



HAL
open science

Synthèse de nouveaux radiomarqueurs potentiels de l'hypoxie tumorale : Développement d'une nouvelle méthodologie de fluoration nucléophile et son application vers la synthèse du 2-[¹⁸F]Fluoro-2-désoxy-D-glucose

Yoann Joyard

► **To cite this version:**

Yoann Joyard. Synthèse de nouveaux radiomarqueurs potentiels de l'hypoxie tumorale : Développement d'une nouvelle méthodologie de fluoration nucléophile et son application vers la synthèse du 2-[¹⁸F]Fluoro-2-désoxy-D-glucose. Chimie organique. INSA de Rouen, 2013. Français. NNT : 2013ISAM0018 . tel-01590714

HAL Id: tel-01590714

<https://theses.hal.science/tel-01590714v1>

Submitted on 20 Sep 2017

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.



ECOLE DOCTORALE NORMANDE DE CHIMIE-BIOLOGIE

THESE

Présentée à

L'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN CHIMIE
Spécialité chimie organique

Par

Yoann JOYARD

**Synthèse de nouveaux radiomarqueurs potentiels de l'hypoxie tumorale –
Développement d'une nouvelle méthodologie de fluoration nucléophile et
son application vers la synthèse du 2-[¹⁸F]Fluoro-2-désoxy-D-glucose**

Soutenue publiquement le 17 septembre 2013

Devant le jury composé de

Rapporteurs :

M. Dollé F., Responsable du Laboratoire Chimie et Radiochimie I²BM, CEA Saclay

M. Suzenet F., Maître de Conférences à l'Université d'Orléans

Examineurs :

M. Papamicaël C., Maître de Conférences à l'INSA de Rouen

M. Bischoff L., Professeur à l'Université de Rouen

M. Bohn P., Radiopharmacien au Centre Henri Becquerel à Rouen

M. Deloye J-B., Directeur Général Délégué des Laboratoires Cyclopharma

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Pr. Xavier Pannecoucke, directeur de l'UMR CNRS 6014 COBRA et le Dr. Vincent Levacher, responsable de l'équipe Hétérocyles, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse au sein de leur établissement.

Je tenais à exprimer ma gratitude à mes directeurs de thèse, les Dr. Cyril Papamicaël et Pr. Laurent Bischoff. Je vous remercie d'avoir pensé à moi pour ce sujet de thèse. Merci pour vos conseils, votre soutien et de la confiance que vous m'avez accordée.

Je souhaite vivement remercier les Dr. Pierre Bohn, radiopharmacien, et Pr. Pierre Vera, responsable du service de médecine Nucléaire au Centre Henri Becquerel, sans qui cette thèse n'aurait jamais vu le jour. Pierre B., je te remercie profondément de m'avoir fait découvrir la radiochimie avec toute la passion qui te caractérise. Je remercie tous les préparateurs et personnel administratif du centre de m'avoir si chaleureusement accueilli.

Je remercie également les Dr. Daniel Labar et Pr. Vincent Grégoire de m'avoir si bien accueilli dans leur laboratoire MIRO à l'Université Catholique de Louvain.

Je voudrais également remercier l'ensemble des permanents, techniciens et administratifs de l'étage de nous avoir permis de travailler dans de si bonnes conditions. Un grand merci à TiaTia et Emilie, les reines de l'HPLC pour leur aide précieuse.

Je souhaite remercier tous les doctorants et post-doctorants de l'étage, Ludo, Laurette, Berinoche, J-B, Spitzouille, Gaëlle, Béber, Yvo, Charline, Sigi, Ludo M., les Schneiders, Mia, Grégory, Raphaël, Tony, Alex, Pierrick et Anne-So, Aurélie (qui n'a que 16 ans), Oliver (Angers banlieue nord), Rabah...Vous avez été de merveilleux « collègues ».

Merci à ma famille qui m'a toujours soutenu dans tous mes choix. Enfin je voudrais remercier Laurianne. Personne d'autre que toi n'était aussi bien placé pour me comprendre. Merci d'avoir toujours été là pour moi, dans les bons comme dans les « moins bons » moments, je ne l'oublierai jamais.

Table des matières

| | |
|---|--------------|
| Introduction..... | 2 |
| 1 Introduction Générale | 2 |
| 2 L'imagerie Nucléaire | 4 |
| 2.1. La Tomographie à Émission Monophotonique (TEMP) | 4 |
| 2.2. La Tomographie à Emission de Positons (TEP) | 5 |
| 2.3. TEP vs TEMP | 5 |
| 3 Les Radiopharmaceutiques | 6 |
| Chapitre 1. Synthèse de nouveaux traceurs technétiés potentiels de l'hypoxie tumorale..... | 8 |
| 1 Introduction et étude bibliographique..... | 10 |
| 1.1. L'hypoxie tumorale..... | 10 |
| 1.2. Les méthodes de détection | 10 |
| 1.3. Les radiotraceurs de l'hypoxie tumorale..... | 11 |
| 1.3.1. Les ligands nitroimidazolés | 12 |
| 1.3.2. Les ligands non-nitroimidazolés | 14 |
| 1.4. Projet de thèse | 16 |
| 2 La chimie du technétium..... | 16 |
| 2.1. Historique..... | 16 |
| 2.2. Obtention du technétium..... | 17 |
| 2.3. Structure générale des radiopharmaceutiques technétiés..... | 18 |
| 2.4. Les chélates les plus utilisés | 20 |
| 2.4.1. Le Groupement Hydrazino Nicotinique (HYNIC) | 20 |
| 2.4.2. Les chélates N_xS_{4-x} | 21 |
| 3 Synthèse et étude des ligands nitroimidazolés HYNICs..... | 22 |
| 3.1. Synthèse du Ligand 8 | 23 |
| 3.1.1. Formation de la 2-(2nitroimidazolyl)éthylamine | 24 |
| 3.1.2. Préparation de l'ester activé de l'acide hydrazino nicotinique (HYNIC)..... | 25 |
| 3.1.3. Réaction d'amidation | 26 |
| 3.2. Synthèse du Ligand 15 | 27 |

| | | |
|--------|--|----|
| 3.2.1. | Formation du 1-propargyl-2-nitroimidazole | 27 |
| 3.2.2. | Couplage de Sonogashira avec la 2-chloro-5-iodopyridine..... | 29 |
| 3.2.3. | Addition de l'hydrazine sur la 2-chloro-5-iodopyridine | 30 |
| 3.2.4. | Couplage de Sonogashira et déprotection conduisant au ligand 15 | 31 |
| 3.3. | Radiomarquage des ligands HYNICs | 31 |
| 3.3.1. | Radiomarquage du motif HYNIC | 31 |
| 3.3.2. | Radiomarquage des ligands HYNICs | 33 |
| 4 | Synthèse du ligand tripeptide..... | 36 |
| 4.1. | Synthèse du ligand à base tripeptide..... | 37 |
| 4.1.1. | Rétrosynthèse | 37 |
| 4.1.2. | Couplage du 2-(2nitroimidazol)éthylamine avec la <i>N</i> - α -Fmoc-S-trityl-L-cystéine | 37 |
| 4.1.3. | Formation du dipeptide <i>N,N</i> -(Boc) ₂ -L-Lys-Gly-OH..... | 38 |
| 4.1.4. | Formation du tripeptide Cys-Gly-Lys..... | 39 |
| 4.1.5. | Déprotection du tripeptide | 40 |
| 4.2. | Radiomarquage et propriétés physico-chimiques du ligand | 40 |
| 4.3. | Evaluation biologique du radiotraceur 22 | 44 |
| 4.3.1. | Etude <i>in vitro</i> de fixation sur des cellules hypoxiques | 44 |
| 4.3.2. | Etude de biodistribution..... | 46 |
| 4.3.3. | Images scintigraphiques..... | 47 |
| 5 | Conclusion et perspectives..... | 49 |
| 5.1. | Conclusions..... | 49 |
| 5.2. | Perspectives..... | 50 |

Chapitre 2. Synthèse de dérivés [18F]fluoroorganosilylés pour la détection des tissus hypoxiques 52

| | | |
|--------|--|----|
| 1 | Introduction..... | 54 |
| 1.1. | Le fluor 18, un isotope de choix pour la TEP | 54 |
| 1.1.1. | Caractéristiques physicochimiques du fluor | 54 |
| 1.1.2. | Propriétés Nucléaires et Production..... | 55 |
| 1.2. | Le radiomarquage au fluor 18..... | 56 |
| 1.2.1. | La fluoration électrophile..... | 56 |
| 1.2.2. | La fluoration nucléophile..... | 58 |
| 2 | Nouvelle stratégie de marquage : synthèse de fluorosilanes | 62 |

| | | |
|--------|--|----|
| 3 | Synthèse d'analogues silylés du fluoromisonidazole | 63 |
| 4 | Synthèse, marquage et évaluation de nouveaux analogues silylés du [¹⁸ F]FMISO | 65 |
| 4.1. | Introduction de groupement polaire sur les naphtyles | 65 |
| 4.2. | Introduction d'une liaison amide | 65 |
| 4.2.1. | Introduction des groupements naphtyles et éthoxy | 66 |
| 4.2.2. | Introduction de la fonction amine sur l'alkoxy-(3-chloropropyl)diarylsilane | 67 |
| 4.2.3. | Couplage peptidique de l'amine avec l'acide 2-(2-nitroimidazol)éthanoïque | 67 |
| 4.2.4. | Préparation de l'analogue fluoré non-radioactif 34 | 68 |
| 4.3. | Introduction d'un linker triazole | 69 |
| 4.3.1. | Formation de l'intermédiaire alcyne 36 | 70 |
| 4.3.2. | Couplage par click chemistry et fluoration le l'alkoxysilane 37 | 70 |
| 4.4. | Synthèse de l'analogue SiFA | 71 |
| 4.4.1. | Préparation des acide 41 et ester 43 | 73 |
| 4.5. | Marquage au Fluor-18 des nouveaux analogues silylés | 75 |
| 4.5.1. | Optimisation des conditions opératoires de radiomarquage | 75 |
| 4.5.2. | Stabilités hydrolytiques et plasmatiques des nouveaux analogues silylés du [¹⁸ F]FMISO | 78 |
| 4.5.3. | Evaluation <i>in vivo</i> du traceur SiFA [¹⁸ F] 44a | 79 |
| 5 | Conclusion et perspectives | 82 |
| 5.1. | Conclusions | 82 |
| 5.2. | Perspectives | 82 |

Chapitre 3. Développement d'une nouvelle stratégie de fluoration nucléophile et son application vers une nouvelle synthèse du [¹⁸F]Fluorodésoxyglucose ([¹⁸F]FDG)..... 86

| | | |
|------|--|----|
| 1 | Introduction | 88 |
| 2 | Etude Bibliographique | 89 |
| 2.1. | Réaction par paire d'ions substrat-réactif | 89 |
| 2.2. | Les sulfonates arylés NALG (Nucleophilic Assisted Leaving Group) | 91 |
| 3 | Le Fluorodésoxyglucose, traceur de référence en imagerie TEP. | 93 |
| 3.1. | Propriétés et utilisation | 93 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 3.2. | Préparation du [¹⁸ F]FDG..... | 95 |
| 3.2.1. | Synthèse par voie électrophile | 95 |
| 3.2.2. | Synthèse par voie nucléophile | 96 |
| 4 | Elaboration de nouveaux précurseurs sulfonates du FDG..... | 97 |
| 4.1. | Synthèse par <i>N</i> -alkylation à partir des esters chloroalkylsulfonates..... | 98 |
| 4.1.1. | Préparation du mannose tetraacétate..... | 99 |
| 4.1.2. | Formation des chlorures de chloroalcanesulfonates | 100 |
| 4.1.3. | Formation de l'amine tertiaire par <i>N</i> -alkylation | 101 |
| 4.2. | Couplage du mannose tetraacétate avec des dérivés chlorures dialkylaminoalkylsulfonyles et chlorures trialkylammonioalkylsulfonyles | 101 |
| 4.2.1. | Préparations de sulfobétaines (ammonioalkylsulfonates)..... | 102 |
| 4.2.2. | Chloration des sulfobétaines | 103 |
| 4.2.3. | Préparation des composés amino-soufrés | 104 |
| 4.2.4. | Chloration oxydante des composés amino-soufrés 59 et 61 | 106 |
| 4.2.5. | Préparation d'un précurseur stable du FDG..... | 108 |
| 4.2.6. | Formation d'ester sulfoniques à partir du dérivé 70 | 109 |
| 5 | Synthèse et fluoration d'ester sulfonique du 3-(2-naphthyloxy)propan-1-ol | 111 |
| 5.1. | Synthèse des esters sulfoniques du 3-(2-naphthyloxy)propan-1-ol..... | 111 |
| 5.2. | Etude de fluoration des ester sulfoniques 77-79 | 112 |
| 6 | Conclusion générale et perspectives | 115 |
| 6.1. | Conclusions..... | 115 |
| 6.2. | Perspectives..... | 115 |

Chapitre 4. Utilisation de l'hypochlorite de *tert*-butyle pour la synthèse de dérivés d'acides sulfoniques par déprotection oxydante de thiols..... 120

| | | |
|------|--|-----|
| 1 | Introduction..... | 122 |
| 2 | Synthèse de sulfonamides et d'esters sulfoniques par chloration oxydante de dérivés disulfures | 124 |
| 2.1. | Le choix de l'hypochlorite de <i>tert</i> -butyle | 124 |
| 2.2. | Optimisation des conditions d'oxydation | 125 |
| 3 | Déprotection oxydative de dérivés de thiols..... | 127 |
| 4 | Formation « one-pot » de sulfonamides et d'esters sulfoniques..... | 129 |

| | | |
|---------------------------------|---|------------|
| 4.1. | Séquence « one-pot » incluant une réaction de substitution nucléophile | 129 |
| 4.2. | Séquence “one-pot” incluant une réaction d’addition de Michael..... | 131 |
| 5 | Application au domaine des acides aminés | 132 |
| 5.1. | Déprotection/oxydation de la cystéine..... | 132 |
| 5.2. | Synthèse de dérivés hydrosolubles de l’acide cystéique..... | 134 |
| 6 | Conclusions et perspectives | 136 |
| 6.1. | Conclusions..... | 136 |
| 6.2. | Perspectives..... | 136 |
| Conclusion Générale..... | | 138 |
| Experimental Part..... | | 144 |
| 1 | General methods | 146 |
| 2 | Synthesis of [^{99m} Tc]-ligands for imaging tumor hypoxia | 148 |
| 2.1. | Synthesis of 6-hydrazinyl- <i>N</i> -(2-(2-nitroimidazolyl)ethyl)nicotinamide 8..... | 148 |
| 2.2. | Synthesis of compound 15 | 153 |
| 2.3. | Radiolabelling of HYNIC compounds..... | 157 |
| 2.4. | Synthesis of tripeptide chelate Lys-Gly-Cys-(CH ₂) ₂ -2-(nitroimidazole) | 158 |
| 2.5. | Radiolabelling of compound 22 | 163 |
| 3 | Synthesis of silicon based analogues of misonidazole | 164 |
| 3.1. | Synthesis of dinaphtyl compound 34 | 164 |
| 3.2. | Synthesis of dinaphtyl compound 38 | 170 |
| 3.3. | Radiolabelling of compounds 33 and 37 | 172 |
| 3.4. | Synthesis of SiFA compounds 44a and 44b | 173 |
| 4 | Synthesis of new sulfonate leaving groups..... | 180 |
| 4.1. | Preparation of β-D-mannose tetraacetate | 180 |
| 4.2. | Synthesis of chloroalkylsulfonyl chloride derivatives..... | 184 |
| 4.3. | Synthesis of ammonioalkylsulfonyl chlorides and aminoalkylsulfonyl chlorides..... | 185 |
| 4.3.1. | Synthesis of sulfobétaines..... | 185 |
| 4.3.2. | Synthesis of disulfide 61 | 187 |
| 4.3.3. | Coupling reaction with disulfide 61 | 190 |
| 4.3.4. | Synthesis of a new FDG precursor | 191 |
| 4.3.5. | Synthesis of sulfonic esters from alcohol 70 | 194 |

Table des matières

| | | |
|----------------------------|---|------------|
| 4.4. | Synthesis of sulfonic esters of 3-(naphthalen-2-yloxy)propan-1-ol | 195 |
| 4.4.1. | General procedure for fluorination of sulfonics esters | 199 |
| 5 | General procedures for oxidative chlorination using <i>t</i> -BuOCl | 199 |
| 5.1. | General procedure A for preparation of sulfonamides from disulfides | 199 |
| 5.2. | General procedure B for preparation of sulfonylesters from disulfides | 200 |
| 5.3. | General procedure C for one-pot reaction from halogeno derivatives. | 200 |
| Bibliographie | | 214 |

Glossaire des abréviations

| | |
|------------------------|--|
| ACN | Acétonitrile |
| ADN | Acide DésoxyriboNucléique |
| BATO | Boronic Acid Tri Oxime |
| CCM | Chromatographie sur Couche Mince |
| Cys | Cystéine |
| DBU | 1,8-diazibicycloundec-7-ène |
| DCHA | Dicyclohexylammonium |
| DCM | Dichlorométhane |
| DCC | <i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimide |
| DIEA | Disopropyléthylamine |
| DMF | Diméthylformamide |
| DPPA | Azoture de diphénylphosphoryle |
| EDCI | 1-Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide |
| EDDA | Ethylène diamine diacétique acide |
| FDG | 2-Fluoro-2-désoxy-D-glucose |
| FDM | 2-Fluoro-2-désoxy-D-mannose |
| FDOPA | FluoroDopa |
| FMISO | Fluoromisonidazole |
| Fmoc | Fluorènylméthylloxycarbonyle |
| Gly | Glycine |
| HBTU | Hexafluorophosphate de O-benzotriazole tetraméthyl-uronium |
| HIF | Hypoxia-Inducible Factor |
| HYNIC | Acide Hydrazino Nicotinique |
| K 2.2.2 ene | Kryptofix 5,6-Benzo-4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacos-5- |
| Lys | Lysine |
| CLHP | Chromatographie Liquide Haute Performance |
| CL-SM | Chromatographie Liquide – Spectrométrie de Masse |
| MAG₃ | Mercaptoacétyl triglycine |
| NCS | <i>N</i> -chlorosuccinimide |
| NHS | <i>N</i> -hydroxysuccinimide |
| NIM | Nitroimidazole |
| PCC | Chlorochromate de pyridinium |
| PE | Pétroléum éther |

Glossaire des abréviations

| | |
|-----------------------|---|
| PheAla | Phénylalanine |
| pO₂ | Pression partielle en oxygène |
| RCY | Rendement Radiochimique (Radiochemical Yield) |
| RMN | Résonance magnétique nucléaire |
| SFB | 4-Fluorobenzoate de <i>N</i> -Succinimide |
| SiFA | Silicon Fluoride Acceptor |
| SPPS | Synthèse Peptidique sur Support Solide |
| Succ | Succinimique |
| <i>t</i>-Boc | <i>tert</i> -Butoxycarbonyle |
| <i>t</i>-Bu | <i>tert</i> -Butyle |
| T3P | Anhydride propylphosphonique |
| TBSCI | Chlorure de <i>tert</i> -butyldiméthylsilyle |
| TEMP | Tomographie par émission monophotonique |
| TEP | Tomographie à émission de positons |
| TES | Triéthylsilane |
| TFA | Acide trifluoroacétique |
| THF | Tétrahydrofurane |
| Trt | Trityle |
| UV | Ultra Violet |

Liste des Tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau 0.1 Propriétés des principaux isotopes utilisés en imageries TEMP et PET. | 6 |
| Tableau 1.1 Etude des conditions de réaction de <i>N</i> -alkylation..... | 28 |
| Tableau 1.2 Optimisation des conditions de radiomarquage du précurseur 21 | 42 |
| Tableau 1.3 Comparatif de la distribution et du coefficient de partage octanol/eau du traceur 22 avec d'autres traceurs technétiés de l'hypoxie tumorale. | 47 |
| Tableau 2.1 Différents modes de production du ¹⁸ F..... | 55 |
| Tableau 2.2 Marquage au ¹⁸ F des précurseur silylés 33 , 38 , 44a et 44b . La quantité de K ₂ CO ₃ est de 3,5 mg. Les expériences ont été reproduites 3 fois et le rendement radiochimique moyen calculé. | 77 |
| Tableau 2.3 Stabilité des composés [¹⁸ F] 34 , [¹⁸ F] 38 and [¹⁸ F] 44a dans le sérum physiologique pH = 5,5, dans un tampon phosphate et dans le plasma humain à pH = 7,4, Déterminée par radio- CLHP et radio CCM en comparant l'aire du composé radiomarqué sur l'aire de la radioactivité totale (Exprimé en%)..... | 79 |
| Tableau 2.4 Biodistribution du traceur [¹⁸ F] 44a , 90 min après injection..... | 80 |
| Tableau 2.5 Coefficients de partage octanol/eau expérimentaux de différents traceurs fluorés de l'hypoxie tumorale | 80 |
| Tableau 3.1 Exemples de réactions de substitutions nucléophiles utilisant un agent bétylate | 91 |
| Tableau 3.2 Radiofluoration de précurseurs arylsulfonates porteurs de chaînes NALG..... | 93 |
| Tableau 3.3 Formation d'ester sulfonique et sulfonamide par chloration oxydante du disulfure 61 | 108 |
| Tableau 4.1 Etude préliminaire d'optimisation de la réaction de chloration oxydante du disulfure de dibenzyle par le <i>t</i> -BuOCl | 125 |
| Tableau 4.2 Comparaison des méthodes de déprotection oxydante utilisant NCS et <i>t</i> -BuOCl..... | 128 |
| Tableau 4.3 Exemplification de la méthodologie de déprotection oxydante "one-pot" impliquant une réaction préalable de substitution nucléophile..... | 130 |
| Tableau 4.4 Produits générés par déprotection oxydante en séquence "one-pot" impliquant une réaction d'addition de Michaël..... | 131 |
| Tableau 4.5 Rendements de la réaction en fonction des différents groupements protecteurs | 134 |

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 0.1 SPECT/CT scanner..... | 4 |
| Figure 0.2 (a) Désintégration par émission de positons et “annihilation”. (b) PET-Scanner | 5 |
| Figure 1.1 Mécanisme proposé de réduction des nitroimidazoles permettant leur rétention dans les cellules hypoxiques | 12 |
| Figure 1.2 Radiotraceurs ou biomarqueurs utilisés pour l'imagerie TEP de l'hypoxie tumorale | 13 |
| Figure 1.3 Exemple de structures de différents radiotraceurs technetiés de l'hypoxie..... | 14 |
| Figure 1.4 2-Désoxy-2-[¹⁸ F]Fluoro-D-Glucose..... | 14 |
| Figure 1.6 Complexes ^{99m} Tc de type diamine dioxime [^{99m} Tc]-HL-91 (a) et de type salans (b)..... | 15 |
| Figure 1.5 Cu-ATSM..... | 15 |
| Figure 1.7 Schéma de la décroissance du molybdène 99..... | 17 |
| Figure 1.8 Schéma du générateur Mo/Tc IBA/Cis-Bio | 18 |
| Figure 1.9 Le radiopharmaceutique Ceretec® | 19 |
| Figure 1.10 Radiopharmaceutiques de première (A) et deuxième génération (B) | 19 |
| Figure 1.11 Le Groupement HYNIC | 20 |
| Figure 1.12 Chélates N _x S _{4-x} : (A) Ligands tétradentés N _x S _(4-x) , (B) Ligands peptidiques amine/amide thiol Tc(V), (C) Ligands TcO(3+1)..... | 21 |
| Figure 1.13 Radiotraceurs HYNIC synthétisés..... | 23 |
| Figure 1.14 Chromatogramme en détection radioactivité après la formation du complexe [^{99m} Tc]- 8 | 33 |
| Figure 1.15 (a) Chromatogramme UV du précurseur 8 dans NaCl 0,9% à 25 °C, (b) Chromatogramme UV du précurseur 8 dans NaCl 0,9% après 10 min à 100 °C..... | 34 |
| Figure 1.16 Structures supposées des produits de dégradation du précurseur 8 après chauffage à 100 °C dans NaCl 0,9% pendant 10 min..... | 34 |
| Figure 1.17 Structures supposées des produits de dégradation du précurseur 15 après chauffage à 100 °C dans NaCl 0,9% pendant 10 min..... | 35 |
| Figure 1.18 Nouveau traceur utilisant un chélate Cys-Gly-Lys..... | 36 |
| Figure 1.19 Chromatogramme Radio-CLHP de la réaction de radiomarquage au [^{99m} Tc] du précurseur 21 | 42 |
| Figure 1.20 Conformations <i>syn</i> et <i>anti</i> du traceur 22 . Les conformations sont établies par rapport à la position de la chaîne latérale de la lysine | 43 |

| | |
|--|-----|
| Figure 1.21 Captation <i>in vitro</i> du traceur tripeptide 22 | 45 |
| Figure 1.22 Effet de l'hypoxie sur la production de HIF-1 α et de l'activité luciférase | 45 |
| Figure 1.23 Etude de biodistribution sur le traceur technétié 22 | 47 |
| Figure 1.24 Image du traceur 22 réalisée par TEMP/CT sur une souris porteuse d'une tumeur solide..... | 48 |
| Figure 1.25 Exemple de sonde bimodale TEMP/Fluorescence pour la détection de l'hypoxie | 51 |
| Figure 2.1 Procédé de marquage au fluor 18 par voie nucléophile..... | 59 |
| Figure 2.2 Complexation du potassium par le 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosane (Kryptofix [2.2.2]) | 60 |
| Figure 2.3 Rétention partielle du dérivé diméthylfluorosilane et rétention totale dans les poumons du dérivé dinaphtylfluorosilanes | 64 |
| Figure 2.4 6-bromonaphtalène et 1-bromonaphtalène fonctionnalisés par des fonctions polyéthylèneglycols | 65 |
| Figure 2.5 Les différents groupements prosthétiques SiFAs | 72 |
| Figure 2.6 Images par micro-TEP d'une souris porteuse d'une tumeur hypoxique, 1h après injection du composé [¹⁸ F] 44a | 81 |
| Figure 3.1 Arysulfonate portant des chaînes polyéthers et des éthers couronnes..... | 92 |
| Figure 3.2 Métabolisme du glucose et du [¹⁸ F]Fluorodésoxyglucose. | 94 |
| Figure 3.3 Imagerie TEP au [¹⁸ F]FDG d'un patient atteint d'un cancer colorectal (à gauche, image scanner; au milieu, image de la fusion TEP/scanner; droite, image TEP)..... | 94 |
| Figure 3.4 Automate de synthèse GE TRACERLab MX FDG | 97 |
| Figure 3.5 Structure des nouveaux précurseurs sulfonates du mannose tetraacétate..... | 98 |
| Figure 3.6 Représentation schématique des paires d'ions internes stables possibles de sulfobétaines | 104 |
| Figure 3.7 Cinétiques de fluoration des précurseurs 77 , 78 et 79 | 113 |
| Figure 4.1 Sulfonamides et esters sulfoniques synthétisés par oxydation de disulfure | 127 |
| Figure 5.1 Structure du complexe 22 | 140 |
| Figure 5.2 Structuré des dérivés [¹⁸ F]fluorosilanes synthétisés | 141 |

Liste des Schémas

| | |
|--|----|
| Schéma 1.1 Rétrosynthèse du premier ligand 8 | 24 |
| Schéma 1.2 <i>N</i> -alkylation du 2-nitroimidazole <i>via</i> le <i>N</i> -(2-bromoéthyl)phthalimide | 25 |
| Schéma 1.3 <i>N</i> -alkylation du 2-nitroimidazole par le 2-bromoéthylcarbamate | 25 |
| Schéma 1.4 Préparation de l'acide HYNIC protégé | 26 |
| Schéma 1.5 Couplage entre le dérivé nitroimidazole 3 et le composé 6 protégé pour conduire au ligand 8 | 26 |
| Schéma 1.6 Schéma rétrosynthétique du ligand 15 | 27 |
| Schéma 1.7 <i>N</i> -alkylation du 2-nitroimidazole avec le bromure de propargyle..... | 27 |
| Schéma 1.8 Couplage de Sonogashira à partir de la 2-chloro-5-iodopyridine..... | 29 |
| Schéma 1.9 Réaction d'hydroamination de type Cope sur la triple liaison suivi d'une hydrolyse de l'imine intermédiaire formée..... | 30 |
| Schéma 1.10 Rétrosynthèse illustrant la permutation d'étapes | 30 |
| Schéma 1.11 Addition de l'hydrazine et réaction de protection de l'amine terminale | 31 |
| Schéma 1.12 Couplage de Sonogashira et déprotection de l'hydrazine | 31 |
| Schéma 1.13 Radiomarquage au [^{99m} Tc] d'une biomolécule avec un motif HYNIC par échange de ligands | 32 |
| Schéma 1.14 Rétrosynthèse du radiotraceur tripeptide 21 | 37 |
| Schéma 1.15 Couplage entre la 2-(2nitroimidazolyl)éthylamine 3 et la <i>N</i> - α -Fmoc-S-trityl-L-cystéine | 38 |
| Schéma 1.16 Couplage entre la <i>N,N</i> -(Boc) ₂ -L-Lysine et la glycine <i>O</i> -méthylester..... | 39 |
| Schéma 1.17 Formation du tripeptide 20 par couplage peptidique..... | 39 |
| Schéma 1.18 Réaction one-pot de saponification-couplage..... | 40 |
| Schéma 1.19 Déprotection du tripeptide 20 | 40 |
| Schéma 1.20 Radiomarquage au [^{99m} Tc] du ligand tripeptide 21 | 41 |
| Schéma 1.21 Réaction de complexation au rhénium (V)..... | 43 |
| Schéma 1.22 Formation d'un complexe bisnitroimidazolé par réaction de couplage | 50 |
| Schéma 2.1 Synthèse de la L-[¹⁸ F]FDOPA par voie électrophile..... | 57 |
| Schéma 2.2 Préparation de la 6-[¹⁸ F]FDOPA par réaction de fluorodestannylation | 57 |
| Schéma 2.3 Production de difluor [¹⁸ F]F ₂ à partir de fluorures [¹⁸ F]F ⁻ par décharge électrique..... | 58 |
| Schéma 2.4 Synthèse du [¹⁸ F]FDG par fluoration nucléophile..... | 58 |

| | |
|---|-----|
| Schéma 2.5 Radiomarquage d'une protéine par couplage avec le groupement prosthétique [¹⁸ F]SFB..... | 61 |
| Schéma 2.6 Fluoruration par échange isotopique..... | 62 |
| Schéma 2.7 Synthèse d'analogues silylés du [¹⁸ F]fluoromisonidazole..... | 64 |
| Schéma 2.8 Rétrosynthèse du composé « amide »..... | 66 |
| Schéma 2.9 Préparation de l'alkyloxy-(3-chloropropyl)di(naphtalen-1-yl)silane 28 | 66 |
| Schéma 2.10 Introduction de l'azoture puis réduction en amine..... | 67 |
| Schéma 2.11 Préparation de l'acide 2-(2-nitroimidazolyl)éthanoïque..... | 68 |
| Schéma 2.12 Formation du lien amide..... | 68 |
| Schéma 2.13 Fluoruration à partir du silanol 33' | 69 |
| Schéma 2.14 Rétrosynthèse du composé "triazole" 37 | 69 |
| Schéma 2.15 Préparation du 2-nitro-1-(2-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)éthoxy)éthyl)-1H-imidazole..... | 70 |
| Schéma 2.16 Réaction de click et fluoruration du précurseur alkoxysilane 37 | 70 |
| Schéma 2.17 Réaction d'échange isotopique Si- ¹⁹ F/Si- ¹⁸ F..... | 72 |
| Schéma 2.18 Rétrosynthèse des dérivés fluorosilanes 44a et 44b | 73 |
| Schéma 2.19 Synthèse des dérivés 40a et 40b | 73 |
| Schéma 2.20 Préparation des composés 41 et 43 par réactions d'oxydation..... | 74 |
| Schéma 2.21 Préparation des précurseurs 44a et 44b par réaction de couplage avec l'amine 3 | 74 |
| Schéma 2.22 Structure de nouveaux [¹⁸ F]fluorosilanes potentiellement hydrophiles | 83 |
| Schéma 2.23 Rétrosynthèse d'un nouvel analogue SiFA modifié | 84 |
| Schéma 3.1 Nouvelle approche de fluoruration nucléophile par formation d'une paire d'ion-substrat | 88 |
| Schéma 3.2 Réactions de substitutions nucléophiles par paire d'ion substrat-réactif à partir de [2]-, [3]-, et [4]-bétylates (R ¹ = Me) et leurs analogues norbétylates (R ¹ = H)..... | 90 |
| Schéma 3.3 Synthèse par voie électrophile du [¹⁸ F]FDG à partir du triacétylglyceral. Voie A : i) [¹⁸ F]F ₂ , 0,1-2% F ₂ , CFCl ₃ , ii) HCl _{aq} , RCY 10%, ratio 3:1 (FDG/FDM). Voie B : iii) [¹⁸ F]AcOF ou [¹⁸ F]XeF ₂ , ii) HCl _{aq} , RCY 20%, ratio 95:5 (FDG/FDM). | 95 |
| Schéma 3.4 Synthèse du FDG par substitution nucléophile | 96 |
| Schéma 3.5 Première rétrosynthèse envisagée..... | 98 |
| Schéma 3.6 Synthèse du mannose tetraacétate | 99 |
| Schéma 3.7 Migration du groupement acétyle et anomérisation de l'isomère β ¹²⁴ | 100 |
| Schéma 3.8 Préparation des esters de chloroalkylsulfonates 52 et 53 | 100 |

| | |
|---|-----|
| Schéma 3.9 Formation d' aminoalkylsulfonates par <i>N</i> -alkylation de la diméthylamine ... | 101 |
| Schéma 3.10 Nouvelle rétrosynthèse proposée permettant l'obtention des nouveaux précurseurs à partir de trialkylammonioalcanesulfonates de sodium (R = Bn, Me).. | 102 |
| Schéma 3.11 Ouverture de sultones par la <i>N,N</i> -diméthylbenzylamine..... | 102 |
| Schéma 3.12 Préparation de la sulfobétaine 57 | 103 |
| Schéma 3.13 Essai de chloration de sulfobétaines par le chlorure de thionyle..... | 103 |
| Schéma 3.14 Nouvelle rétrosynthèse envisagée à partir de dérivés amino-soufrés (R = Bn, Me)..... | 104 |
| Schéma 3.15 <i>N</i> -alkylation de la <i>N</i> -méthylbenzylamine par le 3-bromo-1-chloropropane | 105 |
| Schéma 3.16 Réaction secondaire de cyclisation lors de l'addition de la <i>N</i> -méthylbenzylamine sur le 1,3-dibromopropane | 105 |
| Schéma 3.17 Formation du dérivé thioacétate 59 | 105 |
| Schéma 3.18 Formation du thioacétate 59 par réaction de Mitsunobu | 106 |
| Schéma 3.19 Préparation du disulfure 61 par réaction de déprotection/oxydation..... | 106 |
| Schéma 3.20 Synthèse du nouveau précurseur du [¹⁸ F]FDG..... | 109 |
| Schéma 3.21 Tentative de couplage du chlorure de sulfonyle 62 avec le nouveau précurseur 70 | 110 |
| Schéma 3.22 Couplage du dérivé mannose 70 avec les chlorures de 1-chlorométhanesulfonyle et 3-chloropropanesulfonyle..... | 110 |
| Schéma 3.23 Préparation du 3-(2-naphtyloxy)propan-1-ol..... | 111 |
| Schéma 3.24 Synthèse de l'ester sulfonique 75 | 112 |
| Schéma 3.25 Synthèse des précurseurs triflate et mésylate du 3-(2-naphtalénoxy)-1-propanol | 112 |
| Schéma 3.26 Fluoration « à froid » des esters sulfoniques du 3-(2-naphtalénoxy)-1-propanol | 113 |
| Schéma 3.27 Réaction de cyclisation lors de la fluoration du précurseur triflate 80 | 114 |
| Schéma 3.28 Proposition de synthèses pour les composés ammoniométhanesulfonique 87 et ammoniobutanesulfonique 88 | 116 |
| Schéma 3.29 Synthèse potentielle de nouveaux précurseurs β-D-mannose pour la préparation du [¹⁸ F]FDG..... | 117 |
| Schéma 3.30 Synthèse d'un nouveau précurseur mannose par métathèse..... | 118 |
| Schéma 3.31 Synthèse de traceurs fluorés par paire ion-substrat sur support solide..... | 118 |
| Schéma 4.1 Chloration oxydante de thiols et disulfures par le dichlore en milieu biphasique | 123 |

| | |
|---|-----|
| Schéma 4.2 Préparation de l'hypochlorite de <i>tert</i> -butyle..... | 124 |
| Schéma 4.3 Oxydation de l'atome de soufre par l'anion <i>tert</i> -butylate | 126 |
| Schéma 4.4 Conversion du disulfure de dibenzyle en <i>N</i> -benzylbenzènesulfonamide..... | 126 |
| Schéma 4.5 Synthèse de chlorures de sulfonyle par une méthode de déprotection oxydante utilisant le <i>N</i> -chlorosuccinimide | 127 |
| Schéma 4.6 Déprotection oxydante du thioacétate de benzyle et formation du <i>N</i> - benzylbenzenesulfonamide | 128 |
| Schéma 4.7 Formation de l'impurété benzylacétamide | 129 |
| Schéma 4.8 1 ^{ère} séquence “one-pot” impliquant une réaction de substitution nucléophile | 129 |
| Schéma 4.9 2 ^{ème} séquence “one-pot” impliquant une réaction d'addition de Michaël | 131 |
| Schéma 4.10 Mécanisme proposé pour la déprotection de cystéine S-Trityl | 133 |
| Schéma 4.11 Synthèse d'acides cystéiques sulfonamides par déprotection oxydante..... | 134 |
| Schéma 4.12 Mécanisme proposé pour le couplage | 135 |
| Schéma 4.13 Synthèse d'un dipeptide incorporant un dérivé hydrosoluble d'acide cystéique, par déprotection oxydante de cystéine..... | 137 |
| Schéma 5.1 Fluoration d'ester sulfonique 77 impliquant la formation d'une paire ammonium-fluorure | 141 |

Introduction

1 Introduction Générale

Depuis la découverte de la radioactivité à la fin du XIX^{ème} siècle par Henri Becquerel puis de la radioactivité artificielle par Frédéric et Irène Joliot-Curie en 1933 (prix Nobel de Chimie en 1935) l'utilisation de radionucléides n'a pas cessé de se développer dans différents secteurs. Les radionucléides sont en effet utilisés dans l'industrie pour l'analyse des matériaux, mais également dans les secteurs agronomiques, agroalimentaires (assainissement des aliments par irradiation des germes), archéologie/géologie (datation des fossiles et sédiments), armement militaire et production d'énergie.

Mais c'est dans le secteur médical que les applications de la radioactivité ont connu un réel essor. Les éléments radioactifs sont utilisés aussi bien en biologie pour le dosage *in vitro* d'hormones et de métabolites chez l'homme qu'en clinique avec l'administration *in vivo* de composés radiopharmaceutiques pour un usage diagnostique et thérapeutique. Les radio-isotopes qu'ils soient naturels ou synthétiques, possèdent les mêmes propriétés chimiques que leurs homologues non radioactifs. La seule différence est qu'ils sont instables. Leurs désintégrations se traduisent par l'émission de rayonnements. Ces rayonnements étant invisibles à l'œil il y a nécessité de disposer de moyens de détections appropriés pour étudier leur répartition ou simplement s'assurer de leur présence. L'imagerie nucléaire est une technique d'imagerie fonctionnelle permettant de comprendre le fonctionnement de procédés biologiques à l'intérieur d'un organisme vivant par l'administration d'un radiopharmaceutique. La tomographie par émission de positons (TEP) et la tomographie par émission monophotonique (TEMP) constituent les deux grandes méthodes d'imagerie fonctionnelle *in vivo* faisant appel à l'utilisation d'un traceur radioactif. La nature non-invasive de ces technologies couplée à la capacité de pouvoir observer un organe ou une fonction depuis l'extérieur du corps, font de ces techniques un outil puissant de diagnostic. Depuis le début des années 1980, le développement de nouvelles molécules marquées s'est intensifié ainsi que la mise au point de la chimie des isotopes et des méthodes d'incorporation.

Le travail réalisé dans le cadre de cette thèse de doctorat s'inscrit directement dans ce contexte. Il porte sur la recherche de nouveaux radiopharmaceutiques destinés à la médecine nucléaire et plus particulièrement sur le développement et l'évaluation de nouveaux radioligands marqués au technétium-99m et au fluor-18. Ce travail consiste à

réaliser la synthèse, étudier les méthodes de marquage, et observer le devenir *in vivo* et *in vitro* de ces traceurs. Les traceurs synthétisés ont pour but la détection des cellules hypoxiques tumorales. D'autre part de nouvelles méthodes d'introduction du fluor 18 sur des biomolécules ont été étudiées, à travers la synthèse de dérivés organosilylés et la synthèse de nouveaux groupements partants esters sulfoniques. Ce manuscrit s'articule en 5 parties :

- Dans une première partie introductive, les deux principales techniques d'imagerie nucléaire seront présentées, puis les critères nécessaires au développement d'un radiopharmaceutique seront énoncés.
- La seconde partie sera consacrée au développement de nouveaux traceurs technétiés pour la détection de l'hypoxie par TEMP. La chimie du technétium, les différentes méthodes de radiomarquage existantes ainsi que les synthèses des nouveaux traceurs technétiés seront détaillées. Les résultats de marquage et l'évaluation biologique des traceurs seront discutés.
- La troisième partie du manuscrit traitera du développement de nouveaux dérivés organosilylés marqués au fluor 18 pour la détection de l'hypoxie tumorale en TEP. Après avoir évoqué les différentes méthodes de radiomarquage au ^{18}F , nous présenterons la méthodologie de synthèse basée sur des analogues carbonés-silylés, ainsi que la synthèse de nouveaux analogues silylés du $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$. Les résultats de marquage et tests *in vivo* seront discutés.
- Dans le chapitre suivant une nouvelle méthodologie de fluoration nucléophile sera exposée. Celle-ci est basée sur le développement de nouveaux groupements partants sulfonates. Nous tenterons d'exemplifier cette méthode à la synthèse du $[^{18}\text{F}]\text{Fluorodésoxyglucose}$, un traceur de référence pour l'imagerie à émission de positons. Les différentes synthèses effectuées seront décrites et les perspectives envisagées seront abordées.
- Enfin le dernier chapitre fera l'objet du développement d'une nouvelle méthode de déprotection oxydante de thiols par l'hypochlorite de *tert*-butyle.

2 L'imagerie Nucléaire

2.1. La Tomographie à Émission Monophotonique (TEMP)

Cette technique d'imagerie également appelée scintigraphie doit son origine à la découverte de la gamma-caméra par Hal Anger, dans les années cinquante, à l'université de Berkeley.¹ Cet appareil principalement constitué de cristal d'iodure de sodium, d'un collimateur et de photomultiplicateurs permet la détection de photons gammas issus de la désintégration d'un isotope radioactif. Il permet de détecter le point d'origine du rayonnement mais également l'énergie des photons émis par la source. Ces énergies sont converties en signal électrique qui après traitement informatique permet l'accès à des projections planes de la distribution de radioactivité dans un organe. La tomographie par émission monophotonique (ou tomographie par scintigraphie) a réellement vu le jour dans les années 1970 grâce aux travaux réalisés par Allan Cormack² et Godfrey Hounsfield³ sur la tomographie assistée par ordinateur. Cette technique permet grâce à un algorithme, l'élaboration d'une image en trois dimensions à partir d'images séquentielles obtenues en faisant tourner un appareil autour d'un sujet.

En résumé, la tomographie à émission monophotonique (TEMP) nécessite l'administration à un patient d'un radiotracer émetteur de photons γ simples. La détection des rayonnements s'effectue grâce à une, deux ou trois gammas-caméras en rotation autour du patient (*Figure 0.1*). L'image en 3 dimensions obtenue après un algorithme de reconstruction permet, par exemple, de faire le diagnostic précoce d'une pathologie donnée.



Figure 0.1SPECT/CT scanner

¹ Anger, H. O. *Rev. Sci. Instrum.* **1958**, 29, 27.

² Cormack A.M. *J. Appl. Physics* **1963**, 34, 2722.

³ Hounsfield G. N. *Br J Radiol* **1973**, 46, 1016.

2.2. La Tomographie à Emission de Positons (TEP)

La tomographie à émission de positons (TEP) a connu une émergence plus tardive (1975-1980). Son principe repose sur l'administration d'un radiotraceur émetteur de positons (β^+). Ce produit est injecté au patient par voie intraveineuse. Le noyau de l'émetteur β^+ est instable, car la balance entre son nombre de protons et son nombre de neutrons est excédentaire. Pour améliorer la stabilité de l'édifice nucléaire, un proton s'y transmute en un neutron, engendrant dans la foulée un positron et une autre particule appelée neutrino. Le positron a un parcours très faible dans un milieu biologique (ex : 1-3 mm dans l'eau) et finit par se combiner avec un électron du milieu; les deux particules s'annihilent alors mutuellement avec émission de deux photons γ de 511 keV diamétralement opposés (*Figure 0.2*). La TEP repose sur la détection en coïncidence de deux photons d'annihilation, à l'aide de détecteurs γ en série formant un cylindre autour de l'organe à étudier.

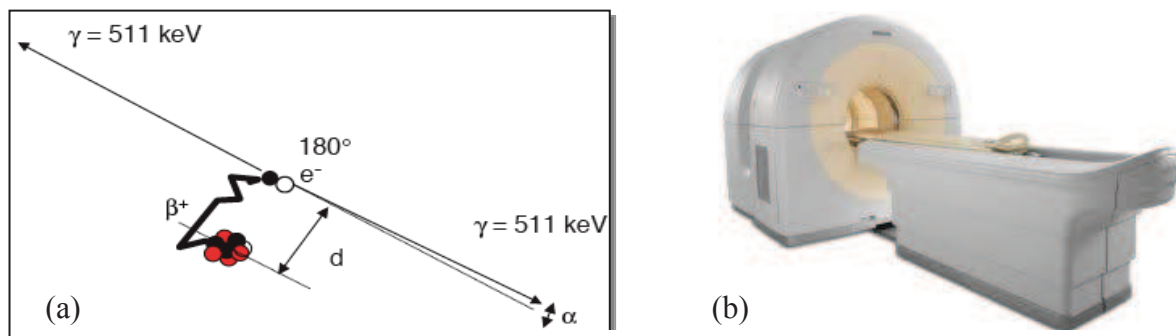


Figure 0.2 (a) Désintégration par émission de positons et "annihilation", (b) PET-Scanner

2.3. TEP vs TEMP

Le choix du type d'imagerie (TEP ou TEMP) dépend essentiellement de l'isotope utilisé et des propriétés nucléaires de celui-ci : le type de rayonnement, la demi-vie, et le mode de production.

La demi-vie ou période radioactive correspond au moment où la moitié des noyaux radioactifs d'une source se sont désintégrés. La demi-vie d'un radionucléide choisi doit être en relation avec la biodistribution dans l'organisme du vecteur auquel il est associé. L'imagerie TEP utilise des isotopes émetteurs β^+ , de plus faible demi-vie que les isotopes

TEMP mais de plus forte énergie (*Tableau 0.1*). Cela lui donne l'avantage d'avoir une plus grande sensibilité, une meilleure polyvalence et une meilleure résolution spatiale. Cependant, la sélection d'un radionucléide résulte d'un compromis entre ses caractéristiques nucléaires mais aussi sa disponibilité et son prix de revient. Les isotopes couramment utilisés en médecine nucléaire sont produits à partir de cyclotrons (^{18}F), de réacteurs nucléaires (^{131}I), ou de générateurs ($^{99\text{m}}\text{Tc}$). La TEMP apparaît aujourd'hui beaucoup moins chère et plus accessible car elle ne repose pas sur l'utilisation d'un cyclotron en local pour la production d'isotopes. En effet, l'utilisation de générateurs permet de produire un isotope à moindre coût sur le site même de son utilisation.

| Isotopes TEMP | Rayonnement / Energie | Période | Isotopes TEP | Rayonnement / Energie | Période |
|--------------------------|--|----------------|-------------------------|--------------------------------------|----------------|
| Technétium 99m | γ / 140 keV | 6 h | Oxygène 15 | β^+ / 1720 keV | 2,1 min |
| Iode 123 | γ / 159 keV | 13 h | Azote 13 | β^+ / 1190 keV | 10,0 min |
| Indium 111 | γ / 245 keV (94 %) 171 keV (90 %) | 68 h | Carbone 11 | β^+ / 960 keV | 20,4 min |
| Thallium 201 | γ / 71 keV (47 %) | 72 h | Gallium 68 | β^+ / 1890 keV | 67,8 min |
| Gallium 67 | γ / 93 keV (40 %) 184 keV (20 %) 300 keV (17 %) | 78 h | Fluor 18 | β^+ / 633 keV | 109,8 min |

Tableau 0.1 Propriétés des principaux isotopes utilisés en imageries TEMP et PET

3 Les Radiopharmaceutiques

Un radiopharmaceutique est un médicament à visée diagnostique ou thérapeutique qui, lorsqu'il est prêt à l'emploi, contient un ou plusieurs radionucléides. Ces radionucléides peuvent être émetteurs de photons simples γ ($^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{123}I , ^{111}In ...) pour l'imagerie TEMP ou émetteurs de positons (^{18}F , ^{11}C , ^{68}Ga ...) pour l'imagerie TEP. Certains isotopes radioactifs peuvent directement jouer le rôle d'agent d'imagerie, comme l'iode 131 ou le technétium 99m sous sa forme pertechnétate ($[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$) qui sont utilisés pour la scintigraphie des glandes thyroïdiennes. Le radionucléide peut également être lié directement ou complexé à une molécule appelé « vecteur », ayant des interactions spécifiques avec l'organe ou le récepteur ciblé. Les radiopharmaceutiques sont présents sous des formes diverses : ions, complexes métalliques, petites molécules organiques,

protéines et peptides... Ils sont préparés à partir d'un précurseur, d'un agent réducteur (si le radioélément est un métal), de stabilisants, et d'un générateur ou cyclotron pour la production du radioisotope. L'étape de marquage constitue l'étape déterminante dans la préparation d'un radiopharmaceutique. On distingue deux types de marquages :

- le marquage direct où le radioisotope est lié directement à la molécule par liaison covalente.
- le marquage indirect utilisant un synthon bifonctionnel capable de fixer l'isotope à une extrémité et de se lier à la cible de l'autre.

Pour pouvoir être développée et utilisée en radiopharmacie, une méthode de marquage doit remplir certains critères :

- Elle doit être simple, reproductible et réalisable en enceinte plombée. Elle doit présenter 1 à 2 étapes au maximum en routine et, si possible, sans purification après marquage afin de diminuer le temps de préparation.
- La durée du marquage doit être courte en rapport à la demi-vie de l'isotope radioactif et la pureté radiochimique doit être la plus forte possible.

D'autres considérations importantes comme le temps de demi-vie de l'isotope, la stabilité plasmatique ou bien encore l'activité spécifique du radiotraceur sont à prendre en compte. L'activité spécifique est la quantité de radioactivité par unité de masse d'une molécule contenant le radio-isotope. Elle est normalement exprimée en mCi/mmol ou en mCi/ μ mol. Cette propriété peut être un critère fondamental selon la cible que l'on souhaite étudier. En effet, la concurrence entre la molécule marquée et la molécule non radiomarquée peut avoir un effet négatif sur la concentration de la radioactivité dans le tissu cible, et peut induire des effets pharmacodynamiques et/ou toxiques indésirables, ainsi que des saturations de récepteurs. Au contraire, dans le cas de processus saturable, l'emploi d'un radiopharmaceutique présentant une forte activité spécifique permettra l'obtention d'une image avec un meilleur contraste.

**Chapitre 1. Synthèse de nouveaux traceurs technétiés
potentiels de l'hypoxie tumorale**

1 Introduction et étude bibliographique

1.1. L'hypoxie tumorale

L'hypoxie se caractérise par un déséquilibre entre la vitesse de consommation de l'oxygène cellulaire et l'arrivée d'oxygène dans ces cellules. Les tissus hypoxiques sont une des caractéristiques des tumeurs solides avancées. Il est toutefois important de noter que la répartition des tissus hypoxiques dans les tumeurs est hétérogène et variable dans le temps. Il a été démontré dès le début du XX^e siècle le rôle de l'hypoxie dans l'augmentation de la radiorésistance⁴. En effet l'oxygène a un rôle crucial dans la réponse à la radiothérapie. Etant un puissant radiosensibilisant, il amplifie l'effet des rayonnements ionisants ce qui a un effet létal sur les cellules tumorales par cassure du double brin de l'ADN. Plus récemment il a été mis en évidence que l'hypoxie était un facteur prédictif à une chimiorésistance.⁵ La diminution de la réponse à la radiothérapie des cellules hypoxiques entraîne alors une augmentation du risque de métastase et un mauvais pronostic pour le patient. Il est donc d'un intérêt majeur d'avoir une connaissance précise du niveau d'oxygène dans les tissus afin de comprendre le mécanisme de formation de cet état hypoxique et d'élaborer des stratégies pour corriger ce déséquilibre. Ceci requiert de quantifier le niveau d'oxygénation des tissus avec une bonne résolution spatiale et temporelle.

1.2. Les méthodes de détection

Historiquement, la méthode de référence concernant l'évaluation de l'hypoxie tumorale est la mesure de la pression partielle en oxygène. Cette méthode invasive est menée *via* l'implantation d'électrodes dans les tissus d'intérêt et se base sur la mesure du courant qui se forme entre une cathode et une anode après ionisation de l'oxygène. La pO₂ est directement proportionnelle au courant généré à la cathode. De nombreuses études se sont servies des électrodes pour évaluer l'impact de l'oxygénation des tumeurs sur le

⁴ (a) Schwarz, G.; *Münchener Medizinische Wochenschrift*. **1909**, *24*, 1; (b) Mottram, J. C. *Br. J. Radiol.* **1936**, *9*, 606.

⁵ (a) Brizel, D. M.; Scully, S. P.; Harrelson, J. M.; Layfield, L. J.; Bean, J. M.; Prosnitz, L. R.; Dewhirst, M. W. *Cancer Res.* **1996**, *56*, 941. (b) Graeber, T. G.; Osmanian, C.; Jacks, T.; Housman, D. E.; Koch, C. J.; Lowe, S. W.; Giaccia, A. J. *Nature* **1996**, *379*, 88.

résultat des thérapies.⁶ Toutefois, cette technique présente le désavantage d'être douloureuse pour le patient et ne permet pas l'accès à toutes les zones de la tumeur. De plus cette mesure ne permet pas des mesures répétées à un même endroit, du fait d'une consommation de l'oxygène par les électrodes.

Une autre alternative consiste à réaliser la quantification de l'HIF-1 α .⁷ En effet, la principale signalisation mise en place en réponse à l'hypoxie est liée à l'activation d'un facteur de transcription, l'HIF (Hypoxia-inducible factor), qui induit l'expression d'un ensemble de gènes destinés à remédier à cette situation. Il s'agit d'une protéine composée d'une sous-unité α sensible à l'oxygène et d'une sous-unité β insensible à l'oxygène. Le HIF-1 α est activé de manière exponentielle à mesure que diminue la pression en oxygène dans les cellules. La mesure *in vivo/in vitro* de l'HIF-1 α exprimé peut se faire par bioluminescence par l'intermédiaire d'un gène marqueur (ex : Luciférase).

Enfin les limitations des méthodes dites invasives ont conduit à l'exploration de techniques d'imagerie telles que l'imagerie par résonance magnétique BOLD (Blood Oxygen Level Dependent) ou **l'imagerie nucléaire** comme méthodes non-invasives de détection des cellules hypoxiques. Récemment un premier exemple de sonde fluorescente pour la détection de l'hypoxie tumorale par imagerie optique, a été développé.⁸

1.3. Les radiotraceurs de l'hypoxie tumorale

L'utilisation de radionucléides émetteurs de photons gammas pour la détection de tissus hypoxiques a été suggérée pour la première fois en 1979 par Chapman.⁹ Depuis, de nombreux radiotraceurs ont été développés dans ce but. Nous pouvons distinguer deux classes de traceurs de l'hypoxie : les ligands nitroimidazolés et les ligands non-nitroimidazolés.

⁶ Gatenby, R. A.; Kessler, H. B.; Rosenblum, J. S.; Coia, L. R.; Moldofsky, P. J.; Hartz, W. H.; Broder, G. J. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **1988**, *14*, 831.

⁷ Semenza G. & Wang G., *Mol. Cell. Biol.* **1992**, *12*, 5447

⁸ Okuda, K.; Okabe, Y.; Kadonosono, T.; Ueno, T.; Youssif, B. G. M.; Kizaka-Kondoh, S.; Nagasawa, H. *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 324.

⁹ Chapman, J. D. *N. Engl. J. Med.* **1979**, *301*, 1429.

1.3.1. Les ligands nitroimidazolés

Les dérivés nitroimidazolés sont connus pour leur capacité à être retenus sélectivement par les tissus hypoxiques. C'est Nakamura¹⁰ qui a mis en évidence en premier en 1955 que le 5-nitroimidazole montrait une activité contre certains types d'infections associées à un déficit en oxygène. Dès lors d'autres analogues nitroimidazolés ont été synthétisés et se sont avérés être efficaces contre les bactéries et protozoaires qui prolifèrent en milieu hypoxique. C'est ce comportement particulier des dérivés nitroimidazoles en milieu déficitaire en oxygène qui a conduit à l'étude de leur application dans la détection de l'hypoxie.¹¹ Le groupement nitro des dérivés nitroimidazolés peut être métabolisé par les nitro-réductases, enzymes présentes dans la plupart des tissus. Le mécanisme de la métabolisation⁵ est dépendant du niveau d'oxygène dans la cellule (*Figure 1.1*).

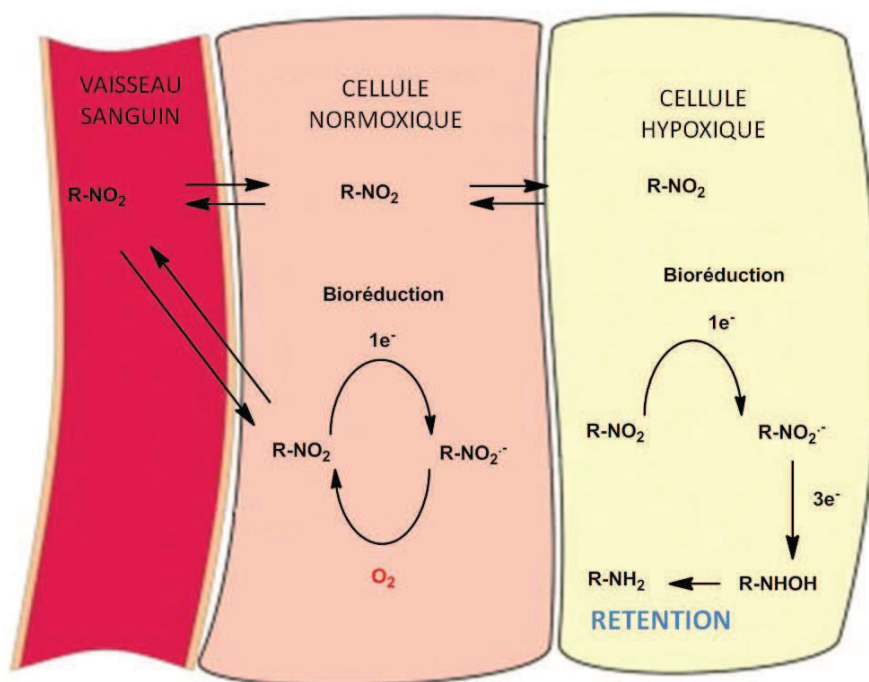


Figure 1.1 Mécanisme proposé de réduction des nitroimidazoles permettant leur rétention dans les cellules hypoxiques

Lorsqu'un dérivé nitroimidazolé entre dans une cellule normoxique, la molécule subit une première réduction pour former un nitro-radical anion. En présence d'un niveau

¹⁰ Nakamura, S. S.; Umezawa, H. H., *J. Antibiot.* **1955**, *8*, 66.

¹¹ Nunn, A.; Linder, K.; Strauss, H. W. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **1995**, *22*, 265.

normal d'oxygène, la molécule est immédiatement réoxydée et diffusée vers l'extérieur de la cellule.

La lipophilie de la molécule est alors un facteur déterminant pour sa bonne diffusion à travers les membranes de la cellule. A l'inverse, les tissus hypoxiques ne présentent pas une concentration en oxygène suffisante pour permettre la réoxydation de la molécule. Celle-ci subit alors une série de réductions pour former l'amine, capable de se lier de manière covalente avec les composants de la cellule. Cette dernière étape n'est pas irréversible mais la rupture de la liaison est très lente. C'est ce mécanisme qui est mis à profit dans l'utilisation de dérivés nitroimidazolés marqués par un radionucléide. Les premiers radiotraceurs utilisés pour la détection des cellules hypoxiques furent des traceurs radiohalogénés pour l'imagerie TEP. De nombreux traceurs fluorés ont ainsi été développés, avec en chef de file le [¹⁸F]Fluoromisonidazole ([¹⁸F]FMISO) (Figure 1.2) qui reste, à l'heure actuelle, le traceur de référence de l'hypoxie.

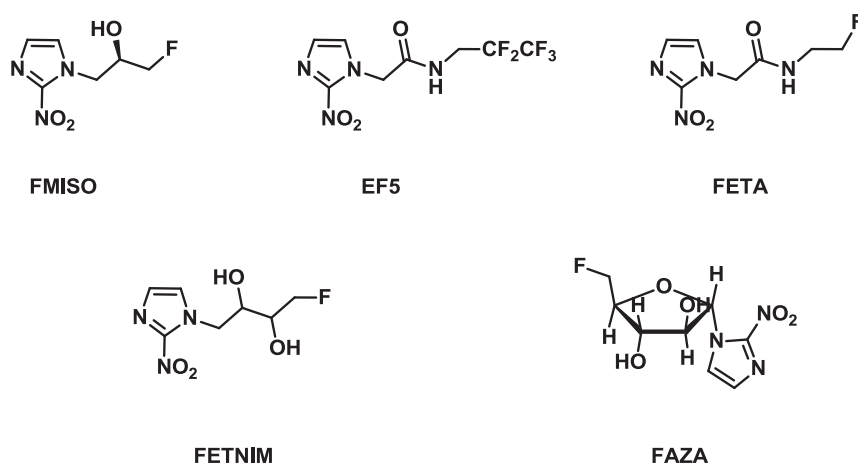


Figure 1.2 Radiotraceurs ou biomarqueurs utilisés pour l'imagerie TEP de l'hypoxie tumorale

Par ailleurs, des exemples de traceurs nitroimidazolés marqués à l'iode ont été développés comme le l'iodoazomycin arabinose ([¹²⁴I]IAZA pour la TEP ou [¹²³I]IAZA pour la TEMP)¹² et [¹²⁴I]iodoazomycin galactose [¹²⁴I]IAZG.¹³ Plusieurs radiopharmaceutiques pour l'imagerie TEMP permettant la détection des tissus hypoxiques ont aussi été expérimentés. La majorité est radiomarquée au Technétium 99m et nous

¹² (a) Jette, D. C.; Wiebe, L. I.; Flanagan, R. J.; Lee, J.; Chapman, J. D. *Radiat. Res.* 1986, 105, 169; (b) Mannan, R. H.; Somayaji, V. V.; Lee, J.; Mercer, J. R.; Chapman, J. D.; Wiebe, L. I. *J. Nucl. Med.* 1991, 32, 1764; (c) Parliament, M. B.; Chapman, J. D.; Urtasun, R. C.; McEwan, A. J.; Golberg, L.; Mercer, J. R.; Mannan, R. H.; Wiebe, L. I. *Br. J. Cancer* 1992, 65, 90.

¹³ Schneider, R. F.; Engelhardt, E. L.; Stobbe, C. C.; Fenning, M. C.; Chapman, J. D. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* 1997, 39, 541.

pouvons distinguer trois classes (*Figure 1.3*). Les premiers exemples reportés dans la littérature sont des dérivés acides boroniques portant un cycle nitroimidazole : les complexes $[^{99m}\text{Tc}]$ -BATOs nitroimidazoles.¹⁴ La deuxième classe de ligands décrite par Neumeier¹⁵ et ses collaborateurs est la classe des bases de Schiff nitroimidazolées. Enfin la classe ayant montré les résultats les plus prometteurs, les dérivés 2-nitroimidazolés de l'oxopropylène amine oxime appelés dérivés technétium PnAO. Le représentant le plus célèbre de cette classe est le $[^{99m}\text{Tc}]$ O(PnAO-1-(2-nitroimidazole)) plus connu sous l'appellation BMS-181321.¹⁶

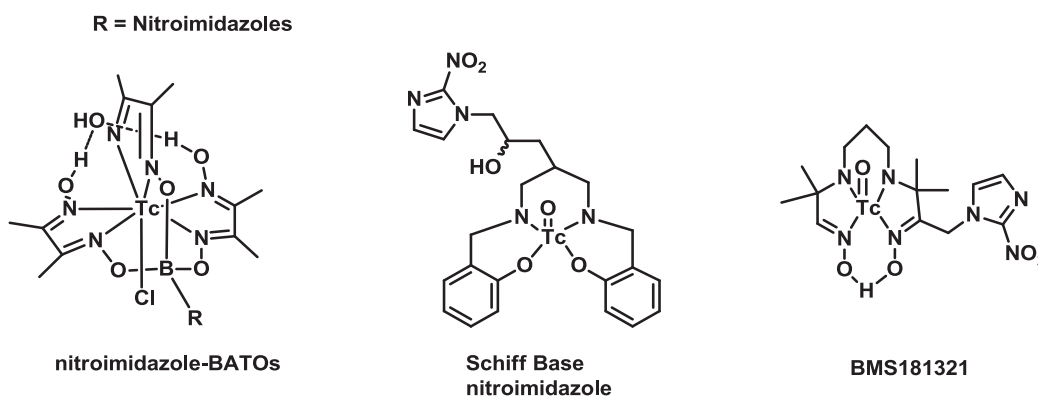


Figure 1.3 Exemple de structures de différents radiotraceurs technétiés de l'hypoxie

1.3.2. Les ligands non-nitroimidazolés

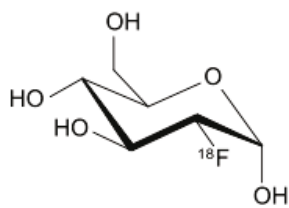


Figure 1.4 2-Désoxy-2- $[^{18}\text{F}]$ Fluoro-D-Glucose

Bien qu'encore extrêmement débattue,¹⁷ il existerait une corrélation entre le métabolisme mesuré par le 2-Désoxy-2- $[^{18}\text{F}]$ Fluoro-D-Glucose ($[^{18}\text{F}]$ FDG) et le niveau d'oxygène dans les cellules. Une diminution du niveau d'oxygène dans une cellule entraîne une augmentation de la concentration nucléaire en protéine HIF-1 α , impliquée dans l'activation du métabolisme du glucose. Le $[^{18}\text{F}]$ FDG (*Figure 1.4*) permettrait donc une mesure indirecte de l'hypoxie cellulaire.

¹⁴ Linder, K. E.; Chan, Y. W.; Cyr, J. E.; Nowotnik, D. P.; Eckelman, W. C.; Nunn, A. D. *Bioconjugate Chem.* **1993**, *4*, 326.

¹⁵ Neumeier, R.; Kramp, W.; Macke, H.; *Eur Patent Appl* 0417 870 A2. **1990**

¹⁶ Linder, K. E.; Chan, Y. W.; Cyr, J. E.; Malley, M. F.; Nowotnik, D. P.; Nunn, A. D. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 9.

¹⁷ (a) Dierckx, R.; Wiele, C., *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2008**, *35*, 1544; (b) Christian, N.; Deheneffe, S.; Bol, A.; De Bast, M.; Labar, D.; Lee, J. A.; Grégoire, V., *Radiother. oncol.*, **2010**, *97*, 183-188.

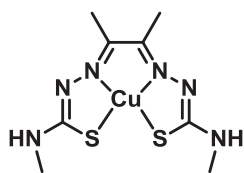


Figure 1.5 Cu-ATSM

Yokoyama et ses collaborateurs¹⁸ ont développé en 2007 un nouveau radiotracer TEP de l'hypoxie, qui s'avèrerait, d'après les premières études précliniques, être une bonne alternative au [¹⁸F]FMISO. Il s'agit d'un complexe métallique de cuivre (II) 60/62/64 avec un ligand diacétyl-bis(*N*-4-méthylthiosemicarbazone) appelé communément Cu-ATSM (Figure 1.5). Ce traceur étant dépourvu de groupement nitroimidazole le mécanisme de rétention dans les cellules hypoxiques est lié au potentiel réducteur et à la lipophilie du complexe. Lorsqu'il s'agit de cuivre (II) le complexe est électriquement neutre. Il est suffisamment lipophile pour passer les membranes cellulaires. Lorsqu'il pénètre dans une cellule le cuivre est réduit à l'état d'oxydation (I) en présence de réductases. En état d'hypoxie, le cytoplasme est acidifié et pauvre en oxygène. Le complexe ne peut pas être réoxydé et reste chargé négativement. Il y a captation d'un proton du milieu ce qui provoque la libération du cuivre (I) dans le milieu et la formation d'adduits intracellulaires.

L'évaluation de certains complexes nitroimidazolés comme marqueurs de l'hypoxie tumorale, a permis la synthèse d'analogues ne possédant pas le motif nitroimidazole. Ces analogues possèdent des propriétés intrinsèques bioréductives ce qui leur permet d'être retenus sélectivement par les cellules hypoxiques. C'est le cas du complexe [^{99m}Tc]-HL91,¹⁹ un complexe technétié d'une diamine dioxime substituée ([^{99m}Tc]-BnAO) (Figure 1.6, gauche). Enfin en 2007, un brevet décrivait l'utilisation de dérivés salans avec 4 atomes d'azotes comme groupe chélatant pour former des complexes ^{99m}Tc, détecteurs potentiels de l'hypoxie (Figure 1.6, droite).

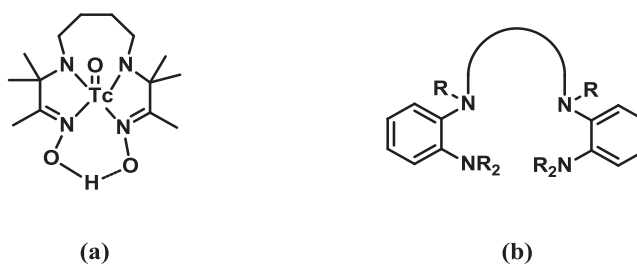


Figure 1.6 Complexes ^{99m}Tc de type diamine dioxime [^{99m}Tc]-HL-91 (a) et de type salans (b)

¹⁸ (a) Fujibayashi, Y.; Taniuchi, H.; Yonekura, Y.; Ohtani, H.; Konishi, J.; Yokoyama, A. *J. Nucl. Med.* **1997**, 38, 1155; (b) H. Taniuchi, Y. Fujibayashi, Y. Yonekura, J. Konishi and A. Yokoyama, *J. Nucl. Med.*, **1997**, 38, 1130; (c) Vavere, A. L.; Lewis, J. S. *Dalton Transactions* **2007**, 4893.

¹⁹ Archer, C.M; Edwards, B.; Kelly, J. D.; King, A.C.; Burke, J.F. and Riley, A.L.M., *Technetium and rhenium in chemistry and nuclear medicine*, **1995**, 535.

1.4. Projet de thèse

Cette revue bibliographique non-exhaustive sur les radiopharmaceutiques utilisés pour la détection des cellules tumorales hypoxiques nous a permis de constater la part prédominante des traceurs à émission de positons (TEP) au détriment des traceurs à émission monophotonique (TEMP). Cet écart peut s'expliquer par une émergence plus récente de l'imagerie par émission de positon (TEP) qui vient concurrencer de plus en plus le domaine de la tomographie par émission monophotonique. En effet, la TEMP souffrait d'une sensibilité et d'une résolution spatio-temporelle inférieures à celles obtenues lors d'un examen TEP. Cependant, la grande disponibilité *via* les générateurs et le faible coût de production des isotopes émetteurs de photons simples restent des avantages de poids pour l'imagerie TEMP. Le Technétium 99m est le grand représentant des isotopes émetteurs de photons simples. Plus de 80% des radiopharmaceutiques utilisés pour le diagnostique en routine sont basés sur ce radioélément. Le développement de nouveaux traceurs technétiés pour la détection des cellules hypoxiques est un réel enjeu et bien que de nombreux ligands soient répertoriés dans la littérature, peu sont utilisés ou en phase avancée de recherche clinique du fait de leur trop forte lipophilie, de leur faible stabilité chimique ou de leur faible contraste. Il est donc d'un intérêt majeur de développer de nouveaux radiomarqueurs technétiés permettant la détection de l'hypoxie.

Ce projet de thèse s'inscrit dans cette optique. Nous nous sommes intéressés à la synthèse et à l'évaluation biologique de 3 nouveaux traceurs technétiés de l'hypoxie tumorale. Les trois traceurs possèdent un motif nitroimidazole permettant leur rétention sur les cellules cibles et un groupement chélatant du technétium. Nous présenterons dans un premier temps les propriétés remarquables du technétium 99m. Nous expliciterons ensuite le choix des groupements chélatants et les stratégies de synthèse envisagées. Enfin, les résultats de marquage et les expériences *in vivo* seront présentés.

2 La chimie du technétium

2.1. Historique

L'utilisation de la médecine nucléaire comme outil de diagnostique a connu un réel essor ces dernières années. Ces progrès sont principalement dus à la découverte d'un isotope radioactif : le **Technétium 99m**. Le Technétium a été isolé pour la première fois

par Emilio Segré et Carlo Perrier en 1937.²⁰ L'élément Technétium de numéro atomique 43 fait partie du bloc d du tableau périodique et plus particulièrement au groupe VII entre le manganèse et le rhénium. Il est d'ailleurs intéressant de noter que le rhénium et le technétium ont un rayon atomique proche et on trouve beaucoup de similitudes dans leurs propriétés chimiques.²¹ Le technétium possède au moins 20 isotopes connus, mais il est surtout utilisé en médecine nucléaire sous l'isotope ^{99m}Tc pour ses propriétés quasi-idéales : un temps de demi-vie de 6h, une énergie d'émission de 140 keV, optimale pour les gamma-caméras actuelles, et une variété d'états d'oxydation (de VII à -I) qui lui permettent de former plusieurs types de complexes. Le technétium se trouve communément sous sa forme pertechnétate (TcO_4^-) qui est sa forme la plus stable en milieu aqueux.

2.2. Obtention du technétium

Le technétium ^{99m}Tc est issu de la décroissance radioactive β^- du Molybdène 99 lui-même obtenu par la fission de l'uranium 235 ou par réaction nucléaire du ^{98}Mo (n, γ). Le ^{99m}Tc s'isomérise par émission γ pure, en ^{99}Tc lui-même émetteur β^- ($E_{\beta\text{max}}$ 294 keV) et de période longue ($T_{1/2} = 2,1 \cdot 10^5$ ans). C'est cette émission γ pure qui est utilisée en médecine nucléaire. Le ^{99}Tc est également obtenu par voie directe à partir du ^{99}Mo (Figure 1.7).

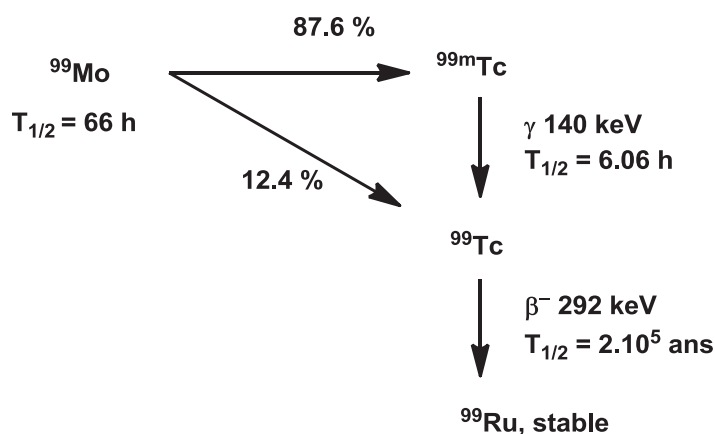


Figure 1.7 Schéma de la décroissance du molybdène 99

²⁰ Perrier, C.; Segre, E., *Nature*, **1937**, *140*, 193.

²¹ R. Dilworth, J.; J. Parrott, S. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 43.

Le ^{99m}Tc est facilement disponible en routine grâce au générateur $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ développé par Brookhaven au début des années 1960.²² En pratique, un générateur $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ est constitué d'une colonne d'alumine sur laquelle est adsorbé très fortement le molybdate polymérisé [$(^{99}\text{Mo}_7\text{O}_{24})^{6-}$]. Ce dernier décroît continuellement en ^{99}Tc et ^{99m}Tc . La colonne est éluée par une solution aqueuse stérile de chlorure de sodium (0,9%) qui va entraîner sélectivement le ^{99}Tc et le ^{99m}Tc , présents sous forme d'ions pertechnétates ($^{99m}\text{TcO}_4^-$ ou $^{99}\text{TcO}_4^-$) faiblement fixés alors que le molybdate est retenu. Ce système stérile bactériologiquement est protégé par du plomb pour la radioprotection (*Figure 1.8*).

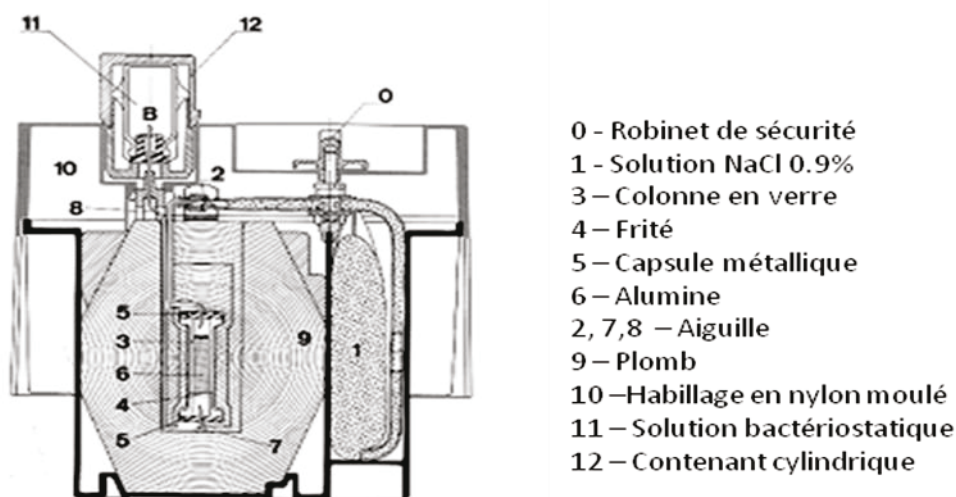


Figure 1.8 Schéma du générateur Mo/Tc IBA/Cis-Bio

2.3. Structure générale des radiopharmaceutiques technétiés

La formule générale des complexes au technétium s'écrit $[\text{Tc X}_n \text{L}_m]$ avec TcX le cœur du complexe et X= oxygène, soufre ou azote, L_m = Ligands. Les cœurs les plus fréquents sont le cœur transdioxo $[\text{TcO}_2]^+$, le cœur monoxo $[\text{TcO}]^{3+}$ et le cœur nitrido $[\text{TcN}]^{2+}$. Les produits radiopharmaceutiques technétiés peuvent être classés selon deux catégories :

1) Les radiopharmaceutiques technétiés de première génération recensent les complexes métalliques dont l'isotope radioactif, le technetium 99m, fait partie intégrante de la structure active sans lequel la molécule ne serait pas délivrée à sa cible (*Figure 1.10, A*). En effet, l'association métal-molécule donne un caractère physico-chimique qui augmente

²² Richards, P., Trans. 5th Nucl. Cong., 7th Int. Electr. Nucl. Symp., 1960.

ou dicte la localisation de la cible et le devenir biologique du composé. La taille du complexe va dicter son passage transmembranaire et sa facilité d'élimination. Sa charge et sa lipophilie détermineront sa perméabilité membranaire. Le complexe ne doit pas être métabolisé dans l'organisme. Les radiopharmaceutiques de première génération sont généralement utilisés pour l'étude des fonctions physiologiques et biologiques des organes (excrétion rénale, perfusion cérébrale, fonction cardiaque...). Un exemple de radiopharmaceutique de première génération disponible commercialement est le Tc-HMPAO²³ (Figure 1.9). Il s'agit d'un agent d'imagerie permettant la mesure du débit sanguin cérébral. Le complexe formé par l'hexaméthylpropylèneamineoxime et le technétium est suffisamment compact et lipophile pour passer la barrière hémato-encéphalique.

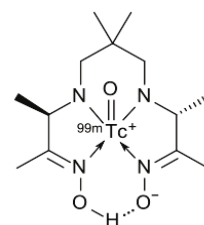


Figure 1.9 Le radiopharmaceutique Ceretec®

2) La demande croissante d'agents d'imagerie plus spécifiques a donné naissance à une seconde génération de radiopharmaceutiques technétiés. Il s'agit des radiopharmaceutiques bioconjugués ou bifonctionnels (Figure 1.10, B). Dans ce cas, le complexe technétié sert uniquement de traceur. Il est lié de manière covalente *via* un bras espaceur à une molécule biologique ayant des interactions spécifiques avec l'organe ou la fonction ciblé. Le radiomarquage ne doit pas modifier les mécanismes biologiques du vecteur.

