



Synthèses et propriétés de nouvelles structures à base de BODIPY pour l'imagerie bimodale TEP/IO et la génération d'oxygène singulet

Thifanie Christine

► To cite this version:

Thifanie Christine. Synthèses et propriétés de nouvelles structures à base de BODIPY pour l'imagerie bimodale TEP/IO et la génération d'oxygène singulet. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2020. Français. NNT : 2020BORD0239 . tel-03131828

HAL Id: tel-03131828

<https://theses.hal.science/tel-03131828>

Submitted on 4 Feb 2021

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

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

THÈSE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

SPÉCIALITÉ : **CHIMIE ORGANIQUE**

Par **Thifanie CHRISTINE**

**Synthèses et propriétés de nouvelles structures à base de BODIPY pour
l'imagerie bimodale TEP/IO et la génération d' $^1\text{O}_2$**

Sous la direction d'Éric FOUQUET
Et de Philippe HERMANGE

Soutenue le : 11 décembre 2020

Membres du jury :

M^{me}	I. GOSSE	Professeur – ENSCBP, Bordeaux
M.	G. ULRICH	Directeur de recherche CNRS – ICPEES, Strasbourg
M.	V. COEFFARD	Chargé de recherche CNRS – CEISAM, Nantes
M.	D. AUDISIO	Docteur – CEA-ISVFI, Paris
M.	É. FOUQUET	Professeur – ISM, Bordeaux
M.	P. HERMANGE	Maître de Conférences – ISM, Bordeaux

Présidente
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Directeur de thèse
Co-directeur de thèse

Remerciements

Dans un premier temps, je tiens à remercier Madame Isabelle GOSSE (professeur à l'ENSCBP), Monsieur Gilles ULRICH (directeur de recherche CNRS à l'université de Strasbourg), Monsieur Vincent COEFFARD (chargé de recherche CNRS à l'université de Nantes) et Monsieur Davide AUDISIO (docteur à l'ISVFJ) pour avoir accepté d'évaluer ces travaux de thèse.

Je remercie également l'Université de Bordeaux, le Ministère de l'Enseignement et de la Recherche ainsi que l'ISM (Institut des Sciences Moléculaires) pour m'avoir accordé le financement nécessaire à ces travaux de thèse.

Je tiens particulièrement à remercier mes deux directeurs de thèse Éric FOUQUET et Philippe HERMANGE de m'avoir accueillie au sein du groupe CSH (Catalysis, Synthesis and Health) à l'ISM. Je vous remercie de m'avoir fait confiance et confié ce projet de thèse très enrichissant. Malgré son emploi du temps très chargé, je remercie Éric pour ses conseils et sa bonne humeur. Et je remercie bien sûr Philippe pour son optimisme à toute épreuve, son enthousiasme et sa disponibilité. Tu as toujours eu de nouvelles idées à proposer lorsque je me trouvais dans une impasse et tu as toujours été très réactif malgré tes nombreuses heures d'enseignement. Je te remercie sincèrement de m'avoir encadrée pendant ces trois ans qui m'ont beaucoup appris.

J'aimerais remercier le laboratoire Eurofins Cerep ainsi que Monsieur Franck COUILLAUD et Madame Coralie GENEVOIS de l'équipe IMOTION (Imagerie Moléculaire et Thérapies Innovantes en Oncologie) de l'université de Bordeaux pour avoir accepté de réaliser les tests biologiques sur nos composés synthétisés.

Je remercie aussi l'ensemble du service d'analyses du CESAMO, en particulier Yannick CHOLLET, Cybille ROSSY et Zidane MDARHRI du service de RMN, et Christelle ABSALON et Claire MOUCHE du service de masse.

J'adresse mes sincères remerciements aux personnes du groupe CSH avec qui j'ai partagé ces trois ans : Patrick TOULLEC, Didier ASTRUC, Magali SZLOSEK, Frédéric CANTAGREL et Murielle BERLANDE (merci pour tous les services que tu nous as rendus au labo), ainsi que tous les doctorants/post-doctorants Marion TISSERAUD, Alexis TABEY, Julien GICQUIAUD, Obinna OSUJI, Laura BOURMEYSTER, Marine STEFFANN, Baptiste ABADIE, Morgan BARBIER, Kalyan DHARA et Morgan CORMIER. Je remercie également tous les (nombreux) stagiaires.

