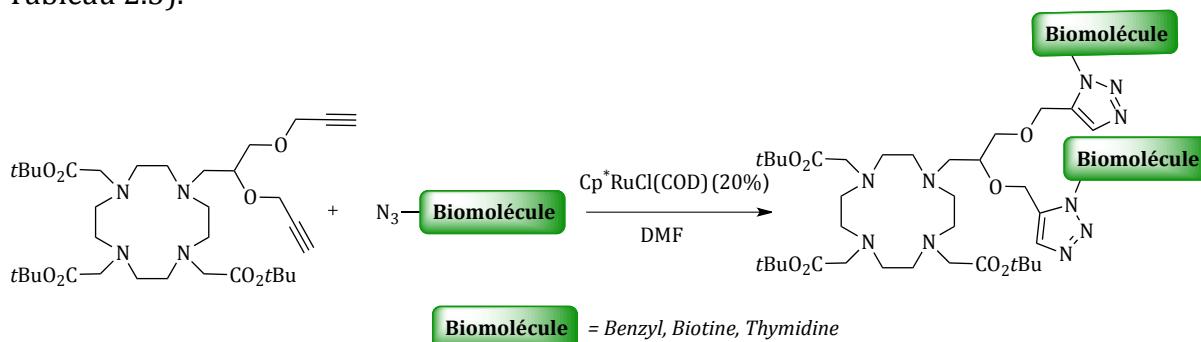


*Schéma 2.52 : Synthèse du dipropargyle final **83** par N-alkylation*

Cette stratégie a finalement permis l'obtention de la plateforme dipropargylée **83** en 7 étapes avec un bon rendement global de 36%.

2.1.4.2. Essais de bioconjugaison par chimie « click » catalysée au ruthénium

Parmi les différentes plateformes difonctionnalisées synthétisées, il a été choisi d'utiliser la plateforme dipropargylée afin de valider la conjugaison de biomolécules. Cette dernière permet d'utiliser la réaction de chimie « click » catalysée par des complexes de ruthénium développée dans la partie précédente. Il a donc été choisi de travailler une nouvelle fois ici, avec les azotures de benzyle, de biotine et de thymidine en parallèle (cf Tableau 2.5).



Entrée	Azoture	Conditions	Produit	Rendement (%)
1	Benzyle	60°C, Δ, 16 h	(95)	-
2	Benzyle	80°C, μW, 30 min	(95)	12%
3	Biotine	60°C, Δ, 16 h	(96)	-
4	Biotine	80°C, μW, 30 min	(96)	-
5	Thymidine	60°C, Δ, 16 h	(97)	-
6	Thymidine	80°C, μW, 30 min	(97)	-

Tableau 2.5 : Essais de bioconjugaison par chimie « click » catalysée au ruthénium

Les réactions de couplage ont été testées dans les conditions classiques (entrées **1**, **3** et **5**) et dans les conditions optimisées sous microondes (entrées **2**, **4** et **6**) avec les trois substrats. Malheureusement, seule la conjugaison du benzyle sous microondes (entrée **2**) permet d'isoler un produit de couplage avec un rendement restant très faible. Dans tous les cas les CCMs révèlent la présence d'une grande quantité de produits de départ et de produits de dégradation.

Une hypothèse pour expliquer le manque de réactivité du composé dipropargylé vis-à-vis de la réaction de chimie « click » est que la molécule présente un encombrement stérique trop important au niveau des propargyles rendant difficile la réaction de chimie « click ».

Afin de remédier à ce problème, une nouvelle molécule dipropargylée possédant une chaîne triéthylène glycol a été synthétisée (cf Schéma 2.53). Cette dernière joue le rôle d'espaceur entre le macrocycle et les fonctions propargyles afin de réduire l'encombrement stérique et permet également d'apporter une meilleure flexibilité. D'autre part, le triéthylène glycol a été choisi car ce type d'espaceur permet de moduler la balance hydrophile/hydrophobe de la molécule finale. La balance hydrophile/hydrophobe est en effet un paramètre important à considérer si l'on veut passer les barrières hématoencéphaliques (lipophiles) et/ou si l'on veut favoriser la circulation sanguine et l'élimination rénale (hydrophile).

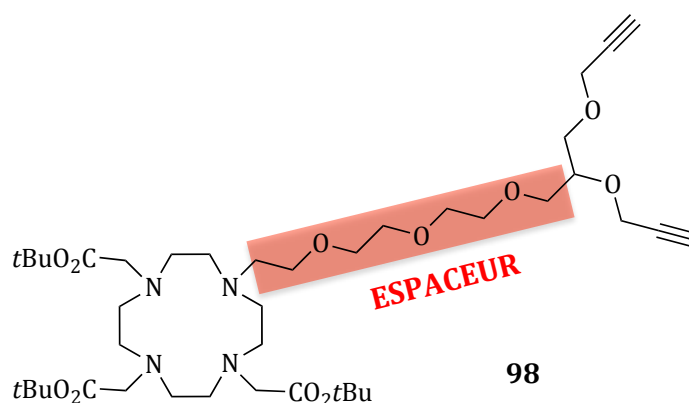


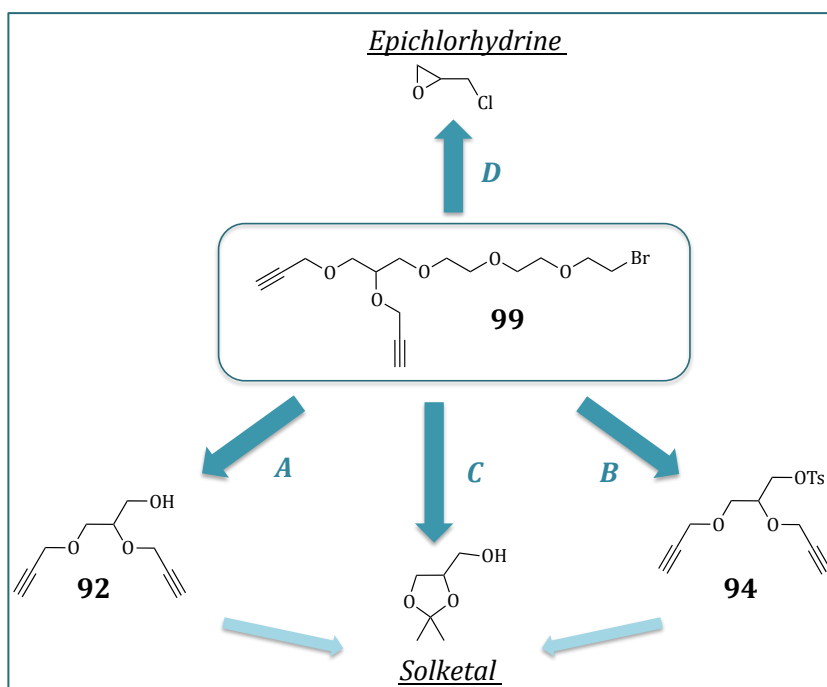
Schéma 2.53 : Introduction d'un espaceur triéthylène glycol

2.2. SYNTHÈSE D'UNE PLATEFORME DIFONCTIONNALISÉE AVEC UN ESPACEUR

2.2.1. Synthèse la plateforme dipropargylée

L'étape clé concerne la préparation de l'intermédiaire dipropargylé sur lequel une chaîne triéthylène glycol est insérée et dont la fonction alcool libre pourra ensuite être bromée pour donner un intermédiaire qui sera couplé à un dérivé DO3A par *N*-alkylation.

Différentes stratégies peuvent être envisagées afin de donner accès à ce synthon. La première (stratégie **A**) est d'utiliser l'alcool précédemment synthétisé **92** et de le faire réagir avec un intermédiaire triéthylène glycol tosylé et protégé. La deuxième (stratégie **B**) est d'utiliser le dérivé tosylé du dipropargylé **94**, lui aussi synthétisé dans la partie précédente, et de le faire réagir avec le triéthylène glycol dont une fonction alcool aurait été sélectivement protégée. Enfin, si les rendements de ces réactions ne sont pas acceptables, il pourra être envisagé d'insérer la chaîne triéthylène glycol en amont de la synthèse, sur un dérivé du glycérol commercial. Deux dérivés pourront alors être utilisés : le solketal (stratégie **C**) ou l'épichlorhydrine (stratégie **D**, cf Schéma 2.54).



*Schéma 2.54 : Stratégies de synthèse de l'intermédiaire dipropargylé
-triéthylène glycol 99*

- Stratégie A :

Pour cette stratégie, il a été choisi de protéger une des fonctions alcools du triéthylène glycol sous la forme d'un benzoyle. Ce dernier est introduit par réaction avec le chlorure de benzoyle en présence de pyridine dans le dichlorométhane. Le triéthylène glycol protégé **100** a ainsi pu être isolé avec un rendement de 89%. L'activation de la seconde fonction alcool par un groupement tosyloxy a été effectuée dans les conditions de Yoshida¹⁵³ décrites précédemment, avec un rendement de 94% (cf Schéma 2.55).

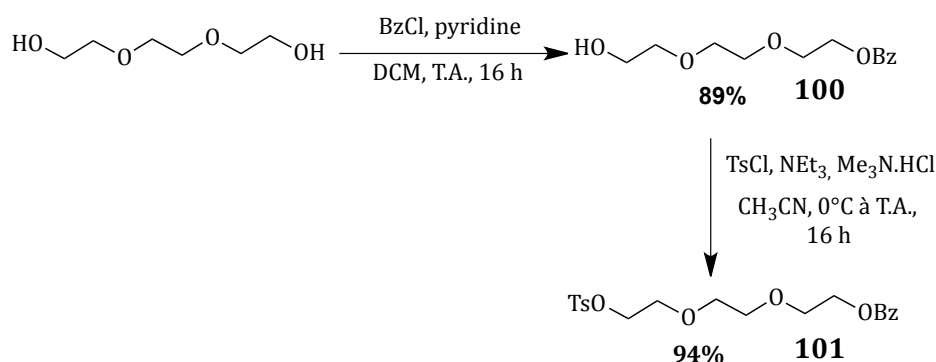


Schéma 2.55 : Synthèse du triéthylène glycol protégé tosylé **101**

La substitution du composé tosylé **101** a d'abord été testée avec l'alcoolate de **92** en présence de NaH comme base dans le THF à reflux (cf Schéma 2.56). Le produit désiré n'a pas été obtenu, en effet la réaction ayant lieu est en fait un transfert du groupement benzoyle sur l'alcool dipropargylé. Le solvant a alors été modifié en utilisant du DMF à la place du THF de même que la nature de la base en remplaçant le NaH par le *t*BuOK. Dans les deux cas des résultats similaires ont été obtenus

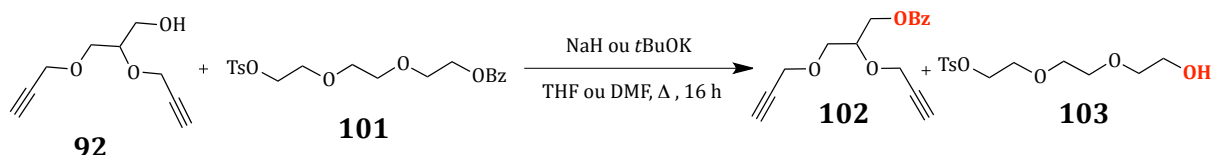
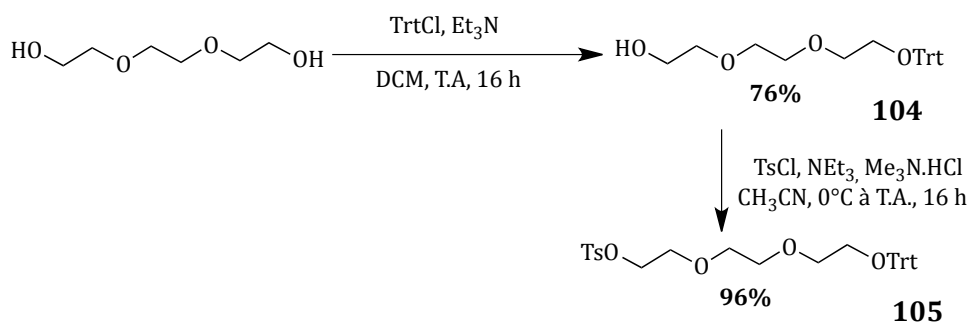


Schéma 2.56 : Réaction entre l'alcool **92** et **101**

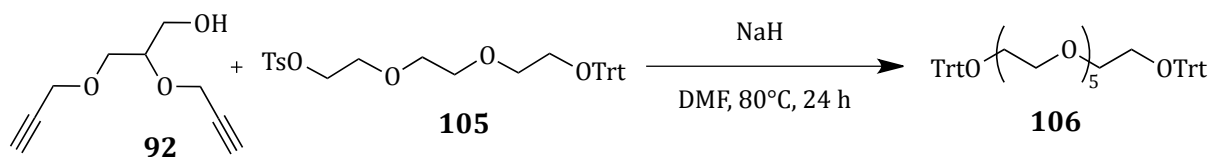
Il a paru alors nécessaire de changer la nature du groupement protecteur. Un trityl a été sélectionné car ce type de groupement est connu pour résister à des conditions de réactions basiques. De plus, ce groupement présente également l'avantage d'être visible

en UV grâce à ses trois cycles aromatiques. Il est également facilement clivable par réaction avec du TFA. Il a été introduit sur le triéthylène glycol par substitution du chlorure de trityle en présence de triéthylamine avec un rendement de 76%. Le produit tosylé **105** a ensuite été isolé avec un rendement de 96% (cf Schéma 2.57).



*Schéma 2.57 : Synthèse du triéthylène glycole tritylé tosylé **105***

La réaction de couplage avec l'alcool **92** a été testée en présence de NaH dans le DMF à température ambiante. Après 24 h aucune réaction n'a pu être observée par CCM. Le milieu réactionnel a alors été chauffé à 80°C. La RMN du produit obtenu indique des signaux liés au triéthylène glycol et au trityle. Il semblerait que le produit se soit dimérisé (cf schéma 2.58).



*Schéma 2.58 : Réaction entre l'alcool **92** et **105***

Les problèmes de réaction entre le triéthylène glycol protégé tosylé et la molécule **92** ont été attribués au manque de réactivité de l'alcool **92**.

Il a alors été choisi de suivre la stratégie **B** consistant à « inverser » les fonctions alcool et tosylé portées par le dérivé du glycérol et le triéthylène glycol et ainsi de travailler avec le dérivé dipropargylé tosylé **94**.

- Stratégie B

Cette stratégie implique donc le couplage du composé tosylé dipropargylé **94** sur le triéthylène glycol tritylé **104**. Les conditions choisies initialement impliquaient l'utilisation de NaH comme base dans le DMF à température ambiante mais ici encore aucune réaction n'a pu être observée. La réaction a ensuite alors été testée à 80°C mais cette fois-ci le milieu réactionnel a été totalement dégradé. Des études ont suggéré que l'emploi de l'éther couronne 15-C-5 en quantité catalytique pouvait améliorer les rendements de ce type de réaction. Le rôle du 15-C-5 est d'activer l'alcoolate en chélatant l'ion Na⁺ qui possède une forte affinité pour ce macrocycle. En effet, en l'absence du 15-C-5, l'ion sodium est fortement associé à l'alcoolate réduisant ainsi sa nucléophilie.¹⁵⁵ Ces conditions ont donc été testées dans le THF à reflux et ont permis d'observer la formation du produit désiré en faible quantité (cf Schéma 2.59). Les CCMs indiquent la formation d'une grande quantité de produits de dégradation. Le changement de solvant avec utilisation de DMF n'a pas permis d'améliorer ce résultat.

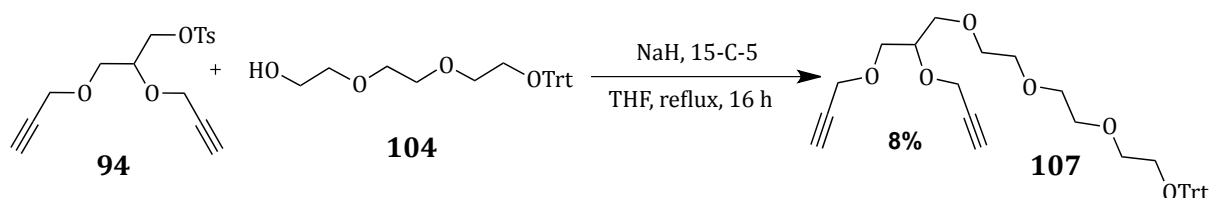


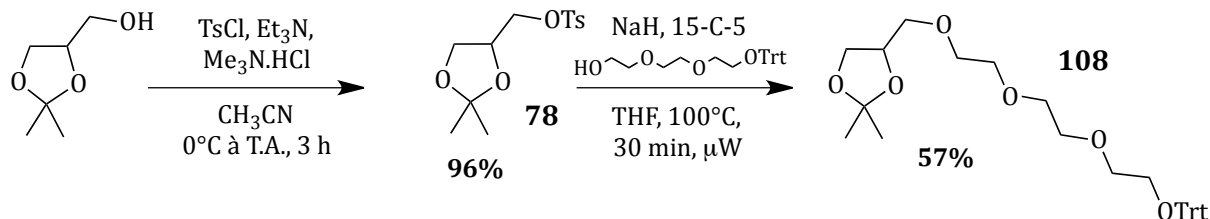
Schéma 2.59 : Synthèse du composé **107** par couplage entre **94** et l'alcool **104**

Face aux faibles rendements obtenus pour ce couplage, il a paru plus judicieux de reprendre la synthèse de cet intermédiaire en cherchant à incorporer la chaîne triéthylène glycol plus en amont de la synthèse ceci en l'introduisant en première étape sur un dérivé du glycérol commercial.

- Stratégie C :

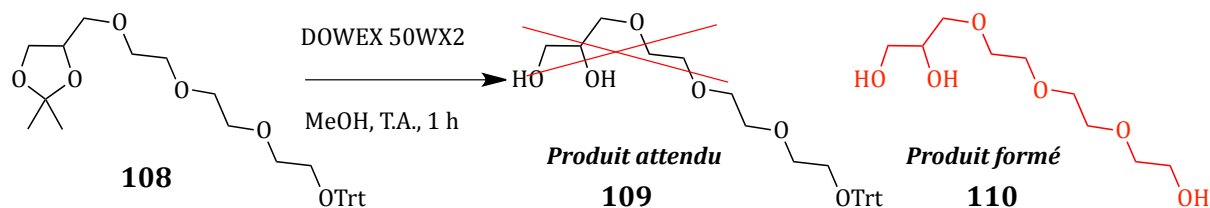
Le solketal a ici été une nouvelle fois utilisé comme produit de départ. Avant de réaliser l'introduction de l'espaceur, sa fonction alcool a été activée par un groupement tosyloxy avec 96% de rendement. Différentes conditions de solvant, de température et de modes de chauffages (chauffage thermique ou sous microondes) ont ensuite été testées pour le couplage avec le triéthylène glycol tritylé **104**. Les meilleures conditions ont été

obtenues avec utilisation de NaH en présence de 15-C-5 dans le THF à 100°C pendant 30 min sous microondes. Après purification le produit **108** a été isolé avec un rendement de 57% (cf Schéma 2.60).



*Schéma 2.60 : Synthèse de **108***

L'étape suivante, consistant en la déprotection de l'acétonide, a été réalisée comme précédemment avec de la DOWEX 50WX2 dans du méthanol. Malheureusement, le trityle ne résiste pas à ces conditions acides et le produit obtenu n'est pas le diol **109** mais le triol **110**. (cf Schéma 2.61). En comparaison aux autres membres de sa famille (méthoxytrityl, diméthoxytrityl, triméthoxyltrityl) le trityl est le groupement le plus robuste en milieu acide et il était attendu que l'acidité de la résine ne soit pas suffisante pour le cliver.



*Schéma 2.61 : Réaction de **108** en présence de DOWEX 50WX2*

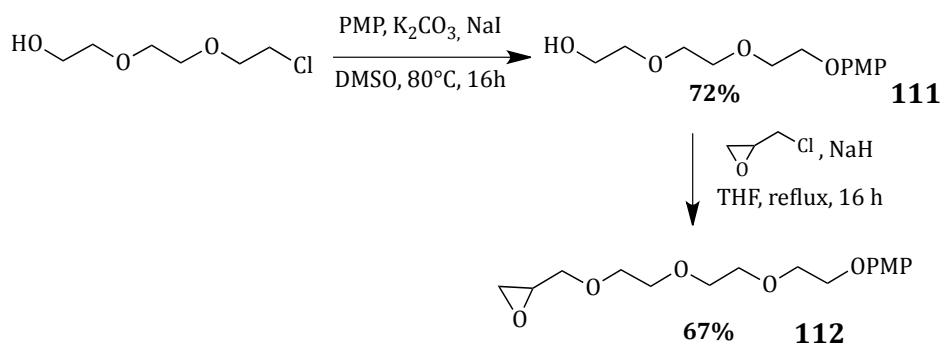
Le choix du groupement protecteur étant un problème il a été choisi de travailler une nouvelle fois avec le *p*-méthoxyphénol.

Il a également été envisagé d'utiliser l'épichlorhydrine en tant qu'alternative au dérivé du glycérol initial pour éviter l'activation de la fonction alcool du solkétal *via* la formation d'un dérivé tosylé.

- Stratégie D :

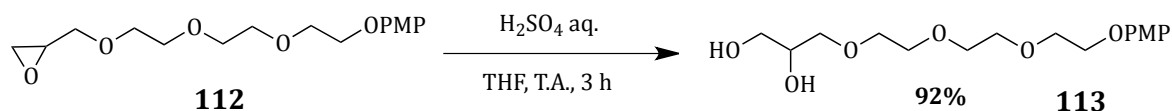
Le PMP a été introduit par substitution nucléophile du dérivé chloré du triéthylène glycole en présence de carbonate de potassium et d'iodure de sodium. La molécule **111**

a été isolée avec un rendement de 72%. Le produit de couplage de cet intermédiaire sur l'épichlorohydrine a été obtenu avec un rendement de 67% par simple utilisation de NaH dans du THF au reflux (cf Schéma 2.62).



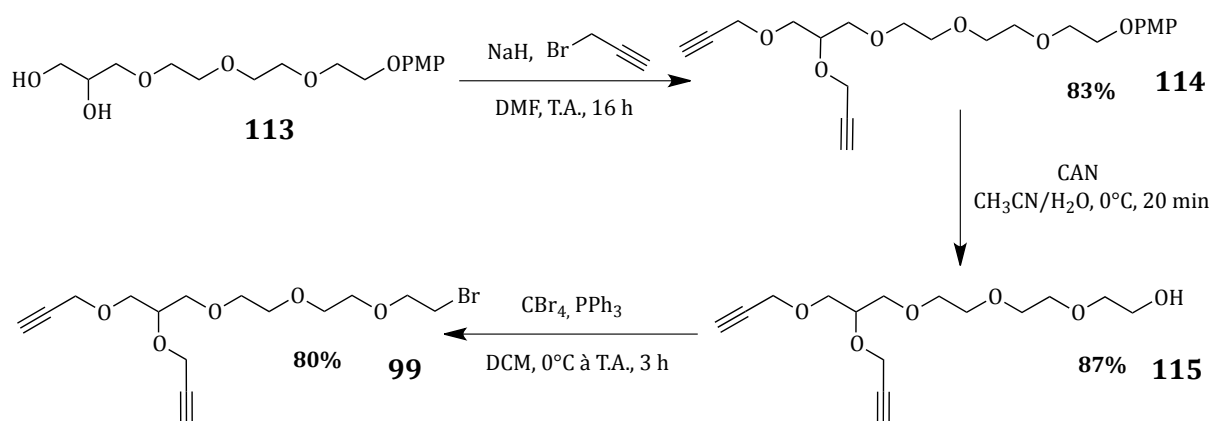
*Schéma 2.62 : Synthèse de l'époxyde **112***

L'ouverture de l'époxyde **112** par de l'acide sulfurique permet d'obtenir le diol **113** avec 92% de rendement (cf Schéma 2.63).



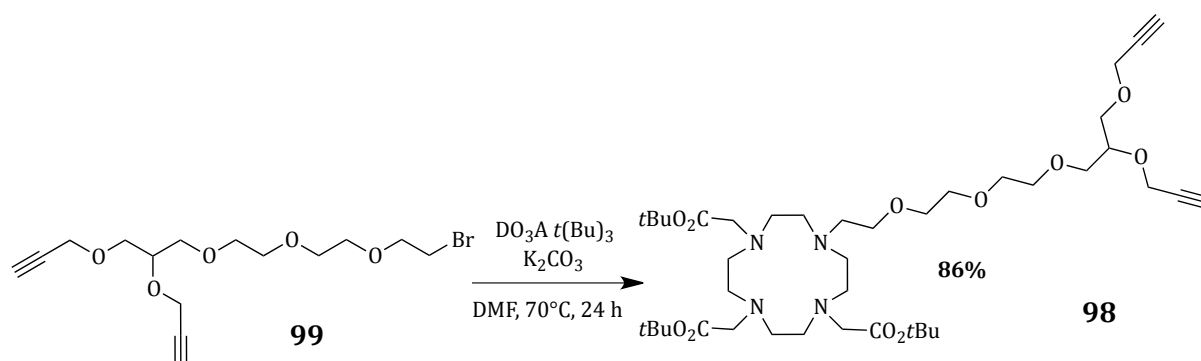
*Schéma 2.63 : Ouverture de l'époxyde **112** en milieu acide*

A partir de cette étape la synthèse est similaire à celle du composé **85** décrites précédemment (cf § 2.1.4.1). Les fonctions alcools sont dans un premier temps propargylées avec un rendement de 83%. La déprotection du PMP par oxydation avec du CAN permet d'obtenir l'alcool **115** avec 87% de rendement. Ce dernier est directement bromé par réaction d'Appel, en présence de tetrabromométhane et de triphénylphosphine avec un rendement de 80% (cf Schéma 2.64).



*Schéma 2.64 : Synthèse du dipropargyle bromé **99***

Enfin, le composé bromé **99** a été introduit sur le macrocycle DO3A(*t*Bu)₃ par *N*-alkylation avec l'utilisation de carbonate de potassium comme base dans le DMF à 70°C. Le produit de couplage final a été obtenu avec un rendement de 86% (cf Schéma 2.65).

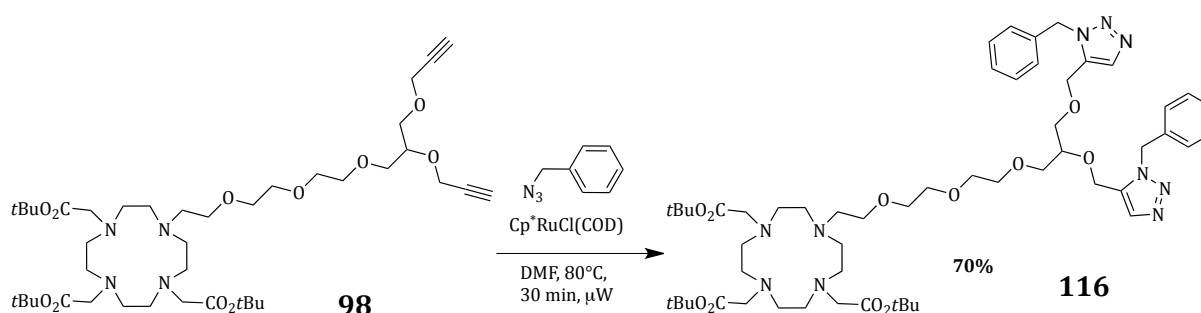


*Schéma 2.65 : Couplage par N-alkylation entre le DO3A(*t*Bu)₃ **40** et le dérivé bromé **99***

2.2.2. Couplage par chimie « click » au ruthénium des biomolécules

Comme dans les parties précédentes, afin de vérifier la faisabilité du couplage, la réaction a été testée dans un premier temps sur l'azoture de benzyle.

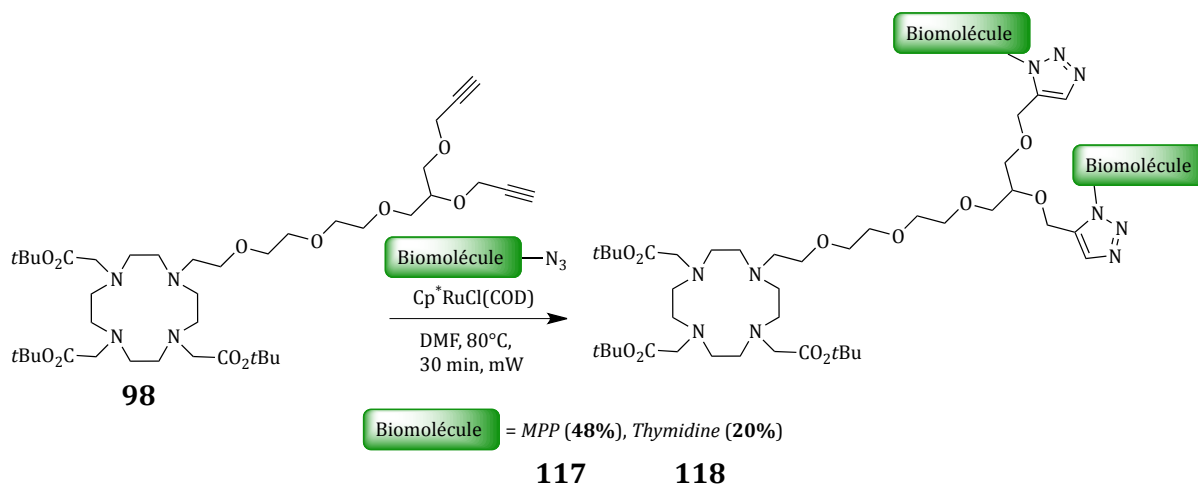
Les conditions optimisées dans la première partie, c'est-à-dire un chauffage à 80°C sous microondes durant 30 min, ont été réutilisées. Après purification sur gel de silice, le dimère **116** a été obtenu avec un très bon rendement de 70% (cf Schéma 2.66).



*Schéma 2.66 : Couplage de **98** avec l'azoture de benzyle*

Ce résultat étant très encourageant, cette réaction a été appliquée au couplage de biomolécules (cf Schéma 2.67). La bioconjugaison a été réalisée avec les azotures du

MPP et de la thymidine. Après purification sur gel de silice les deux composés **117** et **118** ont été isolés avec des rendements respectifs de 48% et 20% (cf Schéma 2.67).



*Schéma 2.67 : Couplage de **98** avec les azotures de MPP et de thymidine*

La présence de l'espaceur triéthylène glycol permet donc d'obtenir les dimères couplés par chimie « click » catalysée au ruthénium avec de bons rendements. Ces résultats confirment l'hypothèse que l'encombrement stérique semblerait être la cause de l'échec de cette bioconjugaison sur la première plateforme dimérique (cf § 2.1.4.2).

La bioconjugaison par chimie « click » catalysée au ruthénium a ainsi été validée pour la synthèse de dimère. Le couplage d'autres biomolécules fonctionnalisées par des azotures pourra par la suite être envisagé. Par ailleurs, les différents précurseurs obtenus seront déprotégés et marqués au gadolinium avant de réaliser des mesures de relaxivité r_1 et r_2 pour déterminer leur efficacité en temps qu'agent de contraste. Ils seront par la suite marqués au gallium 68 et leur activité spécifique ainsi que leur rendement radiochimique seront déterminés. Un « cocktail » pourra alors être préparé afin d'utiliser ces traceurs en tant que sonde bimodale.

CONCLUSION :

Dans cette partie différents précurseurs de traceurs utilisables en imagerie médicale ont été synthétisés. L'idée consistait en la synthèse de plateformes virtuellement universelles permettant d'une part le couplage d'une grande variété de biomolécules et d'autre part l'introduction de métaux utilisables pour différentes techniques d'imagerie. Pour ce faire, une réaction a été développée afin de permettre l'étape de bioconjugaison par chimie « click » sans utiliser de cuivre. Cette méthode, basée sur l'utilisation de complexe de ruthénium afin de catalyser la réaction, a permis le couplage de différentes biomolécules à un macrocycle DO3A avec de bons rendements. L'un des précurseurs synthétisés a été choisi afin de réaliser l'introduction d'une part de gallium 68 et d'autre part de gadolinium. Ces deux métaux ont été introduits avec succès permettant d'obtenir un traceur utilisable en TEP et un agent de contraste utilisable en IRM et validant ainsi notre approche.

Des plateformes difonctionnalisées ont ensuite été synthétisées afin de permettre le couplage de deux biomolécules et ainsi augmenter l'affinité des traceurs finaux pour leurs cibles biologiques. Différentes fonctions ont alors été introduites sur un macrocycle DO3A afin de permettre l'introduction d'un grand nombre de biomolécules. Une plateforme dipropargylée a été utilisée pour valider le couplage par chimie « click » catalysée par des complexes de ruthénium développée pour la synthèse des monomères. Malheureusement, due à l'encombrement stérique important de la molécule, cette réaction ne fonctionne pas. Une nouvelle structure, comportant un espaceur a alors été synthétisée et a permis cette fois-ci l'introduction simultanée de deux azotures avec de bons rendements. Des métaux tels que du gallium 68 et du gadolinium pourront donc être complexés par la suite pour obtenir des agents utilisables en imagerie.

PARTIE 3 : SYNTHÈSE D'AGENTS BIMODAUX :
APPROCHE MOLECULE UNIQUE

Cette partie a pour but de détailler la seconde approche quant à la synthèse d'agent bimodaux IRM/TEP. Cette approche consiste à introduire sur une seule molécule à la fois la sonde IRM obtenue grâce à l'insertion d'un atome de gadolinium mais également aussi la sonde TEP par introduction d'un radioisotope (^{18}F). L'avantage de cette approche est l'injection au patient d'un seul traceur ce qui permet d'avoir la certitude que le traceur TEP et IRM seront distribués de la même manière en même temps. En se basant sur les travaux de la partie précédente, deux traceurs ont été envisagés différant par la présence ou non d'un espaceur.

1. SYNTHÈSE DU TRACEUR SANS ESPACEUR

1.1. STRATÉGIE DE SYNTHÈSE

D'un point de vue architectural, ce type de traceur bimodal est plus complexe. Ils nécessitent en effet la synthèse de plateformes trifonctionnalisées afin de permettre d'une part l'introduction de la sonde IRM, d'autre part de la sonde TEP mais également la conjugaison d'une biomolécule servant de vecteur (cf Schéma 3.1). Les dérivés du glycérol précédemment utilisés, représentent de bons candidats quant à la synthèse de telles plateformes. En effet, par un jeu de protections et de déprotections adéquates, les trois fonctions alcools pourront être différenciées dans le but d'introduire les trois éléments nécessaires à une telle sonde bimodale.

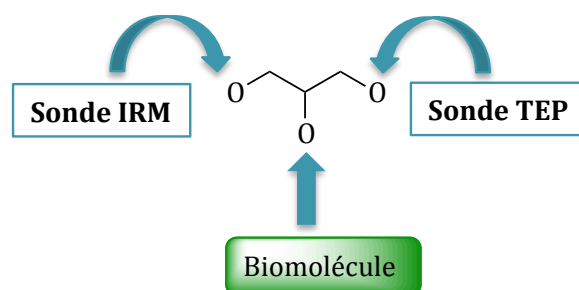


Schéma 3.1. : Utilisation du glycérol pour la synthèse de plateformes trifonctionnalisées

Afin de constituer la sonde TEP, il a paru intéressant de travailler ici avec le fluor 18. Dans le cadre de ce travail, il présente l'avantage d'être introduit par liaison covalente.

Ainsi, les problèmes habituellement rencontrés quant à l'utilisation conjointe d'un radiométal (tel que le gallium 68) et du gadolinium pourront être évités. En effet, un seul chélate sera nécessaire à la synthèse de ce traceur et donc des étapes de protections et de déprotections orthogonales, liées à la présence de deux chélates, pourront être évitées.

Le marquage au fluor 18 est généralement réalisé par substitution nucléophile et nécessite des conditions expérimentales anhydrides, basiques ainsi qu'un chauffage à haute température.¹⁵⁶ Ces conditions sont souvent incompatibles avec la présence de biomolécules. L'alternative souvent employée est d'utiliser des groupements prosthétiques radiomarqués qui seront introduits dans un second temps sur le précurseur. Cependant, cette approche engendre généralement au moins une étape réactionnelle supplémentaire, et donc un temps de synthèse plus important réduisant ainsi l'activité finale du traceur. Ametamey *et al.* ont développé une nouvelle approche efficace utilisant la chimie du silicium afin de permettre l'introduction en une seule et dernière étape du fluor 18.^{157,158} En effet, le silicium possède la particularité de former une liaison covalente forte avec le fluor, l'énergie de la liaison silicium-fluor étant de 135 kcal/mol.

Il a alors été choisi d'utiliser cette stratégie en introduisant sur le précurseur un motif di-*t*-butyl-phénolsilane afin de faciliter le radiomarquage au fluor 18 (cf Schéma 3.2).