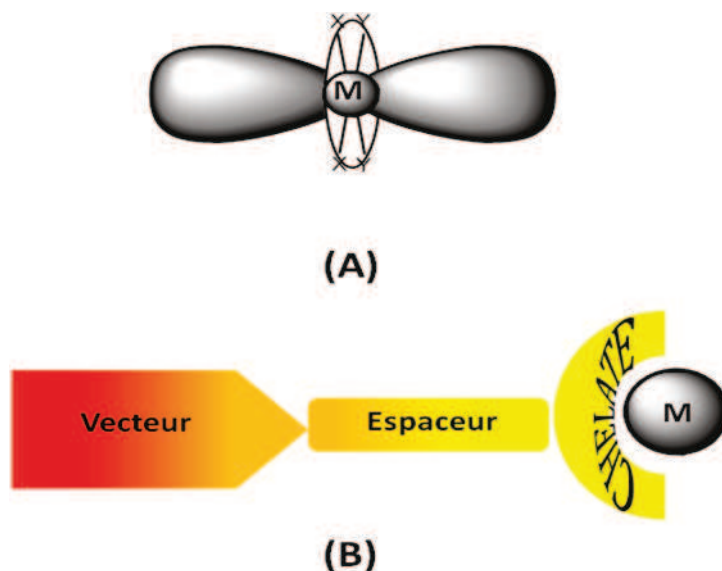


Figure 1.10 Radiopharmaceutiques de première (A) et deuxième génération (B)

²³ Volkert, W. A.; Hoffman, T. J.; Seger, R. M.; Troutner, D. E.; Holmes, R. A. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **1984**, *9*, 511.

Les radiotraceurs que nous avons choisi de développer dans ce projet sont des traceurs bifonctionnels. Ils portent tous le même vecteur 2-nitroimidazole, responsable de la fixation aux cellules hypoxiques, mais diffèrent par la nature de la cage complexante du ^{99m}Tc . Nous présenterons dans la suite de ce rapport, les groupements chélatants que nous avons sélectionnés.

2.4. Les chélates les plus utilisés

2.4.1. Le Groupement Hydrazino Nicotinique (HYNIC)

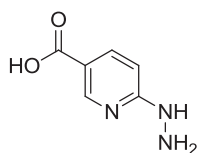


Figure 1.11 Le Groupement HYNIC

Le chélate bifonctionnel HYNIC (*Figure 1.11*) possède à l'une de ses extrémités une fonction acide carboxylique qui lui permet d'être couplé à une biomolécule telle qu'un acide aminé. L'autre extrémité présente une fonction hydrazine ce qui permet la complexation avec le technétium ^{99m}Tc pour former un cœur diazotechnétium. L'utilisation du cœur Tc/HYNIC a été rapportée pour la première fois au début des années 1990 par Abrams et ses collaborateurs²⁴ pour le marquage d'un anticorps. Cette technologie a depuis été développée et est désormais utilisée pour le marquage des protéines²⁵ et peptides.²⁶ Elle est surtout utilisée en recherche pour le marquage de biomolécules en début de développement ou pour étudier leur biodistribution. Bien que beaucoup étudié, le mode de coordination du complexe Tc-HYNIC n'est pas encore très bien établi à ce jour. Puisque le chélate HYNIC peut seulement occuper un ou deux sites de coordination, un coligand tel que la tricine (*N*-[tris(hydroxyméthyl)méthyl]glycine) est nécessaire pour compléter la sphère de coordination du technétium. Le choix des coligands est d'une grande importance à la fois pour la cinétique et l'efficacité de la complexation, pour la stabilité *in vivo* du produit

²⁴ (a) Abrams, M. J.; Juweid, M.; Tenkate, C. I.; Schwartz, D. A.; Hauser, M. M.; Gaul, F. E.; Fuccello, A. J.; Rubin, R. H.; Strauss, H. W.; Fischman, A. J. *J. Nucl. Med.* **1990**, *31*, 2022; (b) Schwartz, D. A.; Abrams, M. J.; Hauser, M. M.; Gaul, F. E.; Larsen, S. K.; Rauh, D.; Zubieta, J. A. *Bioconjugate Chem.* **1991**, *2*, 333.

²⁵ Fonge, H.; de Saint Hubert, M.; Vunckx, K.; Rattat, D.; Nuyts, J.; Bormans, G.; Ni, Y.; Reutelingsperger, C.; Verbruggen, A. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 3794.

²⁶ (a) Babich, J. W.; Solomon, H.; Pike, M. C.; Kroon, D.; Graham, W.; Abrams, M. J.; Tompkins, R. G.; Rubin, R. H.; Fischman, A. J. *J. Nucl. Med.* **1993**, *34*, 1964; (b) Liu, S.; Edwards, D. S.; Looby, R. J.; Harris, A. R.; Poirier, M. J.; Barrett, J. A.; Heminway, S. J.; Carroll, T. R. *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 63; (c) Liu, S.; Hsieh, W.-Y.; Jiang, Y.; Kim, Y.-S.; Sreerama, S. G.; Chen, X.; Jia, B.; Wang, F. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 438.

marqué, ainsi que pour la biodistribution du traceur.²⁷ Le choix des coligands sera discuté dans la partie traitant du marquage des biomolécules synthétisées.

2.4.2. Les chélates N_xS_{4-x}

Il existe 3 classes principales de chélates N_xS_{4-x} : les chélates tétradentés $N_xS_{(4-x)}$ (Figure 1.12, A), les séquences peptidiques type MAG_3 (Mercaptoacétyl triglycine) (Figure 1.12, B) et les ligands (3+1) tridentés avec un ligand thiol monodenté (Figure 1.12, C). Tous possèdent au moins un groupe fonctionnel thiol pour la coordination du technétium sous forme $Tc(V)$. Les complexes formés sont relativement lipophiles.

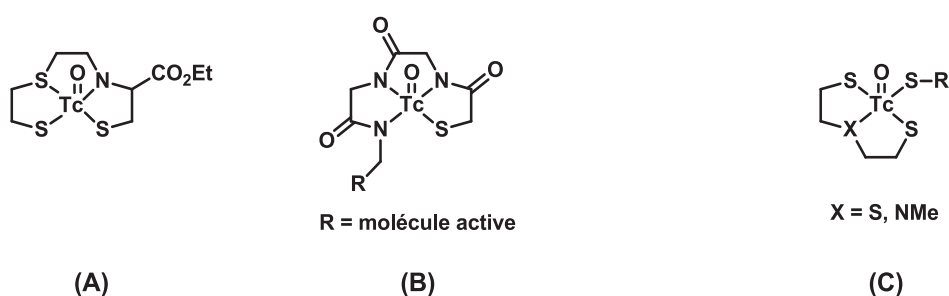


Figure 1.12 Chélates N_xS_{4-x} : (A) Ligands tétradentés $N_xS_{(4-x)}$, (B) Ligands peptidiques amine/amide thiol $Tc(V)$, (C) Ligands $TcO(3+1)$

La classe des ligands tétradentés $N_xS_{(4-x)}$ comprend les ligands type N_3S (triamidethiols, monoaminediamidothiols), type N_2S_2 (diamidedithiols, diaminodithiols, monoamidemonoaminedithiols) et de type NS_3 (monoaminetrithiol, monoamidetrithiol). Les complexes formés ont une structure pyramidale à base carrée avec l'oxygène du cœur $[TcO]^{3+}$ en position apicale. Davison²⁸ et ses collaborateurs développèrent en 1981 le premier exemple de système N_2S_2 avec le bisaminoéthanethiol (BAT). Puis d'autres systèmes N_3S et N_2S_2 ont été utilisés pour le marquage technétié d'anticorps²⁹ et de peptides.^{26b} Deux procédures sont possibles : le marquage avant conjugaison et le marquage après conjugaison.

Les peptides eux mêmes peuvent également former un système chélatant du ^{99m}Tc . Le MAG_3 constitue le plus grand représentant de cette classe. Le $^{99m}Tc-MAG_3$ a d'abord

²⁷ Meszaros, L. K.; Dose, A.; Biagini, S. C. G.; Blower, P. J. *Inorg. Chim. Acta* **2010**, 363, 1059

²⁸ Davison, A.; Jones, A. G.; Orvig, C.; Sohn, M. *Inorg. Chem.* **1981**, 20, 1629.

²⁹ Najafi, A.; Alauddin, M. M.; Siegel, M. E.; Epstein, A. L. *Int. J. of Rad. Appl. and Instr. Part B. Nucl. Med and Biol.* **1991**, 18, 179.

trouvé son application en tant qu'agent d'imagerie des fonctions rénales.³⁰ Le système mercaptoacétyltryglycine a ensuite été utilisé comme ligand bifonctionnel pour le marquage de biomolécules.³¹ Pearson et ses collaborateurs³² ont été les premiers à incorporer dans un peptide une séquence d'acides aminés comme agent chélatant du ^{99m}Tc. La séquence d'acides aminés permet l'introduction de groupements donneurs qui facilitent la formation de la structure pyramidale avec le cœur [TcO]³⁺. Enfin, la classe des ligands [TcO]³⁺ a été développée par Johannsen³³ en 1997. Ce dernier a élaboré une série de complexes de type (SXS+SR) où X=S ou NMe. Le groupement thiol monodenté (SR) porte la conjugaison avec la molécule active, susceptible d'interagir avec l'organe ou la fonction ciblées. Des problèmes de stabilité *in vivo* se sont révélés chez le rat, notamment à cause d'une transchélation du groupement thiol monodenté par le glutathionate présent dans le sang. Mais une pharmacomodulation du ligand tridenté (SXS) permet malgré cela d'augmenter la stabilité de ce complexe.

Ce projet a comme objectifs l'élaboration et l'étude de trois nouveaux radiotraceurs potentiels de l'hypoxie tumorale. Dans cette optique nous avons réalisé la synthèse de deux traceurs nitroimidazolés porteurs du groupement chélatant HYNIC et d'un radiotraceur nitroimidazolé conjugué à un tripeptide Cystéine-Glycine-Lysine permettant la chélation du technétium 99m par un système N₃S. Nous allons désormais développer la synthèse et l'évaluation de ces complexes.

3 Synthèse et étude des ligands nitroimidazolés HYNICs

Comme il a été décrit précédemment, l'utilisation du ligand HYNIC permet la formation d'un complexe très stable avec le ^{99m}Tc. Il existe dans la littérature de nombreux exemples de protéines ou de polypeptides^{25,26} conjugués à ce ligand bifonctionnel. Mais il n'existait pas, au début de notre étude, d'exemples décrivant l'utilisation du motif HYNIC

³⁰ (a) Fritzberg, A. R.; Kasina, S.; Eshima, D.; Johnson, D. L. *J. Nucl. Med.* **1986**, *27*, 111; (b) Brandau, W.; Bubeck, B.; Eisenhut, M.; Taylor, D. M. *Appl. Rad. and Isotopes* **1988**, *39*, 121.

³¹ Guhlke, S.; Schaffland, A.; Zamora, P. O.; Sartor, J.; Diekmann, D.; Bender, H.; Knapp, F. F.; Biersack, H. *J. Nucl. Med. Biol.* **1998**, *25*, 621.

³² (a) Pearson, D. A.; Lister-James, J.; McBride, W. J.; Wilson, D. M.; Martel, L. J.; Civitello, E. R.; Taylor, J. E.; Moyer, B. R.; Dean, R. T. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1361; (b) Pearson, D. A.; Lister-James, J.; McBride, W. J.; Wilson, D. M.; Martel, L. J.; Civitello, E. R.; Dean, R. T. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1372.

³³ Seifert, S.; Pietzsch, H.-J.; Scheunemann, M.; Spies, H.; Syhre, R.; Johannsen, B. *Appl. Radiat. Isot.*, **1997**, *49*, 5.

pour le marquage de petites molécules permettant la détection de l'hypoxie. De plus, la grande variété de coligands pouvant être associés à ce groupement complexant nous permettrait de pouvoir moduler les propriétés pharmacocinétiques et la biodistribution des radiotraceurs synthétisés. C'est pourquoi nous avons fait le choix de ce ligand bifonctionnel. Nous avons opté pour l'utilisation du 2-nitroimidazole en tant que vecteur moléculaire car ce dernier présente une meilleure réponse à l'hypoxie que les isomères 4-nitroimidazoles et 5-nitroimidazoles.³⁴ Ainsi, les deux molécules que nous nous proposons de synthétiser sont illustrées (*Figure 1.13*). Les 2 parties HYNIC et nitroimidazoles sont assemblées soit par l'intermédiaire d'un groupement éthyle soit à l'aide d'un groupement propargyle, ce qui nous permettrait d'étudier l'influence du groupement espaceur sur la biodistribution du traceur. Le choix des espaceurs a été orienté pour des raisons de facilité et de rapidité de synthèse.

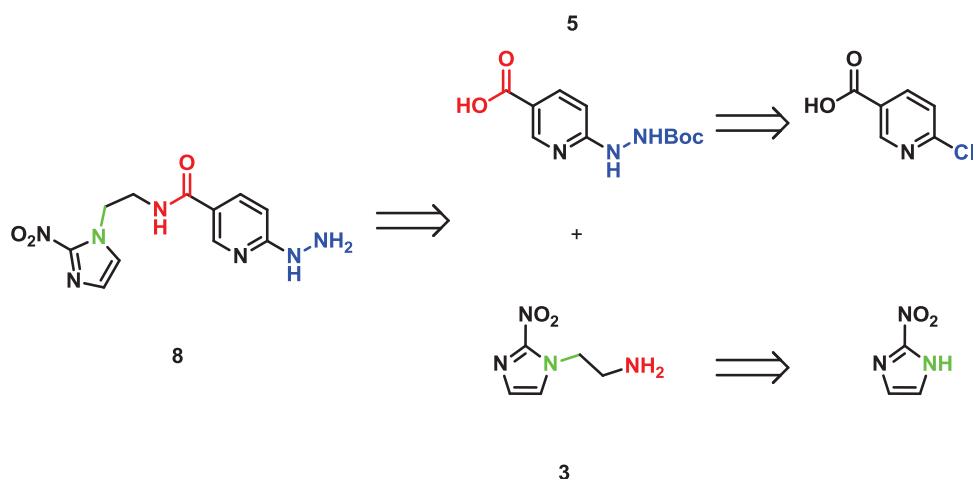


Figure 1.13 Radiotraceurs HYNIC synthétisés

3.1. Synthèse du Ligand 8

Le premier ligand que nous avons choisi de développer, lie le motif 2-nitroimidazole (2-NIM) au groupement hydrazinonicotinique (HYNIC) par une chaîne éthyle. La rétrosynthèse envisagée est présentée (*Schéma 1.1*).

³⁴ (a) Mallia, M. B.; Subramanian, S.; Mathur, A.; Sarma, H. D.; Venkatesh, M.; Banerjee, S. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2008**, *51*, 308; (b) Mallia, M. B.; Subramanian, S.; Mathur, A.; Sarma, H. D.; Venkatesh, M.; Banerjee, S. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 535.

Schéma 1.1 Rétrosynthèse du premier ligand **8**

Le ligand **8** serait obtenu par un couplage peptidique entre l'ester succinimique issu de l'acide carboxylique **5** et le dérivé aminé **3**. D'une part, l'acide hydrazino nicotinique **5** serait préparé par une réaction de substitution nucléophile aromatique de l'hydrazine sur l'acide 2-chloronicotinique. D'autre part, le dérivé **3** serait obtenu par une réaction de *N*-alkylation du 2-nitroimidazole par un dérivé de la bromoéthylamine *N*-protégé suivi d'une déprotection pour libérer l'amine.

3.1.1. Formation de la 2-(2nitroimidazolyl)éthylamine

Nous avons dans un premier temps étudié la réaction de *N*-alkylation du 2-nitroimidazole sur le 2-bromoéthylphthalimide³⁵ correspondant, lequel pouvant alors être facilement déprotégé par hydrazinolyse (*Schéma 1.2*). La première étape conduit au produit alkylé avec un rendement modéré. Le phthalimide est ensuite libéré par réaction avec l'hydrazine et l'amine obtenue est isolée par précipitation en formant le sel d'ammonium par ajout d'HCl. Cependant après divers essais de lavages acido-basiques et recristallisations nous ne sommes pas parvenus à obtenir le produit avec une pureté satisfaisante pour poursuivre la synthèse. En dépit de ce qui est couramment décrit dans la littérature, le produit est en effet contaminé par plusieurs sous-produits notamment le phthalhydrazide.

³⁵ Perlman, M. E.; Dunn, J. A.; Piscitelli, T. A.; Earle, J.; Rose, W. C.; Wampler, G. L.; MacDiarmid, J. E.; Bardos, T. J. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1400.

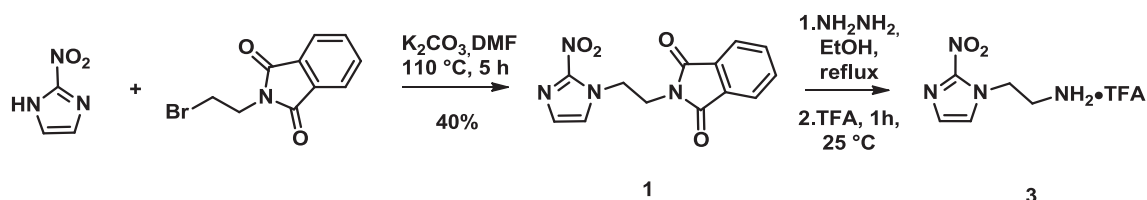


Schéma 1.2 N-alkylation du 2-nitroimidazole *via* le N-(2-bromoéthyl)phtalimide

Nous nous sommes alors appuyés sur les travaux décrits par Hay³⁶ qui effectue une réaction de N-alkylation du 2-nitroimidazole par le 2-bromoéthylcarbamate suivie d'une réaction de déprotection du groupement *t*-Boc en milieu acide (Schéma 1.3).

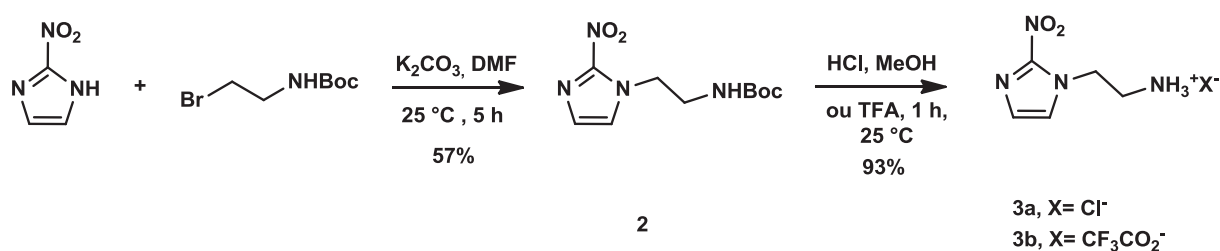


Schéma 1.3 N-alkylation du 2-nitroimidazole par le 2-bromoéthylcarbamate

Le produit est obtenu pur après purification sur gel de silice avec un rendement de 53% sur les deux étapes.

3.1.2. Préparation de l'ester activé de l'acide hydrazino nicotinique (HYNIC)

L'acide hydrazino nicotinique a été préparé à partir de l'acide 2-chloronicotinique selon le protocole développé par Abrams et ses collaborateurs^{24a} (Schéma 1.4). L'acide étant par la suite utilisé dans une réaction de couplage avec une fonction amine, il est nécessaire au préalable de :

- protéger le groupement hydrazine pour éviter une réaction de polymérisation.
- activer la fonction acide carboxylique en ester actif.

³⁶ (a) Hay, M. P.; Wilson, W. R.; Moselen, J. W.; Palmer, B. D.; Denny, W. A. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 381; (b) Su, Z.-F.; Zhang, X.; Ballinger, J. R.; Rauth, A. M.; Pollak, A.; Thornback, J. R. *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 897.

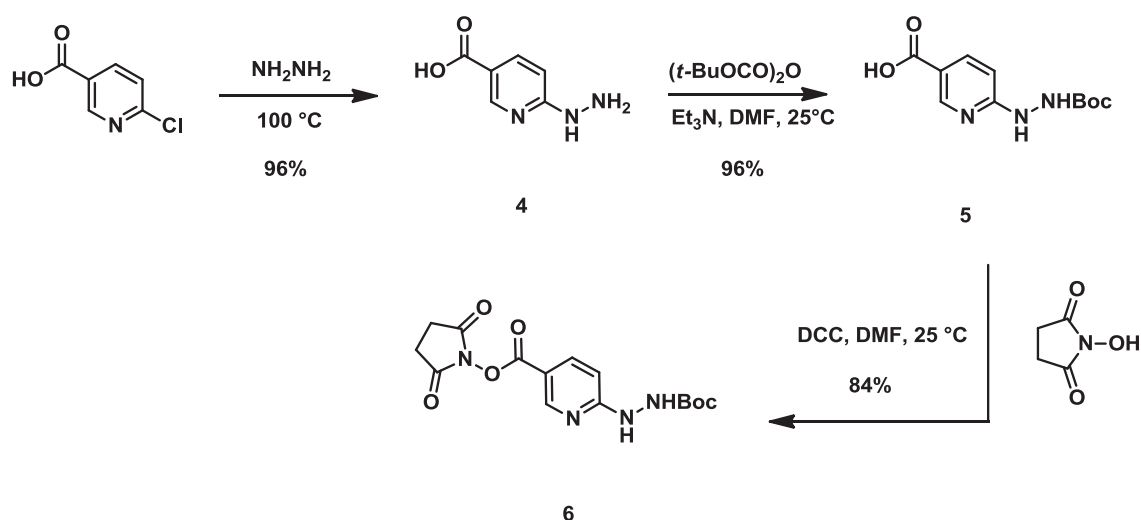
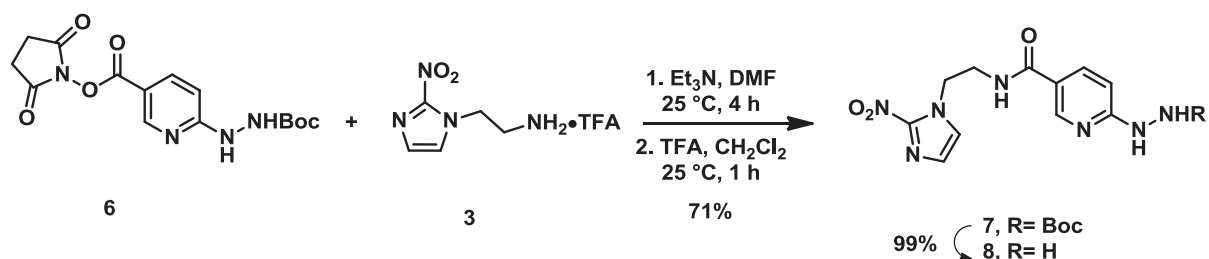


Schéma 1.4 Préparation de l'acide HYNIC protégé

A partir du dérivé **4**, le groupement hydrazine a été protégé sous forme d'un ester *tert*-butylique, conduisant à l'acide **5** avec un rendement de 96%. La fonction acide est ensuite activée sous la forme d'un ester succinimique. Cette méthode permet une conjugaison rapide, efficace et a largement été décrite dans la littérature.^{24,37} Le produit **6** est ainsi isolé avec un rendement de 84%.

3.1.3. Réaction d'amidation


 Schéma 1.5 Couplage entre le dérivé nitroimidazole **3** et le composé **6** protégé pour conduire au ligand **8**

La réaction de couplage entre l'amine nitroimidazolé **3** et le dérivé **6** s'effectue dans le DMF en présence de triéthylamine. Le produit de couplage **7** est alors isolé avec un rendement de 71% (Schéma 1.5). Le ligand **8** est ensuite obtenu après déprotection du composé **7** en milieu acide. Le précurseur est ainsi obtenu en 4 étapes à partir du 2-nitroimidazole, avec un rendement global de 38%.

³⁷ Bridger, G. J.; Abrams, M. J.; Padmanabhan, S.; Gaul, F.; Larsen, S.; Henson, G. W.; Schwartz, D. A.; Longley, C. B.; Burton, C. A.; Ultee, M. E. *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 255.

3.2. Synthèse du Ligand 15

Dans le cas présent, le ligand associe le vecteur (2-nitroimidazole) au groupement chélatant par une liaison alcyne. Le ligand bifonctionnel utilisé ici est très proche du groupement HYNIC décrit plus haut : il possède un cycle pyridine substitué en position 2 par une hydrazine permettant de complexer le technétium. En revanche, la fonction acide carboxylique est ici substituée par un atome d'iode pour permettre une réaction de couplage palladié. La rétrosynthèse qui a été envisagée dans un premier temps est présentée Schéma 1.6.

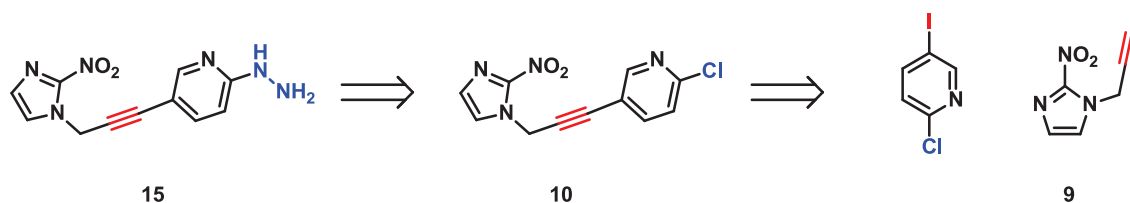


Schéma 1.6 Schéma rétrosynthétique du ligand 15

Le ligand attendu serait préparé à partir d'un précurseur **10** sur lequel nous effectuerions une réaction de substitution nucléophile sur le carbone électrophile en position 2 de la pyridine. Ce précurseur étant lui-même obtenu par couplage de Sonogashira entre la 2-chloro-5-iodopyridine commerciale et le 1-propargyl-2-nitroimidazole **9**. Ce dernier intermédiaire pouvant être synthétisé par une réaction de *N*-alkylation du 2-nitroimidazole par le bromure de propargyle.

3.2.1. Formation du 1-propargyl-2-nitroimidazole

La réaction de *N*-alkylation du 2-nitroimidazole avec le bromure de propargyle a d'abord été effectuée dans l'acétonitrile en présence d'un équivalent de carbonate de potassium³⁸ (Schéma 1.7).

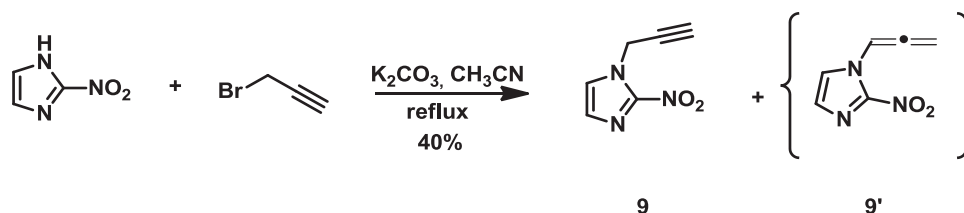


Schéma 1.7 *N*-alkylation du 2-nitroimidazole avec le bromure de propargyle

³⁸ Yap, S.; Woodman, O. L.; Crack, P. J.; Williams, S. J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21 (17), 5102.

Le produit **9** a été obtenu, après lavage acido-basique, avec un rendement de 40%. Cependant la réaction s'est avérée ne pas être reproductible, dans ces conditions. En effet la réaction a été réalisée plusieurs fois et nous avons observé systématiquement la formation d'un mélange de l'alcyne **9** désirée et du dérivé allène **9'** (*Schéma 1.7*) provenant de l'isomérisation de la triple liaison par un transfert de protons. L'isomère allène est l'espèce thermodynamiquement la plus stable et sa formation est favorisée à haute température en milieu basique.³⁹ Une réaction analogue d'alkylation du 2-nitroimidazole par le bromure de 3-triméthylsilylpropargyle a également été réalisée. L'alcyne est obtenu avec une bonne conversion mais la déprotection subséquente du groupement silylé conduit à un mélange de l'isomère alcène et allène. Cela confirme que l'obtention du sous-produit allène **9'** provient bien d'une isomérisation de l'alcyne **9** et ne suit pas une réaction de type SN₂'. Des variations des conditions opératoires (solvants, température, nombre d'équivalents de base) nous ont permis d'optimiser la réaction afin d'obtenir exclusivement l'alcyne avec une excellente pureté. Les résultats regroupant les taux de conversion, déterminés par RMN ¹H, sont donnés dans le *Tableau 1.1*.

| Base (nb équiv.) | Solvant | Température (°C) | % alcyne 9 /% allène 9' |
|--------------------------------------|------------------------------------|------------------|---------------------------------------|
| K ₂ CO ₃ (1) | CH ₃ CN | 85 | Proportions variables |
| K ₂ CO ₃ (2) | CH ₃ CN | 85 | 0/100 |
| K ₂ CO ₃ (1,2) | CH ₃ CN | 85 | 20/80 |
| K ₂ CO ₃ (1) | CH ₃ CN | 25 | 10/90 |
| K ₂ CO ₃ (1) | DMF | 25 | 50/50 |
| K ₂ CO ₃ (1) | (CH ₃) ₂ CO | 25 | 100/0 |

Tableau 1.1 Etude des conditions de réaction de *N*-alkylation

Ce tableau met en évidence l'importance du choix du solvant pour cette réaction. En effet, la réaction dans l'acétone à 25 °C permet d'obtenir de manière reproductible le 2-nitro-1-(propynyl)imidazole **9** avec un rendement isolé de 70%.

³⁹ (a) Kobychyev, V. B.; Vitkovskaya, N. M.; Klyba, N. S.; Trofimov, B. A. *Russ. Chem. Bull.* **2002**, *51*, 774, (b) Hashmi, A. S. K. In *Modern Allene Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH: **2008**.

3.2.2. Couplage de Sonogashira avec la 2-chloro-5-iodopyridine

Le couplage de Sonogashira entre la 2-chloro-5-iodopyridine et l'alcyne nitroimidazolé **9** s'effectue exclusivement en position 5, l'étape d'addition oxydante se faisant préférentiellement sur l'atome d'iode. Nous avons effectué la réaction de couplage en utilisant les conditions classiques décrites dans la littérature (*Schéma 1.8*).⁴⁰

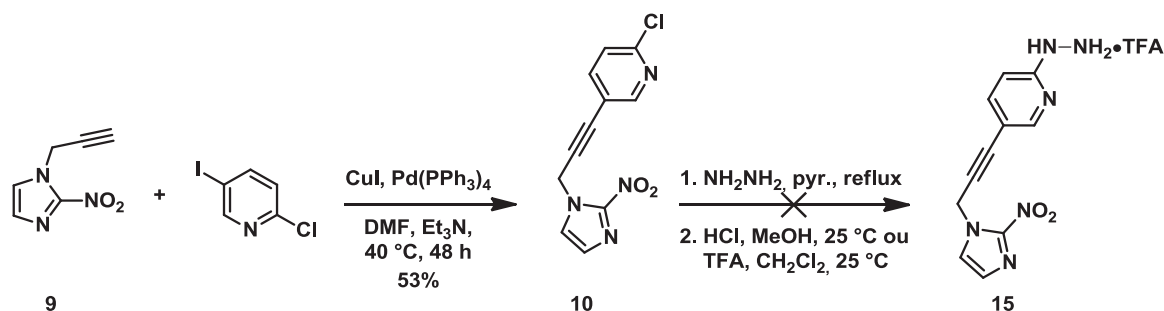


Schéma 1.8 Couplage de Sonogashira à partir de la 2-chloro-5-iodopyridine.

Ainsi, le produit de couplage **10** est isolé avec un rendement de 53%. L'étape suivante concerne l'étape de substitution nucléophile aromatique par l'hydrazine pour conduire au ligand **15**. Malheureusement les conditions décrites dans la littérature pour réaliser une telle substitution, ne nous ont pas permis d'obtenir le produit attendu. En effet, la réaction conduit à un mélange de composés. Néanmoins nous sommes parvenus à isoler un composé qui est obtenu majoritairement dans ce mélange et qui correspond à la cétone représentée *Schéma 1.9*. Cette transformation peut s'expliquer par une réaction d'hydroamination de type Cope⁴¹ entre l'hydrazine et le précurseur alcyne pour former intermédiairement une imine qui, après hydrolyse, conduit à la formation de la cétone **11** correspondante.

⁴⁰ Bunzen, J.; Hapke, M.; Lützen, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3885.

⁴¹ Cebrowski, P. H.; Roveda, J.-G.; Moran, J.; Gorelsky, S. I.; Beauchemin, A. M., *Chem. Commun.* **2008**, 492.

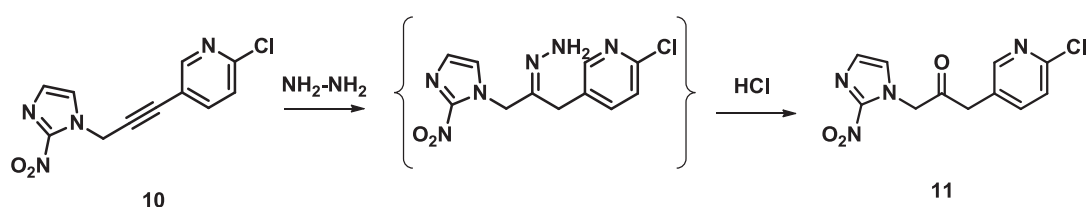


Schéma 1.9 Réaction d'hydroamination de type Cope sur la triple liaison suivie d'une hydrolyse de l'imine intermédiaire formée

La dernière étape ne permettant pas d'avoir accès au ligand attendu, nous avons décidé de procéder à une permutation d'étapes. Ainsi, la substitution par l'hydrazine sur une 2-chloropyridine serait effectuée avant la réaction de couplage de Sonogashira (*Schéma 1.10*).

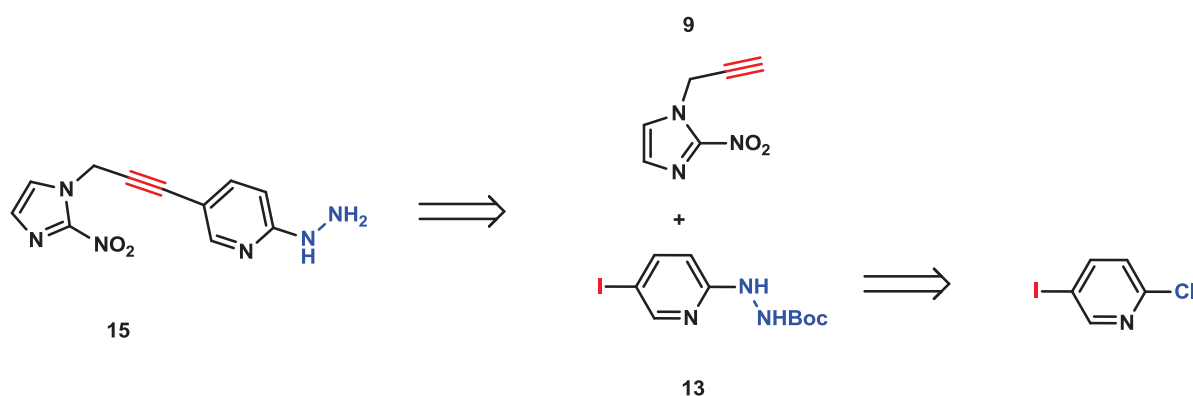


Schéma 1.10 Rétrosynthèse illustrant la permutation d'étapes

3.2.3. Addition de l'hydrazine sur la 2-chloro-5-iodopyridine

L'addition d'hydrazine sur la 2-chloro-5-iodopyridine s'effectue dans la pyridine à 120 °C⁴² et conduit à la formation du produit de substitution **12** avec un rendement de 90%. La fonction amine libre du groupement hydrazine est ensuite protégée par un groupement *t*-Boc afin d'éviter la formation à nouveau du produit d'hydroamination. Le produit protégé **13** est obtenu avec un rendement de 85%.

⁴² Ramesh, C.; Nayak, T. K.; Burai, R.; Dennis, M. K.; Hathaway, H. J.; Sklar, L. A.; Prossnitz, E. R.; Arterburn, J. B. *J. Med. Chem.* **2009**, *53*, 1004.

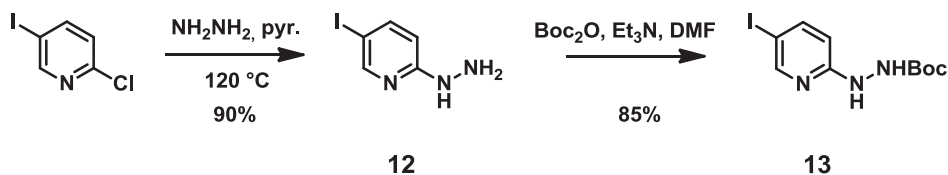


Schéma 1.11 Addition de l'hydrazine et réaction de protection de l'amine terminale

3.2.4. Couplage de Sonogashira et déprotection conduisant au ligand 15

Les conditions expérimentales du couplage de Sonogashira utilisées précédemment (cf. 3.2.2) ont été à nouveau employées. Le produit de couplage **14** ainsi obtenu est ensuite déprotégé par une hydrolyse acide. Le deuxième ligand **15** est finalement obtenu avec un rendement global de 41% à partir de la 2-chloro-5-iodopyridine.

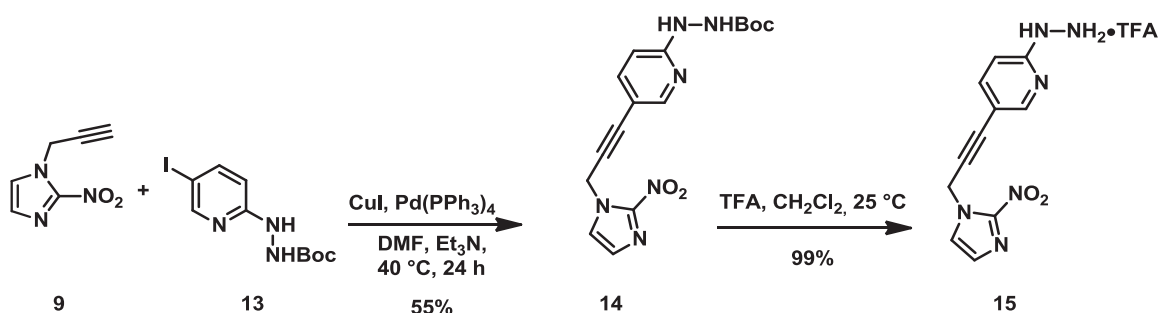


Schéma 1.12 Couplage de Sonogashira et déprotection de l'hydrazine

3.3. Radiomarquage des ligands HYNICs

3.3.1. Radiomarquage du motif HYNIC

Le complexe formé entre le technétium et le ligand HYNIC seul n'est pas stable. L'utilisation de coligands est nécessaire pour compléter la sphère de coordination du métal. Le choix de ces coligands est d'une grande importance pour la cinétique et l'efficacité du radiomarquage mais aussi pour la stabilité du complexe *in vivo*. De nombreux coligands et combinaisons de coligands ont été étudiés incluant les agents chélatants polydentés (glucarate, mannitol, glucamine,⁴³ tricine^{26c,44} et l'acide éthylènediamine-diacétique

⁴³ J.W. Babich, A.J. Fischman, *Nucl. Med. Biol.* **1995**, *22*, 25.

⁴⁴ (a) S. Liu, M.C. Ziegler, D.S. Edwards, *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 113; (b) C. Decristoforo, S.J. Mather, *Eur. J. Nucl. Med.* **1999**, *26*, 869; (c) C. Decristoforo, B. Faintuch-Linkowski, A. Rey, E. von Guggenberg, M. Rupprich, I. Hernandez-Gonzales, T. Rodrigo, R. Haubner, *Nucl. Med. Biol.* **2006**, *33*, 945; (d) D.S. Edwards, S. Liu, A.R. Harris, M.J. Poirier, B.A. Ewels, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 803.

(EDDA)),^{44,45} et monodentés (tels les triphénylphosphines mono-, di- and tris(sulfonate),^{45,46} acides niconitiques, acides isonicotiniques⁴⁵ et acides 2,6-pyridinedicarboxyliques).⁴⁷

Lors de la formation d'un complexe de ^{99m}Tc , le pertechnétate ($[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$) est dans un premier temps réduit en espèces métastables qui sont alors stabilisées par le ligand. Si le ligand ne forme pas un complexe suffisamment fort avec le ^{99m}Tc ou si la réaction de complexation est lente comparée au taux de réduction, la forme réduite du ^{99m}Tc risque de se dégrader en une forme thermodynamiquement stable et relativement non-réactive, les colloïdes TcO_2 . Si le ligand d'intérêt ne réagit pas assez rapidement avec les espèces réduites du ^{99m}Tc , il est parfois possible de former un complexe intermédiaire avec un ligand faible.⁴⁸ A l'exception de l'EDDA, les coligands polydentés sont faiblement chélatant et forment des complexes cinétiques peu stables dans le temps. Ces complexes cinétiques servent d'intermédiaires : ils sont facilement transchélatés par des ligands bidentés plus fortement chélatants (EDDA) ou des ligands monodentés pour former des complexes plus stables et plus homogènes (moins grand nombre d'isomères). Nous avons choisi de réaliser le marquage en utilisant un mélange de coligands EDDA/tricine relativement bien décrit dans la littérature (*Schéma 1.13*)^{26b,49} et dans lequel le pertechnétate est réduit à l'aide de chlorure stanneux (SnCl_2). Le marquage s'effectue à l'état de traces (quelques μg de précurseur et quelques pg de ^{99m}Tc).

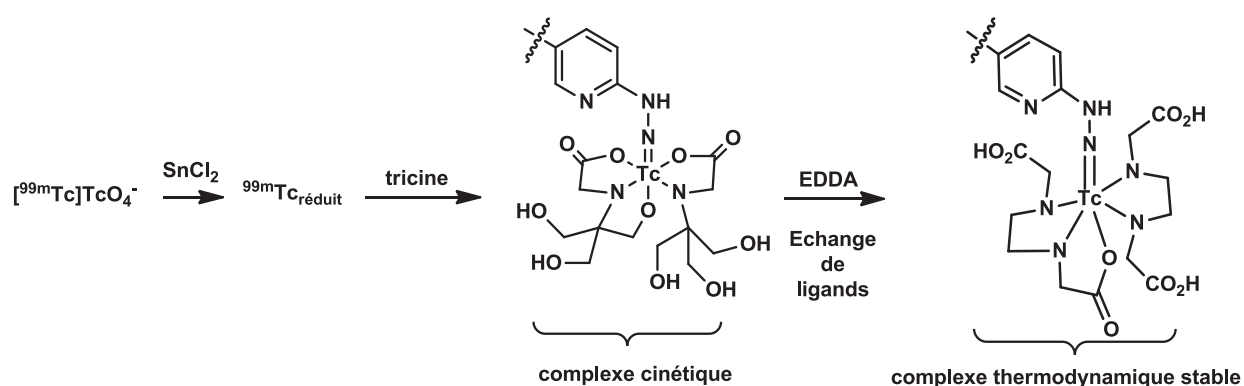


Schéma 1.13 Radiomarquage au $[\text{}^{99m}\text{Tc}]$ d'une biomolécule avec un motif HYNIC par échange de ligand

⁴⁵ (a) C.L. Santos-Cuevas, G. Ferro-Flores, C.A. de Murphy, P.A. Pichardo-Romero, *Nucl. Med. Commun.* **2008**, *29*, 741; (b) G. Ferro-Flores, C.A. de Murphy, J. Rodriguez-Cortes, M. Pedraza-Lopez, M. Ramirez-Iglesias, *Nucl. Med. Commun.* **2006**, *27*, 371.

⁴⁶ I. Dijkgraaf, J.A.W. Kruijtzter, S. Liu, A.C. Soede, W.J.G. Oyen, F.H.M. Corstens, R.M.J. Liskamp, O.C. Boerman, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **2007**, *34*, 267.

⁴⁷ S. Liu, W.Y. Hsieh, Y.S. Kim, S.I. Mohammed, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 1580.

⁴⁸ Steigman, J.; Eckelman, W. C.; Hahn, R. L. *The chemistry of technetium in medicine*; National Academy Press Washington, DC, **1992**.

⁴⁹ Larsen, S. K.; Solomon, H. F.; Caldwell, G.; Abrams, M. J. *Bioconjugate Chem.* **1995**, *6*, 635.

3.3.2. Radiomarquage des ligands HYNICs

La réaction de complexation entre le ligand **8** et le ^{99m}Tc s'effectue à 100 °C pendant 15 min en présence des coligands tricine/EDDA ($20 \text{ mg.mL}^{-1}/10 \text{ mg.mL}^{-1}$) et en milieu légèrement basique (NaOH 0,1 N, pH = 8). Un mélange de produits marqués est obtenu, comme l'atteste le chromatogramme *Figure 1.14*.

Malgré des variations des conditions de marquage (température, *ratio* quantité coligand/quantité radioélément), nous observons toujours le même profil CLHP, présentant plusieurs pics. L'analyse du chromatogramme UV du brut réactionnel (*Figure 1.15*) indique une disparition du précurseur **8** ($t_r = 10,2 \text{ min}$) au profit de plusieurs sous-produits, lors de la réaction de complexation à 100 °C. Ce même phénomène de dégradation est observé par simple chauffage du précurseur **8** à différentes températures (50 °C, 70 °C, 100 °C) dans une solution de NaCl 0,9%, en l'absence de réducteur tel que SnCl_2 .

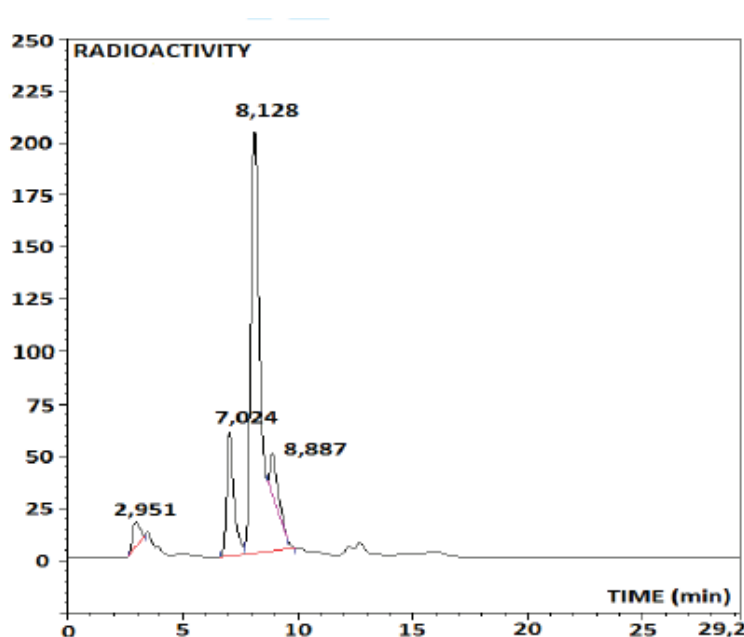


Figure 1.14 Chromatogramme en détection radioactivité après la formation du complexe ^{99m}Tc -**8**

Une analyse par CL-SM des échantillons avant et après chauffage à 100 °C a permis l'identification de certains de ces sous-produits dont les structures supposées sont représentées *Figure 1.16*. Il s'agirait de produits de réduction du groupement nitro et des produits d'oxydation de la partie hydrazine. En effet l'hydrazine portée par la pyridine est susceptible de réduire de façon intermoléculaire ou intramoléculaire le groupement nitro

du 2-nitroimidazole. Plusieurs espèces ainsi générées seraient susceptibles de former elles aussi, des complexes stables avec le technétium.

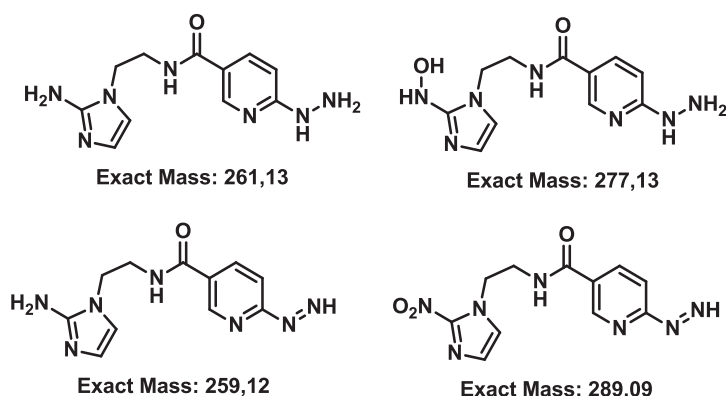
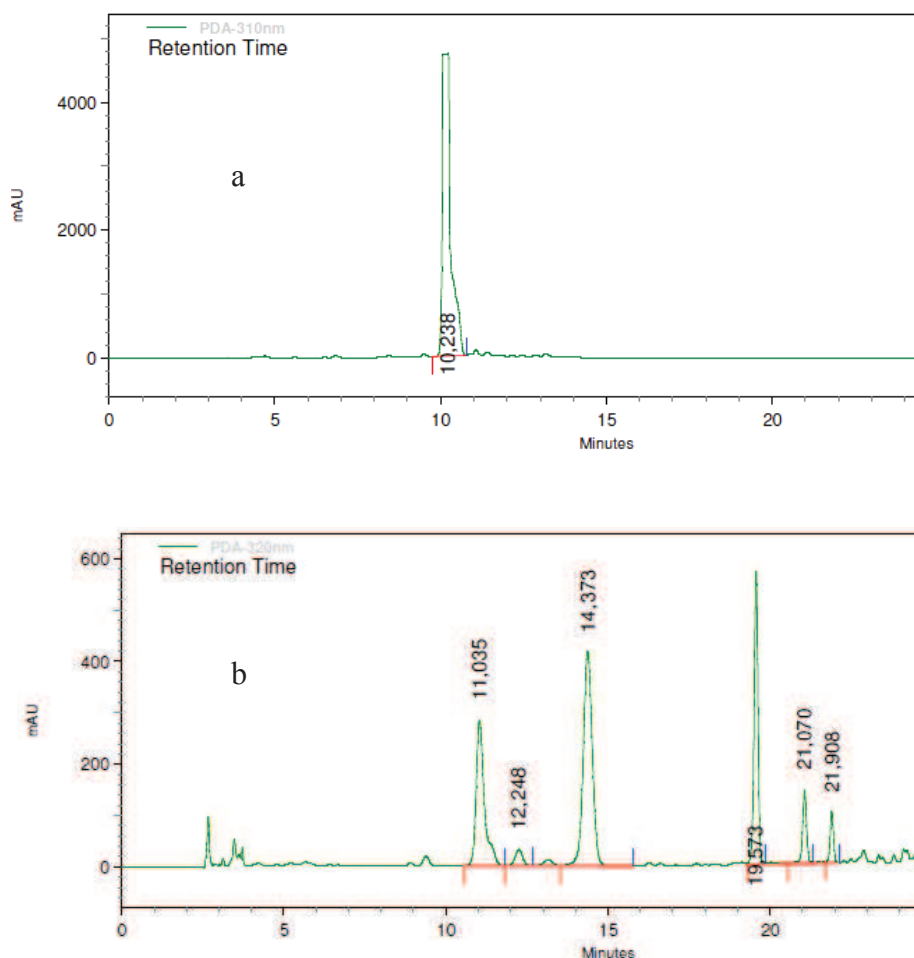


Figure 1.16 Structures supposées des produits de dégradation du précurseur **8** après chauffage à 100 °C dans NaCl 0,9% pendant 10 min

Le radiomarquage du ligand **15** a été effectué dans les mêmes conditions que pour le ligand **8**. Le chromatogramme montre un profil radio-CLHP similaire à celui du premier ligand. De nouveau, nous constatons en UV, une dégradation du précurseur dans les conditions de complexation. Une étude de la stabilité du ligand dans une solution de NaCl à 0,9% à 100 °C pendant 10 min a été réalisée et encore une fois l'étude par CL-SM a mis en évidence la formation de sous-produits issus de la réduction du groupement nitro (*Figure 1.17*). De plus, des produits issus de réactions secondaires d'hydroamination de type Cope⁴¹ sont également observés.

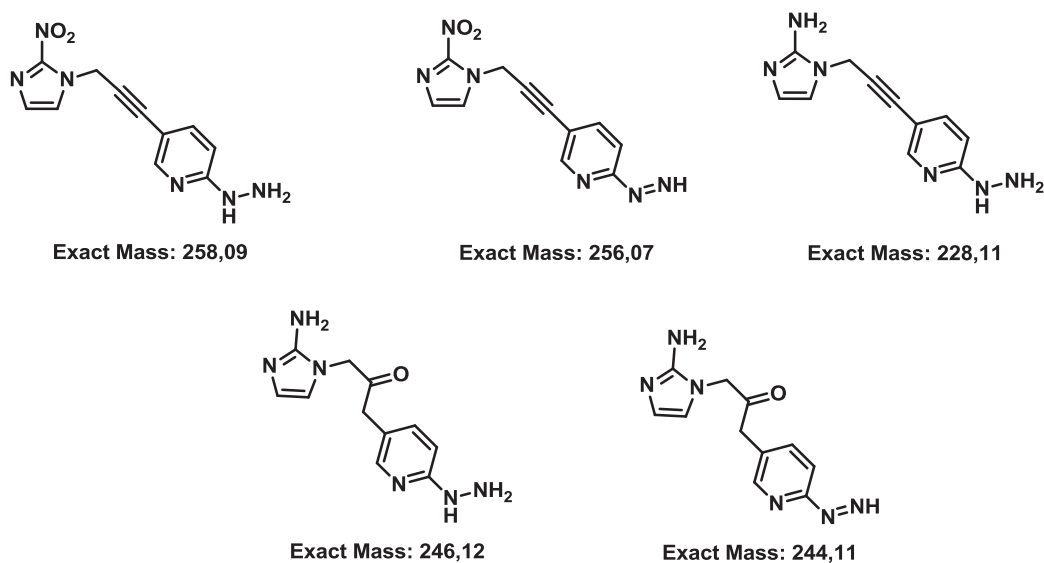


Figure 1.17 Structures supposées des produits de dégradation du précurseur **15** après chauffage à 100 °C dans NaCl 0,9% pendant 10 min

A la fin de l'année 2011, alors que nous terminions cette étude, Liu et ses collaborateurs⁵⁰ ont publié le premier traceur nitroimidazolé incorporant le ligand bifonctionnel HYNIC. A la différence des nos traceurs, le 2-méthyle-5-nitroimidazole est utilisé comme vecteur par ces auteurs, qui ne décrivent pas de produits de dégradation. Ceci pourrait s'expliquer par la valeur plus faible du potentiel de l'isomère 5 par rapport à l'isomère 2 du nitroimidazole.⁵¹ Nous pouvons donc supposer que la fonction hydrazine n'est pas suffisamment réductrice pour réagir avec le groupement nitro du 2-méthyl-5-nitroimidazole et par conséquent justifierait le choix de ce vecteur. Cependant la plus faible valeur de potentiel de 2-méthyl-nitroimidazole rend également sa réduction par les nitroréductase plus difficile, ce qui expliquerait ainsi la très faible captation du traceur dans les régions hypoxiques.

⁵⁰ Liu, L.; Zhang, M.; Zhong, G.; Wang, X. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2011**, 287, 847.

⁵¹ Squella, J.A.; Campero, A.; Maraver, J.; Carbajo, J. *Electrochim. Acta* **2006**, 52, 511.

L'utilisation d'un ligand HYNIC associé à un vecteur 2-nitroimidazole ne semble ici pas compatible dans les conditions de radiomarquage. C'est pour cela que nous nous sommes intéressés à la synthèse d'un nouveau ligand possédant un groupement chélatant différent, non réducteur vis-à-vis du groupement nitro. Le nouveau traceur envisagé incorpore une séquence tripeptide permettant la complexation du technétium. Nous allons désormais présenter la synthèse du traceur, le marquage et l'évaluation biologique de celui-ci.

4 Synthèse du ligand tripeptide

Il existe de nombreux exemples dans la littérature de marquages au ^{99m}Tc de polypeptides où les séquences d'acides aminés jouent le rôle d'agent chélatant (N_xS_{4-x}). Mais à ce jour il existe peu d'exemples de **radiotraceurs de l'hypoxie** utilisant une séquence peptidique pour complexer le ^{99m}Tc . En effet, seul les travaux de Ballinger^{36b,52} rapportent l'utilisation de traceurs nitroimidazolés incorporant des séquences Glycine-Sérine-Cystéine et Glycine-glycine-cystéine comme chélates du technétium-99m. Cependant les tests *in vitro* réalisés sur ces derniers, montrent une accumulation dans les cellules hypoxiques relativement modeste.

Nous nous sommes donc intéressés à la synthèse d'un nouveau radiotraceur possédant un groupement chélatant tripeptidique et qui pourrait permettre la détection des cellules hypoxiques (*Figure 1.18*). Nous avons choisi une séquence Cystéine-Lysine-Glycine liée au 2-nitroimidazole par une chaîne éthyle. La présence d'une amine libre assurerait très probablement une faible lipophilie favorisant une clairance rapide du traceur des tissus sains et donc un meilleur contraste. La possibilité d'une fonctionnalisation ultérieure de la chaîne latérale de la lysine serait également une option intéressante.

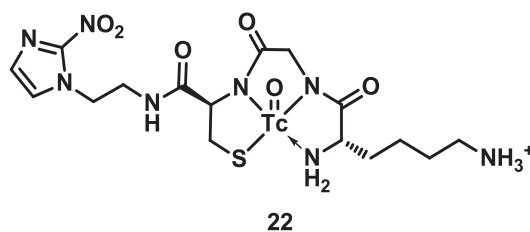


Figure 1.18 Nouveau traceur utilisant un chélate Cys-Gly-Lys

⁵² Zhang, X.; Su, Z.-F.; Ballinger, J. R.; Rauth, A. M.; Pollak, A.; Thornback, J. R. *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 401.

4.1. Synthèse du ligand à base tripeptide

4.1.1. Rétrosynthèse

Pour synthétiser ce ligand, trois liaisons peptidiques doivent être formées. Nous avons choisi de construire le peptide par une méthode convergente (*Schéma 1.14*) plutôt qu'une synthèse linéaire. Le ligand **21** serait synthétisé par couplage du dipeptide protégé L-Lysine-Glycine **19** avec l'intermédiaire **17** porteur du motif nitroimidazole, suivi d'une étape de déprotection. Le produit **17** pourrait être obtenu par couplage du dérivé **3** précédemment décrit (cf. 3.1.1) avec la *N*-Fmoc-S-trityl-L-Cystéine commerciale. Enfin le dipeptide **19** pourrait être obtenu par couplage de la *N,N*-(Boc)₂-L-Lysine avec l'ester méthylique de la glycine suivi d'une saponification de la fonction ester.

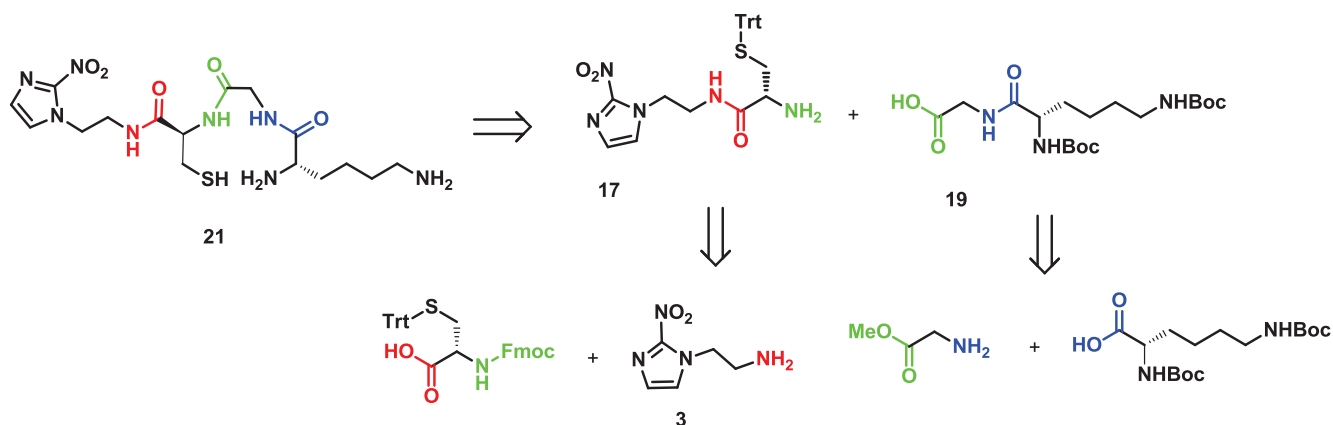


Schéma 1.14 Rétrosynthèse du radiotracteur tripeptide **21**

4.1.2. Couplage du 2-(2-nitroimidazolyl)éthylamine avec la *N*- α -Fmoc-S-trityl-L-cystéine

La 2-(2-nitroimidazolyl)éthylamine **3** est préparée selon la méthode précédemment décrite (cf. 3.1.1). Le composé **3** est engagé dans une réaction de couplage peptidique (*Schéma 1.15*) avec la *N*- α -Fmoc-S-trityl-L-cystéine.

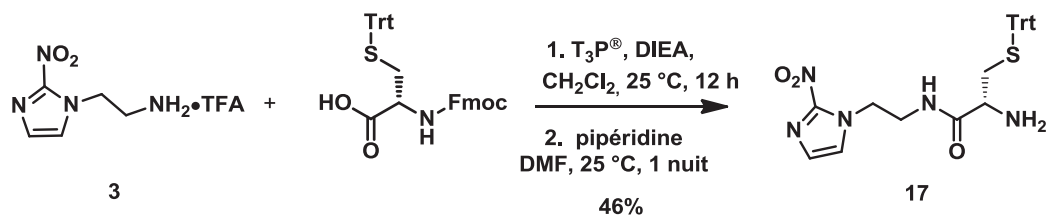


Schéma 1.15 Couplage entre la 2-(2-nitroimidazolyl)éthylamine **3** et la *N*- α -Fmoc-S-trityl-L-cystéine

Nous avons utilisé pour cette réaction, l'anhydride d'acide propane-phosphonique ($T_3P^{\text{®}}$), un agent de couplage très apprécié du secteur industriel car facile à éliminer, peu coûteux et faiblement racémisant. Le rendement ainsi obtenu est de 86%. La déprotection du groupement Fmoc s'effectue dans les conditions basiques⁵³ pour conduire au dérivé **17** avec un rendement de 53%. Ce rendement modéré est principalement dû à l'étape de purification sur gel de silice. Le produit étant fortement polaire, une partie reste fixée sur le gel de silice, même lorsque celle-ci est désactivée par ajout de triéthylamine. Une autre tentative de purification avait été réalisée au préalable pour éliminer l'impureté fulvène mais sans succès. Il s'agissait d'une tentative d'extraction de l'impureté, par l'éther de pétrole, le brut réactionnel ayant été dissous dans l'acétonitrile.

4.1.3. Formation du dipeptide *N,N*-(Boc)₂-L-Lys-Gly-OH

Cette réaction de couplage peptidique fait intervenir l'ester méthylique de la glycine sous forme chlorhydrate, et la *N*- α,ϵ -di-Boc-L-Lysine sous la forme du sel de Dicyclohexylammonium (DCHA) (Schéma 1.16). Les mêmes conditions (CH₂Cl₂, $T_3P^{\text{®}}$, DIEA) que le premier couplage peptidique conduisant à **17** ont été utilisées car elles s'étaient révélées efficaces. Le dipeptide **18** a ainsi été produit avec un rendement de 86%. Enfin la saponification de l'ester méthylique par la lithine (LiOH) en milieu aqueux suivi d'une neutralisation à pH = 7 conduit à l'acide **19** avec un rendement de 96%.

⁵³ Atherton E, Sheppard RC. The fluorenylmethoxycarbonyl amino protecting group. In: Udenfriend S, Meienhofer J, editors. *The Peptides*. Academic Press; New York: **1987**, 1.

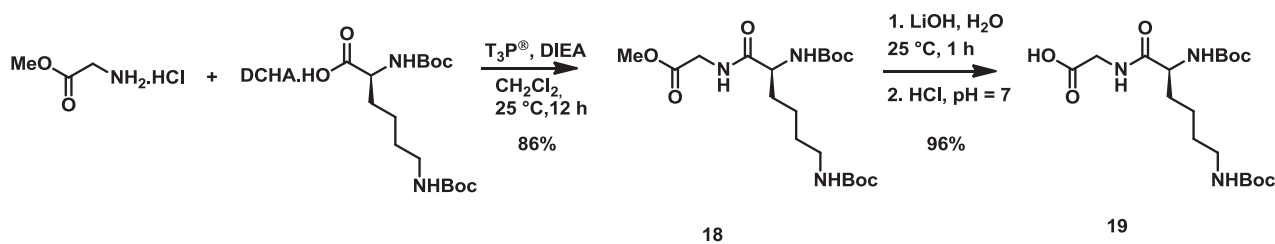


Schéma 1.16 Couplage entre la *N,N*-(Boc)₂-L-Lysine et la glycine *O*-méthylester

4.1.4. Formation du tripeptide Cys-Gly-Lys

Cette étape permet la formation du tripeptide souhaité à partir des deux synthons synthétisés précédemment. En utilisant encore une fois les mêmes conditions de couplage, le tripeptide **20** est obtenu avec un rendement de 65% (Schéma 1.17).

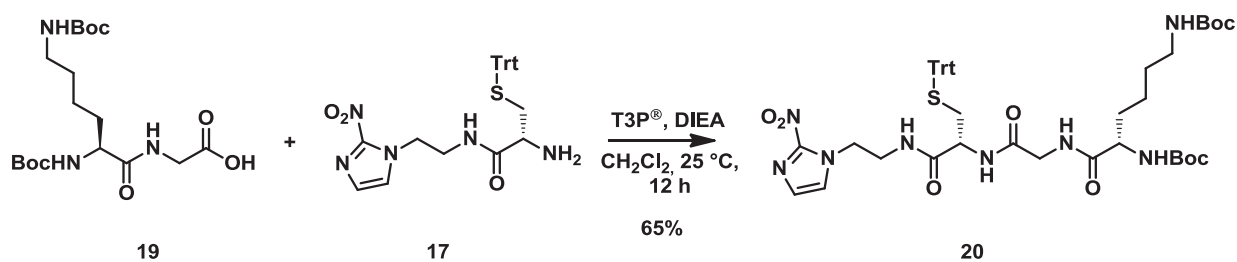


Schéma 1.17 Formation du tripeptide **20** par couplage peptidique

La réaction de couplage a également été expérimentée à partir de l'ester méthylique en réalisant successivement la saponification puis la réaction de couplage. Lors de cette réaction un intermédiaire carboxylate de lithien se forme. L'agent de couplage doit impérativement être un agent de couplage cationique tel que HBTU, de manière à réagir sélectivement avec l'intermédiaire lithié formé. La formation de l'intermédiaire carboxylate est suivie par CLHP et le rendement global des deux étapes est de 53%.

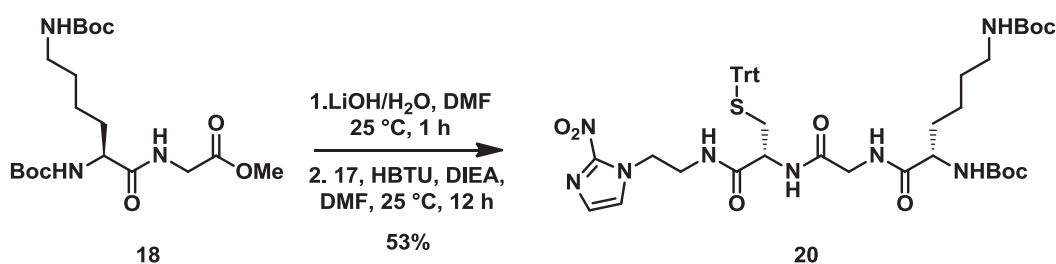
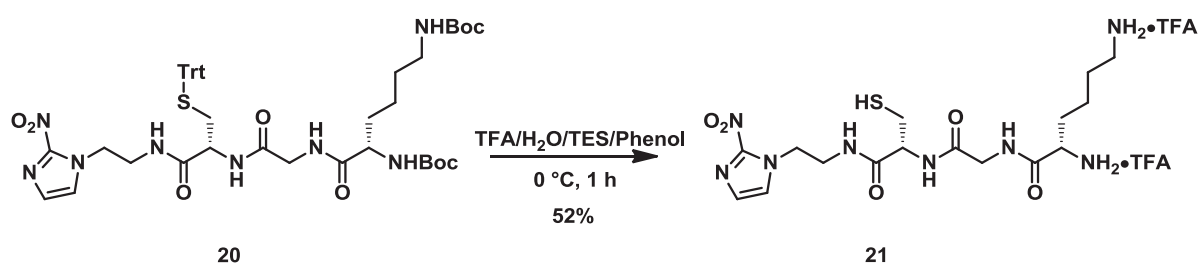


Schéma 1.18 Réaction one-pot de saponification-couplage

4.1.5. Déprotection du tripeptide

La déprotection du tripeptide **20** s'effectue en une seule étape à l'aide d'acide trifluoro acétique (TFA), ce qui justifie le choix des groupements protecteurs *t*-Boc et trityle au début de la synthèse. Cependant, la libération du groupement trityle génère la formation d'un carbocation, ce qui implique l'utilisation de scavengers triéthylsilane et phénol (*Schéma 1.19*). Le produit obtenu **21** est isolé par précipitation dans l'éther et il est purifié par CLHP préparative en phase inverse. Le rendement de la réaction est de 52% et le rendement global de la synthèse est de 12%. Afin de prévenir l'oxydation de la fonction thiols et donc la formation de ponts disulfures, le produit **21** est stocké sous atmosphère inerte au congélateur. Ces conditions permettent la conservation du produit durant plusieurs mois.

Schéma 1.19 Déprotection du tripeptide **20**

4.2. Radiomarquage et propriétés physico-chimiques du ligand

Comme évoqué dans la partie 2.4.2, les systèmes N₃S conduisent à la formation de complexes technétiés stables, et l'addition de coligands pour stabiliser le complexe n'est cette fois-ci pas requise. Le rendement de marquage est déterminé par CCM à détection

radioactive, par rapport à la quantité de pertechnétate restant. La pureté radiochimique est quant à elle évaluée par radio-CLHP. La réaction de marquage réalisée au centre Henri Becquerel est illustrée (*Schéma 1.20*). Nous supposons dans le cas présent et d'après la littérature,^{31,54} la formation d'un complexe de type diamide-amine-thiol.

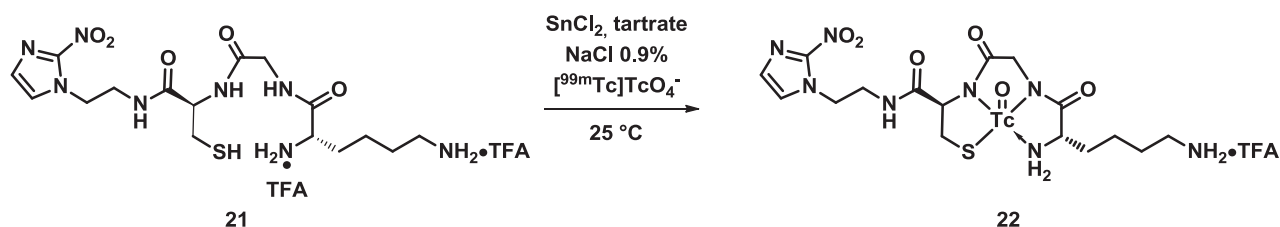


Schéma 1.20 Radiomarquage au [^{99m}Tc] du ligand tripeptide **21**

Le taux de conversion obtenu après 10 min à 25 °C est de 76% (entrée 1, *Tableau 1.2*). Afin de favoriser la cinétique de complexation, l'ajout de tartrate de sodium ou de glucoheptonate de sodium est souvent décrit.⁵⁵ L'ajout de tartrate en excès (*ratio* 1/1000 par rapport au chlorure d'étain) nous a permis d'augmenter le taux de conversion (entrée 2). Ainsi, un taux de conversion maximal de 95% a été observé après 1 h à 25 °C (entrée 3). Le temps de réaction a été ramené à 10 min par simple chauffage à 100 °C (entrée 4). Dans ces conditions, le complexe technétié **22** est obtenu avec un rendement radiochimique de 95% et une pureté radiochimique supérieure à 95%. Il est toutefois intéressant de noter qu'il est nécessaire d'effectuer un contrôle strict du pH pour cette réaction. En effet, les essais réalisés à pH basique (pH = 9) ou en milieu acide (pH= 3-4) (entrées 5 et 6) ont conduit à une diminution importante des taux de conversion. Il est préférable de tamponner le milieu réactionnel afin de s'assurer de rester dans la gamme de pH nécessaire au bon déroulement de la réaction. Par ailleurs, il est important de noter que la solution d'étain stanneux impliquée dans la réaction doit être préparée à chaque marquage et ne peut pas être conservée. En effet, l'étain s'oxydant facilement avec le temps, la réduction du pertechnétate est moins efficace et les rendements et puretés radiochimiques obtenus sont moins élevés.

⁵⁴ (a) Liu, S.; Edwards, D. S. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2235; (b) Cantorias, M. V.; Howell, R. C.; Todaro, L.; Cyr, J. E.; Berndorff, D.; Rogers, R. D.; Francesconi, L. C. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 7326.

⁵⁵ (a) Stepniak-Biniakiewicz, D.; Chen, B.; Deutsch, E. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 274; (b) Rajagopalan, R.; Grummon, G. D.; Bugaj, J.; Halleman, L. S.; Webb, E. G.; Marmion, M. E.; Vanderheyden, J.-L.; Srinivasan, A. *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 407.

| Entrée | Précurseur (μg) | Tartrate de Sodium (mg) | pH | Température ($^{\circ}\text{C}$) | Temps (min) | Conversion ^a (%) |
|--------|---------------------------------|----------------------------|------------------|---------------------------------------|----------------|--------------------------------|
| 1 | 100 | - | 7 | 25 | 10 | 76 |
| 2 | 10 | 20 | 5 | 25 | 10 | 89 |
| 3 | 10 | 20 | 5 | 25 | 60 | 95 |
| 4 | 10 | 20 | 5 | 100 | 10 | <95 |
| 5 | 10 | 20 | 9 ^b | 100 | 10 | 38 |
| 6 | 10 | 20 | 3-4 ^c | 100 | 10 | 38 |

(a) Conversion estimée par Radio-CLHP

(b) Tampon phosphate, 0,2M

(c) Tampon acide citrique, 20 mM

Tableau 1.2 Optimisation des conditions de radiomarquage du précurseur **21**

L'analyse du chromatogramme (*Figure 1.19*) du produit radiomarqué nous indique la présence de 2 pics majoritaires à $t = 22,2$ min et $t = 23,9$ min, pouvant correspondre aux diastéréoisomères *syn* et *anti* du complexe. En effet, l'existence de ces deux diastéréoisomères est due à la participation de l'atome C- α de la Lysine dans le plan de chélation (*Figure 1.20*).⁵⁴ L'atome de technétium se retrouve au centre d'une structure pyramidale à base carrée où les atomes d'azote et de soufre se trouvent à la base et l'oxygène en position apicale.

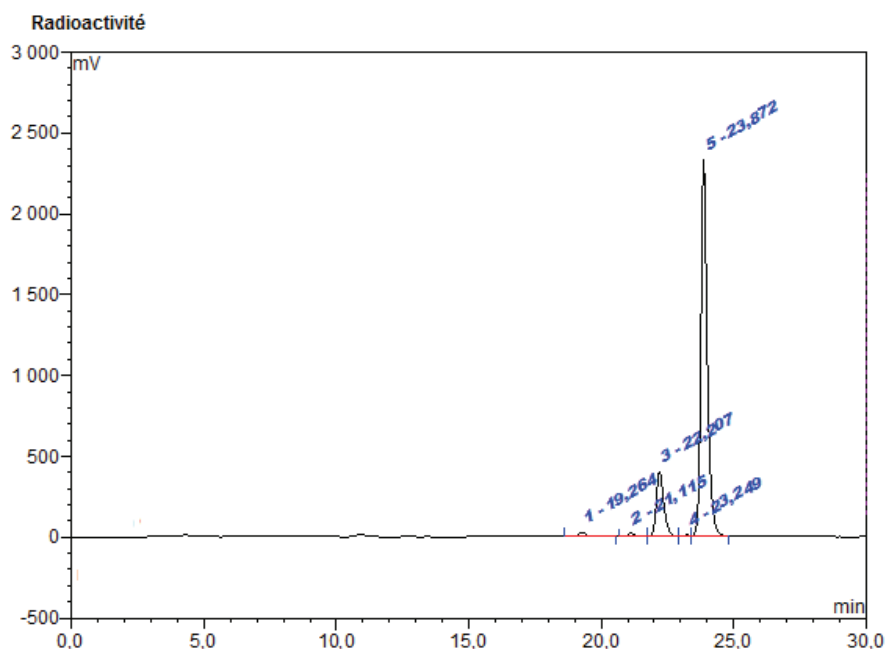


Figure 1.19 Chromatogramme Radio-CLHP de la réaction de radiomarquage au [$^{99\text{m}}\text{Tc}$] du précurseur **21**

La cinétique d'interconversion des diastérisomères *syn* et *anti*^{57,52} semble dans notre cas très lente. En effet nous observons le même *ratio* après 3 heures dans le soluté physiologique.

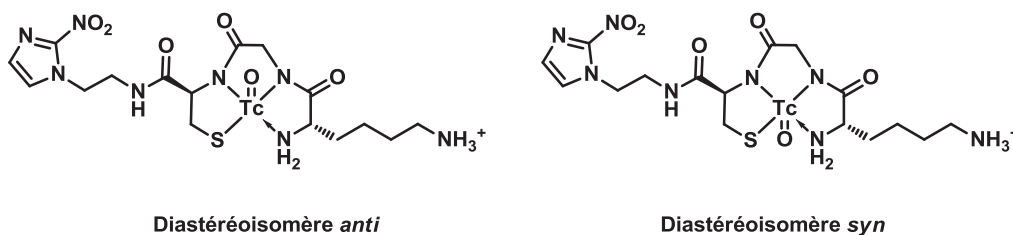


Figure 1.20 Conformations *syn* et *anti* du traceur **22**. Les conformations sont établies par rapport à la position de la chaîne latérale de la lysine

Pour des raisons évidentes de radioprotection et du fait des trop faibles quantités de matières manipulées, les complexes technétiés ne peuvent pas être caractérisés par les méthodes analytiques classiques (RMN, spectrométrie de masse, cristallographie). Le rhénium possède des propriétés chimiques similaires au technétium notamment au degré d'oxydation (+V). C'est pourquoi il est souvent utilisé pour réaliser les complexes analogues non-radioactifs. Les complexes oxo de Rhénium sont généralement préparés suivant deux méthodes⁵⁶ :

- 1) Par réduction du perrhénate en présence d'un ligand (tartrate, glucoheptonate) en solution fortement acide
- 2) Par substitution sur les ligands organiques $\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$ ou $\text{ReO}(\text{OEt})\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)_2$

Les analogues rhéniés du traceur tripeptide **22** ont été préparés suivant la seconde méthode⁵⁷ comme indiqué sur le **Schéma 1.21** ci-dessous.

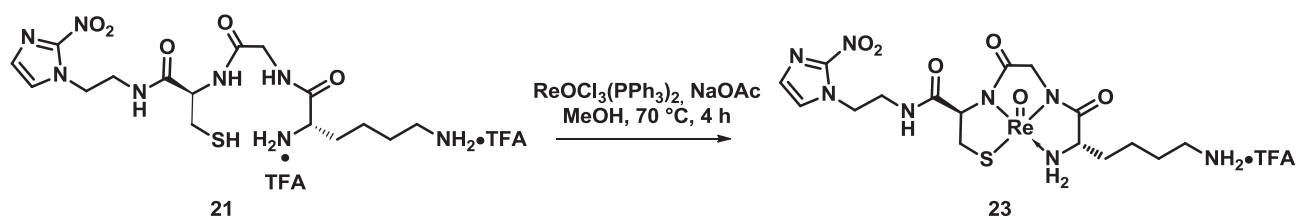


Schéma 1.21 Réaction de complexation au rhénium (V)

⁵⁶ Rouschias, G. *Chem. Rev.* **1974**, *74*, 531.

⁵⁷ Wong, E.; Fauconnier, T.; Bennett, S.; Valliant, J.; Nguyen, T.; Lau, F.; Lu, L. F. L.; Pollak, A.; Bell, R. A.; Thornback, J. R., *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5799.

L'utilisation d'une source de rhénium organique au degré d'oxydation (+V), nous permet de procéder directement à la réaction de complexation, sans réduction préalable. D'autre part, l'utilisation d'acétate de sodium facilite la déprotonation des protons amides et thiol du tripeptide, ce qui permet d'augmenter la cinétique de complexation. Le brut réactionnel de la réaction de complexation du tripeptide **21** au rhénium est analysé par CLHP. Le profil UV du chromatogramme met en évidence deux pics majoritaires possédant des temps de rétention similaires aux espèces radioactives technétiées ($t_r = 22,2$ min et $t_r = 23,7$ min). L'analyse par CL-SM du brut réactionnel nous révèle que les deux espèces possèdent une masse identique ($[M+H]^+$ m/z 644,1), présentant un massif isotopique caractéristique de l'élément Rhénium, ce qui confirme ainsi la formation des complexes oxo Rhéniés *syn* et *anti*. Les deux diastéréoisomères ont pu être séparés par CLHP semi-préparative. Un seul des isomères a pu être isolé en quantité suffisante, ce qui ne nous a pas permis de discriminer les diastéréoisomères *syn* et *anti* du complexe.