Je tenais à remercier mes amis, et plus particulièrement mon meilleur ami Tony KUI, sans qui ces trois années auraient été beaucoup plus difficiles. Tu as su être d'un soutien sans faille et m'as également apporté beaucoup de conseils. Toutes ces soirées à geek ou simplement à me plaindre des manips qui ne marchent pas m'ont permis de tenir le coup. Un grand merci à toi, le petit caca.

Je termine en remerciant bien sûr ma famille, qui m'a apporté un soutien inconditionnel, pas seulement pendant ces trois ans mais depuis toujours. Merci à mes parents et mon frère que je venais embêter à peu près deux week-ends par mois et avec qui je passais toujours de bons moments à rire et à me détendre. Même si vous ne compreniez pas tout le temps ce que je racontais, vous avez quand même essayé de vous intéresser et m'avez toujours encouragée. Je vous remercie sincèrement.

Table des matières

Remerciements	3
Table des matières	5
Abréviations	7
Introduction générale	9
Chapitre 1 : Développement d'un nouveau groupement prosthétique bimodal TEP/IO	13
A) Généralités et bibliographie	13
1) La TEP	13
a) Principe	13
b) Les isotopes ^{18}F et ^{11}C pour le marquage de radiotraceurs	14
c) Le marquage au $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$	19
d) Méthode de marquage au $[^*\text{C}]\text{-CO}$ avec un système double chambre	21
e) Marquage par bioconjugaison	27
2) L'imagerie optique par fluorescence	33
a) Principe	33
b) Synthèses de sondes à base de BODIPY	34
3) L'imagerie bimodale TEP/fluorescence	38
a) Avantages	38
b) Radiotraceurs bimodaux TEP/fluorescence à base de BODIPY	38
B) Développement d'un nouveau groupement prosthétique à base de BODIPY et marquant au $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$	43
1) Objectifs	43
2) Synthèse de plateformes bimodales à base d'ABOI	43
a) 1 ^{ère} stratégie : liaison directe de la plateforme ABOI sur le BODIPY	43
b) 2 ^{ème} stratégie : insertion de la plateforme ABOI via une condensation de Knoevenagel sur le BODIPY	48
c) 3 ^{ème} stratégie : liaison de la plateforme ABOI par substitution d'un atome de fluor sur le BODIPY	54
d) Développement d'un motif triazole carbonylable	58
3) Synthèse de plateformes bimodales à base de benzamides ortho iodés (BzOI)	63
a) Généralités sur la carbonylation de motifs BzOI	63
b) 1 ^{ère} stratégie : synthèse d'un BODIPY acide carboxylique ortho iodé	65
c) 2 ^{ème} stratégie : synthèse d'un BODIPY BzOI	68
4) Développement de nouvelles méthodes de carbonylation	71
a) La carbonylation via la préformation d'un complexe de palladium stœchiométrique	71
b) La carbonylation supportée appliquée à la synthèse des groupements prosthétiques	73
Chapitre 2 : Vers des traceurs conjugués bimodaux des récepteurs aux œstrogènes	79
A) Généralités et bibliographie	79
1) Le cancer du sein	79
2) L'imagerie TEP dans le diagnostic des cancers du sein	81
a) Les radiotraceurs généraux marqués au ^{18}F et ^{11}C	81
b) Les radiotraceurs dérivés de l'œstradiol spécifiques des ER	84
3) La fluorescence dans le cas du cancer du sein	88
a) Intérêt	88
b) Exemples de sondes fluorescentes ciblant le cancer du sein	89
c) Synthèses de sondes fluorescentes à base de BODIPY	95
B) Développement de nouveaux conjugués de l'œstradiol fluorescents et marquables au $[^*\text{C}]\text{CO}$	101
1) Synthèses des bioconjugués	101
a) Bioconjugaison de la plateforme BODIPY-ABOI 91 par réaction click	101
b) Bioconjugaison de la plateforme BODIPY acide 111 par couplage peptidique	105
c) Bioconjugaison de la plateforme BODIPY-BzOI 115 par réaction click	108
2) Evaluation biologique des nouveaux potentiels traceurs bimodaux	111
a) Détermination des propriétés biologiques <i>in vitro</i>	111
b) Tests biologiques <i>in vivo</i>	114