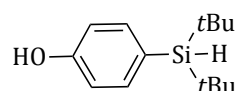


Schéma 3.2 : Motif di-*t*-butyl-phénolsilane utilisé pour l'introduction du fluor 18

Il a été montré dans la littérature que le groupement di-*t*-butyl permettait d'éviter l'hydrolyse de la liaison Si-F.^{159,160} La fonction phénol permet quant à elle de pouvoir introduire ce motif par réaction de Mitsunobu sur une des fonctions alcools de la plateforme trifonctionnalisée (cf Schéma 3.3).

En ce qui concerne la sonde IRM, il a été choisi de travailler, comme dans la partie précédente, avec du gadolinium chélaté par un macrocycle DO3A. Il a été montré en effet, que ce dernier pouvait être introduit de manière simple et avec de bons rendements sur une plateforme de type glycérol bromée *via N*-Alkylation (cf Schéma 3.3).

Enfin il a été choisi d'introduire la biomolécule par la réaction de chimie « click » catalysée par des complexes de ruthénium développée dans la partie précédente (cf Partie 2). Il a donc été nécessaire d'introduire une fonction propargyle sur le dérivé du glycérol (cf Schéma 3.3).

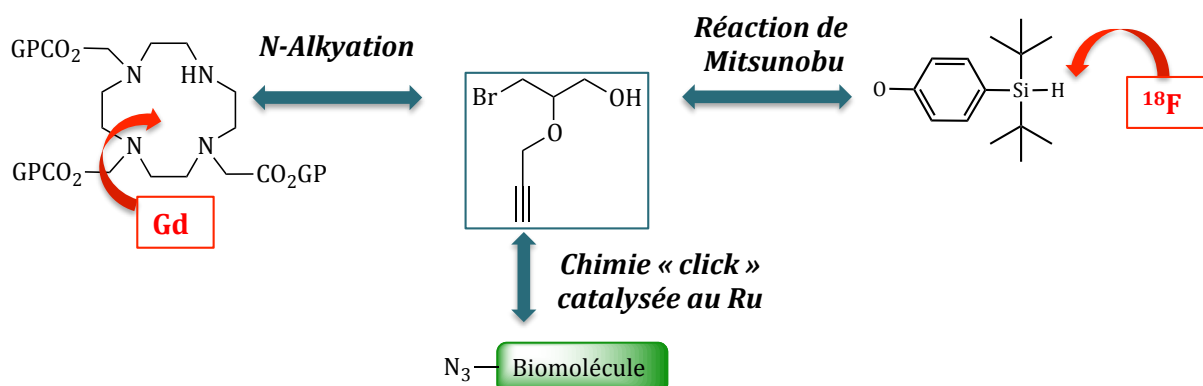


Schéma 3.3. : Stratégie envisagée quant à la synthèse du traceur bimodal

Afin de synthétiser ce traceur, il est nécessaire de synthétiser en parallèle la plateforme trifonctionnalisée **119** et le macrocycle DO3A triprotégé qui seront par la suite couplés par *N*-Alkylation.

La première étape de la synthèse de la plateforme est l'introduction du phénol di-*t*-butylsilane sur le dérivé du glycérol commercial choisi. Deux précurseurs peuvent alors être utilisés : le solketal ou l'épichlorhydrine (cf Schéma 3.4).

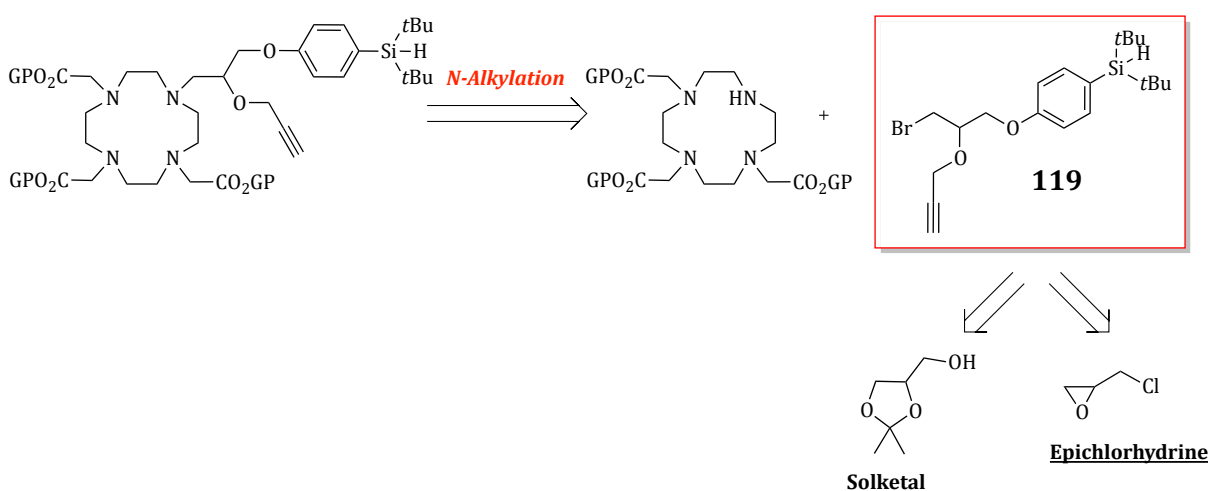


Schéma 3.4 : Rétrosynthèse du précurseur ciblé

1.2. SYNTHÈSE DE LA PLATEFORME TRIFONCTIONNALISÉE

1.2.1. Approche via le solketal

La première stratégie choisie a consisté en l'introduction du dérivé phénolsilane sur l'alcool libre du solketal par réaction de Mitsunobu. La première étape est donc la synthèse du silane **120** à partir du *p*-bromophénol. La fonction alcool est déprotonée dans un premier temps par de l'hydrure de sodium afin de former l'alcoolate de sodium. Puis, dans un second temps, l'utilisation de *t*-butyllithium permet l'échange bromo-lithium. Enfin, l'addition du chlorure de *t*-butylsilane à -78°C permet de former le produit désiré par substitution électrophile aromatique. Le produit **120** est alors isolé après purification sur colonne de silice avec un rendement de 68% (cf Schéma 3.5).

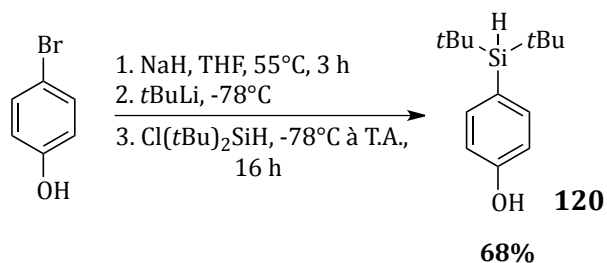


Schéma 3.5. : Synthèse de dérivé phénol silane 120

L'introduction de cet intermédiaire sur le solketal a ensuite été réalisée par réaction de Mitsunobu (cf Schéma 3.6). De l'azodicarboxylate de diéthyle (DEAD) et de la triphénylphosphine ont alors été utilisés dans le THF à reflux. Le produit **121** est obtenu avec 63% de rendement après précipitation de l'oxyde de triphénylphosphine et purification par chromatographie sur gel de silice. L'acétonide est ensuite clivé en milieu acide par agitation à température ambiante avec une résine acide, la DOWEX 50WX2. Le diol **122** est ainsi isolé avec un rendement de 96%.

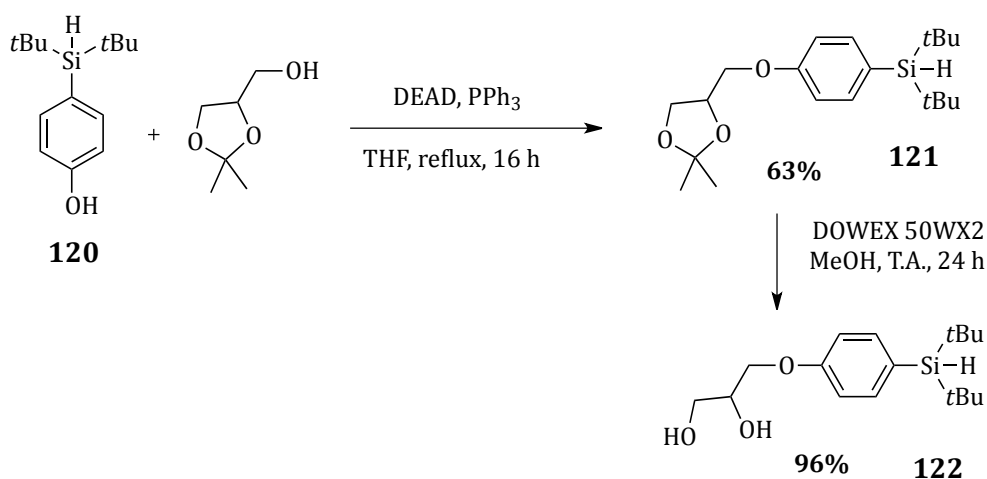


Schéma 3.6. : Synthèse du diol 122

Afin de différencier les deux fonctions alcools, il a été choisi d'introduire un groupement trityl. Ce dernier possède trois cycles benzyliques et possède donc un encombrement stérique important ce qui explique qu'il sera introduit sélectivement sur l'alcool primaire. L'éther tritylé **123** a donc été synthétisé par substitution nucléophile du chlorure de trityle par le diol **122** en présence de triéthylamine. Après purification, le produit protégé a été obtenu avec un rendement de 90% (cf Schéma 3.7).

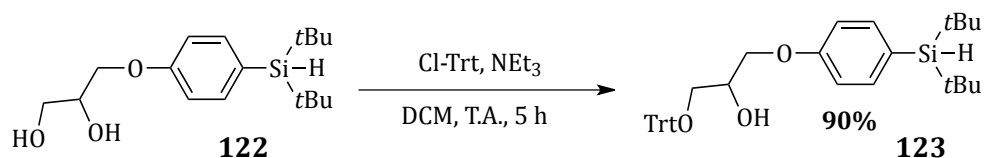


Schéma 3.7 : Protection sélective de l'alcool primaire de la molécule 122

L'étape suivante a consisté à introduire une fonction propargyle sur l'alcool secondaire de la molécule **123** par réaction de Williamson. L'hydruure de sodium a ainsi permis d'obtenir l'alcoolate qui a ainsi pu réagir avec le bromure de propargyle *via* une substitution nucléophile d'ordre 2. Une chromatographie sur gel de silice a permis d'isoler l'éther propargylé **124** avec un rendement de 92%.

La fonction alcool primaire a ensuite été déprotégée avec un rendement de 76%, par réaction avec du trichlorure d'aluminium dans le dichlorométhane (cf Schéma 3.8).

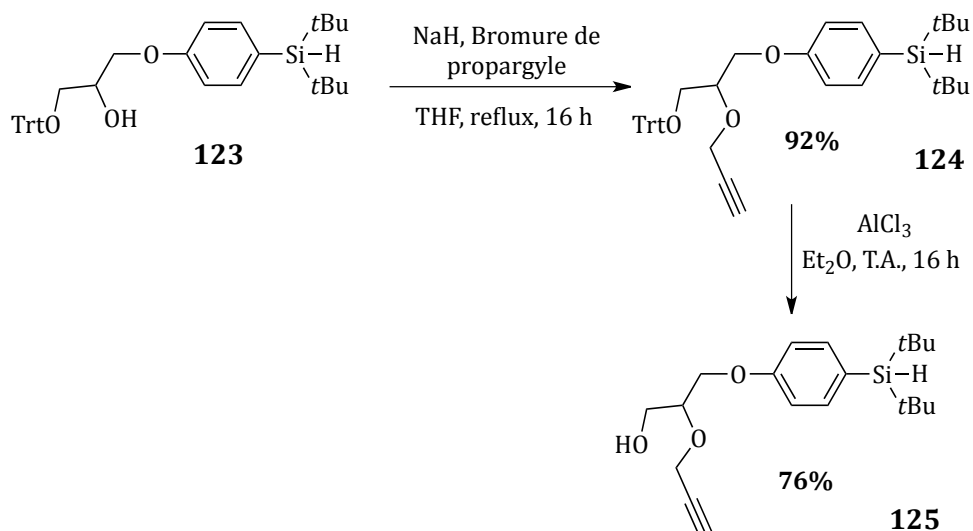


Schéma 3.8 : Synthèse de l'alcool propargylé 125

Enfin, la dernière étape consiste à substituer la fonction alcool par un brome afin de pouvoir obtenir une plateforme réactive sur des fonctions amines par *N*-alkylation. Pour cela, les protocoles développés précédemment ont été repris et le composé tosylé a été dans un premier temps synthétisé selon la méthode de Yoshida¹⁵³ avec un rendement de 91%. Ensuite, par réaction avec du bromure de lithium dans l'acétonitrile la plateforme bromée **119** a été obtenue avec un rendement de 90% (cf Schéma 3.9). Il est à noter, que la bromation aurait pu être réalisée en une seule étape, par réaction d'Appel sur l'alcool **125**. Cependant, ces conditions n'ont pas été testées ici.

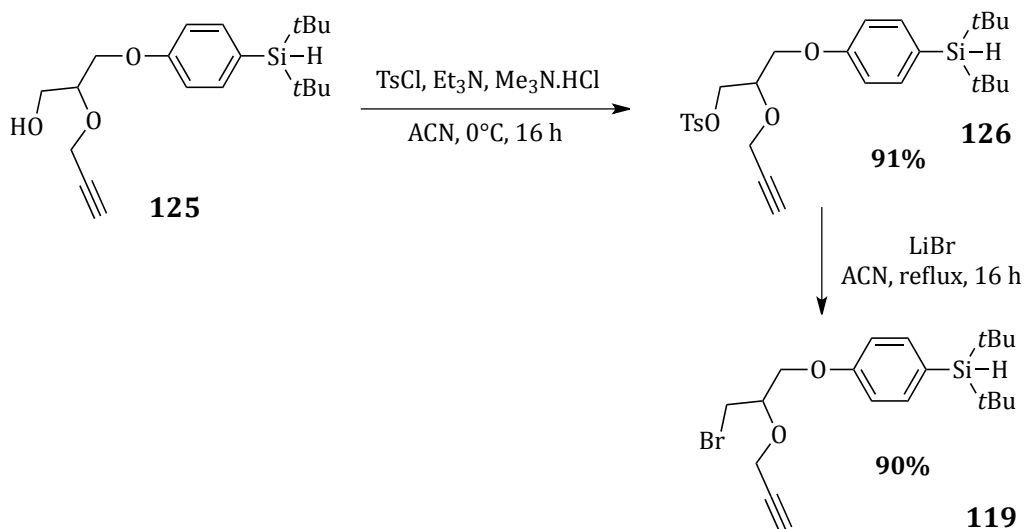
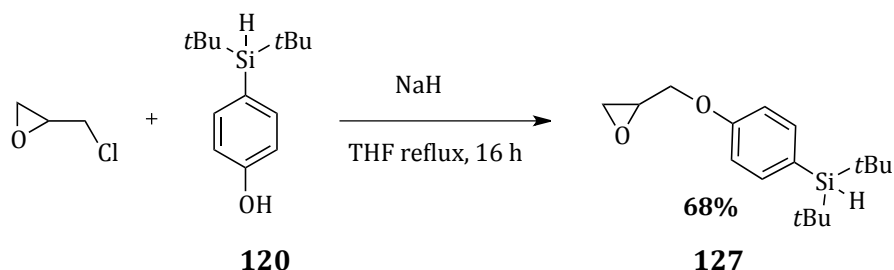


Schéma 3.9 : Synthèse du dérivé bromé 119

Pour résumer, cette synthèse permet d'obtenir le composé bromé **119** avec un bon rendement global de 31% en 7 étapes de synthèse. L'inconvénient majeur de cette synthèse est le nombre important d'étapes du notamment à la protection sélective de la fonction alcool primaire et son étape de déprotection délicate due à l'utilisation du trichlorure d'aluminium. Il a été envisagé alors de synthétiser cette plateforme en utilisant l'épichlorohydrine en tant que réactif de départ ce qui permet alors d'économiser une étape de synthèse.

1.2.2. Approche via l'épichlorhydrine

La première étape de cette synthèse concerne l'introduction du dérivé phénolsilane sur l'épichlorhydrine. Cette réaction a été réalisée en présence d'hydrure de sodium dans le THF à reflux. Le produit **127** a été isolé après chromatographie sur gel de silice avec un rendement de 68% (cf Schéma 3.10).



*Schéma 3.10 : Introduction du dérivé phénol silane **120** sur l'épichlorhydrine*

Deux mécanismes peuvent expliquer cette réaction. Dans les deux cas la première étape est la génération du phénolate par déprotonation de la fonction phénol par l'hydrure de sodium. Cet intermédiaire vient ensuite soit attaquer le carbone en α du chlore selon une réaction de substitution nucléophile (voie A), soit ouvrir l'époxyde pour former un alcoolate qui viendra lui-même substituer le chlore et ainsi reformer un époxyde (voie B) (cf Schéma 3.11).

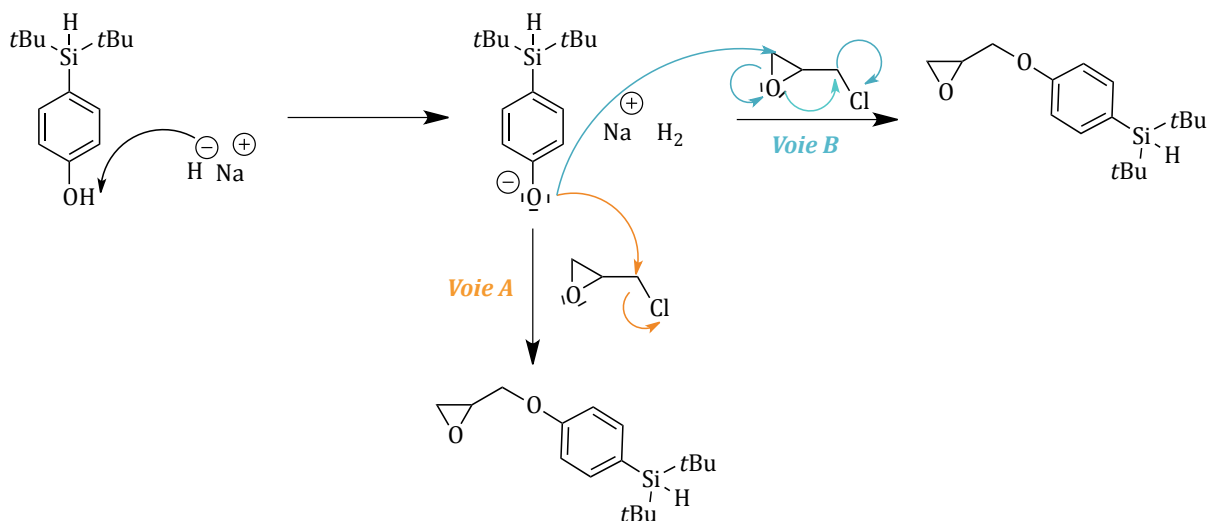


Schéma 3.11 : Mécanisme d'introduction du phénolsilane sur l'épichlorhydrine

La seconde étape de cette synthèse est l'ouverture sélective de l'époxyde. Afin de permettre une introduction ultérieure du bromure de propargyle sur l'alcool secondaire, il a été choisi d'utiliser le *p*-méthoxyphénol qui permettra de masquer la fonction alcool primaire. Il est introduit par réaction avec de l'hydruure de sodium dans le THF à reflux (cf Schéma 3.12).

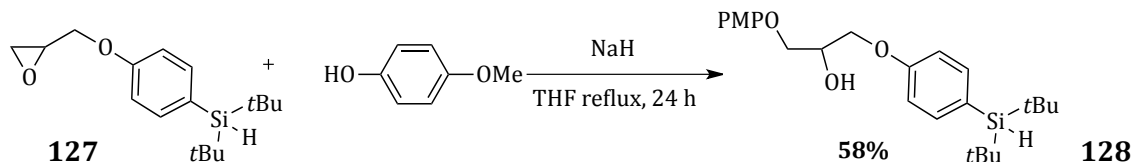


Schéma 3.12 : Ouverture sélective de l'époxyde 127

La propargylation de l'alcool secondaire a ensuite été réalisée par réaction de Williamson en présence d'hydruure de sodium et de bromure de propargyle dans le THF à reflux. Après purification, le produit propargylé **129** a été obtenu avec un rendement de 92%.

Le clivage du PMP a été réalisé par réaction oxydante avec du nitrate d'ammonium cérique dans l'acétonitrile à 0°C. L'alcool **125** a ainsi été isolé avec 88% de rendement (cf Schéma 3.13)

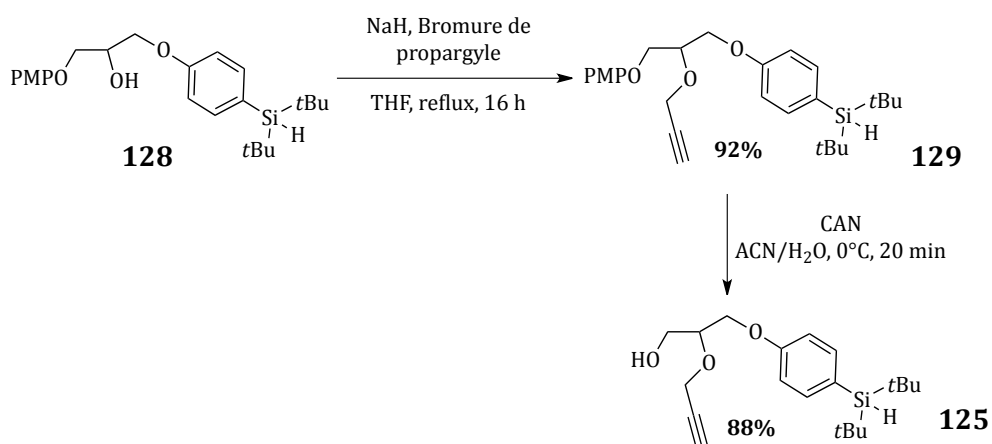


Schéma 3.13 : Propargylation de l'alcool secondaire et clivage du PMP

La suite de cette synthèse est ensuite similaire à celle précédemment décrite : la fonction alcool est dans un premier temps tosylée puis une réaction avec du bromure de lithium permet l'obtention du composé bromé avec un rendement global de 81% sur deux étapes (cf Schéma 3.14).

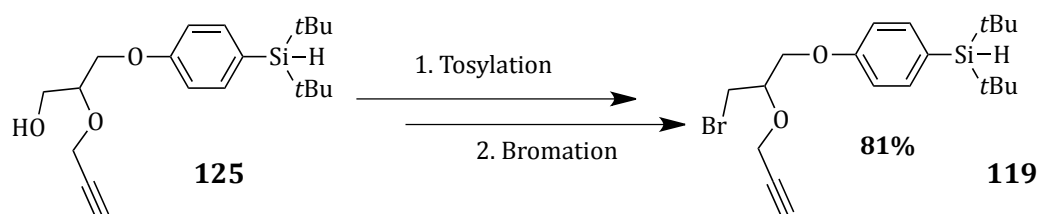


Schéma 3.14 : Tosylation et bromation de l'alcool 125

Selon cette voie de synthèse la plateforme bromée a été obtenue avec un rendement global de 26% légèrement inférieur à celui obtenu avec la voie « solketal ». Néanmoins, seulement 6 étapes de synthèse sont nécessaires (au lieu de 7) ce qui induit un gain de temps significatif et une économie en terme de purification.

1.3. INTRODUCTION DU MACROCYCLE DO3A ET DE LA BIOMOLECULE

1.3.1. Introduction du macrocycle DO3A

Le brome introduit sur la plateforme trifonctionnalisée permet un couplage sur un macrocycle DO3A triprotégé *via* une réaction de *N*-alkylation. Cependant, la présence du groupement silane interdit l'utilisation du macrocycle DO3A(*t*Bu)₃. En effet, il a été démontré dans la littérature que l'utilisation de conditions acides, telles que celles nécessaires au clivage des esters *t*-butyliques, entraîne un phénomène de protodésilylation et donc la perte du groupement silane sur le traceur.^{161,162} Des essais de déprotections ont été réalisés afin de vérifier cette hypothèse. Pour cela, un macrocycle DO3A(*t*Bu)₃ couplé à un silane a été synthétisé par réaction entre le bromosilane **130** et le DO3A(*t*Bu)₃ hydrobromé en présence de carbonate de potassium (cf Schéma 3.15). Différentes conditions de déprotection ont alors été testées. L'utilisation d'acide hydrochlorique ou d'acide trifluoroacétique entraîne bien la déprotection des fonctions acides mais également le clivage du silane avec la formation du produit **132** (cf Schéma 3.15).

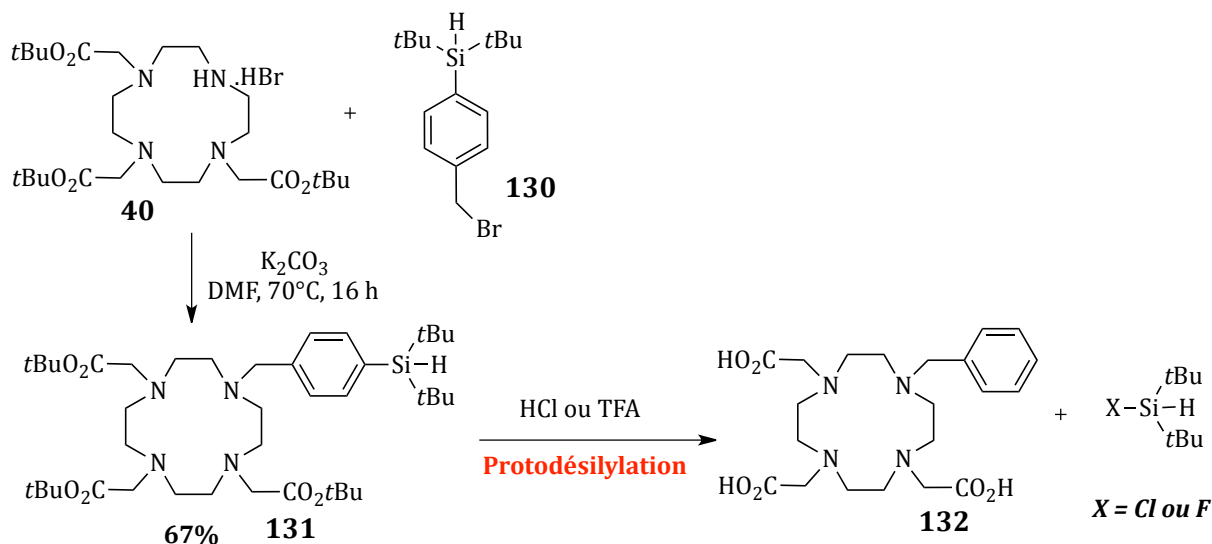


Schéma 3.15 : Mise en avant du phénomène de protodésilylation

Des acides plus faibles tels que l'acide formique ont été testé mais ne permettent pas la déprotection des acides.

Il a donc paru nécessaire d'utiliser un groupement protecteur orthogonal à la présence du silane, c'est-à-dire ne nécessitant pas de conditions acides afin d'être clivé. Les esters éthyliques avaient été choisis comme groupement protecteur des fonctions acides pour la synthèse des plateformes diamminées (cf Partie 2 § 2.1.) et ont donc été une nouvelle fois employés ici. L'introduction de la plateforme **119** a donc été réalisée par *N*-alkylation en présence d'une base, le carbonate de potassium dans le DMF. Après purification sur gel de silice, le macrocycle **133** a pu être obtenu avec un rendement de 71% (cf Schéma 3.16).

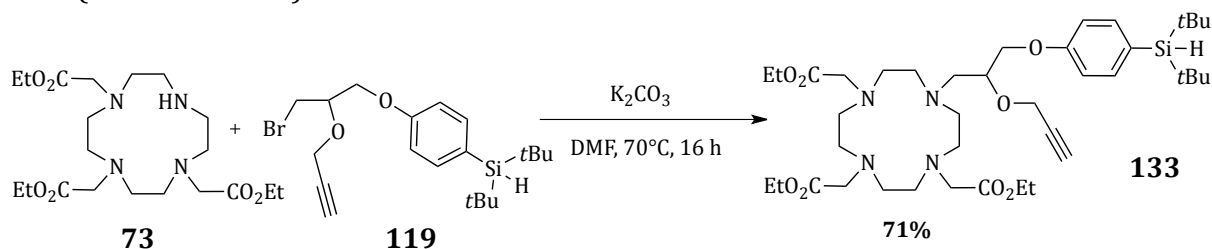


Schéma 3.16 : *N*-Alkylation du DO3A(Et)₃ par la plateforme **119**

1.3.2. Bioconjugaison de l'azoture de biotine

Afin d'introduire la biomolécule, il a été choisi d'utiliser la réaction de chimie « click » catalysée au ruthénium développée dans la partie 2. La réaction a été réalisée dans un premier temps en conditions dites « classiques » c'est-à-dire par utilisation du catalyseur Cp**Ru*Cl(COD) dans le DMF avec un chauffage thermique à 60°C durant une nuit. Après une purification sur colonne de silice, le produit de bioconjugaison a été isolé avec un rendement de 55% (cf Schéma 3.17).

Par la suite, cette réaction a également été testée avec un chauffage sous microondes à 60°C pendant 30 min. Le rendement obtenu après purification est similaire au précédent (53%).

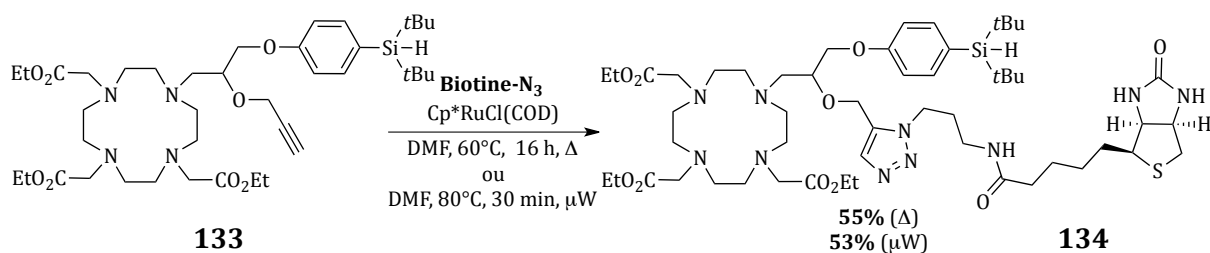


Schéma 3.17 : Bioconjugaison de l'azoture de biotine

1.3.3. Déprotection du macrocycle et complexation du gadolinium

Des conditions basiques sont nécessaires au clivage des fonctions esters éthyliques. Il a donc été choisi d'utiliser une solution d'hydroxyde de sodium afin de déprotéger la molécule. Le macrocycle a alors été mis en réaction avec une solution de NaOH (1M) dans le THF pendant 48 h à température ambiante (cf Schéma 3.18). Le THF est nécessaire afin de solubiliser le produit de départ. Afin de dessaler le milieu réactionnel, une purification a été réalisée sur une cartouche Sep-Pak C₁₈. Les fractions récoltées ont ensuite été lyophilisées permettant d'obtenir ainsi le produit déprotégé **135** avec un rendement de 90%.

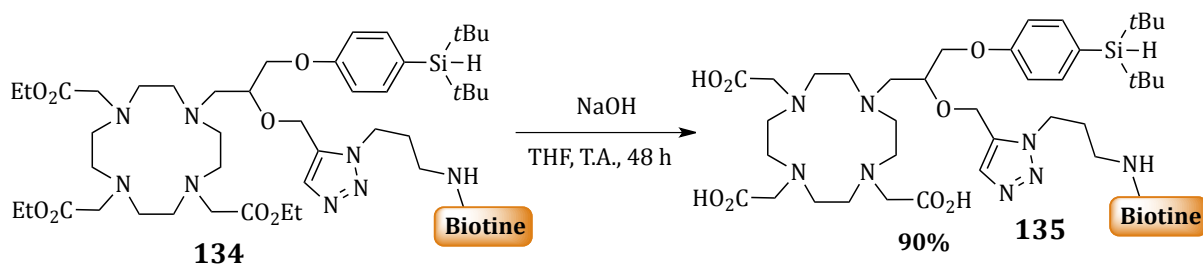


Schéma 3.18 : Saponification des fonctions esters du macrocycle

La complexation du gadolinium a ensuite été réalisée. Pour cela, du chlorure de gadolinium a été utilisé dans de l'eau à 60°C sur une nuit à pH 7 (cf Schéma 3.19). Le brut réactionnel a ensuite été purifié sur une colonne de Chelex-100 qui permet d'éliminer l'excès de gadolinium. Après lyophilisation le complexe **136** a été obtenu avec un rendement quantitatif.

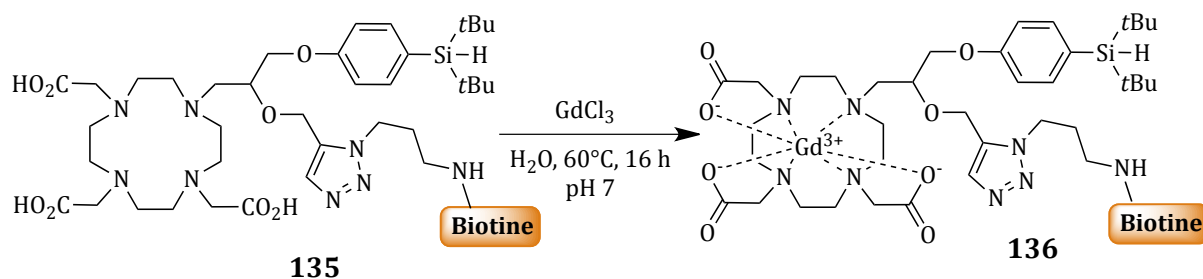


Schéma 3.19 : Introduction du gadolinium

Un précurseur de la sonde bimodale a ainsi pu être obtenu avec de bons rendements. Afin d'obtenir le traceur final, l'étape de fluoration doit être réalisée. Elle pourra être testée dans un premier temps à froid, puis si la réaction fonctionne, à chaud avec du

fluor 18. Ainsi, le rendement radiochimique et l'activité spécifique du traceur pourront être déterminés. La relaxivité du traceur devra également être étudiée afin de déterminer s'il constitue un bon candidat pour être utilisé en IRM.

Cette plateforme obtenue, il a été envisagé d'en synthétiser en parallèle un dérivé avec une chaîne triéthylèneglycole jouant le rôle d'espaceur. Cette molécule serait intéressante selon plusieurs points de vue. En effet, d'une part, le triéthylèneglycole permettrait de modifier la balance hydrophile/lipophile. D'autre part, la taille de la molécule serait augmentée et donc sa relaxivité améliorée par augmentation de son temps de rotation. Il serait alors intéressant de comparer la relaxivité de ces deux traceurs.

2. SYNTHÈSE DU TRACEUR COMPORTANT UN ESPACEUR

La structure de cette plateforme diffère de la précédente par l'introduction d'une chaîne triéthylèneglycole entre le macrocycle DO3A et le motif glycérol portant le silane et la biomolécule (cf Schéma 3.20).

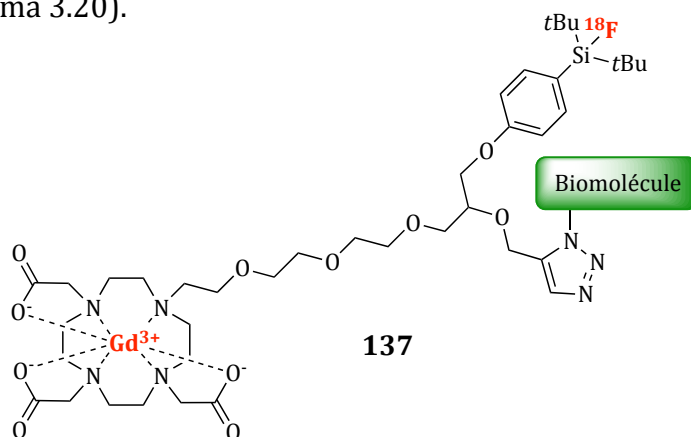


Schéma 3.20 : Structure du second traceur envisagé

Il a été choisi d'introduire la chaîne triéthylèneglycole directement sur la plateforme trifonctionnalisée, qui sera par la suite couplée au DO3A **73** par *N*-alkylation (cf Schéma 3.21).