Le complexe technétié formé s'avère être stable en solution dans le sérum physiologique. En effet, à travers un suivi par CPLH de l'échantillon dans le soluté physiologique, nous n'observons pas de décomplexation après 24 h à température ambiante.

4.3. Evaluation biologique du radiotracteur **22**

Après avoir déterminé les paramètres de la réaction de marquage et obtenu le traceur avec un rendement et une pureté radiochimique supérieurs à 95%, différentes analyses ont été effectuées afin de déterminer le devenir du radioligand dans l'organisme. En effet, des expérimentations *in vitro* et *in vivo* ont été menées afin d'estimer l'affinité du composé **22** vis-à-vis des tissus hypoxiques

4.3.1. Etude *in vitro* de fixation sur des cellules hypoxiques

Les études de fixation *in vitro* ont été réalisées sur des échantillons de cultures cellulaires ayant été conditionnées en milieu hypoxique (1% d'O₂) et normoxique (20% d'O₂) pendant 24 h et 48 h. Le traceur est ajouté aux échantillons et ces derniers sont incubés 1 h à 37 °C. Au-delà de cette période les échantillons sont centrifugés, puis un comptage radioactif ainsi qu'un comptage au microscope du nombre de cellules sont

effectués. Nous obtenons ainsi le *ratio* radioactivité/nombre de cellules/activité injectée. Les résultats obtenus sont présentés *Figure 1.21*.

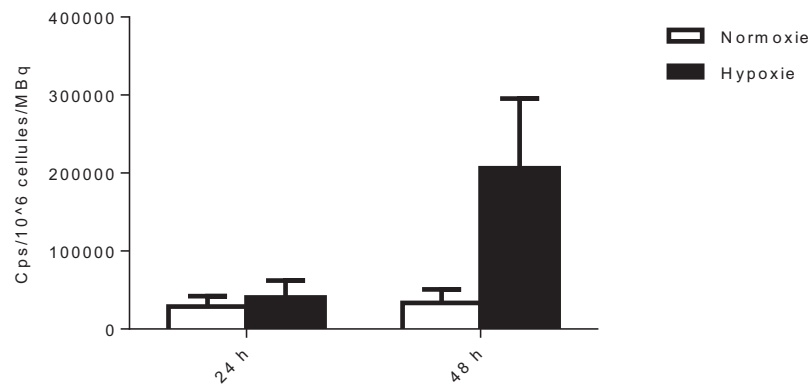


Figure 1.21 Captation *in vitro* du traceur tripeptide 22

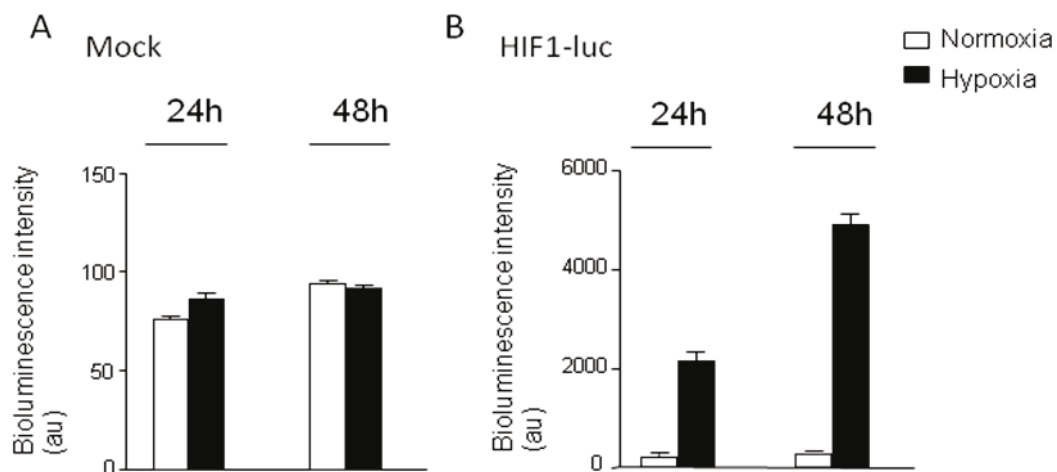


Figure 1.22 Effet de l'hypoxie sur la production de HIF-1 α et de l'activité luciférase

Les expériences réalisées sur les populations de cellules conditionnées en milieu normoxiques ne révèlent pas de différences significatives de l'activité observée par nombre de cellules à 24 h et 48 h. En revanche, nous observons un *ratio* activité/nombre de cellules plus élevé dans les milieux à faible teneur en oxygène et plus particulièrement après 48 h. Afin de valider l'hypothèse d'une rétention spécifique du traceur en milieu hypoxique l'expérience précédente a été reproduite en réalisant cette fois-ci la mesure du facteur de transcription HIF-1. Cette mesure est effectuée par bioluminescence. Un gène codant une enzyme luminescente appelé *Luciférase* est introduit dans l'ADN des cellules étudiées, permettant l'expression d'un HIF-1 luminescent. Des cellules non génétiquement modifiées (Mock) sont utilisées comme témoins (*Figure 1.22*). Comme attendu, l'intensité

lumineuse mesurée dans ces cellules témoins, en conditions normoxique et hypoxique, reste très faible évoquant ainsi l'absence de production de *Luciférase*. Au contraire, dans les cellules transfectées, l'intensité lumineuse produite en milieu hypoxique est bien supérieure à l'intensité lumineuse produite en milieu normoxique, suggérant ainsi une surexpression du facteur HIF-1 α . De plus, nous observons une production de HIF-1 α plus importante à 48 h qu'à 24 h ce qui est en parfaite adéquation avec les résultats observés lors du radiomarquage *in vitro*.

En résumé les expérimentations de radiomarquage cellulaire réalisées en corrélation avec la mesure du HIF-1 α exprimé prouvent la rétention spécifique du traceur **22** aux cellules hypoxiques.

4.3.2. Etude de biodistribution

Le traceur technétié **22** est injecté à des souris de type nude, porteuses de tumeurs présumées hypoxiques. Les animaux sont sacrifiés 4 h post-injection et des échantillons des principaux organes sont prélevés, pesés et la radioactivité est comptée pour l'étude de la biodistribution. Les résultats sont représentés *Figure 1.23*. Nous remarquons une grande accumulation dans les reins et dans le foie attestant d'une bonne élimination du traceur par voies rénale et hépatique. De plus, nous constatons une accumulation du traceur dans la tumeur (0,28% de la dose injectée/g) et un bon *ratio* tumeur sur muscle (T/M : 3,58). Ce *ratio* intéressant est comparable aux traceurs présents dans la littérature (*Tableau 1.3*). En revanche, la valeur du coefficient de partage mesuré ($P = 0,005$) confirme la forte hydrophilie du traceur postulée au début de notre étude, ce qui est un net avantage sur les traceurs présents dans ce tableau, ces derniers ayant une clairance beaucoup trop longue vis-à-vis des tissus sains.

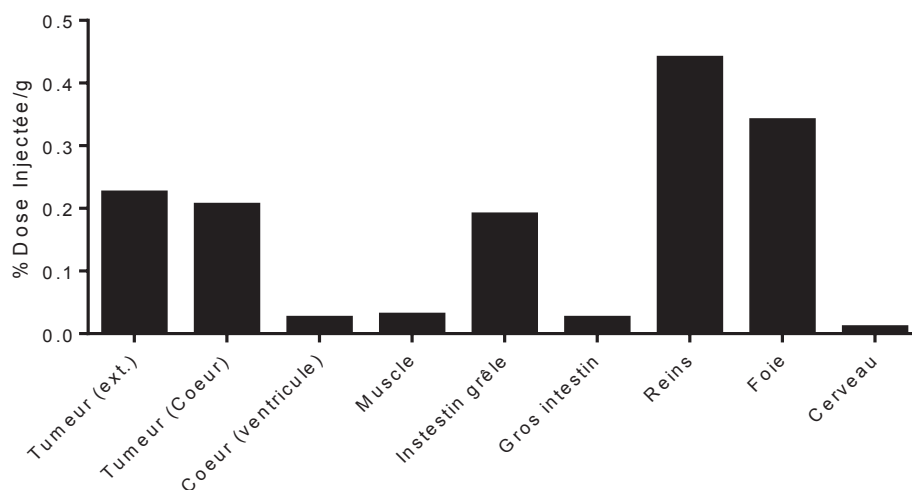


Figure 1.23 Etude de biodistribution sur le traceur technétié **22**

| | Traceur 22 | BMS181321 | BRU59-21 | [^{99m}Tc]-BnAOs |
|---------------------------------|-------------------|------------------|-----------------|---------------------------------|
| T/M (4h post-injection) | 3,58 | 4,2 | 4,37 | 1,5-4,5 |
| Coefficient de partage <i>P</i> | 0,005 | 40 | 12 | 0,1 |

Tableau 1.3 Comparatif de la distribution et du coefficient de partage octanol/eau du traceur **22** avec d'autres traceurs technétiés de l'hypoxie tumorale

4.3.3. Images scintigraphiques

Les images ont été effectuées grâce à une camera micro TEMP (Gamma MedicalIdeas) avec un détecteur haute résolution CZT monté avec un collimateur multipinhole. Les souris étudiées sont des souris de types nudes porteuses de tumeurs potentiellement hypoxiques. Une acquisition dynamique a d'abord été réalisée durant 3 h afin d'observer la distribution du traceur dans la souris au fil du temps. Nous constatons une bonne diffusion du traceur et un drainage complet au bout d'1 h. Une tomographie sur la zone de la tumeur a ensuite été réalisée. Les images scintigraphiques (*Figure 1.24*) montrent une fixation du ligand technétié sur la tumeur. Le *ratio* tumeur/muscle observé après 1 h d'acquisition est de 10. Ce *ratio* est constant dans le temps après mesure à 2 h et 3 h. Cependant les images semblent plus difficiles à interpréter du fait de la forte accumulation d'activité dans le système digestif.

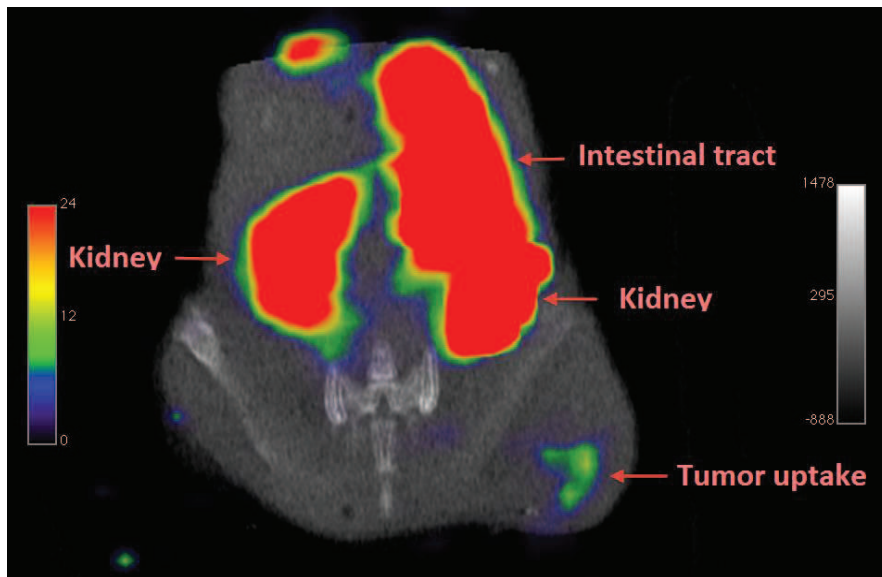


Figure 1.24 Image du traceur **22** réalisée par TEMP/CT sur une souris porteuse d'une tumeur solide

5 Conclusion et perspectives

5.1. Conclusions

En conclusion, nous avons réalisé la synthèse de trois nouvelles molécules nitroimidazolées pour la détection des cellules hypoxiques. Dans un premier temps nous avons synthétisé deux molécules intégrant une partie hydrazino nicotinique (HYNIC) permettant la complexation du technétium métastable. Concernant la première molécule, la bioconjugaison du vecteur (2-nitroimidazole) avec le ligand bifonctionnel (HYNIC) a été rendue possible par création d'une liaison amide. La synthèse a été réalisée avec succès en 7 étapes avec un rendement global de 43%. La liaison du vecteur avec le groupement HYNIC pour la seconde molécule a été obtenue par couplage de Sonogashira. La synthèse a été réalisée en 5 étapes avec un rendement global de 40%. Malheureusement, les tentatives de radiomarquage des molécules ont mis en évidence une dégradation des précurseurs dans les conditions de complexation.

C'est pourquoi nous avons réalisé la synthèse d'un troisième complexe technétié permettant la détection de l'hypoxie. Ce dernier diffère par la nature du groupement complexant. Il s'agit d'un tripeptide cystéine-glycine-lysine capable de complexer le radioélément par un système chélatant N_3S . La synthèse de ce tripeptide est réalisée en solution dans les conditions classiques de couplage peptidique. Le ligand attendu est obtenu en 6 étapes avec un rendement global de 15%. La molécule a ensuite été radiomarkuée avec un bon rendement radiochimique de 95% et une excellente radiopureté. Les complexes formés ont pu être identifiés par comparaison avec leurs analogues rhéniés non-radioactifs. Nous observons la formation de deux diastéréoisomères *syn* et *anti*, stables jusqu'à 12h dans le sérum physiologique et dans le plasma humain. Les tests de captation *in vitro* réalisés sur le traceur, montrent une rétention spécifique de ce dernier aux cellules en état d'hypoxie. Ce résultat est confirmé par les expérimentations *in vivo*. En conclusion, le nouveau complexe technétié synthétisé **22** montre des propriétés intéressantes, qui en font un candidat crédible pour la détection des cellules tumorales hypoxiques par l'imagerie TEMP.

5.2. Perspectives

Toutefois, des perspectives sont envisageables. La présence de la fonction amine libre sur la chaîne latérale de la lysine nous permet d'envisager plusieurs fonctionnalisations possibles. En effet, nous pourrions nous inspirer des récents travaux réalisés par Chu⁵⁸ et envisager l'introduction d'un deuxième motif nitroimidazole par création d'une liaison amide, afin d'améliorer la captation du traceur dans les cellules hypoxiques. Celle-ci serait formée par une réaction de couplage de l'acide 2-(2-nitroimidazolyl)acétique avec l'amine **26**. Cette dernière pourrait être obtenue par une réaction de couplage entre l'amine **17** préparée précédemment (cf. 2.4.1.2) et le dipeptide BocNH-Lys(Fmoc)Gly-OH **25**. Enfin le dipeptide **25** pourrait être synthétisé par réaction de l'ester méthylique de la glycine avec la BocLys(Fmoc)-OH suivie d'une réaction de saponification.

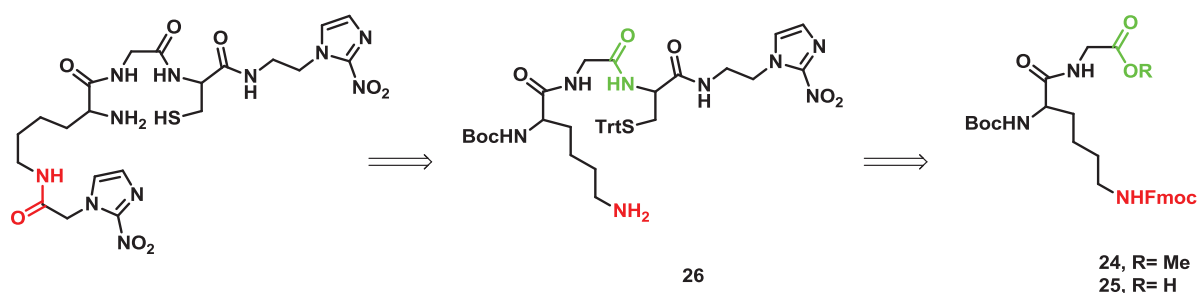


Schéma 1.22 Formation d'un complexe bisnitroimidazolé par réaction de couplage

De la même façon nous pourrions fonctionnaliser le complexe **21** par l'introduction d'une sonde fluorescente proche infra-rouge.⁵⁹ Nous pourrions ainsi combiner deux modalités d'imagerie possédant une gamme de sensibilité identique (*Figure 1.25*). Les tumeurs hypoxiques sont généralement hétérogènes et évoluent au cours du temps. Cette sonde bimodale permettrait d'avoir une image de la tumeur à un instant t grâce à la TEMP et l'imagerie optique nous donnerait l'opportunité de suivre l'évolution de cette tumeur au cours du temps.

⁵⁸ (a) Mei, L.; Wang, Y.; Chu, T. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *58*, 50; (b) Huang, H.; Zhou, H.; Li, Z.; Wang, X.; Chu, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 172.

⁵⁹ Pham, W.; Choi, Y.; Weissleder, R.; Tung, C.-H. *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 1403.

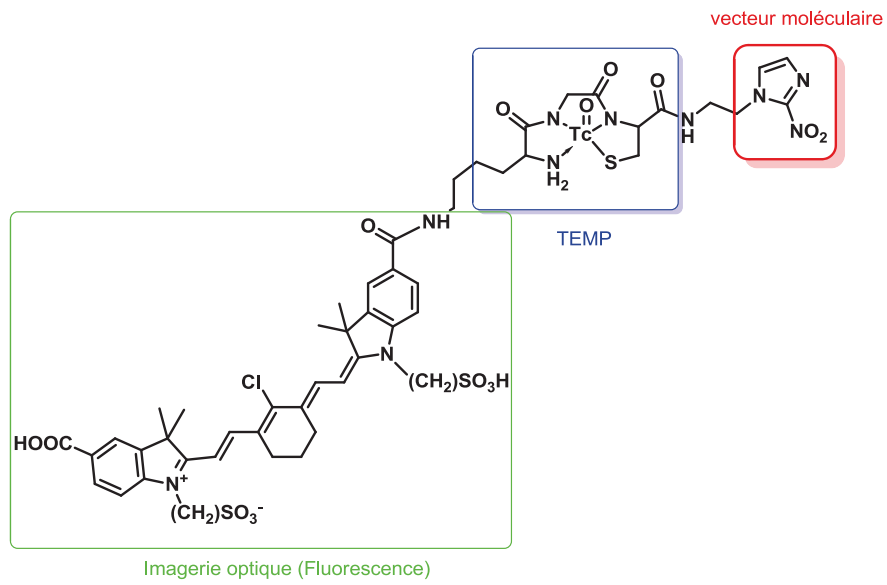


Figure 1.25 Exemple de sonde bimodale TEMP/Fluorescence pour la détection de l'hypoxie

Chapitre 2. Synthèse de dérivés [18F]fluoroorganosilylés pour la détection des tissus hypoxiques

1 Introduction

Le récent développement de l'imagerie à émission de positon (TEP) est corrélé avec le besoin crucial de nouvelles techniques pour l'introduction de radionucléides sur des molécules biologiquement actives. Certains comme le gallium 68 ou le technétium 99m peuvent être utilisés sous la forme de complexes liés à la molécule cible. D'autres peuvent être liés directement à la molécule par la formation d'une liaison carbone-radionucléide. C'est le cas du fluorure 18 (¹⁸F) qui est incorporé dans de nombreuses molécules actives (2-désoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose (FDG), [¹⁸F]Fluorodopa...). Après avoir décrit les propriétés remarquables de l'atome de fluor 18, nous évoquerons les différentes méthodes de fluoration actuelles puis nous présenterons finalement une nouvelle classe émergente de traceurs fluorés : les fluorosilanes.

1.1. Le fluor 18, un isotope de choix pour la TEP

L'isotope 18 du fluor est un émetteur de positon de choix en raison de ses propriétés nucléaires (positon de faible énergie, période radioactive suffisamment longue permettant la synthèse et l'approvisionnement des molécules fluorées), sa production facile par un cyclotron et ses caractéristiques physicochimiques permettant son introduction dans les structures moléculaires.

1.1.1. Caractéristiques physicochimiques du fluor

Bien qu'il soit peu présent dans les molécules organiques naturelles, le fluor est de plus en plus utilisé dans les composés à visée thérapeutique (Vasodilatateur, Antipsychotique, Stéroïdes...).⁶⁰ Les propriétés de l'atome de fluor lui permettent de moduler l'activité des molécules à visée thérapeutique aussi bien d'un point de vue pharmacodynamique que d'un point de vue pharmacocinétique. Sa forte électronégativité ($\chi = 4$ selon Pauling), son faible rayon de Van der Waals ($r = 1,47 \text{ \AA}^3$), permettent son incorporation dans des molécules organiques en substituant un atome d'hydrogène ou un atome d'oxygène. D'autre part, la

⁶⁰ (a) Fried, D.; Mitra, D.; Nagarajan, M.; Mehrotra, M. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 234; (b) Rowley, M.; Hallett, D. J.; Goodacre, S.; Moyes, C.; Crawforth, J.; Sparey, T. J.; Patel, S.; Marwood, R.; Patel, S.; Thomas, S.; Hitzel, L.; O'Connor, D.; Szeto, N.; Castro, J. L.; Hutson, P. H.; MacLeod, A. M. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1603; (c) Wolff, M. E.; Baxter, J. D.; Kollman, P. A.; Lee, D. L.; Kuntz, I. D.; Bloom, E.; Matulich, D. T.; Morris, J. *Biochemistry (Mosc)*. **1978**, *17*, 3201.

force de liaison carbone-fluor ($\sim 480 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) confère aux composés organofluorés une bonne stabilité thermique et chimique. Enfin la présence d'atomes de fluor peut influencer sur la lipophilie d'une molécule, pouvant ainsi améliorer l'administration d'une molécule vers son site d'action.

1.1.2. Propriétés Nucléaires et Production

Le fluor 18 est un isotope radioactif du fluor, instable, qui se désintègre en oxygène 18 stable par émission d'un positon (97%) ou par capture d'électron (3%). De plus, l'énergie d'émission du positon ($E_{\text{max}} = 633 \text{ keV}$) induit un rayonnement peu ionisant, un parcours dans les tissus relativement court (2,4 mm maximum) et ainsi une excellente résolution d'image. Mais surtout, la durée de vie de ce radioélément ($t_{1/2} = 109,7 \text{ min}$) est un avantage de poids, car elle permet une plus grande flexibilité dans la synthèse de radiotraceurs (par comparaison avec d'autres isotopes comme le carbone 11 dont la période est de 20,4 min) et permet un transport vers les centres hospitaliers non équipés d'un cyclotron. Le fluor 18 peut être produit à grande échelle, à l'aide des cyclotrons médicaux, sous deux formes chimiques possédant une réactivité très différente : le fluor dit "électrophile" [^{18}F]F₂ et le fluor "nucléophile" [^{18}F]F⁻. Les principales réactions nucléaires qui permettent de produire le fluor 18 sont présentées *Tableau 2.1*.

| Réactions nucléaires | Cible | Produit principaux |
|--|-----------------------------------|-----------------------------------|
| $^{16}\text{O}(^3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$ & $^{16}\text{O}(^3\text{He},\text{n})^{18}\text{Ne}^a$ | H ₂ O | $^{18}\text{F}_{\text{aq}}^-$ |
| $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ | H ₂ ¹⁸ O | $^{18}\text{F}_{\text{aq}}^-$ |
| | [^{18}O]O ₂ | [^{18}F]F ₂ |
| $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$ | Ne/0,1-2% F ₂ | [^{18}F]F ₂ |

^a ^{18}Ne décroît en ^{18}F en 1,46 s

Tableau 2.1 Différents modes de production du ^{18}F

La méthode la plus populaire concernant la production des ions fluorures [^{18}F]F⁻, est le bombardement par un faisceau de protons d'énergie élevée (au moins 16 MeV), d'une cible constituée d'eau enrichie en oxygène 18. Les rendements de production sont élevés et le radioélément est isolé avec une bonne activité spécifique (jusqu'à 600 GBq/ μmol),⁶¹ après

⁶¹ Schubiger, P. A.; Lehmann, L.; Friebe, M. *PET chemistry the driving force in molecular imaging*; Springer: Berlin, 2007.

piégeage sur une résine échangeuse d'ions, permettant également de récupérer l'eau enrichie en vue de son recyclage.

Une autre réaction de production est le bombardement d'une cible constituée de néon-20 par des deutons d'énergie supérieure à 8 MeV. Cependant, ce mode de production nécessite l'utilisation de difluor non radioactif (0.1-2%) comme gaz entraîneur, ceci afin d'éviter la diffusion et l'adsorption du radioélément sur les parois de la cible sous la forme de fluorure de Nickel (Ni^{18}F). Le Fluor est alors obtenu sous la forme de difluor [^{18}F] F_2 , avec une activité spécifique plus faible que dans le cas précédent du fait de la dilution de l'isotope radioactif dans le fluor stable. On notera également la possibilité de produire du difluor [^{18}F] F_2 avec le bombardement d'une cible d'oxygène 18 gazeux par des protons d'énergie élevée. L'utilisation de difluor froid est encore une fois requise. Cette méthode ayant l'avantage de posséder un bien meilleur rendement, elle supplée désormais la précédente.

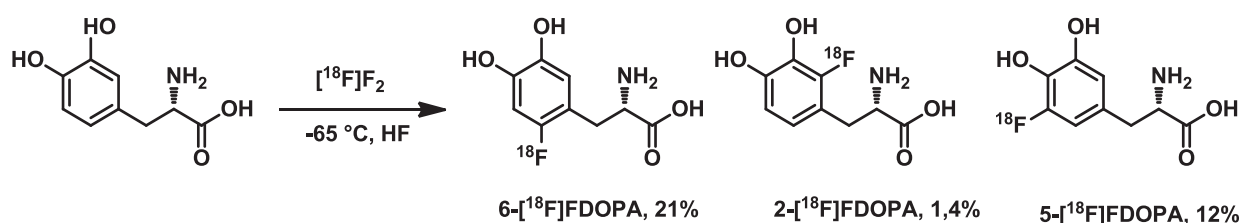
Les propriétés physicochimiques et nucléaires du fluor, son temps de demi-vie avantageux, sa disponibilité et sa capacité de production à grande échelle font de ce radioélément un isotope de choix pour la tomographie à émission de positons. Le [^{18}F]fluorodésoxyglucose (FDG) est, historiquement, le premier traceur TEP à avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché. D'autre part, plusieurs traceurs fluorés sont actuellement en phase clinique ou en phase avancée de recherche. Cette émergence s'accompagne d'une amélioration des méthodes de fluoration. Nous allons à présent nous intéresser aux méthodes d'incorporation du fluor sur des précurseurs.

1.2. Le radiomarquage au fluor 18

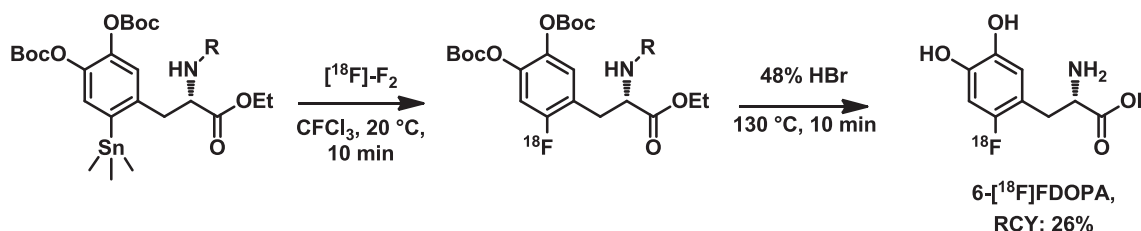
1.2.1. La fluoration électrophile

La fluoration électrophile utilise le difluor [^{18}F] F_2 et elle est principalement employée pour la préparation de radiotraceurs non accessibles à partir de fluorure [^{18}F] F^- . Il s'agit de substrats riches en électrons, comme des oléfines ou des arènes porteurs de groupements électrodonneurs. L'exemple le plus connu est celui de la 6- ^{18}F fluoro-L-3,4-dihydroxyphénylalanine ([^{18}F]-L-FDOPA),⁶² un radiotraceur produit actuellement pour la clinique (*Schéma 2.1*).

⁶² (a) Chirakal, R.; Firna, G.; Garnett, E. S. *J. Nucl. Med.* **1986**, 27, 417; (b) Firna, G.; Chirakal, R.; Garnett, E. S. *J. Nucl. Med.* **1984**, 25, 1228; (c) Forsback, S.; Eskola, O.; Bergman, J.; Haaparanta, M.; Solin, O. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2009**, 52, 286; (d) Forsback, S.; Eskola, O.; Haaparanta, M.; Bergmann, J.; Solin, O. *Radiochim. Acta* **2008**, 96, 845.

Schéma 2.1 Synthèse de la L-[¹⁸F]FDOPA par voie électrophile

Bien qu'elle soit extrêmement réactive sur ces substrats, la réaction de fluoruration électrophile par le difluor [¹⁸F]F₂ demeure peu sélective et un mélange de régioisomères est souvent obtenu, nécessitant une purification par CLHP préparative souvent consommatrice de temps. Toutefois, l'utilisation d'aryles organométalliques⁶³ a permis d'augmenter de manière significative le contrôle de la régiosélective. Ainsi la réaction de fluorodéstannylation du précurseur aryle organométallique préfonctionnalisé en position 6, permet après déprotection, l'obtention de la [¹⁸F]FDOPA avec une excellente régiosélectivité et un rendement radiochimique de 26% (Schéma 2.2).^{63b} D'autre part, l'utilisation de réactifs N-[¹⁸F]fluorés,⁶⁴ tels que le [¹⁸F]Selecfluor bis(triflate),⁶⁵ ont également permis d'augmenter la sélectivité et les rendements de fluoruration électrophile.

Schéma 2.2 Préparation de la 6-[¹⁸F]FDOPA par réaction de fluorodéstannylation

L'emploi de difluor comme source électrophile conduit à un rendement radiochimique maximal de 50%. Cela reste vrai pour les réactifs N-[¹⁸F]fluorés et O-[¹⁸F]fluorés (ex : le [¹⁸F]hypofluorite d'acétyle),⁶⁶ ces derniers étant préparés à partir de difluor [¹⁸F]F₂. De même,

⁶³ (a) Eskola, O.; Grönroos, T.; Bergman, J.; Haaparanta, M.; Marjamäki, P.; Lehikoinen, P.; Forsback, S.; Langer, O.; Hinnen, F.; Dollé, F.; Halldin, C.; Solin, O. *Nucl. Med. Biol.* **2004**, *31*, 103; (b) Dollé, F.; Demphel, S.; Hinnen, F.; Fournier, D.; Vaufray, F.; Crouzel, C. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1998**, *41*, 105; (c) Hess, E.; Sichler, S.; Kluge, A.; Coenen, H. H. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57*, 185.

⁶⁴ (a) Oberdorfer, F.; Hofmann, E.; Maier-Borst, W. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1988**, *25*, 999; (b) Oberdorfer, F.; Hofmann, E.; Maier-Borst, W. *Appl. Radiat. Isot.* **1988**, *39*, 685; (c) Teare, H.; Robins, E. G.; Arstad, E.; Luthra, S. K.; Gouverneur, V. *Chem. Commun.* **2007**, 2330.

⁶⁵ Teare, H.; Robins, E. G.; Kirjavainen, A.; Forsback, S.; Sandford, G.; Solin, O.; Luthra, S. K.; Gouverneur, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6821

⁶⁶ Chirakal, R.; Firna, G.; Garnett, E. S. *Appl. Radiat. Isot.* **1988**, *39*, 1099.

l'utilisation de difluor froid comme gaz vecteur conduit à une dilution isotopique et par conséquent à une activité spécifique beaucoup plus faible que lors de la production de fluorures [^{18}F]F $^-$. Cette faible activité spécifique peut être acceptable pour des traceurs ciblant des systèmes non saturables mais est insuffisante pour l'exploitation biologique de ligands de récepteurs. Il existe cependant une procédure permettant de produire du difluor avec une meilleure activité spécifique que la voie conventionnelle (*Schéma 2.3*).⁶⁷ L'étape clé implique une décharge électrique permettant l'échange d'un atome de fluor entre une molécule de [^{18}F]Fluorométhane et du difluor présent à l'état de traces.

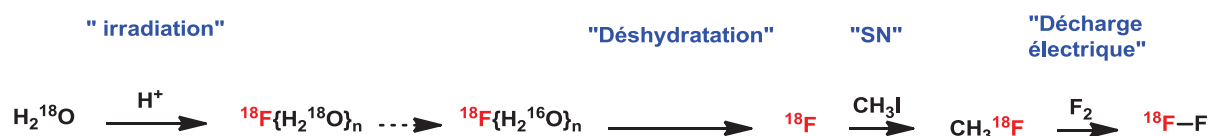


Schéma 2.3 Production de difluor [^{18}F]F $_2$ à partir de fluorures [^{18}F]F $^-$ par décharge électrique

En résumé, la fluoration électrophile est une méthode de radiomarquage extrêmement réactive sur les substrats riches en électrons, mais les nombreuses limitations énoncées précédemment ont conduit les radiochimistes à favoriser la fluoration nucléophile.

1.2.2. La fluoration nucléophile

La fluoration nucléophile est à l'heure actuelle, la méthode la plus populaire pour la préparation de traceurs fluorés pour l'imagerie TEP. Elle est utilisée depuis plus de vingt cinq ans pour la production du 2-désoxy-2- ^{18}F fluoro-D-glucose ([^{18}F]FDG) (*Schéma 2.4*) mais également pour la préparation de nombreux traceurs actuellement en phase clinique, comme la [^{18}F]Fluorothymidine ([^{18}F]FLT),⁶⁸ un traceur de la prolifération cellulaire ou encore le [^{18}F]Fluoromisonidazole ([^{18}F]FMISO),⁶⁹ un traceur de l'hypoxie tumorale.

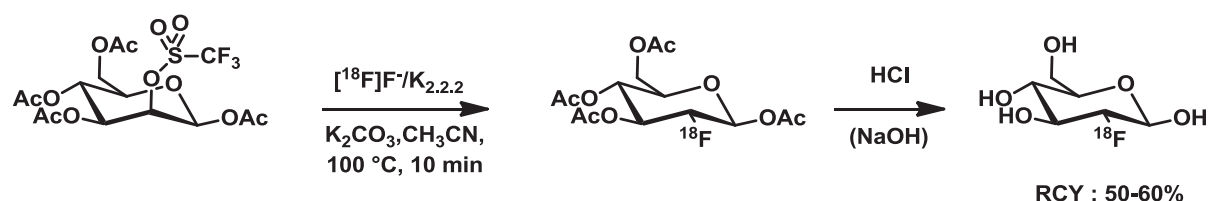


Schéma 2.4 Synthèse du [^{18}F]FDG par fluoration nucléophile

⁶⁷ Bergman, J.; Solin, O. *Nucl. Med. Biol.* **1997**, *24*, 677.

⁶⁸ (a) Grierson, J. R.; Shields, A. F. *Nucl. Med. Biol.* **2000**, *27*, 143; (b) Oh, S. J.; Mosdzianowski, C.; Chi, D. Y.; Kim, J. Y.; Kang, S. H.; Ryu, J. S.; Yeo, J. S.; Moon, D. H. *Nucl. Med. Biol.* **2004**, *31*, 803.

⁶⁹ Grierson, J. R.; Link, J. M.; Mathis, C. A.; Rasey, J. S.; Krohn, K. A. *J. Nucl. Med.* **1989**, *30*, 343.

La fluoration nucléophile se décline en deux catégories :

- 1) La fluoration directe sur des groupements partants appropriés, suivie d'une éventuelle déprotection.
- 2) La fluoration d'un réactif intermédiaire pouvant ensuite être couplé à une molécule d'intérêt. Par exemple, la fluoration de groupement prosthétique⁷⁰ est une méthode communément utilisée pour le radiomarquage de peptide et protéines.

La *Figure 2.1* illustre le procédé classique conduisant au marquage d'un précurseur par fluoration nucléophile.

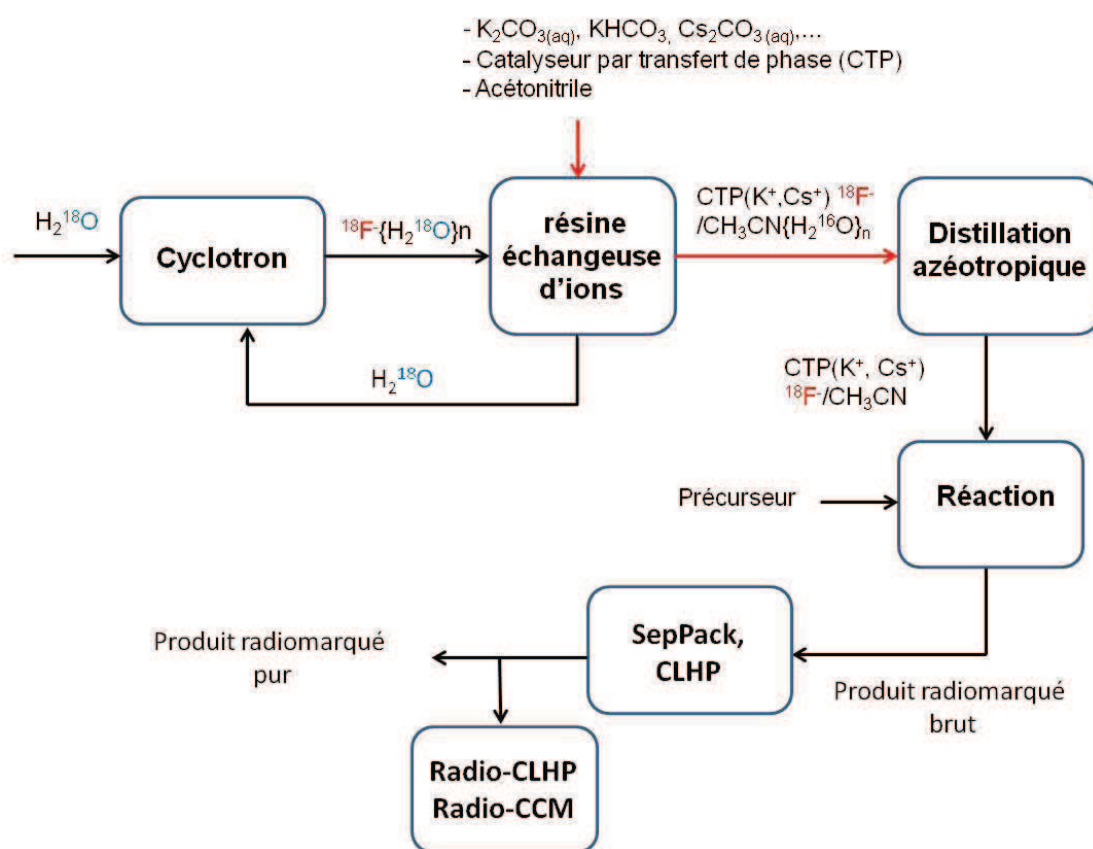


Figure 2.1 Procédé de marquage au fluor 18 par voie nucléophile

Tout d'abord des ions fluorures [^{18}F]F⁻ sont générés par un cyclotron à partir d'eau enrichie en oxygène 18. Etant très facilement solvatés par les molécules d'eau, les ions [^{18}F]F⁻ sont alors faiblement nucléophiles et fortement basiques dans ces conditions.⁷¹ Il est donc nécessaire de les piéger sur résine échangeuse d'ions de type ammonium quaternaire. Cela

⁷⁰ Okarvi, S. *Eur. J. Nucl. Med.* **2001**, 28, 929.

⁷¹ Clark, J. H. *Chem. Rev.* **1980**, 80, 429.

permet également le recyclage de l'eau enrichie en oxygène 18. Les ions [^{18}F]F $^-$ sont ensuite élués de la résine par un mélange acétonitrile/solution aqueuse de bicarbonate de potassium ou de césium, générant ainsi des fluorures alcalins (KF, CsF...) plus nucléophiles mais peu solubles dans les solvants organiques usuels. C'est pourquoi l'utilisation d'un agent de transfert de phase tel que les sels de tétrabutylammoniums⁷² ou les aminopolyéthers⁷³ (ex : Kryptofix 2.2.2[®]) (Figure 2.2), est requise. De plus la complexation du cation métallique par l'agent de transfert de phase rend plus disponibles et donc plus nucléophiles les ions fluorures. Afin d'éliminer toute trace d'eau une étape de distillation azéotropique est nécessaire. C'est ensuite à ce stade que le précurseur est ajouté, en solution dans un solvant polaire aprotique (CH₃CN, DMSO, DMF,...). La réaction de substitution est généralement conduite par chauffage (80-120 °C) en un temps réduit (10-30 min maximum). On notera néanmoins que l'utilisation d'alcools tertiaires ou d'alcools amyliques comme solvants de réaction ont également permis d'obtenir de très bons rendements.⁷⁴

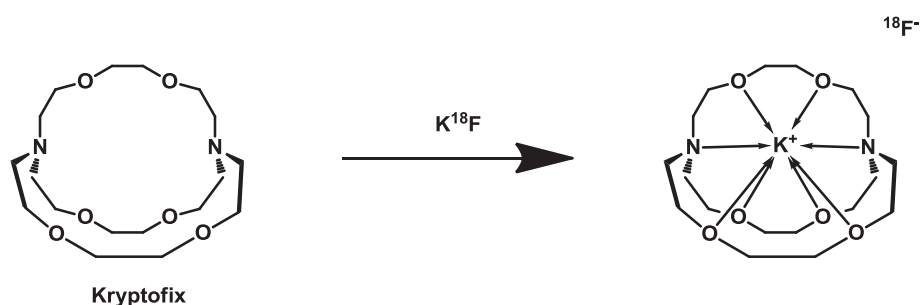


Figure 2.2 Complexation du potassium par le 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosane (Kryptofix [2.2.2])

La substitution nucléophile aromatique comme moyen d'accès aux dérivés fluorés aromatiques est très largement utilisée et a fait l'objet d'un certain nombre de revues.⁷⁵ Les précurseurs aromatiques utilisés présentent un groupement partant (nitro, trialkylammonium, triflate...) et un groupement électroattracteur en position ortho ou para (nitro, aldéhyde, cétone, ester, cyano). En série aliphatique la réaction de fluoration nucléophile est basée sur le déplacement d'un groupement partant de type halogène (I, Br, Cl), ester de sulfonate (triflate,

⁷² (a) Pilcher, A. S.; Ammon, H. L.; DeShong, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5166; (b) Brodack, J. W.; Dence, C. S.; Kilbourn, M. R.; Welch, M. J. *Appl. Radiat. Isot.* **1988**, *39*, 699.

⁷³ Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G. *J. Nucl. Med.* **1986**, *27*, 235.

⁷⁴ (a) Kim, D. W.; Ahn, D.-S.; Oh, Y.-H.; Lee, S.; Kil, H. S.; Oh, S. J.; Lee, S. J.; Kim, J. S.; Ryu, J. S.; Moon, D. H.; Chi, D. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16394; (b) Kim, D. W.; Jeong, Lim, S. T.; Sohn, M.-H.; Katzenellenbogen, J. A.; Chi, D. Y. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 957.

⁷⁵ (a) J. Adams, D.; H. Clark, J. *Chem. Soc. Rev.* **1999**, *28*, 225; (b) Tredwell, M.; Gouverneur, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11426.

tosylate, nosylate, mésylate) ou encore sur l'ouverture de structures cycliques (époxydes). Le choix du groupement partant dépend de la stabilité du précurseur, de la facilité de séparation entre le précurseur et le produit marqué et de la formation de produits secondaires potentiels. La fin du processus de production du traceur est marquée par des étapes de purification (par CLHP ou par extraction sur phase solide) et de reformulation. Ces étapes, indispensables à l'obtention du produit radiochimiquement pur, sont consommatrices de temps et conduisent à une perte d'activité.

Enfin, certains substrats comme les macromolécules (protéines, peptides, oligonucléotides...), ne peuvent pas être fluorés dans les conditions énoncées précédemment. Pour ces précurseurs, le fluor radioactif est dans un premier temps incorporé sur un synthon intermédiaire, lequel est ensuite facilement couplé à la macromolécule. Ainsi l'utilisation du groupement *N*-Succinimidyl-4- ^{18}F Fluorobenzoate (^{18}F SFB)⁷⁶ reste à l'heure actuelle la méthode standard pour le radiomarquage de protéines au Fluor 18 (Schéma 2.5).



Schéma 2.5 Radiomarquage d'une protéine par couplage avec le groupement prosthétique [^{18}F]SFB

En résumé, il existe deux stratégies pour introduire le fluor 18 sur une biomolécule : la fluoration électrophile et la fluoration nucléophile. La première citée présente les désavantages de conduire à de faibles rendements radiochimiques et d'être peu régiosélective en l'absence d'une réaction d'échange métal-fluor. La seconde méthode lui est d'ailleurs souvent préférée. Cependant malgré la très bonne stabilité de la liaison C-F, l'utilisation de molécules radiomarquées au ^{18}F est limitée par la faible réactivité de l'anion fluorure dans l'eau, qui engendre une chute du taux de conversion, mais aussi par le grand nombre d'étapes de synthèse et purification qui allonge le temps de marquage de la biomolécule. Le temps de demi-vie du ^{18}F étant de 110 min, le besoin de techniques permettant une rapide incorporation de l'élément est un réel enjeu. C'est dans ce contexte que de nouvelles méthodes de marquage de macromolécules sont apparues, utilisant par exemple la formation de liaisons Si- ^{18}F ,⁷⁷ Al-

⁷⁶ (a) Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R. *Nucl. Med. Biol.* **1992**, *19*, 275; (b) Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R. *Bioconjugate Chem.* **1994**, *5*, 352.

⁷⁷ H hne, A.; Mu, L.; Honer, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; Klar, U.; Voigtmann, U.; Cyr, J. E.; Friebe, M.; Dinkelborg, L.; Srinivasan, A. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1871.

¹⁸F, ⁷⁸B-¹⁸F⁷⁹ et permettant l'obtention de meilleures régiosélectivités, radiosélectivités et de meilleurs rendements radiochimiques. Le laboratoire a ainsi travaillé ces dernières années sur le développement d'analogues silylés du [¹⁸F]Fluoromisonidazole dans le but de développer de nouveaux composés radiomarqués pour la détection des régions tumorales hypoxiques par imagerie à émission de positons (TEP).⁸⁰

2 Nouvelle stratégie de marquage : synthèse de fluorosilanes

La liaison Silicium-Fluor est thermodynamiquement très stable. Cette propriété est d'ailleurs exploitée pour le clivage des éthers silylés, l'atome de fluor ayant une plus grande énergie de liaison avec le silicium (565 kJ.mol⁻¹) qu'avec le carbone (485 kJ.mol⁻¹). Mais en dépit de cette haute énergie de liaison, les fluorosilanes sont modérément stables dans l'eau, en particulier à faible concentration. Cela s'explique probablement par le fait que le silicium a tendance à former des siloxanes stables.⁸¹ C'est Rosenthal⁸² qui décrit le premier en 1985 la formation de la liaison Si-¹⁸F par réaction de l'anion fluorure 18 sur la chlorotriméthylsilane dans l'acétonitrile aqueux avec un bon rendement de 65%. Cependant l'étude de stabilité *in vivo* montrait la rapide hydrolyse de la liaison Si-¹⁸F pour former le silanol correspondant. Plus récemment, Schirmacher^{83,84} et ses collaborateurs ont montré le marquage efficace de biomolécules basé sur un échange isotopique Si-¹⁹F/Si-¹⁸F à partir de trialkylfluorosilanes et d'alkyldiarylfluorosilanes (Schéma 2.6).

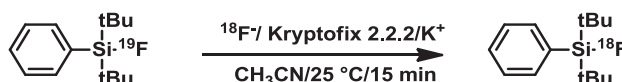


Schéma 2.6 Fluoration par échange isotopique

Ces travaux ont confirmé la faible stabilité de ces fluorosilanes en milieu aqueux fortement dilué, mais ont permis de mettre en évidence que la présence de groupements

⁷⁸ Hoigebazar, L.; Jeong, J. M.; Lee, J.-Y.; Shetty, D.; Yang, B. Y.; Lee, Y.-S.; Lee, D. S.; Chung, J.-K.; Lee, M. C. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3155.

⁷⁹ Ting, R.; Harwig, C. W.; Lo, J.; Li, Y.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4662

⁸⁰ Bohn, P.; Deyine, A.; Azzouz, R.; Bailly, L.; Fiol-Petit, C.; Bischoff, L.; Fruit, C.; Marsais, F.; Vera, P. *Nucl. Med. Biol.* **2009**, *36*, 895.

⁸¹ Rösch, L.; John, P.; Reitmeier, R. *In Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: **2000**.

⁸² M.S. Rosenthal, A.L. Bosch, R.J. Nickles and S.J. Gatley, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1985**, *36*, 318.

⁸³ Schirmacher, R.; Bradtmöller, G.; Schirmacher, E.; Thews, O.; Tillmanns, J.; Siessmeier, T.; Buchholz, H. G.; Bartenstein, P.; Wängler, B.; Niemeyer, C. M.; Jurkschat, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6047;

⁸⁴ Schirmacher, E.; Wängler, B.; Cypryk, M.; Bradtmöller, G.; Schäfer, M.; Eisenhut, M.; Jurkschat, K.; Schirmacher, R. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 2085.

encombrants *tert*-butyles et phényle autour de l'atome de Silicium augmentait la stabilité de la liaison Si-F. Ce dernier point a été confirmé par Ametamey^{77,85} et son équipe qui ont étudié en 2008, la fluorolyse de divers éthers carbone-silylés par le [¹⁸F]fluorure de potassium en présence de Kryptofix [2.2.2] et d'acide acétique. Ces deux approches ont permis l'élaboration de nouveaux groupements prosthétiques incorporant une liaison Si-¹⁸F, permettant ainsi le radiomarquage de protéines.⁸⁶ En dépit de leurs nombreux avantages, les fluorosilanes synthétisés montrent une forte lipophilie inhérente à la présence des groupements *tert*-butyles et phényles. Cette caractéristique est peu favorable à une bonne distribution *in vivo* d'un traceur. En effet, lorsque la lipophilie d'un composé injecté est trop élevée celui-ci est rapidement métabolisé dans le foie, ce qui limite sa disponibilité pour la cible biologique. Ces dernières années, des efforts ont été consentis afin d'améliorer l'hydrosolubilité des groupements prosthétiques Si-F. Kostikov et ses collaborateurs⁸⁷ ont ainsi introduit en 2011 le premier dérivé fluorosilane porteur d'une charge positive et les premiers résultats se montrent encourageants.

3 Synthèse d'analogues silylés du fluoromisonidazole

Lors de la première étude menée au laboratoire, des analogues silylés du misonidazole ciblant les tissus hypoxiques ont été synthétisés en trois étapes (*Schéma 2.7*). Comme nous l'attendions, la présence de l'atome de silicium augmente considérablement les rendements d'incorporation du fluor (70-100%). De la même façon les tests de stabilités hydrolytiques et radiolytiques réalisés sur ces analogues mettent en évidence l'apport bénéfique de groupement encombrant autour du silicium sur la stabilité de la liaison Si-F, ce qui confirme les observations faites par Schirmmacher et Ametamey. De plus, les premiers résultats *in vivo* ont montré une rétention spécifique aux cellules hypoxiques du traceur porteur des substituants méthyles, mais celui-ci est très rapidement hydrolysé. En revanche, nous n'avons pas observé de rétention spécifique de l'analogue portant des substituants naphtyles (*Figure 2.3*, gauche). En effet, la présence de ces groupements encombrants améliore considérablement la stabilité hydrolytique du dérivé fluoré, mais en contrepartie augmente sa lipophilie (cLogP = 6,47).

⁸⁵ H hne, A.; Mu, L.; Honer, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; Klar, U.; Voigtmann, U.; Cyr, J. E.; Friebe, M.; Dinkelborg, L.; Srinivasan, A. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1871;

⁸⁶ (a) Smith, T. A. D. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2012**, *55*, 281; (b) Wängler, C.; Kostikov, A.; Zhu, J.; Chin, J.; Wängler, B.; Schirmmacher, R. *Appl. Sci.* **2012**, *2*, 277.

⁸⁷ Kostikov, A. P.; Iovkova, L.; Chin, J.; Schirmmacher, E.; Wängler, B.; Wängler, C.; Jurkschat, K.; Cosa, G.; Schirmmacher, R. *J. Fluorine Chem.* **2011**, *132*, 27.

Nous avons alors observé une rétention pulmonaire importante avec ce composé (*Figure 2.3*, droite).

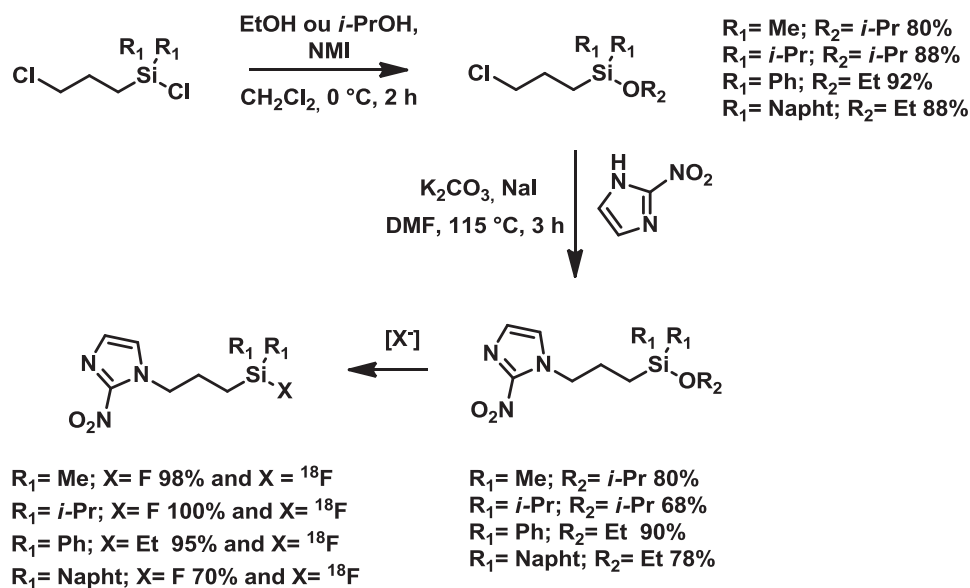


Schéma 2.7 Synthèse d'analogues silylés du [¹⁸F]fluoromisonidazole

L'enjeu au début de la thèse était d'augmenter l'hydrophilie de la molécule radiomarquée pour permettre une meilleure biodistribution de cette dernière.

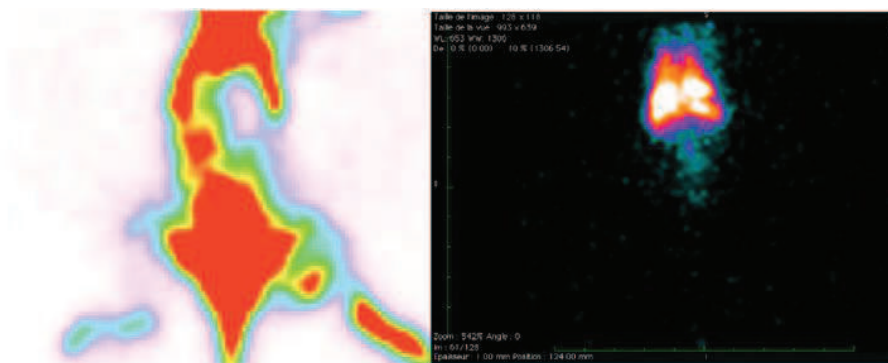


Figure 2.3 Rétention partielle du dérivé diméthylfluorosilane et rétention totale dans les poumons du dérivé dinaphthylfluorosilanes

Dans la prochaine partie, la synthèse et le radiomarquage de nouveaux dérivés organosilylés seront développés et leurs stabilités hydrolytiques et plasmatiques seront étudiées. Nous réaliserons également la synthèse et le radiomarquage de molécules

nitroimidazolées incorporant le synthon SiFA développé par Schirmacher.⁸³ La stabilité des deux classes de composés pourra ainsi être comparée.

4 Synthèse, marquage et évaluation de nouveaux analogues silylés du [¹⁸F]FMISO

4.1. Introduction de groupement polaire sur les naphtyles

La première stratégie envisagée par l'équipe était l'introduction de groupements polaires sur les substituants naphtyles, responsables de la forte lipophilie de la molécule. Nous avons d'abord entrepris d'utiliser des chaînes oligomériques étherées possédant un haut pouvoir solubilisant (Figure 2.4). L'objectif était de réaliser la synthèse des analogues développés précédemment en utilisant cette fois des groupements naphtyles substitués et de tester ensuite leur solubilité en milieu aqueux ainsi que leur biodistribution. Malheureusement la synthèse et l'introduction de ces groupements naphtyles fonctionnalisés sur le silicium se sont avérées très difficiles à réaliser.

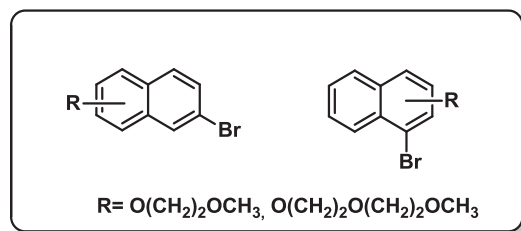


Figure 2.4 6-bromonaphthalène et 1-bromonaphthalène fonctionnalisés par des fonctions polyéthylène glycols

Une deuxième stratégie a alors été élaborée, consistant à l'introduction de fonctions solubilisantes sur le système espaceur du composé bioconjugué.

4.2. Introduction d'une liaison amide

Afin d'augmenter la solubilité de l'analogue du [¹⁸F]Fluoromisonidazole, le choix a été fait d'introduire une liaison amide, celle-ci étant connue pour être hydrosoluble et permettant de lier le noyau silicium et le motif nitroimidazole à l'aide d'une chaîne alkyle. Le nouvel analogue **33** serait élaboré par couplage de l'acide carboxylique **32** avec l'intermédiaire silylé **30** (Schéma 2.8). Ce dernier serait préparé à partir du dérivé chloré **28**

par addition d'un azoture puis réduction en une fonction amine. Le dérivé chloré **28** serait synthétisé en 3 étapes comme précédemment décrit.⁸⁰ Enfin l'acide carboxylique **32** pourrait être formé par une réaction d'alkylation du dérivé 2-nitroimidazole sur le bromoacétate de *tert*-butyle suivie d'une hydrolyse du groupement protecteur *tert*-butoxy.

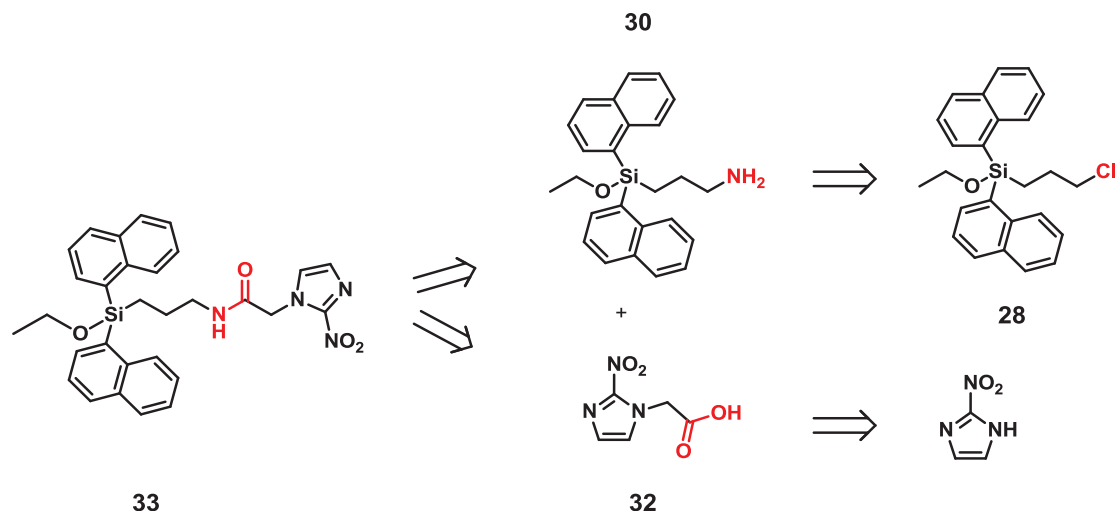


Schéma 2.8 Rétrosynthèse du composé «amide»

4.2.1. Introduction des groupements naphtyles et éthoxy

L'introduction des groupements naphtyles sur l'atome de silicium s'effectue suivant la procédure précédemment décrite par Masaoka.⁸⁸ Pour cela, un échange halogène-métal sur le bromonaphtalène est effectué suivi d'une addition sur un dérivé trichlorosilyle. Le dérivé chloro(3-chloropropyl)di(naphtalen-1-yl)silane **27** est alors obtenu avec un rendement de 98%. Celui-ci est ensuite traité avec de l'éthanol en présence de *N*-méthylimidazole pour conduire au produit attendu **28** avec un rendement de 60% (Schéma 2.9).

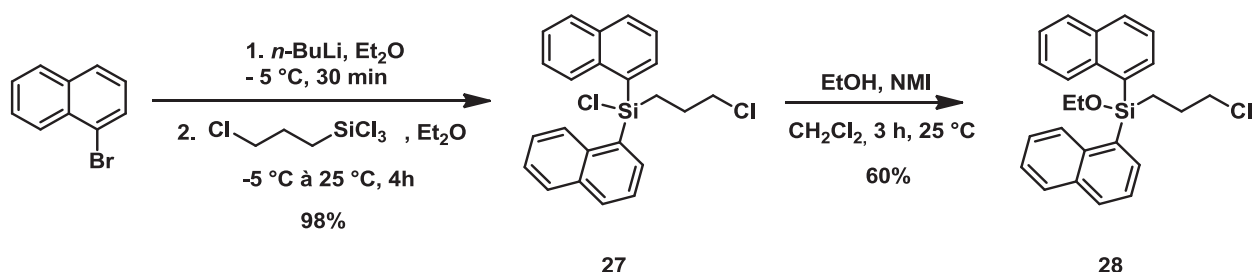


Schéma 2.9 Préparation de l'alkyloxy-(3-chloropropyl)di(naphtalen-1-yl)silane **28**

⁸⁸ Masaoka, S.; Banno, T.; Ishikawa, M., *J. Organomet. Chem.* **2006**, 691, 174.

4.2.2. Introduction de la fonction amine sur l'alkyloxy-(3-chloropropyl)diarylsilane

La première étape consiste à former l'azoture **29** à partir de l'alkyloxy-(3-chloropropyl)diarylsilane **28** par substitution nucléophile avec l'azoture de sodium en présence d'iodure de sodium (Schéma 2.10).⁸⁹

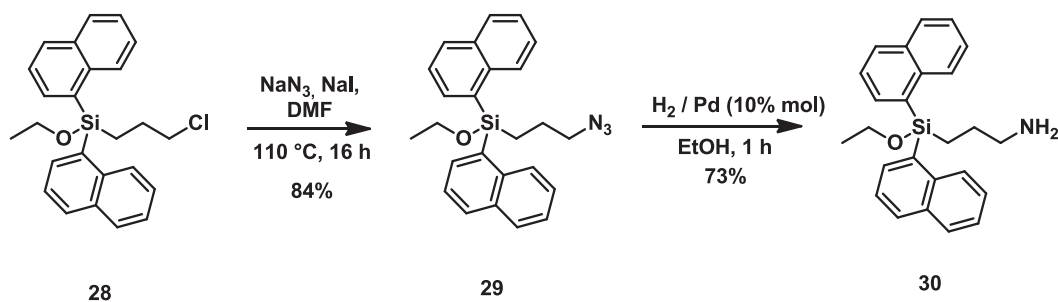


Schéma 2.10 Introduction de l'azoture puis réduction en amine

Des précautions particulières sont à prendre lors de la phase de traitement. Le minimum de lavages aqueux doit être effectué. Ces lavages doivent être réalisés à froid par une solution faiblement basique (ex : NaHCO₃ 0,5%). En effet, nous pouvons observer une hydrolyse partielle de la liaison silicium-éthoxy.

L'étape suivante est la réduction de la fonction azoture en fonction amine primaire. Elle s'effectue par une réaction d'hydrogénation,⁹⁰ en utilisant le palladium sur charbon comme catalyseur (10%). La réaction s'effectue rapidement (1 h) et permet d'obtenir le produit de réduction sans purification avec un rendement de 73%. Nous noterons également qu'il est possible d'utiliser la réaction de réduction de Staudinger.⁹¹ Toutefois, cette réaction génère des sels de phosphore difficiles à éliminer.

4.2.3. Couplage peptidique de l'amine avec l'acide 2-(2-nitroimidazolyl)éthanoïque

La création du lien amide est effectuée par couplage de l'amine **30** préparée précédemment avec l'acide 2-(2-nitroimidazolyl)éthanoïque **32**. L'acide **32** est obtenu selon la

⁸⁹ (a) Godula, K.; Rabuka, D.; Nam, K. T.; Bertozzi, C. R., *2009*, *48*, 4973; (b) Nakazawa, J.; Stack, T. D. P., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14360.

⁹⁰ Hsiao, Y.; Hegedus, L. S., *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3586.

⁹¹ (a) Roychowdhury, A.; Illangkoon, H.; Hendrickson, C. L.; Benner, S. A., *Org. Lett.* **2004**, *6*, 489; (b) Saito, Y.; Matsumoto, K.; Bag, S. S.; Ogasawara, S.; Fujimoto, K.; Hanawa, K.; Saito, I., *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3578.

procédure décrite par Gariépy et ses collaborateurs.⁹² Après alkylation du bromoacétate de *tert*-butyle par le 2-nitroimidazole, le groupement protecteur *t*-Boc est déprotégé par l'acide trifluoroacétique (*Schéma 2.11*).

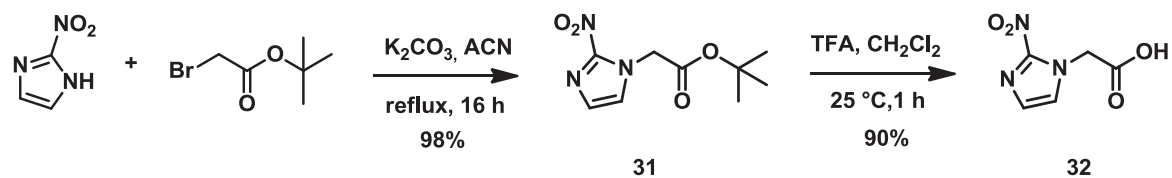


Schéma 2.11 Préparation de l'acide 2-(2-nitroimidazolyl)éthanoïque

Le couplage est ensuite réalisé dans le dichlorométhane en présence d'1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDCI) utilisé comme agent de couplage (*Schéma 2.12*). La conversion est complète mais les différents lavages aqueux effectués lors de la phase de traitement peuvent encore une fois conduire à l'hydrolyse partielle de la liaison Si-OEt. Toutefois, les deux formes SiOEt (**33**)/ SiOH (**33'**) peuvent être aisément séparées par CLHP semi-préparative.

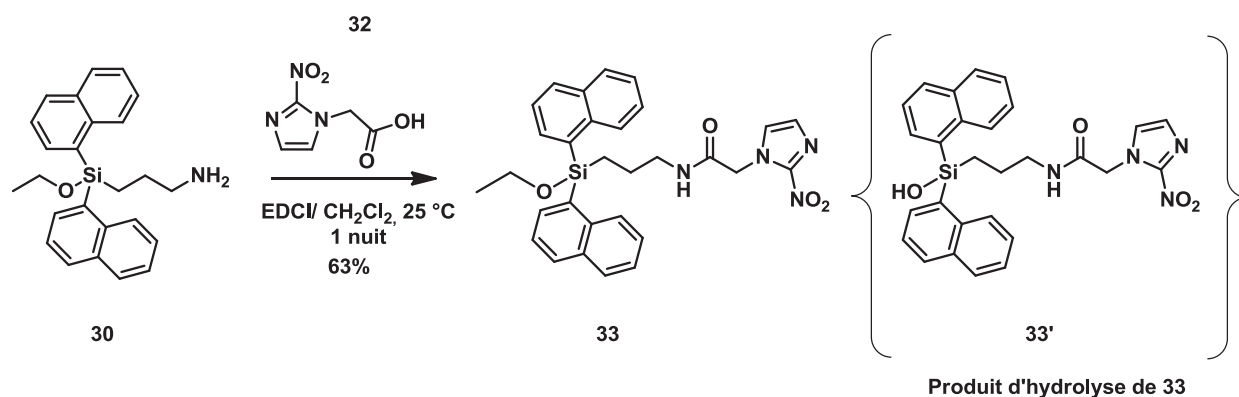
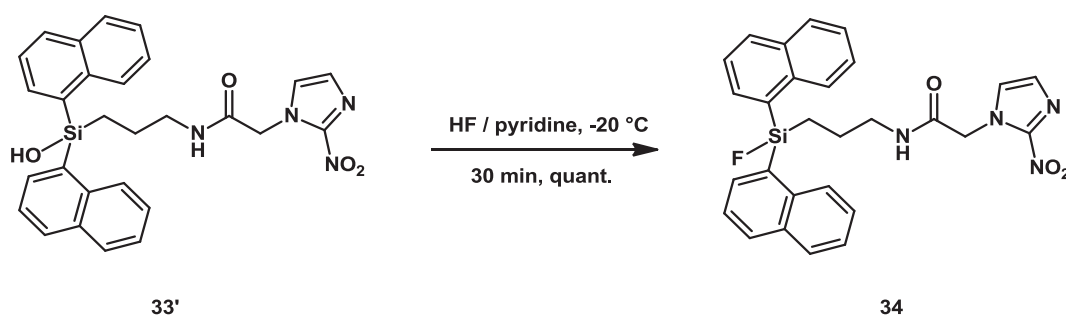


Schéma 2.12 Formation du lien amide

4.2.4. Préparation de l'analogue fluoré non-radioactif **34**

La réaction de fluoration « à froid » a été effectuée sur la forme silanol **33'** afin de ne pas consommer du produit sous forme d'éther silylé. La fluoration utilise le complexe HF/pyridine à - 20 °C (*Schéma 2.13*). La réaction est quantitative, et la présence de l'analogue fluoré est confirmée par RMN (proton et fluor) ainsi que par CLHP.

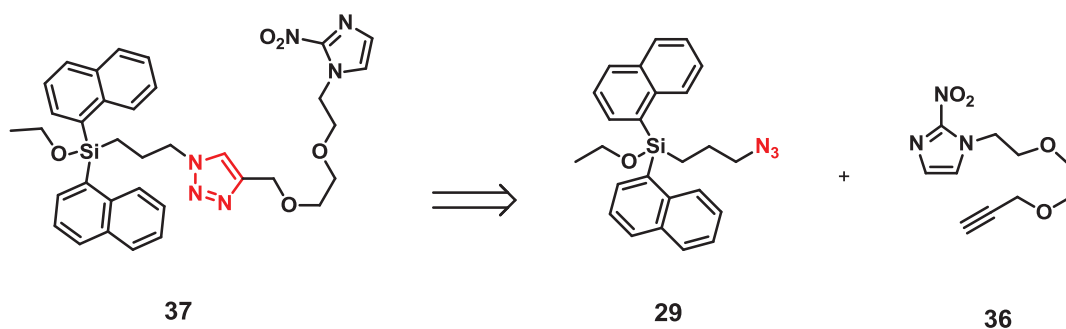
⁹² Gariépy, J.; Rémy, S.; Zhang, X.; Ballinger, J. R.; Bolewska-Pedyczak, E.; Rauth, M.; Bisland, S. K., *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 679.

Schéma 2.13 Fluoration à partir du silanol **33'**

En résumé la synthèse d'un nouveau précurseur silylé **33** incorporant un linker amide est effectuée en 5 étapes avec un rendement global de 22%.

4.3. Introduction d'un linker triazole

La deuxième solution envisagée afin de diminuer la lipophilie du traceur dinaphtylfluorosilane est l'introduction d'un motif éthylène glycol et d'un triazole entre le vecteur 2-nitroimidazole et le groupement silylé. Le nouveau précurseur **37** serait obtenu par une réaction de cycloaddition 1,3 dipolaire de type « click » chemistry développée par Huisgen⁹³ puis Sharpless,⁹⁴ entre l'azoture **29** préparé comme précédemment décrit (cf. 4.2.2) et l'alcyne **36**. Ce dernier serait préparé par alkylation du 2-nitroimidazole sur l'intermédiaire **35**, lui-même formé par alkylation du 2-chloro(2-éthoxy)éthanol sur le bromure de propargyle (Schéma 2.14).

Schéma 2.14 Rétrosynthèse du composé «triazole» **37**

⁹³ R. Huisgen, in *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*, ed. A. Padwa, Wiley, New York, **1984**, 176.

⁹⁴ (a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596; (b) Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *127*, 210.

4.3.1. Formation de l'intermédiaire alcyne **36**

La synthèse débute par une réaction d'alkylation du 2-(2-chloroéthoxy)éthanol, commercial, sur le bromure de propargyle. Le 2-nitroimidazole est introduit par substitution nucléophile sur l'atome de chlore pour former le produit **36** avec un rendement de 58% sur les deux étapes (Schéma 2.15).

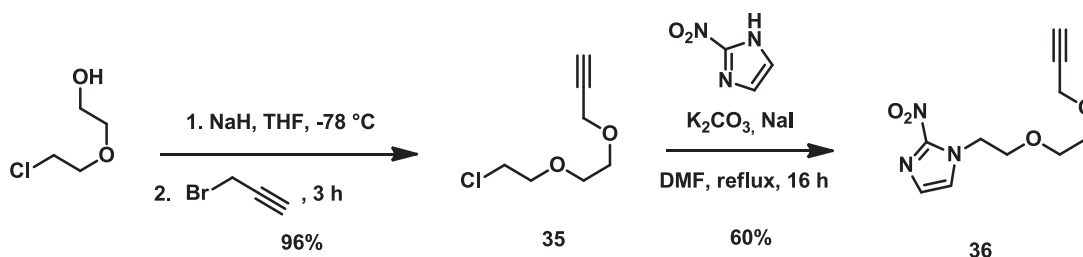
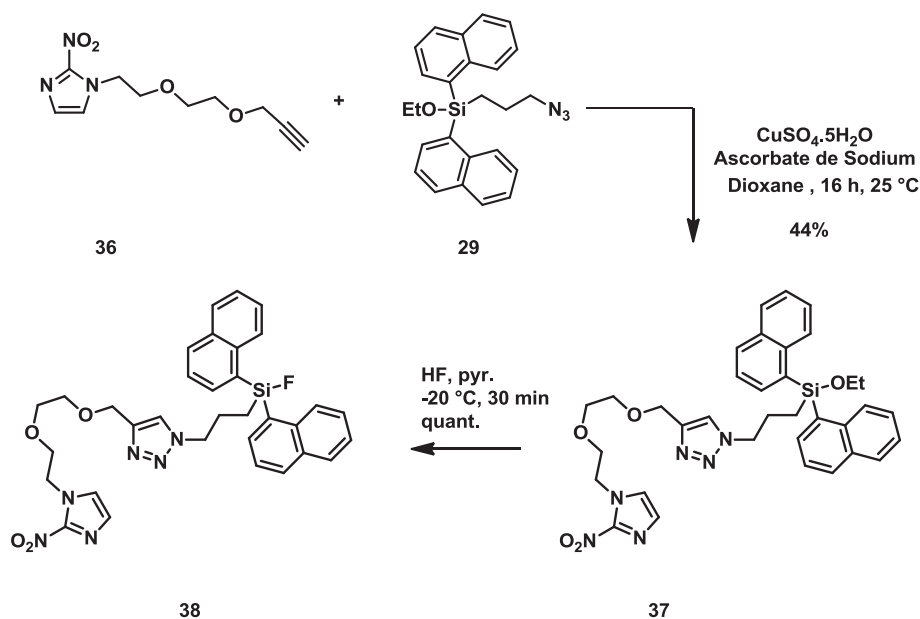


Schéma 2.15 Préparation du 2-nitro-1-(2-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)éthoxy)éthyl)-1H-imidazole

4.3.2. Couplage par click chemistry et fluoration de l'alkoxysilane **37**

L'étape finale est le couplage des synthons **36** et **29** par réaction de cycloaddition catalysée au cuivre dans les conditions classiques développées par Sharpless (Schéma 2.16).⁹⁴ Le produit est obtenu ici avec un rendement isolé de seulement 44% qui pourrait s'expliquer par une dégradation du dérivé lors de la purification sur gel de silice.

Schéma 2.16 Réaction de click et fluoration du précurseur alcoxysilane **37**

Le nouveau précurseur silylé **37** est ainsi synthétisé en 3 étapes à partir du 2-(2-chloroéthoxy)éthanol et de l'azoture **29** avec un rendement global de 24%. Le traitement du précurseur par un excès (10 équiv.) du complexe HF/pyridine conduit à l'analoge fluoré non radioactif **38** avec une conversion totale.

Une fois la synthèse de nos deux nouveaux analogues réalisée, nous avons effectué leur radiomarquage. Nous avons ensuite souhaité évaluer l'apport des groupements encombrants naphtyles portés par le silicium sur les stabilités hydrolytique et plasmatique des traceurs. Pour cela nous avons décidé de les comparer avec les building blocks SiFAs (Silicon Fluoride Acceptors) très bien décrits dans la littérature,^{83,85} notamment pour leur bonne stabilité *in vivo*. Un troisième analogue incorporant le synthon SiFA a été synthétisé.

4.4. Synthèse de l'analogue SiFA

Les synthons SiFAs (Silicon Fluoride Acceptors) ont été introduits par Schirmacher et Jurschakt en 2006.⁸³ Ils ont depuis été déclinés sous différents groupes prosthétiques (*Figure 2.5*). La présence des groupements encombrants *tert*-butyles et phényles autour du silicium permet de prévenir l'hydrolyse de la liaison Si-F. Ainsi, les synthons SiFAs présentent une grande stabilité hydrolytique et plasmatique. Ces groupements prosthétiques ont, à l'heure actuelle, été utilisés pour le marquage de peptides,^{84,85} de protéines⁹⁵ et plus récemment pour le marquage de récepteurs dopaminergiques D2⁹⁶ et d'oligonucléotides.⁹⁷ Le groupement [¹⁸F]SiFB (3-(di-*tert*-butyl[¹⁸F]fluorosilyl)benzoate de *N*-succinimidyle) s'avère d'ailleurs être une alternative crédible au 4-[¹⁸F]fluorobenzoate de succinimidyle ([¹⁸F]SFB), son obtention étant plus aisée.

⁹⁵ Wängler, B.; Rüchardt, G.; Iovkova, L.; Schirmacher, E.; Wängler, C.; Boening, G.; Hacker, M.; Schmoeckel, M.; Jurkschat, K.; Bartenstein, P.; Schirmacher, R., *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 317.

⁹⁶ Iovkova-Berends, L.; Wängler, C.; Zöller, T.; Höfner, G.; Wanner, K. T.; Rensch, C.; Bartenstein, P.; Kostikov, A.; Schirmacher, R.; Jurkschat, K.; Wängler, B., *Molecules* **2011**, *16*, 7458.

⁹⁷ Schulz, J.; Vimont, D.; Bordenave, T.; James, D.; Escudier, J.-M.; Allard, M.; Szlosek-Pinaud, M.; Fouquet, E., *Chemistry – A European Journal* **2011**, *17*, 3096.

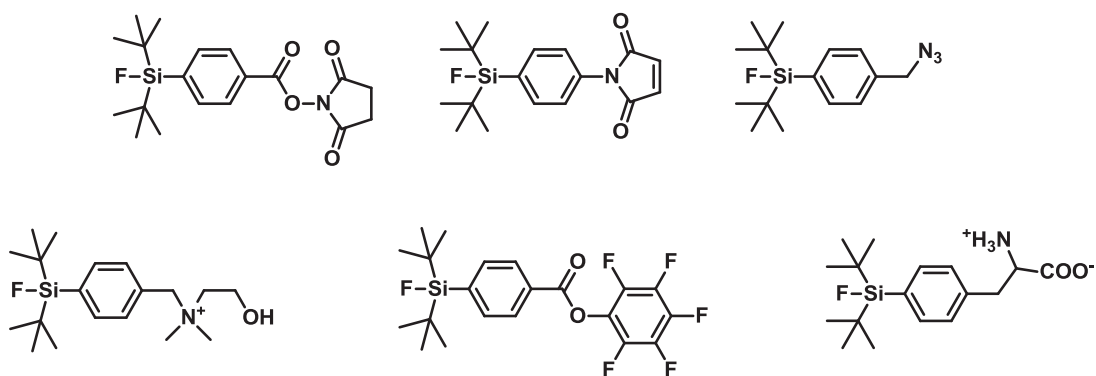
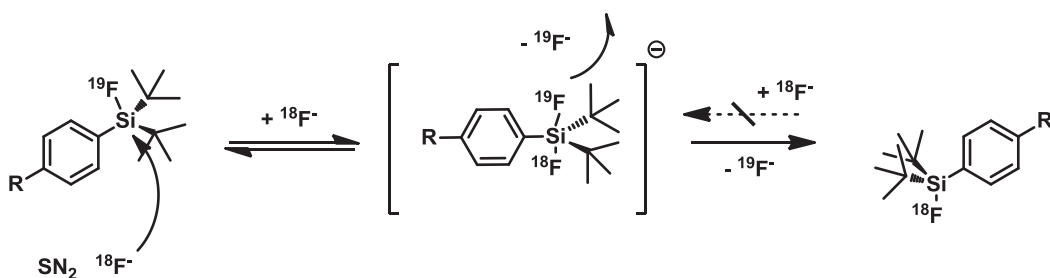


Figure 2.5 Les différents groupements prosthétiques SiFAs


 Schéma 2.17 Réaction d'échange isotopique Si- ^{19}F /Si- ^{18}F

Le radiomarquage des groupements SiFAs s'effectue par échange isotopique $^{19}\text{F}/^{18}\text{F}$ (Schéma 2.17) à température ambiante avec un très bon rendement radiochimique. L'échange isotopique s'effectue *via* un intermédiaire pentacoordiné. La réaction inverse n'est statistiquement pas favorisée. Cependant le précurseur froid et le produit radiomarqué ayant la même structure, ils ne peuvent pas être séparés. De ce fait il y a une forte dilution isotopique et le traceur formé possède une faible activité spécifique. Une autre approche développée par Ametamey⁷⁷ permet l'accès à des structures analogues à partir des dérivés silanes, hydroxysilanes ou alcoxysilanes par substitution nucléophile des ions fluorures en milieu acide. A la différence de l'échange isotopique le précurseur froid et le produit radiomarqué peuvent être séparés. Ce dernier possède alors une plus forte activité spécifique. Nous avons réalisé la synthèse d'un nouvel analogue silylé du FMISO incorporant un motif SiFA en s'appuyant sur les deux méthodes citées précédemment, à partir de deux précurseurs **44a** et **44b**. L'objectif était de comparer l'efficacité des deux stratégies de fluoration.