Chapitre 3 : Nouvelles structures à base de BODIPY pour la génération d'oxygène singulet

	117
A) Généralités et bibliographie	117
1) L'oxygène singulet : propriétés, synthèse et réactivité	117
2) La photooxygénation par l'oxygène singulet	119
a) Photosensibilisateurs à base de BODIPY	119
b) Photooxygénation avec une quantité limitée d'oxygène	122
c) Photooxygénations intramoléculaires	123
3) La thérapie photodynamique (PDT)	127
a) Exemples de BODIPY appliqués en thérapie photodynamique	127
b) Applications spécifiques au cancer du sein	129
B) Développement de nouveaux photosensibilisateurs bifonctionnels	133
1) Objectifs	133
2) Synthèse de nouveaux photosensibilisateurs	134
a) Synthèse de photosensibilisateurs de type urée	134
b) Synthèse du photocatalyseur de type amine	139
c) Synthèse de la référence catalytique	140
3) Etude de la cinétique de réaction d'oxydation du furfural 203 avec les différents photosensibilisateurs synthétisés	142
a) Introduction de l'oxygène en excès dans le méthanol	143
b) Etude de l'influence du solvant avec l'atmosphère interne en équilibre avec l'extérieur	144
c) Introduction de l'oxygène en quantité connue dans le méthanol	145
4) Applications des traceurs en thérapie photodynamique	146
Conclusion générale	149
Partie expérimentale	155

Abréviations

°C : degré Celsius
4FMFES : 4-fluoro-11 β -méthoxy-16 α -fluoroœstradiol
ABOI : alcool benzylique ortho iodé
ACN : acétonitrile
AI : inhibiteur d'aromatase
Boc : *tert*-butoxycarbonyle
BOX : bisoxazoline
CCM : chromatographie sur couche mince
Ci : Curie
CT : tomodensitométrie
CuAAC : cycloaddition alcyne-azoture catalysée au cuivre
DABCO : 1,4-diazobicyclo[2.2.2]octane
dba : dibenzylidèneacétone
DBU : 1,8-diazobicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCM : dichlorométhane
DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DIAD : azodicarboxylate de diisopropyle
DIBAL : hydrure de diisobutylaluminium
DIEA : *N,N*-diisopropyléthylamine
DiPrPF : 1,1'-bis(diisopropylphosphino)ferrocène
DMAE : diméthylaminoéthanol
DMAP : 4-diméthylaminopyridine
DMF : *N,N*-diméthylformamide
DMSO : diméthylsulfoxyde
DPPA : azoture de diphénylphosphoryle
EDC : 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
ee : excès énantiomérique
EGF : facteur de croissance épidermique
eq : équivalent
ER : récepteur d'œstrogène
FEA : fluoroéthylazoture
FES : fluoroœstradiol
FDG : fluorodésoxyglucose
FLT : fluorothymidine
FRI : fluorescence reflectance imaging
g : gramme
h : heure
HMTA : hexaméthylènetétramine
HOBt : hydroxybenzotriazole
HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance
IBX : acide 2-iodoxybenzoïque
IC₅₀ : concentration inhibitrice médiane
ICG : vert d'indocyanine
IRM : imagerie par résonance magnétique
L : litre
LAH : tétrahydroaluminat de lithium
LED : diode électroluminescente
 λ_{max} : longueur d'onde de l'absorbance maximum
min : minute
mol : mole
MOM : méthoxyméthyle

NaAsc : ascorbate de sodium
NBS : *N*-bromosuccinimide
NHS : *N*-hydroxysuccinimide
NIS : *N*-iodosuccinimide
PBS : tampon phosphate salin
PDT : thérapie photodynamique
PIR : proche infrarouge
Piv : pivaloyle
PS : photosensibilisateur
RCC : conversion radiochimique
RCP : pureté radiochimique
RCY : rendement radiochimique
rd : ratio diastéréoisomérique
RGD : séquence arginine-glycine-acide aspartique
RMN : résonance magnétique nucléaire
s : seconde
SERM : modulateur sélectif de récepteur d'œstrogène
SPE : extraction en phase solide
 $t_{1/2}$: temps de demi-vie
t.a : température ambiante
TBAF : fluorure de tétra-*n*-butylammonium
TBS : *tert*-butyldiméthylsilyle
TBTA : *tris*[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl]amine
*t*Bu : *tert*-butyle
TEMP : tomographie d'émission monophotonique
TEP : tomographie par émission de positons
TFA : acide trifluoroacétique
THF : tétrahydrofurane
TMSOTf : triflate de triméthylsilyle
Ts : tosyle
TTTA : *tris*[(1-*tert*-butyl-1*H*-1,2,3-triazolyl)méthyl]amine
UV : ultraviolet
W : Watt
Xantphos : 4,5-bis(diphénylphosphino)-9,9-diméthylxanthène