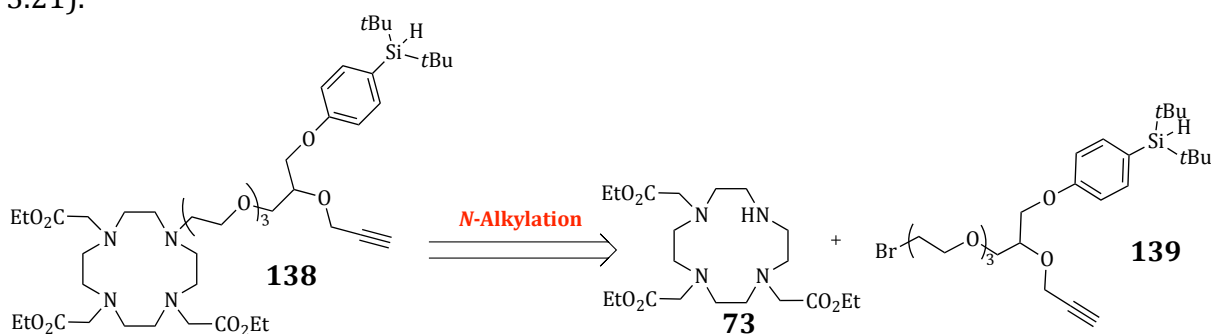
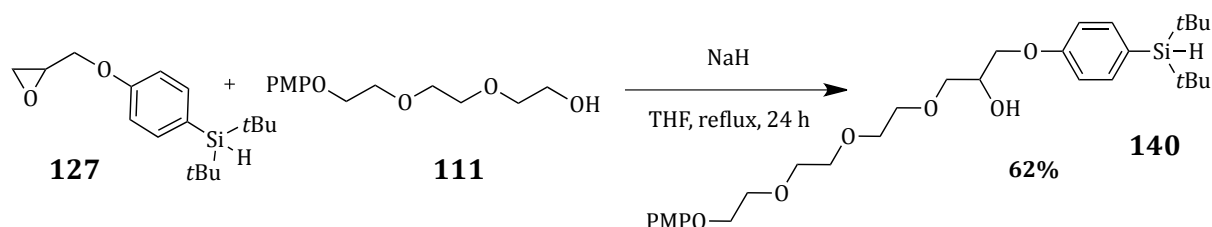


Schéma 3.21 : Rétrosynthèse du précurseur **138**

2.1. SYNTHÈSE DE LA PLATEFORME TRIFONCTIONNALISÉE

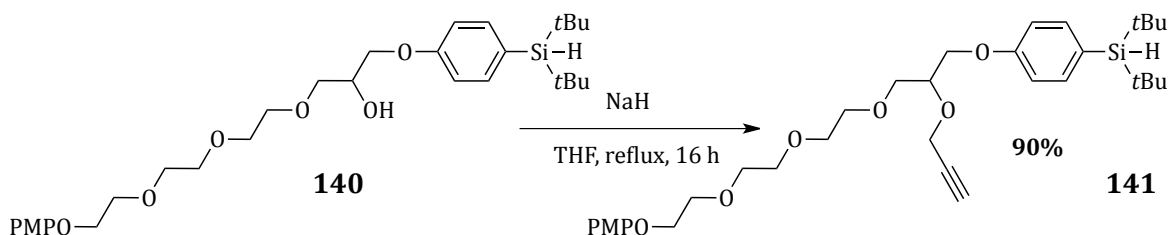
Afin de synthétiser cette plateforme, il a été choisi d'utiliser la voie « épichlorhydrine » développée dans la partie précédente (cf § 1.2.2). La première étape concerne ici encore l'introduction du silane sur l'épichlorhydrine pour former l'intermédiaire **127** (cf schéma 3.10). Une chaîne triéthylèneglycole protégée par un groupement PMP a alors

permis d'ouvrir sélectivement l'époxyde en présence d'hydrure de sodium dans le THF à reflux. Afin d'obtenir une conversion maximale, il a été nécessaire de jouer sur le nombre d'équivalents de base et d'alcool. Ainsi, avec 2 équivalents d'alcool et 2,2 équivalents de base, le produit **140** a pu être isolé avec 62% de rendement (cf Schéma 3.22).



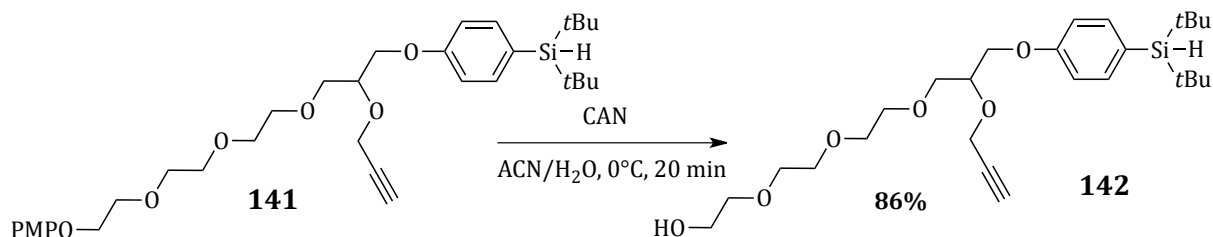
*Schéma 3.22 : Ouverture sélective de l'époxyde **127** par le triéthylèneglycole protégé **111***

La fonction propargyle a ensuite été introduite sur l'alcool secondaire par réaction de Williamson dans le THF à reflux. Après une purification sur colonne de silice, le produit **141** a été obtenu avec un rendement de 90% (cf Schéma 3.23).



*Schéma 3.23 : Propargylation de l'alcool **140***

La fonction PMP a ensuite été clivée en présence de nitrate d'ammonium cérique (CAN) dans un mélange acétonitrile/eau à 0°C. Après chromatographie sur gel de silice, le composé déprotégé **142** a été obtenu avec 86% de rendement (cf Schéma 3.24).

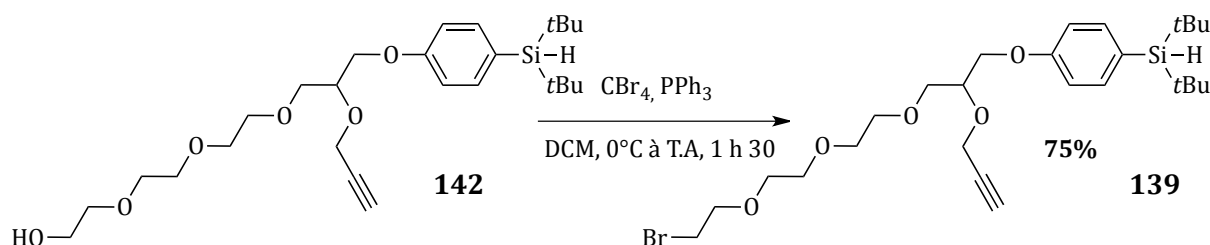


*Schéma 3.24 : Clivage du groupement PMP de la molécule **141***

La dernière partie du travail sur cette plateforme est d'introduire un brome sur l'alcool primaire libre. Deux méthodes ont précédemment été utilisées :

- introduction d'un groupement tosyle, puis bromation par du LiBr
- réaction d'Appel.

La seconde réaction a été testée ici, puisqu'elle présente l'avantage de réaliser la bromation en une seule étape. Ainsi, une réaction avec la triphénylphosphine et du tétrabromométhane a permis d'obtenir après purification le composé bromé **139** avec 75% de rendement (cf Schéma 3.25).



*Schéma 3.25 : Bromation de **142** par réaction d'Appel*

Le mécanisme de cette réaction est similaire à celui de la réaction de Mitsunobu. La première étape est « l'activation » de la triphénylphosphine par réaction sur le tétrabromométhane. Le dérivé tribromé anionique (CBr_3^-) vient alors déprotoner l'alcool du réactif afin de générer l'alcoolate. Ce dernier vient ensuite attaquer le phosphore générant ainsi un intermédiaire oxyphosphonium. Une substitution nucléophile d'ordre 2 entraîne alors la formation d'oxyde de triphénylphosphine et permet l'introduction du brome (cf Schéma 3.26).

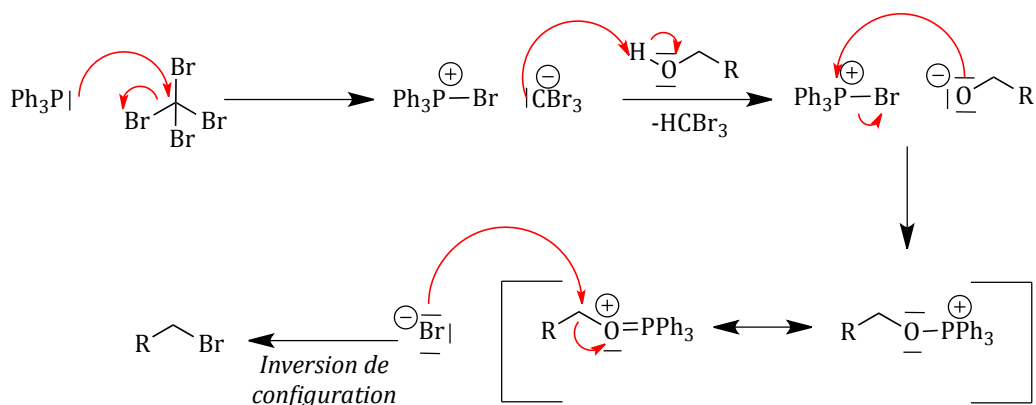


Schéma 3.26 : Mécanisme de la réaction d'Appel

2.2. COUPLAGE AU MACROCYCLE ET INTRODUCTION DU GADOLINIUM

2.2.1. N-Alkylation et bioconjugaison de la biotine

L'introduction de la plateforme bromée **139** sur le macrocycle DO3A(Et)₃ **73** a été réalisée comme précédemment par N-alkylation en présence de carbonate de potassium. Après purification sur gel de silice, le composé DO3A **138** a été obtenu avec 67% de rendement (cf Schéma 3.27).

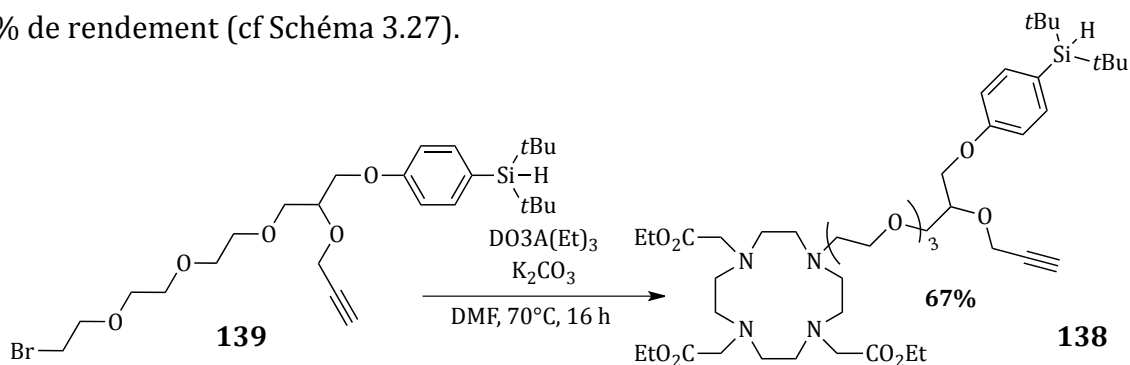


Schéma 3.27 : Introduction de la plateforme **141** sur le DO3A(Et)₃ **73**

La biomolécule, ici l'azoture de biotine, a été une nouvelle fois introduite par chimie « click » catalysée par un complexe de ruthénium, le Cp^{*}RuCl(COD). Les conditions classiques et microondes ont été ici encore comparées. Ainsi, en chauffant la réaction à 60°C sur la nuit, le produit de bioconjugaison **143** est obtenu avec un rendement de 47%. Le chauffage sous microondes à 80°C pendant 30 min, permet quant à lui d'obtenir le DO3A couplé avec la biotine avec un rendement de 52%. Les deux alternatives amènent donc à des résultats similaires (cf Schéma 3.28).

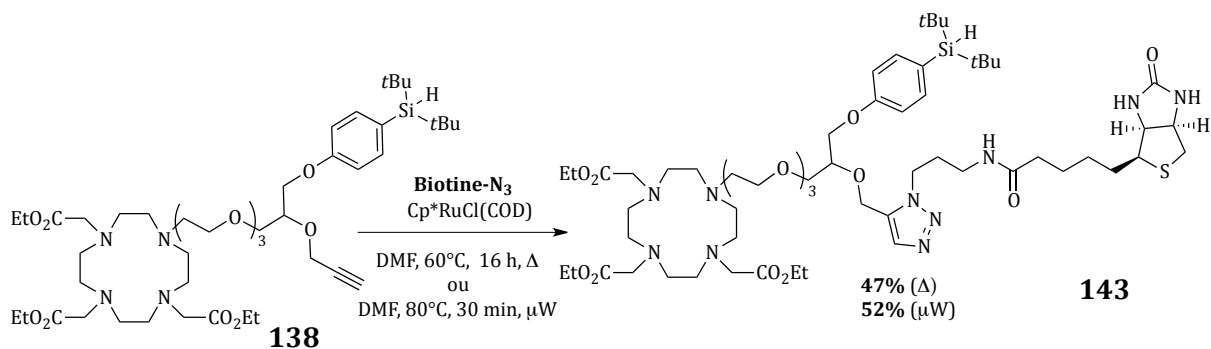


Schéma 3.28 : Introduction de l'azoture de biotine

2.2.3. Déprotection et complexation du gadolinium

La déprotection des fonctions acides a été réalisée avec une solution de NaOH (1 M) dans le THF. Après 24 h d'agitation, le milieu a été purifié par cartouche Sep-Pak C₁₈ et une lyophilisation a permis d'obtenir le triacide **144** avec un rendement quantitatif (cf Schéma 3.29).

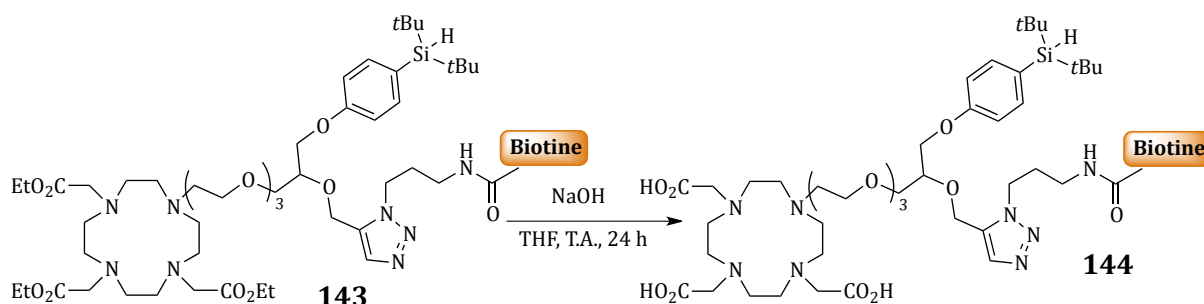


Schéma 3.29 : Déprotection du macrocycle **143**

Afin de complexer le gadolinium, le précurseur **144** a été mis en solution avec du chlorure de gadolinium anhydre dans de l'eau à 60°C sur une nuit à pH 7. Après purification sur colonne de Chelex-100 et lyophilisation, le complexe **145** a été obtenu avec un rendement de 95% (cf Schéma 3.30).

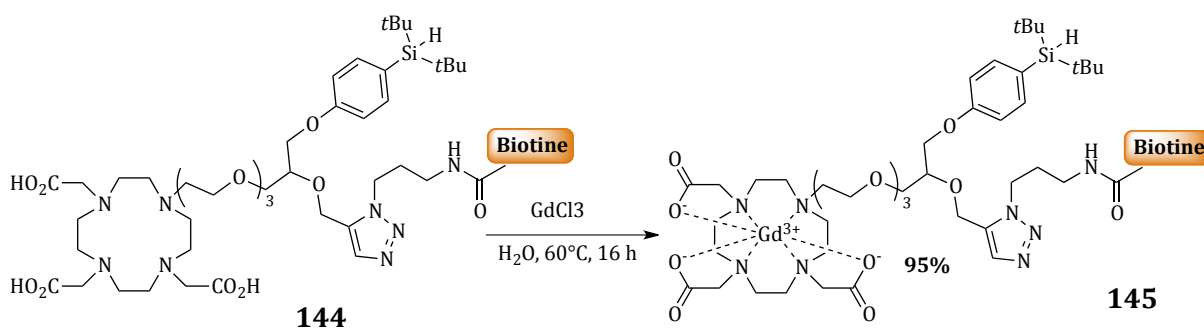


Schéma 3.30 : Complexation du gadolinium sur le précurseur **144**

Le second précurseur a ainsi été aisément obtenu avec de bons rendements. Une fluoration à chaud permettra enfin d'obtenir le traceur final. Des études RMN seront également réalisées afin de déterminer les valeurs de relaxivité.

CONCLUSION

Ainsi, deux précurseurs d'agents de contraste bimodaux ont été synthétisés dans cette partie. Les deux structures diffèrent seulement par la présence d'un espaceur entre le chélate de gadolinium et le reste de la molécule (cf Schéma 3.31).

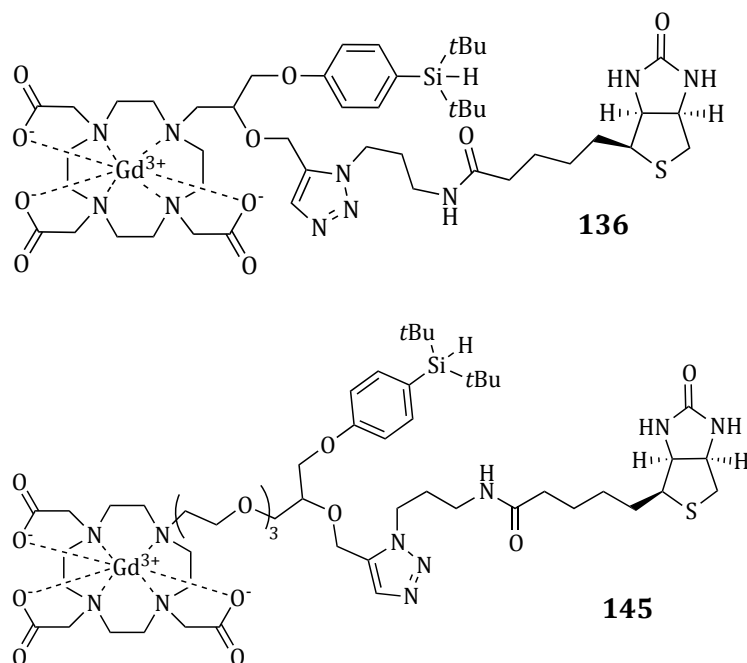


Schéma 3.31 : Précurseurs synthétisés

Il sera ainsi intéressant de comparer leurs propriétés tels que leurs paramètres IRM, leurs paramètres de radiomarquage ou encore leur biodistribution. Il est à noter que dans les deux cas, la réaction de bioconjugaison par chimie « click » catalysée au ruthénium a amené des rendements similaires, on peut en déduire que la première molécule ne possède pas de problème d'encombrements stériques empêchant cette réaction comme c'était le cas dans la partie 2 pour la synthèse des dimères.

Afin de finaliser ces traceurs, l'étape de radiomarquage reste à effectuer. Il est envisagé d'introduire le fluor 18 par réaction avec du fluorure de potassium en présence de kryptofix 2.2.2 et d'acide acétique dans du DMSO. Le rendement radiochimique et l'activité spécifique des traceurs seront alors déterminés. Ainsi, deux nouveaux traceurs utilisables simultanément en IRM et en TEP seront obtenus.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail de thèse a consisté en la synthèse d'agents bimodaux utilisables en imagerie médicale IRM/TEP. Deux approches ont alors été suivies : une approche « cocktail » (Partie 2) et une approche « molécule unique » (Partie 3).

Chacune des ces deux approches présente en effet ces avantages et ces inconvénient. La première permet de pouvoir moduler facilement les proportions de la sonde IRM et de la sonde TEP pour ainsi respecter les sensibilités propres aux des deux techniques.

La seconde, présente l'avantage d'avoir sur une même molécule les deux sondes, et donc d'avoir exactement la même biodistribution. Cependant, afin de respecter les sensibilités des deux techniques, seule une faible partie de la quantité finale sera radiomarkée. Pour le reste, un isotope froid, le fluor 19, devra être utilisé.

La première approche a été suivie en synthétisant des précurseurs composés de macrocycles DO3A permettant la chélation de métaux utilisables en imagerie, liés à une fonction propargyle en vue de l'introduction d'une biomolécule par chimie « click ». Le couplage de diverses biomolécules sur cette plateforme a permis de valider la méthode de bioconjugaison et ainsi d'obtenir un ensemble de précurseurs pouvant être marqués pour l'imagerie afin de visualiser différents processus biologiques. L'un de ces précurseurs, le DO3A-biotine, a été marqué avec succès avec d'une part du gallium 68 et d'autre part du gadolinium, permettant ainsi de réaliser des examens à la fois en TEP et en IRM. Un mélange dans des proportions adéquates, c'est-à-dire respectant les sensibilités de chacune de ces deux techniques, pourra alors être réalisé afin d'obtenir une sonde bimodale. La suite de ce travail a consisté à synthétiser des composés dimériques, afin d'augmenter l'affinité des traceurs finaux pour leur cible biologique. Un ensemble de plateformes difonctionnalisées a alors été développé, permettant le greffage de biomolécules comportant diverses fonctions chimiques. Par ailleurs, une structure dipropargylée, sur laquelle un espaceur de type triéthylène glycol a été introduit, a permis de valider le couplage simultané de deux biomolécules. Deux précurseurs intéressants ont ainsi été obtenus, le DO3A-di-thymidine et le DO3A-di-MPP. Ils pourront être par la suite déprotégés et marqués de la même manière que les monomères.

L'approche « molécule unique » a été suivie en synthétisant deux précurseurs similaires. La différence entre ces deux précurseurs, réside ici encore, par la présence ou non d'un

espaceur de type triéthylène glycol. Deux plateformes composées d'une part d'un macrocycle DO3A chélatant du gadolinium, d'autre part d'une biomolécule et enfin d'un silane en vue de l'introduction d'un atome de fluor 18 ont ainsi été synthétisées. Afin d'obtenir des traceurs bimodaux, seule l'étape de fluoration reste à réaliser.

Une fois les étapes de radiomarquage réalisées, il sera intéressant de comparer les deux approches, dans un premier temps en terme de relaxivité et de radiomarquage puis en terme d'imagerie.

Afin de répondre au développement important de l'imagerie bimodale, il pourrait également être intéressant, d'introduire dans ces plateformes d'autres métaux et ainsi réaliser d'autres types d'examens. Par exemple, des complexes d'euprium pourraient donner accès à l'imagerie optique et des complexes d'indium 111 à l'imagerie TEMP.

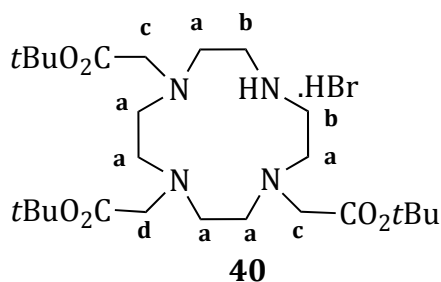
Enfin, la recherche s'oriente également de plus en plus, vers l'utilisation d'agents « théranostiques » combinant à la fois un aspect imagerie et un aspect thérapeutique afin de suivre l'évolution d'un traitement par imagerie. Il serait alors intéressant d'utiliser les plateformes synthétisées pour complexer des radioisotopes utilisables pour la thérapie tels que le luthétium 177 ou l'yttrium 90.

EXPERIMENTAL PART

General experiment details:

All water-sensitive reactions were carried out under an argon atmosphere with dry solvents under anhydrous conditions. Yields refer to chromatographically and spectroscopically (^1H NMR) homogeneous materials. Commercial reagents were used without purification, unless otherwise stated. Geduran[®] Si 60 silica gel (40-63 μM) was used for flash chromatography. Microwave assisted reactions were carried out on a Biotage Initiator. High-performance liquid chromatography (HPLC) analyses were performed using a Phenomenex Luna C₁₈ (250 \times 4.6 mm, 5 μm , 1 mL/min) and the indicated conditions. Analytical HPLC system used was a JASCO system with ChromNAV software, a PU-2089 Plus quaternary gradient pump and a MD-2018 Plus photodiode array detector with or without Raytest Gabi Star detectors. Semi-preparative HPLC purifications were carried out using a semi preparative Phenomenex Luna C₁₈ column (250 \times 10 mm, 5 μm , 2.5 mL/min) and the indicated conditions. Semi-preparative HPLC system used was a JASCO system with ChromNAV software, two PU-2087 Plus preparative pumps and a MD-2075 intelligent UV/Vis detector. ^1H NMR and ^{13}C NMR were recorded on Bruker AVANCE-300 FT (^1H : 300 MHz, ^{13}C : 75.5 MHz), Bruker DPX-400 FT (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100.2 MHz) and Bruker DPX-600 FT (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz) apparatus using indicated internal reference. The chemical shifts and coupling constants (J) are expressed in ppm and Hz respectively. High resolution mass spectra were performed by the CESAMO (Talence, France) and were recorded on Qq-TOF tandem mass spectrometer (API Q-STAR Pulsar *i*, Applied Biosystems). Positive or negative ion modes ESI-MS were used for the analysis. Maldi-MS spectra were performed by the CESAMO (Talence, France) on a Voyager mass spectrometer (Applied Biosystems). The instrument is equipped with a pulsar N₂ laser (337 nm) and a time-delayed extracted ion source. FD-MS spectra were performed by the CESAMO (Bordeaux, France). The measurements were carried out on a TOF mass spectrometer AccuTOF GCv by JEOL using an FD emitter with an emitter voltage of 10 kV. One to two microliters solution of the compound is deposited on a 13mm emitter wire.

Tri-*tert*-butyl 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate hydrobromide :



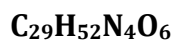
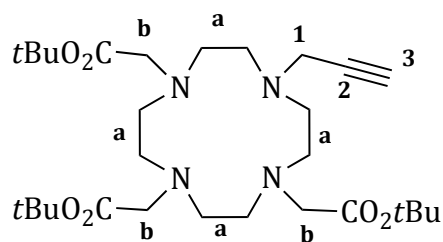
MW = 595.61 g/mol

To a solution of cyclen (1.723 g, 10 mmol, 1 eq) in DMA (30 mL) was added sodium acetate (2.461 g, 30 mmol, 3 eq). The reaction mixture was cooled down to 0°C and *t*-butylbromoacetate (4.43 mL, 30 mmol, 3 eq) in solution in DMA (10 mL) was added dropwise. The reaction was allowed to warm up to room temperature and stirred over 48 h. The reaction mixture was then poured into a KBr solution (2.737 g, 23 mmol, 2.3 eq in 165 mL of water) and was adjusted to a basic pH with slow addition of sodium bicarbonate (2.940 mmol, 35 mmol, 3.5 eq). A precipitate was formed immediately. The mixture was then stirred 15 min and filtered. The precipitate was washed with diethyl ether to afford compound **40** as a white powder (5.232 g, 8.8 mmol, 88%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.45 (s, 27H), 2.87-2.93 (m, 12H, CH_{2(a)}), 3.08 (m, 4H, CH_{2(b)}), 3.27 (m, 2H, CH_{2(d)}), 3.36 (m, 4H, CH_{2(c)}), 10.01 (s, 1H)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 28.3, 38.2, 47.6, 49.2, 51.4, 58.3, 81.8, 169.7, 170.6.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-(prop-2-yn-1-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



MW = 552.75 g/mol

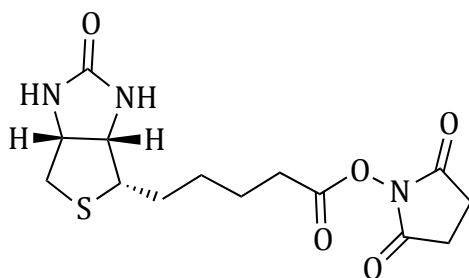
To a solution of the triprotected cyclen **40** (595 mg, 1 mmol, 1 eq) under argon in DMF (10 mL) was added potassium carbonate (290 mg, 2.1 mmol, 2.1 eq). After stirring for 1 h at room temperature, propargyl bromide 80% in toluene (0.14 mL, 1.3 mmol, 1.3 eq) was added dropwise. The reaction mixture was warmed up to 70°C and stirred for 24 h. The mixture was then allowed to cooled down to room temperature and filtered. The solvent was evaporated under reduced pressure and the crude product was chromatographed on silica gel (DCM to DCM/MeOH 95/5 v/v) to afford the product **38** as a brown foam (492 mg, 89%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.44 (m, 27H, CH₃(*tBu*)), 2.31-3.70 (m, 23H, CH₂(*a*), CH₂(*b*) and CH(*3*)), 3.86 (m, 2H, CH₂(*1*)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 25.6, 39.6, 40.9, 43.5, 53.8, 53.9, 54.0, 54.7, 55.9, 58.8, 64.1, 72.0, 72.5, 76.4, 76.7, 79.9, 80.0, 80.4, 80.6, 83.4, 162.8, 168.2, 168.9, 171.8, 172.1.

HRMS (ESI): Calculated for C₂₉H₅₃N₄O₆ [M+H]⁺ 553.3959 found 553.3954.

2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl 5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanoate :



41

C₁₄H₁₉N₃O₅S

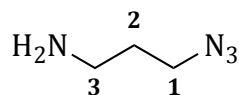
MW = 341.38 g/mol

To a solution of biotin (1.221 g, 5 mmol, 1 eq) under argon in dry DMF (15 mL), were added *N*-Hydroxysuccinimide (748 mg, 6.5 mmol, 1.3 eq) and dicyclohexylcarbodiimide (1.032 g, 5 mmol, 1 eq). The reaction mixture was stirred 24 h at room temperature. DCU was then filtered and filtrate was evaporated under reduced pressure. After precipitation with diethyl ether, compound **41** was filtered and washed with diethyl ether and 2-propanol (1.567 g, 92%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ_{ppm}: 1.31-1.71 (m, 6H), 2.55-2.92 (m, 8H), 3.10 (m, 1H), 4.14 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 6.41 (d, *J* = 19.3 Hz, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ_{ppm}: 24.9, 28.3, 30.4, 31.2, 33.8, 55.7, 59.6, 61.4, 163.1, 170.7

3-Azidopropan-1-amine :



42

C₃H₈N₄

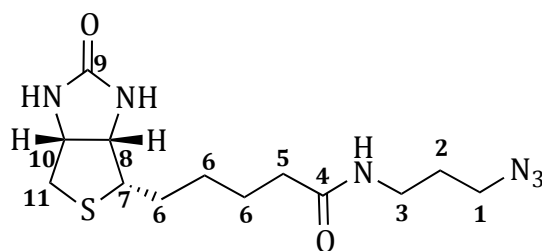
MW = 100.12 g/mol

Sodium azide (975 mg, 15 mmol, 3 eq) was added to a solution of chloropropylamine hydrochloride (650 mg, 5 mmol, 1 eq) in water (20 mL). The reaction mixture was stirred overnight at 80°C and was then cooled with an ice bath. Diethyl ether (50 mL) was then added to the reaction mixture followed by KOH pellets (1.2 g) portionwise. The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with diethyl ether (2*50mL). The combined organic layers were dried over carbonate potassium and carefully concentrated to give the product **42** (426 mg, 85%) as a clear yellow oil.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.22 (s, 2H, NH₂), 1.68 (m, 2H, CH₂₍₂₎), 2.75 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 3.32 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂₍₃₎).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 32.5 (CH₂₍₂₎), 39.3 (CH₂₍₃₎), 49.1 (CH₂₍₁₎).

N-(3-Azidopropyl)-5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamide :



39

C₁₃H₂₂N₆O₂S

MW = 326.42 g/mol

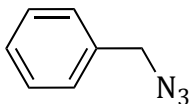
To a solution of biotin *N*-hydroxysuccinimide active ester **41** (614 mg, 1.8 mmol, 1 eq) under argon in dry DMF (14 mL), triethylamine (1.25 mL, 9 mmol, 5 eq) and 3-azidopropylamine **42** (361 mg, 3.6 mmol, 2 eq) in solution in dry DMF (4 mL) were added. The reaction mixture was stirred for 16 h at room temperature and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was then chromatographed on silica gel (DCM/MeOH 90/10 v/v) to afford the compound **39** as a beige solid (514 mg, 87%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.30 (m, 2H, CH₂₍₆₎), 1.39-1.67 (m, 6H, 2*CH₂₍₆₎ and CH₂₍₂₎), 2.05 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂₍₅₎), 2.57 (m, 1H, CH₂₍₁₁₎), 2.81 (dd, *J* = 4.9 Hz, *J* = 12.4 Hz, 1H, CH₂₍₁₁₎), 3.09 (m, 3H, CH₍₇₎ & CH₂₍₃₎), 3.34 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 4.12 (m, 1H, CH₍₈₎), 4.30 (m, 1H, CH₍₁₀₎), 6.41 (2s, 2H, NH), 7.86 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H, NHCO).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 25.3 (CH₂₍₆₎), 28.2 (CH₂₍₆₎), 28.3 (CH₂₍₆₎), 28.6 (CH₂₍₂₎), 35.3 (CH₂₍₃₎), 35.9 (CH₂₍₅₎), 40.0 (CH₂₍₁₁₎), 48.5 (CH₂₍₁₎), 55.6 (CH₍₇₎), 59.4 (CH₍₁₀₎), 61.2 (CH₍₈₎), 163.0 (C₍₉₎), 172.4 (C₍₄₎).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₃H₂₂N₆O₂SNa [M+Na]⁺ 349.1417 found 349.1432.

(Azidomethyl)benzene :



47

C₇H₇N₃

MW = 133.15 g/mol

To a solution of sodium azide (357 mg, 5.5 mmol, 1.1 eq) in DMSO (100 mL), benzyl bromide (0.59 mL, 5 mmol, 1 eq) was added. The reaction mixture was stirred overnight and was then diluted with water (100 mL). The organic layer was extracted with diethyl ether (3*50 mL). The organic layers were combined, washed twice with water (2*50mL) and brine (50 mL), dried over sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. The crude product was then filtered over a silica pad with hexane as eluant to give the product **47** (535 mg, 80%) as a colorless oil.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 4.35 (s, 2H, CH₂), 7.38 (m, 5H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 54.9 (CH₂), 128.4 (CH_{ar}), 128.8 (CH_{ar}), 129.0 (CH_{ar}), 135.6 (C_{ar}).

General procedure for the ruthenium catalyzed « click » reaction:

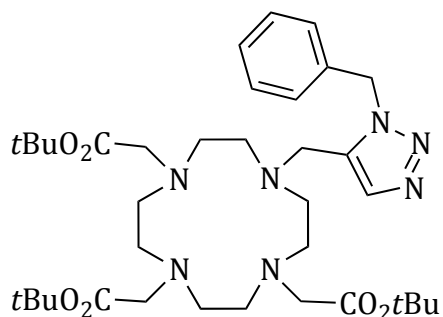
- ***General procedure for thermic heating conditions, Method A:***

To a solution of ruthenium's catalyst (0.1 eq) under argon in dry DMF was added dropwise a solution of DO3A-propargyl (1 eq) and azide (0.1 mmol, 1 eq) in dry DMF. The reaction was warmed up to a given temperature and stirred for a period of time shown in Tables 2.2, 2.3 and 2.4. After cooling, the solvent was removed under reduced pressure and the product was purified by silica gel chromatography.

- ***General procedure for « microwaves conditions », Method B:***

A solution of catalyst (0.1 eq) under argon in dry DMF was added to DO3A-propargyl (1 eq) in a microwaves reactor. A solution of the azide (1 eq) in dry DMF was then added dropwise. The reaction mixture was heated at a given temperature and for a period of time shown in Table 2.2, 2.3 and 2.4. After cooling, the solvent was evaporated under reduced pressure and the product was purified by silica gel chromatography or semi-preparative HPLC.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-((1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



48

C₃₆H₅₉N₇O₆

MW = 685.90 g/mol

Method A and B were used for the synthesis of compound **48**.

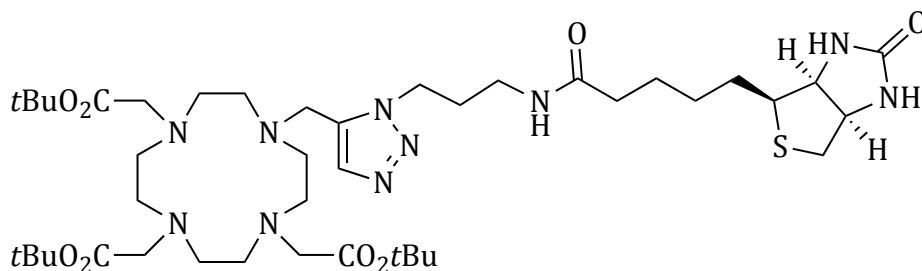
Cp*RuCl(COD) (4 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq) or Cp*RuCl(PPh₃)₃ (8 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq) were used with DO3A-propargyl (55 mg, 0.1 mmol, 1 eq) and benzyl azide (0.1 mmol, 0.1 eq) in dry DMF (1 mL). Flash chromatography (DCM/MeOH 100/0 to 85/15 v/v) yielded compound **48** as a brown foam (cf Table 2.2).