Les deux précurseurs **44a** et **44b** présentent une structure similaire, à savoir le vecteur nitroimidazole et le groupement prosthétique SiFA liés par une chaîne éthyle (Schéma 2.18). Les deux produits **44a** et **44b** pourraient être préparés par couplage de l'amine **3** dont la synthèse a été précédemment décrite (Chapitre 1, 3.1.1), avec l'ester succinimique **43** pour le premier nommé, et l'acide **41** pour le second. L'intermédiaire **43** serait préparé selon la

procédure décrite par Kostikov *et al.*⁹⁸ L'acide **41** serait quant à lui préparé suivant une approche similaire à celle développée par Ametamey.⁸⁵

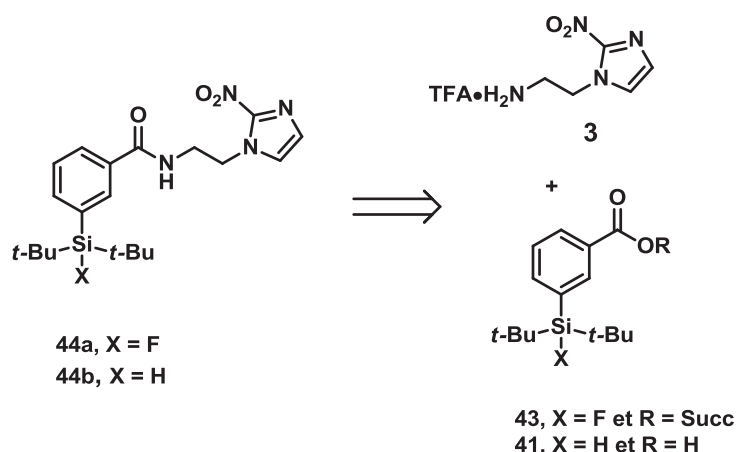


Schéma 2.18 Rétrosynthèse des dérivés fluorosilanes **44a** et **44b**

4.4.1. Préparation des acide **41** et ester **43**.

En nous basant sur les observations faites par Kostikov,⁹⁸ et afin d'assurer une stabilité maximale de la molécule finale, nous avons choisi d'introduire les fonctions ester et acide en position *méta* de l'atome de silicium. Ainsi, les deux intermédiaires **41** et **43** sont tous les deux synthétisés à partir de l'alcool 3-bromobenzyle. L'alcool est au préalable protégé sous forme d'un éther d'énol silylé,⁹⁹ puis est engagé dans une réaction d'échange halogène métal (Schéma 2.19). L'espèce lithiée intermédiaire réagit par substitution nucléophile sur le di-*tert*-butylfluorosilane ou di-*tert*-butylsilane pour former respectivement les composés **39a** et **39b**. Après déprotection de l'alcool en milieu acide nous obtenons les dérivés **40a** et **40b**.

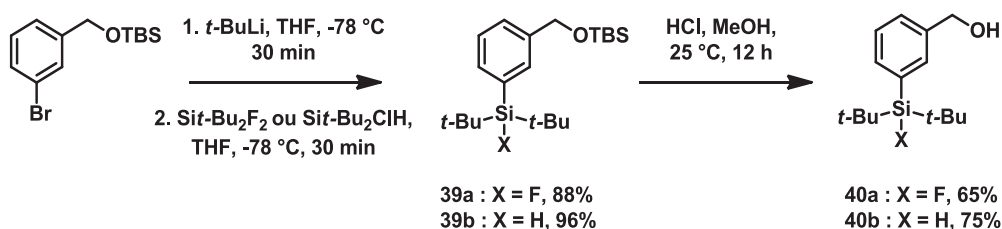


Schéma 2.19 Synthèse des dérivés **40a** et **40b**

Le composé **40a** est oxydé en deux étapes : une première fois en utilisant le pyridinium chlorochromate (PCC) pour conduire à l'aldéhyde **42**. Ce dernier est ensuite à

⁹⁸ Kostikov, A. P.; Chin, J.; Orchowski, K.; Niedermoser, S.; Kovacevic, M. M.; Aliaga, A.; Jurkschat, K.; Wängler, B.; Wängler, C.; Wester, H.-J.; Schirmacher, R. *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 106.

⁹⁹ Bonifazi, D.; Accorsi, G.; Armaroli, N.; Song, F.; Palkar, A.; Echegoyen, L.; Scholl, M.; Seiler, P.; Jaun, B.; Diederich, F. *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 1839.

nouveau oxydé par un réactif à base d'iode hypervalent (diacétate de iodobenzène) en présence d'hydrosuccinimide (NHS) formant ainsi l'ester succinimique **43** (Schéma 2.20). L'alcool **40b** est quant à lui converti en acide carboxylique **41** par une réaction d'oxydation avec le réactif de Jones.¹⁰⁰

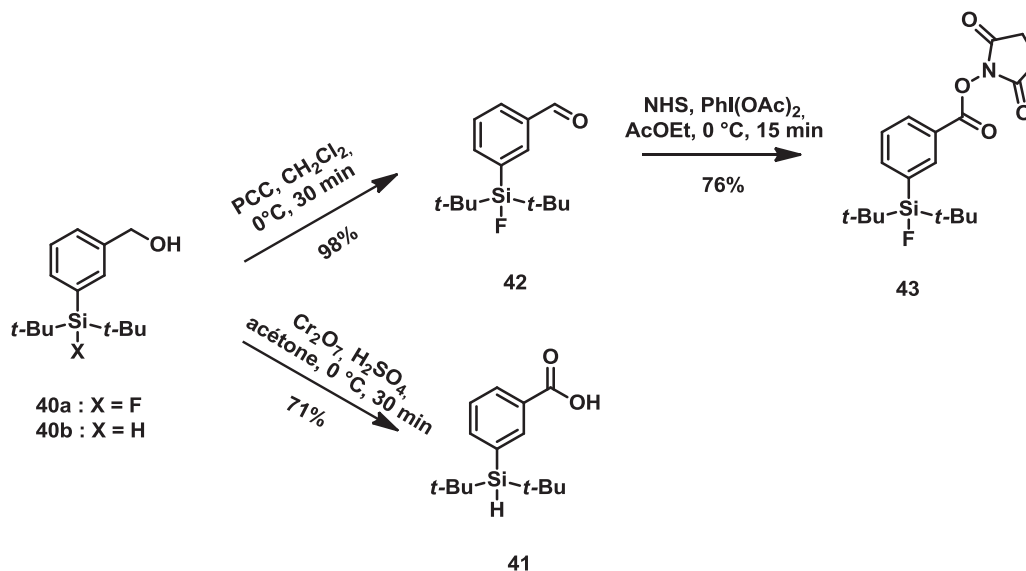


Schéma 2.20 Préparation des composés **41** et **43** par réactions d'oxydation

Les précurseurs **44a** et **44b** sont obtenus par couplage peptidique des espèces **41** et **43** avec 2-(2-nitroimidazol)éthylamine **3** avec un rendement global respectif de 21% et 28%.

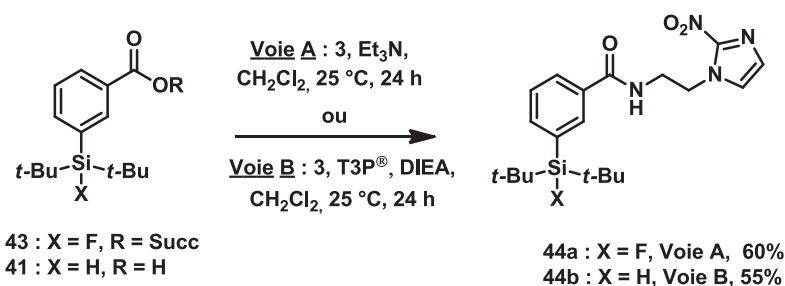


Schéma 2.21 Préparation des précurseurs **44a** et **44b** par réaction de couplage avec l'amine **3**

¹⁰⁰ Heilbron, I.; Jones, E. R. H.; Sondheimer, F. *J. Chem. Soc.* **1949**, 604.

4.5. Marquage au Fluor-18 des nouveaux analogues silylés

4.5.1. Optimisation des conditions opératoires de radiomarquage

Les essais de marquage ont été réalisés à l'université catholique de Louvain. Les radiomarquages ont été réalisés à plusieurs reprises pour chaque analogue en faisant varier les conditions opératoires (température, quantité de précurseur, quantité d'acide acétique ajoutée) afin de déterminer les conditions optimales d'incorporation du fluor 18 sur les dérivés silylés. Le *Tableau 2.2* résume les différents marquages réalisés.

Les premiers essais effectués sur l'analogue dinaphtyle **33**, utilisant le couple K¹⁸F/Kryptofix (sec) en présence d'acide acétique conduisent à un faible taux de conversion (entrée 1). La quantité d'acide introduit a été augmentée afin de faciliter le départ du groupement alkoxy lors de l'attaque nucléophile. La fluoration a été réalisée en plusieurs temps par chauffage progressif. A température ambiante, nous notons la présence en détection radioactive d'un unique pic à $t = 1,05$ min correspondant aux ions [¹⁸F]F⁻. Par chauffage à 50 °C nous détectons l'apparition d'un pic à $t = 4,63$ min correspondant au nouvel analogue marqué [¹⁸F]**34** (entrée 3). Le taux de conversion maximal de 71% est obtenu par chauffage à 75 °C durant 15 min (entrée 4). Ces mêmes conditions ont été utilisées pour la fluoration de l'analogue **37** et le produit radiomarqué [¹⁸F]**38** est alors obtenu avec un taux de conversion de 56% (entrée 5). Les dérivés [¹⁸F]**34** et [¹⁸F]**38** sont purifiés par extraction sur phase solide (SEP-pack silice) et sont obtenus avec des rendements radiochimiques isolés de 60% et 41% (décroissance corrigée) et des puretés radiochimiques supérieures à 94% et 97%.

Le dérivé SiFA **44a** a ensuite été radiomarqué en reprenant les conditions classiques d'échange isotopique (K₂CO₃, Kryptofix, température ambiante). Etonnamment, ces conditions ne permettent pas l'obtention du produit radiomarqué attendu, et nous observons en UV la disparition du précurseur fluorosilane **44a**. Dès lors, il est possible que la trop forte basicité du milieu réactionnel provoque l'hydrolyse de la liaison Si-¹⁹F du précurseur. Ce problème a notamment été observé par Jurkschat puis Kostikov⁹⁸ lors du radiomarquage d'ester actif SiFA par échange isotopique en milieu basique. L'ajout d'acide acétique a alors été envisagé pour neutraliser le milieu réactionnel, afin de palier aux problèmes d'instabilité (entrée 6). Nous observons, dans ces conditions, l'apparition d'un pic à $t_r = 8,35$ min, identifié comme étant le produit radiomarqué par comparaison avec la référence non-radioactive **44a**. La conversion reste cependant faible (5%). Toutefois, le chauffage du milieu réactionnel induit une augmentation significative du taux d'incorporation de fluor 18 sur la molécule

(entrées 7-9). Un taux de conversion optimal de 70% est observé, par chauffage à 100 °C durant 15 min. Il est à noter que l'ordre d'introduction des réactifs a une importance capitale dans la réussite du marquage. En effet l'acide acétique doit être ajouté avant le précurseur Si-F, celui-ci s'hydrolysant quasi-instantanément en milieu fortement basique, à température ambiante. Enfin la réaction a également été conduite directement à partir de la solution ¹⁸F/¹⁸O[H₂O] dans l'acétonitrile en présence d'acide acétique (entrée 10) et le produit [¹⁸F]**44a** a ainsi été obtenu avec une très bonne conversion estimée à 75%. Ce résultat est très prometteur. En effet, bien que les premiers travaux de Schirmacher⁸³ mettent en avant la possibilité d'effectuer l'échange isotopique par des ions fluorures [¹⁸F]F⁻ en milieu aqueux fortement dilué, cette alternative a été peu exploitée depuis. A titre d'exemple, les travaux réalisés sur la Phénylalanine-SiFA¹⁰¹ montrent la possibilité d'effectuer la fluoration par échange isotopique en milieu aqueux. Cependant la réaction nécessite un chauffage à 90 °C et les rendements radiochimiques restent modérés (10-27%).

Le marquage du précurseur silane **44b** est d'abord opéré à 100 °C dans l'acétonitrile anhydre en présence d'acide acétique et du résidu sec K¹⁸F/Kryptofix [2.2.2] (1-2 GBq). La quantité de précurseur utilisé semble, dans le cas présent, avoir une influence sur le rendement de la réaction (entrées 11 et 12). Ainsi l'emploi d'une plus faible quantité de substrat de départ, comme dans le cas de l'échange isotopique, conduit à de plus faibles conversions. Bien que l'utilisation de l'hydrogène comme groupe partant ne nécessite pas l'emploi d'acide, nous observons dans notre cas, une meilleure conversion en présence d'acide acétique (5 µL). Cela dit, la quantité d'acide ajoutée doit être contrôlée et un excès d'acide ($n_{\text{acide}}/n_{\text{base}} = 33$) entraîne une diminution importante des rendements (entrée 13). Pour finir, l'utilisation de DMSO à la place de l'acétonitrile permet d'augmenter de manière significative le taux de conversion en produit radiomarqué (entrées 14 et 15). Nous pouvons cependant noter qu'il est nécessaire de chauffer pour obtenir de bonnes conversions (entrée 16).

¹⁰¹ Iovkova, L.; Könnig, D.; Wängler, B.; Schirmacher, R.; Schoof, S.; Arndt, H.-D.; Jurkschat, K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, 2238.

| Entrée | Précurseur (mg) | Ac. Acétique (μL)[μmol] | Solvant | temps (min) | Température (°C) | % Si- ¹⁸ F ^(a) |
|--------|------------------|-------------------------|-------------------------------------|-------------|------------------|--------------------------------------|
| 1 | 33 (1) | (5)[83] | CH ₃ CN | 15 | 75 | 12 |
| 2 | 33 (1) | (50)[830] | CH ₃ CN | 15 | 25 | 0 |
| 3 | 33 (1) | (50)[830] | CH ₃ CN | 15 | 50 | 55 |
| 4 | 33 (1) | (50)[830] | CH ₃ CN | 15 | 75 | 71 |
| 5 | 37 (1) | (50)[830] | CH ₃ CN | 30 | 75 | 56 |
| 6 | 44a (0,1) | (5)[83] | CH ₃ CN | 20 | 25 | 5 |
| 7 | 44a (0,1) | (5)[83] | CH ₃ CN | 15 | 50 | 49 |
| 8 | 44a (0,1) | (5)[83] | CH ₃ CN | 15 | 80 | 62 |
| 9 | 44a (0,1) | (5)[83] | CH ₃ CN | 15 | 100 | 70 |
| 10 | 44a (0,1) | (5)[83] | CH ₃ CN/H ₂ O | 15 | 100 | 75 |
| 11 | 44b (0,1) | (5)[83] | CH ₃ CN | 15 | 100 | 24 |
| 12 | 44b (1) | (5)[83] | CH ₃ CN | 15 | 100 | 66 |
| 13 | 44b (1) | (10)[166] | CH ₃ CN | 15 | 100 | 33 |
| 14 | 44b (1) | (5)[83] | CH ₃ CN/DMSO | 15 | 100 | 82 |
| 15 | 44b (1) | (5)[83] | DMSO | 15 | 100 | 81 |
| 16 | 44b (1) | (5)[83] | CH ₃ CN | 15 | 60 | 29 |

^a% déterminés par radio-CCM

Tableau 2.2 Marquage au ¹⁸F des précurseur silylés **33**, **38**, **44a** et **44b**. La quantité de K₂CO₃ est de 3,5 mg. Les expériences ont été reproduites 3 fois et le rendement radiochimique moyen calculé

L'analogue [¹⁸F]**44a** produit selon les deux méthodes est purifié par CLHP semi-préparative. Il est obtenu par échange isotopique avec un rendement radiochimique de 64% (décroissance corrigée), une pureté radiochimique >98% et une activité spécifique de 3 GBq/μmol. La méthode par substitution nucléophile sur le dérivé silane **44b** conduit à un rendement radiochimique isolé de 70% (décroissance corrigée), une pureté radiochimique >98% et une activité spécifique supérieure à 50 GBq/μmol. Une tentative de purification sur cartouche d'alumine Sep-Pak a également été effectuée sur un échantillon d'un brut réactionnel de [¹⁸F]**44a** (462 MBq) et a permis d'isoler le produit avec une radiopureté supérieure à 99%.

Les expériences de marquage au fluor 18 réalisées ici, mettent encore une fois en évidence l'apport des dérivés organosilylés pour la préparation facile et rapide de traceurs TEP. Les produits fluorosilanes [¹⁸F]**34**, [¹⁸F]**39**, [¹⁸F]**44a** sont obtenus par chauffage en 15

min à 30 min avec de bon rendements radiochimiques (40-70%) et des purétés radiochimiques supérieures à 98%. Comme nous pouvions nous y attendre et bien qu'elle utilise une plus grande quantité de précurseur, la fluoration nucléophile sur le dérivé silane **44b** utilisant l'approche d'Ametamey⁷⁷ conduit à un produit possédant une plus forte activité spécifique. Cependant, le mécanisme d'action des traceurs de l'hypoxie ne nécessite pas une activité spécifique élevée. En effet, la rétention d'un composé nitroimidazolé n'est pas un processus saturable et n'implique pas un récepteur spécifique, mais seulement une réaction d'oxydoréduction. La méthode utilisant le précurseur **44b** semble également moins sensible à l'hydrolyse en milieu basique, même si l'ajout d'acide améliore les taux de conversion. Néanmoins, la perspective d'un marquage à partir d'ions fluorures en solution, reste un atout de poids pour la méthode de fluoration par échange isotopique, permettant ainsi de s'affranchir de l'étape de distillation azéotropique. Finalement, bien que le composé [¹⁸F]**44a** ait été purifié par CLHP semi-préparative, nous avons également envisagé la possibilité d'une purification par SPE qui simplifierait la procédure actuelle.

4.5.2. Stabilités hydrolytiques et plasmatiques des nouveaux analogues silylés du [¹⁸F]FMISO

Après avoir isolé les produits fluorés par CLHP semi-préparative ou par extraction sur phase solide, ces derniers ont été reformulés en solutions injectables contenant 5% d'éthanol. Les solutions sont injectées en radio-CLHP afin d'estimer la stabilité hydrolytique dans le sérum physiologique des nouveaux analogues, en fonction du temps. Comme illustré *Tableau 2.3*, le composé dinaphtyle [¹⁸F]**34** incorporant un espaceur amide affiche une stabilité hydrolytique ($t_{1/2} = 60$ min) deux fois inférieure à son homologue parent ($t_{1/2} > 120$ min).⁸⁰ En revanche le traceur SiFA [¹⁸F]**44a** s'avère stable après 2 h en solution dans le sérum physiologique. Lorsque les traceurs sont incubés dans un tampon phosphate, les analogues dinaphtyles [¹⁸F]**34** et [¹⁸F]**38** subissent une fluorolyse quasi-instantanée tandis que le traceur SiFA présente une bonne stabilité à l'hydrolyse après plus deux heures d'incubation. De la même façon, le dérivé SiFA [¹⁸F]**44a** reste stable plus de 2 h dans le plasma sanguin alors que nous observons une hydrolyse totale et quasi-instantanée des traceurs dinaphtyles [¹⁸F]**34** et [¹⁸F]**38**. Si l'introduction de fonctions hydrosolubles semble diminuer la lipophilie du radiotraceur initial⁸⁰ ($cLogP_{34} = 5,39$ et $cLogP_{38} = 5,08$), les modifications apportées semblent ici affecter de manière surprenante la stabilité *in vivo* des traceurs. Le traceur

[¹⁸F]**44a** s'avérant stable à l'hydrolyse nous avons alors étudié le comportement *in vivo* de ce dernier, en réalisant une micro-TEP sur le petit animal.

| Temps (min) | | 0 | 10 | 60 | 90 | 120 |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------|------|------|------|------|
| NaCl _{aq} (0,9%) +EtOH (5%) | [¹⁸ F] 34 | 98,11 | 83,6 | 49,0 | 25,6 | 15,9 |
| | [¹⁸ F] 44a | 100 | 100 | 99,9 | - | 99,9 |
| Tampon Phosphate pH = 7,2-7,4 | [¹⁸ F] 34 | 98,11 | 2,35 | 0,15 | - | 0,15 |
| | [¹⁸ F] 38 | 100 | 0,1 | 0,1 | 0,9 | 0,27 |
| | [¹⁸ F] 44a | 100 | 100 | 99,9 | 99,9 | 99,4 |
| Plasma sanguin | [¹⁸ F] 34 | 98,11 | 0,2 | 0,34 | 1,0 | 1,0 |
| | [¹⁸ F] 38 | 100 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| | [¹⁸ F] 44a | 100 | 99,8 | 94,5 | 95,6 | 84,8 |

Tableau 2.3 Stabilité des composés [¹⁸F]**34**, [¹⁸F]**38** and [¹⁸F]**44a** dans le sérum physiologique pH = 5,5, dans un tampon phosphate et dans le plasma humain à pH = 7,4, déterminée par radio- CLHP et radio CCM en comparant l'aire du composé radiomarqué sur l'aire de la radioactivité totale (Exprimé en%)

4.5.3. Evaluation *in vivo* du traceur SiFA [¹⁸F]**44a**

Des images sont d'abord réalisées sur un rat sain afin d'étudier la métabolisation du traceur. Une dynamique enregistrée pendant 1 h montre une bonne clairance du traceur par voie rénale. Puis des images réalisées à 2 h et 3 h dévoilent une bonne biodistribution du traceur dans tout l'organisme. Toutefois nous enregistrons une part prédominante d'activité dans le foie, les intestins et les reins (*Tableau 2.4*) ce qui démontre une forte excrétion par voie rénales et hépatiques. Nous observons également une légère fixation osseuse à partir d'1 h, caractéristique de la présence d'ions fluorures.

Une tomographie a ensuite été réalisée sur des souris porteuses de tumeurs hypoxiques (*Figure 2.6*). Nous observons encore une fois une bonne distribution du traceur cependant aucune rétention spécifique du traceur dans les zones hypoxiques n'est observée. La forte lipophilie du traceur peut être une explication. Les régions hypoxiques étant mal vascularisées, l'accès à ces dernières nécessite l'utilisation d'un composé possédant des caractéristiques lui permettant d'être facilement véhiculé vers ces régions.

| Organe | Valeur de rétention (% dose injectée) |
|-----------------|--|
| Os (fémur) | 2,8 |
| Foie | 7,3 |
| Intestin (gros) | 6,5 |
| Cœur | 0,5 |
| Muscle | 0,3 |
| Vessie | 9,5 |

Tableau 2.4 Biodistribution du traceur [^{18}F]44a, 90 min après injection

Or, la valeur du coefficient de partage octanol/eau ($\log P$) du composé [^{18}F]44a déterminée expérimentalement, est bien supérieure aux valeurs correspondantes pour les principaux traceurs fluorés présents dans la littérature (Tableau 2.5). Cette forte lipophilie est, comme nous l'avons mentionné précédemment, caractéristique des groupements SiFAs. Il n'est pas non plus exclu que la proximité entre le vecteur nitroimidazole et le groupement SiFA perturbe le mécanisme de rétention. La présence d'un bras espaceur de plus grande longueur de chaîne pourrait alors ici être envisagée pour remédier à ce problème.

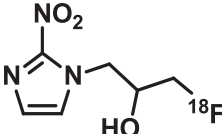
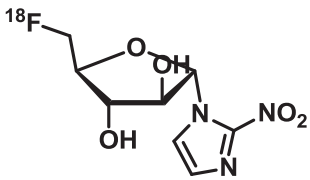
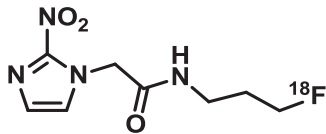
| | FMISO | FAZA | EF1 | [^{18}F]44a |
|---|---|--|------|------------------------|
|  |  |  | | |
| $\log P$ | 0,40 | 0,04 | 0,35 | 2 |

Tableau 2.5 Coefficients de partage octanol/eau expérimentaux de différents traceurs fluorés de l'hypoxie tumorale

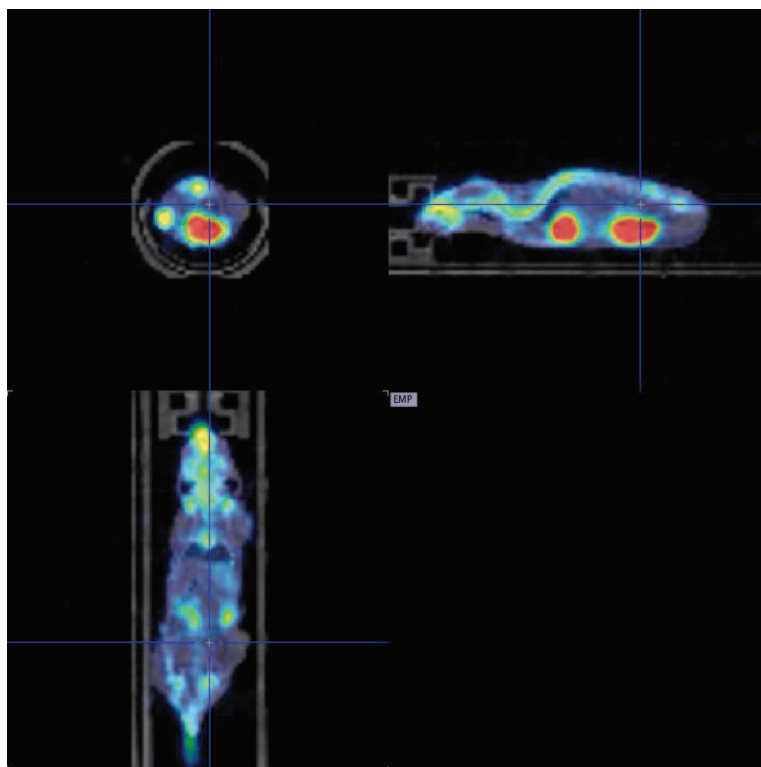


Figure 2.6 Images par micro-TEP d'une souris porteuse d'une tumeur hypoxique, 1 h après injection du composé [^{18}F]44a

5 Conclusion et perspectives

5.1. Conclusions

Ce projet a donné naissance à de nouveaux dérivés [¹⁸F]fluorosilanes pour l'imagerie TEP. Les premiers traceurs synthétisés [¹⁸F]**34** et [¹⁸F]**38** sont des améliorations des traceurs dinaphtyles précédemment élaborés par le laboratoire en 2009,⁸⁰ incorporant des groupements solubilisant afin d'augmenter l'hydrophilie des molécules et ainsi assurer une meilleure distribution *in vivo* de ces dernières. Malheureusement, malgré une bonne stabilité des traceurs dans le soluté physiologique, ceux-ci s'avèrent totalement instables dans le plasma humain et conduisent à l'hydrolyse totale de la liaison Si-F.

Un autre traceur [¹⁸F]**44a** incorporant un synthon SiFA a été élaboré. Les précurseurs **44a** et **44b** élaborés ont été radiomarqués suivant deux approches : la substitution nucléophile d'un dérivé silane et l'échange isotopique ¹⁸F-¹⁹F. Les rendements de radiomarquage s'avèrent bien supérieurs à celui du FMISO (RCY = 23-43%)⁶⁹ grâce à la formation facile de la liaison Si-F. Le composé radiomarqué obtenu montre cette fois-ci une bonne stabilité hydrolytique et plasmatique. Ce résultat montre de manière évidente la plus grande robustesse des dérivés SiFAs par comparaison aux traceurs dinaphtyles. De plus, les expérimentations *in vivo* réalisées et corrélées avec la mesure du coefficient de partage octanol/eau ($\log P$) mettent en relief la forte lipophilie de la molécule. Ce facteur pourrait en partie expliquer l'absence de rétention spécifique dans les régions hypoxiques. D'autre part la faible longueur de chaîne du bras espaceur pourrait également avoir un rôle.

5.2. Perspectives

L'enjeu à présent est de réussir à contrebalancer le caractère fortement hydrophobe des groupements *tert*-butyles et phényles par l'introduction d'un groupement solubilisant sur la molécule. Nous pourrions ainsi nous inspirer des travaux de Kostikov et Schirmacher,⁸⁷ qui ont développé un nouveau groupement prosthétique SiFA hydrophile grâce à la présence d'un ammonium quaternaire. Nous pourrions ainsi envisager l'introduction de groupements sulfonates sur les substituants *tert*-butyles afin d'apporter une plus grande hydrosolubilité aux traceurs tout en conservant l'encombrement stérique autour de l'atome de silicium, pour prévenir son hydrolyse. Cette modification pourrait être acquise à travers le schéma rétrosynthétique présenté *Schéma 2.22*. L'introduction du groupement sulfonate pourrait être

acquise par chauffage de l'ester néopentylsulfonique à partir d'une solution ¹⁸F/¹⁸O[H₂O] dans l'acétonitrile. Le composé **B** dont serait issu l'ester sulfonique **A** pourrait être obtenu par addition du lithien de l'ester néopentyl bromomethanesulfonate sur le dérivé bromé **C**. Ce dérivé bromé pourrait être obtenu par bromation du groupement isopropyl du composé **D** en suivant les conditions décrites par Seyferth *et al.*¹⁰² Enfin le dérivé dialkyldifluorosilane pourrait être synthétisé par une réaction de substitution des alkylolithiens sur le tétrafluorosilane.¹⁰³

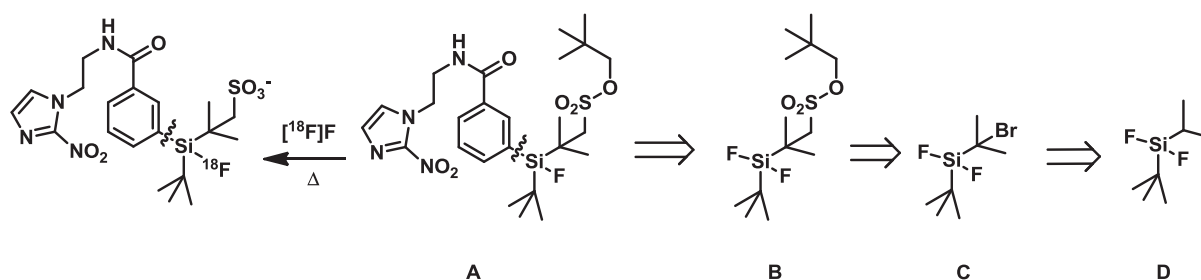


Schéma 2.22 Structure de nouveaux [¹⁸F]fluorosilanes potentiellement hydrophiles

Nous pourrions également imaginer de modifier le bras espaceur en utilisant une stratégie de synthèse similaire à celle développée pour le précurseur **37**. L'introduction d'un cycle triazole et du motif éthylène glycol permettrait à la fois d'augmenter la lipophilie de la molécule et la longueur de chaîne entre le vecteur nitroimidazole et le groupement prosthétique SiFA. Ce composé pourrait être préparé par une réaction de couplage de type « click chemistry » entre l'alcyne **36** et l'azoture **40c**. Ce dernier pourrait être synthétisé par traitement de l'alcool 4-di-*tert*-butylfluorosilylbenzylique (ou de l'alcool 4-di-*Tert*-butylsilylbenzylique) avec le DBU et l'azoture diphenylphosphoryle (DPPA), en suivant la procédure décrite par Fouquet & *al.*¹⁰⁴

¹⁰² Seyferth, D.; Annarelli, D. C.; Vick, S. C.; Duncan, D. P. *J. Organomet. Chem.* **1980**, 201, 179.

¹⁰³ Nakadaira, Y.; Oharu, K.; Sakurai, H. *J. Organomet. Chem.* **1986**, 309, 247.

¹⁰⁴ James, D.; Escudier, J.-M.; Amigues, E.; Schulz, J.; Vitry, C.; Bordenave, T.; Szlosek-Pinaud, M.; Fouquet, E. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 1230

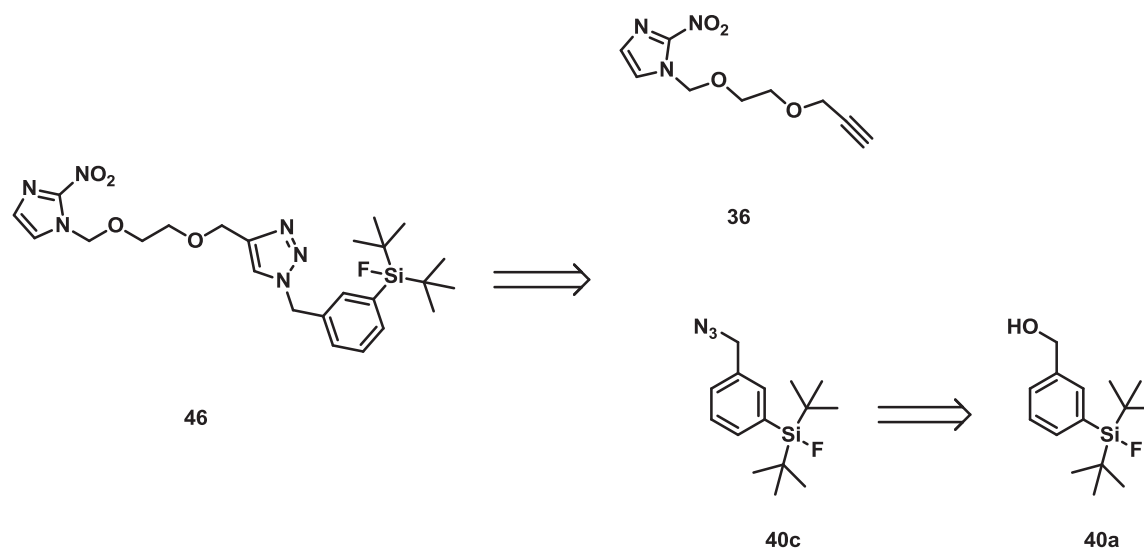


Schéma 2.23 Rétrosynthèse d'un nouvel analogue SiFA modifié

**Chapitre 3. Développement d'une nouvelle stratégie de
fluoration nucléophile et son application vers une
nouvelle synthèse du [¹⁸F]Fluorodésoxyglucose ([¹⁸F]FDG)**

1 Introduction

Comme nous l’avons vu dans le chapitre précédent, les caractéristiques quasi-idéales du fluor 18, ont fait de cet isotope le radionucléide le plus utilisé en imagerie TEP. Mais le nombre croissant de traceurs fluorés en phase de développement clinique ou de recherche avancé, est aussi corrélé au besoin de nouvelles techniques d’incorporation. Ces dernières doivent associer haute sélectivité, haut rendement radiochimique, rapidité et facilité de purification. Au cours de ces dernières années, de nouvelles méthodes sont apparues comme la fluoration enzymatique,¹⁰⁵ l’utilisation de liquides ioniques,¹⁰⁶ d’alcools protiques non-polaires, de sels d’aryliodonium¹⁰⁷ ou encore très récemment l’utilisation de catalyseur palladié.¹⁰⁸

Le but de ce dernier chapitre est de développer une méthodologie de fluoration nucléophile innovante de cibles aliphatiques pour la préparation de traceurs fluorés destinés à l’imagerie TEP. Cette méthodologie repose sur l’élaboration de nouveaux précurseurs esters sulfoniques incorporant un groupement chargé positivement tel qu’un ammonium quaternaire. Le postulat de départ suppose la formation d’une paire d’ions avec le substrat, qui favoriserait ainsi une attaque nucléophile intramoléculaire des ions fluorures sur le centre électrophile (*Schéma 3.1*).

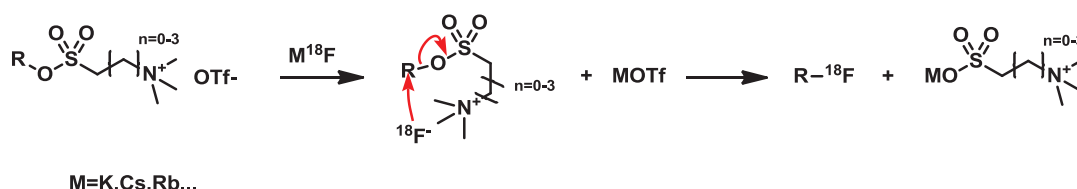


Schéma 3.1 Nouvelle approche de fluoration nucléophile par formation d’une paire d’ion-substrat

Cette nouvelle approche permettrait d’une part, de s’affranchir de l’utilisation d’un agent de transfert de phase, cryptands ou sels d’alkylammoniums, et d’autre part

¹⁰⁵ Deng, H.; Cobb, S. L.; Gee, A. D.; Lockhart, A.; Martarello, L.; McGlinchey, R. P.; O’Hagan, D.; Onega, M. *Chem. Commun.* **2006**, 652

¹⁰⁶ (a) Kim, D. W.; Choe, Y. S.; Chi, D. Y. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30*, 345; (b) Kim, D. W.; Song, C. E.; Chi, D. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10278.

¹⁰⁷ (a) Ross, T. L.; Ermert, J.; Hocke, C.; Coenen, H. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8018; (b) Lee, B. C.; Dence, C. S.; Zhou, H.; Parent, E. E.; Welch, M. J.; Katzenellenbogen, J. A. *Nucl. Med. Biol.* **2009**, *36*, 147.

¹⁰⁸ Furuya, T.; Kamlet, A. S.; Ritter, T.; *Nature*, **2011**, 473, 470.

permettrait d’isoler le produit très facilement par extraction sur phase solide C18. De même, il paraît envisageable d’effectuer la réaction directement à partir des ions fluorures en solution aqueuse, provenant directement du cyclotron, ce qui permettrait de supprimer l’étape de distillation azéotropique nécessaire à la désolvatation des ions fluorures nucléophiles. Enfin, plusieurs précurseurs pourraient être synthétisés afin d’étudier l’influence de la proximité **paire d’ions-sulfonate** sur l’efficacité de la réaction.

En accord avec la méthodologie étudiée, une étude bibliographique des précurseurs sulfonates existants sera exposée. Souhaitant développer cette méthodologie pour la préparation de traceurs TEP, une exemplification à la synthèse du Fluorodésoxyglucose ([¹⁸F]FDG) a alors été envisagée. Les caractéristiques du traceur [¹⁸F]FDG ainsi que sa synthèse actuelle seront présentés puis les différents essais réalisés permettant d’aboutir aux nouveaux précurseurs sulfonates du β-D-mannose tétraacétylé, seront développés. Les résultats préliminaires de fluoration seront également discutés.

2 Etude Bibliographique

2.1. Réaction par paire d’ions substrat-réactif

Usuellement, la préparation de radiotraceurs par fluoration de substrats aliphatiques s’effectue par déplacement d’un halogénure (I, Br, Cl) ou d’esters sulfoniques (OTf, OTs, OMs...). Ces derniers sont préparés par la réaction d’un alcool avec le chlorure de sulfonyle correspondant, et augmentent considérablement le caractère nucléofuge de l’atome d’oxygène. Depuis de nombreuses années, des recherches intensives ont été menées dans le but de développer de nouveaux groupes partants très réactifs accélérant la réaction de substitution nucléophile. Une des plus intéressantes contributions dans le domaine a été l’introduction des bétylates, par King et ses collaborateurs, en 1982.¹⁰⁹ Ces esters trialkylammoniumalcanesulfoniques ont, dans un premier temps, été employés en tant que paires d’ions substrat-réactif pour la préparation de divers esters sulfoniques à

¹⁰⁹ King, J. F.; Loosmore, S. M.; Aslam, M.; Lock, J. D.; McGarrity, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7108.

partir des alcools correspondants.¹¹⁰ Le terme de réaction par paire d'ions substrat-réactif (en anglais Substrate-Reagent Ion-Pair (SRIP)) désigne une transformation où le substrat et le réactif forment un sel. Dans la plupart des cas, le sel est préformé par métathèse ionique puis la réaction est induite par chauffage dans un solvant organique apolaire. L'utilisation de bétylates comme intermédiaires de synthèse a ensuite été étendue à la transformation d'alcools primaires et secondaires, et illustrée par des exemples impliquant de nombreux nucléophiles (Schéma 3.2).

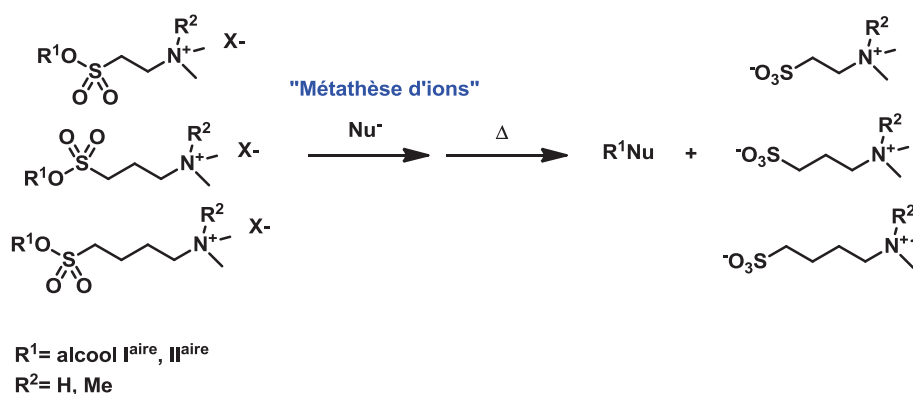


Schéma 3.2 Réactions de substitutions nucléophiles par paire d'ion substrat-réactif à partir de [2]-, [3]-, et [4]-bétylates (R¹ = Me) et leurs analogues norbétylates (R¹ = H)

Les expériences réalisées rapportent l'incompatibilité des [2]-bétylates en milieu basique (pH < 6,5) ou en présence de réactifs basiques du fait d'une réaction secondaire d'élimination d'Hoffman¹¹¹ (entrées 1 et 2, *Tableau 3.1*). En revanche, l'utilisation de [3]-bétylates et [4]-bétylates semble compatible avec ces mêmes conditions basiques. Bien que la réactivité des esters [3]-bétylates et [4]-bétylates semble inférieure à celle des esters [2]-bétylates, l'introduction d'une grande variété de nucléophiles a pu être effectuée avec de bons rendements. Parmi ces nucléophiles figurent des anions très réactifs tels que les ions cyanures, thiocyanates, azotures...mais également des anions pourtant peu nucléophiles tel que les ions picrates, perchlorates ou encore les sels de sulfonates (ex : anion triflate).

Un exemple cité par les auteurs a particulièrement retenu notre attention. Il s'agit de la préparation du 1-fluorohexadécane à partir de l'hexadécanol en utilisant un intermédiaire [3]-bétylates (entrée 6). Cet exemple vient renforcer notre hypothèse de départ. La formation d'une paire d'ion ammonium fluorure semble ici favoriser la réaction

¹¹⁰ King, J. F.; Aslam, M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 3573.

¹¹¹ Hofmann, A. W. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1851**, 79, 11.

de substitution nucléophile par un effet d'assistance entropique. Cependant les conditions utilisées par les auteurs (solvant apolaire, temps de réaction long) ne sont pas en accord avec les conditions générales de synthèse de radiotraceurs (solvant polaire aprotique, temps de réaction le plus court possible). La méthodologie que nous souhaitons mettre en œuvre, devra respecter ces dernières exigences.

| entrée | Bétylates | Nu ⁻ | (Solvant, Température, temps) | Produit | Rendement (%) |
|--------|-----------|-------------------------------|--|---|---------------|
| 1 | | NaOAc | (CH ₂ Cl ₂ -H ₂ O), 25°C, 2,5h | | 90 |
| 2 | | NaSH | (CH ₂ Cl ₂ -H ₂ O), 25°C, 0,25h | | 60 |
| 3 | | Cl ⁻ | PhMe, 110°C, 3h | C₁₆H₃₃Cl | 95 |
| 4 | | CN ⁻ | PhMe, 110°C, 2,5h | C₁₆H₃₃CN | 60 |
| 5 | | ClO ₄ ⁻ | PhMe, 110°C, 4h | C₁₆H₃₃OClO₃ | 32 |
| 6 | | F ⁻ | PhMe, 110°C, 72h | C₁₆H₃₃F | 67 |

Tableau 3.1 Exemples de réactions de substitutions nucléophiles utilisant un agent bétylate

2.2. Les sulfonates arylés NALG (Nucleophilic Assisted Leaving Group)

Le concept de groupements partants assistant la réaction de substitution nucléophile a également été exploité, en 2005, par Lepore *et al.*¹¹² Les auteurs décrivent la synthèse d'esters arylsulfoniques incorporant des unités oligomériques éthers en positions ortho (*Figure 3.1*). La structure de ces substrats améliore de manière significative l'efficacité des réactions de substitution impliquant des nucléophiles sous la forme de sels métalliques. Cela s'explique par une réaction de complexation du cation métallique par les chaînes

¹¹² Lepore, S. D.; Bhunia, A. K.; Cohn, P. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8117.

éthers qui a pour conséquence de localiser l’espèce nucléophile à proximité du centre électrophile, diminuant ainsi la barrière entropique de la réaction. Les premiers travaux réalisés sur ces précurseurs se focalisaient sur des réactions mettant en jeu des sels métalliques bromés et chlorés par comparaison avec des précurseurs analogues porteur d’un groupement partant tosylate.

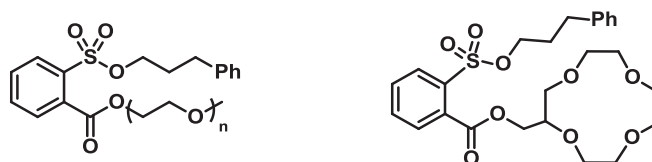
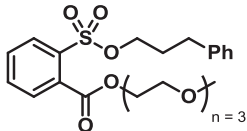
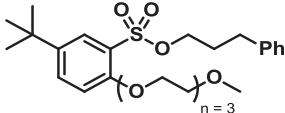
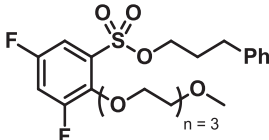


Figure 3.1 Arylsulfonate portant des chaînes polyéthers et des éthers couronnes

En 2009, une seconde étude a été menée par Lepore *et coll.*¹¹³ Cette étude démontre cette fois, que l’unité de chélation NALG améliore les réactions de substitution nucléophile par des halogénures métalliques, à travers une stabilisation de la charge dans l’état de transition. Les auteurs ont alors développé une deuxième génération de sulfonates NALG. Le linker ester (*Tableau 3.2, entrée 2*) est désormais remplacé par une chaîne éther (*Tableau 3.2, entrée 3*) afin d’augmenter la mobilité de la chaîne complexante. Les arylsulfonates NALGs de première et deuxième génération ont ensuite été utilisés dans des réactions de radiofluoration nucléophile en vue d’une application en TEP (*Tableau 3.2*). Étonnamment aucune conversion n’est observée en l’absence de Kryptofix en conditions thermiques. Les auteurs supposent ici une trop forte solvataion du cation métallique par le solvant de la réaction (DMF, DMSO), ou une trop faible solubilité de la paire d’ions de l’halogénure métallique (CH_3CN , acétone), ce qui a pour conséquence d’annihiler l’assistance apportée par la chaîne NALG. Cependant l’ajout d’un agent de transfert de phase (K2.2.2) permet d’obtenir le produit radiomarqué avec de bons rendements radiochimiques. D’autre part la présence d’un groupement électrodonneur comme le *tert*-butyle (*entrée 3*) engendre une diminution des rendements. A contrario la présence de groupement électroattracteur comme le fluor (*entrée 4*) améliore les rendements. Enfin si l’utilisation de micro-ondes augmente les rendements de la réaction, elle permet surtout d’observer une conversion en l’absence de cyrptands. Même si les rendements radiochimiques atteints restent faibles, ces résultats en font un point fort de la méthode.

¹¹³ Lu, S.; Lepore, S. D.; Li, S. Y.; Mondal, D.; Cohn, P. C.; Bhunia, A. K.; Pike, V. W. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5290.

| Entrée | structure | Rendements radiochimiques (%) | | |
|--------|---|----------------------------------|-------------------|------------------------|
| | | Thermique K2.2.2 ^b | μ-ondes K2.2.2 | μ-ondes sans K2.2.2 |
| 1 | Ar(CH ₂) ₃ OTs | 65 | 76 | 9 |
| 2 |  | 62 | 79 | 22 |
| 3 |  | 31 | 64 | 16 |
| 4 |  | 72 | 75 | 12 |

^b aucun produit observé, en conditions thermique, en absence du cryptands K2.2.2

Tableau 3.2 Radiofluoruration de précurseurs arylsulfonates porteurs de chaînes NALG

Cette petite étude bibliographique met en évidence l’apport bénéfique d’une assistance entropique à la réaction de substitution nucléophile, même en présence d’anions faiblement nucléophiles.

3 Le Fluorodésoxyglucose, traceur de référence en imagerie TEP.

3.1. Propriétés et utilisation

Le [¹⁸F]Fluorodésoxyglucose, ou [¹⁸F]FDG est actuellement le traceur le plus utilisé en TEP pour le diagnostique de différents cancers (poumon, côlon, lymphome...). Le [¹⁸F]FDG, est une molécule de glucose dans laquelle un atome de fluor radioactif (¹⁸F) remplace une fonction alcool. Lorsque celui-ci est injecté à un patient, il est métabolisé (*Figure 3.2*) prioritairement par les cellules très consommatrices de glucose, notamment dans le cerveau, le foie, ainsi que par les cellules cancéreuses. L'hydroxyle en position 2 est nécessaire à la métabolisation complète du glucose et son absence dans le FDG bloque par conséquent sa dégradation, ce qui fait de la fixation du [¹⁸F]FDG observée par TEP une image fidèle de la façon dont est distribuée dans l'organisme l'absorption et la

phosphorylation du glucose. En plus de la détection des tumeurs, il peut également révéler des sites inflammatoires ou infectieux.

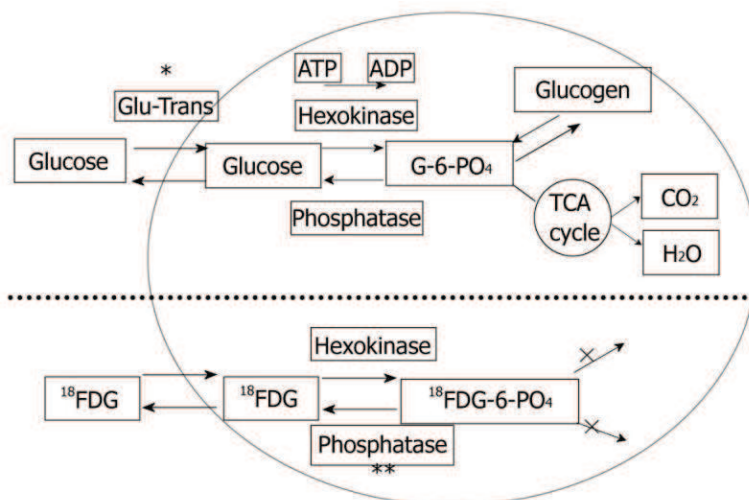


Figure 3.2 Métabolisme du glucose et du [¹⁸F]Fluorodésoxyglucose¹¹⁴

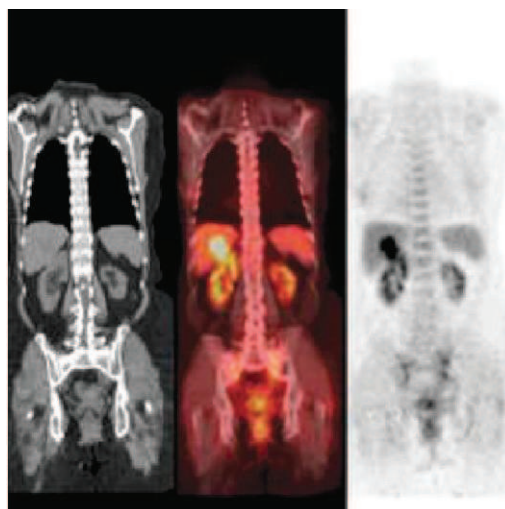


Figure 3.3 Imagerie TEP au [¹⁸F]FDG d’un patient atteint d’un cancer colorectal (à gauche, image scanner au milieu, image de la fusion TEP/scanner; droite, image TEP)¹¹⁵

¹¹⁴ Murakami, K. *World J. Clin. Oncol.* **2011**, 2, 229.

¹¹⁵ Pimlott, S. L.; Sutherland, A. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 149.

3.2. Préparation du [¹⁸F]FDG

3.2.1. Synthèse par voie électrophile

La première synthèse du [¹⁸F]FDG a été réalisée en 1977 par fluoration électrophile. Jusqu’au milieu des années 80, le FDG a été préparé principalement par cette voie. Pour ne pas interférer avec la synthèse, les différents groupes hydroxyles sont masqués et protégés par un groupement acétyle, facile à introduire et à ôter. La synthèse originale d’Ido *et al.* en 1977¹¹⁶ faisait appel au fluor [¹⁸F]-F₂, réalisant une addition électrophile sur un triacétylglyceral. Si cette synthèse conduit à un rendement radiochimique limité (10% corrigé de la décroissance), elle présente surtout l’inconvénient de fournir l’autre isomère, le [¹⁸F]Fluorodésoxymannose ([¹⁸F]FDM) avec un ratio de FDG : FDM de 4 : 1. Les deux isomères n’étant pas consommés à la même vitesse, la contamination du FDG par le FDM conduit à une sous-estimation du taux de métabolisation. Cependant une séparation par chromatographie préparative est possible. Plusieurs équipes ont cherché à améliorer ce rendement et à réaliser une synthèse plus diastéréosélective avec des agents fluorants de type XeF₂¹¹⁷ ou AcOF¹¹⁸ (Schéma 3.3).

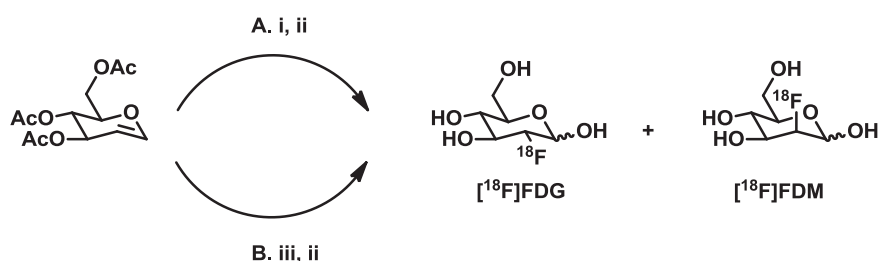


Schéma 3.3 Synthèse par voie électrophile du [¹⁸F]FDG à partir du triacétylglyceral. Voie A : i) [¹⁸F]F₂, 0,1-2% F₂, CFCl₃, ii) HCl_{aq.}, RCY 10%, ratio 3:1 (FDG/FDM). Voie B : iii) [¹⁸F]AcOF ou [¹⁸F]XeF₂, ii) HCl_{aq.}, RCY 20%, ratio 95:5 (FDG/FDM)

¹¹⁶ Ido, T.; Wan, C. N.; Casella, V.; Fowler, J. S.; Wolf, A. P.; Reivich, M.; Kuhl, D. E. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1978**, *14*, 175.

¹¹⁷ Shiue, C-Y.; Wolf, A. P. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1983**, *20*, 157.

¹¹⁸ Bida, G. T.; Satyamurthy, N.; Barrio, J. R. *J. Nucl. Med.* **1984**, *25*, 1327.

3.2.2. Synthèse par voie nucléophile

Plusieurs tentatives de préparation du [¹⁸F]FDG par voie nucléophile ont vu le jour avant 1985, utilisant le fluorure de césium ([¹⁸F]-CsF),¹¹⁹ le fluorure de tétraéthylammonium ([¹⁸F]-Et₄NF)¹²⁰ et le bifluorure de potassium ([¹⁸F]-KHF₂).¹²¹ Cependant l’utilisation de ces méthodes est restée très limitée du fait du faible taux d’incorporation de fluor 18 et des difficultés rencontrées pour ôter les groupements protecteurs. L’essor de la méthode par fluoration nucléophile date de 1987 lorsque Hamacher *et al.*⁷³ introduisirent l’utilisation de Kryptofix [2.2.2], afin d’augmenter la réactivité des ions fluorures. Le fluor 18 nucléophile est alors introduit en position 2 d’un dérivé du mannose à la place d’un groupe partant, avec une inversion de configuration et le glucose radiomarqué est ainsi obtenu. Le [¹⁸F]FDG est obtenu dans ces conditions avec un rendement radiochimique supérieur à 50% en un temps raccourci de 50 min. Cette approche a permis de supplanter presque totalement l’approche électrophile. Le précurseur utilisé est le mannose triflate dont les positions 1,3,4 et 6 sont acétylées. La réaction est conduite dans l’acétonitrile en présence de Kryptofix et d’ions fluorures 18 (Schéma 3.4). Les groupements acétyles sont ensuite hydrolysés avec une solution d’HCl. Le produit final est ensuite purifié par une série de résine cationique, colonne en phase inverse C18 et colonne d’alumine. Une amélioration majeure de ce procédé concerne la déprotection des groupements acétyles par hydrolyse basique, beaucoup plus rapide (1 minute au lieu de 20 minutes en milieu acide).¹²² Enfin, des méthodes utilisant une substitution nucléophile en phase solide ont vu le jour.¹²³ Ces améliorations permettent de réduire le temps de synthèse à moins de 30 minutes et les rendements corrigés peuvent approcher 80%.

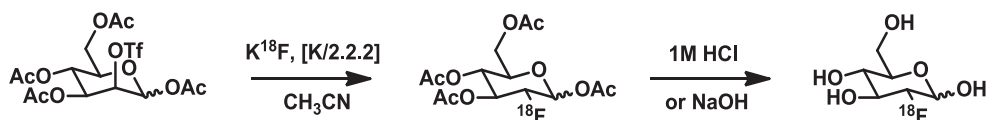


Schéma 3.4 Synthèse du FDG par substitution nucléophile

¹¹⁹ Levy, S.; Livni, E.; Elmaleh, D.; Curatolo, W. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 972.

¹²⁰ Tewson, T. J. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3507.

¹²¹ Szarek, W. A.; Hay, G. W.; Perlmutter, M. M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 1253.

¹²² F. Füchtner, J. Steinbach, P. Mäding, B. Johannsen, *Appl. Radiat. Isot.* **1996**, *47*, 61.

¹²³ (a) Toorongian, S. A.; Mulholland, G. K.; Jewett, D. M.; Bachelor, M. A.; Kilbourn, M. R. *Nucl. Med. Biol.* **1990**, *17*, 273; (b) Lemaire, C.; Damhaut, P.; Lauricella, B.; Mosdzianowski, C.; Morelle, J. L.; Monclus, M.; Van Naemen, J.; Mulleneers, E.; Aerts, J.; Plenevaux, A.; Brihaye, C.; Luxen, A. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2002**, *45*, 435.

La demande croissante de production de FDG dans tous les centres de TEP, la répétition d'une procédure de synthèse bien codifiée et surtout la nécessaire radioprotection des chimistes ont créé une forte motivation pour le développement d'automates de radiosynthèse (*Figure 3.4*). Tous ces systèmes font appel à la synthèse nucléophile développée par le groupe de Hamacher,⁷³ mais peuvent varier selon le type de catalyseur, les méthodes de chauffage et de transfert des liquides, le nombre de bains, et le temps de synthèse...



Figure 3.4 Automate de synthèse GE TRACERLab MX FDG

Les nombreuses recherches cliniques basées sur l'utilisation du [^{18}F]FDG ainsi que sa production en routine font de ce radiotracer le radiopharmaceutique le plus décrit et le plus étudié à l'heure actuelle. C'est pourquoi ce dernier a été choisi comme modèle pour l'élaboration de notre nouvelle stratégie de fluoration.

4 Elaboration de nouveaux précurseurs sulfonates du FDG

Comme énoncé dans l'introduction de ce chapitre la nouvelle stratégie de radiofluoration nucléophile envisagée repose sur un concept précédemment établi par King.¹⁰⁹ Il s'agirait d'une réaction impliquant la formation d'une paire d'ions lâche avec les ions fluorures, qui faciliterait une substitution nucléophile intramoléculaire par une assistance entropique.

La synthèse d'ammonioalcane sulfonates du mannose protégé (*Figure 3.5*), a dans un premier temps été envisagée.

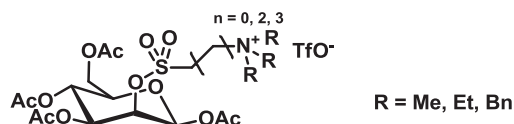


Figure 3.5 Structure des nouveaux précurseurs sulfonates du mannose tetraacétate

Les différentes structures proposées varient selon la longueur de la chaîne alkyle. La synthèse d’un précurseur possédant une chaîne éthyle n’a pas été prise en considération car la fluoration de ce dernier conduirait probablement au produit d’élimination d’Hoffman.

Après avoir synthétisé les précurseurs, la fluoration à froid de ces derniers sera réalisée. Dans un deuxième temps, nous examinerons les cinétiques de fluoration de ces derniers par comparaison avec les analogues triflate et mésylate.

4.1. Synthèse par *N*-alkylation à partir des esters chloroalkylsulfonates

Nous avons dans un premier temps envisagé la rétrosynthèse suivante (Schéma 3.5). Les esters ammoniumalcanesulfonates pourraient être préparés par *N*-alkylation d’une amine secondaire (diéthylamine, diméthylamine) à l’aide d’un dérivé chloroalcanesulfonate. Puis une réaction de quaternarisation de l’amine tertiaire serait effectuée. Le dérivé chloroalcanesulfonate pourrait être obtenu par estérification du mannose tetraacétate **50** avec un chlorure de chloroalcanesulfonyle.

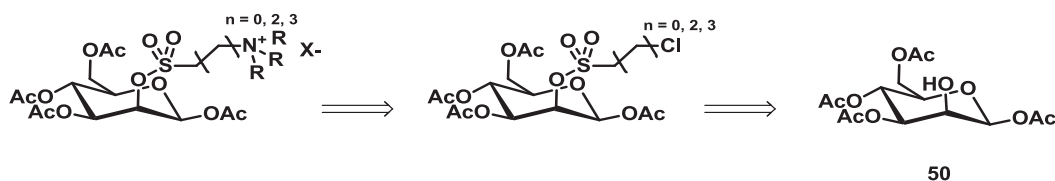


Schéma 3.5 Première rétrosynthèse envisagée

4.1.1. Préparation du mannose tetraacétate.

La synthèse du 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-β-D-mannopyrannose (mannose tetraacétate) a été effectuée en suivant le protocole décrit par Toyokuni *et al.*¹²⁴ Le produit est obtenu en 4 étapes à partir du D-mannose commercial (Schéma 3.6). La première étape est une peracétylation du D-mannose dans l’anhydride acétique en présence d’une quantité catalytique de diode.¹²⁵ Le dérivé pentaacétylé **47** a ensuite été déprotégé sélectivement par hydrobromation pour conduire à l’acétobromannose **48**. Ce dernier, instable à température ambiante, a immédiatement été converti en 1,2-orthoester **49**¹²⁶ dont l’hydrolyse en milieu faiblement acide permet l’obtention d’un mélange des isomères α et β du mannose tetraacétate. L’isomère β **50** qui nous intéresse a été isolé par précipitation dans l’éther, tandis que l’isomère α **51** a pu être recyclé à l’étape de peracétylation.

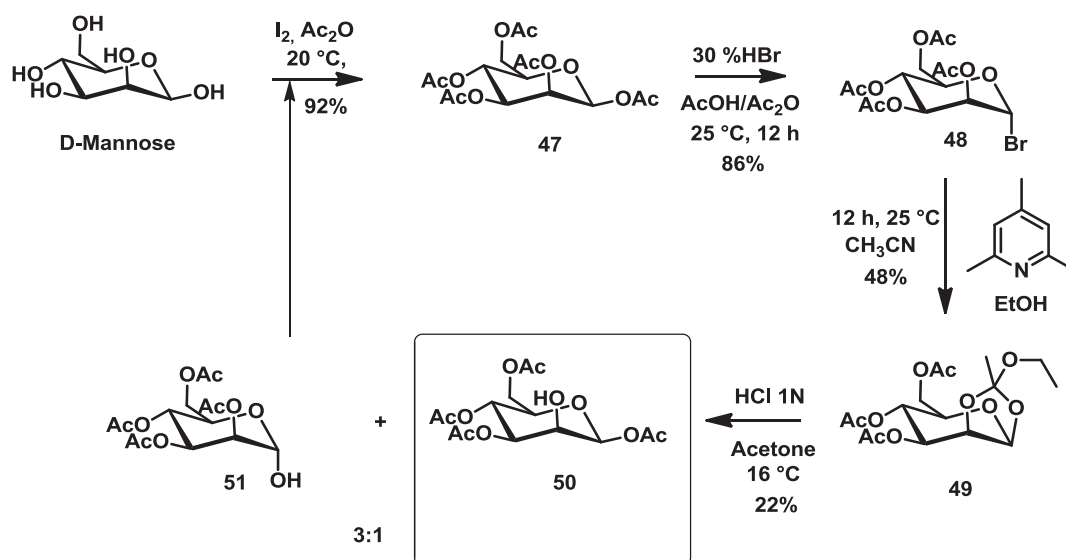


Schéma 3.6 Synthèse du mannose tetraacétate

L’anomère α, cinétiquement et thermodynamiquement favorisé, est obtenu majoritairement. De même il est à noter qu’en milieu faiblement basique, l’isomère β est graduellement converti dans le temps en l’anomère α, par migration C₁-C₂ du groupement

¹²⁴ Toyokuni, T.; Dileep Kumar, J. S.; Gunawan, P.; Basarah, E. S.; Liu, J.; Barrio, J. R.; Satyamurthy, N. *Mol. Imag. Biol.* **2004**, *6*, 324.

¹²⁵ Kartha, K. P. R.; Field, R. A. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 11753.

¹²⁶ Pozsgay, V.; Glaudemans, C. P. J.; Robbins, J. B.; Schneerson, R. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 10249.

acétyle (*Schéma 3.7*).¹²⁷ Un contrôle strict de pH et de température lors de l’étape d’hydrolyse permet de limiter cette réaction indésirable.

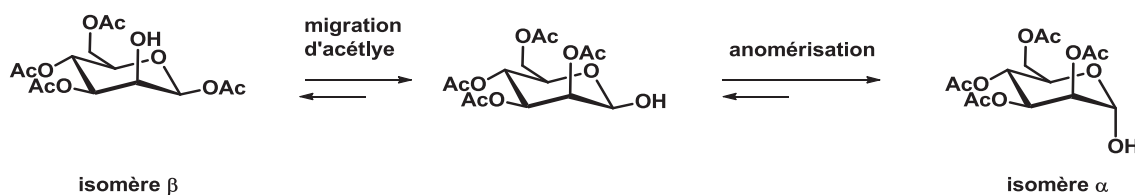


Schéma 3.7 Migration du groupement acétyle et anomérisation de l’isomère β ¹²⁴

4.1.2. Formation des chlorures de chloroalcanesulfonates

Les synthèses de l’ester chlorométhanesulfonate et de l’ester chloropropanesulfonate ont été réalisées avec succès par réaction avec le mannose tetraacétate **50**, à partir du chlorure de 1-chlorométhanesulfonyle et du chlorure de 3-chloropropanesulfonyle (*Schéma 3.8*).¹²⁸

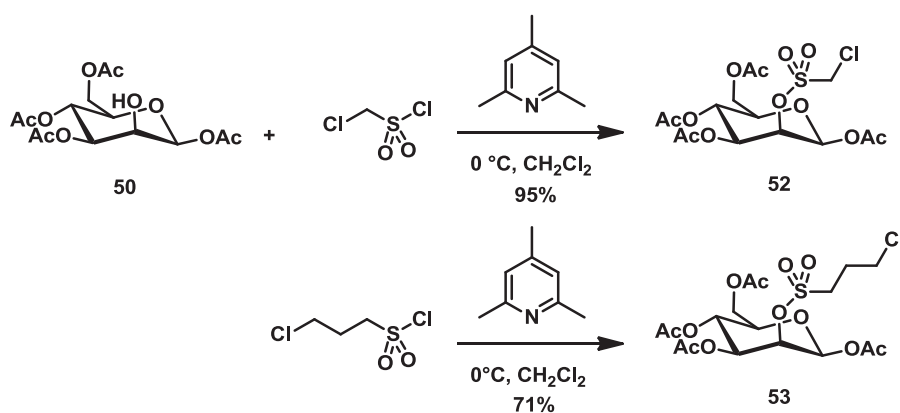


Schéma 3.8 Préparation des esters de chloroalkylsulfonates **52** et **53**

Le choix de la base influe grandement sur le rendement de la réaction. En effet, l’utilisation de triéthylamine ($\text{pK}_a \sim 10\text{-}11$)¹²⁹ par exemple, entraîne une diminution

¹²⁷ Bonner, W. J. *Org. Chem.* **1959**, *24*, 1388.

¹²⁸ (a) Dyson, B. S.; Burton, J. W.; Sohn, T.-i.; Kim, B.; Bae, H.; Kim, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 11781; (b) Jin, H.-j.; Lu, J.; Wu, X. *Biorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 3465. (c) Pauff, S. M.; Miller, S. C. *J. Org. Chem.* **2012**, *78*, 711.

¹²⁹ Foye, W. O.; Lemke, T. L.; Williams, D. A. In *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*; Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, **2002**, p 1070.

importante du rendement, du fait d’une réaction parasite de transfert d’acétyle sur le mannose tétraacétate. Pour éviter cela, l’emploi d’une base plus faible comme la pyridine ou la 2,4,6-triméthylpyridine (pKa ~ 5 et pKa ~ 7,5)¹²⁹ est requis.

4.1.3. Formation de l’amine tertiaire par *N*-alkylation

La synthèse des composés ammoniumalcanesulfonates nécessite la formation préalable d’une amine tertiaire. Pour cela, une réaction de substitution nucléophile de la diméthylamine sur les dérivés chloroalcanesulfonates précédemment synthétisés, a été expérimentée (Schéma 3.9).¹³⁰

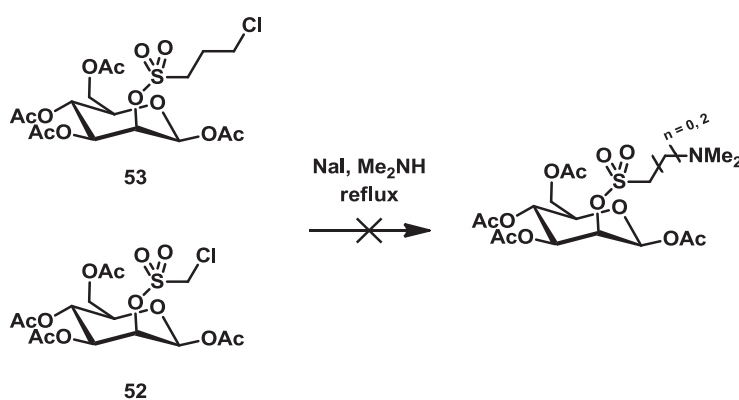


Schéma 3.9 Formation d’aminosulfonates par *N*-alkylation de la diméthylamine

Toutefois, la réaction ne permet pas l’obtention des produits attendus. Une quantité catalytique d’iodure de sodium a alors été ajoutée afin de faciliter la réaction, mais à nouveau ces essais ce sont révélés infructueux. En effet, des produits de déacétylation des réactifs chloroalcanesulfonates **53** et **52** sont observés. Puisque les conditions de réactions employées ici ne semblaient pas compatibles avec les fonctions acétyles présentes sur les substrats de départ, un changement de stratégie a été opéré.

4.2. Couplage du mannose tétraacétate avec des dérivés chlorures dialkylaminoalkylsulfonyles et chlorures trialkylammonioalkylsulfonyles

La deuxième stratégie envisagée consiste à coupler le mannose tétraacétate avec un dérivé chlorure de sulfonyle comportant déjà un groupe trialkylammonium. Le contre-ion

¹³⁰ Pauff, S. M.; Miller, S. C. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6196

chlorure pourrait ensuite être échangé en un contre-ion non nucléophile X⁻, par métathèse anionique à l’aide de résines échangeuses d’ions. Les chlorures de trialkylammonioalcanesulfonyles pourraient être obtenus par chloration des sulfobétaines correspondantes (Schéma 3.10).

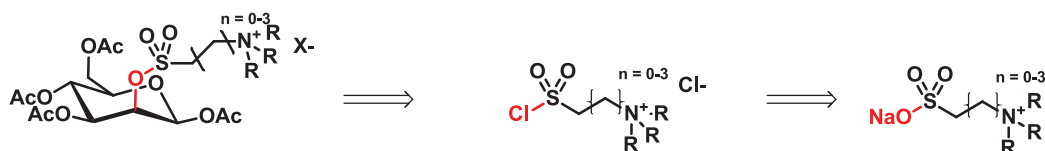


Schéma 3.10 Nouvelle rétrosynthèse proposée permettant l’obtention des nouveaux précurseurs à partir de trialkylammonioalcanesulfonates de sodium (R = Bn, Me)

4.2.1. Préparations de sulfobétaines (ammonioalkylsulfonates)

Les sulfobétaines sont des composés zwitterioniques utilisés dans de nombreux domaines de la chimie.¹³¹ Pour la préparation de ces molécules, nous nous sommes appuyés sur les travaux réalisés par Seubert et Sonnenschein portant sur la synthèse de monomères styrènes sulfobétaines.¹³² Tout d’abord, les sulfobétaines **54** et **55** sont obtenues avec de très bons rendements par l’ouverture de la 1,3-propanesultone et de la 1,4-butanesultone avec la *N,N*-diméthylbenzylamine.

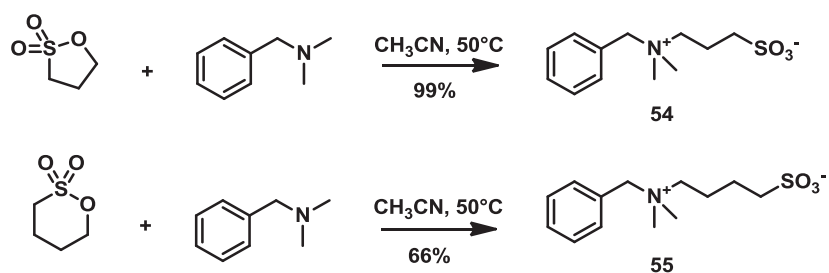


Schéma 3.11 Ouverture de sultones par la *N,N*-diméthylbenzylamine

La préparation de la sulfobétaine **57** a ensuite été opérée en deux étapes (Schéma 3.12). Pour cela, le diméthylaminométhanesulfonate a d’abord été préparé selon la

¹³¹ (a) Seibt, H.; Ohme, R.; Ballschuh, D. *Tenside, Surfactants, Detergents* **1991**, *28*, 337; (b) Aldred, N.; Li, G.; Gao, Y.; Clare, A. S.; Jiang, S. *Biofouling* **2010**, *26*, 673; (c) Tsukamoto, T.; Yamamoto, A.; Kamichatani, W.; Inoue, Y. *Chromatographia* **2009**, *70*, 1525.

¹³² Sonnenschein, L.; Seubert, A. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1101.

procédure décrite par King et Skonieczny¹³³ à partir de l’hydroxyméthanesulfonate de sodium et de la diméthylamine. L’amine tertiaire obtenue a ensuite été quaternarisée par le chlorure de benzyle.

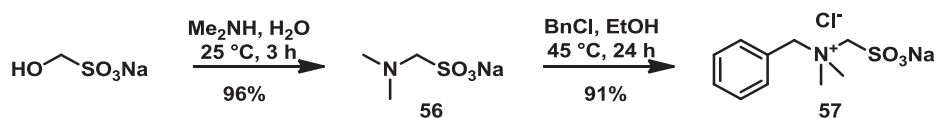


Schéma 3.12 Préparation de la sulfobetaine 57

4.2.2. Chloration des sulfobetaines

La chloration des sulfobetaines a d’abord été réalisée par réaction dans le chlorure de thionyle à reflux, en présence d’une quantité catalytique de DMF.¹³⁴



Schéma 3.13 Essai de chloration de sulfobetaines par le chlorure de thionyle

Le chlorure de sulfonyle attendu n’a pas pu être isolé dans ces conditions. D’autres essais utilisant des agents de chloration tels que PCl₅,¹³⁵ POCl₃,¹³⁶ la 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine¹³⁷ ont également été effectués mais n’ont pas permis la conversion des sulfobetaines de départ. Cela pourrait s’expliquer par la possible formation de paires d’ions stables intra et/ou intermoléculaire qui empêcherait ainsi les réactions de chloration (Figure 3.6) D’autres part, les conditions dures (chauffage prolongé, milieu très acide, ...) inhérentes à l’emploi de tels agent de chloration ne semblent pas ici compatibles avec des substrats sensibles tel que les chlorures d’ammonioalcanesulfonyles.

¹³³ King, J. F.; Skonieczny, S. *Phosphorous and Sulfur and the Related Elements* **1985**, 25, 11.

¹³⁴ (a) Bossard, H. H.; Mory, R.; Schmid, M.; Zollinger, H. *Helv. Chim. Acta.* **1959**, 42, 1653; (b) Saunders, J. O.; Bugga Sarma, V. N. B. S.; Nageshwar, K. V. R. I. Elixir Pharmaceuticals, I., Ed. United States of America, **2010**; Vol. WO2010104929 A1.

¹³⁵ (a) Gao, F.; Yan, X.; Zahr, O.; Larsen, A.; Vong, K.; Auclair, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 5518; (b) Brienne, M. J.; Varech, D.; Leclercq, M.; Jacques, J.; Radembino, N.; Dessalles, C.; Mahuzier, G.; Gueyouche, C.; Bories, C. *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 2232.

¹³⁶ Pelcman, B.; Olofsson, K.; Suna, E.; Kalvins, I.; Ozola, V.; Andrianov, V.; *Boehringer Ingelheim International G.m.b.H.*, Germany; Biolipox AB. **2008**, 84.

¹³⁷ (a) De Luca, L.; Giacomelli, G. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 3967; (b) Blotny, G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 1499.

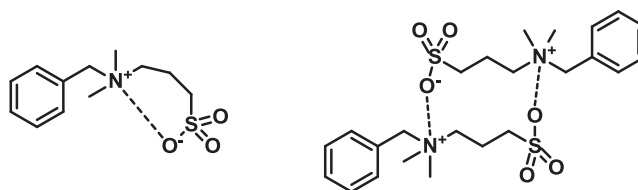


Figure 3.6 Représentation schématique des paires d'ions internes stables possibles de sulfobétaines

Un nouveau changement de stratégie a alors été opéré (*Schéma 3.14*) faisant intervenir une nouvelle voie d'accès aux chlorures de sulfonyle. En effet l'obtention de tels dérivés peut-être communément effectuée par chloration oxydante de composés soufrés (thiols, disulfures, thioacétates...). En outre, la fonction ammonium quaternaire pourrait cette fois-ci être introduite lors de la dernière étape, par une réaction d'alkylation des esters aminoalcanesulfoniques. Cette inversion permettrait, d'autant plus, d'avoir une meilleure maîtrise du contre ions X⁻ en choisissant l'agent d'alkylation adapté. Cette nouvelle voie d'accès a été expérimentée pour la préparation de l'ester ammoniopropanesulfonate seul, afin de valider le schéma de synthèse.