Introduction générale

De nos jours, il existe de nombreuses techniques d'imagerie médicale utilisées en recherche et en diagnostic telles que la photographie, la microscopie, les ultrasons, les rayons X, la tomодensitométrie (CT), l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et l'imagerie nucléaire. Ces différentes méthodes sont devenues un élément essentiel dans la détection précoce, le diagnostic et le traitement du cancer et d'autres maladies. Le choix de la technique d'imagerie utilisée dépend de la partie du corps à analyser. Depuis la découverte de la radioactivité artificielle en 1934 par Frédéric et Irène Joliot-Curie, une nouvelle technique d'imagerie nucléaire, la tomographie par émission de positons (TEP), a été développée. Il s'agit d'une imagerie fonctionnelle permettant de mesurer l'activité métabolique d'un organe en trois dimensions. Cette technique peut être couplée avec un scanner ou une IRM, ou bien avec l'imagerie optique par fluorescence. Cette dernière permet d'améliorer la faible résolution spatiale fournie par la TEP, et de faciliter une éventuelle intervention chirurgicale. Depuis quelques années, le développement de nouveaux agents bimodaux est en plein essor, la difficulté étant de rassembler dans une seule molécule une partie marquable pour la TEP et une partie fluorescente.

Les agents TEP classiquement utilisés de nos jours sont marqués au ^{18}F , élément radioactif du fluor présentant un temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de 110 minutes, tels que le [^{18}F]-fluorodésoxyglucose ([^{18}F]-FDG). Mais un autre élément radioactif présente un intérêt grandissant grâce à son temps de demi-vie plus court de 20 min, le ^{11}C . Il peut facilement être introduit en dernière étape de radiosynthèse notamment grâce à des réactions de carbonylations catalysées au palladium. En ce qui concerne la partie fluorescente, un grand nombre de motifs sont connus et utilisés dans des sondes fluorescentes pour l'imagerie optique. Le motif BODIPY en fait partie grâce à ses propriétés spectroscopiques et physico-chimiques idéales. De plus, sa modularité permet une synthèse variée.

En outre, le BODIPY possède une autre caractéristique intéressante applicable en thérapie photodynamique et en synthèse organique. En effet, il s'agit d'un photosensibilisateur (PS) efficace pour produire de l'oxygène singulet par simple irradiation de son noyau, permettant de causer des dommages aux tissus environnants de cellules. Ainsi, la thérapie photodynamique à l'aide de BODIPY peut se révéler très utile dans le traitement du cancer. De plus, étant un puissant oxydant, l'oxygène singulet est souvent utilisé dans des réactions de photooxygénation.

Cette thèse sera donc séparée en trois chapitres. Un premier sera consacré au développement de nouvelles structures à base de BODIPY contenant une plateforme marquable au ^{11}C . Un état de l'art sur la TEP, l'imagerie optique par fluorescence puis sur l'imagerie bimodale TEP/fluorescence sera décrit. Les synthèses de différents nouveaux groupements prosthétiques à base de BODIPY seront ensuite présentées. Un deuxième chapitre sera dédié au développement de nouveaux traceurs bimodaux conjugués à des dérivés d'œstrogènes. Un nouvel état de l'art sera réalisé à propos du cancer du sein en donnant des exemples de radiotraceurs et de sondes fluorescentes existant à ce jour. Puis, la synthèse de conjugués d'œstradiol avec les groupements prosthétiques précédents sera présentée, suivie de leurs tests biologiques. Enfin, le dernier chapitre concernera la production et l'utilisation d'oxygène singulet. Un état de l'art sur les propriétés de l'oxygène singulet et ses applications en synthèse et en thérapie photodynamique sera exposé. Les synthèses de nouvelles structures à base de BODIPY et leur application dans une réaction de photooxydation seront ensuite présentées, suivies de la synthèse de traceurs bimodaux potentiellement applicables en thérapie photodynamique.