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 1.52 (m, 27H), 2.31-3.97 (m, 24H), 5.71 (s, 2H), 7.30 (m, 5H), 7.89 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 28.4, 47.4, 52.7, 56.6, 57.1, 82.9, 83.4, 83.9, 128.3, 129.5, 130.1, 133.1, 134.3, 135.7, 136.8, 174.5, 175.3.

HRMS (FD): Calculated for C₃₆H₅₉N₇O₆Na [M+Na]⁺ 708.44190 found 708.44263.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-((1-(3-(5-(2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



49

C₄₂H₇₄N₁₀O₈S

MW = 879.16 g/mol

Method A and B were used for the synthesis of compound **49**.

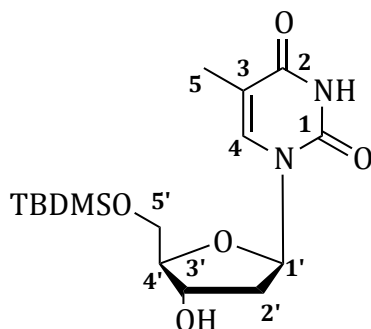
Cp*RuCl(COD) (4 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq) or Cp*RuCl(PPh₃)₃ (8 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq) were used with DO3A-propargyl (55 mg, 0.1 mmol, 1 eq) and *N*-(3-azidopropyl)-5-(2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamide (0.1 mmol, 0.1 eq) in dry DMF (1 mL). Flash chromatography (DCM/MeOH 100/0 to 85/15 v/v) yielded compound **49** as a yellow foam (cf Table 2.3).

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 1.60-1.85 (m, 34H), 2.18-3.95 (m, 35H), 4.40 (m, 1H), 4.58 (m, 3H), 7.88 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 26.9, 28.3, 28.4, 29.5, 29.8, 30.9, 36.8, 37.6, 41.1, 47.1, 47.3, 56.7, 57.0, 57.1, 61.6, 63.4, 83.5, 84.0, 133.9, 135.5, 166.0, 174.6, 175.4, 176.2.

HRMS (ESI): Calculated for C₄₂H₇₅N₁₀O₈S [M+H]⁺ 879.5484 found 879.5488.

1-((2R,4S,5S)-5-((tert-Butyldimethylsilyl)methyl)-4-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)-5-methylpyrimidine-2,4(1H,3H)-dione:



50

C₁₆H₂₈N₂O₅Si

MW = 356.49 g/mol

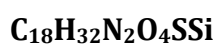
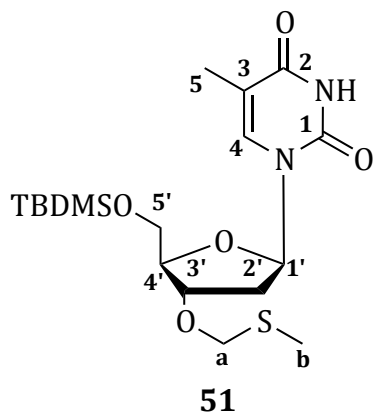
To a solution of thymidine (3 g, 12.38 mmol, 1 eq) under argon in dry pyridine (25 mL) was added *t*-butyldimethylsilylchloride (2.240 g, 14.86 mmol, 1.2 eq). After stirring for 24 h at room temperature were added ethyl acetate and a solution of saturated ammonium chloride. The two layers were separated and the organic layer was washed with water, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. After a coevaporation with toluene *in vacuo* the compound **50** is obtained as white solid (4.2 g, 95%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 0.12 (s, 6H, CH₃(TBDMS)), 0.93 (s, 9H, CH₃(TBDMS)), 1.92 (d, *J* = 1.1 Hz, 3H, CH₃(5)), 2.09 (m, 1H, CH₂(2')), 2.42 (ddd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 5.7 Hz, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH₂(2')), 3.00 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H, OH), 3.83 (dd, *J* = 11.3 Hz, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH₂(5')), 3.89 (dd, *J* = 11.3 Hz, *J* = 2.6 Hz, 1H, CH₂(5')), 4.09 (dd, 1H, *J* = 4.7 Hz, *J* = 2.3 Hz, CH(4')), 4.46 (m, 1H, CH(3')), 6.42 (dd, *J* = 8.3 Hz, *J* = 5.7 Hz, 1H, CH(1')), 7.56 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, CH(3)), 9.56 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 5.4 (SiCH₃(TBDMS)), 12.5 (CH₃(5)), 18.3 (C(TBDMS)), 25.9 (CH₃(TBDMS)), 41.1 (CH₂(2')), 63.6 (CH₂(5')), 72.5 (CH(3')), 85.0 (CH(1')), 87.4 (CH(4')), 110.9 (C(3)), 135.5 (CH(4)), 150.6 (CO(1)), 164.1 (CO(2)).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₆H₂₉N₂O₄Si [M+H]⁺ 357.1846 found 357.1847.

1-((2*R*,4*S*,5*S*)-5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)methyl)-4-((methylthio)methoxy)tetrahydrofuran-2-yl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione:



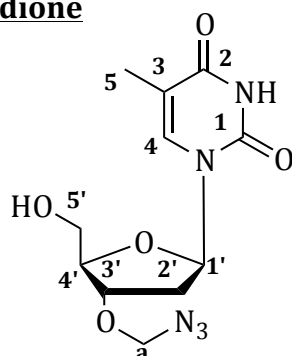
MW = 416.61 g/mol

Acetic acid (4.8 ml) and acetic anhydride (15.4 ml) were added under argon to a stirred solution of **50** (2.0 g, 5.6 mmol, 1 eq) in DMSO (10.5 mL). After stirring for 48 h at room temperature, a saturated solution of NaHCO₃ was added. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*100 mL). The combined organic layers were washed with a saturated solution of NaHCO₃, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 70/30 to 50/50 v/v) to afford compound **51** as a white powder (1.75 g, 75%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 0.13 (s, 6H, CH₃(TBDMS)), 0.93 (s, 9H, CH₃(TBDMS)), 1.92 (d, *J* = 1.1 Hz, 3H, CH₃(5)), 1.97 (m, 1H, CH₂(2')), 2.14 (s, 3H, CH₃(b)), 2.39 (m, 1H, CH₂(2')), 3.78–3.90 (m, 2H, CH₂(5')), 4.10 (m, 1H, CH(3')), 4.46 (m, 1H, 1H, CH(4')), 4.62 (m, 2H, CH₂(b)), 6.28 (m, 1H, CH(1')), 7.48 (s, 1H, CH(3)), 8.16 (s, 1H, NH).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₈H₃₃N₂O₅SSi [M+H]⁺ 417.1879 found 417.1890.

1-((2R,4S,5R)-4-(Azidomethoxy)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-methylpyrimidine-2,4(1H,3H)-dione



52

C₁₁H₁₅N₅O₅

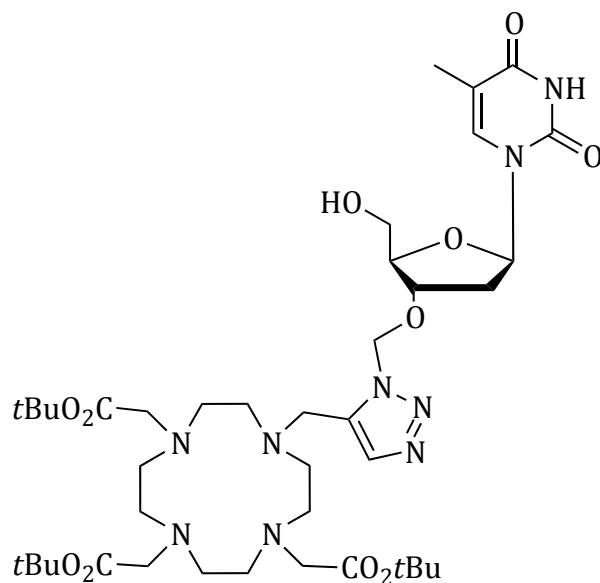
MW = 297.27 g/mol

To a solution of compound **51** (1.095 g, 2.6 mmol) under argon in dry DCM (10 mL) were added cyclohexene (1.33 mL) and thionyl chloride (248 μ L, 3.6 mmol, 1.4 eq). After stirring for 1 h 30 at 0°C, the solvent was removed *in vacuo*. The residue was dissolved in DMF (5 mL) and sodium azide (926 mg, 15.4 mmol, 5.9 eq) was added. The reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature and water was added. The aqueous layer was extracted with DCM (3*50 mL). The combined organic layers were dried over sodium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in MeOH (5 mL) and NH₄F (600 mg, 16.2 mmol, 6.2 eq) was added. After stirring for 24 h at room temperature, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. Water and DCM were added and the two layers were separated. The organic layer was dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 50/50 to 30/70) to afford azide **52** as a white powder (550 mg, 71%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 1.95 (d, $J = 1.1$ Hz, 3H, CH₃₍₅₎), 2.45 (m, 2H, CH_{2(2')}), 3.84–4.01 (m, 2H, CH_{2(5')}), 4.16 (m, 1H, CH_(3')), 4.46 (m, 1H, CH_(4')), 4.50 (m, 1H), 4.70–4.79 (m, 2H_(a)), 6.14 (m, 1H, CH_(1')), 7.40 (s, 1H, CH₍₃₎), 8.16 (s, 1H, NH).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₁H₁₆N₅O₅ [M+H]⁺ 298.1151 found 298.1146.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-(((1-(((2*R*,3*S*,5*R*)-2-(hydroxymethyl)-5-(5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl)tetrahydrofuran-3-yl)oxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



53

C₄₀H₆₇N₉O₁₁

MW = 850.01 g/mol

Method A and B were used for the synthesis of compound **53**.

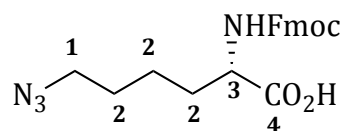
Cp*RuCl(COD) (4 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq) or Cp*RuCl(PPh₃)₃ (8 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq) were used with DO3A-propargyl (55 mg, 0.1 mmol, 1 eq) and 1-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-(azidomethoxy)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (30 mg, 0.1 mmol, 1 eq) in dry DMF (1 mL). Flash chromatography (DCM/MeOH 100/0 to 90/10 v/v) yielded compound **54** as a brown foam (cf Table 2.4).

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 1.52 (m, 27H), 1.87 (s, 3H), 2.11-4.64 (m, 32H), 5.92 (s, 2H), 6.19 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.88 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 12.5, 28.4, 38.4, 46.9, 56.8, 57.3, 62.9, 77.2, 81.4, 83.5, 83.9, 85.9, 86.5, 111.8, 135.0, 135.1, 135.8, 137.7, 152.3, 166.2, 174.7, 175.4.

HRMS (FD): Calculated for C₄₀H₆₇N₉O₁₁ [M+H]⁺ 850.50328 found 850.50489.

Fmoc-Azido-L-lysine:



54

C₂₁H₂₂N₄O₄

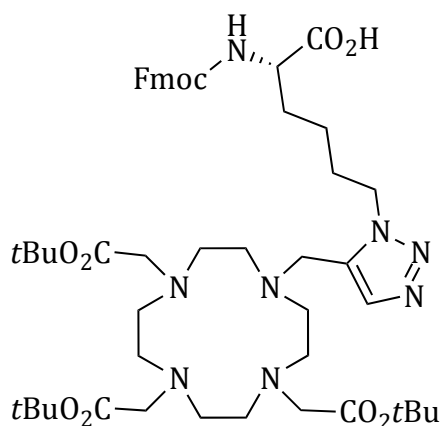
MW = 394.42 g/mol

Sodium bicarbonate (11.4 g, 135.6 mmol, 10 eq) was added portionwise over 1 h in a solution of lysine (5 g, 13.56 mmol, 1 eq) in a mixture of H₂O/MeOH (75 mL/60 mL). CuSO₄·5H₂O (33.9 mg, 0.136 mmol, 0.01 eq) and imidazole-1-sulfonyl azide hydrochloride (2.83 g, 16.3 mmol, 1.2 eq) were added. After stirring for 16 h at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude mixture was dissolved in water and pH was adjusted to 2 with HCl 1 N. Ethyl acetate (150 mL) was added and the two layers were separated. The organic layer was dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Tol/EtOAc/AcOH 75/25/1 v/v) to afford compound **54** as a beige solid (4.148 g, 77%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.10-2.05 (m, 6H, CH₂₍₂₎), 3.22 (m, 2H, CH₂₍₁₎), 4.16 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH(*Fmoc*)), 4.30-4.55 (m, 3H, CH₍₃₎ and CH_{2(Fmoc)}), 5.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, NH), 7.10 (m, 4H, H_{ar(Fmoc)}), 7.52 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, H_{ar(Fmoc)}), 7.70 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, H_{r(Fmoc)}).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 22.4 (CH₂₍₂₎), 28.4 (CH₂₍₂₎), 31.8 (CH₂₍₂₎), 47.0 (CH(*Fmoc*)), 51.1 (CH₂₍₃₎), 53.4 (CH₍₃₎), 67.1 (CH_{2(Fmoc)}), 120.0 (CH_{ar(Fmoc)}), 125.0 (CH_{ar(Fmoc)}), 127.1 (CH_{ar(Fmoc)}), 127.8 (CH_{ar(Fmoc)}), 141.3 (C_{ar(Fmoc)}), 143.6 (C_{ar(Fmoc)}), 143.8 (C_{ar(Fmoc)}), 156.1 (C_{O(Fmoc)}), 175.8 (C₍₄₎)

(R)-2-((((9H-Fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-6-(5-((4,7,10-tris(2-(tert-butoxy)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)hexanoic acid :



55

C₅₀H₇₄N₈O₁₀

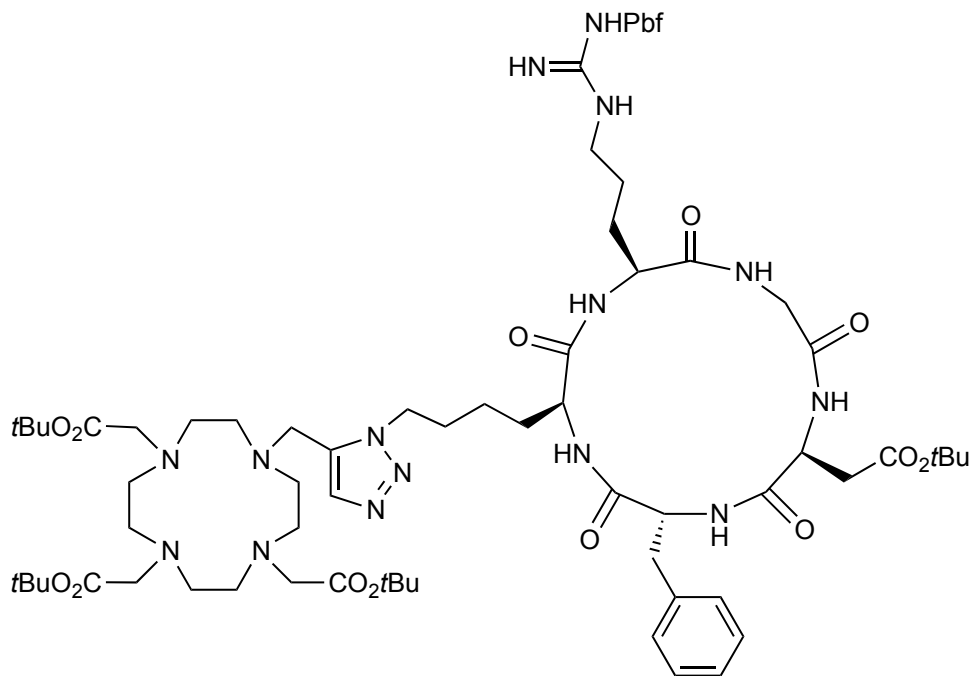
MW = 947.17 g/mol

Method B was used for the synthesis of compound **55** with Cp*RuCl(COD) (4 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq), DO3A-propargyl (55 mg, 0.1 mmol, 1 eq) and Fmoc-Lys(N₃)-OH (39 mg, 0.1 mmol, 1 eq) in dry DMF (1 mL) with a time of reaction of 30 min. Flash chromatography (DCM/MeOH 100/0 to 85/15 v/v) yielded compound **55** as a brown foam (33 mg, 35%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 0.89-1.51 (m, 33H), 2.08-4.69 (m, 30H), 7.21-7.72 (m, 8H, H_{ar}), 8.10 (s, 1H, H_{triazole}).

HRMS (ESI): Calculated for C₅₀H₇₄N₈O₁₀K [M+K]⁺ 985.5159 found 985.5119.

Tri-tert-butyl-2,2',2''-(10-((1-(4-(14-benzyl-11-(2-(tert-butoxy)-2-oxoethyl)-3,6,9,12,15-pentaoxo-5-(3-(3-((2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)sulfonyl)guanidino)propyl)-1,4,7,10,13-pentaazacyclopentadecan-2-yl)butyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



59

C₇₃H₁₁₅N₁₅O₁₆S

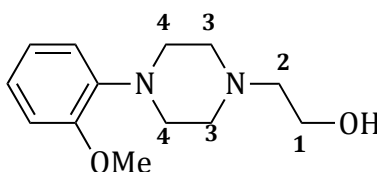
MW = 1489.84 g/mol

Compound **59** was synthesized following the Method B with Cp*RuClCOD (2 mg, 0.005 mmol, 0.1 eq), DO3A-propargyl (27.5 mg, 0.05 mmol, 1 eq) and protected RGDfK azide (47 mg, 0.05 mmol, 1 eq) in DMF (0.5 mL) with a reaction time of 1 h. Semi-preparative HPLC was used to yield compound **59** as a white solid (18 mg, 24%).

HRMS (ESI): Calculated for C₇₃H₁₁₆N₁₅O₁₆S [M+H]⁺ 1490.8439 found 1490.8434.

HPLC (230 nm): Gradient 95/5 to 5/95 (H₂O 0.1%TFA/ACN 0.1%TFA), t_R = 22.03 min

2-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)ethanol:



60

C₁₃H₂₀N₂O₂

MW = 236.31 g/mol

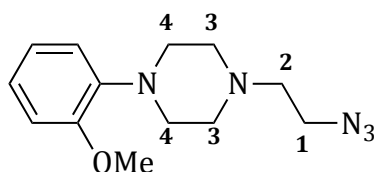
2-Bromoethanol (650 μ L, 9.18 mmol, 1.05 eq) was added to a solution of 1-(2-methoxyphenyl)piperazine hydrochloride (2 g, 8.74 mmol, 1 eq) and anhydrous potassium carbonate (3 g, 21.85 mmol, 2.5 eq) in dry ACN (20 mL). The reaction mixture was refluxed for 48 h. After that time, the mixture was filtered and concentrated. The resulting slurry was then chromatographed on silica gel (CHCl₃ to CHCl₃/MeOH 94/6 v/v) to afford compound **60** as a white solid (2.0 g, 97%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 2.62 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H, CH₂₍₂₎), 2.72 (m, 4H, CH₂₍₃₎), 3.10 (m, 4H, CH₂₍₄₎), 3.65 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 3.86 (s, 3H, CH_{3(OMe)}), 6.82-7.05 (m, 4H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 50.9, 53.2, 55.5, 57.9, 59.4, 111.3, 118.3, 121.1, 123.1, 141.3, 152.4.

HRMS (ESI): Calculate for C₁₃H₂₁N₂O₂ [M+H]⁺ 237.1597 found 237.1595.

1-(2-Azidoethyl)-4-(2-methoxyphenyl)piperazine:



61

C₁₃H₁₉N₅O

MW = 261.32 g/mol

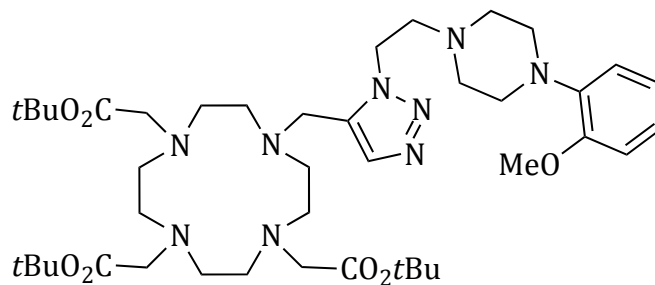
To a solution of compound **60** (354 mg, 1.5 mmol, 1 eq) under argon in anhydrous DMF (3.75 mL) were added DBU (448 μ L, 3 mmol, 2 eq) and DPPA (647 μ L, 3 mmol, 2 eq). The reaction mixture was stirred at 65°C overnight. After that time, the reaction mixture was cooled to room temperature and water (10 mL) was added. The mixture was then extracted with diethyl ether (2*10 mL). The resulting organic layer was successively washed with water and brine, dried over sodium sulfate and concentrated. The crude product was then chromatographed on silica gel (PE/EtOAc 50/50 v/v) to afford compound **61** as a yellow oil (360 mg, 91%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 2.60-2.75 (m, 6H, CH₍₁₎ and CH₂₍₃₎), 3.11 (m, 4H, CH₂₍₄₎), 3.40 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, CH₂₍₂₎), 3.86 (s, 3H, CH_{3(OMe)}), 6.82-7.05 (m, 4H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 48.4, 50.7, 53.5, 55.5, 57.3, 111.3, 118.4, 121.1, 123.1, 141.3, 152.4.

HRMS (ESI): Calculate for C₁₃H₂₀N₅O [M+H]⁺ 262.1662 found 262.1670.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-((1-(2-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



62

C₄₂H₇₁N₉O₇

MW = 814.07 g/mol

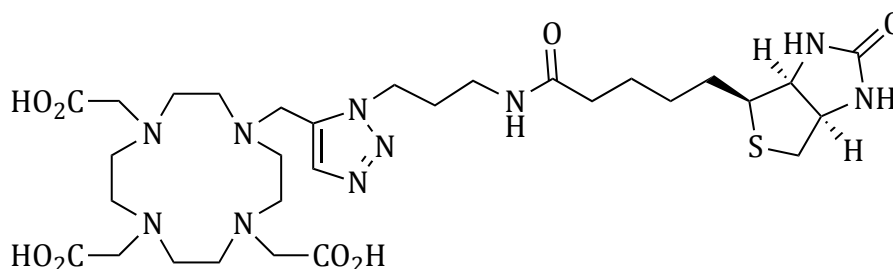
Compound **62** was synthesized following the Method B with Cp*RuClCOD (4 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq), DO3A-propargyl (55 mg, 0.1 mmol, 1 eq) and MPP azide (26 mg, 0.1 mmol, 1 eq) in dry DMF (1 mL) with a reaction time of 30 min. Flash chromatography (DCM/MeOH 100/0 to 96/4 v/v) yielded compound **62** as a brown foam (43 mg, 53%).

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm} : 1.50 (m, 27H), 2.37-3.87 (m, 37H), 4.64 (m, 2H), 6.97 (m, 4H), 7.89 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm} : 12.5, 28.4, 38.4, 46.9, 56.8, 57.3, 62.9, 77.2, 81.4, 83.5, 83.9, 85.9, 86.5, 111.8, 135.0, 135.1, 135.8, 137.7, 152.3, 166.2, 174.7, 175.4.

HRMS (ESI): Calculated for C₄₂H₇₁N₉O₇Na [M+Na]⁺ 836.5368 found 836.5375.

2',2''-(10-((1-(3-(5-(2-Oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetic acid :



63

C₃₀H₅₀N₁₀O₈S

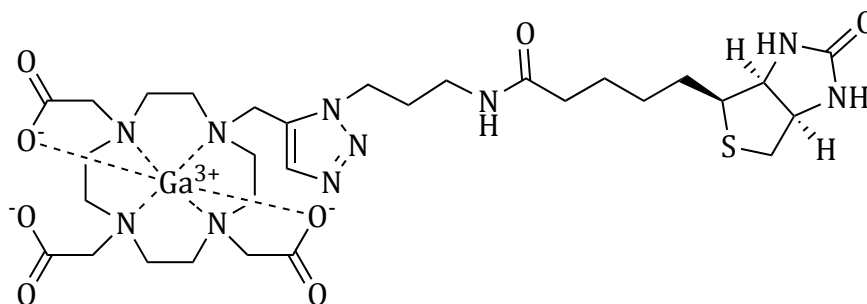
MW = 710.85 g/mol

Compound **49** (50 mg, 0.056 mmol, 1 eq) was dissolved in HCl 37% (0.5 mL) and the mixture was stirred 30 min at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified on C₁₈ SepPack cartridge (washed with water and eluted with acetonitrile). After lyophilisation, 37 mg of compound **63** (93%) was obtained as a white fluffly solid.

HRMS (FD): Calculated for C₃₀H₄₉N₁₀O₈S [M-H⁺] 709.34501 found 709.34356.

HPLC (230 nm): Gradient 95/5 to 5/95 (H₂O 0.1%TFA/ACN 0.1%TFA) t_R = 8.68 min

Cold Gallium complex of 2,2',2''-(10-((1-(3-(5-(2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



64

C₃₀H₄₇GaN₁₀O₈S

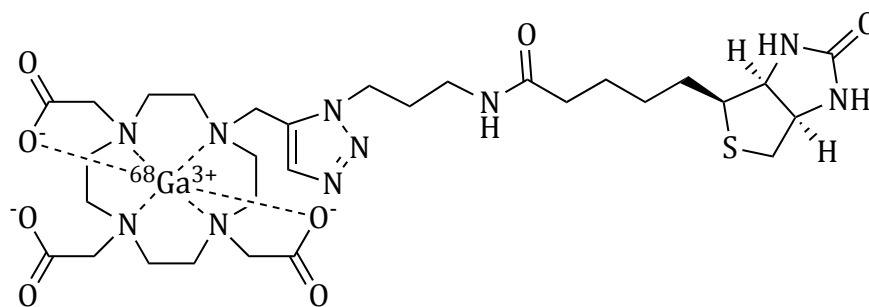
MW = 777.55 g/mol

A solution of gallium nitrate hydrate (1.07 mg, 0.0031 mmol, 2 eq) and deprotected DO3A-biotin **63** (1.1 mg, 0.0015 mmol, 1 eq) in acetate buffer pH 4.6 (0.6 mL) was heated at 80°C for 20 min under microwaves. After evaporation, the mixture was purified by semi-preparative HPLC and lyophilized to afford the compound **64** as a white fluffly solid.

MS (ESI): 776.3 [M]⁺

HRMS (ESI): Calculated for C₃₀H₄₇GaN₁₀O₈SNa [M+Na]⁺ 799.2447 found 799.2444.

⁶⁸Gallium complex of 2,2',2''-(10-((1-(3-(5-(2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



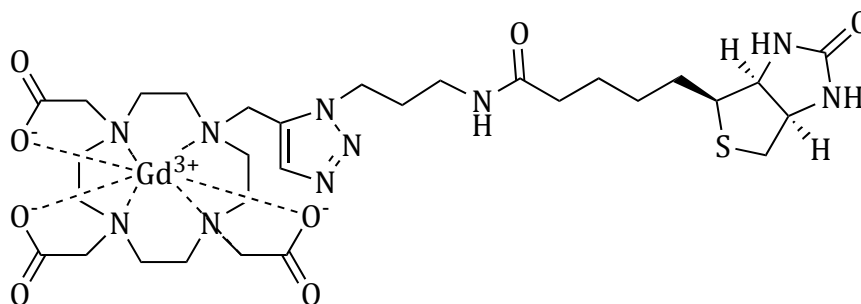
65



45 µL of a 2 mM DO3A-Biotin (**63**) solution in acetate buffer (pH 4.6) are introduced into the labelling reactor. The ⁶⁸Ga generator is eluted with 0.1 M hydrochloric acid (6.2 mL). After discarding the first and the last mL, the second fraction is acidified with 5 mL HCl 30% and adsorbed onto an anion exchange resin. The resin is eluted with water (0.2 mL) and added to the DO3A-Biotin solution. The reaction mixture is heated under microwave irradiation at 90°C for 300 s and then diluted with water. The activity measured was 123 MBq for a synthesis time of 16 min. The crude product was purified onto a Sep-Pak C₁₈-cartridge (elution with ethanol).

HPLC (Radioactivity and UV detection): Gradient 95/5 to 5/95 (H₂O 0.1%TFA/ACN 0.1%TFA), t_R = 8.61 min.

Gadolinium complex of 2,2',2''-(10-((1-(3-(5-(2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



66

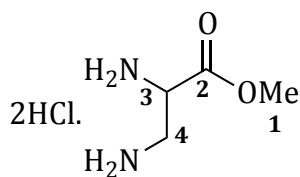
C₃₀H₄₇GdN₁₀O₈S

MW = 865.07 g/mol

Gadolinium chloride anhydrous (18 mg, 0.068 mmol, 1.3 eq) was added to a solution of compound **63** (40 mg, 0.052 mmol, 1 eq) in water (1 mL). The mixture was stirred at 60°C for 24 h and the pH was periodically adjusted to 6.5-7 with a solution of NaOH 1 M and/or HCl 0.1 M. The reaction was cooled down to room temperature and purified through a column of chelex-100 to trap free Gd³⁺. After lyophilization, 45mg of compound **66** (100%) was obtained as a white solid.

HRMS (FD): Calculated for C₃₀H₄₈GdN₁₀O₈S [M+H]⁺ 866.26128 found 866.26408.

Methyl 2,3-diaminopropanoate dihydrochloride :



69

C₄H₁₀N₂O₂·2HCl

MW = 191.06 g/mol

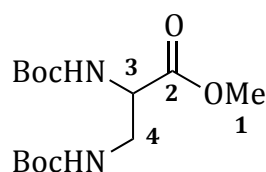
To a suspension of diaminopropionic acid hydrochloride salt (702 mg, 5 mmol, 1 eq) in methanol (50 mL) was added thionyle chloride (0.54 mL, 7.5 mmol, 1.5 eq) at 0°C. The reaction mixture was allowed to warm up to room temperature and was then heated at reflux overnight. The mixture was concentrated to give the product **69** as a white foam (948 mg, 99%).

¹H NMR (300 MHz, D₂O), δ_{ppm}: 3.42-3.66 (m, 2H, CH₂₍₄₎), 3.86 (s, 3H, CH₃₍₁₎), 4.50 (m, 1H, CH₍₃₎).

¹³C NMR (75 MHz, D₂O), δ_{ppm}: 37.9 (CH₂₍₄₎), 49.6 (CH₍₃₎), 54.2 (CH₃₍₁₎), 167.2 (C₍₂₎).

HRMS (ESI): Calculated for C₄H₁₁N₂O₂ [M+H]⁺ 119.0815 found 119.0813.

Methyl 2,3-bis((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoate :



70

C₁₄H₂₆N₂O₆

MW = 318.37 g/mol

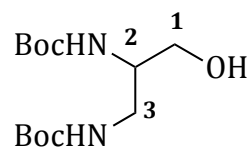
The diamino compound **69** (948 mg, 5 mmol, 1 eq) under argon was suspended in dry DMF (20 mL). Triethylamine (3.5 mL, 25 mmol, 5 eq) and di-*tert*-butyl-dicarbonate (2.4 g, 11 mmol, 2.2 eq) were sequentially added and the reaction mixture was stirred 1 h at 60°C. The mixture was then slowly cooled down at room temperature and evaporated under reduced pressure. The resulting crude oil was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 85/15 v/v) to give the product **70** (1.466 g, 92%) as a pale yellow solid.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.42 (s, 9H, CH₃(*Boc*)), 1.43 (s, 9H, CH₃(*Boc*)), 3.43-3.58 (m, 2H, CH₂(*4*)), 3.75 (s, 3H, CH₃(*1*)), 4.35 (m, 1H, CH(*3*)), 4.88 (s, 1H, NH), 5.44 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 28.4 (CH₃(*Boc*)), 42.4 (CH₂(*4*)), 52.7 (CH(*3*)), 54.2 (CH₃(*1*)), 79.9 (C(*Boc*)), 80.2 (C(*Boc*)), 155.5 (CO(*Boc*)), 156.2 (CO(*Boc*)), 171.4 (CO(*2*)).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₄H₂₆N₂O₆Na [M+Na]⁺ 341.1683, found 341.1671.

Di-tert-butyl (3-hydroxypropane-1,2-diyl)dicarbamate :



71

C₁₃H₂₆N₂O₅

MW = 290.36 g/mol

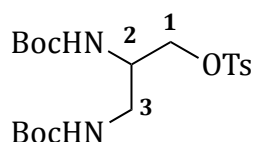
To a solution of the ester **70** (420 mg, 1.32 mmol, 1 eq) under argon in dry THF (13 mL) was added sodium borohydride (170 mg, 4.5 mmol, 3.4 eq). The reaction mixture was stirred for 24 h at reflux. The solution was quenched by dropwise addition of methanol then stirred 1 h at room temperature. The mixture was acidified to pH 2 with HCl 1 M. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3*20 mL) and the organic layer were combined, dried over sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. After chromatography on silica gel (Hex/EtOAc 70/30 v/v) the product **71** was obtained as a white powder (301 mg, 80%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.43 (2s, 18H, CH₃(Boc)), 3.26 (m, 2H, CH₂(3)), 3.48-3.72 (m, 4H, CH₂(1), CH(2) et OH), 5.09 (m, 2H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 28.4 (CH₃(Boc)), 28.5 (CH₃(Boc)), 40.4 (CH₂(1)), 52.4 (CH(2)), 61.7 (CH₂(3)), 79.7 (C(Boc)), 80.3 (C(Boc)), 155.0 (CO(Boc)), 157.8 (CO(Boc)).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₃H₂₆N₂O₅Na [M+Na]⁺ 313.1733, found 313.1732.

2,3-Bis((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl 4-methylbenzenesulfonate:



72

C₂₀H₃₂N₂O₇S

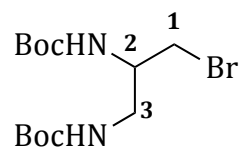
MW = 444.54 g/mol

Triethylamine (0.87 mL, 6.25 mmol, 2.5 eq) and trimethylamine hydrochloride (24 mg, 0.25 mmol, 0.1 eq) were added to a solution of alcohol **71** (726 mg, 2.5 mmol, 1 eq) in ACN (25 mL). Tosyl chloride (953 mg, 5 mmol, 2 eq) was added at 0°C and the reaction mixture was slowly warmed up to room temperature overnight. The mixture was diluted with water and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*50 mL). The combined organic layer were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting crude oil was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 75/25) to give the product **72** (1.034 g, 93%) as a yellow foam. The product must be stored at -20°C or quickly used to avoid degradation.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.38 (s, 9H, CH₃(Boc)), 1.40 (s, 9H, CH₃(Boc)), 2.43 (s, 3H, CH₃(Ts)), 3.23 (m, 2H, CH₂(1)), 3.85 (m, 1H, CH(2)), 4.02 (m, 2H, CH₂(3)), 4.86 (s, 1H, NH), 5.20 (s, 1H, NH), 7.34 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H_{ar}(Ts)), 7.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}(Ts)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 21.7 (CH₃(Ts)), 28.3 (CH₃(Boc)), 41.0 (CH₂(3)), 50.4 (CH(2)), 69.1 (CH₂(1)), 79.9 (C(Boc)), 128.0 (CH_{ar}(Ts)), 129.1 (CH_{ar}(Ts)), 130.1 (CH_{ar}(Ts)), 132.4 (C_{ar}(Ts)), 145.2 (C_{ar}(Ts)), 155.6 (CO(Boc)).

Di-tert-butyl (3-bromopropane-1,2-diyl)dicarbamate :



67

C₁₃H₂₅BrN₂O₄

MW = 353.25 g/mol

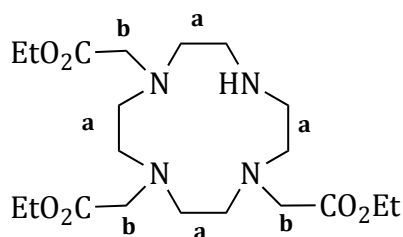
To a solution of tosylate **72** (445 mg, 1 mmol, 1 eq) in ACN (10 mL) was added lithium bromide (87 mg, 10 mmol, 10 eq). The reaction mixture was stirred for 24 h at room temperature. The mixture was diluted with water and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (25 mL). The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated under reduced pressure. The resulting crude oil was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 85/15 v/v) to give the product **67** (248 mg, 70%) as a white powder.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.42 (s, 18H, CH₃-Boc), 3.35 (m, 4H, CH₂(1) and CH₂(3)), 3.88 (s, 1H, CH₂(2)), 4.93 (s, 1H, NH), 5.32 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 28.4 (CH₃(Boc)), 34.3 (CH₂(1)), 42.8 (CH₂(3)), 51.7 (CH₂(2)), 80.0 (C(Boc)), 155.6 (CO(Boc)), 156.9 (CO(Boc)).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₃H₂₅N₂O₄NaBr [M+Na]⁺ 375.0889 found 375.0901.