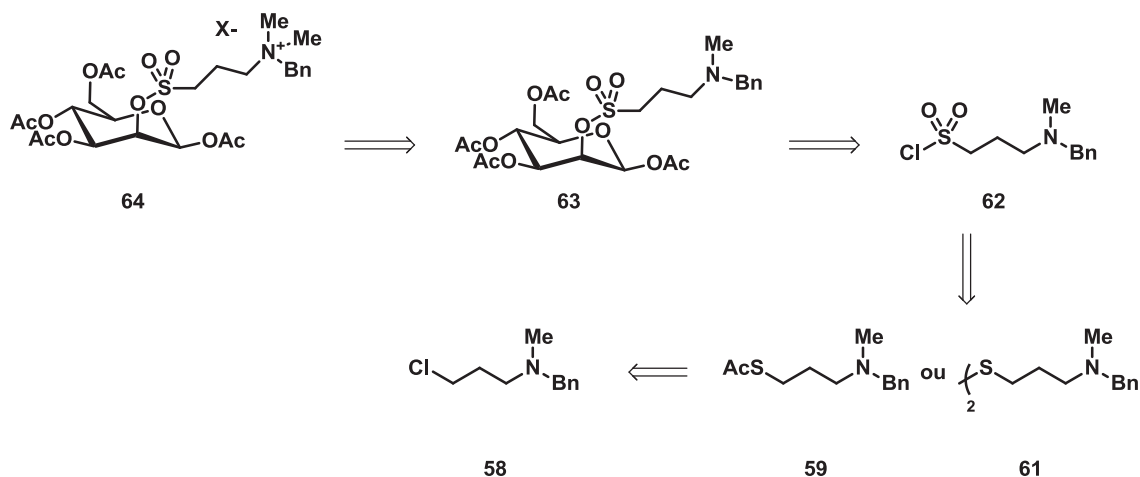


Schéma 3.14 Nouvelle rétrosynthèse envisagée à partir de dérivés amino-soufrés (R = Bn, Me)

4.2.3. Préparation des composés amino-soufrés

La préparation du disulfure aminé **61** a été effectuée en 3 étapes à partir du 3-bromo-1-chloropropane. La 1^{ère} étape implique une réaction de *N*-alkylation de la *N*-

méthylbenzylamine par le 3-bromo-1-chloropropane comme précédemment décrit par Altenbach.¹³⁸ Nous pouvons noter que le choix du réactif dihalogéné est très important pour la réussite de la réaction.

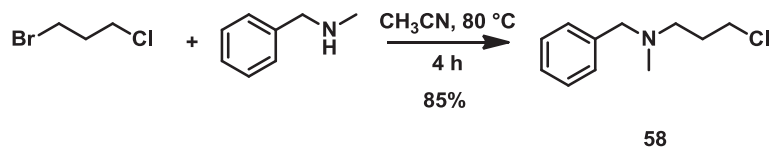


Schéma 3.15 N-alkylation de la N-méthylbenzylamine par le 3-bromo-1-chloropropane

En effet, la plus faible réactivité de l’atome de chlore permet d’éviter une réaction secondaire de substitution nucléophile intramoléculaire conduisant à la formation d’un intermédiaire cyclique très réactif (Schéma 3.16).

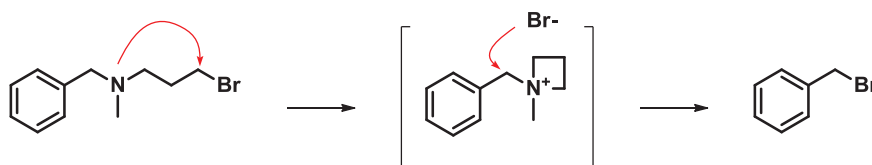


Schéma 3.16 Réaction secondaire de cyclisation lors de l’addition de la N-méthylbenzylamine sur le 1,3-dibromopropane

La deuxième étape est l’addition de thioacétate de potassium sur le composé **58** formé précédemment (Schéma 3.17).¹³⁹ La réaction permet la formation du thiol protégé **59** avec un très bon rendement de 80%.

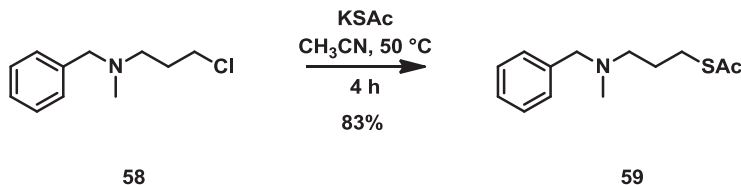


Schéma 3.17 Formation du dérivé thioacétate **59**

¹³⁸ Altenbach, R. J.; Black, L. A.; Strakhova, M. I.; Manelli, A. M.; Carr, T. L.; Marsh, K. C.; Wetter, J. M.; Wensink, E. J.; Hsieh, G. C.; Honore, P.; Garrison, T. R.; Brioni, J. D.; Cowart, M. D. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7869.

¹³⁹ Lombardo, V.; Bonomi, R.; Sissi, C.; Mancin, F. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2189.

Il est également possible de préparer le composé **59** par une séquence de deux étapes impliquant une réaction de Mitsunobu¹⁴⁰ entre l’acide thiolacétique et l’alcool **60** préalablement formé par *N*-alkylation de la *N*-méthylbenzylamine avec le 3-bromopropanol (Schéma 3.18).¹⁴¹ Cependant, la purification du composé **59** s’est avérée beaucoup plus difficile à réaliser dans ce cas.

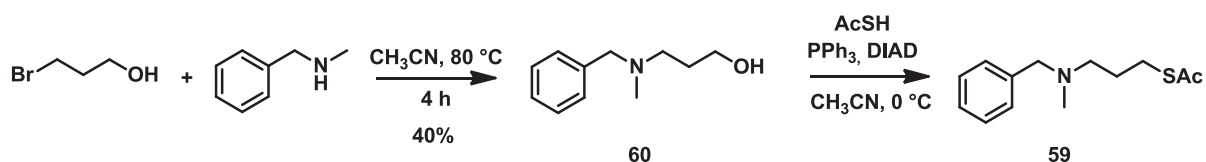


Schéma 3.18 Formation du thioacétate **59** par réaction de Mitsunobu

Pour finir, le composé thioacétate **59** est déprotégé dans une solution méthanolique d’ammoniaque en présence de diode, ce qui permet la formation du disulfure **61**.¹⁴²

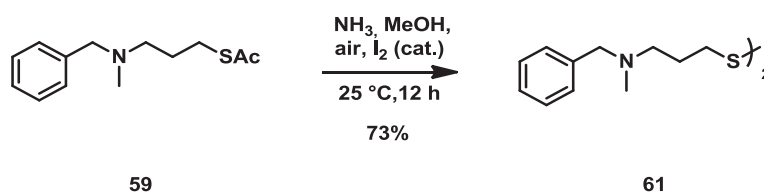


Schéma 3.19 Préparation du disulfure **61** par réaction de déprotection/oxydation

4.2.4. Chloration oxydante des composés amino-soufrés **59** et **61**

La méthode de chloration oxydante la plus répandue à l’heure actuelle, nécessite l’emploi de dichlore en milieu aqueux ou biphasique.¹⁴³ Bien que les rendements obtenus soient très bons, l’utilisation de ce réactif dangereux requiert de sérieuses précautions. D’autres méthodes utilisant des couples de réactifs tels que NCS/*t*-Bu₄NCl¹⁴⁴ ou

¹⁴⁰ Van Delft, P.; van Schie, E.; Meeuwenoord, N. J.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Filippov, D. V. *Synthesis* **2011**, 2724.

¹⁴¹ Łażewska, D.; Kuder, K.; Ligneau, X.; Schwartz, J.-C.; Schunack, .; Stark, H.; Kieć-Kononowicz, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8729.

¹⁴² Saiz, C.; Wipf, P.; Mahler, G. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 5738.

¹⁴³ (a) Caldwell, W. T.; Kornfeld, E. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64*, 1695; (b) Percec, V.; Bera, T. K.; De, B. B.; Sanai, Y.; Smith, J.; Holerca, M. N.; Barboiu, B.; Grubbs, R. B.; Fréchet, J. M. J. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2104; (c) Meinzer, A.; Breckel, A.; Thaher, B. A.; Manicone, N.; Otto, H.-H. *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 90

¹⁴⁴ Veisi, H.; Ghorbani-Vaghei, R.; Hemmati, S.; Mahmoodi, J. *Synlett* **2011**, 2315.

H₂O₂/ZrCl₄¹⁴⁵ constituent des alternatives crédibles mais les fortes conditions acides et oxydantes parfois employées peuvent s’avérer incompatibles avec les substrats les plus sensibles. D’autre part, certaines de ces méthodes génèrent des sous-produits, ce qui impose alors une étape de purification. Nous souhaitons disposer d’une méthode nous permettant de synthétiser les chlorures d’aminoalcanesulfonyles, sans étape de purification ultérieure. C’est dans ce contexte que nous avons développé une méthode innovante de déprotection oxydante de thiols par l’hypochlorite de *tert*-butyle (*t*-BuOCl). Cette nouvelle méthodologie sera présentée ultérieurement dans le chapitre 4 de ce manuscrit.

Les premiers essais de chloration oxydante du disulfure **61** par l’hypochlorite de *tert*-butyle ont été conduits dans l’acétonitrile à 0°C. Le suivi de la réaction par CCM semble indiquer une conversion totale en chlorure de sulfonyle, 15 min après l’ajout du *t*-BuOCl. Néanmoins, l’analyse par RMN ¹H du brut réactionnel après concentration sous pression réduite indique une hydrolyse totale du chlorure de sulfonyle préformé. Cette information confirme la faible stabilité de cet intermédiaire qui ne semble pas pouvoir être isolé. La réaction a été conduite à nouveau mais l’intermédiaire **62** a cette fois-ci été piégé par un excès de benzylamine. Le sulfonamide **65** est alors obtenu avec un rendement modéré. De la même façon le piégeage du chlorure de sulfonyle généré *in situ* par l’alcool néopentylique en présence de 2,4,6-collidine permet la formation de l’ester sulfonique **66**. En revanche, lorsque ce même intermédiaire **62** est mis en solution avec le β-D-mannose tétraacétylé **50** en présence de triméthylpyridine, l’ester sulfonique **63** attendu n’est pas formé. Celui-ci est d’ailleurs isomérisé en anomère α par migration du groupement acétyle dans les conditions basiques de la réaction (*Schéma 3.7*).

¹⁴⁵ Bahrami, K.; Khodaei, M. M.; Soheilizad, M. *Synlett* **2009**, 2773.

| Entrée | Réactif | Produit | Rendement (%) |
|--------|-------------------|---------|---------------|
| 1 | BnNH ₂ | | 35 |
| 2 | | | 21 |
| 3 | | | 0 |

Tableau 3.3 Formation d’ester sulfonique et sulfonamide par chloration oxydante du disulfure **61**

Il n’est pas exclu que la réaction indésirable de migration d’acétyle soit plus rapide que la réaction d’estérification et dès lors, empêche la formation de l’ester sulfonique **63**. Il est alors apparu essentiel de revoir la stratégie de protection de notre dérivé mannose, les groupements acétyles ne s’avérant pas compatibles dans nos conditions de réaction.

4.2.5. Préparation d’un précurseur stable du FDG

En 2008, Brown *et al.* ont développé une nouvelle synthèse du [¹⁸F]FDG à partir de résines perfluorées.¹⁴⁶ Lors de leur étude préliminaire, les auteurs ont réalisé le couplage du β-D-mannose tetraacétylé avec des chlorures de perfluorosulfonyles et ils ont alors été confrontés au même problème d’instabilité des groupements acétyles. Afin de s’affranchir de ce problème, un nouveau précurseur du [¹⁸F]FDG a été synthétisé, comportant des protections stables en milieu basique et pouvant facilement être ôtées par hydrolyse acide. La synthèse de ce précurseur s’effectue en 4 étapes à partir du β-D-glucopyranoside de méthyle (*Schéma 3.20*).

¹⁴⁶ Brown, L. J.; Ma, N.; Bouvet, D. R.; Champion, S.; Gibson, A. M.; Hu, Y.; Jackson, A.; Khan, I.; Millot, N.; Topley, A. C.; Wadsworth, H.; Wynn, D.; Brown, R. C. D. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 564.

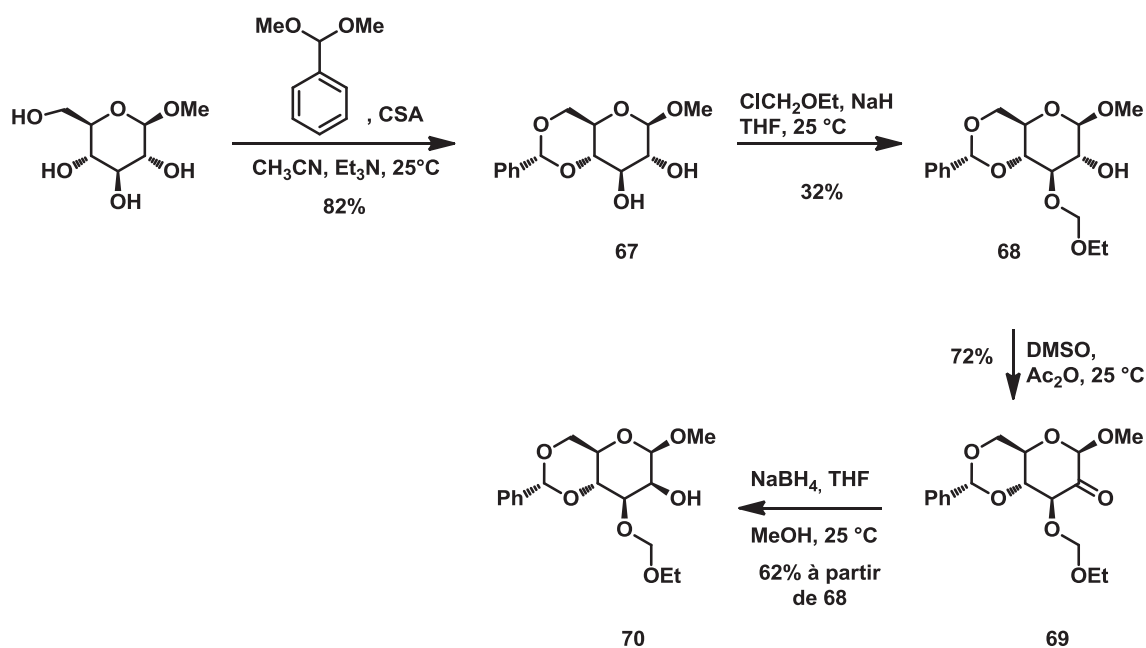


Schéma 3.20 Synthèse du nouveau précurseur du [¹⁸F]FDG

La première étape est la formation du 4,6 benzylidène acétale **67** par réaction du β -D-glucopyranoside de méthyle avec le diméthylacétale du benzaldéhyde.¹⁴⁷ La réaction de ce dernier avec l'éther chlorométhyléthylique conduit à un mélange de produit dont est isolé l'alcool **68**. L'inversion de la stéréochimie de l'alcool en position 2 est obtenue par une réaction d'oxydation d'Albright-Goldman¹⁴⁸ permettant la formation de la cétone **69**, suivie d'une réduction par le borohydrure de sodium.¹⁴⁹ Le précurseur **70** est ainsi obtenu avec un rendement global de 14%.

4.2.6. Formation d'ester sulfoniques à partir du dérivé **70**

Le composé **70** a été engagé dans une réaction d'estérification avec le chlorure de sulfonyle **62** généré *in situ* par déprotection oxydante du disulfure **61** à l'aide d'hypochlorite de *tert*-butyle. Différentes conditions opératoires (NaH/THF/0 °C, collidine, CH₃CN/0°C, Et₃N/CH₂Cl₂/0 °C) ont été expérimentées, mais elles n'ont pas conduit à l'ester sulfonique souhaité.

¹⁴⁷ Bundle, D. R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 2751.

¹⁴⁸ Albright, J. D.; *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1977.

¹⁴⁹ Doboszewski, B.; Hay, G. W.; Szarek, W. A. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 412

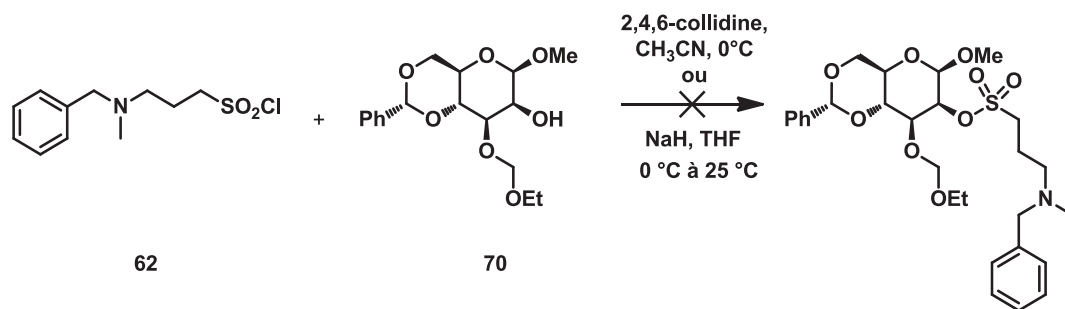


Schéma 3.21 Tentative de couplage du chlorure de sulfonyle **62** avec le nouveau précurseur **70**

Afin de s’assurer de la réactivité de l’alcool **70**, plusieurs réactions de couplage ont été réalisées impliquant d’autres chlorures d’alcanesulfonyles tels que le chlorure de 3-chloropropanesulfonyle et le chlorure de 1-chlorométhanesulfonyle (Schéma 3.22). Effectivement et comme dans le cas du précurseur β-D-mannose tétraacétylé, les esters sulfoniques **71** et **72** sont ainsi formés avec de très bons rendements.

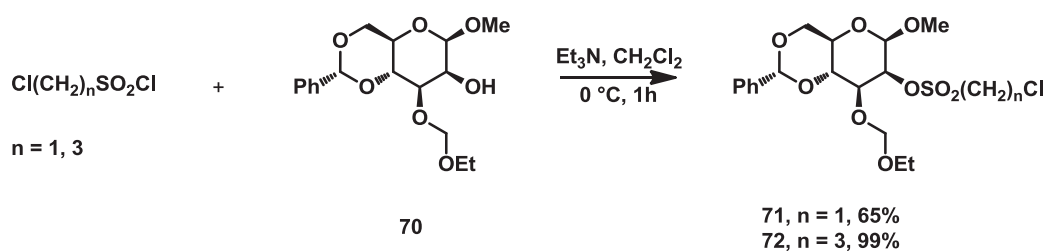


Schéma 3.22 Couplage du dérivé mannose **70** avec les chlorures de 1-chlorométhanesulfonyle et 3-chloropropanesulfonyle

Étonnamment, la présence de la fonction amine tertiaire sur le chlorure de sulfonyle **62** conjuguée au fort encombrement stérique autour des alcools secondaires **50** et **70** semble avoir un impact négatif sur l’efficacité de la réaction de couplage sur ce substrat.

Devant les difficultés rencontrées pour réaliser la synthèse de nouveaux précurseurs du [¹⁸F]FDG et souhaitant vérifier la validité du concept proposé dans ce chapitre, nous avons choisi de changer provisoirement de substrat modèle.

5 Synthèse et fluoration d’ester sulfonique du 3-(2-naphthoxy)propan-1-ol

5.1. Synthèse des esters sulfoniques du 3-(2-naphthoxy)propan-1-ol

Le composé 3-(2-naphthoxy)-1-propanol **73**, et plus précisément son dérivé mésylate, a été utilisé à de multiples reprises comme substrat modèle pour les réactions de fluoration nucléophile.^{77,106,150} Celui-ci est préparé par une réaction du β-naphtol sur le 3-bromo-propan-1-ol¹⁵¹ (Schéma 3.23).

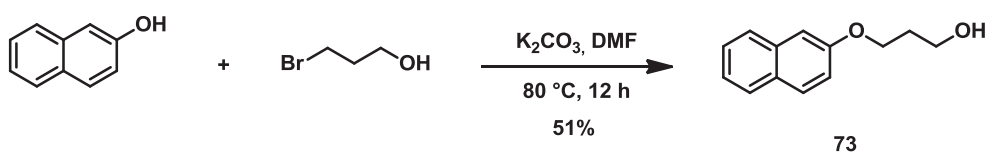


Schéma 3.23 Préparation du 3-(2-naphtyloxy)propan-1-ol

L’alcool **73** a ensuite été estérifié avec le chlorure de sulfonyle **75**. Ce dernier est préparé en deux étapes. Tout d’abord l’ouverture de la 1,3-propanesultone par la diéthylamine permet d’isoler l’intermédiaire acide *N,N*-diéthylaminopropanesulfonique qui est ensuite chloré par réaction avec le chlorure de thionyle. Le chlorure de sulfonyle ainsi formé réagit ensuite avec le 3-(2-naphthoxy)-1-propanol afin de former l’ester sulfonique **76**. Pour finir, une alkylation de l’amine tertiaire par le triflate de méthyle permet l’obtention de l’ester *N,N*-diéthyl-*N*-méthylammoniopropanesulfonique **77**.

¹⁵⁰ Kim, D. W.; Jeong, H.-J.; Lim, S. T.; Sohn, M.-H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8404.

¹⁵¹ Shi, Z.; He, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13596.

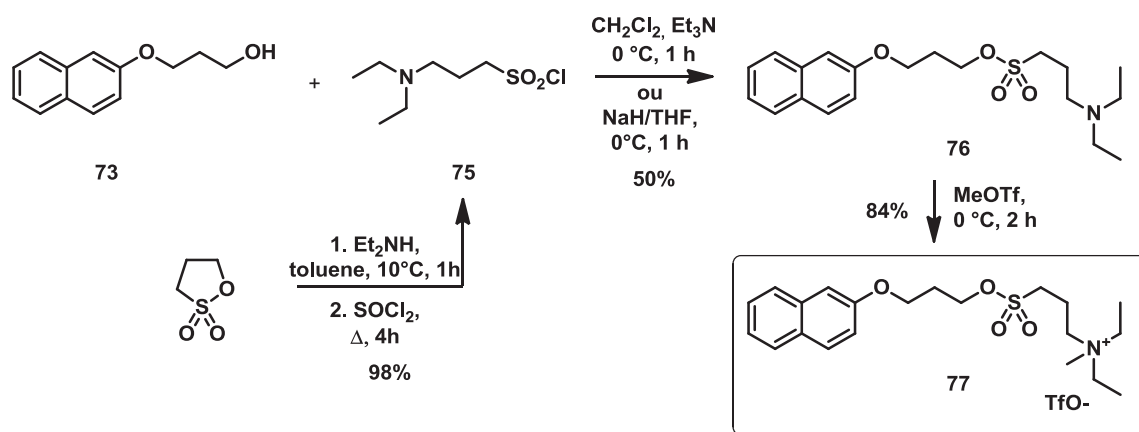


Schéma 3.24 Synthèse de l'ester sulfonique 75

Les synthèses des précurseurs mésylate **78** et triflate **79** du 3-(2-naphthyléthoxy)-1-propanol ont également été réalisées afin de pouvoir effectuer un comparatif des réactions de fluoration sur ces trois composés. Le précurseur mésylate est préparé par réaction de l'alcool **73** avec le chlorure de mésyle (MsCl) tandis que le précurseur triflate **79** est obtenu par réaction avec l'anhydride trifluorométhanesulfonique (Tf_2O) (Schéma 3.25).

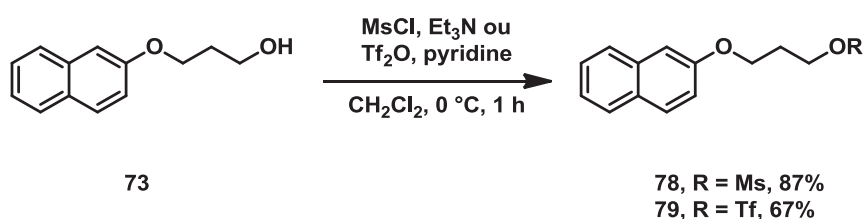


Schéma 3.25 Synthèse des précurseurs triflate et mésylate du 3-(2-naphthyléthoxy)-1-propanol

Une fois les synthèses des esters sulfoniques du 3-(2-naphthyléthoxy)-1-propanol effectuées, nous nous sommes intéressés à leur fluoration « à froid », dans les conditions classiques employées en radiosynthèse (solvant polaire aprotique, chauffage, milieu anhydre...)

5.2. Etude de fluoration des ester sulfoniques 77-79

Les réactions de fluoration des trois précurseurs **77-79** ont été effectuées dans l'acétonitrile, par chauffage à 80°C en l'absence d'un agent de transfert de phase.

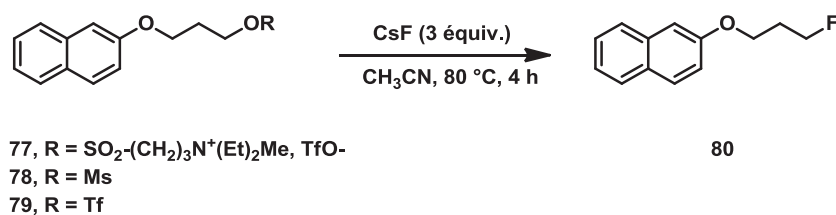
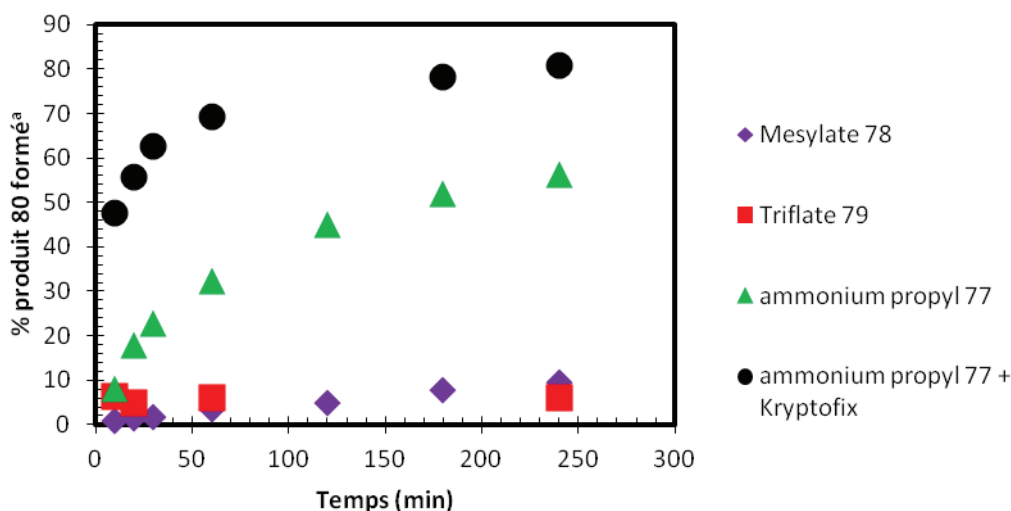


Schéma 3.26 Fluoration « à froid » des esters sulfoniques du 3-(2-naphtalénoxy)-1-propanol

Des échantillons des milieux réactionnels ont été prélevés à différents intervalles de temps et analysés par CLHP en phase inverse. La formation du produit fluoré au cours du temps a ainsi pu être observée. La *Figure 3.7* permet de comparer les cinétiques de fluoration des trois réactions.



^a% déterminé par CLHP, comme étant le rapport de l’aire du composé **80** sur l’aire totale du chromatogramme

Figure 3.7 Cinétiques de fluoration des précurseurs **77**, **78** et **79**

Ce graphique permet de constater l’apport bénéfique du groupement ammoniopropanesulfonate sur l’efficacité de la réaction de fluoration. En effet, après 240 minutes, il s’est formé 4 fois plus de produit fluoré **80**, par comparaison avec le précurseur mésylate. De plus l’ajout d’un agent cryptant comme le Kryptofix permet d’augmenter de manière significative le rendement de la réaction. De manière surprenante, le précurseur triflate, pourtant très réactif vis-à-vis des réactions de substitution nucléophile, conduit à une faible conversion en produit fluoré **80**. Cela s’explique par une réaction parasite de

cyclisation intramoléculaire par substitution électrophile aromatique (*Schéma 3.27*) et le produit **81** est obtenu majoritairement. Cette réaction, habituellement conduite en présence d’un catalyseur de type acide de Lewis,^{151,152} est favorisée ici par la forte électrophilie du carbone porteur du groupement triflate.

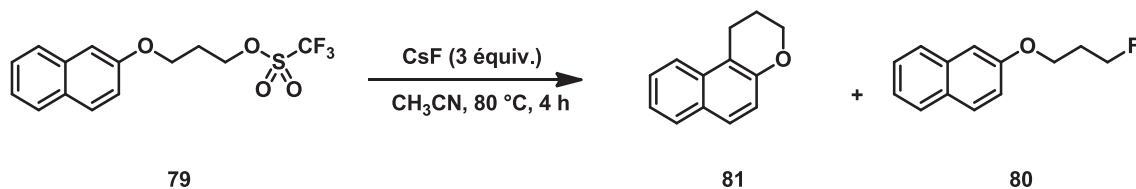


Schéma 3.27 Réaction de cyclisation lors de la fluoration du précurseur triflate **80**

Ces informations alimentent l’hypothèse de départ. En effet, il semble que dans le cas de l’ester sulfonique **77**, les ions fluorures viennent s’échanger à la place des ions triflates pour former une paire d’ions ammonium-fluorure qui facilite ainsi la fluoration du substrat par une réaction intramoléculaire. Bien qu’une optimisation des conditions opératoires soit nécessaire, cette méthode constitue un outil prometteur pour la préparation de traceurs fluorés en imagerie TEP.

¹⁵² Hong, D. J.; Kim, D. W.; Chi, D. Y. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 54.

6 Conclusion générale et perspectives

6.1. Conclusions

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés au développement d’une nouvelle stratégie de fluoration par formation d’une paire ions-substrat facilitant ainsi la réaction par un mécanisme « intramoléculaire ». Cette méthode, inspirée des travaux initiés par King en 1988, pourrait s’avérer être un nouvel outil important pour la préparation de traceurs fluorés en imagerie TEP. Nous avons, dans un premier temps, souhaité exemplifier la méthode à la synthèse du [¹⁸F]FDG. Les différentes stratégies envisagées, nous ont conduit à réaliser la synthèse de composés chloroalcanesulfonates, de sulfobétaïnes ou encore de divers composés amino-soufrés. A ce titre, la préparation de dérivés chlorures aminoalkylsulfonyles nous a permis d’élaborer une nouvelle méthodologie de déprotection oxydante de thiols utilisant l’hypochlorite de *tert*-butyle. Celle-ci sera présentée lors du chapitre 4 de ce manuscrit.

Devant les difficultés rencontrées lors de la préparation des nouveaux esters sulfoniques du mannose, un changement de substrat modèle a été effectué. Les synthèses d’un ester ammoniumpropanesulfonique du 3-(2-naphthoxy)-1-propanol ainsi que ses analogues triflate et mésylate, ont été réalisées. La fluoration de ces derniers a permis de valider le concept proposé : la formation d’une paire d’ions ammonium-fluorure permet à la fois d’augmenter la cinétique et le rendement de la réaction de fluoration, par un effet d’assistance entropique.

6.2. Perspectives

Les expériences préliminaires réalisées sur les précurseurs esters sulfoniques du 3-(2-naphthylèneoxy)-1-propanol nous ont permis de mettre en évidence l’apport bénéfique du groupement ammonium quaternaire sur le rendement de la réaction de fluoration nucléophile. Il serait désormais intéressant d’évaluer l’influence de la longueur de la chaîne alcane, séparant le groupement sulfonate et le groupement ammonium, sur l’efficacité de la réaction de fluoration. Les esters ammoniométhanesulfonique **87** et ammoniobutanesulfonique **88** pourraient être préparés en suivant le protocole décrit pour la

synthèse du composé **77** (Schéma 3.28). La fluoration à froid ainsi que la fluoration au fluorure 18 des dérivés **77**, **87** et **88** pourrait ensuite être étudiée.

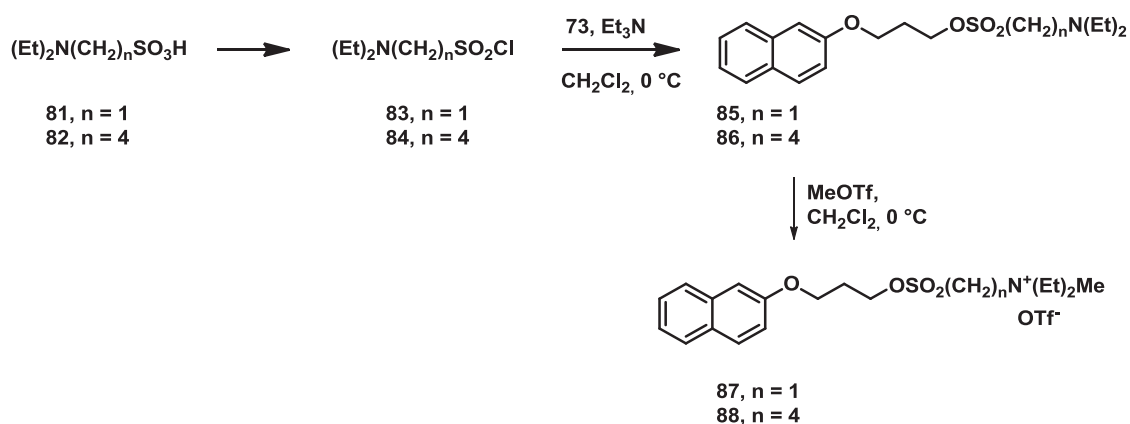


Schéma 3.28 Proposition de synthèses pour les composés ammoniométhanesulfonique **87** et ammoniobutanesulfonique **88**

En ce qui concerne la synthèse des précurseurs esters ammonioalcanesulfoniques du β-D-mannose, nous pourrions envisager d’introduire le groupement amine tertiaire par une réaction de *N*-alkylation^{128c} de la diéthylamine à partir des dérivés chlorures de chloroalcanesulfonyles **71** et **72** synthétisés précédemment. En effet les groupements protecteurs présents sur ces substrats semblent cette fois-ci compatibles avec une telle réaction. Une étape ultérieure de méthylation pourrait ainsi permettre la formation de précurseurs ammonioalcanesulfonates **91** et **92** du β-D-mannose.

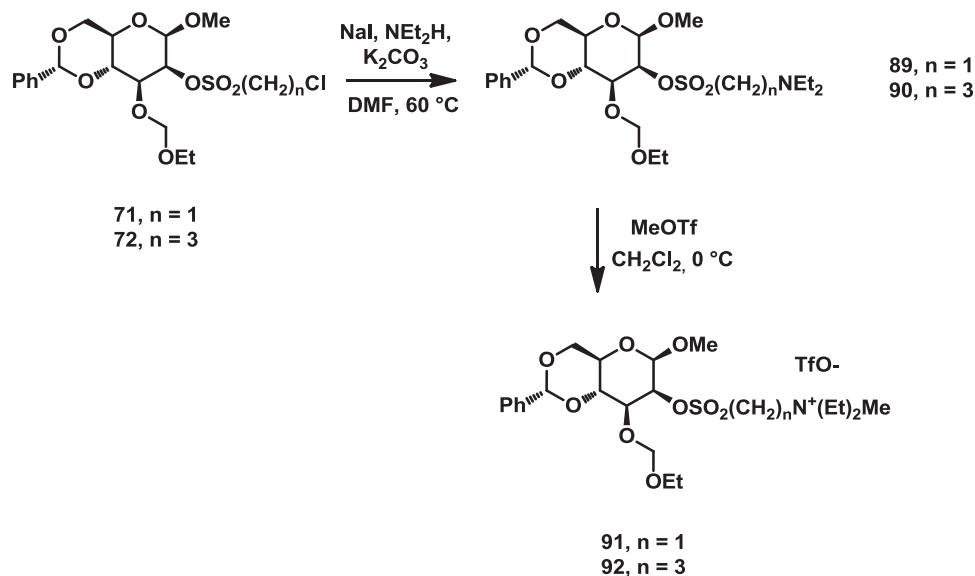


Schéma 3.29 Synthèse potentielle de nouveaux précurseurs β-D-mannose pour la préparation du [¹⁸F]FDG

Dans le cas échant, nous pourrions imaginer former le système ammonio sulfonate par une séquence réactionnelle impliquant une réaction de métathèse.¹⁵³ L’esterification du mannose protégé par le chlorure de 2-éthylsulfonyle conduirait à la formation de l’alcène terminal **93**. La réaction de métathèse de ce dernier avec la *N,N*-diéthylaminoprop-2-ène nous permettrait l’obtention du composé **94**. La réduction de la double liaison¹⁵⁴ par suivie d’une réaction d’alkylation de l’amine tertiaire dans les conditions décrites précédemment (cf 5.1) permettrait l’obtention du bétylate **92** souhaité.

¹⁵³ (a) Opper, K. L.; Wagener, K. B. *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, *30*, 915; (b) Karsch, S.; Metz, P.; *Symposium on Science and Technology, 8th, Tomsk, Russian Federation*, **2004**; Vol. 2, 39.

¹⁵⁴ Bachand, B.; Atfani, M.; Samim, B.; Lévesque, S.; Simard, D.; Kong, X. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8587.

Chapitre 3 – Développement d’une nouvelle méthodologie de fluoration nucléophile et son application vers une nouvelle synthèse du [¹⁸F]Fluorodésoxyglucose

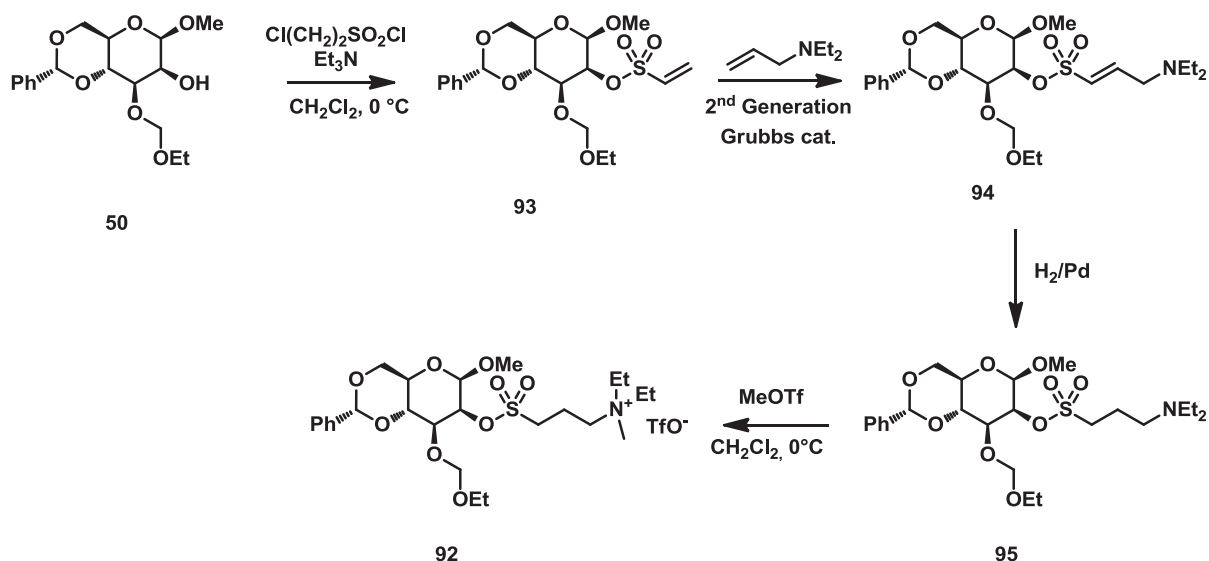


Schéma 3.30 Synthèse d’un nouveau précurseur mannose par métathèse

Enfin, nous pourrions à plus long terme, imaginer l’extension de cette méthodologie sur support solide. En effet l’utilisation de résine modifiée (Schéma 3.31), pourrait permettre à la fois de piéger le fluor 18, et de réaliser la réaction de fluoration nucléophile sur support solide. Cela permettrait un gain de temps significatif et simplifierait les étapes de purification ultérieures.

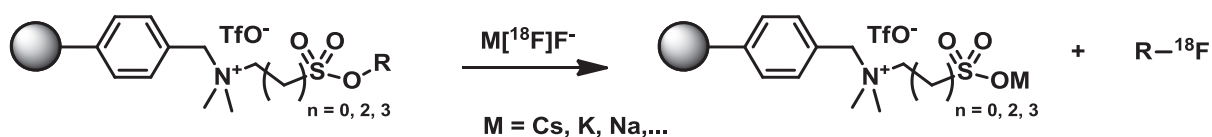


Schéma 3.31 Synthèse de traceurs fluorés par paire ion-substrat sur support solide

**Chapitre 4. Utilisation de l'hypochlorite de *tert*-butyle
pour la synthèse de dérivés d'acides sulfoniques par
déprotection oxydante de thiols**

1 Introduction

Les dérivés d'acides sulfoniques ont fait l'objet de nombreuses recherches en synthèse organique, à commencer par les sulfonamides. Ces composés sont présents dans de nombreux produits pharmaceutiques du fait de leurs propriétés biologiques et sont notamment utilisés comme agents antibactériens.¹⁵⁵ Leur utilisation est également commune dans le traitement de divers autres dysfonctionnements tels que l'obésité,¹⁵⁶ les infections ophtalmologiques et les infections urinaires.¹⁵⁷ Les esters sulfoniques sont quant à eux principalement utilisés comme bons groupes partants pour les réactions de substitution nucléophile ou d'élimination (ex : triflate, tosylate, mésylate...). Enfin les sulfonates ioniques figurent parmi les meilleurs groupes solubilisants et sont représentés dans de nombreux domaines tels que les détergents ou encore mis à profit pour leur capacité d'échange dans les résines ou en chromatographie ionique.

Tous ces dérivés d'acides sulfoniques sont fréquemment obtenus à partir de **chlorures de sulfonyle**. Ce précurseur commun peut être synthétisé par la chloration d'acides sulfoniques ou de sulfonates alcalins en utilisant de puissants agents de chloration comme le chlorure de thionyle,¹⁵⁸ le chlorure d'oxalyle¹⁵⁹ ou bien encore le pentachlorure de phosphore.¹⁶⁰ Cette méthode conduit à de très bons rendements mais requiert très souvent des conditions dures qui ne sont pas compatibles avec les substrats sensibles. D'autre part la formation de certains sous-produits peu volatils, comme c'est le cas pour les réactifs phosphorés (PCl₅, POCl₃), rend souvent la purification du produit difficile à réaliser. D'autres agents de chloration comme le chlorure cyanuryle^{137b} ou le PPh₃.Cl₂¹⁶¹ permettent l'obtention de chlorures de sulfonyle avec de bons rendements dans des

¹⁵⁵ Anderson, R. J.; Groundwater, P. W.; Todd, A.; Worsley, A. J. *In Antibacterial Agents*; John Wiley & Sons, Ltd: **2012**, p 103.

¹⁵⁶ Liu, P.; Lanza, T. J.; Chioda, M.; Jones, C.; Chobanian, H. R.; Guo, Y.; Chang, L.; Kelly, T. M.; Kan, Y.; Palyha, O.; Guan, X.-M.; Marsh, D. J.; Metzger, J. M.; Ramsay, K.; Wang, S.-P.; Strack, A. M.; Miller, R.; Pang, J.; Lyons, K.; Dragovic, J.; Ning, J. G.; Schafer, W. A.; Welch, C. J.; Gong, X.; Gao, Y.-D.; Hornak, V.; Ball, R. G.; Tsou, N.; Reitman, M. L.; Wyvratt, M. J.; Nargund, R. P.; Lin, L. S. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, 2, 933.

¹⁵⁷ Wilson, C. O.; Gisvold, O.; Block, J. H. *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 11th ed.; Block, J.; Beale, J. M., Eds.; Lippincott Williams and Wilkins: Philadelphia, **2004**.

¹⁵⁸ Humljan, J.; Gobec, S. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 4069.

¹⁵⁹ Hartman, G. D.; Halczenko, W.; Smith, R. L.; Sugrue, M. F.; Mallorga, P. J.; Michelson, S. R.; Randall, W. C.; Schwam, H.; Sondey, J. M. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 3822.

¹⁶⁰ Frankel, M.; Moses, P. *Tetrahedron* **1960**, 9, 289.

¹⁶¹ Kataoka, T.; Iwama, T.; Setta, T.; Takagi, A. *Synthesis* **1998**, 423.

conditions plus douces, mais la réaction s’accompagne de la génération de sous-produits en quantité stœchiométrique. Une autre approche a également été développée, elle consiste à réaliser la chloration oxydante de composés soufrés.¹ La méthode la plus connue permet la conversion de fonctions thiols et disulfures en chlorure de sulfonyle par utilisation de dichlore en solution aqueuse ou dans un mélange biphasique (*Schéma 4.1*).¹⁴³

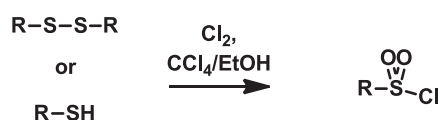


Schéma 4.1 Chloration oxydante de thiols et disulfures par le dichlore en milieu biphasique

Cette méthode permet l’obtention de bons rendements et est applicable sur un plus grand nombre de substrats. Cependant le dichlore est un gaz dangereux et son utilisation nécessite de grandes précautions. Ces inconvénients rendent cette méthode peu attractive pour une utilisation au laboratoire, et particulièrement pour les synthèses à grande échelle. De plus les conditions utilisées rendent le milieu réactionnel fortement oxydant et très acide. C’est ainsi que ces dernières années, de nouvelles méthodes de chloration sont apparues. Elles utilisent de nouveaux réactifs ou couples de réactifs tels que TMSCl/KNO₃,¹⁶² ZrCl₄/H₂O₂,¹⁴⁵ l’acide trichlorocyanurique¹⁶³ et le *N*-chlorosuccinimide.^{144,164} Encore une fois les rendements obtenus sont généralement très bons mais ces méthodes ne sont pas sans limitations : prix des réactifs élevé ou faible disponibilité de ceux-ci, réactions secondaires, difficultés de purification ou encore conditions trop acides pour les substrats sensibles.

La nécessité d’obtenir des chlorures de sulfonyle porteurs d’un groupe ammonium, dans le cadre du projet décrit au chapitre 3, nous a conduits à imaginer une méthode innovante permettant d’oxyder un thiol protégé, sans purification ultérieure du fait de la présence de l’ammonium. Nous souhaitons une méthode efficace, qui ne nécessite pas l’utilisation d’un excès d’agent oxydant ou d’acide et qui utilise une quantité minimale d’eau afin de ne pas hydrolyser le chlorure de sulfonyle généré *in situ*. C’est dans ce

¹⁶² Prakash, G. K. S.; Mathew, T.; Panja, C.; Olah, G. A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5847

¹⁶³ Massah, A. R.; Sayadi, S.; Ebrahimi, S. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 6606.

¹⁶⁴ Nishiguchi, A.; Maeda, K.; Miki, S. *Synthesis* **2006**, 4131.

contexte que nous nous sommes intéressés à l'utilisation d'hypochlorite de *tert*-butyle comme nouvel agent de chloration oxydante.

2 Synthèse de sulfonamides et d'esters sulfoniques par chloration oxydante de dérivés disulfures

2.1. Le choix de l'hypochlorite de *tert*-butyle

L'hypochlorite de *tert*-butyle (*t*-BuOCl) est un oxydant permettant la conversion d'alcool en cétone,¹⁶⁵ de sulfure en sulfoxyde,¹⁶⁶ ou d'hydroxylamine en nitroso.¹⁶⁷ Il est également employé en tant qu'agent chlorant électrophile (équivalent synthétique de $-Cl^+$) pour la *N*-chloration d'amide.¹⁶⁸ Dans une moindre mesure, il permet la chlorodécarboxylation d'acides carboxyliques aliphatiques.¹⁶⁹ Il est commerciale mais peut être facilement préparé et à moindre coût à partir d'eau de Javel, d'alcool *tert*-butylique et d'acide acétique en suivant la procédure décrite par Mintz et Walling (*Schéma 4.2*).¹⁷⁰

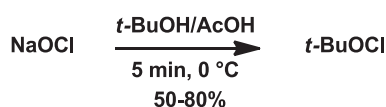


Schéma 4.2 Préparation de l'hypochlorite de *tert*-butyle

L'un des avantages de ce réactif repose sur sa capacité à générer intermédiairement un anion *tert*-butylate, très basique. Son utilisation dans la réaction de chloration oxydante de composés soufrés permettrait alors de s'affranchir de l'utilisation d'une base pour neutraliser l'acide chlorhydrique produit, comme c'est le cas dans les réactions d'oxydation au dichlore.¹⁴³ De plus, l'alcool *tert*-butylique, le chlorure de *tert*-butyle et l'isobutène seraient les seuls sous-produits de la réaction. Ainsi une simple évaporation sous pression réduite conduirait à l'obtention du chlorure de sulfonyle pur et directement prêt à l'emploi.

¹⁶⁵ (a) Stevens, R. V.; Gaeta, F. C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 6105; (b) Milovanovic, J. N.; Vasojevic, M.; Gojkovic, S. *J. Chem. Soc.* **1988**, *2*, 533.

¹⁶⁶ Johnson, C. R.; McCants, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1109.

¹⁶⁷ Davey, M. H.; Lee, V. Y.; Miller, R. D.; Marks, T. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4976.

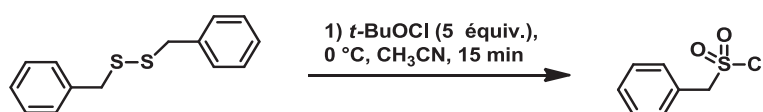
¹⁶⁸ Altenkirk, B.; Israelstam, S. S. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4532.

¹⁶⁹ Z. Wang, L. Zhu, F. Yin, Z. Su, Z. Li, C. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4258

¹⁷⁰ Mintz, M. J.; Walling, C., *Organic Syntheses* **1973**, *5*, 184.

2.2. Optimisation des conditions d'oxydation

Nous avons souhaité dans un premier temps réaliser l'oxydation de disulfures en utilisant l'hypochlorite de *tert*-butyle. Nous avons choisi ici de travailler avec le disulfure de dibenzyle comme substrat modèle de groupe alkyle présentant néanmoins une réactivité en α de l'atome de soufre. Les résultats de notre étude préliminaire sont présentés dans le *Tableau 4.1*.



| Entrée | Équiv. <i>t</i> -BuOCl | Solvant | Conversion (%) ^a |
|--------|------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| 1 | 4 | CH ₂ Cl ₂ | 25 |
| 2 | 5 | CH ₂ Cl ₂ | 39 |
| 3 | 6 | CH ₂ Cl ₂ | 40 |
| 4 | 5 | CCl ₄ | 20 |
| 5 | 5 | Toluène | 20 |
| 6 | 5 | Dioxane | 8 |
| 7 | 5 | CH ₃ CN | 56 |

^a Conversion estimée par ¹H RMN sur le brut réactionnel après 15 min à 0 °C

Tableau 4.1 Etude préliminaire d'optimisation de la réaction de chloration oxydante du disulfure de dibenzyle par le *t*-BuOCl

Les premières expériences effectuées montrent que la quantité minimum requise d'hypochlorite de *tert*-butyle est de 5 équivalents (entrées 1 et 2). Nous présumons ici que les atomes d'oxygènes du chlorure de sulfonyle proviendraient de l'addition de l'anion *tert*-butylate sur le chlorosulfonium intermédiairement formé, suivie d'une élimination d'isobutène (*Schéma 4.3*). L'anion *tert*-butylate formé permettrait également, a priori, la neutralisation de HCl. Dans ce cas, 4 équivalents de *t*-BuOCl seraient effectivement nécessaires pour la double oxydation des atomes de soufre et un équivalent supplémentaire permettrait la coupure de la liaison S-S. Nous noterons toutefois qu'un excès supplémentaire n'améliore pas le taux de conversion (entrée 3).

Les essais réalisés dans différents solvants (entrées 4-7) ont mis en évidence une réactivité maximale dans l'acétonitrile. Nous avons reproduit l'expérience mais pour des raisons pratiques l'intermédiaire chlorure de sulfonyle a cette fois-ci été piégé par l'ajout de benzylamine afin de former le *N*-benzylbenzensulfonamide plus stable et facile à purifier. Celui-ci est alors isolé avec un rendement de 60%.

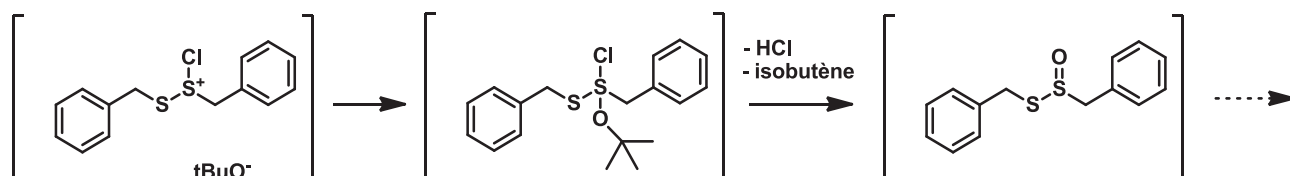


Schéma 4.3 Oxydation de l'atome de soufre par l'anion *tert*-butylate

Afin d'atteindre une transformation plus efficace de la liaison S^+-Cl en liaison $S=O$ nous avons entrepris d'introduire une quantité stoechiométrique d'eau (5 équiv.). Une utilisation analogue de quantité stoechiométrique d'eau associée au *N*-chlorosuccinimide avait d'ailleurs été reportée dans la littérature.^{164b} Nous observons alors dans ces conditions une conversion rapide et totale du disulfure de dibenzyle en chlorure de benzylsulfonyle et l'addition subséquente de benzylamine nous a permis d'isoler le sulfonamide attendu avec un excellent rendement de 96%.

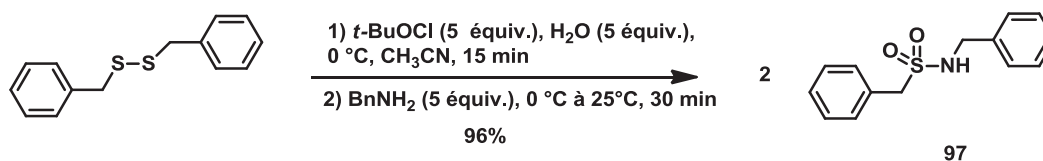


Schéma 4.4 Conversion du disulfure de dibenzyle en *N*-benzylbenzènesulfonamide

En utilisant les mêmes conditions, plusieurs sulfonamides sont ainsi obtenus avec de très bons rendements à partir de disulfure de benzyle, disulfure de phényle et disulfure de di-*p*-tolyle, par addition de la diéthylamine et de la benzylamine (*Figure 4.1*). Nous avons également prouvé l'efficacité de notre méthodologie pour la préparation d'un ester de néopentyle (**98**). Dans ce cas précis, l'addition de pyridine est requise afin de procéder à l'estérification.

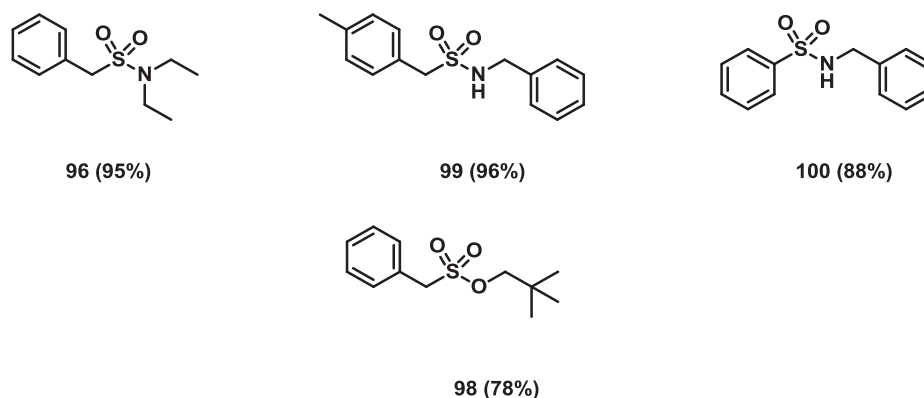


Figure 4.1 Sulfonamides et esters sulfoniques synthétisés par oxydation de disulfure

3 Déprotection oxydative de dérivés de thiols

Suite à ces résultats prometteurs, nous avons souhaité appliquer la méthode à la déprotection oxydante de fonctions thiols protégés. Ce point a déjà été abordé dans la littérature par Nishigushi et ses collaborateurs^{164a} qui ont décrit la déprotection oxydante de divers thioacétates et thiocarbamates par le *N*-chlorosuccinimide dans un mélange 2M HCl/acétonitrile (Schéma 4.5). Les chlorures de sulfonyle sont ainsi obtenus purs avec de bons rendements en un temps très court (< 15min).

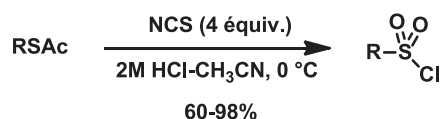


Schéma 4.5 Synthèse de chlorures de sulfonyle par une méthode de déprotection oxydante utilisant le *N*-chlorosuccinimide

Nous avons reproduit les conditions décrites ci-dessus pour réaliser la déprotection oxydante du thioacétate de benzyle. L'analyse du milieu réactionnel par RMN ¹H nous indique une conversion totale en chlorure de sulfonyle après 15 min à 0 °C. Nous procédons alors à une évaporation sous vide du brut réactionnel afin de tenter d'éliminer les réactifs en excès (HCl, NCS). La benzylamine est ensuite ajoutée sur l'intermédiaire généré *in situ* (Schéma 4.6). Nous observons la formation du sulfonamide attendu mais

celui-ci est accompagné de la formation d’une quantité stœchiométrique de l’imine **101** (Tableau 4.2, entrée 1) résultant de l’oxydation/transimination de la benzylamine.

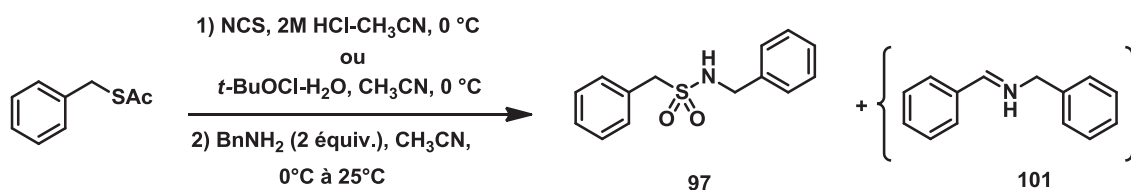


Schéma 4.6 Déprotection oxydante du thioacétate de benzyle et formation du *N*-benzylbenzenesulfonamide

Une diminution de la quantité de *N*-chlorosuccinimide utilisée permet d’éviter la formation de ce sous-produit indésirable, mais le rendement reste faible. En revanche lorsque la même réaction est effectuée en utilisant le couple *t*-BuOCl/H₂O, la déprotection oxydante est à nouveau quantitative et le piégeage par la benzylamine permet l’obtention du *N*-benzylbenzenesulfonamide attendu avec un très bon rendement (Tableau 4.2, entrée 3). Comme mentionné précédemment (cf.2.1) et contrairement à la méthode NCS/HCl, l’excès d’oxydant et les sous-produits de la réaction peuvent, ici, être facilement éliminés par simple évaporation sous pression réduite. De même cette étape d’évaporation permet également d’éliminer l’acide acétique issu de la déprotection du groupement thioacétate. Dans le cas contraire, il peut être converti en anhydride mixte sulfonique/carboxylique et nous observons alors l’apparition d’une impureté identifiée comme étant le benzylacétamide (Schéma 4.7).

| Entrée | Réactifs (équiv.) | 97 (%) ^a | 101 (%) ^a | Rendement (%) ^b |
|--------|--|---------------------|----------------------|----------------------------|
| 1 | NCS (4) | 50 | 50 | 25 |
| 2 | NCS (3) | 100 | 0 | 25 |
| 3 | <i>t</i> -BuOCl/H ₂ O (3/3) | 100 | 0 | 90 |

^a % calculés par ¹H RMN après purification par chromatographie sur gel de silice

^b Rendements isolés après purification par chromatographie sur gel de silice

Tableau 4.2 Comparaison des méthodes de déprotection oxydante utilisant NCS et *t*-BuOCl

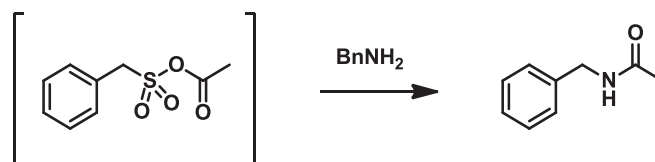


Schéma 4.7 Formation de l'impurété benzylacétamide

Nous avons ici prouvé que l'utilisation de *t*-BuOCl pour la déprotection oxydante de thiols protégés, constituait une méthode robuste et efficace permettant l'obtention rapide de sulfonamides et d'esters sulfoniques.

4 Formation « one-pot » de sulfonamides et d'esters sulfoniques

4.1. Séquence « one-pot » incluant une réaction de substitution nucléophile

Une fois les conditions de déprotection oxydante mises au point, nous étions fortement intéressés par la possibilité d'inclure cette réaction dans une séquence «one-pot» pour la préparation de dérivés d'acides sulfoniques. Nous avons ainsi envisagé une réaction «one-pot» incluant la formation préliminaire de thioacétates, lesquels seraient ensuite oxydés par *t*-BuOCl. Enfin les chlorures de sulfonyle générés *in situ* pourraient être piégés par l'ajout de benzylamine ou d'alcool néopentylique en présence de pyridine (Schéma 4.8).

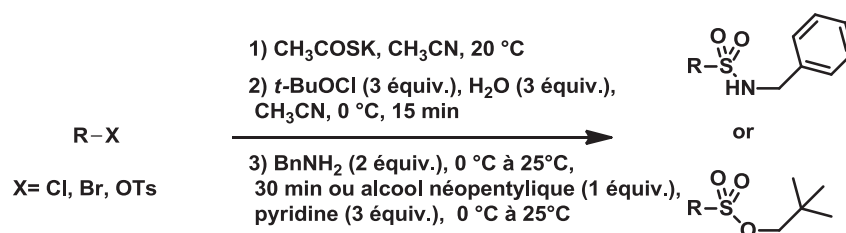


Schéma 4.8 1^{ère} séquence «one-pot» impliquant une réaction de substitution nucléophile

La première étape de substitution nucléophile par le thioacétate de potassium est suivie par CCM. Après complète disparition du substrat le mélange réactionnel est refroidi et le *t*-BuOCl est ajouté. Nous observons sur tous les substrats expérimentés une conversion rapide et complète en chlorure de sulfonyle.

Chapitre 4 – Utilisation de l’hypochlorite de *tert*-butyle pour la synthèse de dérivés d’acides sulfoniques par déprotection oxydante de thiols

La formation “one-pot” du *N*-benzylbenzenesulfonamide à partir du chlorure de benzyle (*Tableau 4.3*, entrée 1) est obtenue avec un rendement légèrement inférieur à l’expérience préliminaire réalisée à partir du thioacétate de benzyle (rendement 90%). Comme attendu les substrats alkyles, moins réactifs, nous ont conduits à des rendements plus modérés (entrées 2-5). Nous pouvons également conclure que la nature du groupement partant (Bromure/Tosylate) ne semble pas avoir une influence significative sur les rendements (entrées 2 et 3), ne suggérant pas de formation de composés du type Br-Cl ou Br₂. Enfin nous noterons que la substitution d’un halogénure par le thiosylate de potassium suivi d’une oxydation au *t*-BuOCl (3 équiv.) permet la formation du chlorure de sulfonyle avec un très bon rendement (entrée 6). Cependant l’utilisation de ce substrat reste limitée du fait de la formation concomitante d’une quantité stœchiométrique de chlorure de tosyloxy. De plus, les deux produits de la réaction sont très difficiles à séparer par chromatographie sur gel de silice.

| Entrée | Substrat | | Produit | Rendement (%) |
|--------|----------|------|---------|-----------------|
| 1 | | 97 | | 80 ^a |
| 2 | | 102a | | 64 ^a |
| 3 | | 102a | | 52 ^a |
| 4 | | 102b | | 33 ^a |
| 5 | | 103 | | 46 ^a |
| 6 | | 97 | | 95 ^b |

^a Rendements isolés après purification par chromatographie sur gel de silice

^b Rendement calculé par ¹H RMN, après purification sur gel de silice

Tableau 4.3 Exemplification de la méthodologie de déprotection oxydante “one-pot” impliquant une réaction préalable de substitution nucléophile

4.2. Séquence “one-pot” incluant une réaction d'addition de Michael

Parallèlement aux expériences réalisées ci-dessus, nous avons développé une réaction “one-pot” analogue où la formation des thioesters est assurée par une addition de Michaël. La première étape de cette nouvelle séquence implique l'addition conjuguée d'acide thiolacétique sur un substrat α,β -insaturé (cétone α,β -insaturée, acrylates...).¹⁷¹

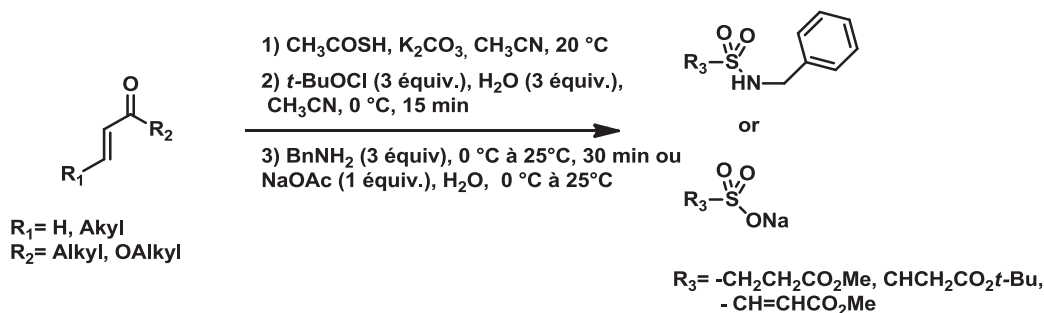


Schéma 4.9 2^{ème} séquence “one-pot” impliquant une réaction d'addition de Michaël

La première expérience réalisée à partir de la cyclohexèn-2-one ne nous a pourtant pas donné le produit attendu (Tableau 4.4, entrée 1). En effet, bien que la réaction d'addition s'effectue avec une très bonne conversion, l'étape suivante d'oxydation au *t*-BuOCl génère un grand nombre de sous-produits. Il nous paraît réaliste d'envisager des réactions secondaires de chloration en α de la cétone du fait de sa propension à énoïser.

| Entrée | Substrat | Produit | Rendement (%) |
|--------|----------|---------|-----------------|
| 1 | | | 0 ^b |
| 2 | | | 17 ^a |
| 3 | | | 42 ^a |
| 4 | | | 30 ^b |

^a Rendements isolés après purification par chromatographie sur gel de silice

^b Rendement calculé par ¹H RMN, après purification sur gel de silice

Tableau 4.4 Produits générés par déprotection oxydante en séquence “one-pot” impliquant une réaction d'addition de Michaël

¹⁷¹ Dia, R.-M.; Belaqziz, R.; Romane, A.; Antoniotti, S.; Duñach, E. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2164.

En revanche la réaction « one-pot » impliquant l'addition d'acide thiolacétique sur l'acrylate de méthyle ou l'acrylate de *tert*-butyle (entrées 2 et 3) nous a permis d'obtenir des sulfonamides **105a** et **105b** avec des rendements modérés. Par ailleurs, l'analyse par RMN ¹H d'échantillons prélevés à l'étape intermédiaire, confirme la conversion totale des thioesters en chlorure de sulfonyle. Finalement, dans le cas du propiolate de méthyle (entrée 4), nous avons cette fois-ci isolé le produit final sous la forme de sulfonate de sodium et non d'un sulfonamide. Ce choix était motivé par l'idée d'éviter une éventuelle réaction ultérieure d'addition de Michaël de l'amine sur la double liaison activée suite à l'oxydation. Afin de s'affranchir du caractère hygroscopique de la soude, rendant sa pesée délicate, la quantité nécessaire d'ion sodium nécessaire à l'obtention du sulfonate a été introduite au moyen de l'acétate de sodium. Dans ces conditions, nous obtenons le produit **106** avec un rendement de 30% sous la forme d'un mélange des isomères E et Z.

5 Application au domaine des acides aminés

5.1. Déprotection/oxydation de la cystéine

La cystéine est un acide aminé naturel important qui est présent dans de nombreuses peptides et protéines. La fonction thiol présente sur cet acide aminé s'oxyde facilement conduisant au dérivé disulfure correspondant : la cystine. Son utilisation en synthèse organique nécessite donc la protection de la fonction thiol, nucléophile et réductrice. Par ailleurs, la cystéine est facilement disponible commercialement, en particulier *via* les fournisseurs de produits chimiques pour synthèse peptidique sur phase solide (SPPS). Elle est alors souvent fournie sous sa forme protégée S-Trityl. La déprotection de ce groupement s'effectue généralement en milieu fortement acide (ex : TFA/phénol/H₂O/Triéthylsilane, cf. Chapitre 2, 4.1). D'autre part, l'acide cystéique, forme oxydée de la cystéine, possède un excellent pouvoir solubilisant et figure comme un isostère stable et non protonable en milieu physiologique, de l'aspartate.¹⁷² De même les dérivés cystéiques sulfonamides, du fait leur similarité structurale, sont postulés bons

¹⁷² (a) Zhang, L.; Tam, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2363; (b) Bischoff, L.; David, C.; Roques, B. P.; Fournie-Zaluski, M.-C. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1420.

antagonistes de l'asparagine¹⁷³ et semblent présenter des propriétés antitumorales et antibactériennes.^{173,174} Leur incorporation dans des oligopeptides semble même démontrer une meilleure activité antibactérienne. Cependant peu d'études rapportent leur utilisation en synthèse peptidique.

Nous sommes partis de l'hypothèse que l'intermédiaire chlorosulfonium généré lors de la réaction de chloration oxydante pourrait permettre la libération facile du cation trityle, à l'instar d'un groupe S-trityle protoné par le TFA (*Schéma 4.10*). Dès lors nous pourrions disposer d'une voie d'accès facile aux dérivés d'acide cystéique à partir de cystéines S-protégées.

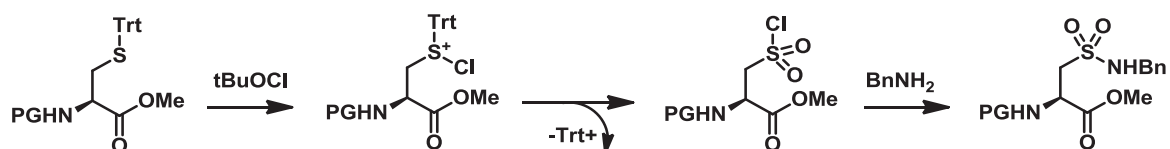


Schéma 4.10 Mécanisme proposé pour la déprotection de cystéine S-Trityl

Nous avons alors effectué différentes expériences de chloration oxydantes à partir de cystéines diversement protégées ou engagées dans un dipeptide. Comme décrit dans le *Schéma 4.11*, nous observons une déprotection rapide et complète de tous les dérivés cystéiniques et une amidification ultérieure permet l'obtention des sulfonamides correspondant avec de bons rendements (*Tableau 4.5*). Il est très important de souligner que même le groupement protecteur *tert*-butyle, pourtant très stable, a été facilement et entièrement coupé dans nos conditions (entrée 4). Le rendement modeste de 51% s'explique par une déprotection partielle du groupement *N*-Fluorénylméthoxy carbamate (Fmoc) lors de l'addition de la benzylamine, hypothèse corroborée par la présence de fluorénylméthylbenzylamine. De plus, la méthode est compatible avec les substrats sensibles aux conditions acides puisque qu'en remplaçant l'acétonitrile par le THF, solvant plus solvatant, nous avons obtenu le composé **109** avec un bon rendement à partir de la *N*-Boc-cystéine-(S-Trt)-OMe (entrée 2). Enfin la méthode semble adaptée aux substrats peptidiques. La réaction effectuée à partir du dipeptide Cbz-Phg-Cys(S-Trt)-OMe par exemple, nous a donné un très bon rendement de 88% (entrée 3).

¹⁷³ Heymann, H.; Ginsberg, T.; Gulick, Z. R.; Konopka, E. A.; Mayer, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 5125.

¹⁷⁴ (a) Mosher, C. W.; Silverstein, R. M.; Crews, O. P.; Baker, B. R. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 1257; (b) Brynes, S.; Burckart, G. J.; Mokotoff, M. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 45.

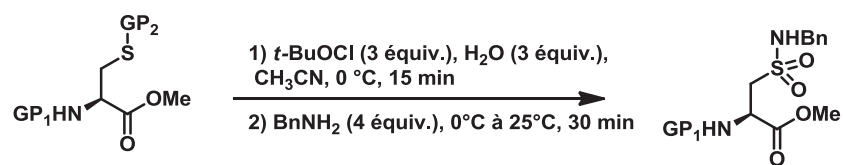


Schéma 4.11 Synthèse d'acides cystéiques sulfonamides par déprotection oxydante

| Entrée | Réactif | Groupement | Groupement | Produit | Rendements (%) |
|--------|-------------|---|---|------------|-----------------|
| | | <i>N</i> -protecteur (GP ₁) | <i>S</i> -Protecteur (GP ₂) | | |
| 1 | 107a | Fmoc | Trt | 108 | 70 |
| 2 | 107b | Boc | Trt | 109 | 61 ^a |
| 3 | 107d | Cbz-Phg | Trt | 110 | 88 |
| 4 | 107c | Fmoc | <i>t</i> -Bu | 108 | 51 |

^a Solvant : THF

Tableau 4.5 Rendements de la réaction en fonction des différents groupements protecteurs

5.2. Synthèse de dérivés hydrosolubles de l'acide cystéique

Les propriétés chimiques et physiques des peptides sont corrélées à leur composition en acides aminés. Bien que certains peptides se dissolvent facilement dans les milieux aqueux, un problème communément rencontré réside dans la très faible solubilité ou l'insolubilité de certains peptides, en particulier ceux possédant de longues séquences d'acides aminés hydrophobes (< 25% d'amino-acides hydrophiles présents dans la séquence). Cependant des solutions existent pour surmonter cette contrainte. Par exemple, la réduction de la longueur de la séquence pouvant nuire à leur activité ou encore l'introduction d'amino-acides chargés possédant un haut pouvoir solubilisant, permet d'augmenter de manière significative la solubilité du peptide dans l'eau

C'est dans ce contexte que nous avons imaginé une nouvelle voie d'accès à des peptides incorporants un dérivé d'acide cystéique hydrosoluble. Nous inspirant de la réaction secondaire de formation de carboxamide (cf. 4.1), nous sommes partis du postulat que l'intermédiaire chlorure de sulfonyle issu de la déprotection oxydante d'une cystéine protégée (Schéma 4.11), pouvait agir comme un agent de couplage interne, par activation de la fonction acide carboxylique. Le traitement de ce composé acide libre/chlorure de

sulfonyle **111** par une base non nucléophile pourrait conduire à la formation d'un intermédiaire anhydride carboxysulfonique **112** dont l'ouverture par la benzylamine mènerait à la formation d'une liaison amide, tout en libérant une fonction acide sulfonique fortement solubilisante.

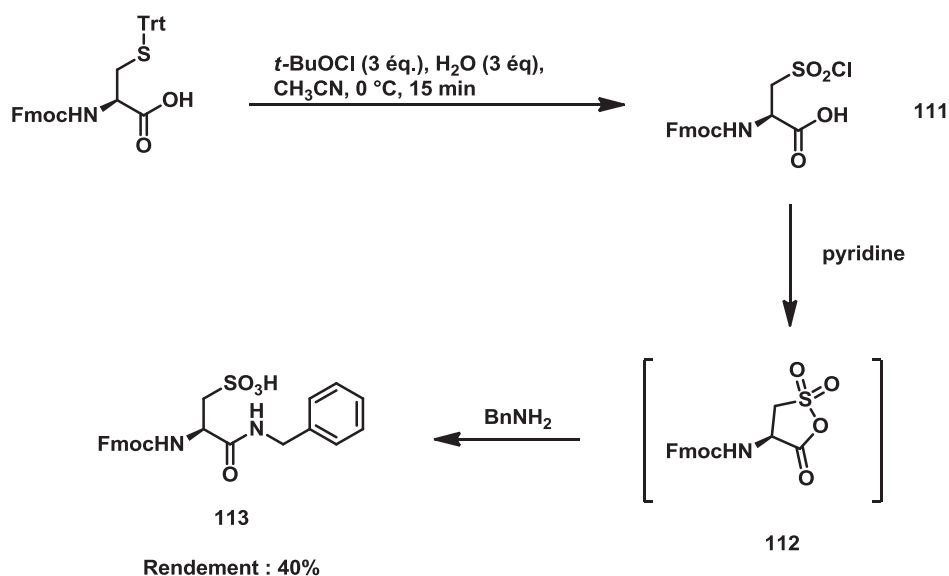


Schéma 4.12 Mécanisme proposé pour le couplage

Expérimentalement nous observons effectivement la formation du carboxamide **113**. Celui-ci est soluble en phase aqueuse et peut être isolé par CLHP préparative en phase inverse avec un rendement modeste de 40%. Néanmoins, nous pouvons espérer un meilleur rendement dans les conditions habituelles de synthèse sur support solide, celles-ci utilisant un large excès d'acide activé. Ce résultat préliminaire valide ainsi notre hypothèse de départ et ouvre une nouvelle voie pour la synthèse et la fonctionnalisation de peptides hydrosolubles à partir de dérivés commerciaux non modifiés, sans avoir recours à l'emploi de dérivés protégés de l'acide cystéique.

6 Conclusions et perspectives

6.1. Conclusions

Dans ce chapitre nous avons mis en évidence l'utilisation d'hypochlorite de *tert*-butyle comme nouvel agent de chloration oxydant pour la synthèse de sulfonamides et d'esters sulfoniques à partir de disulfures. De plus, nous avons prouvé l'efficacité de cette méthode pour réaliser la déprotection oxydante de thiols protégés. Nous avons ainsi pu effectuer la synthèse de divers sulfonamides, esters sulfoniques et sulfonates par des réactions "one-pot" impliquant la formation préliminaire de thioesters. Ces thioesters ont pu être générés *in situ* soit par réactions de substitution nucléophile par le thioacétate de potassium soit par additions de Michael d'acide thiolacétique sur des dérivés α,β -insaturés.

D'autre part la nouvelle méthodologie développée étend son application dans le domaine des acides aminés. Nous avons procédé à la préparation de plusieurs dérivés sulfonamides dérivés de l'acide cystéique par déprotection oxydante à partir de cystéines diversement protégées. La méthode développée est très prometteuse puisqu'elle permet la déprotection d'un groupement très stable (*t*-Bu) nécessitant traditionnellement des conditions dures (HF, Hg(II)...). Celle-ci semble également compatible avec des substrats sensibles aux conditions acides ce qui lui confère un net avantage par rapport aux autres méthodes de déprotection oxydante (NCS/HCl, Cl₂/HCl...). Enfin la réaction a également pu être appliquée avec succès, en mettant à profit le caractère activateur du chlorure de sulfonyle en tant qu'agent de couplage, sur un substrat peptidique.

6.2. Perspectives

L'étude préliminaire du traitement de la cystéine Fmoc-Cys(S-Trt)-OH par le *t*-BuOCl nous a permis d'ouvrir une possible nouvelle voie d'accès à des peptides incorporant un motif acide cystéique. Cette nouvelle voie de synthèse pourrait devenir un outil intéressant permettant la modification et l'augmentation de la solubilité de séquences peptidiques existantes.

Nous pourrions en effet envisager dans un premier temps d'effectuer la réaction de couplage en remplaçant la benzylamine par un acide aminé, l'ester méthylique de la glycine par exemple (*Schéma 4.13*).

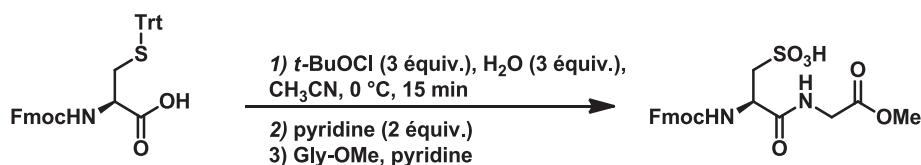


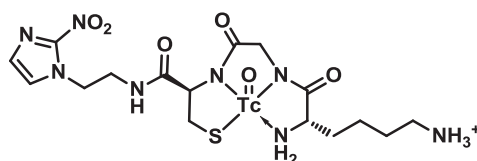
Schéma 4.13 Synthèse d'un dipeptide incorporant un dérivé hydrosoluble d'acide cystéique, par déprotection oxydante de cystéine

Nous pourrions également à terme tester la validité de la méthode en synthèse sur support solide à travers la préparation d'un analogue hydrosoluble d'une séquence d'acides aminés hydrophobes, ou encore la synthèse d'un isostère sulfonique d'un composé bioactif comportant un acide aspartique.

Conclusion Générale

L'imagerie nucléaire, avec la tomographie à émission monophotonique et la tomographie à émission de positons, est l'un des modes d'imageries fonctionnelles le plus populaire à l'heure actuelle. Elle constitue un puissant outil de diagnostic et permet de comprendre les divers processus biologiques du corps humain. Depuis les années 80, la recherche de nouveaux composés radiopharmaceutiques s'est intensifiée. Pourtant dans certains domaines comme l'hypoxie par exemple, les traceurs développés ne semblent pas donner une entière satisfaction. Ainsi, il n'existe à l'heure actuelle aucun traceur de l'hypoxie possédant une autorisation de mise sur le marché. Il est donc impératif de développer de nouveaux radiopharmaceutiques permettant de détecter avec précision les régions hypoxiques.

Une partie de ce travail de thèse s'inscrit dans ce contexte. Il a permis l'élaboration d'un nouveau traceur nitroimidazolé marqué au technétium 99m par la formation d'un complexe de type diamide-amine-thiol (*Figure 5.1*). Les expérimentations *in vitro* réalisées sur ce dernier ont montré une rétention spécifique du traceur aux cellules hypoxiques. Cette observation a été confirmée par l'étude de biodistribution effectuée et ainsi que par les images scintigraphiques réalisées sur le petit animal. Deux autres précurseurs avaient été au préalable étudiés, mais les tentatives de radiomarquage des molécules ont mis en évidence une dégradation des précurseurs dans les conditions de complexation.