Chapitre 1

Développement d'un nouveau groupement prosthétique bimodal TEP/IO

Chapitre 1 : Développement d'un nouveau groupement prosthétique bimodal TEP/IO

A) Généralités et bibliographie

1) *La TEP*

a) Principe

Dans la médecine actuelle, l'imagerie médicale permet le diagnostic de nombreuses maladies. Elle est aussi beaucoup utilisée en recherche clinique et pour le développement de nouveaux traitements. Afin d'obtenir des images du corps, plusieurs techniques en imagerie médicale utilisent les rayonnements électromagnétiques. Celles-ci sont classées dans deux domaines : la radiologie et la médecine nucléaire. La radiologie regroupe les techniques utilisant des rayons X ou autres rayonnements comme la radiographie, la radioscopie, le scanner et l'IRM. Quant à la médecine nucléaire, elle rassemble la scintigraphie, la SPECT et la TEP (Figure 1) en exploitant les différents rayonnements d'éléments radioactifs.



Figure 1 : Photographie d'un appareil TEP¹

La TEP est une technique d'imagerie fonctionnelle en trois dimensions utilisée le plus souvent dans l'étude et le diagnostic de tumeurs ou de maladies liées au cerveau ou au cœur. Elle permet d'étudier la biodistribution de radiopharmaceutiques avec une meilleure image que la SPECT grâce à sa spécificité et sensibilité élevées. Il s'agit d'une technique non invasive, mais son usage n'est pas recommandé sur les femmes enceintes ou allaitantes à cause de la radioactivité émise. Son principe consiste à injecter au patient un traceur marqué par un élément radioactif, communément appelé radiotraceur. Une fois dans l'organisme, il émet un positon qui s'annihile avec les électrons environnants, émettant alors deux photons dans des directions opposées qui sont captés par la couronne de détecteurs placée autour du patient. Suite à un traitement informatique, une image trois dimensions de la zone étudiée est reconstituée, permettant la visualisation de la quantité de radiotraceur absorbée sur le tissu ou l'organe (Figure 2).

¹ A. A. Umar, S. M. Atabo, *Anat & Physiol.*, **2019**, 6, 175-183

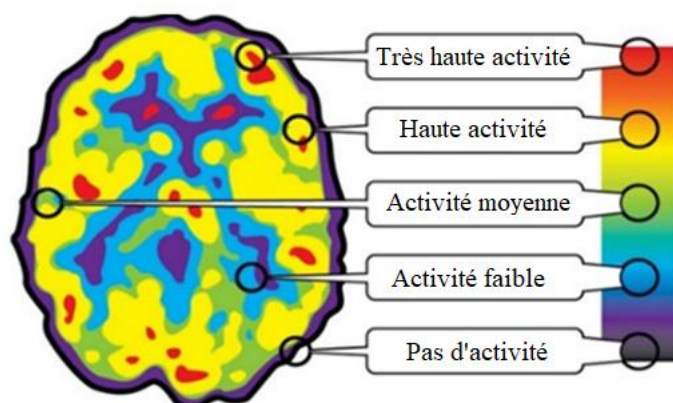


Figure 2 : Image d'un scan TEP du cerveau

Parmi les radioéléments utilisés se trouvent le ^{124}I ($t_{1/2} = 4,2$ jours), ^{64}Cu ($t_{1/2} = 12,7\text{h}$), le ^{18}F ($t_{1/2} = 110$ min), le ^{11}C ($t_{1/2} = 20$ min) et le ^{13}N ($t_{1/2} = 10$ min).² Le temps de demi-vie de 2h du ^{18}F est un bon compromis entre les contraintes de synthèse et d'élimination de la radioactivité, ce qui fait de lui le radioisotope le plus employé en pratique. Bien que possédant un temps de demi-vie plus court, le ^{11}C est également exploité en recherche clinique. Ces deux radioéléments sont donc les plus utilisés actuellement en marquage covalent.