Triethyl 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



73

C₂₀H₃₈N₄O₆

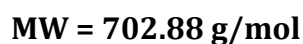
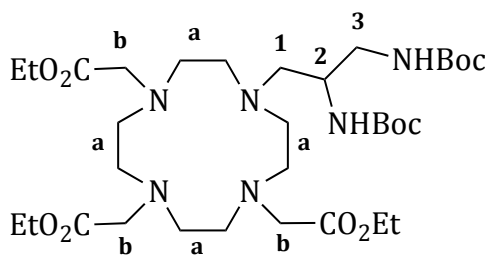
MW = 430.54 g/mol

A solution of ethyl bromoacetate (4.97 mL, 45 mmol, 2.25 eq) in DCM (50 mL) was added to a solution of cyclen (3.44 g, 20 mmol, 1 eq) in DCM (150 mL). The reaction mixture was stirred 48 h at room temperature. The solution was filtered to remove tetrasubstituted compound and the filtrate was washed with water, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (DCM to DCM/MeOH 90/10 v/v) to afford compound **73** as a yellow foam.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.16 (t, *J* = 7.2 Hz, 9H, CH₃(Et)), 2.79-3.01 (m, 16H, CH₂(a)), 3.30-3.39 (m, 6H, CH₂(b)), 4.50 (q, *J* = 7.2 Hz, 6H, CH₂(Et)), 9.84 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 14.1 (CH₃), 47.3 (CH₂), 49.0 (CH₂), 51.1 (CH₂), 57.0 (CH₂), 60.6 (CH₂), 170.2 (C=O), 171.0 (C=O).

Triethyl 2,2',2''-(10-(2,3-bis((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



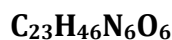
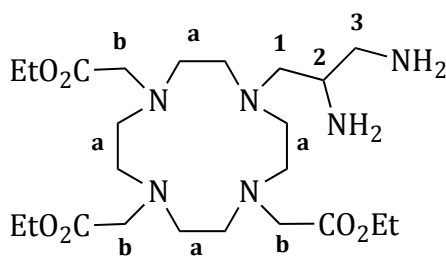
To a solution of DO3A protected by ethyl ester (275 mg, 0.65 mmol, 1 eq) in dry DMF (7 mL) were sequentially added under argon, potassium carbonate (185 mg, 1.34 mmol, 2.1 eq) and bromide compound **67** (247 mg, 0.7 mmol, 1.1 eq). After stirring for 48 h at 70°C the reaction mixture was slowly cooled down to room temperature, filtered and the filtrate was evaporated under reduced pressure. The crude oil was chromatographed on silica gel (DCM/MeOH 90/10 v/v) to give the product as a yellow foam (204 mg, 45%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.27 (m, 9H, CH₃(*Et*)), 1.41 (m, 18H, CH₃(*Boc*)), 2.38-3.72 (m, 27H, CH₂(*a*), CH₂(*b*), CH₂(*1*), CH₂(*3*) and CH(*2*)), 4.16 (m, 6H, CH₂(*Et*)), 8.03 (s, 1H, NH), 8.18 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 14.1, 28.3, 43.9, 47.4, 49.1, 50.7, 51.2, 52.1, 54.9, 55.5, 57.1, 58.8, 60.7, 61.0, 61.2, 61.3, 61.5, 79.1, 156.9, 170.4, 171.2, 173.1, 173.7.

HRMS (ESI): Calculated for C₃₃H₆₃N₆O₁₀ [M+H]⁺ 703.4600 found 703.4598.

Triethyl 2,2',2''-(10-(2,3-diaminopropyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



MW = 502.65 g/mol

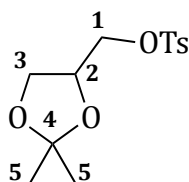
TFA (0.77 mL, 10 mmol, 20 eq) was added dropwise to a solution of DO3A-diaminoBoc compound **74** (351 mg, 0.5 mmol, 1 eq) in DCM (3 mL). The reaction mixture was stirred for 5 h at room temperature and solvents were evaporated under reduced pressure. The crude mixture was solubilized in methanol (2.5 mL) and resin AG1-X2 was added to remove TFA salt. The mixture was stirred for 30 min, filtered and evaporated under reduced pressure to give the product **75** (250 mg, 100%).

1H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm} : 1.30 (m, 9H, $CH_3(Et)$), 2.74-3.98 (m, 27H, $CH_{2(a)}$, $CH_{2(b)}$, $CH_{2(1)}$, $CH_{2(3)}$ and $CH_{(2)}$), 4.26 (m, 6H, $CH_{2(Et)}$).

^{13}C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm} : 14.1, 43.9, 47.4, 49.1, 50.7, 51.3, 52.2, 54.9, 55.1, 55.5, 57.1, 60.7, 61.2, 61.5, 79.1, 173.1, 173.7.

HRMS (ESI): Calculated for $C_{23}H_{47}N_6O_6$ $[M+H]^+$ 503.3551 found 503.3550.

(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl 4-methylbenzenesulfonate:



78

C₁₃H₁₈O₅S

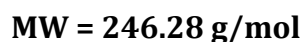
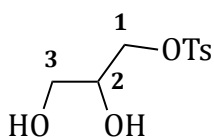
MW = 286.34 g/mol

Triethylamine (1.8 mL, 12.5 mmol, 2.5 eq), trimethylamine hydrochloride (48 mg, 0.5 mmol, 0.1 eq) and tosyl chloride (1.906 g, 10 mmol, 2 eq) were sequentially added to a solution of solketal (661 mg, 5 mmol, 1 eq) in ACN (50 mL) at 0°C. The reaction mixture was stirred 2 h and then diluted with water. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3*50 mL). The organic layers were combined, washed with brine, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 80/20 v/v) to afford tosylate **78** as a yellow oil (1.377 g, 96%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.31 (s, 3H, CH₃₍₅₎), 1.34 (s, 3H, CH₃₍₅₎), 2.45 (s, 3H, CH_{3(Ts)}), 3.77 (dd, *J* = 5.1 Hz, 1H, CH₂₍₃₎), 4.02 (m, 3H, CH₂₍₁₎ and CH₍₂₎), 4.28 (m, 1H, CH₂₍₃₎), 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H_{ar(Ts)}), 7.80 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H_{ar(Ts)}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 21.7 (CH_{3(Ts)}), 25.3 (CH₃₍₅₎), 26.7 (CH₃₍₅₎), 66.2 (CH₂₍₃₎), 69.6 (CH₂₍₁₎), 72.9 (CH₍₂₎), 110.1 (C₍₅₎), 128.0 (CH_{ar(Ts)}), 130.0 (CH_{ar(Ts)}), 132.6 (C_{ar(Ts)}), 145.2 (C_{ar(Ts)}).

2,3-Dihydroxypropyl 4-methylbenzenesulfonate:

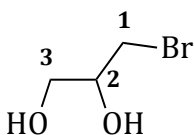


DOWEX 50WX2 (1.5 g) was added to a stirred solution of tosylate **78** (1.288 g, 4.5 mmol, 1 eq) in MeOH (50 mL). After stirring overnight at room temperature, the reaction mixture was filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (EtOAc/Hex 90/10 v/v) to afford the diol **79** as yellow oil (1.089 g, 98%).

¹H NMR (300MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.88 (s, 2H, OH), 2.46 (s, 3H, CH₃(Ts)), 3.67 (dd, $J_{AB} = 11.7$ Hz, $J_{AX} = 4.5$ Hz, 2H, CH₂(3)), 3.96 (m, 1H, CH(2)), 4.08 (dd, $J_{AB} = 8.6$ Hz, $J_{AX} = 3.3$ Hz, 2H, CH₂(1)), 7.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H_{ar}(Ts)), 7.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H_{ar}(Ts)).

¹³C NMR (75MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 21.8 (CH₃(Ts)), 62.8 (CH₂(3)), 69.7 (CH(2)), 70.8 (CH₂(1)), 128.1 (CH_{ar}(Ts)), 130.1 (CH_{ar}(Ts)), 132.4 (C_{ar}(Ts)), 154.4 (C_{ar}(Ts)).

3-Bromopropane-1,2-diol:



77



MW = 154.99 g/mol

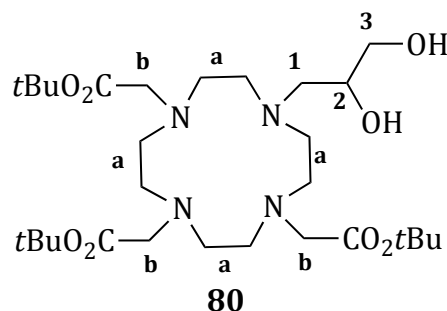
Lithium bromide (3.821 g, 44 mmol, 10 eq) was added to a solution of diol **79** (1.086 g, 4.4 mmol, 1 eq) in ACN (44 mL). The reaction mixture was refluxed overnight. After cooling down to room temperature, the mixture was filtered and the filtrate was diluted with water and extracted with diethyl ether (3*50 mL). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (EtOAc/Hex 80/20 v/v) to afford **77** as a colorless oil (540 mg, 79%)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.40 (s, 2H, OH), 3.49 (m, 2H, CH₂(1)), 3.73 (m, 2H, CH₂(3)), 3.95 (m, 1H, CH(2)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 34.8 (CH₂₋₁), 64.4 (CH₂₋₃), 71.6 (CH-2).

HRMS (FD): Calculated for C₃H₈BrO₂ [M+H]⁺ 154.97077 found 154.97147.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-(2,3-dihydroxypropyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



MW = 588.78 g/mol

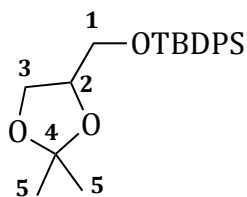
Carbonate potassium (870 mg, 6.3 mmol, 2.1 eq) was added to a solution of DO3A(*t*Bu)₃ **40** (1.787 g, 3 mmol, 1 eq) in DMF (27 mL). The reaction mixture was stirred for 30 min at room temperature and bromodiol **77** (511 mg, 3.3 mmol, 1.1 eq) in DMF (3 mL) was added dropwise. After stirring overnight at 70°C, the reaction was cooled down to room temperature and the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (DCM to DCM/MeOH 90/10 v/v) to afford DO3A-diol **80** as yellow foam (974 mg, 55%).

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 1.50 (m, 27H, CH₃(*t*Bu)), 2.07-3.13 (m, 22H, CH₂(*a*) and CH₂(*b*)), 3.35-3.75 (m, 6H, CH₂(*1*), CH₂(*3*) and OH), 3.90 (m, 1H, CH(*2*)).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 29.2, 48.0, 51.3, 52.6, 54.2, 54.5, 56.0, 57.3, 57.5, 57.9, 58.1, 58.5, 65.2, 66.7, 70.0, 74.7, 79.8, 80.2, 80.6, 83.4, 83.8, 83.9, 84.1, 174.6, 175.1, 175.4.

HRMS (ESI): Calculated for C₂₉H₅₇N₄O₈ [M+H]⁺ 589.4170 found 589.4188.

Tert-butyl((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)diphenylsilane:



86

C₂₂H₃₀O₃Si

MW = 370.56 g/mol

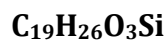
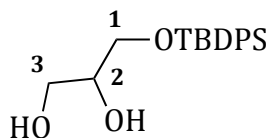
To a solution of imidazole (783 mg, 11.5 mmol, 2.3 eq) under argon in dry DMF (5 mL) *t*-butyldiphenylsilyl chloride (1.4 mL, 5.5 mmol, 1.1 eq) and solketal (0.62 mL, 5 mmol, 1 eq) were added. After stirring 5 h at room temperature, water was added and the reaction mixture was extracted with diethyl ether. The organic layer was washed with a HCl 1 M solution and with water, filtered on magnesium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography (PE/EtOAc 95/5 v/v) to afford **86** (1.669 g, 90%) as a colourless oil.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.06 (s, 9H, CH₃(TBDPS)), 1.36 (s, 3H, CH₃(5)), 1.39 (s, 3H, CH₃(5)), 3.55 (dd, *J* = 10.4 Hz, *J* = 6.4 Hz, 1H, CH₂(3)), 3.74 (dd, *J* = 10.4 Hz, *J* = 6.4 Hz, 1H, CH₂(3)), 3.92 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 6.0 Hz, 1H, CH₂(1)), 4.08 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 6.0 Hz, 1H, CH₂(1)), 4.21 (m, 1H, CH(2)), 7.41 (m, 6H, H_{ar}(TBDPS)), 7.67 (m, 4H, H_{ar}(TBDPS)).

¹³C NMR (200MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.4 (C(TBDPS)), 25.6 (CH₃(TBDPS)), 26.8 (CH₃(5)), 26.9 (CH₃(5)), 64.6 (CH₂(1)), 66.9 (CH₂(3)), 76.2 (CH(2)), 109.3 (C(4)), 127.8 (C_{ar}(TBDPS)), 129.8 (C_{ar}(TBDPS)), 129.9 (C_{ar}(TBDPS)), 133.4 (C_{ar}(TBDPS)), 135.7 (C_{ar}(TBDPS)).

HRMS (ESI): Calculated for C₂₂H₃₀O₃NaSi [M+Na]⁺ 393.1856 found 393.1871.

3-((tert-Butyldiphenylsilyl)oxy)propane-1,2-diol:



MW = 330.49 g/mol

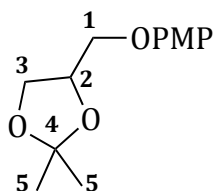
The TBDPS protected solketal **86** (1.111 g, 3 mmol, 1 eq) was solubilized in acetic acid 90% (24 mL) and the mixture was warmed up to reflux. After stirring for 15 min, the reaction mixture was slowly cooled down to room temperature and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH/AcOH 93/3/2 v/v) to afford the diol **87** (901 mg, 91%) as a white solid.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.07 (s, 9H, CH₃(TBDPS)), 2.01 (s, 1H, OH), 2.60 (s, 1H, OH), 3.65 (m, 2H, CH₂(1)), 3.72 (dd, *J* = 5.1 Hz, *J* = 2.8 Hz, 2H, CH₂(3)), 3.81 (m, 1H, CH(2)), 7.43 (m, 6H, H_{ar}(TBDPS)), 7.66 (m, 4H, H_{ar}(TBDPS)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.4 (C(TBDPS)), 27.0 (CH₃(TBDPS)), 64.0 (CH₂(3)), 65.4 (CH₂(1)), 71.9 (CH₂), 128.0 (C_{ar}(TBDPS)), 130.1 (C_{ar}(TBDPS)), 130.1 (C_{ar}(TBDPS)), 132.0 (C_{ar}(TBDPS)), 135.7 (C_{ar}(TBDPS)), 135.7 (C_{ar}(TBDPS)).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₉H₂₆O₃SiNa⁺ [M+Na]⁺ 353.1543 found 353.1536.

4-((4-Methoxyphenoxy)methyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolane:



89

C₁₃H₁₈O₄

MW = 238.28 g/mol

DEAD (40% in toluene, 13 mmol, 5.91 mL, 1.3 eq) was slowly added at room temperature to a stirred solution of solketal (1.322 g, 1.2 mL, 10 mmol, 1 eq), *p*-methoxyphenol (3.724 g, 30 mmol, 3 eq) and triphenylphosphine (3.410 g, 13 mmol, 1.3 eq) in dry toluene (50 mL). The mixture was stirred at 70°C for 3 h.

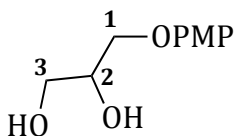
The resulting mixture was evaporated under reduced pressure and chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 90:10 v/v) to afford compound **89** as white crystals (2.209 g, 93%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.40 (s, 3H, CH₃₍₅₎), 1.46 (s, 3H, CH₃₍₅₎), 3.77 (s, 3H, CH_{3(PMP)}), 3.89 (m, 2H, CH₂₍₃₎ and CH₂₍₁₎), 4.02 (dd, *J* = 9.5 Hz, *J* = 5.5 Hz, 1H, CH₂₍₃₎), 4.16 (dd, *J* = 8.4 Hz, *J* = 6.4 Hz, 1H, CH₂₍₁₎), 4.46 (m, 1H, CH₂₍₂₎), 6.84 (m, 4H, H_{ar(PMP)}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 25.5 (CH₃₍₅₎), 26.9 (CH₃₍₅₎), 55.9 (CH_{3(PMP)}), 67.0 (CH₂₍₃₎), 69.7 (CH₂₍₁₎), 74.3 (CH₂₍₂₎), 109.8 (C₄), 114.8 (CH_{ar(PMP)}), 114.8 (CH_{ar(PMP)}), 152.9 (C_{ar(PMP)}), 154.2 9 (C_{ar(PMP)}).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₃H₁₈O₄Na⁺ [M+Na]⁺ 261.1097 found 261.1092.

3-(4-Methoxyphenoxy)propane-1,2-diol:



MW = 198.22 g/mol

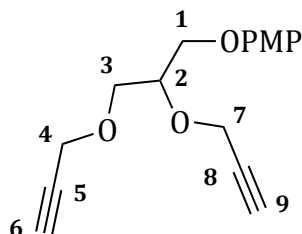
To a suspension of DOWEX 50WX2 (1.191 g) in methanol (50 mL) was added protected solketal **89** (1.191 g, 5 mmol, 1 eq). After stirring overnight at room temperature, the reaction mixture was filtered and filtrate was evaporated under reduced pressure to afford the crude product as a white powder. The crude product was chromatographed on silica gel (EtOAc/Hex 75/25 v/v) to give compound **90** as a white solid (862 mg, 87%). The crude product can also be recrystallised in EtOAc/Hex.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.18 (s, 1H, OH), 2.73 (s, 1H, OH), 3.74 (m, 4H, CH₃(PMP) and CH₂(3)), 3.83 (dd, *J* = 11.4 Hz, *J* = 3.4 Hz, 1H, CH₂(3)), 3.99 (m, 2H, CH₂(1)), 4.09 (m, 1H, CH(2)), 6.85 (m, 4H, H_{ar}(PMP)).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 55.9 (CH₃(PMP)), 63.9 (CH₂(3)), 70.1 (CH₂(1)), 70.6 (CH(2)), 114.9 (CH_{ar}(PMP)), 115.7 (CH_{ar}(PMP)), 152.7 (C_{ar}(PMP)), 154.4 (C_{ar}(PMP)).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₀H₁₄O₄Na⁺ [M+Na]⁺ 221.0784 found 221.0780.

1-(2,3-Bis(prop-2-yn-1-yloxy)propoxy)-4-methoxybenzene:



91

C₁₆H₁₈O₄

MW = 274.31 g/mol

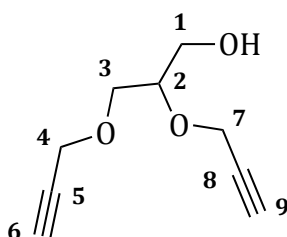
Diol **90** (792 mg, 4 mmol, 1 eq) was added to a suspension of NaH (640 mg, 16 mmol, 4 eq) in dry DMF (20 mL). After stirring 30 min at room temperature, propargyl bromide 80% in toluene (2.6 mL, 24 mmol, 6 eq) was slowly added. After stirring overnight at room temperature, MeOH (15 mL) was added and the reaction mixture was diluted in water. The aqueous layer was extracted with diethyl ether (3*100 mL) and the combined organic layers were dried over sodium sulfate and removed under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel to afford compound **91** as a yellow oil (1.035 g, 94%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.44 (dt, $J = 3.6$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 2H, CH₍₆₎ and CH₍₉₎), 3.77 (m, 5H, CH₂₍₃₎ et CH_{3(PMP)}), 4.07 (m, 3H, CH₂₍₁₎ et CH₍₂₎), 4.20 (d, 2H, $J = 2.3$ Hz, CH₂₍₄₎), 4.37 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H, CH₂₍₇₎) 6.84 (m, 4H, H_{ar(PMP)}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 55.8 (CH_{3(PMP)}), 57.9 (CH₂₍₇₎), 58.8 (CH₂₍₄₎), 68.5 (CH₂₍₃₎), 69.5 (CH₂₍₁₎), 74.7 (CH₍₂₎), 74.9 (CH₍₉₎), 76.0 (CH₍₆₎), 79.5 (C₍₈₎), 80.0 (C₍₅₎), 114.7 (HC_{ar(PMP)}), 115.7 (HC_{ar(PMP)}), 152.9 (C_{ar(PMP)}), 154.1 (C_{ar(PMP)}).

HRMS (ESI) : Calculated for C₁₆H₁₈O₄Na⁺ [M+Na]⁺ 297.1097 found 297.1090.

2,3-Bis(prop-2-yn-1-yloxy)propan-1-ol:



92

C₉H₁₂O₃

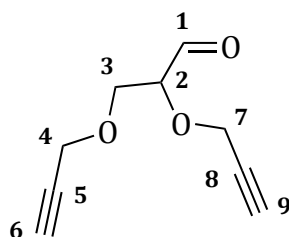
MW = 168.19 g/mol

At 0°C, cerium ammonium nitrate (1.370 g, 2.5 mmol, 2.5 eq) was added to a solution of protected alcohol **91** (274 mg, 1 mmol, 1 eq) in a mixture of ACN-water (80/20, 10 mL). After stirring 20 min, a solution of saturated NaHCO₃ (5 mL) was added and the organic layer was extracted three times with diethyl ether (15 mL). The organic layers were combined, washed with water and brine, dried on sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 70/30 v/v) to afford the alcohol **92** as an orange oil (149 mg, 89%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.14 (s, 1H, OH), 2.42 (2t, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₍₆₎ and CH₍₉₎), 3.66 (m, 2H, CH₂₍₃₎), 3.80 (m, 3H, CH₍₂₎ et CH₂₍₁₎), 4.17 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂₍₄₎), 4.32 (dd, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂₍₇₎).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 57.6 (CH₂₍₇₎), 58.7 (CH₂₍₄₎), 62.4 (CH₂₍₁₎), 69.6 (CH₂₍₃₎); 73.4 (CH₍₂₎), 74.8 (CH₍₉₎), 75.0 (CH₍₆₎), 79.4 (C₍₈₎), 79.9 (C₍₅₎).

2,3-Bis(prop-2-yn-1-yloxy)propanal:



84

C₉H₁₀O₃

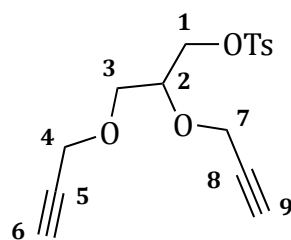
MW = 166.17 g/mol

TEMPO (8 mg, 0.05 mmol, 0.05 eq) and potassium bromide (12 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq) were added to a solution of alcohol **92** (168 mg, 1 mmol, 1 eq) in DCM (10 mL). At 0°C, sodium hypochlorite 4.5% (1.7 mL, 1.1 mmol, 1.1 eq) and few drops of saturated solution of NaHCO₃ were added. The reaction mixture was stirred for 2 h at 0°C. The two layers were then separated. The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Et₂O/Pent 30/70 v/v) to afford aldehyde **84** as a volatile yellow liquid (108 mg, 65%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} 2.42 (2t, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₍₆₎ and CH₍₉₎), 3.94 (m, 3H, CH₍₂₎ and CH₂₍₃₎), 4.17 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂₍₄₎), 4.29 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂₍₇₎), 9.6 (m, 1H, CH₍₁₎).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 57.6 (CH₂₍₇₎), 58.5 (CH₂₍₄₎), 62.4 (CH₂₍₃₎), 89.9 (CH₍₂₎), 74.7 (CH₍₉₎), 75.2 (CH₍₆₎), 79.4 (C₍₈₎), 79.9 (C₍₅₎), 200.1 (CH₍₁₎).

2,3-Bis(prop-2-yn-1-yloxy)propyl 4-methylbenzenesulfonate:



94

C₁₆H₁₈O₅S

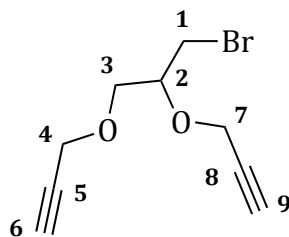
MW = 322.38 g/mol

To a solution of alcohol **92** (673 mg, 4 mmol, 1 eq) in ACN (40 mL) were successively added triethylamine (1.4 mL, 10 mmol, 2.5 eq) and trimethylamine hydrochloride (38 mg, 0.4 mmol, 0.1 eq). The reaction mixture was cooled down to 0°C and tosyl chloride (1.525 g, 8 mmol, 2 eq) was added portionwise. The reaction mixture was slowly warmed up to room temperature and stirred overnight. The mixture was diluted with water and extracted with ethyl acetate (2*50 mL). The combined organic layers were washed with brine (50 mL), dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 75/25 v/v) to afford the tosylate compound **94** as a yellow oil (1.010 g, 78%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.42 (m, 5H, CH₃(Ts), CH₍₆₎ and CH₍₉₎), 3.61 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H, CH₂(3)), 3.94 (q, *J* = 5.0 Hz, 1H, CH₍₂₎), 4.05-4.19 (m, 4H, CH₂(1) and CH₂(4)), 4.16 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, CH₂(7)), 7.34 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H_{ar}(Ts)), 7.80 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H_{ar}(Ts)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 21.8 (CH₃(Ts)), 57.8 (CH₂(7)), 58.7 (CH₂(4)), 68.4 (CH₂(1)), 69.1 (CH₂(3)), 74.9 (CH₍₂₎), 75.1 (CH₍₉₎), 75.1 (CH₍₆₎), 79.2 (C₍₈₎), 79.3 (C₍₅₎), 128.1 (CH_{ar}(Ts)), 130.0 (CH_{ar}(Ts)), 132.9 (C_{ar}(Ts)), 145.0 (C_{ar}(Ts)).

3-(3-Bromo-2-(prop-2-yn-1-yloxy)propoxy)prop-1-yne:



MW = 231.09 g/mol

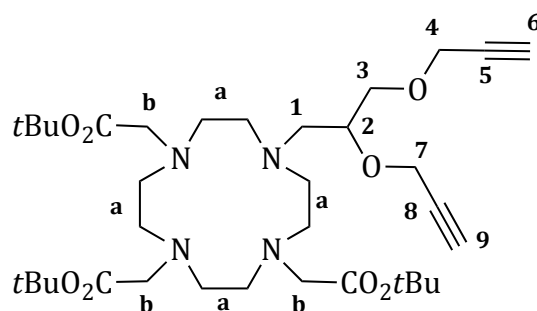
To a solution of tosylate **94** (1.010 g, 3.13 mmol, 1 eq) in ACN (30 mL) was added lithium bromide (2.718 g, 31.3 mmol, 10 eq). The reaction mixture was heated at reflux for 6 h. The mixture was then cooled down to room temperature, diluted with water (50 mL) and extracted with EtOAc (2*50 mL). The combined organic layers were washed with brine (50 mL), dried over sodium sulfate, filtered and the solvent were removed under reduced pressure to afford the bromide **85** as a colorless oil (667 mg, 92%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.46 (m, 2H, CH₍₆₎ and CH₍₉₎), 3.53 (m, 2H, CH₂₍₁₎), 3.73 (m, 2H, CH₂₍₃₎), 3.95 (m, 1H, CH₍₂₎), 4.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂₍₄₎), 4.32 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂₍₇₎).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 31.7 (CH₂₍₁₎), 57.6 (CH₂₍₇₎), 58.9 (CH₂₍₄₎), 69.8 (CH₂₍₃₎), 75.1 (CH₍₉₎), 75.2 (CH₍₆₎), 76.5 (CH₍₂₎), 79.4 (C₍₈₎), 79.4, (C₍₅₎).

HRMS (ESI): Calculated for C₉H₁₁BrO₂Na [M+Na]⁺ 252.9834 found 252.9845.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-(2,3-bis(prop-2-yn-1-yloxy)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclo dodecane-1,4,7-triyl)triacetate:



83

C₃₅H₆₀N₄O₈

MW = 664.87 g/mol

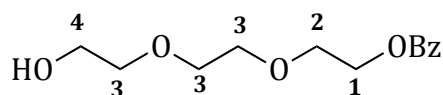
Under argon, potassium carbonate (406 mg, 2.9 mmol, 2.1 eq) was added to a stirred solution of DO3A(*t*Bu)₃ (783 mg, 1.4 mmol, 1 eq) in DMF (14 mL). After stirring for 30 min at room temperature, dipropargyle **85** (420 mg, 1.82 mmol, 1.3 eq) was added. The reaction mixture was heated at 70°C for 24 h. After cooling down to room temperature, DMF was removed under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (DCM to DCM/MeOH90/10 v/v) to afford compound **83** as a yellow foam (702 mg, 75%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.47 (m, 27H, CH₃(*t*Bu)), 2.09-3.71 (m, 29H, CH₂(*a*), CH₂(*b*), CH₂(1), CH(2), CH₂(3), CH(6) and CH(9)), 4.19 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂(4)), 4.39 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂(7)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 27.9, 28.1, 28.2, 47.4, 48.6, 51.3, 52.3, 55.4, 56.3, 77.2, 58.0, 58.4, 58.6, 58.7, 69.8, 75.1, 79.0, 79.1, 81.2, 82.0, 82.1, 82.7, 170.6, 172.4, 173.9.

HRMS (FD): Calculated for C₃₅H₆₀N₄O₈Na [M+Na]⁺ 687.43088 found 687.43085.

2-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)ethylbenzoate:



100

C₁₃H₁₈O₅

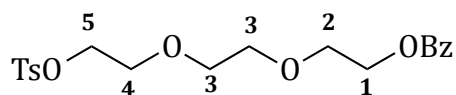
MW = 254.28 g/mol

To a solution of triethyleneglycol (6 mL, 45 mmol, 3 eq) in dry DCM (150 mL) pyridine (1.33 mL, 16.5 mmol, 1.1 eq) and benzoyl chloride (1.74 mL, 15 mmol, 1 eq) were successively added under argon. After stirring overnight at room temperature, water was added. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*100 mL) and the organic layers were combined, dried over sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (EtOAc/Hex 70/30 v/v) to afford compound **100** as a colorless oil (3.409 g, 89%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.27 (s, 1H, OH), 3.60 (m, 2H, CH₂₍₄₎), 3.71 (m, 6H, CH₂₍₃₎), 3.84 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₂₎), 4.49 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 7.44 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H_{ar(Bz)}), 7.55 (m, 1H, H_{ar(Bz)}), 8.06 (m, 2H, H_{ar(Bz)}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 61.8 (CH₂₍₄₎), 64.1 (CH₂₍₁₎), 69.3 (CH₂₍₂₎), 70.5 (CH₂₍₃₎), 70.8 (CH₂₍₃₎), 72.6 (CH₂₍₃₎), 128 (CH_{ar(Bz)}), 129.8 (CH_{ar(Bz)}), 130.1 (C_{ar(Bz)}), 133.1 (CH_{ar(Bz)}), 166.7 (CO_(Bz)).

2-(2-(2-(Tosyloxy)ethoxy)ethoxy)ethylbenzoate:



101

C₂₀H₂₄O₇S

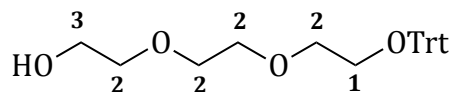
MW = 408.47 g/mol

To a solution of alcohol **100** (1.271 g, 5 mmol, 1 eq) in ACN (50 mL) triethylamine (1.74 mL, 12.5 mmol, 2.5 eq) and trimethylamine hydrochloride (48 mg, 0.5 mmol, 0.1 eq) were added. Tosyl chloride (1.906 g, 10 mmol, 2 eq) was then added at 0°C. The reaction mixture was slowly warmed up to room temperature and stirred overnight. The reaction mixture was diluted with water and the aqueous layer extracted with ethyl acetate (2*50 mL). The organic layers were combined, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 70/30 v/v) to afford compound **101** as a yellow oil (1.918 g, 94%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.42 (s, 3H, CH₃(Ts)), 3.62 (m, 4H, CH₂(3)), 3.68 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂(4)), 3.79 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂(2)), 4.13 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂(5)), 4.45 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂(1)), 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}(Ts)), 7.43 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, H_{ar}(Bz)), 7.56 (m, 1H, H_{ar}(Bz)), 7.78 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}(Bz)), 8.04 (m, 2H, H_{ar}(Bz)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 21.7 (CH₃(Ts)), 64.2 (CH₂(1)), 68.8 (CH₂(4)), 69.3 (CH₂(5)), 69.3 (CH₂(2)), 70.7 (CH₂(3)), 70.9 (CH₂(3)), 128.1 (CH_{ar}(Ts)), 128.5 (CH_{ar}(Bz)), 129.8 (CH_{ar}(Bz)), 129.9 (CH_{ar}(Ts)), 130.1 (C_{ar}(Bz)), 133.0 (C_{ar}(Ts)), 133.1 (CH_{ar}(Bz)), 144.9 (C_{ar}(Ts)), 166.6 (CO(Bz)).

2-(2-(2-(Trityloxy)ethoxy)ethoxy)ethanol:



104

C₂₅H₂₈O₄

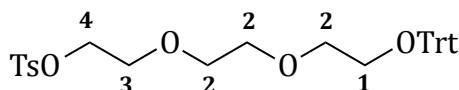
MW = 392.49 g/mol

To a solution of triethylene glycol (4 mL, 60 mmol, 6 eq) in DCM (100 mL) was added triethylamine (2.8 mL, 20 mmol, 1 eq). The reaction mixture was cooled down to 0°C and trityl chloride (2.788 g, 10 mmol, 1 eq) was added portionwise. The mixture was slowly warmed up to room temperature and stirred overnight. A solution of saturated sodium carbonate was then added and the two layers were separated. The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 70/30 to 50/50 v/v) to afford compound **104** as a colorless oil (2.988 g, 76%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.84 (s, 1H, OH), 3.25 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH₂₍₃₎), 3.68 (m, 10H, CH₂₍₁₎ and CH₂₍₂₎), 7.25 (m, 9H, H_{ar}(Trt)), 7.46 (m, 6H, H_{ar}(Trt)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 62.0 (CH₂₍₃₎), 63.4 (CH₂₍₁₎), 70.7 (CH₂₍₂₎), 70.8 (CH₂₍₂₎), 70.9 (CH₂₍₂₎), 86.7 (C(Trt)), 127.1 (CH_{ar}(Trt)), 127.9 (CH_{ar}(Trt)), 128.8 (CH_{ar}(Trt)), 144.2 (C_{ar}(Trt)).

2-(2-(2-(Trityloxy)ethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate:



105

C₃₂H₃₄O₆S

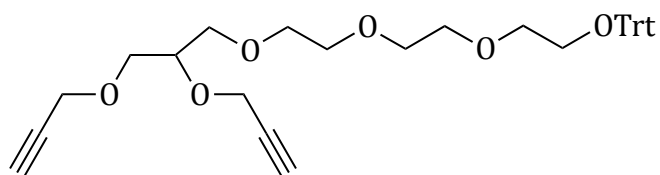
MW = 546.67 g/mol

To a solution of alcohol **104** (1.569 g, 4 mmol, 1 eq) in ACN (40 mL) were added triethylamine (1.4 mL, 10 mmol, 2.5 eq) and trimethylamine hydrochloride (38 mg, 0.4 mmol, 0.1 eq). At 0°C, tosyl chloride (1.525 g, 8 mmol, 2 eq) was then added. The reaction mixture was slowly warmed up to room temperature and stirred overnight. Water (50 mL) was then added and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2*50 mL). The organic layers were combined, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 80/20 v/v) to afford compound **105** as an orange oil (2.098 g, 96%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.42 (s, 3H, CH₃(Ts)), 3.23 (m, 2H, CH₂(3)), 3.72 (m, 8H, CH₂(1) and CH₂(2)), 4.17 (m, 2H, CH₂(4)), 7.28 (m, 11H, H_{ar}(Trt) and H_{ar}(Ts)), 7.46 (m, 6H, H_{ar}(Trt)), 7.79 (m, 2H, H_{ar}(Ts)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 21.7 (CH₃(Ts)), 63.4 (CH₂(1)), 68.8 (CH₂(4)), 69.3 (CH₂(3)), 70.8 (CH₂(2)), 70.9 (CH(2)), 86.7 (C(Trt)), 127.0 (CH_{ar}(Trt)), 127.8 (CH_{ar}(Trt)), 128.0 (CH_{ar}(Ts)), 128.8 (CH_{ar}(Trt)), 129.9 (CH_{ar}(Ts)), 133.0 (C_{ar}(Ts)), 144.2 (C_{ar}(Trt)), 144.8 (C_{ar}(Ts)).