22

Figure 5.1 Structure du complexe 22

Ce travail de thèse a également vu le développement de nouvelles molécules organosilylées incorporant un motif nitroimidazole et marquées au fluor 18 pour leur détection par imagerie TEP. Il s'agit d'une extension d'une première étude réalisée par le laboratoire en 2009 et portant sur la synthèse d'analogues silylés du [¹⁸F]FMISO. L'originalité de cette approche repose sur la formation d'une liaison silicium-fluor thermodynamiquement stable. Les premiers traceurs synthétisés [¹⁸F]34 et [¹⁸F]38 sont des améliorations des traceurs dinaphtyles précédemment élaborés, incorporant cette fois-ci des groupements solubilisants afin d'augmenter l'hydrophilie des molécules et ainsi assurer une

meilleure distribution *in vivo* de ces dernières. Malheureusement, malgré une bonne stabilité des traceurs dans le soluté physiologique, ceux-ci s'avèrent totalement instables dans le plasma humain et conduisent à l'hydrolyse totale de la liaison Si-F.

Un autre traceur [^{18}F]**44a** incorporant un synthon SiFA a été élaboré à partir de précurseurs silane **44a** et fluorosilane **44b** (par échange isotopique). Le composé radiomarqué obtenu montre cette fois-ci une bonne stabilité hydrolytique et plasmatique. Ce résultat montre de manière évidente la plus grande robustesse des dérivés SiFAs par comparaison aux traceurs dinaphtyles. De plus, les expérimentations *in vivo* réalisées et corrélés avec la mesure du coefficient de partage octanol/eau ($\log P$) mettent en relief la forte lipophilie de la molécule. Ce facteur pourrait en partie expliquer l'absence de rétention spécifique dans les régions hypoxiques. D'autre part la faible longueur de chaîne du bras espaceur pourrait également avoir un rôle, en perturbant le mécanisme de rétention.

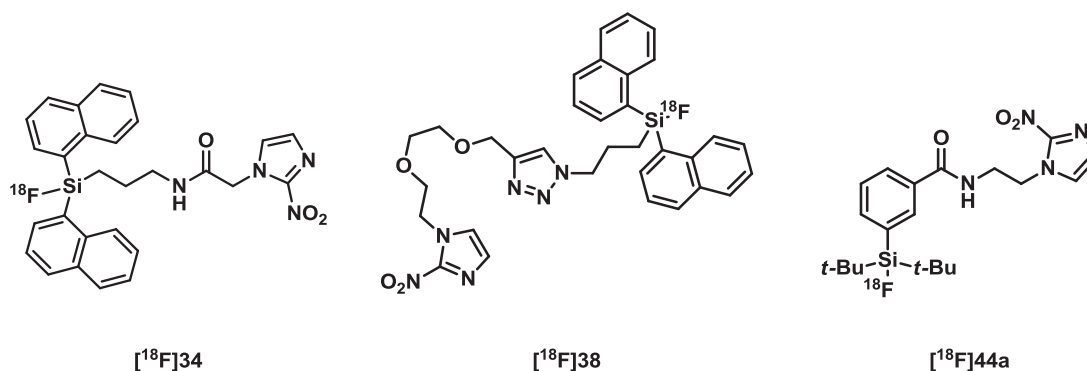


Figure 5.2 Structure des dérivés [^{18}F]fluorosilanes synthétisés

La seconde partie de ce travail a été consacrée à l'élaboration d'une nouvelle méthodologie de fluoration pour la préparation de traceurs fluorés en imagerie TEP. La stratégie proposée repose sur la formation d'une paire ions substrat-réactif ammonium-fluorure facilitant la réaction de fluoration par une assistance entropique. Une étude de fluoration sur l'ester sulfonique **77** a permis de valider le concept proposé (Schéma 5.1).

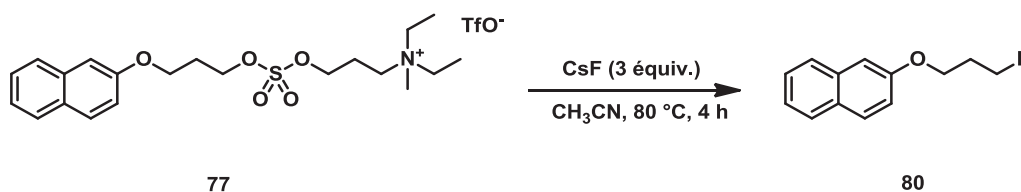


Schéma 5.1 Fluoration d'ester sulfonique **77** impliquant la formation d'une paire ammonium-fluorure

Cependant la stratégie n'a pour l'instant pas pu être exemplifiée à la synthèse du Fluorodésoxyglucose du fait des difficultés rencontrées lors des synthèses des esters sulfoniques de mannose protégé.

Ce travail a également permis l'élaboration d'une nouvelle stratégie de déprotection oxydante de thiols par l'hypochlorite de *tert*-butyle. La méthode développée a permis la synthèse de plusieurs sulfonamides et esters sulfoniques à partir des disulfures correspondants. La synthèse de divers sulfonamides, esters sulfoniques et sulfonates par des réactions "one-pot" impliquant la formation préliminaire de thioesters, a également été effectuée. De plus, la nouvelle méthodologie développée a été appliquée au domaine des acides aminés. Nous avons procédé à la préparation de plusieurs sulfonamides dérivés de l'acide cystéique par déprotection oxydante à partir de cystéine diversement protégée. Enfin la réaction a également pu être appliquée avec succès, en mettant à profit le caractère activateur du chlorure de sulfonyle, en tant qu'agent de couplage, sur un substrat peptidique.

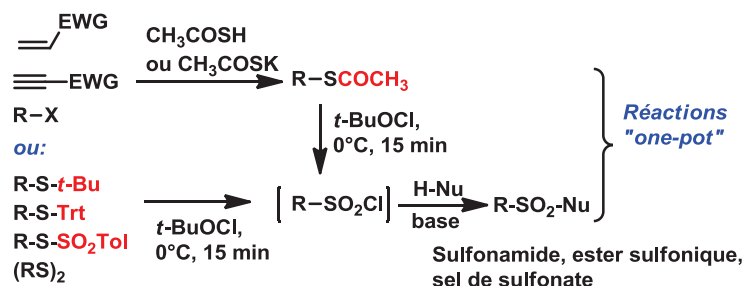


Schéma 5.2 Synthèse de dérivés d'acide sulfoniques par l'utilisation de *t*-BuOCl

Experimental Part

1 General methods

◆ Solvents and reagents

Tetrahydrofuran (THF) and diethyl ether (Et₂O) were distilled from benzophenone sodium and used immediately. Toluene, Triethylamine (Et₃N) were distilled on CaH₂. Dimethylformamide (DMF) was distilled under reduced pressure on BaO. All commercially available compounds were used without further purification.

◆ Melting points

Melting points were measured on a Kofler melting points apparatus and were not corrected with a precision of ± 2 °C.

◆ Nuclear magnetic Resonance

NMR spectra ¹H and ¹³C were recorded in CDCl₃, MeOD or DMSO-*d*₆ with a Bruker Avance 300 at 300 MHz and 75 MHz. The chemical shifts δ are reported in ppm relative to the residual solvent (CHCl₃, MeOD or DMSO). The coupling constants *J* are given in Hz.

In the ¹H NMR spectra, the following abbreviations are used to describe peak pattern: s (singlet), d (doublet), q (quadruplet), dd (doublet of doublet), t (triplet), m (multiplet).

◆ Chromatography

Thin Layer Chromatography

Analytical thin layer chromatographies (TLC) were performed on silica gel plates (Merk 60F254) or neutral alumina (Merck 150F254) and compounds were visualized by irradiation with UV light.

Flash column chromatography

Flash chromatography was performed using silica gel Merck (70-230 mesh ASTM) or neutral alumina gel Acros (50-200 μ m).

High Performance Liquid Chromatography

HPLC was performed using Hypersilgold 150 x 2.6 mm and Hypersilgold 250 x 21.2 mm columns with water/methanol as eluant. HPLC was also carried out using TSP ChromJet integrator, Spectra-Physics UV detector and a Spectra-Physics SP8810 pump.

Radio-HPLC was performed using a C18 Dionex Acclaim (150 x 2.6 mm, 5 μm) column with TFA 0.1%/ACN as eluant.

UCL (Brussels, Belgium)

Varian vista 5500, monitoring with ultraviolet detector (wavelength: 320 nm) and with Bicon frisk-tech radioactivity detector.

Column: Nucleosil 100-5 C18 (150 x 4.6 mm, 5 μm); 1 mL min⁻¹, CH₃CN/H₂O (3:2) or (7:3).

Preparative HPLC: Hypersild Gold C18 (150 x 10 mm, 5 μm), 3 mL.min⁻¹, (CH₃CN/H₂O 3/2).

Radio TLCs were monitored with a LabLogic ScanRAM device.

◆ **Infrared spectrometry**

FT-IR spectra were obtained with Perkin Elmer Spectrum 100 with ATR crystal

◆ **Gaz Chromatography Analysis**

GC-MS analyses were performed on a Agilent GC6850 and MS5975C with HP5-MS column (30 m x 25 mm x 25 μm). Carrier gas : He. Ionisation mode : IE

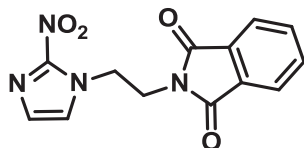
◆ **Mass spectrometry**

Mass spectra were recorded with a Jeol JMS-AX500 spectrometer in electronic impact (EI) and chemical ionisation.

HR-MS analyses were performed with an Waters LCT UPremier XE (ESI).

2 Synthesis of [^{99m}Tc]-ligands for imaging tumor hypoxia

2.1. Synthesis of 6-hydrazinyl-*N*-(2-(2-nitroimidazolyl)ethyl)nicotinamide 8



1

Chemical Formula: C₁₃H₁₀N₄O₄
Molecular Weight: 286,2429

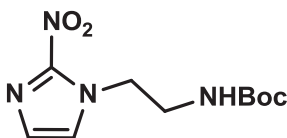
2-(2-nitro-1H-imidazolyl)ethylphthalimide.³⁵ A stirred solution of 2-nitroimidazole (0.10 g, 0.90 mmol), 2-bromoethylphthalimide (0.22 g, 0.90 mmol), and K₂CO₃ (0.13 g, 0.90 mmol) in DMF (5 mL) was heated at 110 °C for 2 h. The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was poured into water (5 mL) and extracted with EtOAc (3 x 5 mL). The organic layers were combined, dried over Na₂SO₄, and the solvent removed *in vacuo* to give 2-(2-nitro-1H-imidazolyl)ethylphthalimide as a white solid (0.11 g, 40%).

mp: 208-210 °C {litt: 208-210 °C}

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 7.82-7.84 (m, 4 H), 7.60 (s, 1 H), 7.07 (s, 1 H), 4.64 (t, 2 H, *J*=5.4 Hz), 4.06 (t, 2 H, *J*= 5.7 Hz).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 167.3, 144.7, 134.5, 131.2, 128.4, 127.9, 123.1, 48.3, 37.1.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 287.0710 observed, 287.0702 calculated for C₁₃H₁₁N₄O₄.



2

Chemical Formula: C₁₀H₁₆N₄O₄
Molecular Weight: 256,2584

***Tert*-butyl-2-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)ethylcarbamate.**^{36a} Potassium carbonate (0.61 g, 3.41 mmol) was added to a stirring solution of 2-nitroimidazole (0.39 g, 3.41 mmol) in DMF (10 mL). *Tert*-butyl-2-bromoethylcarbamate (0.76 g, 3.41 mmol) was added and the reaction mixture stirred at 25 °C for 5 h. The reaction mixture was filtered, the precipitate

Experimental part

washed with methanol and residual solvent was evaporated. The solid obtained was dissolved in water and extracted with ethyl acetate and the organic layer evaporated under reduced pressure. Finally the crude product was purified by flash chromatography using ethyl acetate as eluant to afford pure compound as a white solid (0.43 g, 57%).

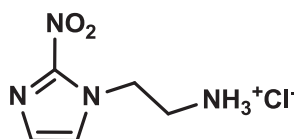
mp: 114-116 °C.

IR (ATR, cm^{-1}) 3273, 2955, 1598, 1481, 1365, 1248, 1147, 617.

^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 7.37 (s, 1H); 7.13 (s, 1H); 4.55 (t, 2H, $J= 5.4$ Hz); 3.52 (t, 2H, $J= 5.4$ Hz); 1.38 (s, 9H).

^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 158.4, 131.9, 129, 128.3, 80.4, 51.2, 40.8, 28

MS (ESI⁺), $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 279.1 (100).



3

Chemical Formula: $\text{C}_5\text{H}_9\text{ClN}_4\text{O}_2$
Molecular Weight: 192,6036

2-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)ethanamine HCl salt.^{36a} *Tert*-butyl-2(2-nitroimidazolyl)ethylcarbamate **2** (0.25 g, 0.28 mmol) was stirred at room temperature in 3N solution of HCl in methanol. After 1 h the resulting product was filtered and washed with MeOH and evaporated *in vacuo*. The solid obtained was recrystallized from MeOH to afford pure compound as a pale yellow solid (0.23 g; 93%).

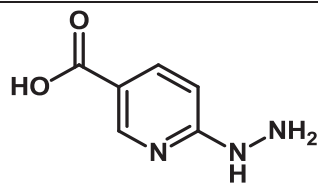
mp: 140-142 °C.

IR (ATR, cm^{-1}) 3126, 1660, 1496, 1353, 1189, 792, 718.

^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 7.52 (s, 1H); 7.23 (s, 1H); 4.78-4.74 (t, 2H, $J= 6.1$ Hz); 3.51-3.47 (t, 2H, $J= 6.1$ Hz).

^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 145.2, 128.8, 128.5, 47.2, 39.7.

HRMS (ESI⁺) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 157.0531 observed, 157.0538 calculated for $\text{C}_5\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2$.



4

Chemical Formula: C₆H₇N₃O₂
Exact Mass: 153,0538

6-Hydrazinylpicolinic acid.^{24a} 6-Chloronicotinic acid (0.30 g, 1.9 mmol) was added to 64% hydrazine monohydrate (2 mL, 26 mmol) and placed in a 100 °C oil bath for 4 h. After 4 h reaction mixture turned brown. The reaction mixture was concentrated to dryness. The residue was dissolved in water and pH adjusted to 5.5 with concentrated HCl. A precipitate was formed. The precipitate was filtrated and washed with ethanol then ether to give a yellow solid (0.35 g, 96%).

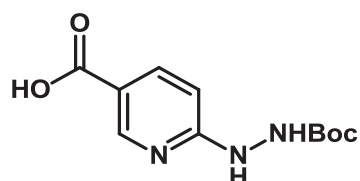
mp: 292-293 °C.

IR (ATR, cm⁻¹) 3210, 3058, 3039, 1696, 1636, 1613, 1536-1444, 1170, 757, 736.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 8.52 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz), 8.31 (s, 1H), 7.85 (dd, 1H, *J* = 8.9, 2.2 Hz), 6.70 (d, 1H, *J* = 8.9 Hz).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) 167.2, 159.6, 159.6, 140.9, 119.9, 110.6.

HRMS (ESI +) [M]⁺: 153.0531 observed, 153.0538 Calculated for C₆H₇N₃O₂.



5

Chemical Formula: C₁₁H₁₅N₃O₄
Molecular Weight: 253,2545

6-(2-(*tert*-Butoxycarbonyl)hydrazinyl)picolinic acid.^{24a} To a solution of 6-hydrazinopyridine-3-carboxylic acid **4** (0.35 g, 1.82 mmol) and triethylamine (0.32 mL, 2.36 mmol) in DMF was added di-*tert*-butyl dicarbonate (0.40 g, 1.82 mmol). The mixture became homogenous after 1 h. Stirring was continued over 16 h at 25 °C then solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted with Ethyl Acetate/MeOH (4:1) and filtered through silica with ethyl acetate as eluant to give **5** as a pale yellow solid (0.44 g, 96%).

Experimental part

mp: 282-284 °C

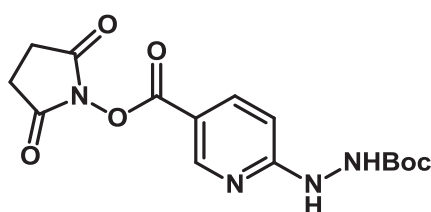
IR (ATR, cm⁻¹) 3353, 3227, 2975, 1719, 1593, 1472, 1372, 1256, 1014, 867, 794, 520.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 12.58 (s, 1H); 8.59 (d, 1H, *J*= 2.0 Hz); 7.97 (dd, 1H, *J*= 8.8, 2.1 Hz); 6.54 (d, 1H, *J*= 8.8 Hz); 1.42 (s, 9H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 166.6, 155.7, 150.5, 150.5, 138.5, 122.6, 116.7, 79.3, 28.1.

MS (ESI-) [M-H]⁻: 252.00

MS (ESI+) [M+H]⁺: 254.07



6

Chemical Formula: C₁₅H₁₈N₄O₆
Molecular Weight: 350,3266

Succinimidyl-6-(2-(*tert*-butoxycarbonyl)hydrazinyl)nicotinate.^{24a} To a solution of 6-Boc-hydrazinopyridine-3-carboxylic acid **5** (0.57 g, 2.26 mmol) and *N*-hydrosuccinimide (0.27 g, 2.26 mmol) in DMF was added DCC (0.47 g, 2.26 mmol). The reaction mixture became cloudy after 1 h. After 16 h, the reaction mixture was concentrated to dryness and the residue was purified by chromatography on silica gel with Ethyl Acetate as eluant to give a white solid (0.66 g, 84%).

mp: 172-174 °C

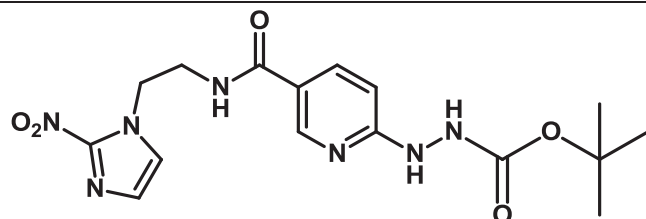
IR (ATR, cm⁻¹) 3321, 2979, 1729, 1594, 1365, 1240, 1198, 1068, 974, 641.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 9.46 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.76 (d, 1H, *J*= 2.1 Hz), 8.11 (d, 1H, *J*= 8.1 Hz), 6.67 (d, 1H, *J*= 8.9 Hz), 2.88 (s, 4H), 1.44 (s, 9H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 172.8, 170.5, 166.5, 160.9, 155.4, 151.8, 116.6, 110.0, 79.6, 28.0, 25.5.

MS (ESI+) [M+H]⁺: 351.00

NB: reaction can be performed in THF with lower yield (70%)



7

Chemical Formula: C₁₆H₂₁N₇O₅

Exact Mass: 391,1604

Tert-Butyl-2-5-((2-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)ethyl)carbamoyl)pyridin-2-yl)hydrazinecarboxylate. Succinimidyl-6-(2-(*tert*-butoxycarbonyl)hydrazinyl)nicotinate **6** (40 mg, 0.20 mmol), 2-(2-nitroimidazolyl)ethylamine TFA salt (70 mg, 0.20 mmol) and triethylamine (60 μ L, 0.44 mmol) were stirred in DMF for 8 h. Then, the reaction mixture was diluted in ethyl acetate, washed with brine and dried over Na₂SO₄. The solvent was removed under reduced pressure to give a pale yellow solid (60 mg, 71%).

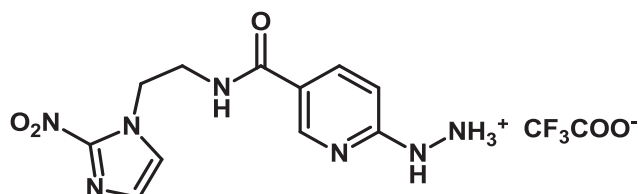
mp: 140-142 °C.

IR (ATR, cm⁻¹) 3273, 2955, 1598, 1481, 1365, 1248, 1147, 617.

¹H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 8.44 (d, 1H, J = 2.4 Hz); 7.88 (dd, 1H, J = 8.8, 2.3 Hz); 7.36 (s, 1H); 7.09 (s, 1H); 6.67 (d, 1H, J = 8.3 Hz); 4.67 (t, 2H, J = 5.4 Hz); 3.81 (t, 2H, J = 5.4 Hz); 1.46 (s, 9H).

¹³C NMR (MeOD, 75 MHz) δ 168.7, 163.4, 158.4, 148.8, 146.3, 138.2, 129.0, 128.4, 121.8, 106.8, 81.9, 50.7, 40.3, 28.6.

HRMS (ESI⁺) [M+H]⁺: 392.1662 observed, 392.1682 calculated for C₁₆H₂₂N₇O₅.



8

Chemical Formula: C₁₃H₁₄F₃N₇O₅

Molecular Weight: 405,2894

6-Hydrazinyl-N-(2-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)ethyl)nicotinamide TFA salt. Compound **7** (0.56 g, 1.40 mmol) was stirred for 30 min with 100% TFA. Thereafter, TFA was removed under reduced pressure and residue washed with ether. Preparative reversed phase HPLC was performed with a hypersild gold C18 column (250 x 2.1; YMC Co., Ltd) at a

Experimental part

flow rate of 10 mL/min with a mixture of water and methanol (8:1). The Chromatograms were obtained by monitoring the ultraviolet (UV) adsorption at a wavelength of 320 nm. The fractions containing 6-hydrazinyl-*N*-(2-(2-nitroimidazolyl)ethyl)nicotinamide TFA salt **8** were identified by mass spectrometry and collected. The solvent was removed by lyophilisation to provide the expected compound **8** (0.58 g, 99%) as yellow crystals.

mp: 118-120 °C.

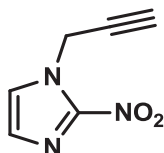
IR (ATR, cm⁻¹) 3210, 1659, 1540, 1486, 1362, 1183, 1124, 832, 718.

¹H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 8.34 (d, 1H, *J*= 1.6 Hz); 8.05 (dd, 1H, *J*= 9.2, 2.1 Hz); 7.40 (s, 1H); 7.10 (s, 1H); 6.93 (d, 1H, *J*= 9.1 Hz); 4.69 (t, 2H, *J*= 5.4 Hz); 3.83 (t, 2H, *J*= 5.4 Hz).

¹³C NMR (MeOD, 75 MHz) δ 168.7, 163.4, 158.4, 148.8, 144.3, 138.2, 129.0, 128.4, 121.8, 116.6, 106.8, 50.7, 40.3.

HRMS (ESI⁺) [M+H]⁺: 292.1144 observed, 292.1158 calculated for C₁₁H₁₄N₇O₃.

2.2. Synthesis of compound 15



9

Chemical Formula: C₆H₅N₃O₂
Molecular Weight: 151,1228

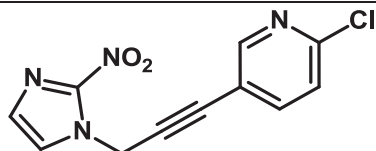
1-Propargyl-2-nitroimidazole.³⁸ Potassium carbonate (0.36 g, 2.64 mmol), 2-nitroimidazole (0.30 g, 2.64 mmol) and propargyl bromide (0.32 g, 2.64 mmol) were stirred for 18 h at 25 °C in acetone. The solid was filtered and the solvent removed under reduced pressure to give pure compound **9** as a yellow oil (0.28 g, 70%).

IR (ATR, cm⁻¹) 3266, 3104, 1528, 1485, 1339, 657.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.44 (s, 1H); 7.18 (s, 1H); 5.25 (d, 2H, *J*= 2.6 Hz); 2.63 (t, 1H, *J*= 2.6 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 143.1, 128.3, 125.4, 76.5, 75.0, 39.7.

MS (APCI) [M]⁺: 151.10



10

Chemical Formula: C₁₁H₇ClN₄O₂

Molecular Weight: 262,6519

2-chloro-5-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)propynylpyridine. To a solution of 1-propargyl-2-nitroimidazole **9** (0.23 g, 1.52 mmol) in DMF was added 2-chloro-5-iodopyridine (0.48 g, 2.00 mmol), triethylamine (0.21 mL, 1.52 mmol), copper iodide (0.01 g, 0.04 mmol) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (15 mg, 0.01 mmol). The reaction mixture was stirred overnight and then the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel with petroleum diethyl ether/ethyl acetate (40/60) as eluent to give the expected product **10** as a yellow solid (0.21 g, 53%).

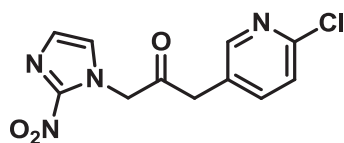
mp: 130-132 °C.

IR (ATR, cm⁻¹) 1688, 1526, 1480, 1454, 1349, 1105, 839, 784.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.20 (d, 1H, *J*= 2.4 Hz); 7.43 (dd, 1H, *J*= 8.2, 2.4 Hz); 7.26 (d, 1H, *J*= 8.2 Hz); 7.09 (s, 1H); 6.97 (s, 1H), 4.99 (s, 2H).

¹³C NMR (MeOD, 75 MHz) δ 153.3, 152.3, 143.2, 142.0, 128.7, 127.6, 125.5, 119.5, 87.1, 82.6, 41.2.

MS (ESI⁺) [M³⁵Cl+H]⁺: 263.07.



11

Chemical Formula: C₁₁H₉ClN₄O₃

Molecular Weight: 280,6672

(6-chloropyridin-3-yl)-3-(2-nitroimidazol-1-yl)propan-2-one. 2-chloro-5-(2-nitroimidazolyl)propynylpyridine **10** (60 mg, 0.23 mmol) was added to hydrazine monohydrate (64%) (50 μL, 1.03 mmol) in EtOH (2 mL). The reaction mixture was heated at reflux for 4 h. Then, the solvent was removed under reduced pressure and residue dissolved in 5N HCl solution in i-PrOH. Solvent was removed under reduced pressure and

Experimental part

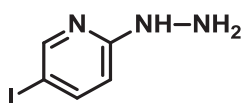
the crude solid was purified by preparative reverse phase HPLC using TFA 1%/acetonitrile as eluant (20 mg. 30%)

IR (ATR, cm^{-1}) 2922, 2646, 2563, 2068, 1485, 1360, 1084, 797.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.29 (d, 1H, $J= 2.4$ Hz); 7.60 (dd 1H, $J= 8.3, 2.4$ Hz); 7.39 (d, 1H, $J= 8.3$ Hz); 7.26 (s, 1H); 7.03 (s, 1H); 5.31 (s, 2H); 3.95 (s, 2H).

^{13}C NMR (MeOD, 75 MHz) 199.5, 148.3, 147.5, 145.8, 132.5, 129.2, 128.2, 127.4, 125.4, 59.3, 42.9.

HRMS (ESI $^+$) [$\text{M}^{35}\text{Cl}+\text{H}$] $^+$: 281.045 observed, 281.0441 calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}$



12

Chemical Formula: $\text{C}_5\text{H}_6\text{IN}_3$
Molecular Weight: 235,0257

2-Hydrazino-5-iodo-pyridine. 2-Chloro-5-iodopyridine (0.20 g, 0.83 mmol) was stirred for 5 h at 120 °C in pyridine with excess of hydrazine monohydrate (64%) (0.25 mL, 4.17 mmol). The solvent was removed under reduced pressure and the residue dissolved in EtOAc and extracted with water. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and concentrated to dryness to give pure 2-hydrazino-5-iodo-pyridine **12** (0.19 g, 90%).

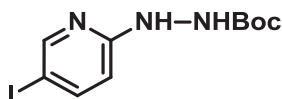
mp: 102-104 °C

IR (ATR, cm^{-1}) 3248, 3158, 2983, 1586, 1506, 1476, 1075, 805.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.26 (d, 1H, $J= 1.6$ Hz), 7.67 (dd, 1H, $J= 8.8, 2.1$ Hz); 6.59 (d, 1H, $J= 8.8$ Hz), 5.83(s, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 160.3, 153.5, 145.2, 109.3, 78.5.

MS (ESI $^+$) [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 236.20



13

Chemical Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{IN}_3\text{O}_2$
Molecular Weight: 335,1415

Tert-Butyl-2-(5-iodopyridin-2-yl)hydrazinecarboxylate. To a solution of 5-Iodo-2-hydrazinopyridine **12** (0.14 g, 0.58 mmol) in DMF was added Boc_2O (0.13 g, 0.13 mmol)

Experimental part

and triethylamine (0.10 mL, 0.70 mmol). The reaction mixture was stirred at 25 °C for 16 h. Thereafter, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted in EtOAc and washed with water. The organic layer was concentrated to dryness. The product was purified on silica gel with ethyl acetate as eluant to give the expected product **13** as a white solid (0.16 g, 85%).

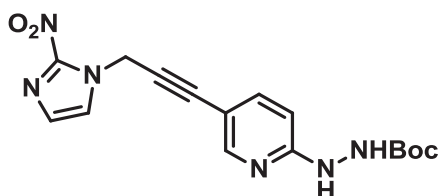
mp: 166-168 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 3353, 3227, 2975, 1719, 1593, 1472, 1372, 1256, 1014, 794.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.32 (d, 1H, *J*= 1.7 Hz), 8.01 (s, 1H), 7.76 (dd, 1H, *J*= 8.7, 2.1 Hz), 6.58 (d, 1H, *J*= 8.7 Hz), 6.37 (s, 1H), 1.45 (s, 9H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 159.2, 156.1, 153.5, 145.8, 109.1, 81.7, 28.4, 14.3.

MS (ESI+) [M+H]⁺: 335.87



Chemical Formula: C₁₆H₁₈N₆O₄
Exact Mass: 358, 1390

***Tert*-Butyl-2-(5-(3-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)prop-1-yn-1-yl)pyridin-2-**

yl)hydrazinecarboxylate. To a solution of 1-propargyl-2-nitroimidazole **9** (20 mg, 0.13 mmol) in DMF was added compound **13** (40 mg, 0.13 mmol), triethylamine (30 μL, 0.22 mmol), copper iodide (3 mg, 0.02 mmol) and Pd[P(Ph)₃]₄ (5 mg, 0.004 mmol). The reaction mixture was stirred overnight under N₂ atmosphere then solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel with petroleum ether/ethyl acetate (40/60) as eluant to give the expected product **14** as a yellow solid (30 mg, 55%).

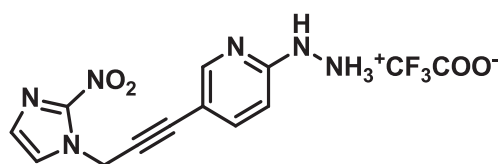
mp: 128-130 °C.

IR (ATR, cm⁻¹) 3219, 2979, 2927, 2229, 1724, 1355, 1162, 834, 797.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.26 (d, 1H, *J*= 1.8 Hz), 7.59 (dd, 1H, *J*= 8.6, 2.1 Hz), 7.48 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.69 (d, 1H, *J*= 8.5 Hz), 6.62 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 1.45 (s, 9H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) 182.0, 159.8, 155.9, 151.8, 149.9, 141.3, 128.5, 125.3, 110.1, 85.5, 82.1, 81.2, 41.0, 28.3.

HRMS (ESI+) $[M+H]^+$: 359.1473 observed, 359.1468 calculated for $C_{16}H_{19}N_6O_4$.



15

Chemical Formula: $C_{13}H_{11}F_3N_6O_4$
Molecular Weight: 372,2594

2-Hydrazinyl-5-(3-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)prop-1-yn-1-yl)pyridine TFA salt.

Compound **14** (10 mg, 0.03 mmol) was stirred for 30 min in 100% TFA. Then, TFA was removed under reduced pressure and resulting solid was purified by preparative reverse phase HPLC with a hypersild gold C18 column (250 x 2.1; YMC Co., Ltd) at a flow rate of 10 mL.min⁻¹ with a mixture of water and methanol (80:10). Chromatograms were obtained by monitoring the ultraviolet (UV) adsorption at a wavelength of 320 nm. The fraction containing the product was identified by mass spectrometry and collected. The solvent was removed by lyophilisation to provide 1-(2-nitroimidazolyl)-3-(HYNIC)-propynyle TFA salt **15** (10 mg, 99%) as a white solid. This product appeared to be unstable within time.

¹H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 8.16 (d, 1H, J = 1.4 Hz); 7.77 (dd, 1H, J = 9.0, 2.1 Hz); 7.70 (s, 1H); 7.19 (s, 1H); 6.88 (d, 2H, J = 9.0 Hz); 5.54 (s, 2H).

¹³C NMR (MeOD, 75 MHz) 176.1, 156.2, 145.5, 143.9, 142.5, 128.7, 127.7, 114.1, 111.6, 110.9, 84.7, 82.6, 41.3.

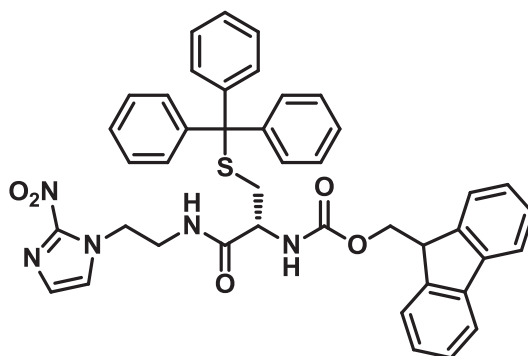
HRMS (ESI+) $[M+H]^+$: 259.0940 observed, 259.0943 calculated for $C_{11}H_{11}N_6O_2$.

2.3. Radiolabelling of HYNIC compounds

In a 10 mL Technevial[®], 100 μ g of **8** (or **15**) in saline was incubated with 1 mL of tricine/EDDA solution (20 mg/mL of tricine and 10 mg/mL of EDDA in 0.1 M NaOH), final pH 6.0, 0.3 mL of [^{99m}Tc]TcO₄⁻ solution (740-1110 MBq), and 0.2 mL of stannous chloride dehydrate solution (0.2 mg/mL in ethanol) for 15 min at 100 °C. The reaction

mixture was analysed by HPLC (Acclaim C18, H₂O (containing 0.1% TFA)/ACN; gradient 95 to 0% H₂O over 30 min) with radioactivity detector.

2.4. Synthesis of tripeptide chelate Lys-Gly-Cys-(CH₂)₂-2-(nitroimidazole)



Chemical Formula: C₄₂H₃₇N₅O₅S

Molecular Weight: 723,8387

Fmoc-L-Cys(Trt)-(CH₂)₂-NIM. To a solution of (2-nitroimidazolyl)ethylamine TFA salt **3** (0.10 g, 0.40 mmol) and Fmoc-L-Cys(Trt)-OH (0.29 g, 0.40 mmol) in dry dichloromethane was added at 0 °C, DIEA (0.20 mL, 1.2 mmol) then T₃P[®] (50% solution in DMF) (0.45 mL, 0.76 mmol). The reaction mixture was stirred at 25 °C overnight. Saturated Na₂CO₃ solution (5 mL) was added and aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 x 5 mL). Combined organic layers were washed with water (10 mL) and brine (2 x 5 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and the solvent removed under reduced pressure. The residue was purified on silica gel with a mixture of diethyl ether/ethyl acetate (1/9) as eluant to give a faint yellow solid (0.25 g, 86%).

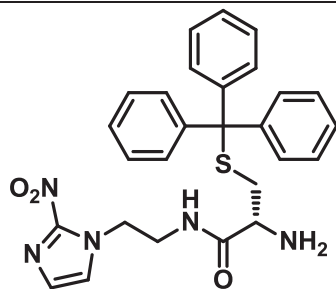
mp: 110-112 °C.

IR (ATR, cm⁻¹) 3306, 3056, 1674, 1484, 1446, 1359, 1240, 1039, 1741, 692.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.74 (dd, 2H, *J*= 5.7, 2.8 Hz); 7.54 (t, 2H, *J*= 6.3 Hz); 7.28-7.17 (m, 19H); 6.98 (s, 1H); 6.88 (s, 1H); 6.07 (s, 1H); 4.78 (s, 1H); 4.45 (m, 4H); 4.18 (t, 1H, *J*= 6.3 Hz); 3.68 (s, 1H); 3.57 (m, 2H); 2.63 (dd, 2H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 173.9, 171.2, 162.6, 144.2, 141.5, 129.5, 128.1, 128.0, 127.8, 127.1, 126.8, 124.9, 120.1, 119.5, 118.9, 67.4, 67.0, 60.4, 54.1, 49.2, 47.1, 39.5.

HRMS (ESI+) [M+NH₄]⁺: 746.2889 observed, 741.2859 calculated for C₄₂H₄₁N₆O₅S.



17

Chemical Formula: C₂₇H₂₇N₅O₃S
Molecular Weight: 501,6000

NH₂-L-Cys(Trt)-(CH₂)₂-NIM. Fmoc-L-Cys(Trt)-(CH₂)₂-NIM **16** (0.35 g, 0.25 mmol) was stirred in DMF with 20% mol piperidine (10 μL, 0.07 mmol) at 25 °C for 16 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue purified on silica gel with ethyl acetate then ethyl acetate/methanol (95/5) as eluant to give compound **17** as a yellow solid (90 mg, 53%).

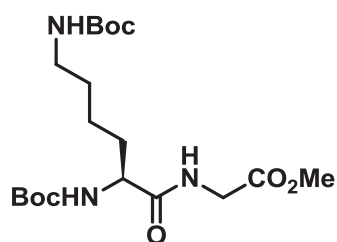
mp: 104-106 °C.

IR (ATR, cm⁻¹) 3258, 3061, 2914, 1654, 1491, 1360, 1027, 743, 700.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.42–7.20 (m, 15H); 7.01 (s, 1H); 6.97 (s, 1H); 4.51 (t, 2H, *J* = 5.7 Hz); 3.59 (m, 2H); 3.04 (t, 1H, *J* = 5.7 Hz); 2.60 (m, 2H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 173.9, 144.4, 129.6, 128.3, 128.1, 127.9, 127.1, 127.0, 67.2, 53.7, 48.9, 39.3, 37.0.

HRMS (ESI⁺) [M+H]⁺: 502.1905 observed, 502.1913 calculated for C₂₇H₂₈N₅O₃S



18

Chemical Formula: C₁₉H₃₅N₃O₇
Molecular Weight: 417,4971

***N,N*-(Boc)₂-L-Lys-Gly-OMe.** To a solution of *N,N*-(Boc)₂-L-Lys-OH.DCHA (0.50 g, 0.95 mmol) and NH₂-Gly-OMe hydrochloride (0.12 g, 0.95 mmol) in dry dichloromethane was added at 0 °C, DIEA (0.82 mL, 4.75 mmol) then T₃P[®] (50% solution in DMF) (0.83 mL, 1.14 mmol). The reaction mixture was stirred at 25 °C overnight. Saturated Na₂CO₃ (5 mL)

Experimental part

was added and the aqueous layer was extracted three times with dichloromethane (3 x 5 mL). Combined organic layers were washed with water (10 mL) and brine (2 x 5 mL), dried over Na₂SO₄ and filtered. The residue was purified on silica gel with ethyl acetate as eluant to give compound **18** as a faint yellow solid (0.34 g, 86%).

mp: 84-86 °C {litt: 83-85 °C}¹⁷³

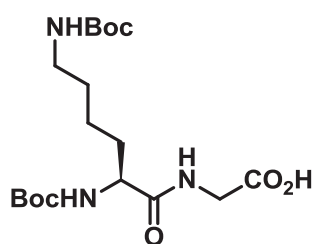
$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = 6.2$ (c = 1.1, CHCl₃) (litt: 7.3 (c= 1.0, CHCl₃))¹⁷³

IR (ATR, cm⁻¹) 3314, 2943, 1757, 1686, 1516, 1367, 1247, 1160, 1011.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 6.62 (s, 1H); 5.11 (s, 1H); 4.64 (s, 1H); 4.05 (dd, 2H, *J*= 5.4, 1.2 Hz); 3.67 (s, 3H); 3.12 (dd, 2H, *J*= 12.1, *J*= 6Hz); 1.86-1.65 (m, 1H); 1.45-1.41 (m, 6H); 1.45-1.41 (s, 18H);

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 172.8, 170.3, 156.3, 155.9, 80.0, 79.1, 54.3, 52.4, 41.1, 38.8, 32.2, 29.7, 28.4, 28.3, 22.4.

MS (ESI+) [M+H]⁺: 417.87 observed.



Chemical Formula: C₁₈H₃₃N₃O₇
Molecular Weight: 403,4705

***N,N*-(Boc)₂-L-Lys-Gly-OH.** To a solution of *N,N*-(Boc)₂-L-Lys-Gly-OMe **18** (0.20 g, 0.48 mmol) in dry DMF was added at 25 °C, lithine (10 mg, 0.53 mmol) and water (0.30 mL, 1.9 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was removed under reduced pressure, the residue dissolved in water and solution was neutralized to pH = 7 with 1N HCl. Solution was then lyophilised overnight to give a white solid with very good yield (0.19 g, 96%).

mp: 170-172 °C

$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -10.2$ (c = 1.02, MeOH) {litt: -3.1 (c= 1.05, MeOH)}¹⁷⁴

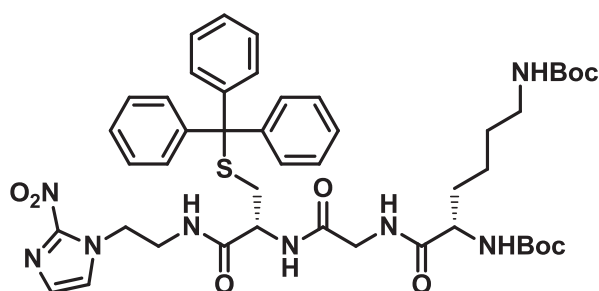
Experimental part

IR (ATR, cm^{-1}) 3369, 2943, 1688, 1513, 1418, 1243, 1158, 1041.

^1H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 6.62 (s, 1H); 4.02 (m, 1H); 3.73 (d, ABX, 2H); 3.03 (t, 2H, $J=6.6$ Hz); 1.86-1.58 (m, 1H); 1.66-1.41 (m, 6H); 1.45-1.43 (s, 18H).

^{13}C NMR (MeOD, 75 MHz) δ 175.9, 174.7, 158.6, 158.0, 80.7, 79.9, 56.2, 44.6, 41.0, 32.9, 30.6, 28.9, 28.8, 24.3.

MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 403.23 observed.



Chemical Formula: $\text{C}_{45}\text{H}_{58}\text{N}_8\text{O}_9\text{S}$
Exact Mass: 886,4047

20

BocLys(Boc)-Gly-Cys(Trt)- $(\text{CH}_2)_2$ -NIM. Route 1: Compound **19** (0.23 g, 0.57 mmol) was stirred with T3P[®] (0.20 g, 0.63 mmol), DIEA (0.30 mL, 1.72 mmol) and compound **17** (0.29 g, 0.57 mmol) in DMF. The reaction mixture was stirred overnight then, was diluted in dichloromethane and washed with saturated sodium carbonate solution. Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and solvent removed under reduced pressure. Product was purified on silica gel with ethyl acetate as eluant to give a white solid (0.33 g, 65%).

Route 2: Compound **18** (57 mg, 0.14 mmol) was dissolved in DMF (1 mL) with water (10 μL , 0.54 mmol) then LiOH (3.4 mg, 0.15 mmol) was added and the reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature. Then, the reaction was cooled to 0 $^\circ\text{C}$, compound **17** (30 mg, 0.07 mmol) was added then HBTU (60 mg, 0.15 mmol) was added portion wise. The reaction mixture was slowly allowed to reach room temperature and stirred overnight. The mixture was diluted in ethyl acetate then extracted three times with brine. The organic layers were combined, dried over Na_2SO_4 and the solvent was removed under reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography using ethyl acetate as eluant to afford compound **20** as a white solid (33 mg, 53%).

mp: 140-142 $^\circ\text{C}$.

Experimental part

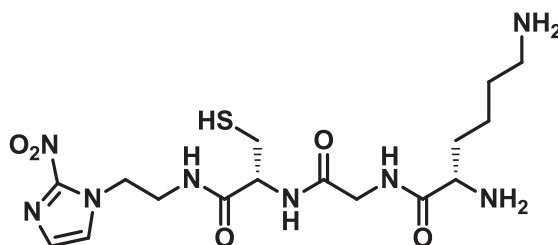
$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +4.2$ ($c = 1.03$, CHCl_3)

IR (ATR, cm^{-1}) 3301, 2931, 1660, 1491, 1365, 1245, 1158, 743, 694.

^1H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 7.26 (m, 16H), 6.98 (s, 1H, NH), 6.96 (s, 1H), 6.58 (s, 1H, NH), 4.50 (t, 2H, $J = 2.1$ Hz), 4.05 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 3.77 (d, 2H, $J = 4.7$ Hz), 3.58 (t, 2H, $J = 2.1$ Hz), 3.02 (m, 2H), 2.57 (m, 2H), 1.75-1.60 (m, 4H), 1.42 (m, 2H), 1.42 (s, 18H).

^{13}C NMR (MeOD, 75 MHz) δ 172.6, 171.6, 168.3, 158.6, 158.0, 144.6, 129.4, 127.9, 127.7, 127.3, 126.1, 107.7, 86.4, 84.5, 84.1, 53.1, 49.3, 42.5, 39.6, 38.6, 36.3, 32.9, 31.2, 29.3, 28.8, 28.6, 22.7.

HRMS (ESI+) ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 887.4136 observed, 887.4126 calculated for $\text{C}_{45}\text{H}_{59}\text{N}_8\text{O}_9\text{S}$.



Chemical Formula: $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_8\text{O}_5\text{S}$
Molecular Weight: 444,5091

21

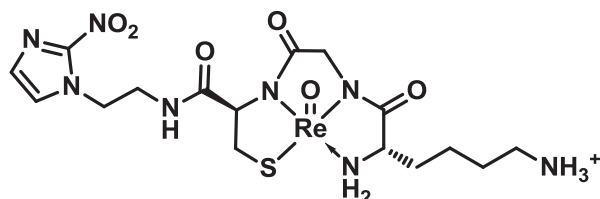
Lys-Gly-Cys-(CH_2) $_2$ -NIM. BocLys(Boc)-Gly-Cys(Trt)-(CH_2) $_2$ -NIM **20** (0.10 g, 0.11 mmol) was dissolved in a mixture of TFA/Triethylsilane/ H_2O / Phenol (90/ 2.5/ 2.5/ 5) and stirred at 0 °C. The reaction was monitored with reverse-phase HPLC. Deprotection was completed after 1 h. The product was precipitated with diethyl ether. The reaction mixture was centrifuged and the precipitate washed 3 times with diethyl ether. The product was purified by preparative reverse phase HPLC with TFA 0.1% and acetonitrile as eluant. A yellow hygroscopic solid was obtained (24 mg, 52%).

IR (ATR, cm^{-1}) 3068, 1657, 1488, 1360, 1187, 1136, 797, 720.

^1H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 8.26 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 4.59 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 4.36 (dd, 1H, $J = 7.2, 5.3$ Hz), 4.10-3.84 (ABq, 2H, $\delta_{\text{AB}} = 0.13$, $J = 16.5$ Hz), 3.93 (t, 1H, $J = 6.6$ Hz), 3.69 (m, 2H), 2.97 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz), 2.78 (m, 2H), 1.92 (m, 2H), 1.73 (m, 2H), 1.55 (m, 2H).

^{13}C NMR (MeOD, 75 MHz) δ 172.8, 171.3, 170.8, 146.0, 129.7, 128.5, 57.3, 54.2, 50.7, 45.7, 43.5, 40.7, 31.8, 27.9, 23.7, 22.7.

HRMS (ESI+) $[M+H]^+$: 445.1981 observed, 445.1982 calculated for $C_{16}H_{29}N_8O_5S$.



Chemical Formula: $C_{16}H_{26}N_8O_6ReS^+$
Molecular Weight: 644,6991

Complexe oxorhenié. Deprotected tripeptide **21** (40 mg, 0.09 mmol) and sodium acetate (12 mg, 0.14 mmol) were dissolved in 2 mL of methanol. $ReOCl_3(PPh_3)_2$ (6 mg, 0.08 mmol) was added. The $ReOCl_3(PPh_3)_2$ was insoluble in methanol. The mixture was refluxed under Argon for 4 h. As the solution was heated, $ReOCl_3(PPh_3)_2$ gradually dissolved and the solution turned red. The methanol was then removed by a rotary evaporator to yield a red residue. The residue was dissolved in distilled water to give a cloudy red solution. It was filtered and lyophilized. Purification of the crude product was done by preparative reverse-phase HPLC. The collected HPLC fractions were lyophilized.

Fraction 1 : dia 1 (10 mg)

1H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 7.51 (d, 1H $J= 1.1$ Hz), 7.13 (d, 1H, $J= 1.1$ Hz), 4.93 (d, 1H, $J= 7.2$ Hz), 4.70 (d, 1H, $J= 18.5$ Hz), 4.60 (dt, 1H, $J= 13.8, 4.7$ Hz), 4.48 (m, 1H), 4.42 (d, 1H, $J= 18.5$ Hz), 4.05 (t, 1H, $J= 6.7$ Hz), 3.73 (d, 1H, $J= 13.3$ Hz), 3.68- 3.59 (m, 2H), 3.41 (m, 1H), 2.95 (m, 2H), 2.16-1.95 (m, 2H), 1.84-1.62 (m, 4H).

Fraction 2 (6 mg): mixture of **dia 1** and **dia 2**

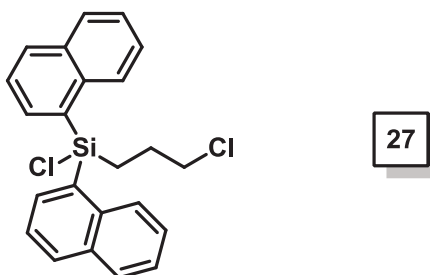
2.5. Radiolabelling of compound 22

To a 10 mL Technevial[®] were added compound **20** (10-100 μ g), $Na[^{99m}Tc]TcO_4$ solution (740-925 MBq in 200 μ L of saline), 1 mL of sodium tartrate solution (which contained 20 mg of sodium tartrate dibasic) and 80 μ L of $SnCl_2$ solution (which contained 2 mg of stannous chloride in 1mL of 0.1M HCl aqueous solution). The mixture was incubated at 100 °C for 10 min. The ^{99m}Tc complexe was analyzed by HPLC with radioactivity detector (Acclaim C18, H_2O (containing 0.1% TFA)/ACN; gradient 95 to 0% H_2O over 30 min. UV detection at 320 nm was used to monitor the disappearance of the 2-NI absorption

peak of the ligand. The radiochemical yield was 72%. Formation of [^{99m}Tc]colloid was <6%.

3 Synthesis of silicon based analogues of misonidazole

3.1. Synthesis of dinaphtyl compound 34



Chemical Formula: $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{Si}$
Molecular Weight: 395,3964

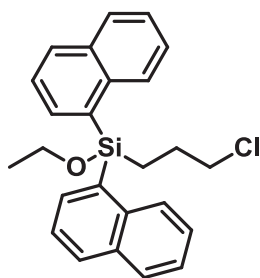
Chloro-(3-chloropropyl)dinapht-1-ylsilane.⁸⁰ 1-Bromonaphthalene (4.00 g, 19.30 mmol) was dissolved in diethyl ether (50 mL) and n-BuLi (14.50 mL, 23.16 mmol) was added dropwise with vigorous stirring at $-5\text{ }^\circ\text{C}$. The reaction mixture was stirred at $-5\text{ }^\circ\text{C}$ for 30 min then a solution of 3-chloropropyltrichlorosilane (1.40 mL, 9.2 mmol) in ether (15 mL) was added. The reaction mixture was allowed to warm at room temperature and was stirred for 2 h. A concentrated HCl solution (37%) was added. The layers were separated and the aqueous layer was extracted with ether (3 x 10 mL). Combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered and the solvent was removed under reduced pressure to give expected product **27** as a colorless oil (7.47 g, 98%). The product was directly engaged in the next step without any purification.

IR (ATR, cm^{-1}) 3055, 2954, 1589, 1506, 1435, 1318, 1268, 1218, 1147, 1025, 826, 776, 699.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.06 (m, 4H) 7.99 (d, 2H, $J= 8.1$ Hz); 7.87 (d, 2H, $J= 7.7$ Hz); 7.54 (dd, 2H, $J= 8.1, 7.0$ Hz); 7.45 (td, 2H, $J= 7.0, 1.0$ Hz); 7.31-7.37 (m, 2H); 3.53 (t, 2H, $J= 6.0$ Hz); 1.85-1.92 (m, 4H).

^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) δ 136.2, 135.5, 133.6, 132.0, 131.5, 129.2, 127.8, 126.6, 126.0, 125.3, 47.5, 26.9, 15.7.

HRMS (APCI) $[M]^+$: 394.0711 observed, 394.0706 calculated for $C_{23}H_{20}Cl_2Si$.



28

Chemical Formula: $C_{25}H_{25}ClOSi$
Molecular Weight: 405,0039

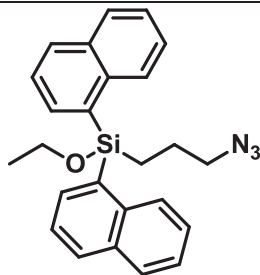
Ethoxy-(3-chloropropyl)dinapht-1-ylsilane.⁸⁰ To a solution of chloro-(3-chloropropyl)dinaphtylsilane **27** (3.62 g, 9.20 mmol) in dichloromethane (30 mL) at 0 °C was slowly added a mixture of ethanol (2.70 mL, 46.00 mmol) and *N*-methylimidazole (1.10 mL, 13.80 mmol). The resulting mixture was stirred for 2 h at 0 °C. The precipitated *N*-methylimidazolium chloride was removed by filtration. The filtrate was concentrated *in vacuo* to afford product as a brown oil (2.23 g, 60%). The product was engaged in the next step without purification.

IR (ATR, cm^{-1}) 3054, 2972, 2923, 1589, 1505, 1077, 986, 825, 799, 778.

1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 8.17 (d, 2H, $J= 8.3$ Hz); 7.91 (dd, 2H, $J= 7.1, 5.5$ Hz); 7.84 (d, 2H, $J= 7.6$ Hz); 7.49 (td, 4H, $J= 7.9, 7.2$ Hz); 7.41 (td, 2H, $J= 7.2, 1.0$ Hz); 7.32 (td, 2H, $J= 8.3, 1.0$ Hz); 3.80 (q, 2H, $J= 6.9$ Hz); 3.52 (t, 2H, $J= 6.6$ Hz); 1.78 (m, 2H); 1.63 (m, 2H); 1.26 (t, 3H, $J= 6.9$ Hz).

^{13}C RMN ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 137.1, 135.3, 133.6, 133.4, 130.9, 128.9, 128.4, 126.2, 125.7, 125.3, 59.6, 48.0, 27.2, 18.5, 13.2.

HRMS (APCI) $[M]^+$: 404.1355 observed, 404.1363 calculated for $C_{25}H_{25}ClOSi$.



29

Chemical Formula: C₂₅H₂₅N₃OSi
Molecular Weight: 411,5710

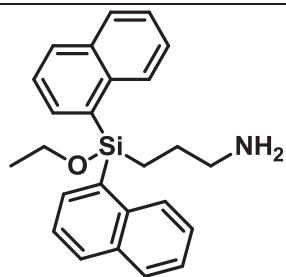
Ethoxy(3-azidopropyl)dinaphth-1-ylsilane. Sodium azide (20 mg; 0.32 mmol) was added to a solution of compound **28** (0.11 g, 0.27 mmol) in DMF (2 mL). The reaction mixture was refluxed overnight with vigorous stirring. Then the reaction was cooled to room temperature and diethyl ether (5 mL) was added. The organic layer was extracted with water (2 x 2 mL) and brine (2 x 2 mL), dried over Na₂SO₄ and solvent removed under reduced pressure to give expected product as colourless oil (90 mg, 84%).

IR (ATR, cm⁻¹) 3053, 2923, 2092, 1506, 1261, 1075, 800, 770.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.17 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz); 7.94 (d, 2H, *J* = 7.1 Hz); 7.91 (d, 2H, *J* = 7 Hz); 7.84 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz); 7.49 (td, 2H, *J* = 8.1, 7.2 Hz); 7.41 (td, 2H, *J* = 7.2, 1.0 Hz); 7.32 (td, 2H, *J* = 8.1, 1.0 Hz); 3.73 (q, 2H, *J* = 5.4 Hz); 3.20 (t, 2H, *J* = 5.4 Hz); 1.50-1.64 (m, 4H); 1.20 (t, 3H, *J* = 5.4 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 137.1, 135.3, 133.6, 133.5, 131.0, 128.9, 128.4, 126.2, 125.7, 125.3, 59.7, 54.3, 23.5, 15.6, 12.9.

HRMS (ESI+) [M+Na]⁺: 434.1679 observed, 434.1665 calculated for C₂₅H₂₅N₃ONaSi.



30

Chemical Formula: C₂₅H₂₇NOSi
Molecular Weight: 385,5735

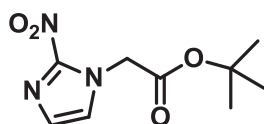
3-(ethoxydi(naphtyl)silyl)propanamine. Compound **29** (90 mg, 0.23 mmol) was dissolved in ethanol and passed through 10% mol Pd/C cartridge using hydrogenation apparatus at room temperature and atmospheric pressure. After evaporation of solvent, amine **30** was obtained as a colorless oil with good yield (60 mg, 73%).

IR (ATR, cm⁻¹) 3053, 2928, 2863, 1501, 1075, 985, 795, 775.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.20 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz); 7.91 (d, 4H, *J* = 7.1 Hz); 7.84 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz); 7.41-7.16 (m, 6H); 3.75 (q, 2H, *J* = 6.9 Hz); 2.64 (t, 2H, *J* = 5.1 Hz); 1.41-1.48 (m, 4H); 1.22 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 137.2, 135.3, 134.0, 133.5, 130.8, 128.9, 128.6, 126.1, 125.6, 125.3, 77.4, 59.6, 45.4, 27.9, 12.8.

HRMS (ESI+) [M+H]⁺: 386.1940 observed, 386.1941 calculated for C₂₅H₂₈NOSi.



31

Chemical Formula: C₉H₁₃N₃O₄
Molecular Weight: 227,2172

Tert-butyl-2-(2-nitroimidazolyl)acetate.⁹² Di-*tert*-butyl-dicarbonate (0.18 g, 0.97 mmol) was added to a solution of 2-nitroimidazole (0.10 g, 0.88 mmol) and potassium carbonate (0.12 g, 0.88 mmol) in acetonitrile (2 mL) and the reaction mixture was refluxed for 3 h. The mixture was filtered and solvent removed under reduced pressure to give product as white solid (0.19 g, 98%).

mp: 80-82 °C

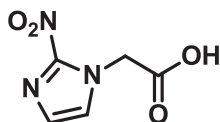
IR (ATR, cm⁻¹) 3133, 2983, 1741, 1491, 1356, 1246, 1145, 830, 775, 750, 650.

Experimental part

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.19 (d, 1H, $J= 1.0$ Hz), 7.06 (d, 1H, $J= 1.0$ Hz), 5.00 (s, 2H), 1.47 (s, 9H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ 165.1, 162.7, 128.5, 126.6, 84.4, 51.8, 28.1.

HRMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 228.0983 observed, 228.0984 calculated for $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4$.



32

Chemical Formula: $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_4$
Molecular Weight: 171,1109

2-(2-nitroimidazolyl)acetic acid.⁹² *Tert*-butyl-(2-nitroimidazole)acetate **31** (0.19 g, 0.95 mmol) was dissolved in a 30% solution of trifluoroacetic acid in dichloromethane and stirred for 1 h at room temperature. Then the solvent was removed under reduced pressure to give compound **27** as a white solid (0.15 g, 90%).

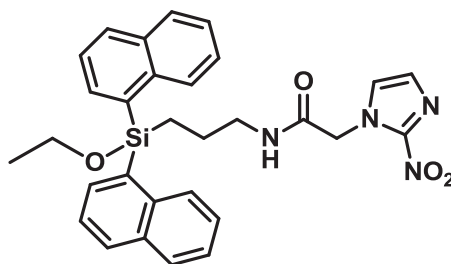
mp: 74-76°C

IR (ATR, cm^{-1}) 3148, 2988, 1746, 1496, 1366, 1145, 840, 775, 705.

$^1\text{H NMR}$ (MeOD, 300 MHz) δ 7.65 (s, 1H); 7.22 (s, 1H); 5.23 (s, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (MeOD, 75 MHz) δ 169.9, 161.0, 129.0, 128.4, 51.8.

HRMS (ESI-) $[\text{M}-\text{H}]^-$: 170.0195 observed, 170.0202 calcd for $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_3\text{O}_4$.



33

Chemical Formula: $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$
Molecular Weight: 538,6691

(3-(ethoxydi(naphthyl)silyl)propyl)-2-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)acetamide. Compound **30** (90 mg, 0.23 mmol) was added to a solution of 2-(2-nitroimidazolyl)acetic acid **32** (70 mg, 0.25 mmol) in dry dichloromethane with EDCI (40 mg, 0.25 mmol) as coupling reagent. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Then, the organic layer was washed with 10% HCl and saturated Na_2CO_3 solution. The organic layer was

Experimental part

dried over Na_2SO_4 and solvent removed under pressure to give a pale yellow solid. The crude product was purified by flash chromatography using ethyl acetate as eluent. The product was purified by preparative RP-HPLC. Compound **33** was obtained as a white solid with moderate yield (80 mg, 63%).

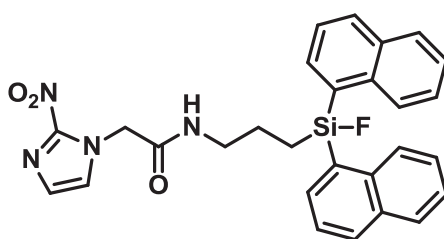
mp: 90-92 °C

IR (ATR, cm^{-1}) 3283, 2927, 1670, 1491, 1367, 1076, 780, 459.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.20 (d, 2H, $J= 8.4$ Hz); 7.94 (d, 2H, $J= 7$ Hz); 7.94-7.83 (m, 4H); 7.50 (m, 6H); 7.13 (d, 1H, $J= 1.0$ Hz); 7.01 (d, 1H, $J= 1.0$ Hz); 5.62 (t, 1H, $J= 5.4$ Hz); 4.75 (s, 2H); 3.73 (q, 2H, $J= 7.0$ Hz); 3.23 (q, 2H, $J= 6.4$ Hz); 1.46-1.60 (m, 4H); 1.20 (t, 3H, $J= 7.0$ Hz).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 164.35, 144.7, 136.9, 136.7, 135.3, 134.7, 133.3, 130.7, 128.8, 128.2, 127.1, 126.1, 125.6, 125.2, 77.2, 59.6, 51.9, 42.4, 23.4, 18.4.

HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{Cl}]^+$: 573.1727 observed, 573.1725 calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_4\text{SiCl}$



34

Chemical Formula: $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{FN}_4\text{O}_3\text{Si}$
Molecular Weight: 512,6070

***N*-(3-(fluorodi(naphthalyl)silyl)propyl)-2-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)acetamide.**

Compound **33** (10 mg, 0.02 mmol) was dissolved in THF (1 mL) and hydrogen fluoride-pyridine complex (10 mg, 0.04 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 20 min at room temperature and solvent removed *in vacuo* to afford compound **34** with quantitative yield (10 mg).

IR (ATR, cm^{-1}) 3295, 2933, 1663, 1491, 1367, 910, 779, 720, 447.

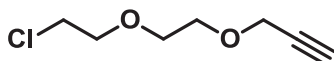
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.07 (d, 2H, $J= 8.1$ Hz), 7.95 (d, 2H, $J= 8.2$ Hz), 7.84 (t, 4H, $J= 8.0$ Hz), 7.54-7.35 (m, 6H), 7.11 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 5.94 (t, 1H, $J= 6.0$ Hz), 4.82 (s, 2H), 3.69 (t, 2H, $J= 6.4$ Hz), 1.71 (m, 2H), 1.52 (m, 2H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 164.8, 136.7, 135.2, 135.1, 133.5, 131.9, 131.8, 129.2, 128.6, 128.0, 127.3, 126.8, 126.1, 125.4, 77.4, 52.3, 42.4, 23.2.

^{19}F NMR (CDCl_3 , 282 MHz) δ -163.2.

HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 513.1752 observed, 513.1758 calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3\text{FSi}$.

3.2. Synthesis of dinaphthyl compound 38



35

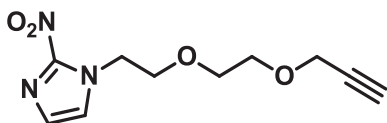
Chemical Formula: $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{ClO}_2$
Molecular Weight: 162,6140

3-(2-(2-chloroethoxy)ethoxy)prop-1-yne. Sodium hydride (0.36 g, 16.06 mmol) was suspended in THF (25 mL) and stirred at $-20\text{ }^\circ\text{C}$. A solution of 2-(2-chloroethoxy)ethanol (0.85 mL, 8.03 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ for 15 min then a solution of propargyl bromide (0.83 mL, 9.64 mmol) in THF (5 mL) was added and reaction mixture was refluxed for 3 h. The solvent was removed *in vacuo*, then the residue was diluted in dichloromethane and washed with water. The crude product was purified on silica gel with a mixture of ethyl acetate/dichloromethane as eluant to give compound **35** (1.25 g, 96%).

IR (ATR, cm^{-1}) 3289, 2862, 1667, 1352, 1296, 1095, 662.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 4.11 (d, 2H, $J= 2.1$ Hz); 3.66 (t, 2H, $J= 6.1$ Hz); 3.56 (s, 4H); 3.53 (t, 2H, $J= 6.1$ Hz); 2.40 (t, 1H, $J= 2.0$ Hz).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 79.4, 74.6, 71.1, 70.2, 68.8, 58.2, 42.6.



36

Chemical Formula: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$
Molecular Weight: 239,2279

2-nitro-1-(2-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)ethoxy)ethyl)-1H-imidazole. Sodium iodide (0.12 g, 0.80 mmol) and potassium carbonate (0.12 g, 0.88 mmol) were added to a solution of 2-nitroimidazole (0.10 g, 0.88 mmol) and compound **35** (0.14 g, 0.88 mmol) in DMF (10 mL). The reaction mixture was stirred overnight at $110\text{ }^\circ\text{C}$ then solvent was removed under

Experimental part

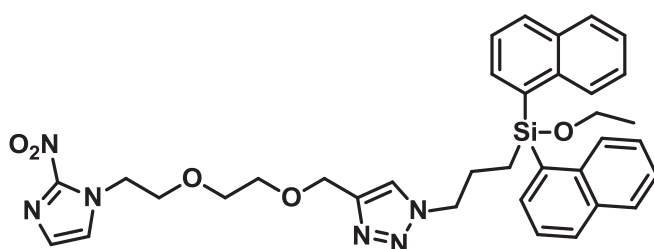
reduced pressure and residue purified on silica gel (EtOAc/DCM : 1/1). Compound **36** was isolated as a colorless oil with good yield (0.13 g, 60%).

IR (ATR, cm^{-1}) 3284, 2923, 2853, 1711, 1541, 1481, 1351, 1095, 830, 645.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.22 (s, 1H); 7.05 (s, 1H); 4.56 (t, 2H, $J= 6.3$ Hz); 4.07 (d, 2H, $J= 2.1$ Hz); 3.79 (t, 2H, $J= 5.4$ Hz); 3.56 (s, 4H); 2.39 (t, 1H, $J= 2.0$ Hz).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 144.8, 128.0, 127.3, 79.3, 74.7, 70.3, 69.3, 68.9, 58.3, 49.8.

HRMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 240.0985 observed, 240.0984 calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4$.



Chemical Formula: $\text{C}_{35}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_5\text{Si}$
Molecular Weight: 650,7989

37

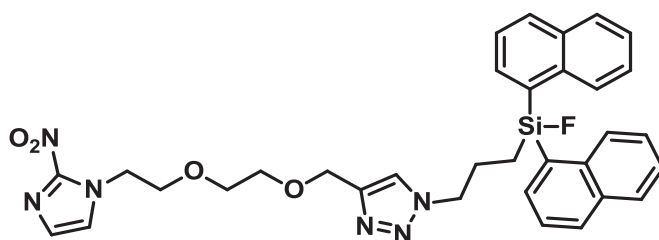
1-(3-(ethoxydi(naphtalen-1-yl)silyl)propyl)-4-((2-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)ethoxy)methyl-1H-1,2,3-triazole). $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (20 mg, 0.07 mmol) and Sodium ascorbate (10 mg, 0.07 mmol) were added to a solution of compound **36** (0.10 g, 0.42 mmol) and azide **39** (0.14 g, 0.35 mmol) in dioxane (20 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature overnight and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (AcOEt/DCM/MeOH : 1/1/0.05). Compound **37** was isolated as a colorless oil with moderate yield (0.12 g, 44%).

IR (ATR, cm^{-1}) 3046, 2883, 1721, 1536, 1481, 1361, 1080, 805, 775.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.09 (d, 2H, $J= 8.1$ Hz); 7.88-7.78 (m, 6H); 7.47 (m, 6H); 7.26 (s, 1H); 7.16 (d, 1H; $J= 1.0$ Hz); 7.04 (d, 1H, $J= 1.0$ Hz); 4.54 (s, 4H); 4.25 (t, 2H, $J= 7.0$ Hz); 3.78-3.71 (m, 4H); 3.54 (s, 4H); 1.94 (m, 2H); 1.43 (m, 2H); 1.18 (t, 3H, $J= 7.0$ Hz).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 144.6, 137.0, 135.3, 134.6, 133.4, 133.2, 131.0, 130.4, 128.9, 128.2, 128.1, 127.3, 126.2, 125.7, 125.3, 70.6, 69.5, 69.4, 64.5, 59.6, 52.7, 49.8, 24.8, 18.4, 12.4.

HRMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 651.2772 observed, 651.2751 calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{O}_5\text{Si}$.



38

Chemical Formula: C₃₃H₃₃FN₆O₄Si

Molecular Weight: 624,7368

1-(3-(fluorodi(naphthalen-1-yl)silyl)propyl)-4-((2-(2-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)ethoxy)ethoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazole. Compound **37** (10 mg, 0.02 mmol) was dissolved in THF (1 mL) and hydrogen fluoride-pyridine complex (10 mg, 0.04 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 20 min at room temperature and solvent removed *in vacuo* to afford compound **38** with quantitative yield (10 mg).

IR (ATR, cm⁻¹) 2916, 1717, 1468, 1361, 1088, 773, 732, 435.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.04 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz), 7.97 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz), 7.87-7.75 (m, 4H), 7.56-7.35 (m, 7H), 7.17 (d, 1H, *J* = 1.0 Hz), 7.06 (d, 1H, *J* = 1.0 Hz), 4.56 (s, 2H), 4.47 (t, 2H, *J* = 4.5 Hz), 4.36 (t, 2H, *J* = 8.2 Hz), 3.78 (t, 2H, *J* = 4.8 Hz), 3.57 (m, 4H), 2.16-2.08 (m, 2H); 1.59-1.45 (m, 2H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 144.8, 136.7, 135.2, 135.1, 134.7, 133.52, 131.9, 129.2, 128.2, 127.9, 127.3, 126.8, 126.1, 125.3, 122.7, 70.7, 69.7, 69.5, 64.6, 52.3, 49.9, 29.8, 24.3.

¹⁹F NMR (CDCl₃, 282 MHz) δ -163.21.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 625.2393 observed, 625.2395 calcd for C₃₃H₃₄N₆O₄SiF.

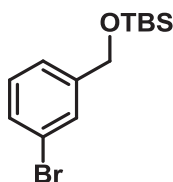
3.3. Radiolabelling of compounds **33** and **37**

[¹⁸F]-Fluoride (11.1-18.5 GBq) was azeotropically dried in the presence of Kryptofix 2.2.2 (15 mg), potassium carbonate (3.5 mg) in CH₃CN / H₂O (1-2 mL, 3:1) by heating under helium at 110 °C for 15-30 min. During this time CH₃CN (2-3 x 1 mL) were added and evaporated to give the dry [K 2.2.2.]⁺/[¹⁸F]F⁻ complex. After drying, a solution of the precursor in DMSO or ACN (300 μL) with AcOH (5 μL) was added. The reaction mixture was stirred at 100 °C for 15 min to effect labeling. The crude reaction mixture was

Experimental part

analyzed by analytical HPLC (column: Nucleosil 100-5 C18, 150 x 4.6 mm, 5 μ m). The peak of the [^{18}F] labeled product was confirmed by comparison with the HPLC retention time of its non-radioactive reference molecule. Semi-preparative HPLC purifications were carried out using a semi-preparative Hypersilgold C18 column (250 x 10 mm, 5 μ m) and the indicated conditions. The fraction containing the product was collected, diluted in water and passed through a solid phase column (C18-SepPak[®], Merck). The trapped [^{18}F]trioorganofluorosilane was eluted with ethanol (1 mL) and diluted with physiological saline solution (0.9%) to give an injectable solution for animal experiments.

3.4. Synthesis of SiFA compounds 44a and 44b



Chemical Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{BrOSi}$

Molecular Weight: 301,2947

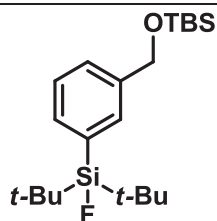
((3-bromobenzyl)oxy)(*tert*-butyl)dimethylsilane.⁹⁹ Imidazole (1.7 g, 25 mmol) and *tert*-butyldimethylsilyl chloride (TBSCl) (1.88 g, 12.5 mmol) were sequentially added to a solution of 3-bromobenzyl alcohol (1.85 g, 10 mmol) in DMF (5 mL) at 25 °C, and the mixture was stirred at room temperature overnight. The reaction was quenched by addition of H_2O (10 mL), and the mixture was extracted with Et_2O (3×10 mL). The combined organic phase was washed with H_2O (5 mL), dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (Petroleum Ether) to afford the expected as a colorless liquid (2.13 g, 71%).

Analytical data were in accordance with reported literature.⁹⁹

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.48 (s, 1H) 7.37 (d, 1H, $J= 8.1$ Hz); 7.24 (d, 1H, $J= 8.3$ Hz); 7.19 (t, 1H, $J= 8.1$ Hz); 4.71 (s, 2H); 0.95 (s, 9H); 0.11 (s, 6H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 143.8, 129.9, 129.8, 129.0, 124.4, 122.4, 64.2, 25.9, 18.4, -5.3.

MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 302.29



39a

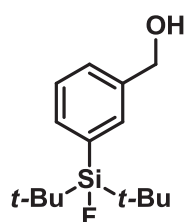
Chemical Formula: C₂₁H₃₉FOSi₂

Molecular Weight: 382,7032

di-tert-butyl(3-(((tert-butyl)dimethylsilyloxy)methyl)phenyl)fluorosilane.⁹⁸ A solution of *tert*-butyl lithium in pentanes (1.7 M, 1.13 mL) was added dropwise to a solution of ((3-bromobenzyl)oxy)(*tert*-butyl)dimethylsilane (0.26 g, 0.86 mmol) in anhydrous THF (2 mL) over a period of 15 min at -78 °C. After the solution had been stirred at the same temperature for additional 15 min, a solution of di-*tert*-butyldifluorosilane (0.33 g, 1.81 mmol) in anhydrous THF was added dropwise over a period of 15 min at -78 °C. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature overnight. The reaction was quenched by addition of saturated aqueous sodium chloride solution, and the product was extracted with Et₂O (3 x 5 mL). The combined organic phase was dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo* to afford **39a** as a pale-yellow liquid (0.28 g, 88%) that was carried forward without further purification.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.57 (s, 1H) 7.48 (d, 1H, J = 6.1 Hz); 7.38-7.31 (m, 2H); 4.77 (s, 2H); 1.06 (s, 18H); 0.94 (s, 9H); 0.09 (s, 6H).

HRMS (EI) [M^+ - tBu]: 325.1825 observed, 325.1819 calcd for C₁₇H₃₀OSi₂F.



40a

Chemical Formula: C₁₅H₂₅FOSi

Molecular Weight: 268,4423

(3-(di-tert-butylfluorosilyl)phenyl)methanol.⁹⁸ A concentrated aqueous hydrochloric acid solution (37 wt%, 30 μ L) was added dropwise to a solution of crude **39a** (0.28 g, 0.73 mmol) in MeOH (2.5 mL) at 25 °C, and the mixture was stirred at room temperature

Experimental part

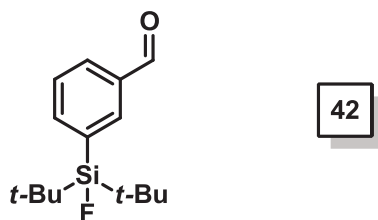
overnight. After all volatiles have been removed under reduced pressure, the residue was redissolved in ether (2 mL), and the solution washed with saturated aqueous sodium bicarbonate solution (2 mL). The aqueous phase was extracted with ether (3 × 3 mL), and the combined organic phase was washed with H₂O (3 mL), dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (9:1 to 7:1 hexanes/EtOAc) to afford **40a** as a white solid (0.13 g, 65%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.58 (s, 1H) 7.53 (d, 1H, *J* = 7.0 Hz); 7.44 (d, 1H, *J* = 7.0 Hz); 7.38 (t, 1H, *J* = 7.1 Hz); 4.71 (s, 2H); 1.86 (br s, 1H); 1.06 (d, 18H, *J* = 1.1 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 139.9, 134.0 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 53.0 Hz), 133.3 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 17.0 Hz), 132.5 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 17.0 Hz), 128.3, 127.8 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 5.2 Hz), 65.5, 27.3 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 3.2 Hz), 20.2 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 50.3 Hz).

¹⁹F NMR (CDCl₃, 282 MHz) δ -188.84.

HRMS (ESI+) [M+Na]⁺: 291.1545 observed, 291.1551 calculated for C₁₅H₂₅FOSiNa.



Chemical Formula: C₁₅H₂₃FOSi
Molecular Weight: 266,4264

3-(di-tert-butylfluorosilyl)benzaldehyde.⁹⁸ A solution of **40a** (80 mg, 0.28 mmol) in anhydrous CH₂Cl₂ (50 mL) was added dropwise to a solution of pyridinium chlorochromate (PCC) (0.15 g, 0.70 mmol) in anhydrous CH₂Cl₂ (7 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 30 min and then allowed to warm to room temperature for 2.5 h, diluted with ether (6 mL), and filtered. The precipitate was washed with anhydrous Et₂O, and the combined organic phase was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (19:1 hexanes/ EtOAc) to afford **42** as a yellow oil (70 mg, 98%).

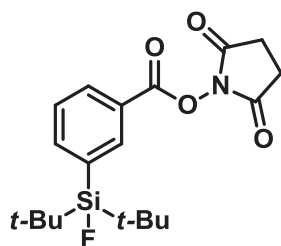
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 10.05 (s, 1H) 8.33 (s, 1H), 8.11 (s, 1H); 7.93 (dt, 1 H, *J* = 7.2, 1.0 Hz); 7.87 (dt, 1H, *J* = 7.0, 1.1 Hz); 1.07 (d, 18H, *J* = 1.1 Hz);

Experimental part

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 192.6, 139.8 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=17.0$ Hz), 135.5 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=18.0$ Hz), 130.5, 128.3 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=4.0$ Hz), 27.2 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=3.0$ Hz), 20.2 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=48.1$ Hz).

^{19}F NMR (CDCl_3 , 282 MHz) δ -188.43.

HRMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 267.1571 observed, 267.1575 calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{FO}_4\text{Si}$.



Chemical Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{FNO}_4\text{Si}$
Molecular Weight: 379,4979

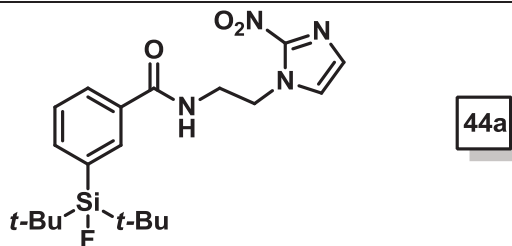
***N*-Succinimidyl 3-(di-*tert*-butylfluorosilyl)benzoate.**⁹⁸ *N*-Hydroxysuccinimide (0.16 g, 1.40 mmol) and **42** (0.74 g, 0.28 mmol) were mixed in ethyl acetate (4 mL) in a 5 mL vial, and the mixture was cooled to 0 °C. Iodobenzene diacetate ($\text{PhI}(\text{OAc})_2$) (0.11 g, 0.35 mmol) was added in one portion, and the reaction mixture was stirred for 15 min at 0 °C and then allowed to warm to room temperature for 1 h. After dilution with hexane (4 mL), the crude product was purified by column chromatography (hexane/ether 1:1). The *N*-succinimidyl ester **43** was obtained as an oil (80 mg, 76%) that solidified upon standing.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.37 (s, 1H) 8.19 (d, 1H) 7.90 (d, 1H) 7.52 (t, 1H) 2.90 (s, 4H); 1.03 (s, 18H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 169.4, 162.1, 140.4 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=3.8$ Hz), 135.9 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=4.5$ Hz), 135.4 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=13.5$ Hz), 131.6, 128.2, 124.6, 27.2, 25.7, 20.3 (d, $J(^{13}\text{C}-^{19}\text{F})=12.0$ Hz).

^{19}F NMR (CDCl_3 , 282 MHz) δ -188.42.

HRMS (ESI+) $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 402.1510 observed, 402.1507 calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{FNO}_4\text{SiNa}$.