b) Les isotopes ^{18}F et ^{11}C pour le marquage de radiotraceurs

Il existe de nombreuses méthodes de productions du fluor 18. Il peut être obtenu sous deux formes chimiques différentes : électrophile ou nucléophile. La version électrophile peut être produite sous la forme de difluor, $^{18}\text{F}\text{-F}_2$, via la réaction nucléaire $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$, permettant la préparation d'un précurseur anhydre. Le gaz marqué ainsi produit par le cyclotron peut être engagé dans des réactions de fluoration électrophile. La version nucléophile peut être formée par bombardement d'eau marquée via la réaction nucléaire $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ (Figure 3). L'ion fluorure $^{18}\text{F}\text{-F}^-$ ainsi obtenu en solution aqueuse est ensuite séché par distillation azéotropique ou par l'utilisation d'une colonne de résine. Cette version nucléophile possède plus d'applications dans le marquage de molécules.³

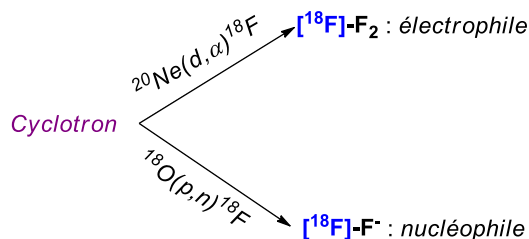


Figure 3 : Deux méthodes de production de ^{18}F

De nos jours, le radiotracer utilisé dans 90% des applications oncologiques en imagerie TEP est le $^{18}\text{F}\text{-FDG}$, un analogue du glucose, qui a été synthétisé pour la première fois en 1976 par l'équipe de Wolf⁴ par une fluoration électrophile en 2h avec un rendement de 8%. Quelques années plus tard, l'utilisation du $^{18}\text{F}\text{-CH}_3\text{CO}_2\text{F}$, produit *in situ* à partir du $^{18}\text{F}\text{-F}_2$, a permis d'augmenter le rendement. Cependant, la fluoration électrophile reste limitée par la faible activité molaire obtenue à cause de la présence de difluor non radioactif dans la cible de néon.

² A. Zhu, D. Lee, H. Shim, *Semin Oncol.* **2011**, 38, 55-69

³ O. Jacobson, X. Chen, *Curr. Top Med. Chem.*, **2010**, 10, 1048-1059

⁴ J. S. Fowler, T. Ido, *Semin. Nucl. Med.*, **2002**, 32, 6-12

Des fluorations nucléophiles ont également été développées en 1986 afin d'augmenter le rendement et l'activité molaire, et de réduire le temps de synthèse.⁵ L'une de ces radiosynthèses consiste en l'attaque nucléophile du $[^{18}\text{F}]\text{-F}^-$, dans l'acétonitrile en présence de Kryptofix 222, sur le triflate de mannose protégé par des groupements acétyles **1**, provoquant le départ du groupement partant. Après la déprotection des groupements acétyles du composé **2**, le $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ a été ainsi obtenu en 50 min avec un rendement non corrigé de $44\pm 4\%$ ($n=7$) (Schéma 1). Dans la plupart des cancers, l'assimilation du $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ dans les cellules tumorales est due à l'augmentation de la métabolisation du glucose. Il permet ainsi de suivre la réponse à un traitement. L'inconvénient de cet agent est son absence de spécificité. En effet, il s'accumule également dans les tissus sains du cerveau et de la vessie, ainsi que dans les lésions inflammatoires.

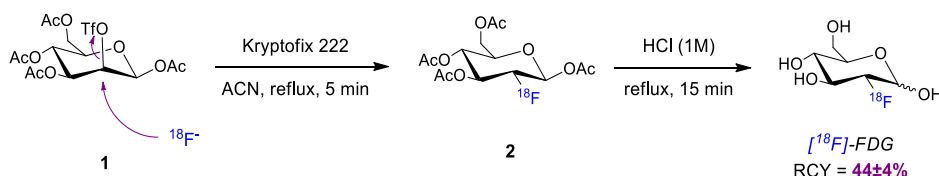


Schéma 1 : Radiosynthèse nucléophile du $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$

En ce qui concerne le carbone 11, le défi principal est son court temps de demi-vie qui nécessite une radiosynthèse rapide et efficace. De ce fait, l'étape de marquage doit idéalement se situer en dernière étape de synthèse. Ceci implique la présence d'un cyclotron sur le site de la caméra TEP. Cependant, ce court temps de demi-vie offre l'avantage d'une exposition moins longue du patient à la radioactivité. De plus, le marquage au ^{11}C ne change ni la structure chimique ni les propriétés biochimiques *in vivo* d'une molécule⁶, le carbone étant un atome présent dans toutes les biomolécules, ce qui rend le ^{11}C plus attractif que le ^{18}F .