1,1,1-Triphenyl-13-(prop-2-yn-1-yloxy)-2,5,8,11,15-pentaoxaoctadec-17-yne:



107

C₃₄H₃₈O₆

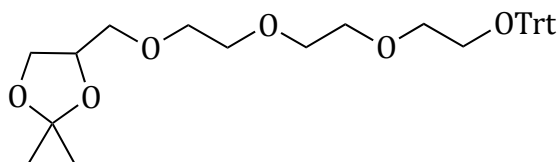
MW = 542.66 g/mol

To a suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (0.4 mmol, 16 mg, 2 eq) in dry THF (2 mL) were added 15-C-5 and alcohol **104** (78 mg, 0.2 mmol, 1 eq) in THF (1 mL). After stirring for 30 min at room temperature, tosylate **94** (97 mg, 0.3 mmol, 1.5 eq) in dry THF (1 mL) was added dropwise. The reaction mixture was refluxed for 24 h and was then slowly cooled down to room temperature. Water (3 mL) was added and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3*5 mL). The combined organic layers were dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 80/20 v/v) to afford compound **107** as a colorless oil (9 mg, 8%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.40 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H), 3.24 (m, 2H, CH₂), 3.64 (m, 13H), 3.89 (m, 1H), 4.16 (m, 3H), 4.32 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 7.28 (m, 9H), 7.45 (m, 6H).

HRMS (FD): Calculated for C₃₄H₃₈O₆ [M]⁺ 542.26684 found 542.26496.

2,2-Dimethyl-4-(12,12,12-triphenyl-2,5,8,11-tetraoxadodecyl)-1,3-dioxolane:



108

C₃₁H₃₈O₆

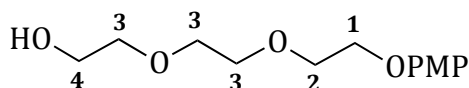
MW = 506.63 g/mol

To a solution of alcohol **105** (0.5 mmol, 196 mg, 1 eq) in THF (4 mL) were added sodium hydride 60% in oil dispersion (40 mg, 1 mmol, 2 eq), 15-C-5 (197 μ L, 1 mmol, 2 eq) and tosylate **78** (215 mg, 0.75 mmol, 1.5 eq) in THF (1 mL). The reaction mixture was stirred for 30 min at 100°C under microwaves. After cooling down to room temperature water (3 mL) was added. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*5 mL). The organic layers were combined, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 80/20) to afford compound **108** as a colorless oil (145 mg, 57%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 1.37 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 3.24 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.51 (m, 2H), 3.69 (m, 11H), 4.01 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.27 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (d, $J = 7.5$ Hz, 6H).

HRMS (FD): Calculated for C₃₁H₃₈O₆ [M]⁺ 506.26684 found 506.26586.

2-(2-(2-(4-Methoxyphenoxy)ethoxy)ethoxy)ethanol :



111

C₁₃H₂₀O₅

MW = 256.29 g/mol

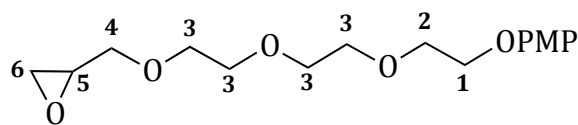
To a solution of paramethoxyphenol (310 mg, 2.5 mmol, 1 eq) under argon in dry DMSO (25 mL) were sequentially added potassium carbonate (1.036 g, 7.5 mmol, 3 eq) and sodium iodide (412 mg, 2.75 mmol, 1.1 eq). After stirring for 30 min at room temperature, 2-[2-(2-chloroethoxy)ethoxy]ethanol (463 mg, 2.75 mmol, 1.1 eq) was added. The reaction mixture was allowed to stir overnight at 80°C. The solution was then slowly cooled down to room temperature, diluted with water and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate (3*50 mL). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (EtOAc/Hex 80/20 v/v) to afford product **111** as a yellow oil (459 mg, 72%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.70 (s, 1H, OH), 3.61 (m, 2H, CH₂₍₄₎), 3.72 (m, 6H, CH₂₍₃₎), 3.76 (s, 3H, CH_{3(PMP)}), 3.83 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₂₎), 4.08 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 6.85 (m, 4H, H_{ar(PMP)}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 55.7 (CH_{3(PMP)}), 61.7 (CH₂₍₄₎), 67.0 (CH₂₍₁₎), 69.8 (CH₂₍₂₎), 70.3 (CH₂₍₃₎), 70.7 (CH₂₍₃₎), 72.6 (CH₂₍₃₎), 114.6 (C_{ar(PMP)}), 115.6 (C_{ar(PMP)}), 152.7 (C_{ar(PMP)}), 153.9 (C_{ar(PMP)}).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₃H₂₀O₅Na [M+Na]⁺ 279.1202, found 279.1904.

2-((2-(2-(2-(4-Methoxyphenoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)methyl)oxirane :



112

C₁₆H₂₄O₆

MW = 312.36 g/mol

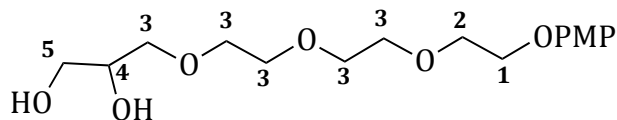
To a suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (42 mg, 1.05 mmol, 1.05 eq) under argon in dry THF (4 mL) was added compound **111** (256 mg, 1 mmol, 1 eq) in solution in dry THF (1 mL). After stirring for 30 min at room temperature, epichlorohydrine (0.4 mL, 5 mmol, 1 eq) was added dropwise and the reaction mixture was warmed up to reflux overnight. The mixture was then cooled down to room temperature, diluted with water and the aqueous layer was extracted with diethyl ether (3*10 mL). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated under reduced pressure. After chromatography on silica gel (EtOAc/Hex 70/30 v/v) the product **112** was obtained as a yellow oil (208 mg, 67%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.61 (dd, *J* = 5.0 Hz, *J* = 2.7 Hz, 1H, CH₂₍₆₎), 2.79 (m, *J* = 4.6 Hz, 1H, CH₂₍₆₎), 3.17 (m, 1H, CH₍₅₎), 3.42 (dd, *J* = 11.6 Hz, *J* = 5.9 Hz, 1H, CH₍₄₎), 3.73 (m, 12H, CH₂₍₃₎, CH₂₍₄₎ and CH_{3(PMP)}), 3.84 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₂₎), 4.09 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 6.84 (m, 4H, H_{ar(PMP)}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 44.3 (CH₂₍₆₎), 50.8 (CH₍₅₎), 57.7 (CH_{3(PMP)}), 68.1 (CH₂₍₁₎), 69.9 (CH₂₍₂₎), 70.6 (CH₂₍₄₎), 70.7 (CH₂₍₃₎), 70.7 (CH₂₍₃₎), 70.8 (CH₂₍₃₎), 71.0 (CH₂₍₃₎), 114.6 (C_{ar(PMP)}), 115.6 (C_{ar(PMP)}), 152.9 (C_{ar(PMP)}), 153.8 (C_{ar(PMP)}).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₆H₂₄O₆Na [M+Na]⁺ 335.1465 found 335.1476

3-(2-(2-(2-(4-Methoxyphenoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)propane-1,2-diol :



113

C₁₆H₂₆O₇

MW = 330.37 g/mol

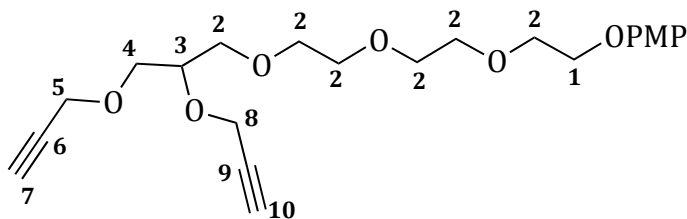
To a solution of compound **112** (120 mg, 0.38 mmol, 1 eq) in THF (1.5 mL) was added a solution of sulfuric acid 1 M (1.52 mL, 4 mmol) dropwise. After stirring for 1 h 30 at room temperature the reaction mixture was neutralized with a solution of sodium hydroxyde 1 M and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2*5 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated under reduced pressure to give the product **113** as a yellow oil (115 mg, 92%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.70 (s, 2H, OH), 3.64 (m, 13H, CH₂₍₃₎ et CH₍₄₎), 3.72 (s, 3H, CH_{3(PMP)}), 3.86 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₂₎), 4.10 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 6.85 (m, 4H, H_{ar(PMP)}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 55.7 (CH_{3(PMP)}), 63.8 (CH₂₍₄₎), 68.1 (CH₂₍₁₎), 69.8 (CH₂₍₂₎), 70.4 (CH₂₍₃₎), 70.5 (CH₍₄₎), 70.6 (CH₂₍₃₎), 72.8 (CH₂₍₅₎), 114.6 (CH_{ar(PMP)}), 115.6 (CH_{ar(PMP)}), 152.8 (C_{ar(PMP)}), 153.0 (C_{ar(PMP)}).

HRMS (FD): Calculated for C₁₆H₂₆O₇ [M]⁺ 330.16785 found 330.16814.

1-(4-Methoxyphenoxy)-11-(prop-2-yn-1-yloxy)-3,6,9,13-tetraoxahexadec-15-yne :



114

C₂₂H₃₀O₇

MW = 406.47 g/mol

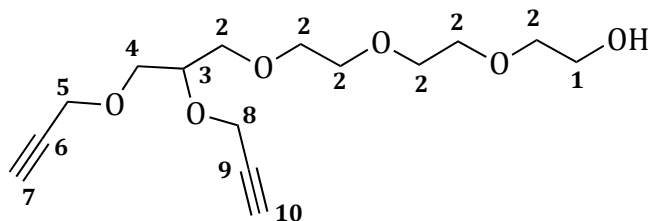
To a suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (62 mg, 1.56 mmol, 4 eq) in DMF (1 mL) was added dropwise the diol **113** (130 mg, 0.39 mmol, 1 eq) in solution in DMF (1 mL) at 0°C, under argon. After stirring for 30 min, propargyle bromide (0.21 mL, 2.34 mmol, 6 eq) was added dropwise and the reaction was allowed to warm to room temperature overnight. The mixture was then quenched with methanol, diluted with water and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*5 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated under reduced pressure. After chromatography on silica gel (Hex/EtOAc 60/40 v/v) the product **114** was obtained as a yellow oil (131 mg, 83%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.45 (2t, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₍₇₎ and CH₍₁₀₎), 3.68 (m, 12H, CH₂₍₂₎), 3.78 (s, 3H, CH_{3(PMP)}), 3.84 (m, 2H, CH₂₍₄₎), 3.92 (m, 1H, CH₍₃₎), 4.09 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 4.09 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂₍₅₎), 4.19 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂₍₈₎), 6.85 (m, 4H, H_{ar(PMP)}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 55.7 (CH_{3(PMP)}), 57.6 (CH₂₍₈₎), 58.6 (CH₂₍₅₎), 68.0 (CH₂₍₁₎), 68.7 (CH₂₍₃₎), 69.9 (CH₂₍₃₎), 70.5 (CH₂₍₃₎), 70.8 (CH₂₍₃₎), 70.9 (CH₂₍₃₎), 71.1 (CH₂₍₄₎), 74.4 (CH₍₇₎), 74.4 (CH₍₁₀₎), 76.3 (CH₍₃₎), 79.5 (C₍₆₎), 80.1 (C₍₉₎), 114.5 (CH_{ar(PMP)}), 115.6 (CH_{ar(PMP)}), 152.9 (C_{ar(PMP)}), 153.8 (C_{ar(PMP)}).

HRMS (FD): Calculated for C₂₂H₃₀O₇ [M]⁺ 406.19915 found 406.19786.

11-(Prop-2-yn-1-yloxy)-3,6,9,13-tetraoxahexadec-15-yn-1-ol :



115

C₁₅H₂₄O₆

MW = 300.35 g/mol

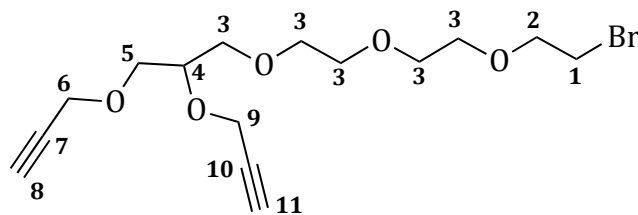
At 0°C, to a solution of compound **114** (115 mg, 0.28 mmol, 1 eq) in a mixture ACN/water 80/20 v/v (3 mL) was added cerium ammonium nitrate (384 mg, 0.7 mmol, 2.5 eq). The reaction mixture was stirred 30 min. The mixture was then quenched with a saturated solution of sodium bicarbonate and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*10 mL). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (EtOAc/Hex 80/20 v/v) to give the desired product **115** as a yellow oil (73 mg, 87%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.43 (2t, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₍₆₎ and CH₍₉₎), 2.73 (s, 1H, OH), 3.59-3.74 (m, 16H, CH₂₍₁₎, CH₂₍₂₎ and CH₂₍₄₎), 3.91 (m, 1H, CH₍₃₎), 4.19 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂₍₅₎), 4.34 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, CH₂₍₈₎).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 57.6 (CH₂₍₈₎), 58.6 (CH₂₍₅₎), 61.7 (CH₂₍₁₎), 69.6 (CH₂₍₂₎), 70.3 (CH₂₍₂₎), 70.5 (CH₂₍₂₎), 70.6 (CH₂₍₂₎), 70.8 (CH₂₍₂₎), 71.0 (CH₂₍₂₎), 72.5 (CH₂₍₄₎), 74.4 (CH₍₇₎), 74.7 (CH₍₁₀₎), 76.3 (CH₍₃₎), 79.5 (C₍₆₎), 80.0 (C₍₉₎).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₅H₂₄O₆Na [M+Na]⁺ 323.1465 found 323.1465.

1-Bromo-11-(prop-2-yn-1-yloxy)-3,6,9,13-tetraoxahexadec-15-y :



99

C₁₅H₂₃BrO₅

MW = 363.24 g/mol

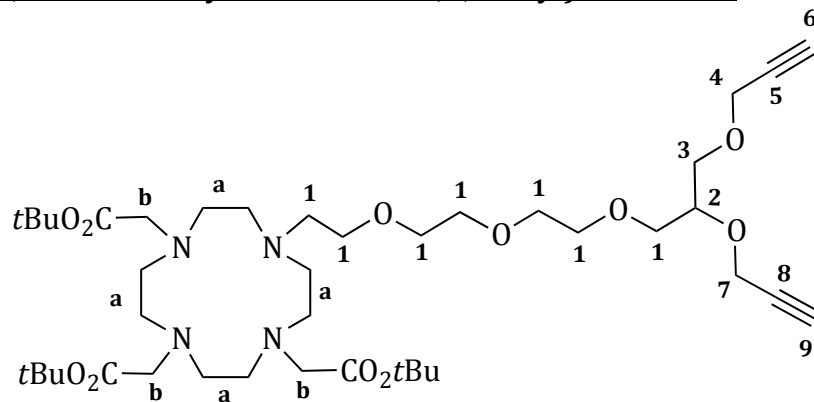
To a solution of the alcohol **115** (65 mg, 0.216 mmol, 1 eq) in dry DCM (0.5 mL) were sequentially added triphenylphosphine (68 mg, 0.259 mmol, 1.2 eq) and tetrabromomethane (86 mg, 0.259 mmol, 1.2 eq) at 0°C, under argon. The reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature and then chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 70/30 v/v) to give the product **99** as a colorless oil (63 mg, 80%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 2.43 (2t, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₍₈₎ and CH₍₁₁₎), 3.46 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂₍₁₎), 3.63 (m, 12H, CH₂₍₃₎ and CH₂₍₅₎), 3.79 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂₍₂₎), 3.88 (m, 1H, CH₍₄₎), 4.16 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂₍₆₎), 4.32 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂₍₉₎).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 30.4 (CH₂₍₁₎), 57.6 (CH₂₍₉₎), 58.6 (CH₂₍₆₎), 69.7 (CH₂₍₃₎), 70.5 (CH₂₍₃₎), 70.6 (CH₂₍₃₎), 70.6 (CH₂₍₃₎), 70.9 (CH₂₍₃₎), 71.1 (CH₂₍₅₎), 71.2 (CH₂₍₂₎), 74.4 (CH₍₈₎), 74.7 (CH₍₁₁₎), 76.3 (CH₍₄₎), 79.5 (C₍₇₎), 80.1 (C₍₁₀₎).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₅H₂₃O₅NaBr [M+Na]⁺ 385.0621 found 385.0611.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-(11-(prop-2-yn-1-yloxy)-3,6,9,13-tetraoxahexadec-15-yn-1-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate :



98

C₄₁H₇₂N₄O₁₁

MW = 797.03 g/mol

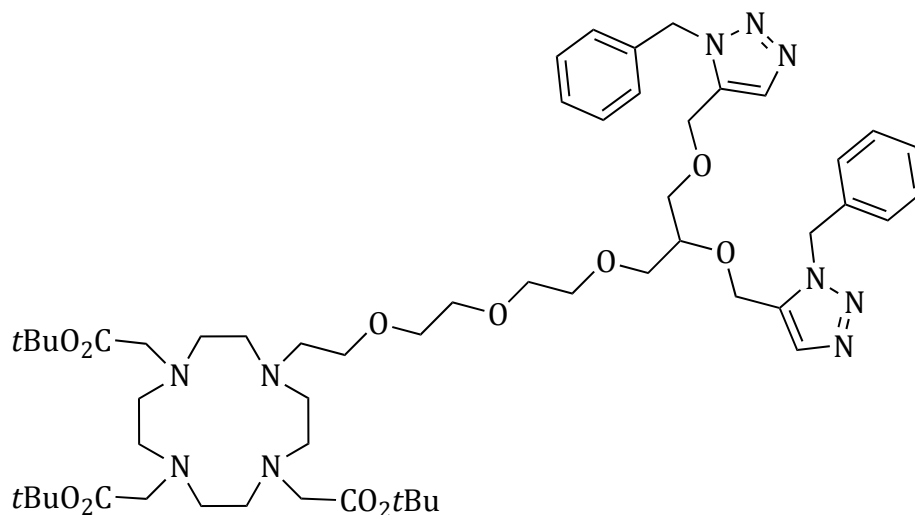
Under argon, to a solution of compound **40** (90 mg, 0.151 mmol, 1 eq) in dry DMF (0.725 mL) was added potassium carbonate (44 mg, 0.317 mmol, 2.1 eq). After stirring for 30 min at room temperature, the bromide compound (63 mg, 0.173 mmol, 1.15 eq) was added in solution in dry DMF (0.725 mL) and the reaction mixture was warmed up to 70°C overnight. The mixture was then cooled down slowly to room temperature and filtered. The filtrate was evaporated under reduced pressure and chromatographed on silica gel (DCM/MeOH 96/4 v/v) to give compound **98** (102 mg, 86%) as a pale yellow foam.

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 1.44 (2s, 27H, CH₃(*tBu*)), 2.21-3.36 (m, 24H, CH₂(*a*), CH₂(*b*), CH(₆) and CH(₉)), 3.36-3.65 (m, 16H, CH₂(₁) and CH₂(₃)), 3.86 (m, 1H, CH(₂)), 4.16 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂(₆)), 4.31 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H CH₂(₉)).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 27.9 (CH₃(*tBu*)), 28.0 (CH₃(*tBu*)), 49.6 (CH₂(*a*)), 50.4 (CH₂(*a*)), 52.1 (CH₂(*a*)), 55.5 (CH₂(*b*)), 56.3 (CH₂(*b*)), 57.5 (CH₂(₇)), 58.6 (CH₂(₄)), 67.2 (CH₂(₁)), 69.5 (CH₂(₁)), 69.8 (CH₂(₁)), 69.8 (CH₂(₁)), 70.3 (CH₂(₁)), 70.6 (CH₂(₁)), 71.2 (CH₂(₃)), 74.4 (CH(₆)), 74.8 (CH(₉)), 76.3 (CH(₂)), 77.4 (CH₂), 79.4 (C(₅)), 79.9 (C(₈)), 82.1 (C(*tBu*)), 81.2 (C(*tBu*)), 172.5 (CO), 172.9 (CO).

HRMS (ESI): Calculated for C₄₁H₇₃N₄O₁₁ [M+H]⁺ 797.5270 found 797.5256.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-(1-(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-4-((1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methoxy)-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



116

C₅₅H₈₆N₁₀O₁₁

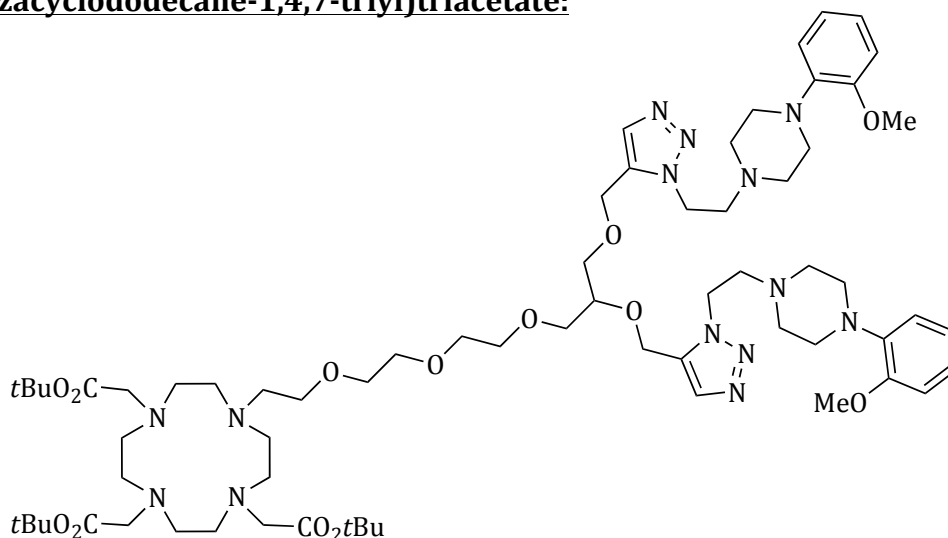
MW = 1063.33 g/mol

Cp*RuCl(COD) (4 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq) and the compound **98** (80 mg, 0.1 mmol, 1 eq) were solubilized under argon in dry DMF (1 mL) in a microwaves reactor. A solution of benzyl azide (26 mg, 0.2 mmol, 2 eq) in dry DMF (0.5 mL) was added dropwise. The reaction mixture was heated at 80°C for 30 min. After cooling, the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 100% to 92/8 v/v) to afford compound **116** as a brown oil (75 mg, 70%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.44 (s, 27H), 1.97-3.64 (m, 39H), 4.41 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 5.56 (s, 2H), 5.61 (s, 2H, CH), 7.72 (m, 10H), 7.60 (s, 2H).

HRMS (ESI): Calculated for C₅₅H₈₇N₁₀O₁₁ [M+H]⁺ 1063.6550 found 1063.6509.

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-(1-(1-(2-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)-4-((1-(2-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methoxy)-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



117

C₆₇H₁₁₀N₁₄O₁₃

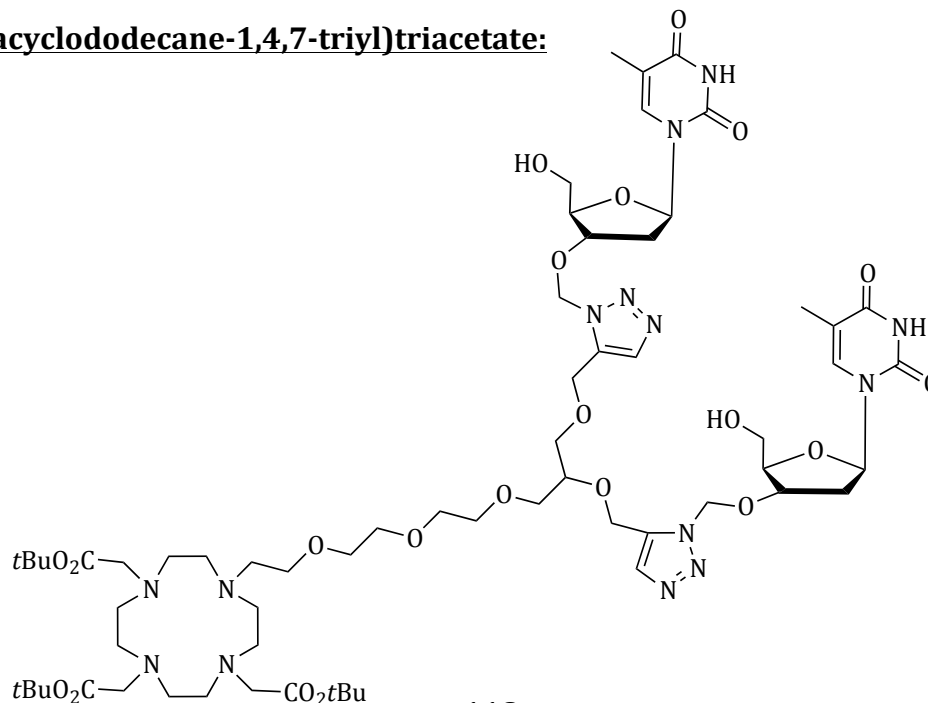
MW = 1319.68 g/mol

Cp*RuCl(COD) (4 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq) and compound **98** (80 mg, 0.1 mmol, 1 eq) were solubilized under argon in dry DMF (1 mL) in a microwaves reactor. A solution of MPP azide (52 mg, 0.2 mmol, 2 eq) in dry DMF (0.5 mL) was added dropwise. The reaction mixture was heated at 80°C for 30 min. After cooling, the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 100% to 95/5 v/v) to afford compound **117** as a brown oil (63 mg, 48%).

¹H NMR (300MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.44 (m, 27H), 2.23-3.85 (m, 67H), 4.33 (m, 2H), 4.54 (m, 2H), 4.71 (s, 1H), 4.84 (m, 1H), 6.92 (m, 6H), 7.67 (m, 4H).

HRMS (FD): Calculated for C₆₇H₁₁₀N₁₄O₁₃ [M]⁺ 1319.8449 found 1319.8443

Tri-tert-butyl 2,2',2''-(10-(1-(1-(((2R,3S,5R)-2-(hydroxymethyl)-5-(5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)tetrahydrofuran-3-yl)oxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)-4-((1-(((2R,3S,5R)-2-(hydroxymethyl)-5-(5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)tetrahydrofuran-3-yl)oxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)methoxy)-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



118

C₆₃H₁₀₂N₁₄O₂₁

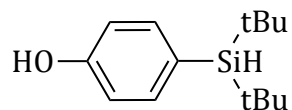
MW = 1391.57 g/mol

Cp**Ru*Cl(COD) (4 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq) and compound **98** (80 mg, 0.1 mmol, 1 eq) were solubilized under argon in dry DMF (1 mL) in a microwaves reactor. A solution of thymidine azide (60 mg, 0.2 mmol, 2 eq) in dry DMF (0.5 mL) was added dropwise. The reaction mixture was heated at 80°C for 30 min. After cooling the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 100% to 95/5 v/v) to afford compound **118** as a brown oil (28 mg, 20%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.45 (m, 27H), 1.89-4.92 (m, 68H), 5.88 (m, 2H), 6.19 (m, 2H), 7.68 (m, 4H).

HRMS (FD): Calculated for C₆₃H₁₀₂N₁₄O₂₁Na [M+Na]⁺ 1413.72416 found 1413.72595.

4-(Di-*tert*-butylsilyl)phenol:



120

C₁₄H₂₄OSi

MW = 236.43 g/mol

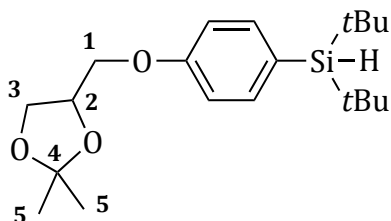
To a suspension of sodium hydride (528mg, 22 mmol, 1.1 eq) under argon in dry THF (80 mL) was added 4-bromophenol (3.45 g, 20 mmol, 1 eq) portionwise. After stirring at 55°C for 2 h 30, the reaction mixture was cooled to -78°C and *t*-butyllithium was added very slowly (1.35 M in hexane 31 mL, 42 mmol, 2.1 eq). The reaction mixture was stirred at -78°C for 1 h and di-*tert*-butylchlorosilane (4.3 mL, 21 mmol, 1.05 eq) was added dropwise. The reaction mixture was allowed slowly to warm up to room temperature overnight. A solution of NH₄Cl sat. (200 mL) was added and the resulting solution was extracted with diethyl ether (200 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄ and the solvent was removed to afford the crude product as a brown solid. The residue was chromatographed on silica gel (PE/EtOAc 9/1 v/v) to give compound **120** (3.22 g, 68%) as a white solid.

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.04 (s, 18H, CH₃-*t*Bu), 3.84 (s, 1H, SiH), 4.86 (s, 1H, OH), 6.83 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, H_{ar}), 7.46 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, H_{ar}).

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 18.4 (C_q), 28.3 (CH₃), 114.1 (C_{ar}), 125.9 (C_{ar}), 136.7 (C_{ar}), 155.6 (C_{ar}).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₄H₂₄OSiAg [M+Ag]⁺ 343.0641, found 343.0641.

Di-tert-butyl(4-((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)phenyl)silane:



121

C₂₀H₃₄O₃Si

MW = 350.57 g/mol

DEAD (6.3 mL, 40 mmol, 2.5 eq) was slowly added at room temperature to a stirred solution of silane **120** (3.78 g, 16 mmol, 1 eq), solketal (3.99 mL, 32 mmol, 2 eq) and triphenylphosphine (10.5 g, 40 mmol, 2.5 eq) in dry THF (100 mL). The mixture was then refluxed overnight.

After one night, solketal (2.0 mL, 16 mmol, 1 eq), triphenylphosphine (4.2 g, 16 mmol, 1 eq) and DEAD (2.5 mL, 16 mmol, 1 eq) were added successively at room temperature to the reaction mixture. The mixture was then refluxed for another 24 h.

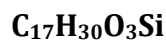
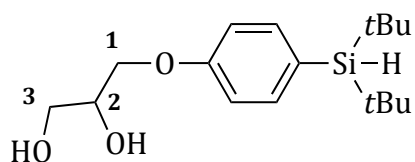
The resulting mixture was evaporated under reduced pressure and pentane (200 mL) was added to the slurry to precipitate triphenylphosphine oxide. Triphenylphosphine oxide is then filtered and the resulting mixture was concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (PE/EtOAc 95/5 v/v) to afford compound **121** as a white solid (3.55 g, 63%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.03 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 1.41 (s, 3H, CH₃(*5*)), 1.47 (s, 3H, CH₃(*5*)), 3.83 (s, 1H, SiH), 3.93 (m, 2H, CH₂(*3*)), 4.07 (dd, 1H, *J* = 9.4 Hz, *J* = 5.4 Hz, CH₂(*1*)), 4.18 (m, 1H, CH₂(*1*)), 4.49 (m, 1H, CH(*2*)), 6.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.49 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.2 (C(*tBu*)), 25.5 (CH₃(*5*)), 26.9 (CH₃(*5*)), 29.1 (CH₃(*tBu*)), 67.1 (CH₂(*3*)), 68.5 (CH₂(*1*)), 74.1 (CH(*2*)), 109.9 (C(*4*)), 113.9 (CH_{ar}), 127.0 (CH_{ar}), 137.3 (C_{ar}), 159.4 (C_{ar}).

HRMS (ESI): Calculated for C₂₀H₃₄O₃SiAg [M+Ag]⁺ 457.1322 found 457.1318.

3-(4-(Di-*tert*-butylsilyl)phenoxy)propane-1,2-diol:



MW = 310.50 g/mol

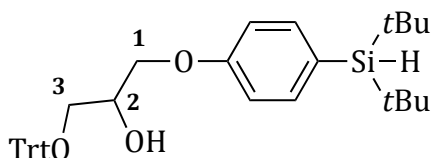
Compound **121** (2.7 g, 7.7 mmol, 1 eq) was dissolved in MeOH (27 mL). DOWEX 50WX8-200 resin (2.7 g) was then added and the reaction mixture was stirred at room temperature for 48 h. The resin was filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (EtOAc/PE 80/20 v/v) to afford compound **122** as a white solid (2.3 g, 96%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.03 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 3.70-3.90 (m, 3H, SiH and CH₂(₃)), 4.02-4.14 (m, 3H, CH(₂) and CH₂(₁)), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H_{ar}), 7.49 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.1 (C(*tBu*)), 29.0 (CH₃(*tBu*)), 63.8 (CH₂(₃)), 68.8 (CH₂(₁)), 70.7 (CH(₂)), 113.9 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 137.3 (C_{ar}), 159.3 (C_{ar}).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₇H₃₀O₃SiAg [M+Ag]⁺ 417.1013 found 417.1009.

1-(4-(Di-tert-butylsilyl)phenoxy)-3-(trityloxy)propan-2-ol:



123

C₃₆H₄₄O₃Si

MW = 552.82 g/mol

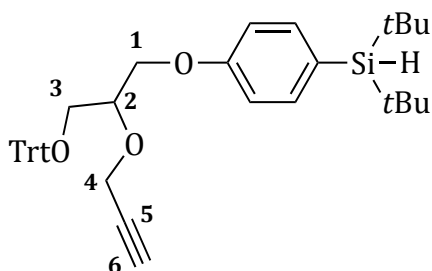
Triethylamine (1.18 mL, 8.45 mmol, 1.05 eq) and trityl chloride (2.36 g, 8.450 mmol, 1.05 eq) were added under argon to diol **122** (2.5 g, 8.05 mmol, 1 eq) in solution in dry DCM (16 mL). After 4 h triethylamine (223 μ L, 1.6 mmol, 0.2 eq) and trityl chloride (446 mg, 1.6 mmol, 0.2 eq) were added. The reaction mixture was stirred for an extra hour. Water and diethyl ether were then added and the two layers were separated. The organic layer was washed with brine, dried on sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (PE/EtOAc 90/10 v/v) to afford compound **123** as a colorless oil (3.980 g, 90%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 1.03 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 2.47 (s, 1H, OH), 3.35 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H, CH₂(₂)), 3.84 (s, 1H, SiH), 4.10 (m, 3H, CH₂(₁) and CH(₂)), 6.87 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H_{ar}(*PhSi*)), 7.26 (m, 9H, H_{ar}(*PhSi*) and H_{ar}(*Trt*)), 7.44 (m, 8H, H_{ar}(*Trt*)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 19.1 (C(*tBu*)), 29.1 (CH₃(*tBu*)), 64.3 (CH₂(₃)), 68.7 (CH₂(₁)), 69.5 (CH(₂)), 86.9 (C(*Trt*)), 114.0 (CH_{ar}(*PhSi*)), 126.8 (C_{ar}(*Trt*)), 127.2 (CH_{ar}(*PhSi*)), 128.0 (CH_{ar}(*Trt*)), 128.7 (CH_{ar}(*Trt*)), 137.2 (C_{ar}(*PhSi*)), 143.8 (C_{ar}(*Trt*)), 159.3 (C_{ar}(*PhSi*)).

HRMS (ESI): Calculated for C₃₆H₄₄O₃SiNa [M+Na]⁺ 575.2951 found 575.2958.

Di-tert-butyl(4-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)-3-(trityloxy)propoxy)phenyl)silane:



124

C₃₉H₄₆O₃Si

MW = 590.87 g/mol

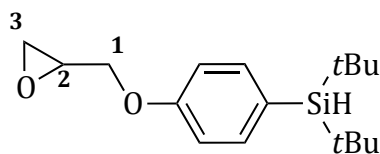
To a suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (231 mg, 5.77 mmol, 1.5 eq) under argon in dry THF (20 mL) was added dropwise a solution of compound **123** (2.125 g, 3.84 mmol, 1eq) in dry THF (19 mL). The reaction was refluxed for 2 h. After cooling down to room temperature propargyl bromide 80% in toluene (642 μ L, 5.77 mmol, 1.5 eq) was added dropwise. The mixture was refluxed for 24 h and was then slowly cooled down at room temperature. Water was added and the aqueous layer was extracted with diethyl ether. The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel (PE/EtOAc 95/5 v/v) to afford compound **124** as a yellow oil (2.100 g, 92%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 1.03 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 2.40 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H, CH(₆)), 3.36 (m, 2H, CH₂(₃)), 3.38 (s, 1H, SiH), 4.10 (m, 3H, CH₂(₁) and CH(₂)), 4.34 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H, CH₂(₄)), 6.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, H_{ar}(*PhSi*)), 7.25 (m, 9H, H_{ar}(*PhSi*) and H_{ar}(*Trt*)), 7.43 (m, 8H, H_{ar}(*Trt*)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 19.2 (C(*tBu*)), 28.9 (CH₃(*tBu*)), 58.0 (CH₂(₄)), 63.2 (CH₂(₃)), 67.7 (CH₂(₁)), 76.5 (CH(₆)), 77.4 (CH(₂)), 80.1 (C(₅)), 87.0 (C(*Trt*)), 114.0 (CH_{ar}(*PhSi*)), 126.7 (C_{ar}(*Trt*)), 127.2 (CH_{ar}(*PhSi*)), 128.0 (CH_{ar}(*Trt*)), 128.9 (CH_{ar}(*Trt*)), 137.2 (C_{ar}(*PhSi*)), 144.0 (C_{ar}(*Trt*)), 159.7 (C_{ar}(*PhSi*)).