Chemical Formula: C₂₀H₂₉FN₄O₃Si

Molecular Weight: 420,5532

3-(di-tert-butylfluorosilyl)-N-(2-(2-nitroimidazolyl)ethyl)benzamide. Compound **43** (50 mg, 0.19 mmol) and amine **3** TFA salt (50 mg, 0.19 mmol) were dissolved in dry dichloromethane (2 mL). The reaction mixture was cooled to 0 °C and triethylamine (40 mg, 0.40 mmol) was added. After 24 h stirring at room temperature, the crude reaction mixture was washed with sat. Na₂CO₃. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 x 2mL). The organic layers were combined and extracted with water (2mL) and brine (2mL). After drying under Na₂SO₄, the solvent was removed under reduced pressure and the crude product purified on silica gel (AcOEt/PE : 8/2). Compound **44a** was obtained as a white solid (48 mg, 60%).

mp: 82-84 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 2933, 2859, 1645, 1536, 1490, 1365, 1160, 830, 702.

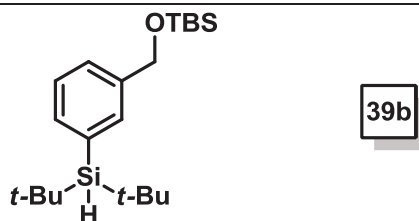
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.97 (s, 1H), 7.80 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz), 7.73 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz), 7.44 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz), 7.17 (t, 1H, *J* = 5.1 Hz), 7.07 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 4.73 (t, 2H, *J* = 5.4 Hz), 3.90 (q, 2H, *J* = 5.4 Hz), 1.03 (s, 18H).

¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 168.7, 144.6, 137.4 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 4.5 Hz), 134.7 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 13.5 Hz), 132.7, 132.3, 128.3 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 6.0 Hz), 128.0, 127.2, 126.5, 49.1, 40.2, 27.2, 20.1 (d, *J*(¹³C-¹⁹F) = 12.0 Hz).

¹⁹F NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ -188.48.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 421.2057 observed, 421.2071 calculated for C₂₀H₃₀N₄O₃FSi.

Experimental part

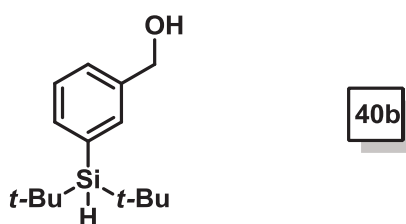


Chemical Formula: C₂₁H₄₀OSi₂

Molecular Weight: 364,7127

***tert*-butyl((3-(di-*tert*-butylsilyl)benzyl)oxy)dimethylsilane.** Compound **39b** was synthesized from ((3-bromobenzyl)oxy)(*tert*-butyl)dimethylsilane (0.20 g, 0.67 mmol) following same method as described for compound **39a** (0.23 g, 96%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.53 (s, 1H), 7.43 (d, 1H, *J* = 5.2 Hz), 7.30 (m, 2H), 4.77 (s, 2H), 3.85 (s, 1H), 1.04 (s, 18H), 0.93 (s, 9H), 0.09 (s, 6H).



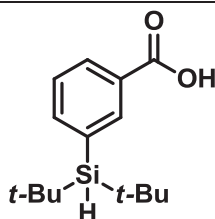
Chemical Formula: C₁₅H₂₆OSi

Molecular Weight: 250,4518

(3-(di-*tert*-butylsilyl)phenyl)methanol. Compound **40b** was synthesized from **39b** (0.23 g, 0.64 mmol) following same method as described for compound **40a** (0.12 g, 75%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.54 (s, 1H), 7.51 (d, 1H, *J* = 5.2 Hz); 7.47 (d; 1H; *J* = 5.2 Hz); 7.36 (t, 1H; *J* = 5.0 Hz); 4.70 (s, 2H); 3.86 (s, 1H); 1.04 (s, 18H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 139.9; 136.1; 135.2; 134.6; 127.9; 127.8; 65.8; 29.1; 19.1.



41

Chemical Formula: C₁₅H₂₄O₂Si

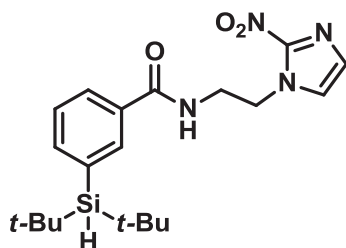
Molecular Weight: 264,4354

3-(di-tert-butylsilyl)benzoic acid. Compound **40b** (0.12 g, 0.48 mmol) was solubilised in acetone (2.5 mL) and cooled to 0 °C. Jones Reagent (8M, 0.26 mL; 2 mmol) was added dropwise. The reaction was stirred for 30 min at 0 °C. Then reaction was quenched with water (5 mL) and extracted with ethyl acetate (3 x 5mL). The organic layers were combined, extracted with water, brine, dried over Na₂SO₄ and solvent removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Petroleum ether/EtOAc/AcOH : 90/9/1). Compound **41** was obtained pure as a pale yellow solid with good yield (90 mg, 71%).

mp: 138-140 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.33 (s, 1H) 8.11 (dt, 1H, *J*= 7.3, 1.2 Hz); 7.81 (dt, 1H; *J*= 7.3, 1.2 Hz); 7.45 (t, 1H; *J*= 7.5 Hz); 3.93 (s, 1H); 1.06 (s, 18H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.8, 141.0, 133.4, 136.4, 130.7, 128.2, 127.7, 29.0, 19.1.



44b

Chemical Formula: C₂₀H₃₀N₄O₃Si

Molecular Weight: 402,5627

3-(di-tert-butylsilyl)-N-(2-(2-nitroimidazolyl)ethyl)benzamide. Compound **41** (50 mg, 0.19 mmol) and amine **3** TFA salt (50 mg, 0.19 mmol) were dissolved in dry dichloromethane (2 mL). The reaction mixture was cooled to 0 °C, DIEA (0.12 g, 0.95 mmol) was added then propane phosphonic acid anhydride (0.14 g, 0.23 mmol). After 24 h stirring at room temperature, the crude reaction mixture was washed with sat. Na₂CO₃. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 x 2 mL). The organic layers were

Experimental part

combined and extracted with water (2 mL) and brine (2 mL). After drying under Na_2SO_4 solvent was removed and crude product purified on silica gel (AcOEt/PE : 8/2). The product was purified by preparative Reversed Phase-HPLC. Compound **44b** was obtained as a white solid (40 mg, 55%).

mp: 128-130 °C

IR (ATR, cm^{-1}) 2933, 2859, 1654, 1486, 1356, 1287, 1160, 796.

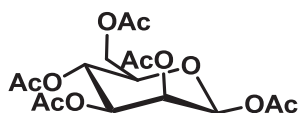
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.94 (s, 1H), 7.73 (m, 2H) 7.39 (t, 1H, $J= 7.0$ Hz); 7.14 (t, 1H, $J= 5.4$ Hz); 7.06 (s, 1H); 6.91 (s, 1H); 4.73 (t, 2H, $J= 5.4$ Hz); 3.91 (q, 2H, $J= 5.3$ Hz); 3.88 (s, 1H); 1.02 (s, 18H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 169.2, 144.6, 139.2, 136.8, 134.5, 132.7, 128.3, 127.9, 127.7, 127.5, 49.3, 40.4, 29.0, 19.1.

HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 403.2166 observed, 403.2165 calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_3\text{Si}$.

4 Synthesis of new sulfonate leaving groups.

4.1. Preparation of β -D-mannose tetraacetate



47

Chemical Formula: $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$
Molecular Weight: 390,3393

Penta-O-acetyl-D-mannopyranose.¹²⁴ D-Mannose (10.1 g, 55.80 mmol) was added portionwise to a solution of iodine (0.13 g, 0.50 mmol) in Ac_2O (50 mL) with vigorous stirring at 18 °C. The added sugar was allowed to dissolve after each addition. After completion of the addition, the resulting mixture was allowed to cool to room temperature with stirring over a period of 2h. The reaction mixture was then poured into a 1:1 mixture of crushed ice and saturated aqueous $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (100 mL) with vigorous stirring using a mechanical stirrer, which resulted in the immediate decolorization of the reaction mixture to light yellow. Subsequently, NaHCO_3 was added portionwise until the evolution of CO_2 ceased and an oily foam started to float. After partial removal of the aqueous layer by decantation, the oily foam was dissolved in CH_2Cl_2 (50 mL) and washed with pre-cooled

Experimental part

saturated aqueous NaHCO₃ solution (50 mL) and water (3 × 50 mL). The CH₂Cl₂ layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated on a rotary evaporator to yield the pentaacetate **47** (20.0 g, 92%) as a thick yellow oil.

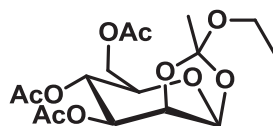
IR (ATR, cm⁻¹) 3452, 2963, 1739, 1368, 1211, 1044, 735, 597.

[α]_{Na}²⁰ = +20.1 (c = 0.9, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5.99 (d, 1H, *J* = 1.9 Hz), 5.25 (m, 1H), 5.17 (t, 1H, *J* = 2.1 Hz), 4.19 (dd, 1H, *J* = 12.4, 4.8 Hz), 4.00 (dd, 2H, *J* = 12.3, 2.5 Hz), 3.96 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.91 (s, 3H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.4, 169.8, 169.5, 169.3, 167.9, 90.4, 70.4, 68.6, 68.1, 65.3, 61.9, 53.5, 20.6, 20.6, 20.5, 20.4.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 391.1232 observed, 391.1240 calculated for C₁₆H₂₃O₁₁.



49

Chemical Formula: C₁₆H₂₄O₁₀

Molecular Weight: 376,3558

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-1,2-*O*-(1-ethoxyethylidene)-β-D-mannopyranose.¹²⁴ Penta-*O*-acetyl-D-mannopyranose **47** (19.5 g, 0.05 mol) was dissolved in glacial AcOH (25 mL) containing Ac₂O (2 mL) with vigorous stirring using a mechanical stirrer. This solution was cooled to 0 °C under a nitrogen atmosphere, and precooled 30% HBr in AcOH (22 mL, 0.125 mol) was added dropwise for 45 minutes with vigorous stirring. The mixture was then stirred at room temperature overnight and diluted with CHCl₃ (50 mL). The organic layer was washed successively with pre-cooled saturated aqueous NaHCO₃ (3 × 40 mL) and water (40 mL). The CHCl₃-layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated on a rotary evaporator to yield crude tetra-*O*-acetyl-α-D-mannopyranosyl bromide **48** as a yellow oil (17.7 g, 86%). The product was unstable at room temperature and was directly engaged in next step.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 6.26 (s, 1H), 5.67 (dd, 1H, *J* = 10.1, 3.1 Hz), 5.40 (m, 1H), 5.33 (t, 1H, *J* = 10.1 Hz), 4.29 (dd, 1H, *J* = 12.4, 4.7 Hz), 4.18 (dd, 1H, *J* = 10.2, 5.0 Hz), 4.10 (d, 1H, *J* = 12.4 Hz), 2.14 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.97 (s, 3H).

Experimental part

The oily residue was dissolved in anhydrous MeCN (8 mL) containing 2,4,6-collidine (11 mL, 0.08 mol). To this solution was added anhydrous EtOH (12 mL, 0.21 mol) in one portion with vigorous stirring. The stirring was continued at room temperature overnight, during which time a white solid gradually formed on the wall of the reaction flask. The heterogeneous mixture was diluted with CHCl₃ (60 mL) and washed with water (3×25 mL) to gradually dissolve the solid. The combined water layers were re-extracted with CHCl₃ (30 mL). The combined clear yellow organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The semi-solid residue was triturated with hexanes (~30 mL) to yield the orthoester **49** (7.9 g, 48%) as a white powder.

mp: 101-103 °C (Litt; 101-103 °C)¹²⁴

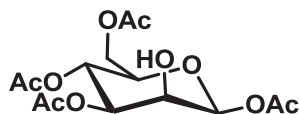
$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -9.1$ (c= 1.1, CHCl₃)

IR (ATR, cm⁻¹) 2964, 1737, 1370, 1196, 1138, 1116, 1052, 982, 896.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5.47 (d, 1H, *J*= 2.5 Hz), 5.30 (t, 1H, *J*= 9.7 Hz), 5.14 (dd, 1H, *J*= 9.9, 4.0 Hz), 4.60 (dd, 1H, *J*= 4.0, 2.6 Hz), 4.23 (dd, 1H, *J*= 12.2, 4.9 Hz), 4.14 (dd, 1H, *J*= 12.1, 2.7 Hz), 3.67 (ddd, 1H, *J*= 9.5, 4.9, 2.7 Hz), 3.63-3.48 (m, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.75 (s, 3H), 1.18 (t, 3H, *J*= 7.1 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.8, 170.5, 169.6, 124.3, 97.4, 76.5, 71.3, 70.7, 65.6, 62.4, 58.2, 24.8, 20.9, 20.8, 20.8, 15.1.

HRMS (ESI) [M+NH₄]⁺: 394.1703 observed, 394.1713 calculated for C₁₆H₂₈NO₁₀.



50

Chemical Formula: C₁₄H₂₀O₁₀

Molecular Weight: 348,3026

1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-mannopyranose.¹²⁴ Product **49** (4 g, 10.6 mmol) was dissolved in anhydrous acetone (10 mL). The reaction flask was placed into water bath (16°C) and 2.5 ml of 1.0 M HCl was added in one portion to the mixture with vigorous stirring. The reaction mixture stirred 5 min. and then was removed from water bath. The reaction mixture continued to stir at room temperature 1.5 h. The reaction mixture was

Experimental part

filtered and rotated at 20 °C. The resulting white solid was dissolved in 1 ml of CH₂Cl₂ and mixture washed with water (3×5 ml). The water layer was re-extracted with CH₂Cl₂ (2×5 ml). The organic layers were combined and dried with Na₂SO₄, filtrated and CH₂Cl₂ evaporated at 36 °C, yielding products as yellow oil. The yellow product triturated with 20 ml of diethyl ether and light yellow residue started to form. The residue was filtered and washed with cold diethyl ether yielding 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-mannopyranose **50** (0.80 g, 22%). The filtrate was concentrated on a rotary evaporator at 36 °C to give colorless oily residue. This oily residue identified as **2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-mannopyranose 51** that can be subjected to the iodine promoted acetylation yielding the pentaacetate β-D-mannopyranose and recycled back into the synthesis of the orthoester.

mp: 164-166 °C (Litt: 164-166 °C)¹²⁴

$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -23.0$ (c= 1.0, CHCl₃) (Litt: -23.1)¹⁷⁶

IR (ATR, cm⁻¹) 3464, 1732, 1370, 1219, 1180, 1037, 798, 561.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5.79 (d, 1H, *J*= 1.0 Hz), 5.40 (t, 1H, *J*= 9.9 Hz), 5.04 (dd, 1H, *J*= 9.8, 2.9 Hz), 4.31 (dd, 1H, *J*= 12.5, 4.8 Hz), 4.20 (m, 1H), 4.12 (dd, 1H, *J*= 12.4, 2.3 Hz), 3.78 (ddd, 1H, *J*= 9.8, 4.8, 2.3 Hz), 2.24 (d, 1H, *J*= 3.7 Hz), 2.18 (s, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.05 (s, 3H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.9, 170.3, 169.7, 168.7, 91.7, 73.1, 72.9, 68.5, 65.2, 62.0, 21.0, 20.9, 20.9, 20.8.

HRMS (ESI) [M+NH₄]⁺: 366.1386 observed, 366.1400 calculated for C₁₄H₂₄NO₁₀.

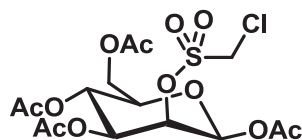
Compound 51:

mp: 124-126 °C

$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -13.6$ (c= 1.0, CHCl₃) (Litt: -13.6)¹⁷⁶

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5.41 (dd, 1H, *J*= 10.2, 3.3 Hz), 5.28 (t, 1H, *J*= 9.6 Hz), 5.23 (m, 2H), 4.21 (m, 2H), 4.13 (d, 1H, *J*= 13.5 Hz), 3.87 (d, 1H, *J*= 4.2 Hz), 2.14 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.98 (s, 3H).

4.2. Synthesis of chloroalkylsulfonyl chloride derivatives



52

Chemical Formula: C₁₅H₂₁ClO₁₂S
Molecular Weight: 460,8380

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-*O*-(chloromethanesulfonyl)- β -D-mannopyranose. β -D-Mannose tetraacetate **50** (0.10 g, 0.29 mmol) was dissolved in dry CH₂Cl₂ (1 mL) and the reaction mixture was cooled to 0 °C. 1-Chloromethanesulfonyl chloride (52 μ L, 0.57 mmol) was added then 2,4,6 collidine (0.12 mL, 0.87 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred for 1h at 0 °C, then was diluted in CH₂Cl₂ (5 mL) and extracted with 0.1N HCl (1 mL) and brine (1mL). The organic layer was dried over Na₂SO₄, and solvent was removed under reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography with petroleum ether/ ethyl acetate (1/1) as eluant. Compound **52** was obtained as a white solid. (0.13 mg, 95%)

mp: 122-124 °C

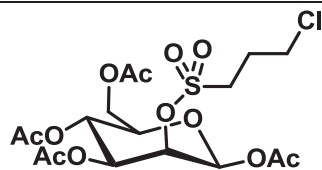
$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -17.8$ (c= 1.1, CHCl₃)

IR (ATR, cm⁻¹) 3374, 2969, 1748, 1368, 1207, 1177, 1047, 922, 551, 507.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5.89 (s, 1H), 5.32 (t, 1H, $J = 9.9$ Hz), 5.14 (s, 1H), 5.13 (dd, 1H, $J = 8.1, 3.0$ Hz), 4.75 (s, 2H), 4.27 (dd, 1H, $J = 12.5, 5.2$ Hz) and 4.15 (dd, 1H, $J = 12.5, 2.3$ Hz), 3.81 (ddd, 1H, $J = 9.9, 5.2, 2.3$ Hz), 2.19 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.07 (s, 3H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.8, 170.1, 169.4, 168.2, 89.9, 77.7, 73.7, 70.3, 64.8, 61.9, 54.7, 21.2, 20.9, 20.8, 20.8.

HRMS (ESI) [M+NH₄]⁺: 478.0769 observed, 478.0786 calculated for C₁₅H₂₅NO₁₂SCl.



53

Chemical Formula: C₁₇H₂₅ClO₁₂S
Molecular Weight: 488,8912

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-*O*-(3-chloropropanesulfonyl)-β-*D*-mannopyranose.

Following procedure described for the synthesis of compound **52**, compound **53** was isolated as white solid (0.11 g, 71%).

mp: 70-72 °C

$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -19.2$ (c= 0.7, CHCl₃)

IR (ATR, cm⁻¹) 2940, 1742, 1366, 1211, 1170, 1050, 930, 728, 648.

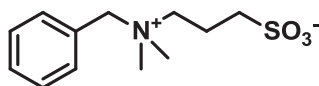
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5.86 (s, 1H), 5.33-5.22 (t, 1H, *J*= 9.9 Hz), 5.11 (s, 1H), 5.09 (dd, 1H, *J*= 11.4, 3.1 Hz), 4.24 (dd, 1H, *J*= 12.5, 5.2 Hz), 4.12 (dd, 1H, *J*= 12.5, 2.3 Hz), 3.80 (ddd, 1H, *J*= 9.9, 5.2, 2.4 Hz), 3.71 (t, 2H, *J*= 6.1 Hz), 3.43 (t, 2H, *J*= 7.5 Hz), 2.40 (m, 2H), 2.15 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.04 (s, 3H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.8, 170.2, 169.5, 168.2, 90.1, 76.2, 75.1, 73.5, 70.4, 64.9, 61.9, 49.2, 42.6, 26.7, 20.8, 20.8, 20.7.

HRMS (ESI) [M+NH₄]⁺: 506.1081 observed, 506.1099 calculated for C₁₇H₂₉NO₁₂SCl.

4.3. Synthesis of ammonioalkylsulfonyle chlorides and aminoalkylsulfonyle chlorides

4.3.1. Synthesis of sulfobetaines



54

Chemical Formula: C₁₂H₁₉NO₃S
Molecular Weight: 257,3492

3-(benzyltrimethylammonio)propane-1-sulfonate¹³² Under a nitrogen atmosphere *N,N*-dimethylbenzylamine (3 mL, 19.76 mmol) was dissolved in 4 ml of acetonitrile and 1,3-propanesultone (0.9 mL, 9.88 mmol) was added. The reaction mixture was heated to 50 °C

Experimental part

overnight, then the solvent was removed. The products was filtered and washed with acetonitrile to give compound **54** (2.54 g, 99%) as a white solid.

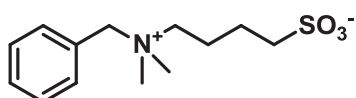
mp: 252-254 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 3518, 3021, 1662, 1479, 1202, 1172, 1041, 628, 595, 525.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 7.55 (m, 5H), 4.51 (s, 2H), 3.43 (m, 2H), 2.94 (s, 6H), 2.50 (m, 2H), 2.12 (m, 2H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 133.1, 130.2, 128.9, 128.2, 66.1, 63.0, 49.1, 47.8, 19.1.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 258.1164 observed, 258.1164 calculated for C₁₃H₂₂NO₃.



55

Chemical Formula: C₁₃H₂₁NO₃S

Molecular Weight: 271,3757

4-(benzyltrimethylammonio)butane-1-sulfonate¹³² Following previous procedure for the synthesis of compound **54** and using 1,4-butanediol (1.3 g, 13.28 mmol), sulfobetaine **55** was obtained as a white solid (2.1 g, 66%).

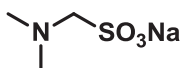
mp: 286-288 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 3026, 2973, 1484, 1178, 1035, 735, 709, 602, 537.

¹H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 7.67-7.45 (m, 5H), 4.55 (s, 2H), 3.403 (m, 2H), 3.03 (s, 6H), 2.92 (t, 2H, *J* = 7.3 Hz), 2.07 (m, 2H), 1.86 (m, 2H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 132.9, 130.2, 128.9, 128.0, 66.5, 63.3, 50.2, 49.1, 22.1, 20.9.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 272.1310 observed, 272.1320 calculated for C₁₃H₂₂NO₃.



56

Chemical Formula: C₃H₈NNaO₃S

Molecular Weight: 161,1553

Sodium *N,N*-dimethylaminomethanesulfonate.¹³³ Dimethylamine (40% aqueous) (0.84 mL, 7.46 mmol) was added to a solution of sodium hydroxymethanesulfonate (0.20 g, 1.50 mmol) in H₂O (5 mL), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 3 h.

Experimental part

Water was removed under reduced pressure to give sodium *N,N*-dimethylmethanesulfonate **56** (0.23 g, 96%) as a white solid.

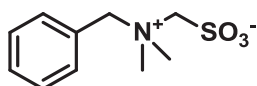
mp: >260 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 2833, 2780, 1460, 1194, 1135, 1059, 1027, 970, 612, 523.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 3.55 (s, 2H), 2.30 (s, 6H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 73.8, 44.2.

MS (ESI-) [M]⁻: 137.93



57

Chemical Formula: C₁₀H₁₅NO₃S
Molecular Weight: 229,2960

***N*-Benzyl-*N,N*-dimethylammoniomethanesulfonate.**¹³² Under a nitrogen atmosphere benzyl chloride (0.45 mL, 3.82 mmol) was dissolved in 5 ml of ethanol and cooled to 0 °C. *N,N*-dimethylaminomethanesulfonate **56** (0.56 g, 3.48 mol) in 5 ml ethanol/water (1:1) was slowly added over a period of 15 min. The reaction mixture is heated to 45 °C for 24 h, then the solvent was removed. The product was washed with acetonitrile to give **57** as a white solid (0.72 g, 91%).

mp: >260 °C

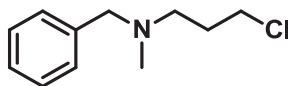
IR (ATR, cm⁻¹) 3007, 1458, 1217, 1045, 994, 756, 734, 634, 608, 522.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 7.56 (m, 5H), 4.75 (s, 2H), 4.08 (s, 2H), 3.15 (s, 6H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 133.2, 130.4, 128.9, 128.0, 72.6, 67.1, 50.1.

MS (ESI+) [M+Na]⁺: 252.15

4.3.2. Synthesis of disulfide **61**



58

Chemical Formula: C₁₁H₁₆ClN
Molecular Weight: 197,7044

3-(*N*-benzyl-*N*-methylamino)propyl chloride.¹³⁸ A solution containing *N*-methyl-1-phenylmethanamine (4.00 g, 33.00 mmol), 1-bromo-3-chloropropane (3.57 ml, 36.30 mmol) and Et₃N (6.00 ml, 42.80 mmol) in dioxane (8 mL) was heated to 80 °C for 4 hours.

Experimental part

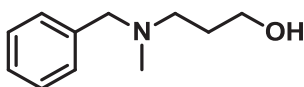
Then the reaction mixture was cooled, concentrated, diluted with Et₂O (100 mL) and washed with 50 mL of NaHCO₃ solution then with brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified on silica gel with 6:1 to 0:1 Petroleum ether: Et₂O to provide the free base of the product **58** as a pale yellow liquid (5.55 g, 85%).

IR (ATR, cm⁻¹) 2790, 1452, 1025, 733, 697,652.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.32-7.13 (m, 5H), 3.56 (t, 2H, *J*= 6.7 Hz), 3.45 (s, 2H), 2.47 (t, 2H, *J*= 6.8 Hz), 2.14 (s, 3H), 1.91 (p, 2H, *J*= 6.7 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 139.2, 129.0, 128.3, 127.0, 62.5, 54.4, 43.2, 42.2, 30.6.

HRMS (ESI) [M³⁵Cl+H]⁺: 198.1042 observed, 198.1050 calculated for C₁₁H₁₇N³⁵Cl.



60

Chemical Formula: C₁₁H₁₇NO

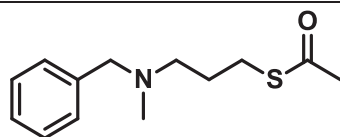
Molecular Weight: 179,2588

3-(*N*-benzyl-*N*-methylamino)propan-1-ol.¹⁴¹ To a solution of 3-bromopropan-1-ol (1.36 mL, 15.00 mmol) in CH₃CN (10 mL) was added *N*-methylbenzylamine (1.94 mL, 15,00 mmol), potassium carbonate (3.1 g, 22.50 mmol) and sodium iodide (0.23 g, 1.50 mmol). The reaction mixture was refluxed for 1 h, then was cooled down and the solvent removed under reduced pressure. The crude product was purified on silica gel using EtOAc/MeOH (9:1) as eluant to yield compound **60** as a colorless liquid (1.05 g, 40%)

Analytical data were in accordance with related literature.¹⁴⁰

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.39-7.18 (m, 5H), 3.87-3.68 (m, 2H), 3.52 (s, 2H), 2.71-2.57 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.74 (m, 2H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 130.5, 129.8, 128.8, 128.7, 59.2, 58.3, 54.9, 53.2, 27.5.



59

Chemical Formula: C₁₃H₁₉NOS
Molecular Weight: 237,3611

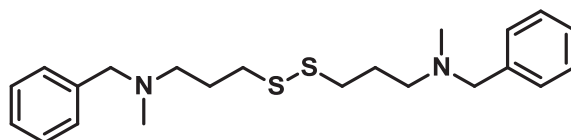
3-(N-benzyl-N-methylamino)propanthioacetate. To a solution of compound **58** (5.55 g, 28.07 mmol) in acetonitrile (15 mL) was added potassium thioacetate (3.53 g, 30.88 mmol). The reaction mixture was stirred at 50° C for 4 h, filtered, and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash chromatography on silica gel with Ethyl Acetate/ Petroleum Ether as eluent to yield compound **59** as a yellow oil (5.52 g, 83%)

IR (ATR, cm⁻¹) 2944, 1686, 1452, 1131, 954, 735; 697, 622.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 7.39-7.19 (m, 5H), 3.46 (s, 2H), 2.86 (t, 2H, *J*= 7.2 Hz), 2.37 (t, 2H, *J*= 6.9 Hz), 2.30 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.78-1.61 (m, 2H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 195.4, 139.0, 128.6, 128.1, 126.8, 61.4, 55.0, 41.7, 35.8, 26.7, 26.4.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 238.1269 observed, 238.1266 calculated for C₁₃H₂₀NOS.



61

Chemical Formula: C₂₂H₃₂N₂S₂
Molecular Weight: 388,6329

3-(N-benzyl-N-methylamino)propane disulfide. Compound **59** (0.79 g, 3.31 mmol) was dissolved in 5N ammonia solution in MeOH (5 mL) with iodine (83 mg, 0.33 mmol) and stirred for 16 h at room temperature. The solvent was removed *in vacuo* and the crude residue was purified by flash chromatography with ethyl acetate as eluent to yield **61** as a colorless oil (0.47 g, 73%).

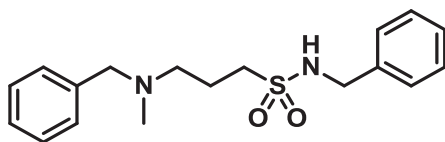
IR (ATR, cm⁻¹) 2942, 1493, 1451, 1018, 734, 697.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 30 MHz) δ 7.44-7.21 (m, 5H), 3.64 (s, 2H), 2.73 (t, 2H, *J*= 7.1 Hz), 2.56 (t, 2H, *J*= 7.4 Hz), 2.23 (s, 3H), 1.85 (m, 2H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 139.0, 128.7, 128.2, 126.9, 61.5, 55.0, 41.7, 35.9, 26.4.

HRMS (ESI) $[M+H]^+$: 389.2091 observed, 389.2085 calculated for $C_{22}H_{33}N_2S_2$.

4.3.3. Coupling reaction with disulfide **61**



65

Chemical Formula: $C_{18}H_{24}N_2O_2S$
Molecular Weight: 332,4604

3-(*N*-benzyl-*N*-methylamino)propane-1-benzenesulfonamide. Compound **65** was prepared from disulfide **61** (0.10 g, 0.42 mmol) following general procedure A for oxidative chlorination of disulfide (*cf.* 4.2) using *t*-BuOCl (0.14 mL, 1.26 mmol) and water (22 μ L, 1.26 mmol) and was obtained as a white solid (50 mg, 35%)

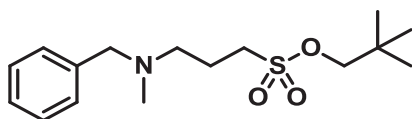
mp: 52-54 °C

IR (ATR, cm^{-1}) 3274, 2936, 2794, 1656, 1453, 1314, 1138, 1060, 851, 732, 696, 496.

1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.39-7.13 (m, 10H), 5.30 (br s, 1H), 4.20 (s, 2H), 3.38 (s, 2H), 2.94 (t, 2H, $J=7.5$ Hz), 2.33 (t, 2H, $J=6.5$ Hz), 2.06 (s, 3H), 1.88 (m, 2H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 138.7, 137.2, 129.1, 128.9, 128.4, 128.1, 128.0, 127.2, 62.3, 55.3, 51.4, 47.2, 41.9, 21.7.

HRMS (ESI) $[M+H]^+$: 333.1642 observed, 333.1637 calculated for $C_{18}H_{25}N_2O_2S$.



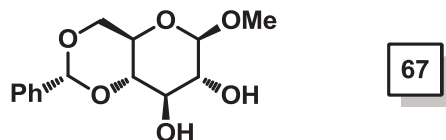
66

Chemical Formula: $C_{16}H_{27}NO_3S$
Molecular Weight: 313,4555

Compound **66** was prepared from disulfide **61** (50 mg, 0.13 mmol) following general procedure A for oxidative chlorination of disulfide (*cf.* 4.2) using *t*-BuOCl (58 μ L, 0.52 mmol) and was obtained as a white solid (15 mg, 21%)

1H NMR ($DMSO-d_6$, 300 MHz) δ 7.43-7.14 (m, 5H), 3.84 (s, 2H), 3.46 (s, 2H), 3.32 (t, 2H, $J=7.5$ Hz), 2.44 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 2.10 (s, 3H), 1.86 (m, 2H), 0.91 (s, 9H).

4.3.4. Synthesis of a new FDG precursor

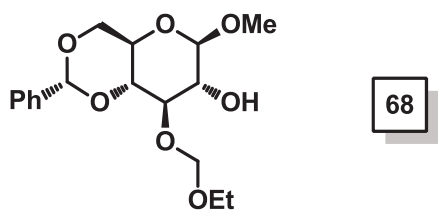


Chemical Formula: C₁₄H₁₈O₆
Molecular Weight: 282,2891

methyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside.¹⁴⁷ Methyl β-D-glucopyranoside (2.03 g, 10.00 mmol) was added in several portions to a solution of *m*-dimethoxyparabenzaldehyde (3.04 ml, 20.00 mol) in dry acetonitrile (50 ml) containing toluene-*p*-sulfonic acid (0.23 g, 1.00 mmol). The suspension was vigorously stirred and warmed briefly to 50 °C. The methyl glycoside dissolved after ca. 10 min, and almost immediately crystals of (**67**) began to form. The suspension was stirred for 18 h, then cooled to 4 °C for 5 h and the crystals were collected by filtration (2.32 g, 82%). Analytical data were in accordance with literature.¹⁴⁷

mp: 202-204 °C {Litt: 196-198°C}

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.57-7.45 (m, 3H), 7.38 (m, 2H), 5.54 (s, 1H), 4.46-4.27 (m, 2H), 3.83 (m, 2H), 3.59 (s, 3H), 3.55-3.38 (m, 3H), 2.78 (s, 1H), 2.64 (s, 1H).



Chemical Formula: C₁₇H₂₄O₇
Molecular Weight: 340,3683

Methyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-ethoxymethyl-β-D-glucopyranoside.¹⁴⁶ To methyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside **67** (847 mg, 3.0 mmol) in anhydrous THF (40 mL) was added NaH (60% in mineral oil, 192 mg, 4.8 mmol) and the mixture stirred, under argon, for 30 min. Chloromethylethyl ether (425 mg, 0.42 mL, 4.5 mmol) was added dropwise, and the reaction stirred at room temperature for 20 h. The reaction was quenched

Experimental part

with methanol (0.5 mL) and concentrated *in vacuo*. The crude product was dissolved in CH₂Cl₂, washed with water and the aqueous phase extracted with CH₂Cl₂. The combined organic phase was washed with water, brine, dried (anhydrous Na₂SO₄) and concentrated *in vacuo*. Purification by silica gel column chromatography (Petroleum ether–EtOAc, 2 : 1) afforded compound **68** (white solid, 320 mg, 32%) and two additional side-products **68b** (white solid, 180 mg, 17%), and **68c** (white solid, 180 mg, 2%).

Analytical data of the three compounds were in with related literature.¹⁴⁶

Compound 68 :

mp: 100-102 °C {litt : 99 - 102 °C}

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.48 (m, 2H), 7.36 (m, 3H), 5.53 (s, 1H), 4.91 (d, 1H, *J*= 7.0 Hz), 4.81 (d, 1H, *J*= 7.1 Hz), 4.39 (d, 1H, *J*= 7.4 Hz), 4.36 (dd, 1H, *J*= 10.3, 5.2 Hz), 3.97 (d, 1H, *J*= 1.5 Hz), 3.86-3.53 (m, 5H), 3.60 (s, 3H), 3.54-3.40 (m, 2H), 1.21 (t, 3H, *J*= 7.1 Hz).

Compound 68b:

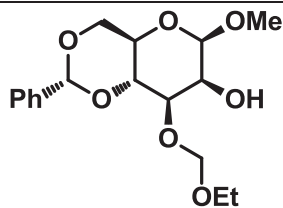
mp: 100-102 °C {102-105 °C}

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.51-7.30 (m, 5H), 5.56 (s, 1H), 4.89 (d, 1H, *J*= 6.6 Hz), 4.79 (d, 1H, *J*= 7.4 Hz), 4.38 (d, 1H, *J*= 7.4 Hz), 4.36 (dd, 1H, *J*= 5.2, 10.3 Hz), 4.02 (s, 1H), 3.85-3.75 (m, 3H), 3.62-3.55 (m, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.46 (ddd, 1H, *J*= 4.4, 9.5, 10.3 Hz), 3.34 (t, 1H, *J*= 8.1 Hz), 1.21 (t, 3H, *J*= 6.6 Hz)

Compound 68c:

mp: 70-72 °C {litt : 73-75 °C}

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.50-7.30 (m, 5H), 5.52 (s, 1H), 4.90 (d, 1H, *J*= 6.6 Hz), 4.89 (s, 2H), 4.83 (d, 1H, *J*= 6.6 Hz), 4.36 (d, 1H, *J*= 8.1 Hz), 4.35 (dd, 1H, *J*= 4.4, 10.3 Hz), 3.87 (t, 1H, *J*= 9.2 Hz), 3.77 (t, 1H, *J*= 10.3 Hz), 3.71–3.52 (m, 6H), 3.54 (s, 3H), 3.43 (ddd, 1H, *J*= 5.1, 9.6, 10.3 Hz), 1.22 (t, 3H, *J*= 7.0 Hz), 1.05 (t, 3H, *J*= 6.6 Hz)



70

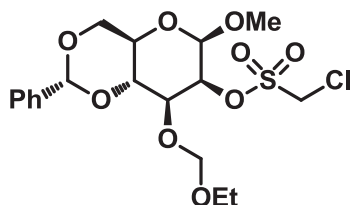
Chemical Formula: C₁₇H₂₄O₇
Molecular Weight: 340,3683

Methyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-ethoxymethyl- β -D-mannopyranoside.¹⁴⁶ A solution of **64** (0.81 g, 2.38 mmol) in DMSO (9.6 mL, 136 mmol) and Ac₂O (4.90 mL, 51.5 mmol) was stirred at room temperature for 24 h. The reaction was diluted with EtOAc (50 mL) and washed with a saturated aqueous solution of K₂CO₃ (30 mL). The organic layer was separated, dried (Na₂SO₄) and concentrated to dryness *in vacuo* giving the crude ketone **69** as a white solid (0.83 g). The crude ketone was re-dissolved in MeOH (10 mL) and cooled to -20 °C before NaBH₄ (0.10 g, 2.62 mmol) was added slowly, with stirring. The reaction mixture was allowed to warm to 25 °C then stirred at this temperature for a further 48 h. The reaction was concentrated *in vacuo* to give a gum which was partitioned between EtOAc (15 mL) and saturated aqueous K₂CO₃. The organic layer was separated re-extracting the aqueous with EtOAc (2 x 5 mL). The combined organic phase was dried (Na₂SO₄) and concentrated *in vacuo*. Purification of the resulting off-white solid by silica gel column chromatography (hexane-EtOAc, 1 : 3) afforded the title compound as a white solid (0.53 g, 62%).

Analytical data were in accordance with related literature.¹⁴⁶

mp : 106-108 °C {Litt : 106-108 °C}

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.35 (m, 5H), 5.56 (s, 1H), 4.91 (d, 1H, *J*= 7.0 Hz), 4.83 (d, 1H, *J*= 7.0 Hz), 4.51 (s, 1H), 4.34 (dd, 1H, *J*= 10.4, 4.9 Hz), 4.17 (d, 1H, *J*= 3.1 Hz), 4.06 (t, 1H, *J*= 9.5 Hz), 3.92 (dd, 1H, *J*= 9.6, 3.3 Hz), 3.88 (t, 1H, *J*= 10.5 Hz), 3.66 (m, 2H), 3.59 (s, 3H), 3.40 (m, 1H), 2.53 (s, 1H), 1.17 (t, 3H, *J*= 7.1 Hz).

4.3.5. Synthesis of sulfonic esters from alcohol **70**

71

Chemical Formula: C₁₈H₂₅ClO₉S
Molecular Weight: 452,9037

Methyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-ethoxymethyl-2-(1-chloromethanesulfonate)-β-D-mannopyranoside.¹³⁰ Following previous procedure, compound **71** was obtained as a

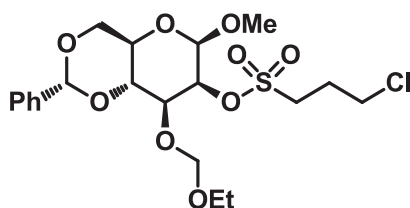
white solid (0.09 g, 65%) from compound **70** (0.11 g, 0.305 mmol) and chloromethanesulfonylchloride (55 μL, 0.61 mmol).

$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -44.1$ (c= 1.1, MeOH)

IR (ATR, cm⁻¹) 2873, 1368, 1177, 1073, 920, 547, 506.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.44 (m, 2H), 7.35 (m, 3H), 5.56 (s, 1H), 5.06 (d, 1H, *J*= 2.6 Hz), 4.86 (d, 1H, *J*= 7.1 Hz), 4.80 (d, 1H, *J*= 7.1 Hz), 4.76 (s, 2H), 4.57 (s, 1H), 4.34 (dd, 1H, *J*= 10.5, 4.9 Hz), 4.08 (dd, 1H, *J*= 10.1, 3.2 Hz), 4.01-3.82 (m, 2H), 3.66 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 3.44 (ddd, 1H, *J*= 14.5, 8.4, 4.9 Hz), 1.15 (t, 3H, *J*= 7.1 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 137.1, 129.2, 128.3, 126.1, 101.8, 99.7, 94.3, 80.7, 77.4, 71.7, 68.4, 67.5, 63.9, 57.6, 54.9, 15.0.



72

Chemical Formula: C₂₀H₂₉ClO₉S
Molecular Weight: 480,9569

Methyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-ethoxymethyl-2-(3-chloropropane-1-sulfonate)-β-D-mannopyranoside.¹³⁰ Compound **70** (0.10 g, 0.29 mmol) was dissolved in anhydrous

dichloromethane (1 mL) and cooled to 0 °C in an ice bath. Triethylamine (0.12 mL, 0.88 mmol) was then added to the reaction. 3-Chloropropanesulfonyl chloride (71 μL, 0.59

Experimental part

mmol) dissolved in anhydrous dichloromethane (1 mL) was added dropwise to the reaction flask. Upon completion of dropwise addition, the reaction was stirred at 0 °C for 1 h. The reaction was poured into 1 M hydrochloric acid (1 mL) and extracted with dichloromethane (1 x 3 mL). The combined organic phases were washed with water (2 mL), brine (2 mL) and dried over Na₂SO₄. Removal of the solvent under vacuum yielded the product **72** as a white solid (0.14 g, 99%).

mp : 70-72°C

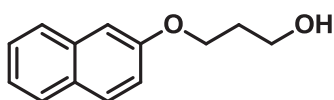
$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -35.2$ (c= 0.9, MeOH)

IR (ATR, cm⁻¹) 2912, 1339, 1164, 1069, 921, 577, 518..

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.49-7.40 (m, 2H), 7.39-7.30 (m, 3H), 5.57 (s, 1H), 5.03 (dd, 1H, *J*= 3.3, 0.8 Hz), 4.83 (q, 2H, *J*= 7.2 Hz), 4.55 (d, 1H, *J*= 0.8 Hz), 4.34 (dd, 1H, *J*= 10.5, 4.9 Hz), 4.06 (dd, 1H, *J*= 10.1, 3.3 Hz), 3.94 (d, 1H, *J*= 9.3 Hz), 3.85 (d, 1H, *J*= 10.3 Hz), 3.73-3.63 (m, 4H), 3.58 (s, 3H), 3.44 (m, 3H), 2.39 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, *J*= 7.1 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 137.1, 129.1, 128.2, 126.0, 101.7, 100.0, 94.0, 78.9, 76.7, 71.5, 68.4, 67.5, 63.7, 57.5, 49.3, 42.8, 26.7, 14.9.

4.4. Synthesis of sulfonic esters of 3-(naphthalen-2-yloxy)propan-1-ol



73

Chemical Formula: C₁₃H₁₄O₂
Molecular Weight: 202,2491

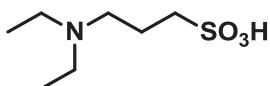
3-(naphthalen-2-yloxy)propan-1-ol.¹⁵¹ β-Naphtol (2.00 g, 13.87 mmol) was dissolved in DMF (10 mL) with 3-bromopropan-1-ol (1.25 mL, 13.87 mmol) and potassium carbonate (2.30 g, 16.65 mmol). The reaction mixture was heated for 12 h at 80 °C. After completion, the crude reaction mixture was diluted in water and extracted with ethyl acetate (20 mL x 3). The organic layers were combined, extracted with brine (3 x 20 mL), dried over sodium sulfate, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The crude residue was purified on silica gel using Petroleum Ether/EtOAc as eluant to yield pure compound **73** as a pale yellow solid (1.41 g, 51%)

mp : 98-100 °C {Litt : 99-100°C}¹⁷⁷

Experimental part

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.84-7.66 (m, 3H), 7.45 (t, 1H, *J*= 6.9 Hz), 7.35 (t, 1H, *J*= 6.9 Hz), 7.14 (m, 2H), 4.51 (t, 2H, *J*= 6.2 Hz), 4.22 (t, 2H, *J*= 5.9 Hz), 3.65 – 3.55 (t, 1H, *J*= 6.0 Hz), 3.35-3.24 (t, 1H, *J*= 6.0 Hz), 2.38-2.21 (m, 2H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 156.8, 134.7, 129.6, 129.2, 127.8, 126.9, 126.5, 123.8, 118.9, 106.9, 64.4, 41.7, 32.4.



74

Chemical Formula: C₇H₁₇NO₃S
Molecular Weight: 195,2798

***N,N*-Diethylaminopropylsulfonic acid.** To a solution of 1,3-propanesultone (1.00 g, 8.19 mL) in CH₂Cl₂ (10 mL) was added diethylamine (3.40 mL, 32.75 mmol) dropwise at 10 °C and continued the reaction for 1 h. Progress of the reaction was monitored by TLC analysis. Excess diethylamine and solvent was removed under reduced pressure and the residue was crystallised in hexane. The solid was washed with diethyl ether to produce the sulfonic acid compound **74** as a white solid (1.6 g, 99%)

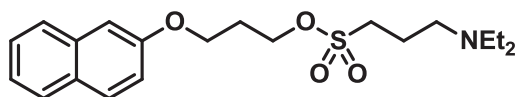
mp : 158-160 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 3002, 2711, 1476, 1345, 1218, 1204, 1035, 752, 599, 541.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 3.26 (m, 2H), 3.16 (m, 4H), 3.05 (m, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.02 (br s, 1H), 1.36 (t, 6H, *J*= 7.3 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 52.1, 48.6, 46.9, 20.6, 8.6.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 195.0924 observed, 195.0929 calculated for C₇H₁₈NO₃S.



76

Chemical Formula: C₂₀H₂₉NO₄S
Molecular Weight: 379,5136

3-(naphthalen-2-yloxy)propyl 3-(diethylamino)propane-1-sulfonate. Compound **70** (0.1 g, 0.49 mmol) and diethylaminopropanesulfonyl chloride **75** (96 mg, 0.49 mmol) were stirred in dry CH₂Cl₂ (1 mL) at 0 °C. Then triethylamine (0.21 mL, 1.48 mmol) was added dropwise for 5 min at 0 °C. The reaction mixture was allowed to warm at room

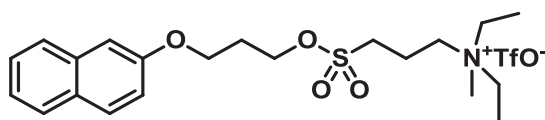
Experimental part

temperature. After completion, the solvent was removed *in vacuo*. The crude residue was purified by flash chromatography on silica gel using EtOAc/MeOH(9 : 1) as eluent to afford compound **76** as a colorless oil (92 mg; 50%).

IR (ATR, cm^{-1}) 2967, 1629, 1600, 1465, 1351, 1257, 1215, 1162, 942, 837, 746, 472.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.85-7.66 (m, 3H), 7.44 (t, 1H, $J= 6.9$ Hz), 7.34 (t, 1H, $J= 6.9$ Hz), 7.14 (m, 2H), 4.47 (t, 2H, $J= 6.1$ Hz), 4.19 (t, 2H, $J= 5.9$ Hz), 3.18 (dd, 2H, $J= 8.8, 6.6$ Hz), 2.47 (m, 6H), 2.36 – 2.22 (m, 2H), 2.05 – 1.87 (m, 2H), 0.96 (t, 6H, $J= 7.1$ Hz).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 156.5, 134.6, 129.6, 129.14, 127.7, 126.8, 126.5, 123.9, 118.7, 106.8, 66.6, 63.4, 50.6, 48.3, 46.6, 29.3, 21.4, 11.5.



77

Chemical Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{NO}_7\text{S}_2$

Molecular Weight: 543,6172

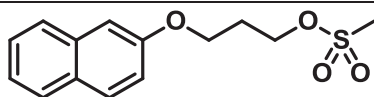
3-(naphthalen-2-yloxy)propyl-3-(diethylmethylammonio)propane-1-sulfonate. To a solution of compound **76** (92 mg, 0.24 mmol) in CH_2Cl_2 at 0 °C was added dropwise methyl trifluoromethanesulfonate (30 μL , 0.27 mmol). The solution was allowed to reach room temperature. After completion solvent was removed under reduced pressure to yield **77** (0.11 g, 84%).

IR (ATR, cm^{-1}) 2955, 1626, 1347, 1256, 1157, 1028, 939, 728, 636, 516.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.71 (m, 3H), 7.41 (t, 1H, $J= 7.1$ Hz), 7.30 (t, 1H, $J= 7.4$ Hz), 7.18-7.08 (m, 2H), 4.47 (t, 2H, $J= 6.0$ Hz), 4.13 (t, 2H, $J= 5.7$ Hz), 3.34-3.14 (m, 4H), 2.98 (q, 4H, $J= 7.1$ Hz), 2.69 (s, 3H), 2.29-2.16 (m, 2H), 2.12-1.92 (m, 2H), 1.07 (t, 6H, $J= 7.2$ Hz).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 156.7, 134.5, 129.6, 129.0, 127.7, 126.9, 126.7, 124.0, 118.9, 106.8, 68.1, 63.3, 58.1, 53.6, 46.9, 45.9, 28.9, 17.3, 7.5.

HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 394.2031 observed, 394.2037 calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{NO}_4\text{S}$.



78

Chemical Formula: C₁₄H₁₆O₄S
Molecular Weight: 280,3394

2-(3-methanesulfonyloxypropoxy)naphthalene. In a flame dried flask, were added 3-(naphthalen-2-yloxy)propan-1-ol **73** (0.10 g, 0.49 mmol) and methanesulfonyl chloride (42 μ L, 0.54 mmol) in dry dichloromethane (1 mL). The reaction mixture was stirred at 0 °C, then triethylamine (0.21 mL, 1.48 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred for 1 h at 0°C and was allowed to reach room temperature for 30 min. The crude reaction mixture was washed with 0.1N HCl and the organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered, and the solvent was removed under reduced pressure to yield compound **78** as a white solid. (0.12 g, 87%).

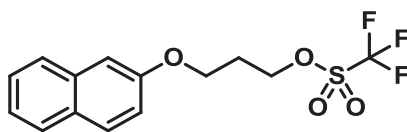
Analytical data were in accordance with related literature.¹⁵⁰

Mp : 58-60 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 2961, 1620, 1462, 1336, 1215, 1164, 979, 840, 743, 525.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.82-7.67 (m, 3H), 7.45 (t, 1H, *J*= 6.9 Hz), 7.35 (t, 1H, *J*= 6.9 Hz), 7.21 – 7.06 (m, 2H), 4.50 (t, 1H, *J*= 6.1 Hz), 4.22 (t, 1H, *J*= 5.9 Hz), 3.00 (s, 3H), 2.40-2.23 (m, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) 159.5, 134.6, 129.7, 129.2, 127.8, 126.9, 126.6, 124.0, 118.8, 106.8, 66.9, 63.3, 37.4, 29.2.



79

Chemical Formula: C₁₄H₁₃F₃O₄S
Molecular Weight: 334,3108

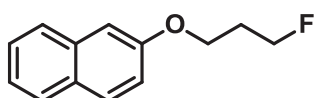
2-(3-trifluoromethanesulfonyloxypropoxy)naphthalene.¹⁵¹ In a flame dried flask, were added 3-(naphthalen-2-yloxy)propan-1-ol **73** (0.10 g, 0.49 mmol) and pyridine (0.12 mL, 1.48 mmol) in dry dichloromethane (1 mL). The reaction mixture was stirred at 0 °C, then trifluoromethanesulfonic anhydride (0.17 mL, 0.99 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred for 1 h at 0°C and was allowed to reach room temperature for 30 min. The crude reaction mixture was washed with 0.1N HCl and the organic layer was

dried over Na_2SO_4 , filtered, and the solvent was removed under reduced pressure to yield compound **79** as a white solid (0.11 g, 67%). Product was not stable in time.

Analytical data were in accordance with related literature.¹⁵¹

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) 7.78 (m, 3H), 7.48 (t, 1H, $J= 7.5$ Hz), 7.38 (t, 1H, $J= 7.4$ Hz), 7.16 (m, 2H), 4.83 (t, 2H, $J= 6.2$ Hz), 4.23 (t, 2H, $J= 6.1$ Hz), 2.38 (m, 2H).

4.4.1. General procedure for fluorination of sulfonics esters



80

Chemical Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{FO}$
Molecular Weight: 204,2401

2-(3-fluoropropoxy)naphthalene. In a flame dried flask was added sulfonic ester derivative (0.13 mmol) and anhydrous Cesium Fluoride (59 mg, 0.39 mmol, 3 eq.) in dry CH_3CN (1.5 mL) under argon atmosphere. The reaction mixture was heated at 80 °C for 4 h. Samples were taken at different times and were analyzed by HPLC. After 4 h the solvent was removed *in vacuo* and the crude mixture was analyzed by ^1H NMR. Compound **80** was identified by comparison with related literature.¹⁵⁰

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.81-7.66 (m, 3H), 7.42 (t, 1H, $J= 7.6$ Hz), 7.34 (t, 1H, $J= 7.7$ Hz), 7.18-7.06 (m, 2H), 4.75 (t, 1H, $J= 5.8$ Hz), 4.60 (t, 1H, $J= 5.8$ Hz), 4.20 (t, 2H, $J= 6.1$ Hz), 2.31-2.22 (m, 1H), 2.20-2.11 (m, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 156.7, 134.6, 129.4, 129.1, 127.6, 126.7, 126.4, 123.7, 118.8, 106.8, 80.9 (d, $J= 164.0$ Hz), 63.7 (d, $J= 5.3$ Hz), 30.1 (d, $J= 20.3$ Hz).

5 General procedures for oxidative chlorination using *t*-BuOCl

5.1. General procedure A for preparation of sulfonamides from disulfides

To a mixture of disulfide (1.4 mmol) and water (0.13 mL, 7.0 mmol) in acetonitrile (2 mL) at 0 °C, was added dropwise *t*-BuOCl (0.79 mL, 7 mmol). The reaction mixture was stirred at 0 °C for 15 min and the amine (0.76 mL, 7 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred 10 min at 0 °C then allowed to warm to room temperature and stirred

for a further 30 min. The solvent was removed *in vacuo* and the crude product purified on silica gel.

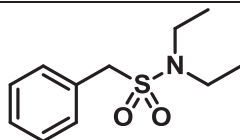
5.2. General procedure B for preparation of sulfonylesters from disulfides

To a mixture of disulfide (1.4 mmol) and water (0.13 mL, 7 mmol) in acetonitrile (2 mL) at 0 °C, was added dropwise *t*-BuOCl (0.79 mL, 7 mmol). The reaction mixture was stirred at 0 °C for 15 min and neopentyl alcohol (0.12 g, 1.4 mmol), then pyridine (0.56 mL, 7 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred for 10 min at 0 °C then was allowed to reach room temperature and stirred for a further 30 min. The solvent was removed *in vacuo* and the crude product was purified on silica gel.

5.3. General procedure C for one-pot reaction from halogeno derivatives.

To a solution of halogeno or tosyloxy compound (1.4 mmol) in acetonitrile (2 mL) was added potassium thioacetate (0.16 g, 1.4 mmol). Stirring was kept at 25 °C until complete disappearance of starting materials (TLC). The reaction medium was cooled to 0 °C, then water was added (76 µL, 4.2 mmol) followed by dropwise addition of *t*-BuOCl (0.48 mL, 4.2 mmol). The reaction mixture was stirred at 0 °C for 15 min then concentrated to dryness. The residue was dissolved in acetonitrile, the mixture was cooled to 0 °C and benzylamine (0.31 mL, 2.8 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred 10 min at 0 °C then allowed to warm to room temperature and stirred for an additional 30 min. The solvent was evaporated and the crude product purified on silica gel.

Sulfonylester derivatives were prepared following a similar procedure by adding neopentyl alcohol (0.12 g, 1.4 mmol) and pyridine (0.37 mL, 4.6 mmol) to the crude *in situ* generated sulfonyl chloride after evaporation of the solvent.



96

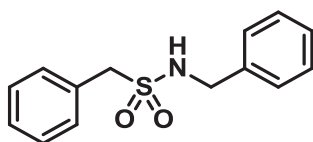
Chemical Formula: C₁₁H₁₇NO₂S
Molecular Weight: 227,3232

***N,N*-diethyl-1-phenylmethanesulfonamide.** Obtained from general procedure A starting from dibenzyl disulfide.

White solid (0.603 g, 95%)

Analytical data were in agreement with published data.¹⁷⁸

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.43-7.28 (m, 5H), 4.18 (s, 2H), 3.07 (q, 4H, *J*= 7.1 Hz), 1.07 (t, 6H, *J*= 7.1 Hz, 1H).



97

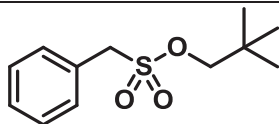
Chemical Formula: C₁₄H₁₅NO₂S
Molecular Weight: 261,3394

***N*-benzyl-1-phenylmethanesulfonamide.** Obtained from general procedure C starting from benzylthioacetate (0.19 g, 1.15 mmol) (route 1) or benzyl chloride (0.13 mL, 1.15 mmol) (route 2)

White solid (route 1: 0.27 g, 90%) or (route 2: 0.24 g, 80%)

Analytical data were in agreement with published data.¹⁶⁴

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.97-7.79 (m, 2H), 7.67-7.43 (m, 3H), 7.34-7.13 (m, 5H), 4.69 (s, 1H), 4.15 (d, 2H, *J*= 6.2 Hz), 4.01 (s, 2H).



98

Chemical Formula: C₁₂H₁₈O₃S
Molecular Weight: 242,3345

neopentyl phenylmethanesulfonate. Obtained following general procedure C.

White solid (0.26 g, 78%).

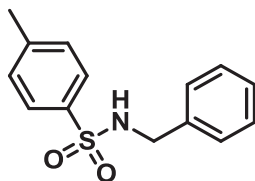
mp: 66-68 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 2958, 1457, 1349, 1163, 956, 860, 782, 695.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.47-7.34 (m, 5H), 4.36 (s, 2H), 3.72 (s, 2H), 0.90 (s, 9H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 130.8, 129.2, 129.0, 128.2, 79.7, 56.8, 31.9, 26.1.

HRMS (ESI) [M+NH₄]⁺: 260.1310 observed, 260.1320 calculated for C₁₂H₂₂NO₃S.



99

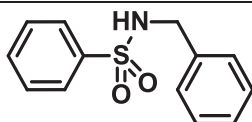
Chemical Formula: C₁₄H₁₅NO₂S
Molecular Weight: 261,3394

N-benzyl-4-methylbenzenesulfonamide. Obtained following general procedure A from ditosyl disulfide (0.1 g, 0.40 mmol)

White solid (0.21 g, 95%)

Analytical data were in agreement with published data.¹⁶¹

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.76 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz), 7.37-7.23 (m, 5H), 7.24-7.15 (m, 2H), 4.64 (s, 1H), 4.12 (d, 2H, *J* = 6.2 Hz), 2.44 (s, 3H).



100

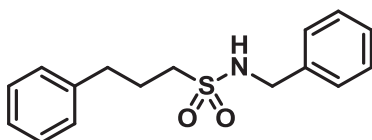
Chemical Formula: C₁₃H₁₃NO₂S
Molecular Weight: 247,3128

***N*-benzylbenzenesulfonamide.** Obtained following procedure A from diphenyl disulfide (90 mg, 0.41 mmol)

White solid (0.20 g, 88%)

Analytical data were in agreement with published data.^{164b}

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.88 (dd, 2H, *J*= 8.3, 1.4 Hz), 7.66-7.45 (m, 3H), 7.27 (dt, 3H, *J*= 4.4, 1.7 Hz), 7.22-7.13 (m, 2H), 4.69 (t, 1H, *J*= 6.2 Hz), 4.15 (d, 2H, *J*= 6.2 Hz).



102a

Chemical Formula: C₁₆H₁₉NO₂S
Molecular Weight: 289,3926

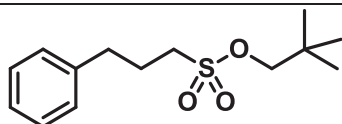
***N*-benzyl-3-phenylpropanesulfonamide.** Obtained following general procedure C. White solid (0.26 g, 64%).

mp: 78-80 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 3269, 1429, 1309, 1138, 873, 745, 695.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.42-7.16 (m, 8H), 7.16-7.06 (m, 2H), 4.77 (brt, 1H, *J*= 6.0 Hz), 4.22 (d, 2H, *J*= 6.1 Hz), 2.97-2.79 (m, 2H), 2.64 (t, 2H, *J*= 7.5 Hz), 2.14-1.95 (m, 2H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 140.3, 137.1, 129.0, 128.7, 128.5, 128.2, 128.0, 126.5, 52.6, 47.2, 34.2, 25.3.

HRMS (ESI) [M+NH₄]⁺: 307.1481 observed, 307.1480 calculated for C₁₆H₂₃N₂O₂S.



102b

Chemical Formula: C₁₄H₂₂O₃S
Molecular Weight: 270,3877

neopentyl 3-phenylpropanesulfonate. Obtained following general procedure C.

White solid (0.12 g, 33%).

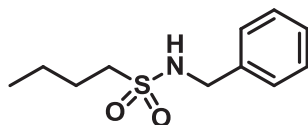
mp: 54-56 °C.

IR (ATR, cm⁻¹) 2971, 1454, 1347, 1161, 956, 865, 756, 700.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.42-7.12 (m, 5H), 3.85 (s, 2H), 3.20-3.02 (m, 2H), 2.82 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz), 2.34-2.13 (m, 2H), 1.01 (s, 9H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 139.9, 128.7, 128.5, 126.6, 78.6, 49.3, 34.0, 31.8, 26.1, 25.1.

HRMS (ESI) [M+NH₄]⁺: 288.1621 observed, 288.1633 calculated for C₁₄H₂₆NO₃S.



103

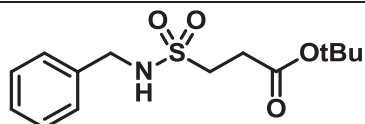
Chemical Formula: C₁₁H₁₇NO₂S
Molecular Weight: 227,3232

N-benzylbutane-1-sulfonamide. Obtained following general procedure C

Pale yellow solid (0.15 g, 46%).

Analytical data were in accordance with previous related literature.¹⁶¹

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.42-7.28 (m, 5H), 4.82 (t, 1H, *J* = 5.7 Hz), 4.28 (d, 2H, *J* = 6.1 Hz), 2.95-2.79 (m, 2H), 1.82-1.58 (m, 2H), 1.35 (m, 2H), 0.88 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz).



105a

Chemical Formula: C₁₄H₂₁NO₄S
Molecular Weight: 299,3858

Synthesis of *tert*-butyl 3-(*N*-benzylsulfamoyl)propanoate. To a solution of *t*-butylacrylate acrylate (0.29 mL, 2.00 mmol) in acetonitrile (1.5 mL) was added thiolacetic acid (0.16 mL, 2.20 mmol) and a catalytic amount (30 mg, 0.20 mmol) of potassium carbonate. The reaction mixture was completed after one night at room temperature. Water was added (0.11 mL, 6.00 mmol), the reaction medium was cooled to 0 °C and *t*-BuOCl (0.70 mL, 6.00 mmol) was added dropwise. Then benzylamine was added dropwise (0.87 mL, 8.00 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred 10 min at 0 °C then allowed to warm at room temperature and stirring was kept 30 min. The solvent was removed under reduced pressure and the crude product was purified on silica gel using petroleum ether / ethyl acetate (4/1) as an eluent to afford pure compound **105a** as a pale yellow solid (0.10 g, 17%).

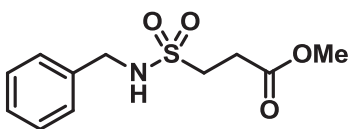
mp: 80-82 °C

IR (ATR, cm⁻¹) 3273, 2928, 1694, 1418, 1366, 1147, 1135, 855, 835, 799, 735.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.45-7.30 (m, 5H), 4.58 (s, 1H), 4.31 (d, 2H, *J*= 7.0 Hz), 3.25 (t, 2H, *J*= 7 Hz), 2.71 (t, 2H, *J*= 7 Hz), 1.44 (s, 9H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 169.9, 136.8, 129.1, 128.3, 128.1, 82.0, 48.6, 47.5, 30.1, 28.2.

HRMS (ESI): [M+NH₄]⁺: 317.1535 observed; 317.1534 calculated for C₁₄H₂₅N₂O₄S.



105b

Chemical Formula: C₁₁H₁₅NO₄S
Molecular Weight: 257,3061

Synthesis of *tert*-butyl 3-(*N*-benzylsulfamoyl)propanoate. To a solution of *t*-butylacrylate acrylate (0.13 mL, 1.40 mmol) in acetonitrile (1.5 mL) was added thiolacetic acid (0.11 mL, 1.54 mmol) and a catalytic amount (20 mg, 0.14 mmol) of potassium

Experimental part

carbonate. The reaction mixture was completed after one night at room temperature. Water was added (0.75 μL , 4.20 mmol), the reaction medium was cooled to 0 $^{\circ}\text{C}$ and *t*-BuOCl (0.47 mL, 4.20 mmol) was added dropwise. Then benzylamine was added dropwise (0.46 mL, 4.20 mmol) at 0 $^{\circ}\text{C}$. The reaction mixture was stirred 10 min at 0 $^{\circ}\text{C}$ then allowed to warm at room temperature and stirring was kept 30 min. The solvent was removed under reduced pressure and the crude product was purified on silica gel using petroleum ether / ethyl acetate (4/1) as an eluent to afford pure compound **105b** as a pale yellow solid (0.15 g, 42%).

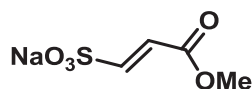
mp: 74-76 $^{\circ}\text{C}$.

IR (ATR, cm^{-1}) 3262, 2940, 1733, 1434, 1306, 1127, 849, 725, 695.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.38-7.31 (m, 5H), 4.66 (s, 1H), 4.30 (d, 2H, $J= 6.0$ Hz), 3.70 (s, 3H), 3.29 (t, 2H, $J= 7.3$ Hz), 2.79 (t, 2H, $J= 7.3$ Hz).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 171.2, 136.7, 129.1, 128.3, 128.1, 52.5, 48.4, 47.4, 28.8.

HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 258.0812 observed, 258.0800 calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_4\text{S}$.



106

Chemical Formula: $\text{C}_4\text{H}_5\text{NaO}_5\text{S}$
Molecular Weight: 188,1343

Synthesis of 3-methoxy-3-oxoprop-1-ene-1-sulfonate. To a solution of methyl propiolate (0.18 mL, 2.00 mmol) in acetonitrile was added thiolacetic acid (0.14 mL, 2.00 mmol) and the reaction mixture was stirred 12 hrs. After complete disappearance (TLC) of the starting materials, the solution was cooled to 0 $^{\circ}\text{C}$, water (110 μL , 6.00 mmol) was added, followed by dropwise addition of *t*-BuOCl (0.66 mL, 6.00 mmol). Stirring was kept at 0 $^{\circ}\text{C}$ for 15 min then the reaction was quenched with 0.5 mL of a 4 M aqueous solution of sodium acetate. The solvent was removed under reduced pressure to afford compound **106** as a 30/70 mixture of *Z/E* isomers (0.15 g, 30%) as an hygroscopic colorless solid.

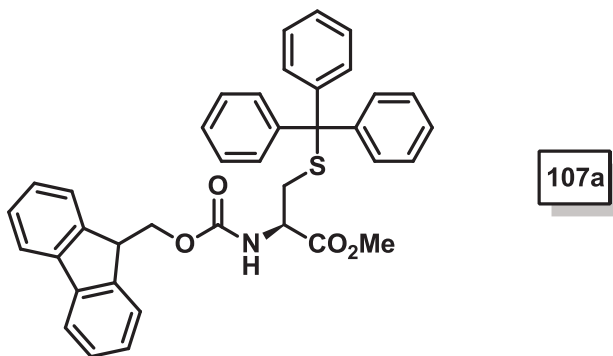
IR (ATR, cm^{-1}) 3448, 1716, 1630, 1175, 1044, 826, 589.

^1H NMR (MeOD, 300 MHz) E isomer: δ 7.32 (d, 1H, $J= 15.4$ Hz), 6.48 (d, 1H, $J= 15.4$ Hz), 3.78 (s, 3H). Z isomer: δ 6.64 (d, 1H, $J= 11.9$ Hz), 6.24 (d, 1H, $J= 11.9$ Hz), 3.76 (s, 3H).

Experimental part

^{13}C NMR (D_2O , 75 MHz) E isomer: δ 167.3, 143.6, 126.4, 51.4. Z isomer: δ 168.0, 140.1, 125.9, 51.4.

HRMS (ESI) $[\text{M}-\text{H}]^-$: 164.9864 observed, 164.9858 calculated for $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_5\text{S}$.

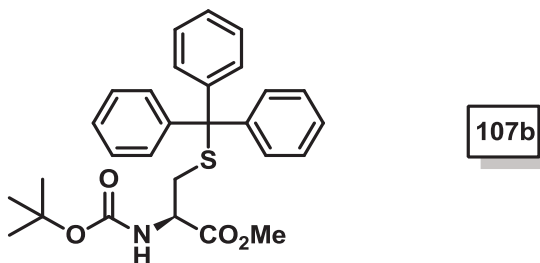


Chemical Formula: $\text{C}_{38}\text{H}_{33}\text{NO}_4\text{S}$
Molecular Weight: 599,7379

***N*-Fmoc-L-Cys(Trt)-OMe.** Methylation of commercially available *N*-Fmoc-L-Cys(Trt)-OH (0.30 g, 0.51 mmol) was performed following procedure described by Kühnel¹⁸⁰ using trimethylsilyldiazomethane (0.31 mL, 0.62 mmol) to afford **107a** as a white solid (0.30 g, 98%).

Analytical data were in agreement with literature.¹⁸¹

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.67 (d, 2H, $J=7.5$ Hz), 7.51 (d, 2H, $J=6.1$ Hz), 7.38-7.26 (m, 7H), 7.24-7.05 (m, 12H), 5.13 (d, 1H, $J=7.9$ Hz), 4.28 (m, 1H), 4.26 (d, 2H, $J=6.9$), 4.13 (t, 1H, $J=7.0$ Hz), 3.62 (s, 3H), 2.56 (d, 2H, $J=5.4$ Hz).



Chemical Formula: $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{NO}_4\text{S}$
Molecular Weight: 477,6150

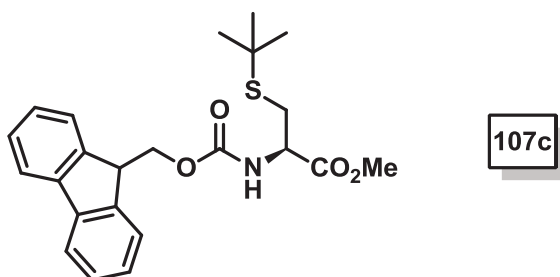
***N*-Boc-L-Cys(Trt)-OMe.** Methylation of commercially available *N*-Boc-L-Cys(Trt)-OH (0.30 g, 0.65 mmol) was performed following procedure described by Kühnel¹⁸⁰ using

Experimental part

trimethylsilyldiazomethane (0.39 mL, 0.78 mmol) to afford **107b** as a white solid (0.30 g, 98%).

Analytical data were in agreement with literature.¹⁸²

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.32 (d, 6H, J = 7.2 Hz), 7.26-7.10 (m, 9H), 4.95 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 4.22 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.52 (d, 2H, J = 5.3 Hz), 1.36 (s, 9H).



Chemical Formula: C₂₃H₂₇NO₄S
Molecular Weight: 413,5298

Synthesis of Fmoc-N-L-Cys(tBu)-OMe. Methylation of commercially available *N*-Fmoc-L-Cys(^tBu)-OH (0.20 g, 0.50 mmol) was performed following procedure described by Kühnel¹⁸⁰ using trimethylsilyldiazomethane (0.30 mL, 0.60 mmol) to afford **107c** as a white solid (0.17 g, 80%).

mp: 100-102 °C

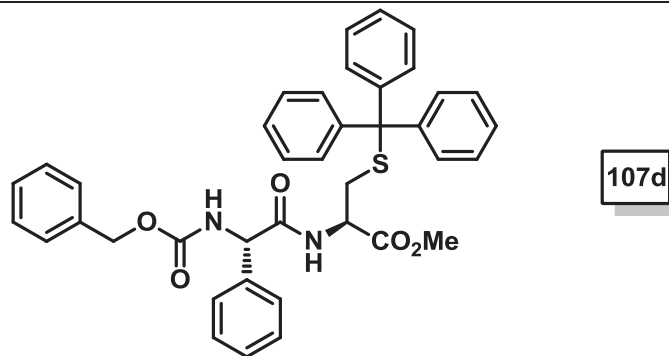
$[\alpha]_{\text{Na}}^{20}$ = +10.2 (c = 1.02, CHCl₃).

IR (ATR, cm⁻¹) 3416, 2963, 1752, 1725, 1510, 1346, 1181, 1061, 1007, 758, 739, 501.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.77 (d, 2H, J = 7.4 Hz), 7.61 (d, 2H, J = 7.3 Hz), 7.46-7.27 (m, 4H), 5.61 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 4.75-4.59 (m, 1H), 4.39 (d, 2H, J = 7.2 Hz), 4.24 (t, 1H, J = 7.2 Hz), 3.79 (s, 3H), 3.02 (d, 2H, J = 5.0 Hz), 1.32 (s, 9H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 171.2, 155.7, 143.8, 143.7, 141.3, 127.7, 127.1, 125.2, 120.0, 67.3, 53.6, 52.7, 47.1, 42.7, 30.8.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 414.1454 observed, 414.1739 calculated for C₂₃H₂₈NO₄S.



Chemical Formula: $C_{39}H_{36}N_2O_5S$
Molecular Weight: 644,7785

Synthesis of Z-PheGly-Cys(Trt)-OMe. To a solution of H-L-Cys(Trt)-OMe (0.11 g, 0.29 mmol) and Z-L-PheGly-OH (80 mg, 0.29 mmol) in dry dimethylformamide was added at 0 °C, DIEA (0.15 mL, 0.87 mmol) followed by propylphosphonic anhydride $T_3P^{\text{®}}$ (50% solution in DMF) (0.21 mL, 0.35 mmol). The reaction mixture was stirred at 25 °C overnight. Saturated Na_2CO_3 was added and the aqueous layer was extracted three times with dichloromethane (3x5 mL). The combined organic layers were washed with water (5 mL) and brine (2x5 mL), dried over Na_2SO_4 , filtered and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was purified on silica gel with CH_2Cl_2 /petroleum ether (8/2) as eluent to afford compound **107d** as a white solid (0.15 g, 80%).

mp: 148-150 °C.

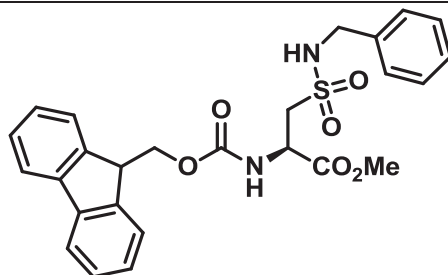
$[\alpha]_{Na}^{20} = +36.4$ (c = 0.50, $CHCl_3$)

IR (ATR, cm^{-1}) 3288, 3047, 2941, 1748, 1653, 1520, 1247, 733, 695.

1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.38-7.32 (m, 20H), 7.30-7.20 (m, 5H), 6.02 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz), 5.16 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 5.07 (t, 2H, $J = 13.4$ Hz), 4.46 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.66 (dd, 2H, $J = 5.2$ Hz, $J = 3.0$ Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170.3, 169.4, 155.6, 144.3, 137.7, 136.3, 129.6, 129.2, 128.8, 128.7, 128.3, 128.2, 128.1, 127.5, 127.1, 67.2, 67.1, 58.8, 52.8, 51.6, 33.5.

HRMS (ESI) $[M+H]^+$: 645.2430 observed, 645.2423 calculated for $C_{39}H_{37}N_2O_5S$.



108

Chemical Formula: $C_{26}H_{26}N_2O_6S$
Molecular Weight: 494,5594

Methyl 2-(*N*-Fmoc-amino)-3-(*N*-benzylsulfamoyl)propanoate. To a mixture of *N*-Fmoc-L-Cys(Trt)-OMe **107a** (0.26 g, 0.45 mmol) and water (24 μ L, 1.35 mmol) in acetonitrile (2 mL) at 0 $^{\circ}$ C, was added dropwise *t*-BuOCl (0.15 mL, 1.35 mmol). The reaction mixture was stirred at 0 $^{\circ}$ C for 15 min and benzylamine was added dropwise (0.19 mL, 1.80 mmol). The reaction medium was stirred for 10 min at 0 $^{\circ}$ C then was allowed to warm at room temperature and stirred for a further 30 min. The solvent was evaporated and the crude product purified on silica gel with petroleum ether / ethyl acetate (9:1) as an eluent. Compound **108** was obtained as white crystals (0.15 g, 70%).

mp: 140-142 $^{\circ}$ C.

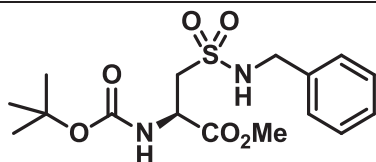
$[\alpha]_{Na}^{20} = +2.4$ ($c = 1.01$, $CHCl_3$).

IR (ATR, cm^{-1}) 3422, 3349, 2944, 1756, 1724, 1523, 1438 1321, 1126, 1058, 758, 728.

1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.72 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz), 7.55 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz), 7.36 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz), 7.26 (m, 7H), 5.90 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 5.15 (s, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.33 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz), 4.21 (d, 2H, $J = 5.4$ Hz), 4.19 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.46 (s, 2H).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 169.9, 156.2, 143.7, 141.4, 136.5, 129.0, 128.3, 128.2, 127.9, 127.3, 125.2, 120.2, 67.7, 53.4, 50.7, 47.3, 47.1, 29.9.

HRMS (ESI) $[M+NH_4]^+$: 512.1860 observed, 512.1855 calculated for $C_{26}H_{30}N_3O_6S$.



109

Chemical Formula: C₁₆H₂₄N₂O₆S

Molecular Weight: 372,4366

Synthesis of methyl 3-((*N*-benzylsulfamoyl)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propanoate. *N*-Boc-L-Cys(Trt)-OMe **107b** (0.10 g, 0.22 mmol) and water (12 μ L, 0.65 mmol) were stirred in a mixture of acetonitrile and THF (1.5 mL, 1:1). The reaction mixture was cooled to -10 °C then *t*-BuOCl (73 μ L, 0.65 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at -10 °C for 15 min and benzylamine (0.12 mL, 1.10 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred for 10 min at 0 °C then allowed to warm at room temperature and stirred for an additional 30 min. The solvent was removed under reduced pressure and the crude product was purified on silica gel with petroleum ether / ethyl acetate as an eluent (9:1). Compound **109** was obtained as white crystals (48 mg, 61%).

mp: 92-94 °C.

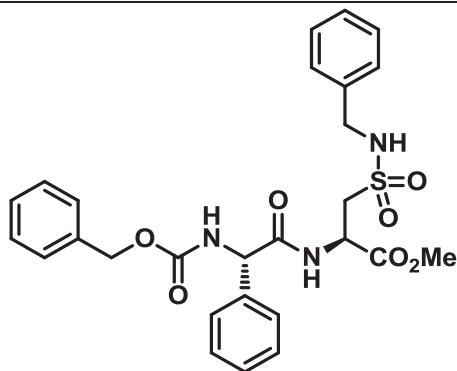
$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +15.5$ ($c = 1.03$, CHCl₃).

IR (ATR, cm⁻¹) 3374, 1728, 1683, 1519, 1251, 1139, 1051, 698, 549.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.44–7.21 (m, 5H), 5.65 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 5.42 (t, 1H, $J = 6.1$ Hz), 4.62 (s, 1H), 4.26 (d, 2H, $J = 6.2$ Hz), 3.73 (s, 3H), 3.49–3.42 (m, 2H), 1.42 (s, 9H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 170.2, 155.7, 136.7, 129.0, 128.1, 128.1, 81.0, 53.5, 53.2, 50.3, 47.3, 28.3.

HRMS (ESI) [M+H]⁺: 373.1444 observed, 373.1433 calculated for C₁₆H₂₅N₂O₆S.



110

Chemical Formula: $C_{27}H_{29}N_3O_7S$
Molecular Weight: 539,6001

Synthesis of Z-L-PheGly-L-Cys(SO₂NHBn)-OM. To a mixture of Z-L-PheGly-L-Cys(Trt)-OMe **104d** (0.15 g, 0.23 mmol) and water (13 μ L, 0.69 mmol) in acetonitrile was added dropwise *t*-BuOCl (78 μ L, 0.69 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 15 min and benzylamine (0.10 mL, 0.92 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred for 10 min at 0 °C then allowed to warm at room temperature and stirred for further 30 min. The solvent was removed and the crude product was purified on silica gel with Ethyl acetate/petroleum ether (2/8) as eluent. Compound **110** was obtained as white crystals (0.11 g, 88%).

mp: 78-80 °C.