HRMS (ESI): Calculated for C₃₉H₄₆O₃SiAg [M+Ag]⁺ 697.2262 found 697.2271.

Di-tert-butyl(4-(oxiran-2-ylmethoxy)phenyl)silane :



127

C₁₇H₂₈O₂Si

MW = 292.49 g/mol

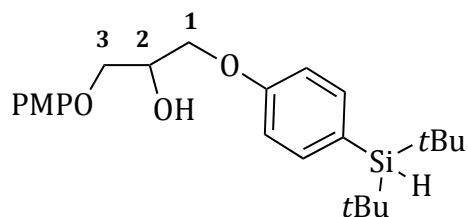
To a suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (42 mg, 1.05 mmol, 1.05 eq) under argon in dry THF (10 mL) was added portionwise 4-(di-tert-butylsilyl)phenol (236 mg, 1 mmol, 1 eq). After stirring for 30 min at room temperature, epichlorhydrin (0.4 mL, 5 mmol, 5 eq) was added dropwise and the reaction mixture was heated at reflux overnight. The mixture was then cooled down to room temperature, diluted with water and the aqueous layer was extracted with diethyl ether (3*20 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated under reduced pressure. The resulting crude oil was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 95/5 v/v) to give the product **127** as a colorless oil (200 mg, 68%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.04 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 2.79 (dd, *J* = 2.4 Hz, *J* = 4.9 Hz, 1H, CH₂(*1*)), 2.94 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H, CH₂(*1*)), 3.39 (m, 1H, CH(*2*)), 3.85 (s, 1H, SiH), 3.99 (dd, *J* = 5.5 Hz, *J* = 11 Hz, 1H, CH₂(*3*)), 4.23 (dd, *J* = 3.3 Hz, *J* = 11 Hz, 1H, CH₂(*3*)), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H_{ar}), 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.0 (C(*tBu*)), 28.9 (CH₃(*tBu*)), 44.8 (CH₂(*3*)), 50.5 (CH(*2*)), 68.4 (CH₂(*1*)), 113.8 (CH_{ar}), 126.0 (C_{ar}), 137.2 (CH_{ar}), 159.2 (C_{ar}).

HRMS (ESI): Calculated for C₁₇H₂₈O₂NaSi [M+Na]⁺ 315.1750 found, 315.1736.

1-(4-(Di-*tert*-butylsilyl)phenoxy)-3-(4-methoxyphenoxy)propan-2-ol:



128

C₂₄H₃₆O₄Si

MW = 416.63 g/mol

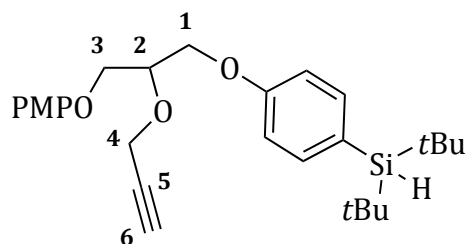
p-Methoxyphenol (248 mg, 2 mmol, 2 eq) was added under argon to a stirred suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (88 mg, 2.2 mmol, 2.2 eq) in dry THF (8 mL). After stirring for 30 min at room temperature, compound **127** (292 mmol, 1 mmol, 1 eq) in dry THF (2 mL) was added dropwise. The reaction mixture was heated at reflux for 24 h. After cooling down to room temperature, water was slowly added and the organic layer was extracted with diethyl ether (3*20 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (PE/EtOAc 90/10 v/v) to afford compound **128** as a colorless oil (242 mg, 58%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.05 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 2.52 (br, 1H, OH), 3.78 (s, 3H, CH₃(*PMPO*)), 3.85 (s, 1H, SiH), 4.12 (m, 4H, CH₂(*1*) and CH₂(*3*)), 4.39 (m, 1H, CH(*2*)), 6.82-6.95 (m, 6H, H_{ar}(*PMPO*) and H_{ar}(*PhSi*)), 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}(*PhSi*)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.2, 29.0, 55.8, 68.4, 68.9, 69.5, 113.9, 114.8, 115.6, 127.2, 137.3, 152.7, 154.3, 159.3.

HRMS (ESI): Calculated for C₂₄H₃₆O₄SiNa [M+Na]⁺ 439.2275 found 439.2264.

Di-tert-butyl(4-(3-(4-methoxyphenoxy)-2-(prop-2-yn-1-yloxy)propoxy)phenyl) silane:



129

C₂₇H₃₈O₄Si

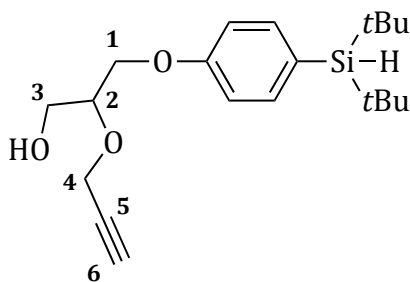
MW = 454.67 g/mol

Alcohol **128** (242 mg, 0.58 mmol, 1 eq) was added under argon to a stirred suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (35 mg, 0.87 mmol, 1.5 eq) in dry THF (6 mL). The reaction mixture was stirred for 30 min at room temperature and propargyl bromide (0.87 mmol, 1.5 eq) was slowly added. The mixture was heated at reflux overnight and was then slowly cooled down to room temperature. Water was slowly added and aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*15mL). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (PE/EtOAc 95/5 v/v) to afford propargyl **129** (243mg, 92%)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.05 (s, 18H, CH₃(*t*Bu)), 2.49 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, OH), 3.78 (s, 3H, CH₃(*PM*P)), 3.86 (m, 2H, SiH and CH(₂)), 4.10 (m, 4H, CH₂(₁) and CH₂(₃)), 4.31 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH(₄)), 6.80-6.96 (m, 6H, H_{ar}(*PM*P) and H_{ar}(*Ph*Si)), 7.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}(*Ph*Si)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.2, 29.0, 55.8, 57.7, 68.7, 69.4, 75.4, 78.0, 79.7, 113.6, 114.9, 115.6, 127.2, 137.2, 152.5, 154.3, 159.2.

3-(4-(Di-tert-butylsilyl)phenoxy)-2-(prop-2-yn-1-yloxy)propan-1-ol:



125

C₂₀H₃₂O₃Si

MW = 348.55 g/mol

Procedure 1 :

Aluminium trichloride (542 mg, 4.06 mmol, 1.2 eq) was solubilized in diethyl ether (17 mL). This mixture was added dropwise to a solution of trityl compound **124** (2 g, 3.38 mmol, 1 eq) in diethyl ether (17 mL). After stirring for 2 h at room temperature HCl 1 N was added. The two layers were separated and the organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (80/20 PE/EtOAc v/v) to afford alcohol **125** as a colorless oil (900 mg, 76%).

Procedure 2:

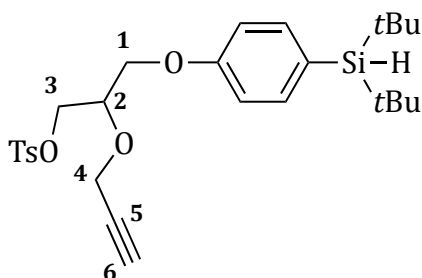
CAN (726 mg, 1.32 mmol, 2.5 eq) was added to a solution of compound **129** (242 mg, 0.53 mmol, 1 eq) in a mixture of ACN/H₂O 80/20 v/v (5 mL) at 0°C. After stirring for 30 min, a solution of saturated NaHCO₃ (3 mL) was added. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*5 mL). The combined organic layer were washed with brine, dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (80/20 PE/EtOAc v/v) to afford compound **125** as colorless oil (162 mg, 88%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.03 (s, 18H, CH₃(tBu)), 2.47 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH₍₆₎), 3.83 (m, 3H, CH₂(3) and SiH), 4.07 (m, 3H, CH₂(1) and CH₍₂₎), 4.38 (m, 2H, CH₂(4)), 6.89 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H_{ar}), 7.49 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.2 (C_(tBu)), 29.1 (CH₃(tBu)), 58.0 (CH₂(4)), 62.6 (CH₂(3)), 75.0 (CH(6)), 77.6 (CH(2)), 79.9 (C(5)), 113.9 (CH_{ar}), 127.1 (C_{ar}), 137.3 (CH_{ar}), 159.3 (C_{ar}).

HRMS (ESI): Calculated for C₂₀H₃₂O₃SiNa [M+Na]⁺ 371.2012 found 371.2028.

3-(4-(Di-tert-butylsilyl)phenoxy)-2-(prop-2-yn-1-yloxy)propyl 4-methylbenzene sulfonate:



126

C₂₇H₃₈O₅SSi

MW = 502.74 g/mol

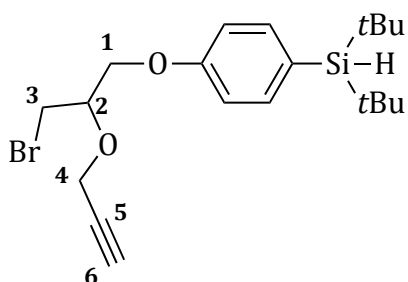
To a solution of alcohol **125** (871 mg, 2.5 mmol, 1 eq) in ACN (25 mL), triethylamine (0.87 mL, 6.25 mmol, 2.5 eq), trimethylamine hydrochloride (24 mg, 0.25 mmol, 0.1 eq) and *p*-tosyl chloride (953 mg, 5 mmol, 2 eq) were successively added at 0°C. The reaction mixture was slowly warmed up to room temperature and stirred overnight. Water and ethyl acetate (30 mL) were then added to the reaction mixture and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (2*30 mL). The organic layers were combined, dried on sodium sulfate and the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was then chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 95/5 v/v) to afford **126** as a colorless oil (1.141 g, 91%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.03 (s, 18H, CH₃(*t*Bu)), 2.41 (s, 3H, CH₃(*Ts*)), 2.44 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH(₆)), 3.82 (s, 1H, SiH), 4.01 (m, 2H, CH₂(₁)), 4.13 (dd, *J* = 3.0 Hz, *J* = 6.0 Hz, 1H, CH(₂)), 4.21 (m, 1H, CH₂(₃)), 4.29 (m, 3H, CH₂ and CH₂(₄)), 6.79 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H_{ar}(*PhSi*)), 7.28 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H_{ar}(*Ts*)), 7.47 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H_{ar}(*PhSi*)), 7.78 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H_{ar}(*Ts*)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.2 (C(*t*Bu)), 21.8 (CH₃(*Ts*)), 29.0 (CH₃(*t*Bu)), 58.0 (CH₂(₄)), 65.9 (CH₂(₃)), 68.6 (CH₂(₁)), 74.3 (CH(₂)), 75.4 (CH(₆)), 79.1 (C(₅)), 113.8 (CH_{ar}(*PhSi*)), 127.2 (CH_{ar}(*PhSi*)), 128.1 (CH_{ar}(*Ts*)), 130.0 (CH_{ar}(*Ts*)), 132.6 (C_{ar}(*Ts*)), 137.2 (C_{ar}(*PhSi*)), 145.1 (C_{ar}(*Ts*)), 158.9 (C_{ar}(*PhSi*)).

HRMS (ESI): Calculated for C₂₇H₃₈O₅SSiNa [M+Na⁺] 525.2101 found 525.2108.

(4-(3-Bromo-2-(prop-2-yn-1-yloxy)propoxy)phenyl)di-tert-butylsilane:



119

C₂₀H₃₁BrO₂Si

MW = 411.45 g/mol

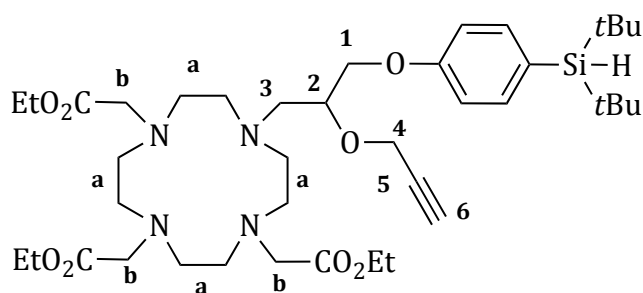
To a solution of tosylate **126** (1.005 g, 2 mmol, 1 eq) in ACN (20 mL), lithium bromide (1.736 g, 20 mmol, 10 eq) was added. After stirring overnight at 70°C the reaction mixture was cooled down to room temperature and diluted with water. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3*25 mL). The organic layers were combined, washed with brine, dried on sodium sulfate and evaporated under reduced pressure to afford the bromide compound **119** (740 mg, 90 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.03 (s, 18H, CH₃(*t*Bu)), 2.48 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH(₆)), 3.65 (m, 2H, CH₂(₃)), 3.83 (s, 1H, SiH), 4.16 (m, 3H, CH₂(₁) and CH(₂)), 4.38 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂(₄)), 6.91 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}), 7.49 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.1 (C(*t*Bu)), 29.0 (CH₃(*t*Bu)), 31.7 (CH₂(₁)), 57.8 (CH₂(₄)), 67.3 (CH₂(₃)), 75.4 (CH(₂)), 75.9 (CH(₆)), 79.3 (C(₅)), 113.9 (CH_{ar}), 127.1 (CH_{ar}), 137.3 (C_{ar}), 159.1 (C_{ar}).

HRMS (FD): Calculated for C₂₀H₃₁BrO₂Si [M]⁺ 410.12767 found 410.12692.

Triethyl 2,2',2''-(10-(3-(4-(di-tert-butylsilyl)phenoxy)-2-(prop-2-yn-1-yloxy)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



133

C₄₀H₆₈N₄O₈Si

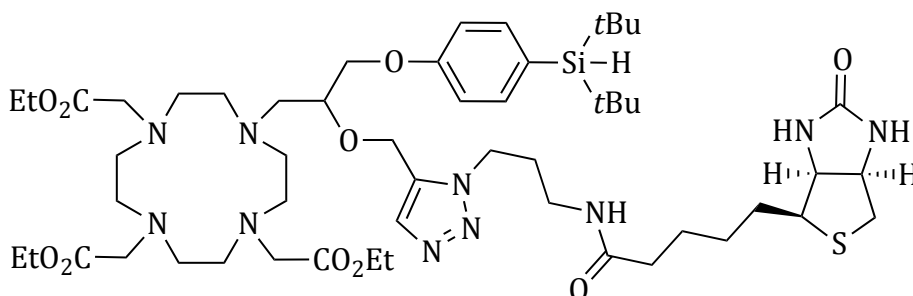
MW = 761.08 g/mol

Carbonate potassium was added under argon to a stirred solution of DO3A(Et)₃ (304 mg, 0.7 mmol, 1eq) in dry DMF (5 mL). After 30 min, bromosilane **119** (302 mg, 0.735 mmol, 1.05 eq), in solution in DMF (2 mL) was added dropwise. The reaction mixture was heated at 70°C for 16 h. After cooling down to room temperature the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was chromatographed on silica gel (DCM to DCM/MeOH 95/5 v/v) to afford **133** as a white foam (378 mg, 71 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.01 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 1.43 (s, 9H, CH₃(*Et*)), 2.13-3.63 (m, 30H, CH₂(*a*), CH₂(*b*), CH₂(*1*), CH(*2*), CH₂(*3*), CH₂(*4*) and CH(*6*)), 3.81 (s, 1H, SiH), 4.03-4.46 (m, 6H, CH₂(*Et*)), 6.84 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.47 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 14.4, 19.7, 29.0, 47.4, 51.7, 57.5, 57.8, 60.2, 67.9, 75.7, 79.8, 115.0, 127.9, 130.0, 132.5, 160.8, 175.7, 176.0.

Triethyl 2,2',2''-(10-(3-(4-(di-*tert*-butylsilyl)phenoxy)-2-((1-(3-(5-((3a,5,4,5,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)methoxy)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



134

C₅₃H₉₀N₁₀O₁₀SSi

MW = 1087.49 g/mol

Method A and B (cf p142) were used for the synthesis of **134**.

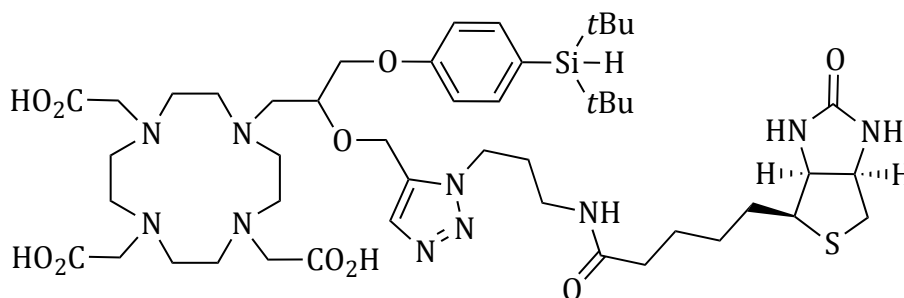
Cp*RuClCOD (4 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq) was used with biotin azide (32 mg, 0.1 mmol, 1 eq) and DO3A **133** (76 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq) in DMF (1 mL). The crude product was chromatographed on silica gel to afford **134** as a white foam (55% method A, 53% method B).

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm} : 0.90 (m, 2H), 1.04 (s, 18H, CH₃*tBu*), 1.19-1.77 (m, 22H), 2.04-3.71 (m, 27H), 4.09-5.00 (m, 16H), 7.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}), 7.52 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}), 7.79 (s, 1H, H_{triazole}).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm} : 14.6, 19.8, 26.8, 29.4, 29.8, 30.8, 36.8, 37.6, 41.1, 47.4, 51.7, 56.2, 56.7, 57.0, 60.2, 61.6, 61.7, 62.9, 63.3, 115.1, 127.9, 129.9, 132.4, 134.6, 135.9, 138.4, 160.8, 165.9, 175.3, 176.0.

HRMS (ESI): Calculated for C₅₀H₈₅N₁₀O₁₀SSi [M+H]⁺ 1045.5934 found 1045.5967 (corresponding to the compound protected by methyl ester).

2,2',2''-(10-(3-(4-(Di-*tert*-butylsilyl)phenoxy)-2-((1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)methoxy)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetic acid:



135

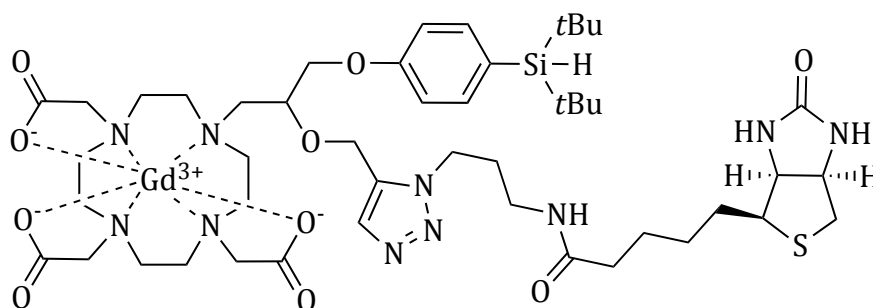
C₄₇H₇₈N₁₀O₁₀SSi

MW = 1003.33 g/mol

A solution of NaOH 1 M (1.5 mL) was added to a stirred solution of compound **136** (117 mg, 0.11 mmol, 1 eq) in THF (1.5 mL). The reaction mixture was stirred for 24 h at room temperature and then pH was adjusted to 6 with HCl 1 M. The mixture was then concentrated under reduced pressure and the crude product was dissolved in water and purified on a Sep-Pak C₁₈ cartridge (elution EtOH). After lyophilization the deprotected compound **134** was obtained as a white powder (100 mg, 90%).

MS (ESI): 1039.3 [M+K-2H]⁻ (Observed).

Gadolinium complex of 2,2',2''-(10-(3-(4-(di-*tert*-butylsilyl)phenoxy)-2-((1-(3-(5-((3*a,S,4,S,6a*R)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)methoxy)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



136

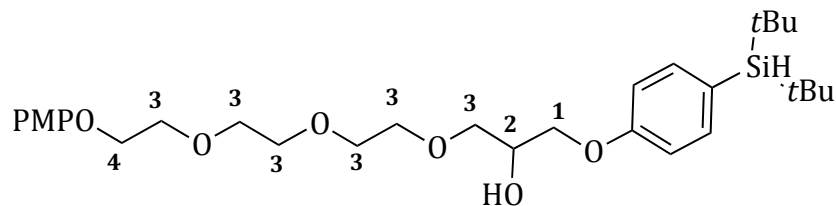
C₄₇H₇₅GdN₁₀O₁₀SSi

MW = 1157.56 g/mol

Gadolinium chloride anhydrous (8.5 mg, 0.033 mmol, 1.3 eq) was added to a solution of compound **135** (25 mg, 0.025 mmol, 1 eq) in water. The mixture was stirred at 60°C for 24 h and the pH was periodically adjusted to 6.5-7 with a solution of NaOH 1 M and HCl 0.1 M. The reaction was cooled down to room temperature and purified through a column of chelex-100 to trap free Gd³⁺. After lyophilization, 28 mg of compound **136** (100%) was obtained as a white solid.

MS (ESI): 1196.5 [M+K-2H]⁻ (Observed).

1-(4-(Di-tert-butylsilyl)phenoxy)-3-(2-(2-(2-(4-methoxyphenoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)propan-2-ol :



140

C₃₀H₄₈O₇Si

MW = 548.78 g/mol

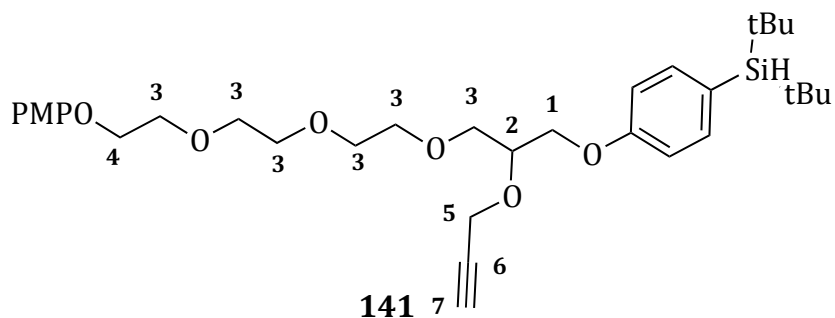
To a suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (44 mg, 1.1 mmol, 2.2 eq) under argon in dry THF (3 mL), compound **111** (256 mg, 1 mmol, 2 eq) in solution in dry THF (1 mL) was added slowly. After stirring for 30 minutes at room temperature, the epoxide **127** (146 mg, 0.5 mmol, 1 eq) in dry THF (1 mL) was added dropwise. The reaction mixture was stirred 24 h at reflux. The mixture was then cooled down to room temperature, quenched with water and the aqueous layer was extracted with diethyl ether (3*15 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated under reduced pressure. The resulting crude oil was purified by chromatography on silica gel (EtOAc/Hex 50/50 v/v) to give the product **140**, as a yellow oil (171 mg, 62%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.05 (s, 18H, CH₃(*t*Bu)), 2.95 (s, 1H, OH), 3.73 (m, 15H, CH₂(₃) and CH₃(*PMP*)), 3.84 (m, 3H, CH₂(₄) and SiH), 4.03 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂(₁)), 4.19 (m, 1H, CH(₂)), 6.86 (m, 6H, H_{ar}(*PMP*) and H_{ar}(*PhSi*)), 7.49 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H_{ar}(*PhSi*)).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.0 (C(*t*Bu)), 28.9 (CH₃(*t*Bu)), 55.6 (CH₃(*PMP*)), 68.1 (CH₂(₁)), 68.4 (CH₂(₄)), 69.0 (CH(₂)), 69.9 (CH₂(₃)), 70.5 (CH₂(₃)), 70.6 (CH₂(₃)), 70.8 (CH₂(₃)), 70.9 (CH₂(₃)), 72.4 (CH₂(₃)), 113.8 (CH_{ar}(*PhSi*)), 114.6 (CH_{ar}(*Ts*)), 115.6 (C_{ar}(*Ts*)), 129.7 (C_{ar}(*PhSi*)), 137.1 (CH_{ar}(*PhSi*)), 152.9 (C_{ar}(*Ts*)), 153.9 (C_{ar}(*Ts*)), 159.3 (C_{ar}(*PhSi*)).

HRMS (ESI): Calculated for C₃₀H₄₈O₇SiNa [M+Na]⁺ 571.3061, found 571.3055.

Di-tert-butyl(4-(3-(2-(2-(2-(4-methoxyphenoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)-2-(prop-2-yn-1-yloxy)propoxy)phenyl)silane :



MW = 586.83 g/mol

Alcohol **140** (274 mg, 0.5 mmol, 1 eq) was slowly added under argon to a suspension of sodium hydride 60% in oil dispersion (30 mg, 0.75 mmol, 1.5 eq) in dry THF (3 mL) and stirred for 30 min at room temperature. Propargyl bromide (67 μ L, 0.75 mmol, 1.5 eq) was then added dropwise and the solution was allowed to warm up to reflux overnight. The mixture was then cooled down slowly to room temperature, quenched with water and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3*10 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude was chromatographed on silica gel (Hex/EtOAc 70/30 v/v) to afford compound **141** as a yellow oil (265 mg, 90%).

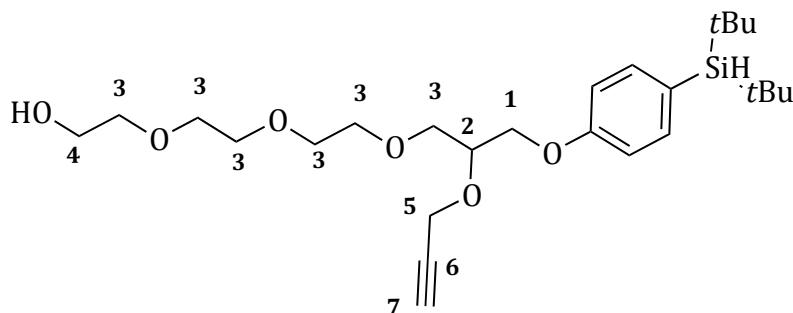
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 1.05 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 2.45 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, CH(₇)), 3.72 (m, 10H, CH₂(₃)), 3.78 (s, 3H, CH₃(*PMP*)), 3.84 (m, 3H, CH₂(₄) and SiH), 4.08 (m, 5H, CH₂(₁), 1*CH₂(₃) and CH(₂)), 4.40 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, CH₂(₅)), 6.84 (m, 4H, H_{ar}(*PMP*)), 6.91 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H_{ar}(*PhSi*)), 7.49 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H_{ar}(*PhSi*)).

¹³C NMR (75MHz, CDCl₃), δ_{ppm} : 19.0 (C(*tBu*)), 28.9 (CH₃(*tBu*)), 55.7 (CH₃(*PMP*)), 57.9 (CH₂(₅)), 67.3 (CH₂(₁)), 68.1 (CH₂(₄)), 69.9 (CH₂(₃)), 70.6 (CH₂(₃)), 70.7 (CH₂(₃)), 70.8 (CH₂(₃)), 70.9 (CH₂(₃)), 71.0 (CH₂(₃)), 74.5 (CH(₂)), 75.9 (CH(₇)), 80.1 (C(₆)), 113.8 (CH_{ar}(*PhSi*)), 114.6 (CH_{ar}(*Ts*)), 115.6 (CH_{ar}(*Ts*)), 126.6 (C_{ar}(*PhSi*)), 137.1 (CH_{ar}(*PhSi*)), 152.9 (C_{ar}(*Ts*)), 153.9 (C_{ar}(*Ts*)), 159.3 (C_{ar}(*PhSi*)).

HRMS (FD): Calculated for C₃₃H₅₀O₇Si [M]⁺ 586.33258, found 586.33497.

11-((4-(Di-tert-butylsilyl)phenoxy)methyl)-3,6,9,12-tetraoxapentadec-14-yn-1-

ol:



142

C₂₆H₄₄O₆Si

MW = 480.71 g/mol

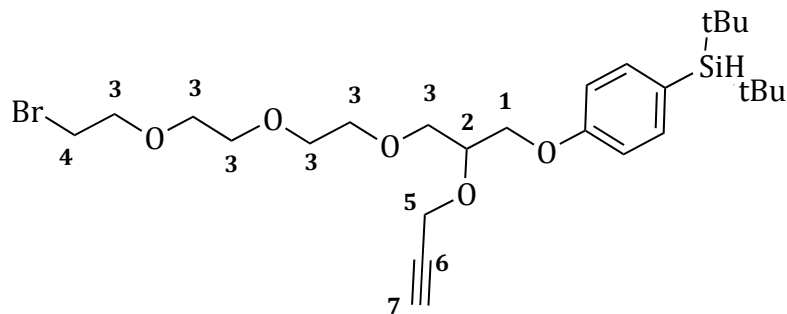
At 0°C to a solution of compound **141** (234 mg, 0.4 mmol, 1 eq) in ACN/water (80/20 v/v, 4 mL) was added cerium ammonium nitrate (548 mg, 1 mmol, 2.5 eq). After stirring for 30 min, the reaction mixture was quenched with a saturated sodium bicarbonate solution. The aqueous layer was then extracted with ethyl acetate (3*15 mL). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over sodium sulphate, filtered and evaporated under reduced pressure. The resulting crude product was chromatographed on silica gel (EtOAc/Hex 80/20 v/v) to give the product **142** (165 mg, 86%) as a pale yellow oil.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.03 (s, 18H, CH₃(*t*Bu)), 2.45 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH(₇)), 2.70 (s, 1H, OH), 3.60 (m, 2H, CH₂(₄)), 3.68 (m, 12H, CH₂(₃)), 3.83 (s, 1H, SiH), 4.11 (m, 3H, CH₂(₁) and CH(₂)), 4.40 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂(₅)), 6.90 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.0 (C(*t*Bu)), 28.9 (CH₃(*t*Bu)), 57.8 (CH₂(₅)), 61.7 (CH₂(₄)), 67.3 (CH₂(₁)), 70.3 (CH₂(₃)), 70.5 (CH₂(₃)), 70.7 (CH₂(₃)), 70.9 (CH₂(₃)), 72.5 (CH₂), 74.5 (CH(₂)), 75.9 (CH(₇)), 80.0 (C(₆)), 113.8 (CH_{ar}), 126.1 (C_{ar}), 137.1 (CH_{ar}), 159.3 (C_{ar}).

HRMS (ESI): Calculated for C₂₆H₄₄O₆NaSi [M+Na]⁺ 503.2799, found 503.2804.

(4-(3-(2-(2-(2-Bromoethoxy)ethoxy)ethoxy)-2-(prop-2-yn-1-yloxy)propoxy)phenyl) di-tert-butylsilane :



139

C₂₆H₄₃BrO₅Si

MW = 543.61 g/mol

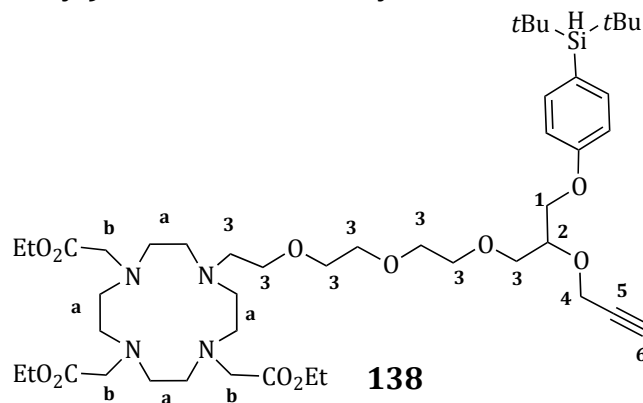
To a solution of alcohol **142** (155 mg, 0.32 mmol, 1 eq) in dry DCM (0.5 mL) were added sequentially triphenylphosphine (101 mg, 0.384 mmol, 1.2 eq) and carbon tetrabromide (127 mg, 0.384 mmol, 1.2 eq), at 0°C, under argon. The reaction mixture was then stirred for 1 h 30 at room temperature and then chromatographed on silica gel (75/25 Hex/EtOAc v/v) after evaporation of the solvent under reduced pressure to afford the bromo compound **139** (132 mg, 75%), as a yellow oil.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 1.04 (s, 18H, CH₃(*t*Bu)), 2.46 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH(₇)), 3.47 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂(₄)), 3.66-3.87 (m, 13H, CH₂(₃) and SiH), 4.12 (m, 3H, CH₂(₁) and CH(₂)), 4.40 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂(₅)), 6.90 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H_{ar}), 7.49 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ_{ppm}: 19.0 (C(*t*Bu)), 28.9 (CH₃(*t*Bu)), 30.3 (CH₂(₄)), 57.9 (CH₂(₅)), 67.3 (CH₂(₁)), 70.5 (CH₂(₃)), 70.6 (CH₂(₃)), 70.6 (CH₂(₃)), 70.9 (CH₂(₃)), 71.0 (CH₂(₃)), 71.2 (CH₂(₃)), 74.5 (CH(₂)), 75.9 (CH(₇)), 79.9 (C(₉)), 113.8 (CH_{ar}), 126.6 (C_{ar}), 137.1 (CH_{ar}), 159.3 (C_{ar}).

HRMS (ESI): Calculated for C₂₆H₄₃O₅NaSiBr [M+Na]⁺ 565.1955, found 565.1958.

Triethyl 2,2',2''-(10-(11-((4-(di-tert-butylsilyl)phenoxy)methyl)-3,6,9,12-tetraoxapentadec-14-yn-1-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl) triacetate :



MW = 893.23 g/mol

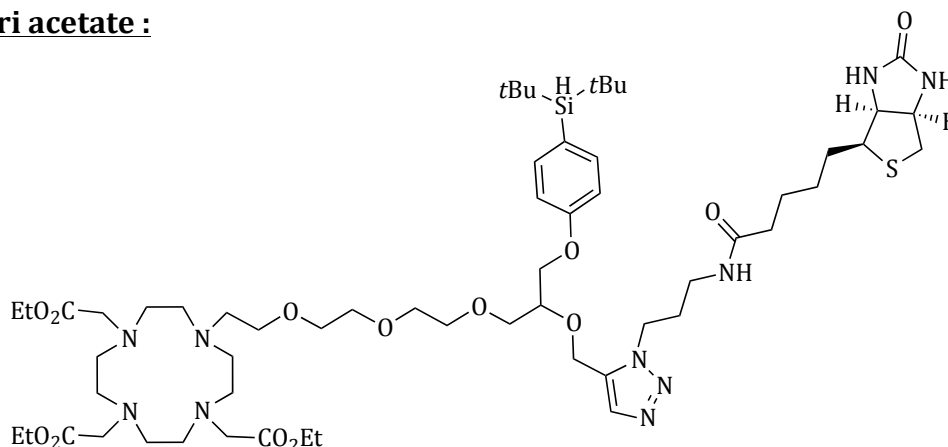
To a suspension of DO3A(Et)₃ **73** (86 mg, 0.2 mmol, 1 eq) in dry DMF (1 mL) was added potassium carbonate (58 mg, 0.42 mmol, 2.1 eq) under argon. After stirring for 1 h at room temperature, the bromide compound **139** (114 mg, 0.21 mmol, 1.05 eq) in solution in DMF (1 mL) was added dropwise and the reaction mixture was warmed up to 70°C overnight. The mixture was then slowly cooled down to room temperature filtered and the filtrate was evaporated under reduced pressure. The crude was chromatographed on silica gel (DCM/MeOH 95/5 v/v) to give compound **138** as a yellow foam (120 mg, 67%).

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 1.04 (s, 18H, CH₃(*tBu*)), 1.28 (m, 9H, CH₃(*Et*)), 2.28-3.64 (m, 37H, CH₂(*a*), CH₂(*b*) and CH(₂) and CH₂(₃)), 3.85 (s, 1H, SiH), 4.01-4.19 (m, 9H, CH₂(*Et*), CH₂(₁) and CH(₉)), 4.37 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH₂(₄)), 6.95 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}), 7.49 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{ar}).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 13.2 (CH₃(*Et*)), 18.4 (C(*tBu*)), 28.1 (CH₃(*tBu*)), 49.6 (CH₂), 49.9 (CH₂), 50.3 (CH₂), 52.2 (CH₂), 52.7 (CH₂), 53.0 (CH₂), 54.7 (CH₂), 55.0 (CH₂), 55.2 (CH₂), 57.1 (CH₂), 60.4 (CH₂), 61.0 (CH₂), 61.0 (CH₂), 64.9 (CH₂), 67.0 (CH₂), 67.2 (CH₂), 69.5 (CH₂), 70.0 (CH₂), 70.1 (CH₂), 70.2 (CH₂), 70.6 (CH₂), 74.6 (CH(₂)), 76.0 (CH(₅)), 79.7 (C(₆)), 113.7 (CH_{ar}), 126.1 (C_{ar}), 136.9 (CH_{ar}), 159.7 (C_{ar}), 171.2 (CO), 173.6 (CO), 173.8 (CO).

HRMS (ESI): Calculated for C₄₆H₈₀N₄O₁₁SiNa [M+Na]⁺ 915.5485 found 915.5473.

Triethyl 2,2',2''-(10-(3-((4-(di-tert-butylsilyl)phenoxy)methyl)-1-(1-(3-(5-(2-oxo hexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)-2, 5,8,11-tetraoxatridecan-13-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)tri acetate :



143

C₅₉H₁₀₂N₁₀O₁₃SSi

MW = 1219.65 g/mol

Method A and B (cf p142) were used for the synthesis of **143**.

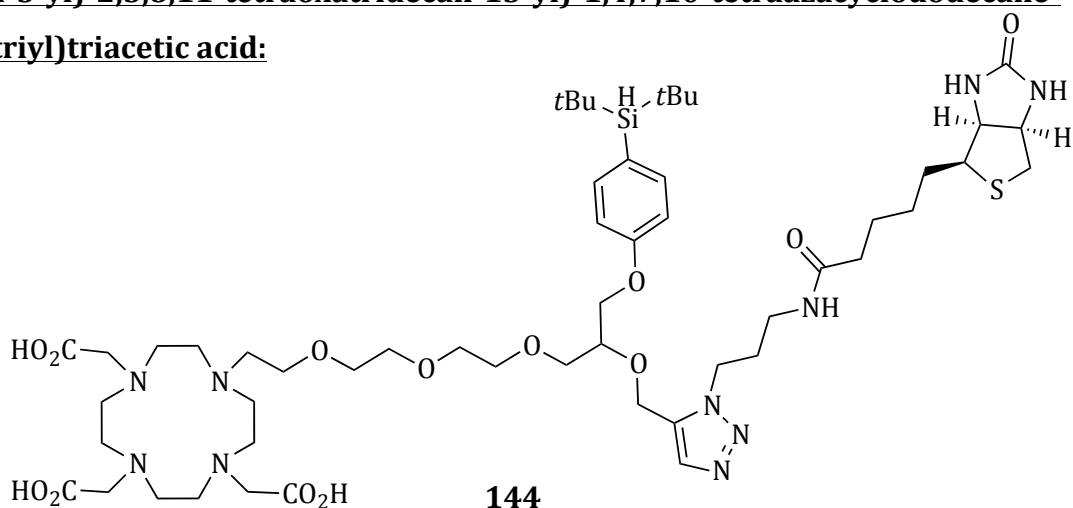
Cp**Ru*Cl(COD) (5 mg, 0.12 mmol, 0.1 eq) was used with biotin-azide (41 mg, 0.125 mmol, 1 eq) and DO3A **145** (112 mg, 0.125 mmol, 1 eq) in dry DMF (1 mL). The crude was chromatographed on silica gel (DCM to DCM/MeOH 90/10 v/v) to afford compound **143** as yellow foam (47% method A, 52% method B).

¹H NMR (300 MHz, MeOD), δ_{ppm}: 0.88 (m, 2H), 1.04 (s, 18H), 1.25-1.91 (m, 19H), 2.04-3.08 (m, 20H), 3.18-3.76 (m, 24H), 3.85 (s, 1H), 4.14-4.48 (m, 7H), 4.48 (m, 2H), 4.92 (s, 1H), 6.95 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.72 (s, 1H).

¹³C NMR (75MHz, MeOD), δ_{ppm}: 13.3, 18.4, 22.3, 24.9, 25.4, 28.1, 28.4, 29.1, 29.3, 31.7, 35.4, 36.3, 39.7, 46.1, 49.7, 50.3, 50.4, 52.2, 53.5, 54.7, 55.1, 55.6, 59.6, 60.2, 61.0, 61.9, 67.2, 67.5, 69.6, 70.0, 70.1, 70.4, 70.5, 77.0, 113.7, 126.3, 133.3, 134.4, 137.0, 159.6, 164.6, 173.6, 173.8, 174.1, 174.6.

MS (ESI): 1219.7 [M+H]⁺, 1241.7 [M+Na]⁺ (Observed).

2,2',2''-(10-(3-((4-(di-*tert*-butylsilyl)phenoxy)methyl)-1-(1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)-2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetic acid:



144

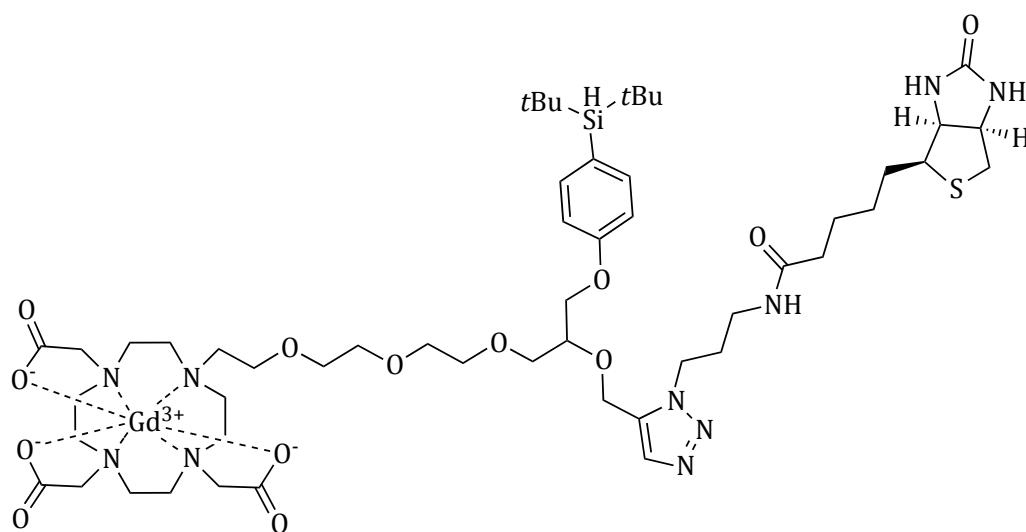
C₅₃H₉₀N₁₀O₁₃SSi

MW = 1135.49 g/mol

NaOH 1 M (1 mL) was added to a solution of compound **143** (80 mg, 0.65 mmol, 1 eq) in THF (1 mL). After stirring for 48 h at room temperature, the reaction mixture was evaporated under reduced pressure and purified onto a C₁₈ Sep-Pak cartridge (washed with water and elution with acetonitrile). After lyophilization, 53 mg of deprotected compound **144** was obtained (74 mg, 100%).

Maldi-TOF: 1132.9 [M-H]⁻, 1154.8 [M+Na-2H]⁻, 1170.8 [M+K-2H]⁻ (Observed).

Gadolinium complex of 2,2',2''-(10-(3-(4-(di-*tert*-butylsilyl)phenoxy)methyl)-1-(1-(3-(5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)-2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-yl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate:



145

C₅₃H₈₇GdN₁₀O₁₃SSi

MW = 1289.72 g/mol

Gadolinium chloride anhydrous (14 mg, 0.053 mmol, 1.2 eq) was added to a solution of compound **144** (50 mg, 0.044 mmol, 1 eq) in water (1 mL). The mixture was stirred at 60°C for 48 h and the pH was periodically adjusted to 6.5-7 with a solution of NaOH 1 M and HCl 0.1 M. The reaction was cooled down to room temperature and purified through a column of chelex-100 to trap free Gd³⁺. After lyophilization, 54 mg of compound **145** (95%) was obtained as a white solid.

Maldi-TOF: 1290.3 [M+H]⁺, 1312.3 [M+Na]⁺ (Observed).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 P. Caravan, *Chem. Soc. Rev.*, 2006, **35**, 512-523.
- 2 N. Bloembergen, *Phys. Rev.*, 1956, **104**, 1542-1547.
- 3 I. Solomon, *Phys. Rev.*, 1955, **99**, 559-565.
- 4 N. Bloembergen, *J. Chem. Phys.*, 1957, **27**, 572-573.
- 5 N. Bloembergen and L. O. Morgan, *J. Chem. Phys.*, 1961, **34**, 842-850.
- 6 I. Solomon and N. Bloembergen, *J. Chem. Phys.*, 1956, **25**, 261-266.
- 7 E. Terreno, D. D. Castelli, A. Viale and S. Aime, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 3019-3042.
- 8 H. Stetter and W. Frank, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1976, **15**, 686-686.
- 9 M. Magerstädt, O. A. Gansow, M. W. Brechbiel, D. Colcher, L. Baltzer, R. H. Knop, M. E. Girton and M. Naegele, *Magn. Reson. Med.*, 1986, **3**, 808-812.
- 10 H. Weinmann, R. Brasch, W. Press and G. Wesbey, *Am. J. Roentgenol.*, 1984, **142**, 619-624.
- 11 M. Van Wagoner, M. O'Toole and S. C. Quay, *Invest. Radiol.*, 1990, **25 Suppl 1**, S39-41.
- 12 R. Grossman, M. J. Kuhn, K. Maravilla, D. Lee, H. Schild, R. Ethier, M. Reiser, W. T. Yuh and A. Y. Olukotun, *Acad. Radiol.*, 1998, **5 Suppl 1**, S154-155; discussion S156.
- 13 V. M. Runge, B. Dean, C. Lee, F. Carolan and G. Heard, *J. Magn. Reson. Imaging JMRI*, 1991, **1**, 47-56.
- 14 K. Adzamlı, M. P. Periasamy, M. Spiller and S. H. Koenig, *Invest. Radiol.*, 1999, **34**, 410-414.
- 15 H. Vogler, J. Platzek, G. Schuhmann-Giampieri, T. Frenzel, H. J. Weinmann, B. Radüchel and W. R. Press, *Eur. J. Radiol.*, 1995, **21**, 1-10.
- 16 B. Tombach and W. Heindel, *Eur. Radiol.*, 2002, **12**, 1550-1556.
- 17 P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry and R. B. Lauffer, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2293-2352.
- 18 P. Hermann, J. Kotek, V. Kubíček and I. Lukeš, *Dalton Trans.*, 2008, 3027-3047.
- 19 E. J. Werner, A. Datta, C. J. Jocher and K. N. Raymond, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 8568-8580.
- 20 L. Lattuada, A. Barge, G. Cravotto, G. B. Giovenzana and L. Tei, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 3019-3049.
- 21 G. J. Stasiuk and N. J. Long, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 2732-2746.
- 22 C. F. G. C. Geraldés and S. Laurent, *Contrast Media Mol. Imaging*, 2009, **4**, 1-23.
- 23 E. A. Sadowski, L. K. Bennett, M. R. Chan, A. L. Wentland, A. L. Garrett, R. W. Garrett and A. Djamali, *Radiology*, 2007, **243**, 148-157.
- 24 D. Artemov, *J. Cell. Biochem.*, 2003, **90**, 518-524.
- 25 S. M. Vithanarachchi and M. J. Allen, *Curr. Mol. Imaging*, 2012, **1**, 12-25.
- 26 S. Aime, S. G. Crich, M. Botta, G. Giovenzana, G. Palmisano and M. Sisti, *Chem. Commun.*, 1999, 1577-1578.
- 27 M. M. Ali, M. Woods, P. Caravan, A. C. L. Opina, M. Spiller, J. C. Fettinger and A. D. Sherry, *Chem. - Eur. J.*, 2008, **14**, 7250-7258.
- 28 R. Hovland, C. Gløgaard, A. J. Aasen and J. Klaveness, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 2001, 929-933.
- 29 S. Okada, S. Mizukami and K. Kikuchi, *Bioorg. Med. Chem.*, 2012, **20**, 769-774.
- 30 W. Li, S. E. Fraser and T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 1413-1414.
- 31 J. L. Major, R. M. Boiteau and T. J. Meade, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 10788-10795.

- 32 J. A. Duimstra, F. J. Femia and T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 12847–12855.
- 33 A. L. Nivorozhkin, A. F. Kolodziej, P. Caravan, M. T. Greenfield, R. B. Lauffer and T. J. McMurry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 2903–2906.
- 34 M. Giardiello, M. P. Lowe and M. Botta, *Chem. Commun.*, 2007, 4044–4046.
- 35 C. Nanni, S. Fanti and D. Rubello, *J. Nucl. Med.*, 2007, **48**, 1577–1579.
- 36 M. Pretze, Wängler, C. and Wängler B., *BioMed Res. Int.*, 2014, **2014**, Article ID 674063.
- 37 T. R. DeGrado, R. E. Coleman, S. Wang, S. W. Baldwin, M. D. Orr, C. N. Robertson, T. J. Polascik and D. T. Price, *Cancer Res.*, 2000, **61**, 110–117.
- 38 The MICAD Research Team (Nom), *Mol. Imaging Contrast Agent Database*.
- 39 L. B. Been, A. J. H. Suurmeijer, D. C. P. Cobben, P. L. Jager, H. J. Hoekstra and P. H. Elsinga, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2004, **31**, 1659–1672.
- 40 L. Sundararajan, H. M. Linden, J. M. Link, K. A. Krohn and D. A. Mankoff, *Semin. Nucl. Med.*, 2007, **37**, 470–476.
- 41 D. O. Kiesewetter, M. R. Kilbourn, S. W. Landvatter, D. F. Heiman, J. A. Katzenellenbogen and M. J. Welch, *J. Nucl. Med.*, 1984, **25**, 1212–1221.
- 42 K. J. Yagle, J. F. Eary, J. F. Tait, J. R. Grierson, J. M. Link, B. Lewellen, D. F. Gibson and K. A. Krohn, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.*, 2005, **46**, 658–666.
- 43 J. Culver, W. Akers and S. Achilefu, *J. Nucl. Med.*, 2008, **49**, 169–172.
- 44 V. Ntziachristos, J. Ripoll, L. V. Wang and R. Weissleder, *Nat. Biotechnol.*, 2005, **23**, 313–320.
- 45 G. D. Luker and K. E. Luker, *J. Nucl. Med.*, 2007, **49**, 1–4.
- 46 K. Licha and C. Olbrich, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2005, **57**, 1087–1108.
- 47 S. Achilefu, *Technol. Cancer Res. Treat.*, 2004, **3**, 393–409.
- 48 H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. L. Choyke and Y. Urano, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 2620–2640.
- 49 L. E. Jennings and N. J. Long, *Chem. Commun.*, 2009, 3511–3524.
- 50 L. Frullano and T. J. Meade, *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.*, 2007, **12**, 939–949.
- 51 C. S. Bonnet and É. Tóth, *Comptes Rendus Chim.*, 2010, **13**, 700–714.
- 52 C. Tu and A. Y. Louie, *Chem. Commun.*, 2007, 1331–1333.
- 53 P. Verwilst, S. Park, B. Yoon and J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.*, 2015, **44**, 1791–1806.
- 54 M. M. Hüber, A. B. Staubli, K. Kustedjo, M. H. B. Gray, J. Shih, S. E. Fraser, R. E. Jacobs and T. J. Meade, *Bioconjug. Chem.*, 1998, **9**, 242–249.
- 55 A. Mishra, J. Pfeuffer, R. Mishra, J. Engelmann, A. K. Mishra, K. Ugurbil and N. K. Logothetis, *Bioconjug. Chem.*, 2006, **17**, 773–780.
- 56 T. Koullourou, L. S. Natrajan, H. Bhavsar, Pope, J. Feng, J. Narvainen, R. Shaw, E. Scales, R. Kauppinen, A. M. Kenwright and S. Faulkner, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 2178–2179.
- 57 S. M. Vithanarachchi and M. J. Allen, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 4148–4150.
- 58 A. F. Martins, J.-F. Morfin, A. Kubíčková, V. Kubíček, F. Buron, F. Suzenet, M. Salerno, A. N. Lazar, C. Duyckaerts, N. Arlicot, D. Guilloteau, C. F. G. C. Geraldès and É. Tóth, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2013, **4**, 436–440.
- 59 A. F. Martins, J.-F. Morfin, C. F. G. C. Geraldès and É. Tóth, *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.*, 2013, **19**, 281–295.
- 60 L. Frullano, C. Wang, R. H. Miller and Y. Wang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 1611–1613.
- 61 L. Frullano, J. Zhu, C. Wang, C. Wu, R. H. Miller and Y. Wang, *J. Med. Chem.*, 2012, **55**, 94–105.

- 62 S. G. Crich, L. Biancone, V. Cantaluppi, D. Duò, G. Esposito, S. Russo, G. Camussi and S. Aime, *Magn. Reson. Med.*, 2004, **51**, 938–944.
- 63 H. C. Manning, T. Goebel, R. C. Thompson, R. R. Price, H. Lee and D. J. Bornhop, *Bioconjug. Chem.*, 2004, **15**, 1488–1495.
- 64 J. M. Griffin, A. M. Skwierawska, H. C. Manning, J. N. Marx and D. J. Bornhop, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 3823–3825.
- 65 D. Gerion, J. Herberg, R. Bok, E. Gjersing, E. Ramon, R. Maxwell, J. Kurhanewicz, T. F. Budinger, J. W. Gray, M. A. Shuman and F. F. Chen, *J. Phys. Chem. C*, 2007, **111**, 12542–12551.
- 66 G. J. Stasiuk, S. Tamang, D. Imbert, C. Poillot, M. Giardiello, C. Tisseyre, E. L. Barbier, P. H. Fries, M. de Waard, P. Reiss and M. Mazzanti, *ACS Nano*, 2011, **5**, 8193–8201.
- 67 G. J. Stasiuk, S. Tamang, D. Imbert, C. Gateau, P. Reiss, P. Fries and M. Mazzanti, *Dalton Trans.*, 2013, **42**, 8197–8200.
- 68 L. Josephson, M. F. Kircher, U. Mahmood, Y. Tang and R. Weissleder, *Bioconjug. Chem.*, 2002, **13**, 554–560.
- 69 O. Veiseh, C. Sun, J. Gunn, N. Kohler, P. Gabikian, D. Lee, N. Bhattarai, R. Ellenbogen, R. Sze, A. Hallahan, J. Olson and M. Zhang, *Nano Lett.*, 2005, **5**, 1003–1008.
- 70 P. Wunderbaldinger, L. Josephson and R. Weissleder, *Bioconjug. Chem.*, 2002, **13**, 264–268.
- 71 A. M. Koch, F. Reynolds, M. F. Kircher, H. P. Merkle, R. Weissleder and L. Josephson, *Bioconjug. Chem.*, 2003, **14**, 1115–1121.
- 72 S. K. Pandey, A. L. Gryshuk, M. Sajjad, X. Zheng, Y. Chen, M. M. Abouzeid, J. Morgan, I. Charamisinau, H. A. Nabi, A. Oseroff and R. K. Pandey, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 6286–6295.
- 73 C. Bernhard, C. Goze, Y. Rousselin and F. Denat, *Chem. Commun.*, 2009, **46**, 8267–8269.
- 74 C. Bernhard, M. Moreau, D. Lhenry, C. Goze, F. Boschetti, Y. Rousselin, F. Brunotte and F. Denat, *Chem. - Eur. J.*, 2012, **18**, 7834–7841.
- 75 T. W. Hudnall, T.-P. Lin and F. P. Gabbaï, *J. Fluor. Chem.*, 2010, **131**, 1182–1186.
- 76 Z. Li, T.-P. Lin, S. Liu, C.-W. Huang, T. W. Hudnall, F. P. Gabbaï and P. S. Conti, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 9324–9326.
- 77 J. A. Hendricks, E. J. Keliher, D. Wan, S. A. Hilderbrand, R. Weissleder and R. Mazitschek, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, **51**, 4603–4606.
- 78 B. Brizet, V. Goncalves, C. Bernhard, P. D. Harvey, F. Denat and C. Goze, *Chem. - Eur. J.*, 2014, **20**, 12933–12944.
- 79 W. B. Edwards, B. Xu, W. Akers, P. P. Cheney, K. Liang, B. E. Rogers, C. J. Anderson and S. Achilefu, *Bioconjug. Chem.*, 2008, **19**, 192–200.
- 80 M. V. Backer, Z. Levashova, V. Patel, B. T. Jehning, K. Claffey, F. G. Blankenberg and J. M. Backer, *Nat. Med.*, 2007, **13**, 504–509.
- 81 R. Uppal, K. L. Ciesienski, D. B. Chonde, G. S. Loving and P. Caravan, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 10799–10802.
- 82 K. A. Stephenson, S. R. Banerjee, T. Besanger, O. O. Sogbein, M. K. Levadala, N. McFarlane, J. A. Lemon, D. R. Boreham, K. P. Maresca, J. D. Brennan, J. W. Babich, J. Zubieta and J. F. Valliant, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 8598–8599.
- 83 C. Spagnul, R. Alberto, G. Gasser, S. Ferrari, V. Pierroz, A. Bergamo, T. Gianferrara and E. Alessio, *J. Inorg. Biochem.*, 2013, **122**, 57–65.
- 84 T. S. Pitchumony, L. Banevicius, N. Janzen, J. Zubieta and J. F. Valliant, *Inorg. Chem.*, 2013, **52**, 13521–13528.

- 85 J. K. Bordoloi, D. Berry, I. U. Khan, K. Sunassee, R. T. M. de Rosales, C. Shanahan and P. J. Blower, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 4963–4975.
- 86 A. Boulay, M. Artigau, Y. Coulais, C. Picard, B. Mestre-Voegtli and E. Benoist, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 6206–6209.
- 87 W. Cai, K. Chen, Z.-B. Li, S. S. Gambhir and X. Chen, *J. Nucl. Med.*, 2007, **48**, 1862–1870.
- 88 F. Ducongé, T. Pons, C. Pestourie, L. Hérim, B. Thézé, K. Gombert, B. Mahler, F. Hinnen, B. Kühnast, F. Dollé, B. Dubertret and B. Tavitian, *Bioconjug. Chem.*, 2008, **19**, 1921–1926.
- 89 N. E. Bolus, R. George, J. Washington and B. R. Newcomer, *J. Nucl. Med. Technol.*, 2009, **37**, 63–71.
- 90 B. J. Pichler, M. S. Judenhofer and C. Pfannenberger, in *Molecular Imaging I*, eds. W. Semmler and M. Schwaiger, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2008, vol. 185/1, pp. 109–132.
- 91 R. T. M. de Rosales, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 2014, **57**, 298–303.
- 92 E. Gianolio, L. Maciocco, D. Imperio, G. B. Giovenzana, F. Simonelli, K. Abbas, G. Bisi and S. Aime, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 1539–1541.
- 93 L. Frullano, C. Catana, T. Benner, A. D. Sherry and P. Caravan, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, **49**, 2382–2384.
- 94 S. Zhang, K. Wu and A. D. Sherry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999, **38**, 3192–3194.
- 95 M. Suchý and R. H. E. Hudson, *Eur. J. Org. Chem.*, 2008, **2008**, 4847–4865.
- 96 M. Suchý, R. Bartha and R. H. E. Hudson, *RSC Adv.*, 2013, **3**, 3249–3259.
- 97 N. Vologdin, G. A. Rolla, M. Botta and L. Tei, *Org. Biomol. Chem.*, 2013, **11**, 1683–1690.
- 98 J. Notni, P. Hermann, I. Dregely and H.-J. Wester, *Chem. - Eur. J.*, 2013, **19**, 12602–12606.
- 99 C. P. Gros, A. Eggenpiller, A. Nonat, J.-M. Barbe and F. Denat, *Med Chem Commun*, 2011, **2**, 119–125.
- 100 A. Eggenpiller, C. Michelin, N. Desbois, P. Richard, J.-M. Barbe, F. Denat, C. Licon, C. Gaidon, A. Sayeh, P. Choquet and C. P. Gros, *Eur. J. Org. Chem.*, 2013, **2013**, 6629–6643.
- 101 J.-A. Park, J. Y. Kim, H.-K. Kim, W. Lee, S. M. Lim, Y. Chang, T.-J. Kim and K. M. Kim, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2012, **3**, 299–302.
- 102 J.-A. Park, J. Y. Kim, Y. J. Lee, W. Lee, S. M. Lim, T.-J. Kim, J. Yoo, Y. Chang and K. M. Kim, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2013, **4**, 216–219.
- 103 R. Hoareau and P. J. H. Scott, *Tetrahedron Lett.*, 2013, 5755–5757.
- 104 H.-Y. Lee, Z. Li, K. Chen, A. R. Hsu, C. Xu, J. Xie, S. Sun and X. Chen, *J. Nucl. Med.*, 2008, **49**, 1371–1379.
- 105 R. Torres Martin de Rosales, R. Tavaré, A. Glaria, G. Varma, A. Protti and P. J. Blower, *Bioconjug. Chem.*, 2011, **22**, 455–465.
- 106 R. Torres Martin de Rosales, R. Tavaré, R. L. Paul, M. Jauregui-Osoro, A. Protti, A. Glaria, G. Varma, I. Szanda and P. J. Blower, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, **50**, 5509–5513.
- 107 S. Liu, *Bioconjug. Chem.*, 2009, **20**, 2199–2213.
- 108 H. C. Kolb, M. G. Finn and K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, 2001, **40**, 2004–2021.
- 109 V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin and K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 2596–2599.
- 110 C. W. Tornøe, C. Christensen and M. Meldal, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 3057–3064.
- 111 M. Meldal and C. W. Tornøe, *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 2952–3015.

- 112 D. S. Pedersen and A. Abell, *Eur. J. Org. Chem.*, 2011, **2011**, 2399–2411.
- 113 H. C. Kolb and K. B. Sharpless, *Drug Discov. Today*, 2003, **8**, 1128–1137.
- 114 G. Sabatino, M. Chinol, G. Paganelli, S. Papi, M. Chelli, G. Leone, A. M. Papini, A. De Luca and M. Ginanneschi, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 3170–3173.
- 115 M. A. King, P. M. Louis, B. E. Hunter and D. W. Walker, *Brain Res.*, 1989, **497**, 361–367.
- 116 A. Mishra, A. Schüz, J. Engelmann, M. Beyerlein, N. K. Logothetis and S. Canals, *ACS Chem. Neurosci.*, 2011, **2**, 578–587.
- 117 Ge Healthcare AS, WO/2006/112723, 2006.
- 118 D. J. Mastarone, V. S. R. Harrison, A. L. Eckermann, G. Parigi, C. Luchinat and T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 5329–5337.
- 119 M. Wilchek and E. A. Bayer, Eds., *Avidin-biotin technology*, Academic Press, San Diego, Calif., 1990.
- 120 F. Landi, C. M. Johansson, D. J. Campopiano and A. N. Hulme, *Org. Biomol. Chem.*, 2010, **8**, 56–59.
- 121 J. K. Uppal, R. Varshney, P. P. Hazari, K. Chuttani, N. K. Kaushik and A. K. Mishra, *J. Drug Target.*, 2011, **19**, 418–426.
- 122 R. F. H. Viguier and A. N. Hulme, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 11370–11371.
- 123 M. Jauregui, W. S. Perry, C. Allain, L. R. Vidler, M. C. Willis, A. M. Kenwright, J. S. Snaith, G. J. Stasiuk, M. P. Lowe and S. Faulkner, *Dalton Trans.*, 2009, 6283–6285.
- 124 J. K. Molloy, O. Kotova, R. D. Peacock and T. Gunnlaugsson, *Org. Biomol. Chem.*, 2012, **10**, 314–322.
- 125 M. K. Schultz, S. G. Parameswarappa and F. C. Pigge, *Org. Lett.*, 2010, **12**, 2398–2401.
- 126 M. E. Martin, S. G. Parameswarappa, M. S. O'Dorisio, F. C. Pigge and M. K. Schultz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 4805–4807.
- 127 N. J. Agard, J. A. Prescher and C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 15046–15047.
- 128 D. T. S. Rijkers, R. Merckx, C.-B. Yim, A. J. Brouwer and R. M. J. Liskamp, *J. Pept. Sci.*, 2010, **16**, 1–5.
- 129 C.-B. Yim, O. C. Boerman, M. de Visser, M. de Jong, A. C. Dechesne, D. T. S. Rijkers and R. M. J. Liskamp, *Bioconjug. Chem.*, 2009, **20**, 1323–1331.
- 130 N. Shangguan, S. Katukojvala, R. Greenberg and L. J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 7754–7755.
- 131 K. N. Barlett, R. V. Kolakowski, S. Katukojvala and L. J. Williams, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 823–826.
- 132 R. V. Kolakowski, N. Shangguan, R. R. Sauers and L. J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 5695–5702.
- 133 V. Algay, I. Singh and F. Heaney, *Org. Biomol. Chem.*, 2009, **8**, 391–397.
- 134 P. L. van der Peet, T. U. Connell, C. Gunawan, J. M. White, P. S. Donnelly and S. J. Williams, *J. Org. Chem.*, 2013, **78**, 7298–7304.
- 135 S. C. Bottorff, B. B. Kasten, J. Stojakovic, A. L. Moore, L. R. MacGillivray and P. D. Benny, *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 1943–1945.
- 136 B. C. Boren, S. Narayan, L. K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia and V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 8923–8930.
- 137 L. K. Rasmussen, B. C. Boren and V. V. Fokin, *Org. Lett.*, 2007, **9**, 5337–5339.
- 138 L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin and G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 15998–15999.
- 139 I. K. Wilson, S. Chatterjee and W. Wolf, *J. Fluor. Chem.*, 1991, **55**, 283–289.

- 140 D. James, J.-M. Escudier, E. Amigues, J. Schulz, C. Vitry, T. Bordenave, M. Szlosek-Pinaud and E. Fouquet, *Tetrahedron Lett.*, 2010, **51**, 1230–1232.
- 141 J. Guo, N. Xu, Z. Li, S. Zhang, J. Wu, D. H. Kim, M. Sano Marma, Q. Meng, H. Cao, X. Li, S. Shi, L. Yu, S. Kalachikov, J. J. Russo, N. J. Turro and J. Ju, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2008, **105**, 9145–9150.
- 142 E. D. Goddard-Borger and R. V. Stick, *Org. Lett.*, 2007, **9**, 3797–3800.
- 143 E. F. Plow, T. A. Haas, L. Zhang, J. Loftus and J. W. Smith, *J. Biol. Chem.*, 2000, **275**, 21785–21788.
- 144 M. Schottelius, B. Laufer, H. Kessler and H.-J. Wester, *Acc. Chem. Res.*, 2009, **42**, 969–980.
- 145 R. Haubner, B. Kuhnast, C. Mang, W. A. Weber, H. Kessler, H.-J. Wester and M. Schwaiger, *Bioconjug. Chem.*, 2004, **15**, 61–69.
- 146 E. Amigues, J. Schulz, M. Szlosek-Pinaud, P. Fernandez, S. Silvente-Poirot, S. Brillouet, F. Courbon and E. Fouquet, *ChemPlusChem*, 2012, **77**, 345–349.
- 147 P. Banerjee, M. Mehta and B. Kanjilal, in *Serotonin Receptors in Neurobiology*, ed. A. Chattopadhyay, CRC Press, Boca Raton (FL), 2007.
- 148 M. Karramkam, F. Hinnen, M. Berrehouma, C. Hlavacek, F. Vaufrey, C. Halldin, J. A. McCarron, V. W. Pike and F. Dollé, *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, **11**, 2769–2782.
- 149 P. P. Hazari, J. Schulz, D. Vimont, N. Chadha, M. Allard, M. Szlosek-Pinaud, E. Fouquet and A. K. Mishra, *ChemMedChem*, 2014, **9**, 337–349.
- 150 A. S. Thompson, G. R. Humphrey, A. M. DeMarco, D. J. Mathre and E. J. J. Grabowski, *J. Org. Chem.*, 1993, **58**, 5886–5888.
- 151 B. Lal, B. N. Pramanik, M. S. Manhas and A. K. Bose, *Tetrahedron Lett.*, 1977, **18**, 1977–1980.
- 152 M. Rohrer, H. Bauer, J. Mintorovitch, M. Requardt and H.-J. Weinmann, *Invest. Radiol.*, 2005, **40**, 715–724.
- 153 Y. Yoshida, Y. Sakakura, N. Aso, S. Okada and Y. Tanabe, *Tetrahedron*, 1999, **55**, 2183–2192.
- 154 D. Maffeo and J. A. G. Williams, *Inorganica Chim. Acta*, 2003, **355**, 127–136.
- 155 H. C. Aspinall, N. Greeves, W.-M. Lee, E. G. McIver and P. M. Smith, *Tetrahedron Lett.*, 1997, **38**, 4679–4682.
- 156 L. Cai, S. Lu and V. W. Pike, *Eur. J. Org. Chem.*, 2008, **2008**, 2853–2873.
- 157 A. Höhne, L. Mu, M. Honer, P. A. Schubiger, S. M. Ametamey, K. Graham, T. Stellfeld, S. Borkowski, D. Berndorff, U. Klar, U. Voigtmann, J. E. Cyr, M. Friebe, L. Dinkelborg and A. Srinivasan, *Bioconjug. Chem.*, 2008, **19**, 1871–1879.
- 158 J. Schulz, D. Vimont, T. Bordenave, D. James, J.-M. Escudier, M. Allard, M. Szlosek-Pinaud and E. Fouquet, *Chem. - Eur. J.*, 2011, **17**, 3096–3100.
- 159 N. S. Marans, L. H. Sommer and F. C. Whitmore, *J. Am. Chem. Soc.*, 1951, **73**, 5127–5130.
- 160 A. Höhne, L. Yu, L. Mu, M. Reiher, U. Voigtmann, U. Klar, K. Graham, P. A. Schubiger and S. M. Ametamey, *Chem. - Eur. J.*, 2009, **15**, 3736–3743.
- 161 F. Radner and L.-G. Wistrand, *Tetrahedron Lett.*, 1995, **36**, 5093–5094.
- 162 K. Utimoto, Y. Otake, H. Yoshino, E. Kuwahara, K. Oshima and S. Matsubara, *BCS.J.*, 2001, **74**, 753–754.

Synthèse de traceurs bimodaux utilisables en imagerie médicale TEP/IRM

Résumé : Aujourd'hui les médecins disposent de nombreuses techniques d'imagerie médicale afin d'établir des diagnostics précis et précoces. Cependant chacune de ces techniques possède ses propres avantages et inconvénients. C'est pourquoi, l'utilisation de méthodes bi- ou multi-modales paraît intéressante. Parmi celles-ci, la combinaison TEP/IRM permet d'apporter des informations complémentaires. Il est alors nécessaire d'injecter aux patients un traceur adapté à chacune de ces modalités. Ce travail de thèse a donc consisté à synthétiser des plateformes moléculaires « universelles » utilisables pour l'imagerie IRM et TEP selon 2 stratégies. La première a consisté en la synthèse d'une molécule composée d'un macrocycle de type DO3A permettant à la fois la chélation d'un atome de gadolinium pour l'IRM mais aussi d'un atome de gallium 68 pour la TEP. L'idée étant, afin d'avoir une sonde bimodale, de réaliser un mélange des deux composés. La seconde stratégie a été de synthétiser une unique molécule pouvant être marquée à la fois par du gadolinium pour l'IRM et par un atome de fluor 18 pour la TEP. Afin de pouvoir cibler un phénomène physiopathologique donné, l'idée de ces plateformes est de pouvoir introduire de manière simple et versatile une biomolécule. La chimie « click » semble être une méthode particulièrement attractive pour pouvoir réaliser cet objectif. Cependant, cette réaction, habituellement catalysée au cuivre est difficilement applicable sur ce genre de plateforme du fait de l'affinité du cuivre pour le macrocycle DO3A. Ce problème a donc été contourné par utilisation de la réaction de chimie « click » catalysée par des complexes de ruthénium afin d'avoir accès aux deux plateformes macrocycliques.

Mots clés : Traceurs bimodaux, IRM, TEP, DOTA, gadolinium, gallium 68, fluor 18, chimie « click » catalysée au ruthénium.

Bimodal tracers synthesis for medical imaging PET/MRI

Abstract : Today physicians can use a wide variety of medical imaging techniques to establish early and accurate diagnosis. Nevertheless, each modality has its own advantages and drawbacks. This is why bi- or multimodality approach seems interesting. Among them, PET/MRI combination seems very promising because it can bring complementary informations. It is therefore necessary to inject to patients tracers specific to each imaging modality. This work described the synthesis of molecular platforms for MRI and PET imaging, according to 2 different strategies. The first one consisted in the synthesis of a DO3A macrocycle allowing the chelation of both gadolinium for MRI and gallium 68 for PET. The aim here is to have a bimodal probe, with a mixture of each compound. The second strategy was the preparation of a single molecule that can be simultaneously labeled by both gadolinium for MRI and fluorine 18 for PET. The final goal is to introduce onto these platforms a biomolecule in a versatile and easy way, to be able to target a specific pathophysiological process. "Click" chemistry seems to be an attractive methodology to achieve this goal. However, this reaction, usually catalyzed with copper is not suitable to DO3A macrocycles due to the copper affinity with those azamacrocycles. This issue has been circumvented by the use of ruthenium catalyzed "click" chemistry. We were then able to access to both macrocycles platforms.

Keywords : Bimodal Tracer, MRI, PET, DO3A, gadolinium, gallium 68, fluorine 18, ruthenium catalyzed « click » chemistry.

Unité de recherche

[INCIA, UMR 5287, 146 rue Léo Sagnat, Bat 2A, 2^{ème} étage, 33076 Bordeaux Cedex]