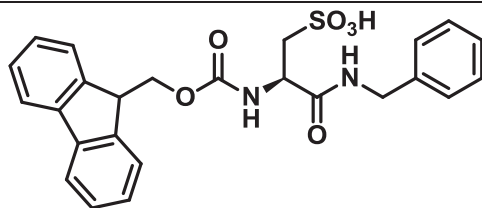
$[\alpha]_{Na}^{20} = +52.7$ ($c = 1.01$, $CHCl_3$).

IR (ATR, cm^{-1}) 3310, 3047, 2952, 1737, 1687, 1646, 1524, 1246, 1141, 695.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.37-7.29 (m, 15H), 7.02 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 5.80 (d, 1H, $J = 5.1$ Hz), 5.57 (s, 1H), 5.20 (d, 1H, $J = 6.1$ Hz), 4.97 (s, 2H), 4.24 (d, 2H, $J = 6.0$ Hz), 3.66 (s, 3H), 3.53 (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 170.7, 169.3, 156.0, 136.9, 136.4, 136.0, 129.3, 129.0, 128.9, 128.7, 128.4, 128.3, 128.1, 128.1, 127.6, 67.4, 59.3, 53.3, 52.6, 49.4, 47.3.

HRMS (ESI) $[M+H]^+$: 540.1790 observed, 540.1804 calculated for $C_{27}H_{30}N_3O_7S$.



113

Chemical Formula: C₂₅H₂₄N₂O₆S
Molecular Weight: 480,5329

Synthesis of *N*-2-Fmoc-amino-3-benzylamino-3-oxopropanesulfonate. To mixture of *N*-Fmoc-L-Cys-(Trt)-OH (0.20 g, 0.34 mmol) and water (20 μ L, 1.02 mmol) in acetonitrile was added dropwise *t*-BuOCl (0.11 mL, 1.02 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 15 min and pyridine (82 μ L, 1.02 mmol) was added dropwise followed by benzylamine (74 μ L, 0.68 mmol). The reaction mixture was stirred 10 min at 0 °C then allowed to reach room temperature and stirred for a further 30 min. The white precipitate was filtered off, and the filtrate was washed with petroleum ether. The acetonitrile layer was evaporated and the residue dissolved in water and extracted with dichloromethane. The aqueous solution was freeze-dried and the crude product obtained purified by means of preparative reversed-phase HPLC (68 mg, 40%).

mp: 148-150 °C.

$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -5.7$ (c = 1.05, MeOH).

IR (ATR, cm⁻¹) 3474, 3295, 1688, 1581, 1445, 1202, 1044, 757, 697, 620

¹H NMR (MeOD, 300 MHz) δ 7.78 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz), 7.67 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.40-7.35 (m, 4H), 7.31- 7.19 (m, 5H), 4.59 (m, 1H), 4.33 (d, 2H, *J* = 6.2 Hz), 4.22 (m, 1H), 4.10 (s, 2H), 3.32- 3.15 (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD) δ 158.3, 145.3, 145.2, 142.5, 139.7, 129.5, 128.8, 128.4, 128.2, 128.1, 126.4, 120.9, 68.4, 54.1, 52.9, 48.3, 44.3.

HRMS (ESI) [M-H]: 479.1283 observed, 479.1277 calculated for C₂₅H₂₃N₂O₆S.

Bibliographie

1. Anger, H. O., Scintillation Camera. *Rev. Sci. Instrum.* **1958**, *29*, 27-33.
2. Cormack, A. M., Representation of a Function by Its Line Integrals, with Some Radiological Applications. II. *J. Appl. Phys.* **1964**, *35*, 2908-2913.
3. Hounsfield, G. N., Computerized transverse axial scanning (tomography): Part 1. Description of system. *Br. J. Radiol.* **1973**, *46*, 1016-1022.
4. (a) G., S., Über Desensibilisierung gegen Röntgen- und Radiumstrahlen. *Münchener Medizinische Wochenschrift* **1909**, *24*, 1-2; (b) Mottram, J. C., A Factor of Importance in the Radio Sensitivity of Tumours. *Br. J. Radiol.* **1936**, *9*, 606-614.
5. (a) Brizel, D. M.; Scully, S. P.; Harrelson, J. M.; Layfield, L. J.; Bean, J. M.; Prosnitz, L. R.; Dewhirst, M. W., Tumor Oxygenation Predicts for the Likelihood of Distant Metastases in Human Soft Tissue Sarcoma. *Cancer Res.* **1996**, *56*, 941-943; (b) Graeber, T. G.; Osmanian, C.; Jacks, T.; Housman, D. E.; Koch, C. J.; Lowe, S. W.; Giaccia, A. J., Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature* **1996**, *379*, 88-91.
6. Gatenby, R. A.; Kessler, H. B.; Rosenblum, J. S.; Coia, L. R.; Moldofsky, P. J.; Hartz, W. H.; Broder, G. J., Oxygen distribution in squamous cell carcinoma metastases and its relationship to outcome of radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **1988**, *14*, 831-838.
7. Semenza, G. L.; Wang, G. L., A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol. Cell. Biol.* **1992**, *12*, 5447-5454.
8. Okuda, K.; Okabe, Y.; Kadonosono, T.; Ueno, T.; Youssif, B. G. M.; Kizaka-Kondoh, S.; Nagasawa, H., 2-Nitroimidazole-Tricarbo-cyanine Conjugate as a Near-Infrared Fluorescent Probe for in Vivo Imaging of Tumor Hypoxia. *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 324-329.
9. Chapman, J. D., Hypoxic Sensitizers — Implications for Radiation Therapy. *N. Engl. J. Med.* **1979**, *301*, 1429-1432.
10. Nakamura, S.; Umezawa, H., Structure of azomycin (2-nitro-imidazole). *J. Antibiot.* **1955**, *8*, 66-66.
11. Nunn, A.; Linder, K.; Strauss, H. W., Nitroimidazoles and imaging hypoxia. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **1995**, *22*, 265-280.
12. (a) Jette, D. C.; Wiebe, L. I.; Flanagan, R. J.; Lee, J.; Chapman, J. D., Iodoazomycin Riboside (1-(5'-Iodo-5'-Deoxyribofuranosyl)-2-Nitroimidazole), a Hypoxic

Bibliographie

- Cell Marker: I. Synthesis and in Vitro Characterization. *Radiat. Res.* **1986**, *105*, 169-179; (b) Mannan, R. H.; Somayaji, V. V.; Lee, J.; Mercer, J. R.; Chapman, J. D.; Wiebe, L. I., Radioiodinated 1-(5-Iodo-5-deoxy- β -D-arabinofuranosyl)-2-nitroimidazole (Iodoazomycin Arabinoside: IAZA): A Novel Marker of Tissue Hypoxia. *J. Nucl. Med.* **1991**, *32*, 1764-1770; (c) Parliament, M. B.; Chapman, J. D.; Urtasun, R. C.; McEwan, A. J.; Golberg, L.; Mercer, J. R.; Mannan, R. H.; Wiebe, L. I., Non-invasive assessment of human tumour hypoxia with ^{123}I -iodoazomycin arabinoside: preliminary report of a clinical study. *Br. J. Cancer* **1992**, *65*, 90-95.
13. Schneider, R. F.; Engelhardt, E. L.; Stobbe, C. C.; Fenning, M. C.; Chapman, J. D., The synthesis and radiolabelling of novel markers of tissue hypoxia of the iodinated azomycin nucleoside class. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1997**, *39*, 541-557.
14. Linder, K. E.; Chan, Y. W.; Cyr, J. E.; Nowotnik, D. P.; Eckelman, W. C.; Nunn, A. D., Synthesis, characterization, and in vitro evaluation of nitroimidazole-BATO complexes: New technetium compounds designed for imaging hypoxic tissue. *Bioconjugate Chem.* **1993**, *4*, 326-333.
15. Neumeier, R.; Kramp, W.; Macke, H. Chelates for complexation of radioactive isotopes, their metal complexes and their use in diagnosis and therapy. US5302370(A), **1990**.
16. Linder, K. E.; Chan, Y. W.; Cyr, J. E.; Malley, M. F.; Nowotnik, D. P.; Nunn, A. D., TcO(PnAO-1-(2-nitroimidazole)) [BMS-181321], a new technetium-containing nitroimidazole complex for imaging hypoxia: synthesis, characterization, and xanthine oxidase-catalyzed reduction. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 9-17.
17. (a) Dierckx, R.; Wiele, C., FDG uptake, a surrogate of tumour hypoxia? *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2008**, *35*, 1544-1549; (b) Christian, N.; Deheneffe, S.; Bol, A.; De Bast, M.; Labar, D.; Lee, J. A.; Grégoire, V., Is ^{18}F -FDG a surrogate tracer to measure tumor hypoxia? Comparison with the hypoxic tracer ^{14}C -EF3 in animal tumor models. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* **2010**, *97*, 183-188.
18. (a) Fujibayashi, Y.; Taniuchi, H.; Yonekura, Y.; Ohtani, H.; Konishi, J.; Yokoyama, A., Copper-62-ATSM: A New Hypoxia Imaging Agent with High Membrane Permeability and Low Redox Potential. *J. Nucl. Med.* **1997**, *38*, 1155-1160; (b) Taniuchi, H.; Fujibayashi, Y.; Yonekura, Y.; Konishi, J.; Yokoyama, A., Hyperfixation of Copper-62-PTSM in Rat Brain After Transient Global Ischemia. *J. Nucl. Med.* **1997**, *38*, 1130-1134; (c) Vavere, A. L.; Lewis, J. S., Cu-ATSM: A radiopharmaceutical for the PET imaging of hypoxia. *Dalton Transactions* **2007**, 4893-4902.
19. Archer, C. M.; Edwards, B.; Kelly, J. D.; King, A. C.; Burke, J. F.; Riley, A. L. M., Technetium and rhenium in chemistry and nuclear medicine. **1995**, 535.
20. Perrier, C.; Segre, E., Some Chemical Properties of Element 43. *The Journal of Chemical Physics* **1937**, *5*, 712-716.

Bibliographie

21. R. Dilworth, J.; J. Parrott, S., The biomedical chemistry of technetium and rhenium. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 43-55.
22. Richards, P., A survey of the production at Brookhaven National Laboratory for medical research. In *7th Int. Electronic Nuclear Symposium*, Trans. 5th Nuclear Congress: Rome, **1960**; p 255.
23. Volkert, W. A.; Hoffman, T. J.; Seger, R. M.; Troutner, D. E.; Holmes, R. A., ^{99m}Tc-propylene amine oxime (^{99m}Tc-PnAO); a potential brain radiopharmaceutical. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **1984**, *9*, 511-516.
24. (a) Abrams, M. J.; Juweid, M.; tenKate, C. I.; Schwartz, D. A.; Hauser, M. M.; Gaul, F. E.; Fuccello, A. J.; Rubin, R. H.; Strauss, H. W.; Fischman, A. J., Technetium-^{99m}-Human Polyclonal IgG Radiolabeled via the Hydrazino Nicotinamide Derivative for Imaging Focal Sites of Infection in Rats. *J. Nucl. Med.* **1990**, *31*, 2022-2028; (b) Schwartz, D. A.; Abrams, M. J.; Hauser, M. M.; Gaul, F. E.; Larsen, S. K.; Rauh, D.; Zubieta, J. A., Preparation of hydrazino-modified proteins and their use for the synthesis of technetium-^{99m}-protein conjugates. *Bioconjugate Chem.* **1991**, *2*, 333-336.
25. Fonge, H.; de Saint Hubert, M.; Vunckx, K.; Rattat, D.; Nuyts, J.; Bormans, G.; Ni, Y.; Reutelingsperger, C.; Verbruggen, A., Preliminary in vivo evaluation of a novel ^{99m}Tc-Labeled HYNIC-cys-annexin A5 as an apoptosis imaging agent. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 3794-3798.
26. (a) Babich, J. W.; Solomon, H.; Pike, M. C.; Kroon, D.; Graham, W.; Abrams, M. J.; Tompkins, R. G.; Rubin, R. H.; Fischman, A. J., Technetium-^{99m}-Labeled Hydrazino Nicotinamide Derivatized Chemotactic Peptide Analogs for Imaging Focal Sites of Bacterial Infection. *J. Nucl. Med.* **1993**, *34*, 1964-1974; (b) Liu, S.; Edwards, D. S.; Looby, R. J.; Harris, A. R.; Poirier, M. J.; Barrett, J. A.; Heminway, S. J.; Carroll, T. R., Labeling a Hydrazino Nicotinamide-Modified Cyclic IIb/IIIa Receptor Antagonist with ^{99m}Tc Using Aminocarboxylates as Coligands. *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 63-71; (c) Liu, S.; Hsieh, W.-Y.; Jiang, Y.; Kim, Y.-S.; Sreerama, S. G.; Chen, X.; Jia, B.; Wang, F., Evaluation of a ^{99m}Tc-Labeled Cyclic RGD Tetramer for Noninvasive Imaging Integrin $\alpha v \beta 3$ -Positive Breast Cancer. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 438-446.
27. Meszaros, L. K.; Dose, A.; Biagini, S. C. G.; Blower, P. J., Hydrazinonicotinic acid (HYNIC) - Coordination chemistry and applications in radiopharmaceutical chemistry. *Inorg. Chim. Acta* **2010**, *363*, 1059-1069.
28. Davison, A.; Jones, A. G.; Orvig, C.; Sohn, M., A new class of oxotechnetium(5+) chelate complexes containing a TcON₂S₂ core. *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 1629-1632.
29. Najafi, A.; Alauddin, M. M.; Siegel, M. E.; Epstein, A. L., Synthesis and preliminary evaluation of a new chelate N₂S₄ for use in labeling proteins with metallic radionuclides. *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B.* **1991**, *18*, 179-185.
30. (a) Fritzberg, A. R.; Kasina, S.; Eshima, D.; Johnson, D. L., Synthesis and Biological Evaluation of Technetium-^{99m} MAG3 as a Hippuran Replacement. *J. Nucl. Med.* **1986**, *27*, 111-116; (b) Brandau, W.; Bubeck, B.; Eisenhut, M.; Taylor, D. M.,

Bibliographie

Technetium-99m labeled renal function and imaging agents: III. Synthesis of ^{99m}Tc-MAG3 and biodistribution of by-products. *Int. J. Rad. Appl. Instrum. [A]*. **1988**, *39*, 121-129.

31. Guhlke, S.; Schaffland, A.; Zamora, P. O.; Sartor, J.; Diekmann, D.; Bender, H.; Knapp, F. F.; Biersack, H. J., 188Re- and ^{99m}Tc-MAG3 as prosthetic groups for labeling amines and peptides: Approaches with pre- and postconjugate labeling. *Nucl. Med. Biol.* **1998**, *25*, 621-631.

32. (a) Pearson, D. A.; Lister-James, J.; McBride, W. J.; Wilson, D. M.; Martel, L. J.; Civitello, E. R.; Taylor, J. E.; Moyer, B. R.; Dean, R. T., Somatostatin Receptor-Binding Peptides Labeled with Technetium-99m: Chemistry and Initial Biological Studies. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1361-1371; (b) Pearson, D. A.; Lister-James, J.; McBride, W. J.; Wilson, D. M.; Martel, L. J.; Civitello, E. R.; Dean, R. T., Thrombus Imaging Using Technetium-99m-Labeled High-Potency GPIIb/IIIa Receptor Antagonists. Chemistry and Initial Biological Studies. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1372-1382.

33. Seifert, S.; Pietzsch, H.-J.; Scheunemann, M.; Spies, H.; Syhre, R.; Johannsen, B., No carrier added preparations of '3 + 1' mixed-ligand ^{99m}Tc complexes. *Appl. Radiat. Isot.* **1998**, *49*, 5-11.

34. (a) Mallia, M. B.; Subramanian, S.; Mathur, A.; Sarma, H. D.; Venkatesh, M.; Banerjee, S., Comparing hypoxia-targeting potential of ^{99m}Tc(CO)₃-labeled 2-nitro and 4-nitroimidazole. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2008**, *51*, 308-313; (b) Mallia, M. B.; Subramanian, S.; Mathur, A.; Sarma, H. D.; Venkatesh, M.; Banerjee, S., Synthesis and evaluation of 2-, 4-, 5-substituted nitroimidazole-iminodiacetic acid-^{99m}Tc(CO)₃ complexes to target hypoxic tumors. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 535-542.

35. Perlman, M. E.; Dunn, J. A.; Piscitelli, T. A.; Earle, J.; Rose, W. C.; Wampler, G. L.; MacDiarmid, J. E.; Bardos, T. J., Synthesis of potential dual-acting radiation sensitizer antineoplastic agents: 2,2-dimethylphosphoraziridines containing 2-nitroimidazoles or other electron-affinic moieties. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1400-1407.

36. (a) Hay, M. P.; Wilson, W. R.; Moselen, J. W.; Palmer, B. D.; Denny, W. A., Hypoxia-selective antitumor agents. 8. Bis(nitroimidazolyl)alkanecarboxamides: a new class of hypoxia-selective cytotoxins and hypoxic cell radiosensitizers. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 381-391; (b) Su, Z.-F.; Zhang, X.; Ballinger, J. R.; Rauth, A. M.; Pollak, A.; Thornback, J. R., Synthesis and Evaluation of Two Technetium-99m-Labeled Peptidic 2-Nitroimidazoles for Imaging Hypoxia. *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 897-904.

37. Bridger, G. J.; Abrams, M. J.; Padmanabhan, S.; Gaul, F.; Larsen, S.; Henson, G. W.; Schwartz, D. A.; Longley, C. B.; Burton, C. A.; Ultee, M. E., A Comparison of Cleavable and Noncleavable Hydrazinopyridine Linkers for the ^{99m}Tc Labeling of Fab' Monoclonal Antibody Fragments. *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 255-264.

38. Yap, S.; Woodman, O. L.; Crack, P. J.; Williams, S. J., Synthesis of a hypoxia-targeted conjugate of the cardioprotective agent 3',4'-dihydroxyflavonol and evaluation of its ability to reduce ischaemia/reperfusion injury. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 5102-5106.

39. (a) Kobychhev, V. B.; Vitkovskaya, N. M.; Klyba, N. S.; Trofimov, B. A., Acetylene-allene rearrangement of propargyl systems X—CH₂—C≡CH (X = H, Me, NMe₂, OMe, F, SMe): an ab initio study. *Russ. Chem. Bull.* **2002**, *51*, 774-782; (b) Hashmi, A. S. K., Synthesis of Allenes by Isomerization Reactions. In *Modern Allene Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH: **2008**; pp 2-50.
40. Bunzen, J.; Hapke, M.; Lützen, A., The Influence of Different Spacer Lengths on the Selectivity of Self-Assembly Processes of Bis(bipyridine)-BINOL Helicates. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3885-3894.
41. Cebrowski, P. H.; Roveda, J.-G.; Moran, J.; Gorelsky, S. I.; Beauchemin, A. M., Intermolecular Cope-type hydroamination of alkynes using hydrazines. *Chem. Commun.* **2008**, 492-493.
42. Ramesh, C.; Nayak, T. K.; Burai, R.; Dennis, M. K.; Hathaway, H. J.; Sklar, L. A.; Prossnitz, E. R.; Arterburn, J. B., Synthesis and Characterization of Iodinated Tetrahydroquinolines Targeting the G Protein-Coupled Estrogen Receptor GPR30. *J. Med. Chem.* **2009**, *53*, 1004-1014.
43. Babich, J. W.; Graham, W.; Barrow, S. A.; Fischman, A. J., Comparison of the infection imaging properties of a ^{99m}Tc labeled chemotactic peptide with ¹¹¹In IgG. *Nucl. Med. Biol.* **1995**, *22*, 643-648.
44. (a) Liu, S.; Ziegler, M. C.; Edwards, D. S., Radio-LC-MS for the Characterization of ^{99m}Tc-Labeled Bioconjugates. *Bioconjugate Chem.* **1999**, *11*, 113-117; (b) Decristoforo, C.; Mather, S. J., Technetium-99m somatostatin analogues: effect of labelling methods and peptide sequence. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **1999**, *26*, 869-876; (c) Decristoforo, C.; Faintuch-Linkowski, B.; Rey, A.; von Guggenberg, E.; Rupprich, M.; Hernandez-Gonzales, I.; Rodrigo, T.; Haubner, R., [^{99m}Tc]HYNIC-RGD for imaging integrin αvβ3 expression. *Nucl. Med. Biol.* **2006**, *33*, 945-952; (d) Edwards, D. S.; Liu, S.; Harris, A. R.; Poirier, M. J.; Ewels, B. A., ^{99m}Tc-Labeling of Hydrazones of a Hydrazinonicotinamide Conjugated Cyclic Peptide. *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 803-807.
45. (a) Santos-Cuevas, C. L.; Ferro-Flores, G.; Arteaga de Murphy, C.; Pichardo-Romero, P. A., Targeted imaging of gastrin-releasing peptide receptors with ^{99m}Tc-EDDA/HYNIC-[Lys3]-bombesin: biokinetics and dosimetry in women. *Nucl. Med. Commun.* **2008**, *29*, 741-747 10.1097/MNM.0b013e3282ffb45c; (b) Ferro-Flores, G.; de Murphy, C. A.; Rodríguez-Cortes, J.; Pedraza-Lopez, M.; Ramírez-Iglesias, M. a. T., Preparation and evaluation of ^{99m}Tc-EDDA/HYNIC-[Lys3]-bombesin for imaging gastrin-releasing peptide receptor-positive tumours. *Nucl. Med. Commun.* **2006**, *27*, 371-376.
46. Dijkgraaf, I.; Kruijtzter, J. W.; Liu, S.; Soede, A.; Oyen, W. G.; Corstens, F. M.; Liskamp, R. J. Boerman, O., Improved targeting of the αvβ3 integrin by multimerisation of RGD peptides. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2007**, *34*, 267-273.

Bibliographie

47. Liu, S.; Hsieh, W.-Y.; Kim, Y.-S.; Mohammed, S. I., Effect of Coligands on Biodistribution Characteristics of Ternary Ligand ^{99m}Tc Complexes of a HYNIC-Conjugated Cyclic RGDfK Dimer. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 1580-1588.
48. Steigman, J.; Eckelman, W. C.; Hahn, R. L., *The chemistry of technetium in medicine*. National Academy Press Washington, DC, **1992**.
49. Larsen, S. K.; Solomon, H. F.; Caldwell, G.; Abrams, M. J., [^{99m}Tc]Tricine: a Useful Precursor Complex for the Radiolabeling of Hydrazinonicotinate Protein Conjugates. *Bioconjugate Chem.* **1995**, *6*, 635-638.
50. Liu, L.; Zhang, M.; Zhong, G.; Wang, X., Synthesis and biodistribution of a novel ^{99m}Tc complex of HYNIC-conjugated metronidazole as a potential tumor hypoxia imaging agent. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2011**, *287*, 847-852.
51. Squella, J. A.; Campero, A.; Maraver, J.; Carbajo, J., Electrochemical reduction of 2-nitroimidazole in aprotic medium: Influence of its dissociation equilibrium on the reduction mechanism. *Electrochim. Acta* **2006**, *52*, 511-518.
52. Zhang, X.; Su, Z.-F.; Ballinger, J. R.; Rauth, A. M.; Pollak, A.; Thornback, J. R., Targeting Hypoxia in Tumors Using 2-Nitroimidazoles with Peptidic Chelators for Technetium-99m: Effect of Lipophilicity. *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 401-407.
53. Atherton, E.; Sheppard, R. C., The fluorenylmethoxycarbonyl amino protecting group. In *The Peptides*, Academic Press ed.; Udenfriend, S. a. M., J., Ed. Academic Press: New-York, **1987**; Vol. 9, pp 1-38.
54. (a) Liu, S.; Edwards, D. S., ^{99m}Tc -Labeled Small Peptides as Diagnostic Radiopharmaceuticals. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2235-2268; (b) Cantorias, M. V.; Howell, R. C.; Todaro, L.; Cyr, J. E.; Berndorff, D.; Rogers, R. D.; Francesconi, L. C., MO Tripeptide Diastereomers (M = $^{99}/^{99m}\text{Tc}$, Re): Models To Identify the Structure of ^{99m}Tc Peptide Targeted Radiopharmaceuticals. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 7326-7340.
55. (a) Stepniak-Biniakiewicz, D.; Chen, B.; Deutsch, E., A new, general synthetic route to multidentate N,S ligands for use in technetium-99m radiopharmaceuticals. Preparation of diamido disulfur, diamino dithiol, and tripodal N3S3 prototypes. Comparative biodistributions of [$^{99m}\text{TcVO}$ -DADS]- analogs which contain 5,5,5- and 5,7,5-membered chelate ring systems. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 274-279; (b) Rajagopalan, R.; Grummon, G. D.; Bugaj, J.; Hallemann, L. S.; Webb, E. G.; Marmion, M. E.; Vanderheyden, J.-L.; Srinivasan, A., Preparation, Characterization, and Biological Evaluation of Technetium(V) and Rhenium(V) Complexes of Novel Heterocyclic Tetradentate N3S Ligands. *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 407-415.
56. Rouschias, G., Recent advances in the chemistry of rhenium. *Chem. Rev.* **1974**, *74*, 531-566.
57. Wong, E.; Fauconnier, T.; Bennett, S.; Valliant, J.; Nguyen, T.; Lau, F.; Lu, L. F. L.; Pollak, A.; Bell, R. A.; Thornback, J. R., Rhenium(V) and Technetium(V) Oxo

Complexes of an N₂N'S Peptidic Chelator: Evidence of Interconversion between the Syn and Anti Conformations. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5799-5808.

58. (a) Mei, L.; Wang, Y.; Chu, T., 99mTc/Re complexes bearing bisnitroimidazole or mononitroimidazole as potential bioreductive markers for tumor: Synthesis, physicochemical characterization and biological evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *58*, 50-63; (b) Huang, H.; Zhou, H.; Li, Z.; Wang, X.; Chu, T., Effect of a second nitroimidazole redox centre on the accumulation of a hypoxia marker: Synthesis and in vitro evaluation of 99mTc-labeled bisnitroimidazole propylene amine oxime complexes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 172-177.

59. (a) Pham, W.; Choi, Y.; Weissleder, R.; Tung, C.-H., Developing a Peptide-Based Near-Infrared Molecular Probe for Protease Sensing. *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 1403-1407; (b) Wuest, M.; Wuest, F., Positron emission tomography radiotracers for imaging hypoxia. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2013**, *56*, 244-250.

60. (a) Fried, J.; Mitra, D. K.; Nagarajan, M.; Mehrotra, M. M., 10,10-Difluoro-13-dehydroprostacyclin: a chemically and metabolically stabilized potent prostacyclin. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 234-237; (b) Rowley, M.; Hallett, D. J.; Goodacre, S.; Moyes, C.; Crawforth, J.; Sparey, T. J.; Patel, S.; Marwood, R.; Patel, S.; Thomas, S.; Hitzel, L.; O'Connor, D.; Szeto, N.; Castro, J. L.; Hutson, P. H.; MacLeod, A. M., 3-(4-Fluoropiperidin-3-yl)-2-phenylindoles as High Affinity, Selective, and Orally Bioavailable h5-HT_{2A} Receptor Antagonists†. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1603-1614; (c) Wolff, M. E.; Baxter, J. D.; Kollman, P. A.; Lee, D. L.; Kuntz, I. D.; Bloom, E.; Matulich, D. T.; Morris, J., Nature of steroid-glucocorticoid receptor interactions: thermodynamic analysis of the binding reaction. *Biochemistry (Mosc).* **1978**, *17*, 3201-3208.

61. Schubiger, P. A.; Lehmann, L.; Friebe, M., *PET chemistry the driving force in molecular imaging*. Springer: Berlin, **2007**; p 1 vol. (XII-339 p.).

62. (a) Firnau, G.; Chirakal, R.; Garnett, E. S., Aromatic Radiofluorination with [18F]Fluorine Gas: 6-[18F]Fluoro-L-Dopa. *J. Nucl. Med.* **1984**, *25*, 1228-1233; (b) Chirakal, R.; Firnau, G.; Garnett, E. S., High Yield Synthesis of 6-[18F]Fluoro-L-Dopa. *J. Nucl. Med.* **1986**, *27*, 417-421; (c) Forsback, S.; Eskola, O.; Haaparanta, M.; Bergmann, J.; Solin, O., Electrophilic synthesis of 6-[18F]fluoro-L-DOPA using post-target produced [18F]F₂. *Radiochimica Acta* **2008**, *96* (12), 845-848; (d) Forsback, S.; Eskola, O.; Bergman, J.; Haaparanta, M.; Solin, O., Alternative solvents for electrophilic synthesis of 6-[18F]fluoro-L-DOPA. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2009**, *52*, 286-288.

63. (a) Eskola, O.; Grönroos, T.; Bergman, J.; Haaparanta, M.; Marjamäki, P.; Lehtikoinen, P.; Forsback, S.; Langer, O.; Hinnen, F.; Dollé, F.; Halldin, C.; Solin, O., A novel electrophilic synthesis and evaluation of medium specific radioactivity (1R,2S)-4-[18F]fluorometaraminol, a tracer for the assessment of cardiac sympathetic nerve integrity with PET. *Nucl. Med. Biol.* **2004**, *31*, 103-110; (b) Dolle, F.; Demphel, S.; Hinnen, F.; Fournier, D.; Vaufrey, F.; Crouzel, C., 6-[18F]Fluoro-L-DOPA by radiofluorodestannylation: a short and simple synthesis of a new labelling precursor. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1998**, *41*, 105-114; (c) Hess, E.; Sichler, S.; Kluge, A.; Coenen, H. H., Synthesis of 2-[18F]fluoro-L-tyrosine via regioselective fluoro-de-stannylation. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57*, 185-191.

64. (a) Oberdorfer, F.; Hofmann, E.; Maier-Borst, W., Preparation of ^{18}F -labelled N-fluoropyridinium triflate. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1988**, *25*, 999-1005; (b) Oberdorfer, F.; Hofmann, E.; Maier-Borst, W., Preparation of a new ^{18}F -labelled precursor: 1- ^{18}F fluoro-2-pyridone. *Int. J. Rad. Appl. Instrum. [A]*. **1988**, *39*, 685-688; (c) Teare, H.; Robins, E. G.; Arstad, E.; Luthra, S. K.; Gouverneur, V., Synthesis and reactivity of ^{18}F -N-fluorobenzenesulfonimide. *Chem. Commun.* **2007**, 2330-2332.
65. Teare, H.; Robins, E. G.; Kirjavainen, A.; Forsback, S.; Sandford, G.; Solin, O.; Luthra, S. K.; Gouverneur, V., Radiosynthesis and Evaluation of ^{18}F Selectfluor bis(triflate). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6821-6824.
66. Chirakal, R.; Firna, G.; Garnett, E. S., Sequential production of electrophilic and nucleophilic fluorinating agents from ^{18}F fluorine gas. *Appl. Radiat. Isot.* **1988**, *39*, 1099-1101.
67. Bergman, J.; Solin, O., Fluorine-18-labeled fluorine gas for synthesis of tracer molecules. *Nucl. Med. Biol.* **1997**, *24*, 677-683.
68. (a) Grierson, J. R. Shields, A. F., Radiosynthesis of 3'-deoxy-3'- ^{18}F fluorothymidine: ^{18}F FLT for imaging of cellular proliferation in vivo. *Nucl. Med. Biol.* **2000**, *27*, 143-156; (b) Oh, S. J.; Mosdzianowski, C.; Chi, D. Y.; Kim, J. Y.; Kang, S. H.; Ryu, J. S. Yeo, J. S. Moon, D. H., Fully automated synthesis system of 3'-deoxy-3'- ^{18}F fluorothymidine. *Nucl. Med. Biol.* **2004**, *31*, 803-809.
69. Grierson, J. R.; Link, J. M.; Mathis, C. A.; Rasey, J. S.; Krohn, K. A., A Radiosynthesis of Fluorine-18 Fluoromisonidazole. *J. Nucl. Med.* **1989**, *30*, 343-350.
70. Okarvi, S., Recent progress in fluorine-18 labelled peptide radiopharmaceuticals. *Eur. J. Nucl. Med.* **2001**, *28*, 929-938.
71. Clark, J. H., Fluoride ion as a base in organic synthesis. *Chem. Rev.* **1980**, *80* (5), 429-452.
72. (a) Pilcher, A. S.; Ammon, H. L.; DeShong, P., Utilization of Tetrabutylammonium Triphenylsilyldifluoride as a Fluoride Source for Nucleophilic Fluorination. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5166-5167; (b) Brodack, J. W.; Dence, C. S.; Kilbourn, M. R.; Welch, M. J., Robotic production of 2-deoxy-2- ^{18}F fluoro-d-glucose: A routine method of synthesis using tetrabutylammonium ^{18}F fluoride. *Appl. Radiat. Isot.* **1988**, *39*, 699-703.
73. Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G., Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2- ^{18}F -Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution. *J. Nucl. Med.* **1986**, *27*, 235-238.
74. (a) Kim, D. W.; Ahn, D.-S.; Oh, Y.-H.; Lee, S.; Kil, H. S.; Oh, S. J.; Lee, S. J.; Kim, J. S.; Ryu, J. S.; Moon, D. H.; Chi, D. Y., A New Class of $\text{S}_{\text{N}}2$ Reactions Catalyzed by Protic Solvents: Facile Fluorination for Isotopic Labeling of Diagnostic Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16394-16397; (b) Kim, D. W.; Jeong, Lim, S. T.; Sohn, M.-H.; Katzenellenbogen, J. A.; Chi, D. Y., Facile Nucleophilic Fluorination Reactions Using tert-

Alcohols as a Reaction Medium: Significantly Enhanced Reactivity of Alkali Metal Fluorides and Improved Selectivity. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 957-962.

75. (a) J. Adams, D.; H. Clark, J., Nucleophilic routes to selectively fluorinated aromatics. *Chem. Soc. Rev.* **1999**, *28*, 225-231; (b) Tredwell, M.; Gouverneur, V., 18F Labeling of Arenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11426-11437.

76. (a) Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R., Labeling proteins with fluorine-18 using N-succinimidyl 4-[18F]fluorobenzoate. *Nucl. Med. Biol.* **1992**, *19*, 275-281; (b) Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R., Improved Synthesis of N-Succinimidyl 4-[18F]Fluorobenzoate and Its Application to the Labeling of a Monoclonal Antibody Fragment. *Bioconjugate Chem.* **1994**, *5*, 352-356.

77. Mu, L.; Höhne, A.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M.; Graham, K.; Cyr, J. E.; Dinkelborg, L.; Stellfeld, T.; Srinivasan, A.; Voigtmann, U.; Klar, U., Silicon-Based Building Blocks for One-Step 18F-Radiolabeling of Peptides for PET Imaging. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4922-4925.

78. Hoigebazar, L.; Jeong, J. M.; Lee, J.-Y.; Shetty, D.; Yang, B. Y.; Lee, Y.-S.; Lee, D. S.; Chung, J.-K.; Lee, M. C., Syntheses of 2-Nitroimidazole Derivatives Conjugated with 1,4,7-Triazacyclononane-N,N'-Diacetic Acid Labeled with F-18 Using an Aluminum Complex Method for Hypoxia Imaging. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3155-3162.

79. Ting, R.; Harwig, C. W.; Lo, J.; Li, Y.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M., Substituent Effects on Aryltrifluoroborate Solvolysis in Water: Implications for Suzuki–Miyaura Coupling and the Design of Stable 18F-Labeled Aryltrifluoroborates for Use in PET Imaging. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4662-4670.

80. Rosenthal, M. S.; Bosch, A. L.; Nickles, R. J.; Gatley, S. J., *Synthesis and some characteristics of no-carrier added [18F]fluorotrimethylsilane*. **1985**; Vol. 36, p 318-9.

81. Rösch, L.; John, P.; Reitmeier, R., Silicon Compounds, Organic. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: **2000**.

82. Schirmacher, R.; Bradtmöller, G.; Schirmacher, E.; Thews, O.; Tillmanns, J.; Siessmeier, T.; Buchholz, H. G.; Bartenstein, P.; Wängler, B.; Niemeyer, C. M.; Jurkschat, K., 18F-Labeling of Peptides by means of an Organosilicon-Based Fluoride Acceptor. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6047-6050.

83. Schirmacher, E.; Wängler, B.; Cypryk, M.; Bradtmöller, G.; Schäfer, M.; Eisenhut, M.; Jurkschat, K.; Schirmacher, R., Synthesis of p-(Di-tert-butyl[18F]fluorosilyl)benzaldehyde ([18F]SiFA-A) with High Specific Activity by Isotopic Exchange: A Convenient Labeling Synthone for the 18F-Labeling of N-amino-oxy Derivatized Peptides. *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 2085-2089.

84. H hne , A.; Mu, L.; Honer, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; Klar, U.; Voigtmann, U.; Cyr, J. E.; Friebe, M.; Dinkelborg, L.; Srinivasan, A., Synthesis, 18F-Labeling, and in Vitro and in Vivo Studies

of Bombesin Peptides Modified with Silicon-Based Building Blocks. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1871-1879.

85. (a) Smith, T. A. D., [18F]Fluoride labelling of macromolecules in aqueous conditions: silicon and boron-based [18F]fluorine acceptors, [18F]FDG conjugation and Al18F chelation. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2012**, *55*, 281-288; (b) Wängler, C.; Kostikov, A.; Zhu, J.; Chin, J.; Wängler, B.; Schirmacher, R., Silicon-[18F]Fluorine Radiochemistry: Basics, Applications and Challenges. *Appl. Sci.* **2012**, *2*, 277-302.

86. Kostikov, A. P.; Iovkova, L.; Chin, J.; Schirmacher, E.; Wängler, B.; Wängler, C.; Jurkschat, K.; Cosa, G.; Schirmacher, R., N-(4-(di-tert-butyl[18F]fluorosilyl)benzyl)-2-hydroxy-N,N-dimethylethylammonium bromide ([18F]SiFAN+Br⁻): A novel lead compound for the development of hydrophilic SiFA-based prosthetic groups for 18F-labeling. *J. Fluorine Chem.* **2011**, *132*, 27-34.

87. Bohn, P.; Deyine, A.; Azzouz, R.; Bailly, L.; Fiol-Petit, C.; Bischoff, L.; Fruit, C.; Marsais, F.; Vera, P., Design of silicon-based misonidazole analogues and 18F-radiolabelling. *Nucl. Med. Biol.* **2009**, 895-905.

88. Masaoka, S.; Banno, T.; Ishikawa, M., The synthesis of chlorosilanes from alkoxysilanes, silanols, and hydrosilanes with bulky substituents. *J. Organomet. Chem.* **2006**, *691*, 174-181.

89. (a) Godula, K.; Rabuka, D.; Nam, K. T.; Bertozzi, C. R., Synthesis and Microcontact Printing of Dual End-Functionalized Mucin-like Glycopolymers for Microarray Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4973-4976; (b) Nakazawa, J.; Stack, T. D. P., Controlled Loadings in a Mesoporous Material: Click-on Silica. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14360-14361.

90. Hsiao, Y.; Hegedus, L. S., Synthesis of Optically Active Imidazolines, Azapenamams, Dioxocyclams, and Bis-dioxocyclams. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3586-3591.

91. (a) Roychowdhury, A.; Illangkoon, H.; Hendrickson, C. L.; Benner, S. A., 2'-Deoxycytidines Carrying Amino and Thiol Functionality: Synthesis and Incorporation by Vent (Exo-) Polymerase. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 489-492; (b) Saito, Y.; Matsumoto, K.; Bag, S. S.; Ogasawara, S.; Fujimoto, K.; Hanawa, K.; Saito, I., C8-alkynyl- and alkylamino substituted 2'-deoxyguanosines: a universal linker for nucleic acids modification. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3578-3588.

92. Gariépy, J.; Rémy, S.; Zhang, X.; Ballinger, J. R.; Bolewska-Pedyczak, E.; Rauth, M.; Bisland, S. K., A Simple Two-Step Approach for Introducing a Protected Diaminedithiol Chelator during Solid-Phase Assembly of Peptides. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 679-684.

93. Huisgen, R., 1,3-dipolar cycloaddition chemistry. Padwa, A., Ed. Wiley: New-York, **1984**; pp 1-176.

94. (a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B., A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides

- and Terminal Alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599; (b) Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V., Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *127*, 210-216.
95. Wängler, B.; Rüdiger, G.; Iovkova, L.; Schirmmayer, E.; Wängler, C.; Boening, G.; Hacker, M.; Schmoedel, M.; Jurkschat, K.; Bartenstein, P.; Schirmmayer, R., Kit-Like ¹⁸F-Labeling of Proteins: Synthesis of 4-(Di-tert-butyl[¹⁸F]fluorosilyl)benzenethiol (Si[¹⁸F]FA-SH) Labeled Rat Serum Albumin for Blood Pool Imaging with PET. *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 317-321.
96. Iovkova-Berends, L.; Wängler, C.; Zöllner, T.; Höfner, G.; Wanner, K. T.; Rensch, C.; Bartenstein, P.; Kostikov, A.; Schirmmayer, R.; Jurkschat, K.; Wängler, B., t-Bu₂SiF-Derivatized D₂-Receptor Ligands: The First SiFA-Containing Small Molecule Radiotracers for Target-Specific PET-Imaging. *Molecules* **2011**, *16*, 7458-7479.
97. Schulz, J.; Vimont, D.; Bordenave, T.; James, D.; Escudier, J.-M.; Allard, M.; Szlosek-Pinaud, M.; Fouquet, E., Silicon-Based Chemistry: An Original and Efficient One-Step Approach to [¹⁸F]-Nucleosides and [¹⁸F]-Oligonucleotides for PET Imaging. *Chemistry – A European Journal* **2011**, *17*, 3096-3100.
98. Kostikov, A. P.; Chin, J.; Orchowski, K.; Niedermoser, S.; Kovacevic, M. M.; Aliaga, A.; Jurkschat, K.; Wängler, B.; Wängler, C.; Wester, H.-J.; Schirmmayer, R., Oxalic Acid Supported Si-¹⁸F-Radiofluorination: One-Step Radiosynthesis of N-Succinimidyl 3-(Di-tert-butyl[¹⁸F]fluorosilyl)benzoate ([¹⁸F]SiFB) for Protein Labeling. *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 106-114.
99. Bonifazi, D.; Accorsi, G.; Armaroli, N.; Song, F.; Palkar, A.; Echegoyen, L.; Scholl, M.; Seiler, P.; Jaun, B.; Diederich, F., Oligoporphyrin Arrays Conjugated to [60]Fullerene: Preparation, NMR Analysis, and Photophysical and Electrochemical Properties. *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 1839-1884.
100. Heilbron, I.; Jones, E. R. H.; Sondheimer, F., 129. Researches on acetylenic compounds. Part XV. The oxidation of primary acetylenic carbinols and glycols. *J. Chem. Soc.* **1949**, 604-607.
101. Iovkova, L.; Könnig, D.; Wängler, B.; Schirmmayer, R.; Schoof, S.; Arndt, H.-D.; Jurkschat, K., SiFA-Modified Phenylalanine: A Key Compound for the Efficient Synthesis of ¹⁸F-Labelled Peptides. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, 2238-2246.
102. Seyferth, D.; Annarelli, D. C.; Vick, S. C.; Duncan, D. P., Hexamethylsilirane : I. Preparation, characterization and thermal decomposition. *J. Organomet. Chem.* **1980**, *201*, 179-195.
103. Nakadaira, Y.; Oharu, K.; Sakurai, H., Chemistry of organosilicon compounds: CCXVI. Sterically crowded silanes. *J. Organomet. Chem.* **1986**, *309*, 247-256.
104. James, D.; Escudier, J.-M.; Amigues, E.; Schulz, J.; Vitry, C.; Bordenave, T.; Szlosek-Pinaud, M.; Fouquet, E., A 'click chemistry' approach to the efficient synthesis of

Bibliographie

modified nucleosides and oligonucleotides for PET imaging. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1230-1232.

105. Deng, H.; Cobb, S. L.; Gee, A. D.; Lockhart, A.; Martarello, L.; McGlinchey, R. P.; O'Hagan, D.; Onega, M., Fluorinase mediated C-18F bond formation, an enzymatic tool for PET labelling. *Chem. Commun.* **2006**, 652-654.

106. (a) Kim, D. W.; Choe, Y. S.; Chi, D. Y., A new nucleophilic fluorine-18 labeling method for aliphatic mesylates: reaction in ionic liquids shows tolerance for water. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30*, 345-350; (b) Kim, D. W.; Song, C. E.; Chi, D. Y., New Method of Fluorination Using Potassium Fluoride in Ionic Liquid: Significantly Enhanced Reactivity of Fluoride and Improved Selectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10278-10279.

107. (a) Ross, T. L.; Ermert, J.; Hocke, C.; Coenen, H. H., Nucleophilic 18F-Fluorination of Heteroaromatic Iodonium Salts with No-Carrier-Added [18F]Fluoride. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8018-8025; (b) Lee, B. C.; Dence, C. S.; Zhou, H.; Parent, E. E.; Welch, M. J.; Katzenellenbogen, J. A., Fluorine-18 labeling and biodistribution studies on peroxisome proliferator-activated receptor- γ ligands: potential positron emission tomography imaging agents. *Nucl. Med. Biol.* **2009**, *36*, 147-153.

108. Furuya, T.; Kamlet, A. S.; Ritter, T., Catalysis for fluorination and trifluoromethylation. *Nature* **2011**, *473*, 470-477.

109. King, J. F.; Loosmore, S. M.; Aslam, M.; Lock, J. D.; McGarrity, M. J., Betylates. 3. Preparative nucleophilic substitution by way of [2]-, [3]-, and [4]betylates. Stoichiometric phase transfer and substrate-reagent ion-pair (SRIP) reactions of betylates. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7108-7122.

110. King, J. F.; Aslam, M., Alkylation of sulfonate anions via substrate-reagent ion-pair (srrip) reactions of [2]betylates. Preparation of alkyl esters of hydroxyalkanesulfonic acids. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3573-3576.

111. Hofmann, A. W., Beiträge zur Kenntniss der flüchtigen organischen Basen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1851**, *79*, 11-39.

112. Lepore, S. D.; Bhunia, A. K.; Cohn, P., Arylsulfonate-Based Nucleophile Assisting Leaving Groups. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8117-8121.

113. Lu, S.; Lepore, S. D.; Li, S. Y.; Mondal, D.; Cohn, P. C.; Bhunia, A. K.; Pike, V. W., Nucleophile Assisting Leaving Groups: A Strategy for Aliphatic 18F-Fluorination. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5290-5296.

114. Murakami, K., FDG-PET for hepatobiliary and pancreatic cancer: Advances and current limitations. *World Journal of Clinical Oncology* **2011**, *2*, 229-236.

115. Pimlott, S. L.; Sutherland, A., Molecular tracers for the PET and SPECT imaging of disease. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 149-162.

Bibliographie

116. Ido, T.; Wan, C. N.; Casella, V.; Fowler, J. S.; Wolf, A. P.; Reivich, M.; Kuhl, D. E., Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. 18F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and 14C-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1978**, *14*, 175-183.
117. Shiue, C.-Y.; K, C.; Wolf, A. P., A rapid synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-d-glucose from xenon difluoride suitable for labelling with 18F. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1983**, *20*, 157-162.
118. Bida, G. T.; Satyamurthy, N.; Barrio, J. R., The Synthesis of 2-[F-18]Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Glycols: A Reexamination. *J. Nucl. Med.* **1984**, *25*, 1327-1334.
119. Levy, S.; Livni, E.; Elmaleh, D.; Curatolo, W., Direct displacement with anhydrous fluoride of the C-2 trifluoromethanesulphonate of methyl 4,6-O-benzylidene-3-O-methyl-2-O-trifluoromethylsulphonyl-[small beta]-D-mannopyranoside. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 972-973.
120. Tewson, T. J., Cyclic sulfur esters as substrates for nucleophilic substitution. A new synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3507-3510.
121. Szarek, W. A.; Hay, G. W.; Perlmutter, M. M., A rapid, stereospecific synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose using the fluoride ion. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 1253-1254.
122. Füchtner, F.; Steinbach, J.; Mäding, P.; Johannsen, B., Basic hydrolysis of 2-[18F]fluoro-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-d-glucose in the preparation of 2-[18F]fluoro-2-deoxy-d-glucose. *Appl. Radiat. Isot.* **1996**, *47*, 61-66.
123. (a) Toorongian, S. A.; Mulholland, G. K.; Jewett, D. M.; Bachelor, M. A.; Kilbourn, M. R., Routine production of 2-deoxy-2-[18F]fluoro-d-glucose by direct nucleophilic exchange on a quaternary 4-aminopyridinium resin. *Nucl. Med. Biol.* **1990**, *17*, 273-279; (b) Lemaire, C.; Damhaut, P.; Lauricella, B.; Mosdzianowski, C.; Morelle, J. L.; Monclus, M.; Van Naemen, J.; Mulleneers, E.; Aerts, J.; Plenevaux, A.; Brihaye, C.; Luxen, A., Fast [18F]FDG synthesis by alkaline hydrolysis on a low polarity solid phase support. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2002**, *45*, 435-447.
124. Toyokuni, T.; Dileep Kumar, J. S.; Gunawan, P.; Basarah, E. S.; Liu, J.; Barrio, J. R.; Satyamurthy, N., Practical and reliable synthesis of 1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-trifluoromethanesulfonyl-β-D-mannopyranose, a Precursor of 2-Deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose (FDG). *Mol. Imag. Biol.* **2004**, *6*, 324-330.
125. Kartha, K. P. R.; Field, R. A., Iodine: A versatile reagent in carbohydrate chemistry IV. Per-O-acetylation, regioselective acylation and acetolysis. *Tetrahedron* **1997**, *53* (34), 11753-11766.
126. Pozsgay, V.; Glaudemans, C. P. J.; Robbins, J. B.; Schneerson, R., Synthesis of a tetrasaccharide building block of the O-specific polysaccharide of *Shigella dysenteriae* type 1. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 10249-10264.

Bibliographie

127. Bonner, W., Notes: CL-C2 Acetyl Migration on Methylation of the Anomeric 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranoses. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1388-1390.
128. (a) Dyson, B. S.; Burton, J. W.; Sohn, T.-i.; Kim, B.; Bae, H.; Kim, D., Total Synthesis and Structure Confirmation of Elatényne: Success of Computational Methods for NMR Prediction with Highly Flexible Diastereomers. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 11781-11790; (b) Jin, H.-j.; Lu, J.; Wu, X., Development of a new enzyme-responsive self-immolative spacer conjugate applicable to the controlled drug release. *Biorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 3465-3469; (c) Pauff, S. M.; Miller, S. C., A Trifluoroacetic Acid-labile Sulfonate Protecting Group and Its Use in the Synthesis of a Near-IR Fluorophore. *J. Org. Chem.* **2012**, *78*, 711-716.
129. Foye, W. O.; Lemke, T. L.; Williams, D. A., pKa values for some drugs and miscellaneous organic acids and bases. In *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*, Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, **2002**; pp 1070-1090.
130. Pauff, S. M.; Miller, S. C., Synthesis of Near-IR Fluorescent Oxazine Dyes with Esterase-Labile Sulfonate Esters. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6196-6199.
131. (a) Seibt, H.; Ohme, R.; Ballschuh, D., *Tenside, Surfactants, Detergents* **1991**, *28*, 337-347; (b) Aldred, N.; Li, G.; Gao, Y.; Clare, A. S.; Jiang, S., Modulation of barnacle (*Balanus amphitrite* Darwin) cyprid settlement behavior by sulfobetaine and carboxybetaine methacrylate polymer coatings. *Biofouling* **2010**, *26*, 673-683; (c) Tsukamoto, T.; Yamamoto, A.; Kamichatani, W.; Inoue, Y., Synthesis of Novel Sulfobetaine-Type Adsorbents and Characteristics of Their Adsorption of Polar Solutes in Hydrophilic SPE. *Chromatographia* **2009**, *70*, 1525-1530.
132. Sonnenschein, L.; Seubert, A., Synthesis of a series of monomeric styrene sulfobetaine precursors. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1101-1104.
133. King, J. F.; Skonieczny, S., Trimethylammoniomethanesulfinate and trimethylammoniomethanesulfonate, the simplest sulfinid and sulfonic acid betaine. Revision of the structure of the trimethylamine oxide-sulfur dioxide product. *Phosphorous and Sulfur and the Related Elements* **1985**, *25*, 11-20.
134. (a) Bosshard, H. H.; Mory, R.; Schmid, M.; Zollinger, H., Eine Methode zur katalysierten Herstellung von Carbonsäure- und Sulfosäure-chloriden mit Thionylchlorid. *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 1653-1658; (b) Saunders, J. O.; Bugga Sarma, V. N. B. S.; Nageshwar, K. V. R. Preparation of sulfonamide compounds as GHS-R modulators. WO2010104929 A1, **2010**.
135. (a) Gao, F.; Yan, X.; Zahr, O.; Larsen, A.; Vong, K.; Auclair, K., Synthesis and use of sulfonamide-, sulfoxide-, or sulfone-containing aminoglycoside-CoA bisubstrates as mechanistic probes for aminoglycoside N-6'-acetyltransferase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5518-5522; (b) Brienne, M. J.; Varech, D.; Leclercq, M.; Jacques, J.; Radembino, N.; Dessalles, C.; Mahuzier, G.; Gueyouche, C.; Bories, C., New antifilarial agents. 1. Epoxy sulfonamides and ethynesulfonamides. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 2232-2239.

136. Pelcman, B.; Olofsson, K.; Suna, E.; Kalvins, I.; Ozola, V.; Andrianov, V. Preparation of disulfonamides as MAPEG inhibitors for treating inflammation. WO2008129276A1, **2008**.
137. (a) De Luca, L.; Giacomelli, G., An Easy Microwave-Assisted Synthesis of Sulfonamides Directly from Sulfonic Acids. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3967-3969; (b) Blotny, G., A new, mild preparation of sulfonyl chlorides. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1499-1501.
138. Altenbach, R. J.; Black, L. A.; Strakhova, M. I.; Manelli, A. M.; Carr, T. L.; Marsh, K. C.; Wetter, J. M.; Wensink, E. J.; Hsieh, G. C.; Honore, P.; Garrison, T. R.; Brioni, J. D.; Cowart, M. D., Diaryldiamines with Dual Inhibition of the Histamine H3 Receptor and the Norepinephrine Transporter and the Efficacy of 4-(3-(Methylamino)-1-phenylpropyl)-6-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethoxy)naphthalen-1-ol in Pain. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7869-7873.
139. Lombardo, V.; Bonomi, R.; Sissi, C.; Mancin, F., Phosphate diesters and DNA hydrolysis by dinuclear Zn(II) complexes featuring a disulfide bridge and H-bond donors. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2189-2195.
140. van Delft, P.; van Schie, E.; Meeuwenoord, N. J.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Filippov, D. V., Oligonucleotide Conjugates by Means of Copper-Free Click Chemistry - Expanding the Repertoire of Strained Cyclooctyne Phosphoramidites. *Synthesis* **2011**, 2724-2732.
141. Łażewska, D. Kuder, K. Ligneau, X. Schwartz, J.-C.; Schunack, W.; Stark, H.; Kieć-Kononowicz, K., Piperidine variations in search for non-imidazole histamine H3 receptor ligands. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8729-8736.
142. Saiz, C.; Wipf, P.; Mahler, G., Synthesis and Ring-Chain-Ring Tautomerism of Bisoxazolidines, Thiazolidinyloxazolidines, and Spirothiazolidines. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 5738-5746.
143. (a) Caldwell, W. T.; Kornfeld, E. C., Substituted 2-Sulfonamido-5-aminopyridines. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64*, 1695-1698; (b) Percec, V.; Bera, T. K.; De, B. B.; Sanai, Y.; Smith, J.; Holerca, M. N.; Barboiu, B.; Grubbs, R. B.; Fréchet, J. M. J., Synthesis of Functional Aromatic Multisulfonyl Chlorides and Their Masked Precursors. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2104-2117; (c) Meinzer, A.; Breckel, A.; Thaher, B. A.; Manicone, N.; Otto, H.-H., Properties and Reactions of Substituted 1,2-Thiazetidone 1,1-Dioxides: Chiral Mono- and Bicyclic 1,2-Thiazetidone 1,1-Dioxides from α -Amino Acids. *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 90-105.
144. Veisi, H.; Ghorbani-Vaghei, R.; Hemmati, S.; Mahmoodi, J., Convenient One-Pot Synthesis of Sulfonamides and Sulfonyl Azides from Thiols Using N-Chlorosuccinimide. *Synlett* **2011**, 2315-2320.
145. Bahrami, K.; Khodaei, M. M.; Soheilzad, M., A Novel, Practical Synthesis of Sulfonyl Chlorides from Thiol and Disulfide Derivatives. *Synlett* **2009**, 2773,2776.

Bibliographie

146. Brown, L. J.; Ma, N.; Bouvet, D. R.; Champion, S.; Gibson, A. M.; Hu, Y.; Jackson, A.; Khan, I.; Millot, N.; Topley, A. C.; Wadsworth, H.; Wynn, D.; Brown, R. C. D., Synthesis of the positron-emitting radiotracer [18F]-2-fluoro-2-deoxy-d-glucose from resin-bound perfluoroalkylsulfonates. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 564-575.
147. Bundle, D. R., Displacement of sugar chlorosulphates by bromide, azide, and acetate; a convenient synthesis of methyl 3,6-dideoxy-[small beta]-D-ribo-hexopyranoside. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 2751-2755.
148. Albright, J. D., Sulfonium salts as reagents for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1977-1979.
149. Doboszewski, B.; Hay, G. W.; Szarek, W. A., The rapid synthesis of deoxyfluoro sugars using tris(dimethylamino)sulfonium difluorotrimethylsilicate (TASF). *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 412-419.
150. Kim, D. W.; Jeong, H.-J.; Lim, S. T.; Sohn, M.-H., Tetrabutylammonium Tetra(tert-Butyl Alcohol)-Coordinated Fluoride as a Facile Fluoride Source. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8404-8406.
151. Shi, Z.; He, C., Direct Functionalization of Arenes by Primary Alcohol Sulfonate Esters Catalyzed by Gold(III). *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13596-13597.
152. Hong, D. J.; Kim, D. W.; Chi, D. Y., Facile ring-closure cyclization of arenes by nucleophilic C-alkylation reaction in ionic liquid. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 54-56.
153. (a) Opper, K. L.; Wagener, K. B., Precision Sulfonic Acid Ester Copolymers. *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, *30*, 915-919; (b) Karsch, S.; Metz, P. In *Ring closing metathesis in the synthesis of sultones*, Institute of Electrical and Electronics Engineers: **2004**; pp 39-42.
154. Bachand, B.; Atfani, M.; Samim, B.; Lévesque, S.; Simard, D.; Kong, X., A novel synthetic route to 2-alkylpropane-1,3-sultones and its application to the synthesis of 2-alkyl derivatives of tramiprosate. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8587-8589.
155. Anderson, R. J.; Groundwater, P. W.; Todd, A.; Worsley, A. J., Sulfonamide Antibacterial Agents. In *Antibacterial Agents*, John Wiley & Sons, Ltd: **2012**; pp 103-126.
156. Liu, P.; Lanza, T. J.; Chioda, M.; Jones, C.; Chobanian, H. R.; Guo, Y.; Chang, L.; Kelly, T. M.; Kan, Y.; Palyha, O.; Guan, X.-M.; Marsh, D. J.; Metzger, J. M.; Ramsay, K.; Wang, S.-P.; Strack, A. M.; Miller, R.; Pang, J.; Lyons, K.; Dragovic, J.; Ning, J. G.; Schafer, W. A.; Welch, C. J.; Gong, X.; Gao, Y.-D.; Hornak, V.; Ball, R. G.; Tsou, N.; Reitman, M. L.; Wyvratt, M. J.; Nargund, R. P.; Lin, L. S., Discovery of Benzodiazepine Sulfonamide-Based Bombesin Receptor Subtype 3 Agonists and Their Unusual Chirality. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *2*, 933-937.
157. Wilson, C. O.; Gisvold, O., *Wilson and Gisvold's textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry*. John H. Block and John M. Beale ed.; Lippincott Williams & Wilkins: New-York, **2004**; p 991.

158. Humljan, J.; Gobec, S., Synthesis of N-phthalimido β -aminoethanesulfonyl chlorides: the use of thionyl chloride for a simple and efficient synthesis of new peptidosulfonamide building blocks. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4069-4072.
159. Hartman, G. D.; Halczenko, W.; Smith, R. L.; Sugrue, M. F.; Mallorga, P. J.; Michelson, S. R.; Randall, W. C.; Schwam, H.; Sondey, J. M., 4-Substituted thiophene- and furan-2-sulfonamides as topical carbonic anhydrase inhibitors. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3822-3831.
160. Frankel, M.; Moses, P., Syntheses of amino alkyl sulphonic acids and their peptide analogues. *Tetrahedron* **1960**, *9*, 289-294.
161. Kataoka, T.; Iwama, T.; Setta, T.; Takagi, A., Preparation of Sulfonamides from Sodium Sulfonates: Ph₃P · Br₂ and Ph₃P · Cl₂ as a Mild Halogenating Reagent for Sulfonyl Bromides and Sulfonyl Chlorides. *Synthesis* **1998**, 423-426.
162. Prakash, G. K. S.; Mathew, T.; Panja, C.; Olah, G. A., Chlorotrimethylsilane–Nitrate Salts as Oxidants: Direct Oxidative Conversion of Thiols and Disulfides to Sulfonyl Chlorides. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5847-5850.
163. Reza Massah, A.; Sayadi, S.; Ebrahimi, S., A green, mild and efficient one-pot method for the synthesis of sulfonamides from thiols and disulfides in water. *RSC Advances* **2012**, *2*, 6606-6616.
164. Nishiguchi, A.; Maeda, K.; Miki, S., Sulfonyl Chloride Formation from Thiol Derivatives by N-Chlorosuccinimide Mediated Oxidation. *Synthesis* **2006**, 4131-4134.
165. (a) Stevens, R. V.; Gaeta, F. C. A., Camphorae: chiral intermediates for the total synthesis of steroids. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 6105-6106; (b) Milovanovic, J. N.; Vasojevic, M.; Gojkovic, S., Oxidation of secondary alcohols with t-butyl hypochlorite in the presence of pyridine. *J. Chem. Soc* **1988**, 533-535.
166. Johnson, C. R.; McCants, D., The Stereochemistry of Oxidation at Sulfur. Oxidation of 4-Substituted Thianes to Sulfoxides¹. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1109-1114.
167. Davey, M. H.; Lee, V. Y.; Miller, R. D.; Marks, T. J., Synthesis of Aryl Nitroso Derivatives by tert-Butyl Hypochlorite Oxidation in Homogeneous Media. Intermediates for the Preparation of High-Hyperpolarizability Chromophore Skeletons. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4976-4979.
168. Altenkirk, B.; Israelstam, S. S., Reactions of tert-Butyl Hypochlorite. IV.1 The Reaction between tert-Butyl Hypochlorite and Benzamides. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4532-4534.
169. Wang, Z.; Zhu, L.; Yin, F.; Su, Z.; Li, Z.; Li, C., Silver-Catalyzed Decarboxylative Chlorination of Aliphatic Carboxylic Acids. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *139*, 4258-4263.

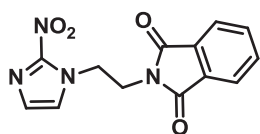
170. Mintz, M. J.; Walling, C., *Organic Syntheses* **1973**, *5*, 184.
171. Dia, R.-M.; Belaqqiz, R.; Romane, A.; Antoniotti, S.; Duñach, E., Flavouring and odorant thiols from renewable natural resources by InIII-catalysed hydrothioacetylation and lipase-catalysed solvolysis. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2164-2167.
172. (a) Zhang, L.; Tam, J. P., Synthesis and Application of Unprotected Cyclic Peptides as Building Blocks for Peptide Dendrimers. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2363-2370; (b) Bischoff, L.; David, C.; Roques, B. P.; Fournié-Zaluski, M.-C., Side-Chain-Modified Sulfonic Analogues of Aspartic and Glutamic Acids: Synthesis, Protection, and Incorporation into Peptides. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1420-1423.
173. Heymann, H.; Ginsberg, T.; Gulick, Z. R.; Konopka, E. A.; Mayer, R. L., The Preparation and Some Biological Properties of the Asparagine Analog L-2-Amino-2-carboxyethanesulfonamide. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 5125-5128.
174. (a) Mosher, C. W.; Silverstein, R. M.; Crews, O. P.; Baker, B. R., Potential Anticancer Agents.1 VI. Synthesis of α -Amino- γ -sulfamoylbutyric Acids with Substituents on the Sulfonamide Nitrogen. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 1257-1261; (b) Brynes, S.; Burckart, G. J.; Mokotoff, M., Potential inhibitors of L-asparagine biosynthesis. 4. Substituted sulfonamide and sulfonylhydrazide analogs of L-asparagine. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 45-49.
175. Hofmann, K.; Schmiechen, R.; Wells, R. D.; Wolman, Y.; Yanaihara, N., Studies on Polypeptides. XXIX. Synthetic Peptides Related to the N-Terminus of Bovine Pancreatic Ribonuclease A (Positions 1-7)1-4. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 611-619.
176. Davies, C. E.; Heightman, T. D.; Hermitage, S. A.; Moloney, M. G., Convenient preparations of racemic and enantiopure methyl 6-oxopipercolate. *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 687-696.
177. Bonner, W. A., Isomers of Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3372-3379.
178. Sword, R.; Baldwin, L. A.; Murphy, J. A., Fragmentations observed in the reactions of [small alpha]-methoxy-[gamma]-alkoxyalkyl iodide substrates with super-electron-donors derived from 4-DMAP and N-methylbenzimidazole. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 3560-3570.
179. Poolven, H.; Gonzalez-Rodríguez, C.; Marco, I.; Thompson, A. L.; Willis, M. C., DABCO-Bis(sulfur dioxide), DABSO, as a Convenient Source of Sulfur Dioxide for Organic Synthesis: Utility in Sulfonamide and Sulfamide Preparation. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 4876-4878.
180. Kühnel, E.; Laffan, D. D. P.; Lloyd-Jones, G. C.; Martínez del Campo, T.; Shepperson, I. R.; Slaughter, J. L., Mechanism of Methyl Esterification of Carboxylic Acids by Trimethylsilyldiazomethane. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7075-7078.

Bibliographie

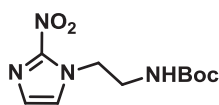
181. Stellenboom, N.; Hunter, R.; Caira, M. R., One-pot synthesis of unsymmetrical disulfides using 1-chlorobenzotriazole as oxidant: Interception of the sulfenyl chloride intermediate. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 3228-3241.
182. Zhu, Y.; Gieselman, M. D.; Zhou, H.; Averin, O.; van der Donk, W. A., Biomimetic studies on the mechanism of stereoselective lanthionine formation. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3304-3315.

Annexes

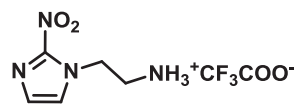
CHAPITRE 1



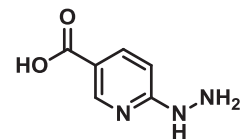
1



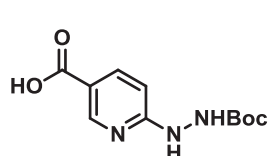
2



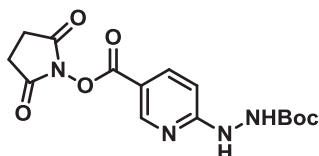
3



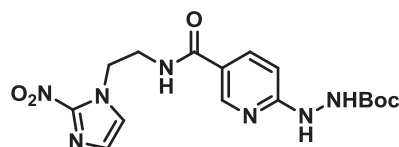
4



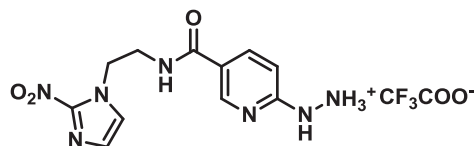
5



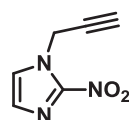
6



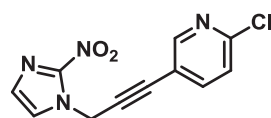
7



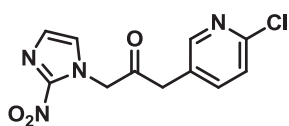
8



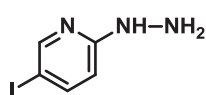
9



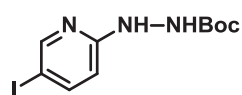
10



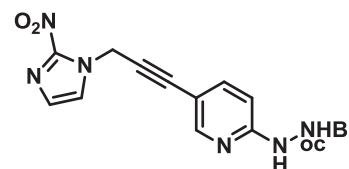
11



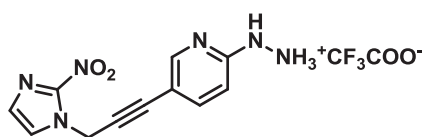
12



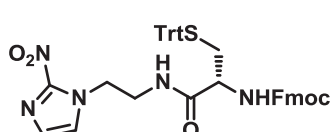
13



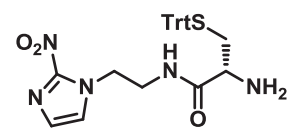
14



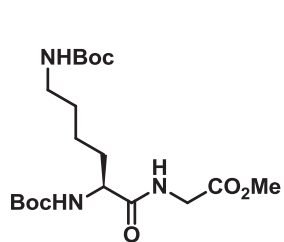
15



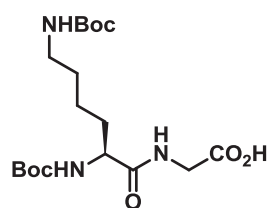
16



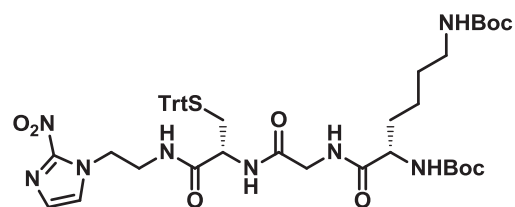
17



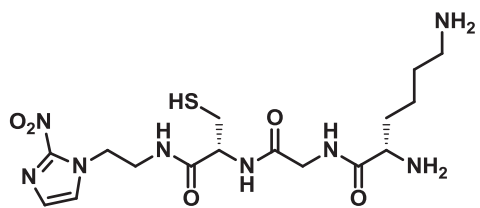
18



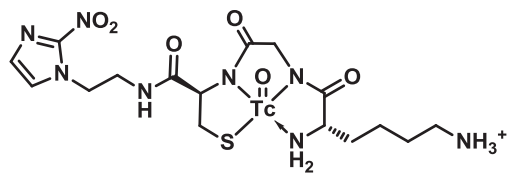
19



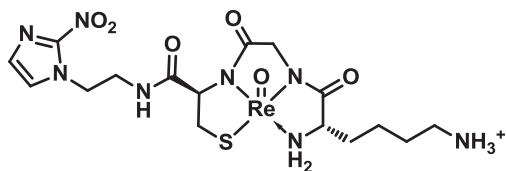
20



21

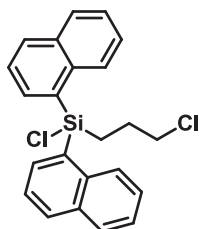


22

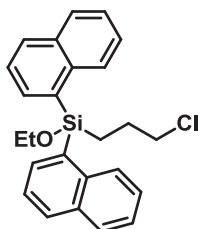


23

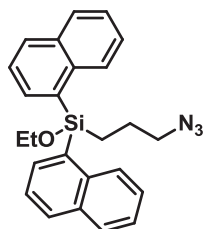
CHAPITRE 2



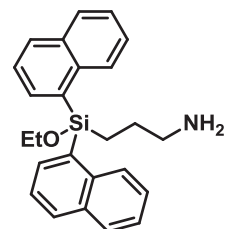
27



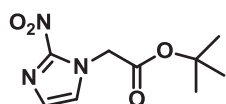
28



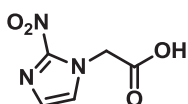
29



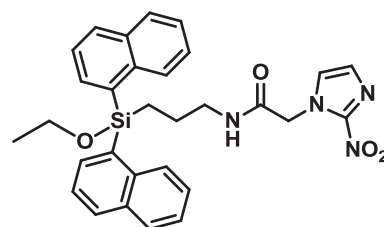
30



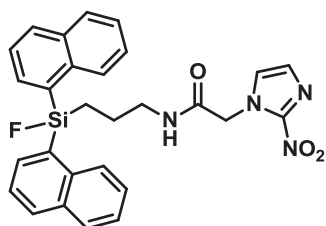
31



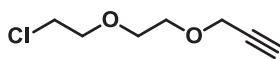
32



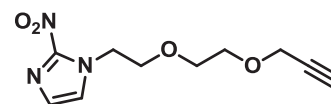
33



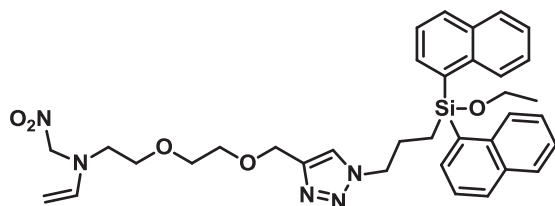
34



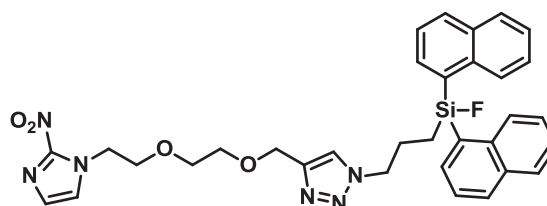
35



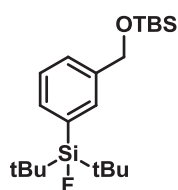
36



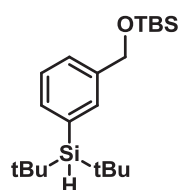
37



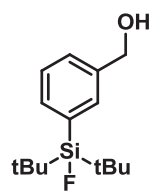
38



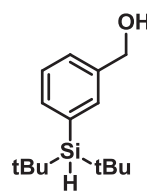
39a



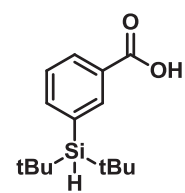
39b



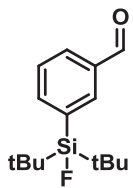
40a



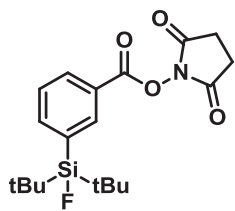
40b



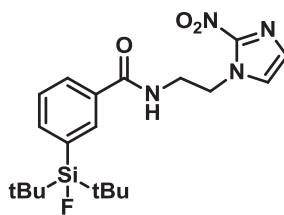
41



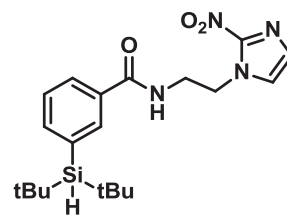
42



43

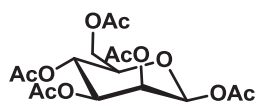


44a

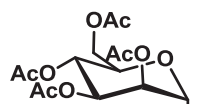


44b

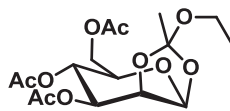
CHAPITRE 3



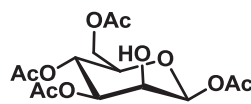
47



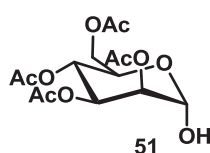
48



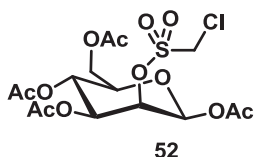
49



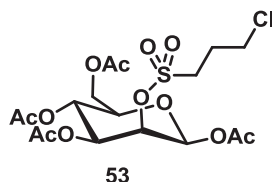
50



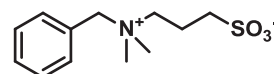
51



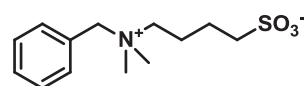
52



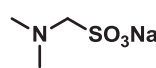
53



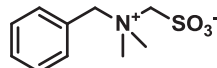
54



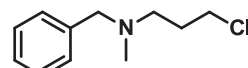
55



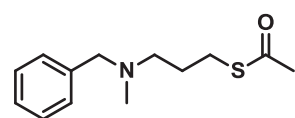
56



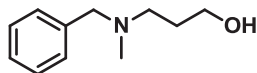
57



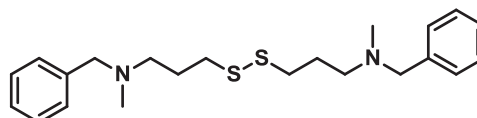
58



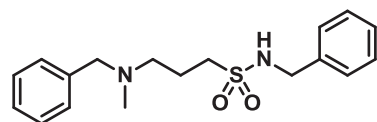
59



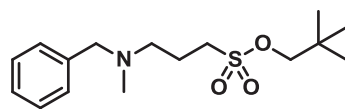
60



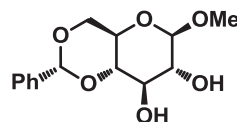
61



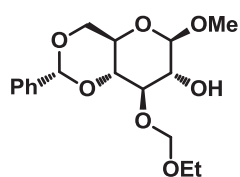
65



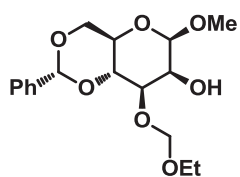
66



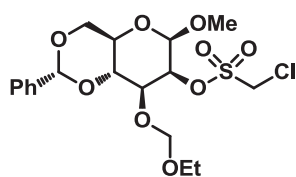
67



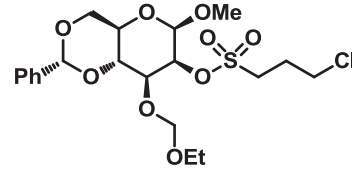
68



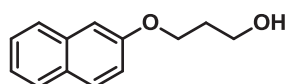
70



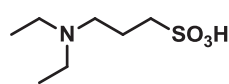
71



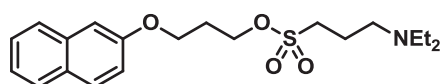
72



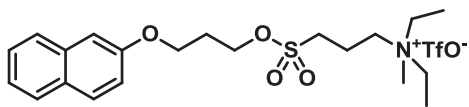
73



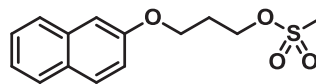
74



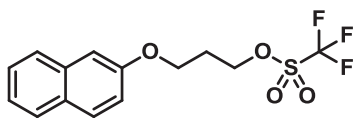
76



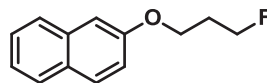
77



78

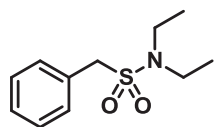


79

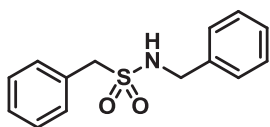


80

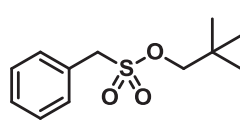
CHAPITRE 4



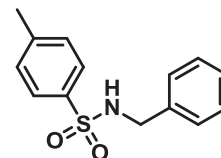
96



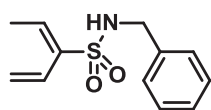
97



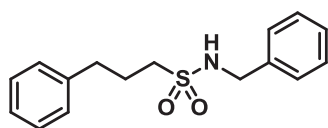
98



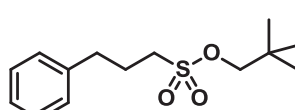
99



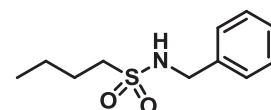
100



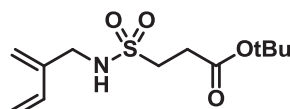
102a



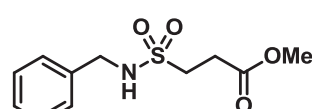
102b



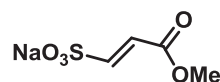
103



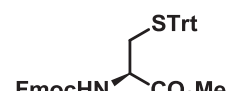
105a



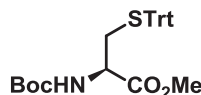
105b



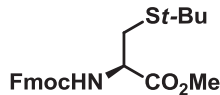
106



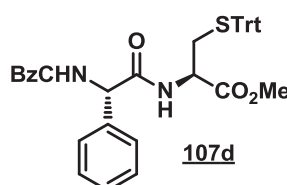
107a



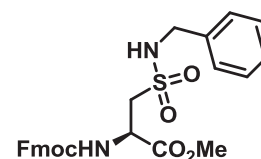
107b



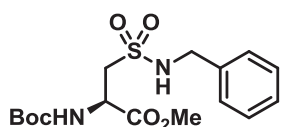
107c



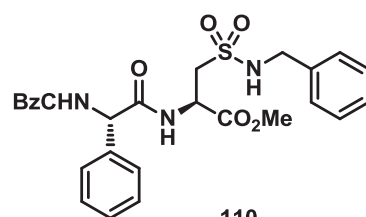
107d



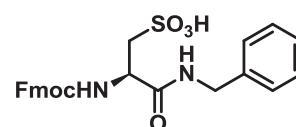
108



109



110



111