Le ^{11}C est formé dans un cyclotron par la réaction nucléaire suivante : $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$, consistant en un bombardement protonique du cyclotron sur une cible composée d'azote et d'une quantité limitée d'un second gaz. Si ce dernier est du dioxygène, du $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ est produit, et s'il s'agit de dihydrogène, du $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_4$ est obtenu. La réduction de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ avec du dihydrogène sur un catalyseur à base de Ni à haute température permet également de générer du $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_4$. Ces deux espèces sont ensuite utilisées pour préparer des agents de marquage plus réactifs qui seront impliqués dans la synthèse de radiotraceurs.

Les agents de marquage les plus utilisés sont le $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{I}$ et le $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{OTf}$ employés dans des réactions d'alkylation. $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{I}$ peut être préparé soit par réduction de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ avec du tétrahydrualuminate de lithium (LAH), suivie d'une iodation avec de l'acide iodhydrique, soit par iodation radicalaire de $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_4$ avec du diiode. Le $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{OTf}$ est synthétisé en passant le $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{I}$ à travers une colonne de triflate d'argent à 200°C (Schéma 2). Comme il est beaucoup plus réactif que le $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{I}$, il permet des marquages plus rapides et à basse température.

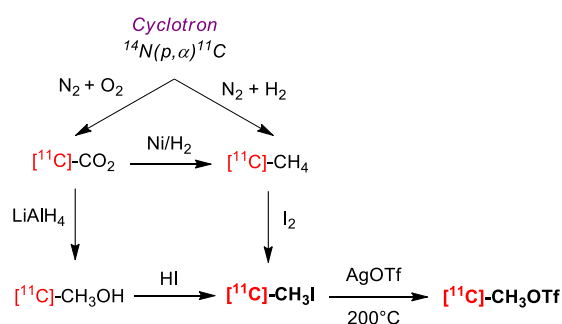


Schéma 2 : Production des agents de marquage au ^{11}C à partir du cyclotron

⁵ K. Hamacher, H. H. Coenen, G. Stöcklin, *J. Nucl. Med.*, **1986**, 27, 235-238

⁶ F. Lodi, C. Malizia, P. Castellucci, G. Cicoria, S. Fanti, S. Boschi, *Nucl. Med. Biol.*, **2012**, 39, 447-460

Les réactions de ^{11}C -méthylation employant ces deux agents de marquage peuvent être réalisées de deux manières différentes. L'une consiste à faire buller l'agent de méthylation dans un solvant en présence du substrat, et à la fin de la réaction, le solvant est simplement évaporé. L'autre méthode comprend le passage de l'agent de marquage à travers une colonne d'extraction en phase solide (SPE) sur laquelle est chargé au préalable le substrat. Cette méthode de marquage est plus rapide et facile à traiter.

Par exemple, l'équipe de Diksic⁷ a développé en 1984 la première radiosynthèse de la ^{11}C -choline. Pour cela, le ^{11}C -CH₃I a été mis en présence de diméthylaminoéthanol (DMAE) dissous dans l'acétone avec une base, K₂CO₃ ou KHCO₃, et chauffé pendant 10 à 20 minutes à température ambiante. Le radiotracer obtenu a été purifié par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) avec des puretés chimique et radiochimique supérieures à 98%. Depuis, de nombreuses autres méthodes de radiosynthèse de la ^{11}C -choline ont été développées, mais en utilisant toujours soit le ^{11}C -CH₃I, soit le ^{11}C -CH₃OTf comme agents de méthylation (Schéma 3).

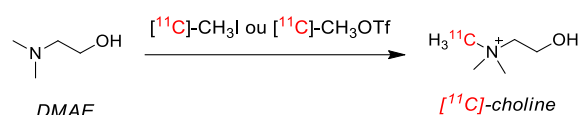


Schéma 3 : Radiosynthèse de la ^{11}C -choline

La première radiosynthèse de la ^{11}C -méthionine a été effectuée par l'équipe de Maziere⁸ en 1976. Elle a consisté à métyler l'anion sulfure de la L-homocystéine, obtenu par l'action d'une base sur le précurseur thiolactone chlorhydratée de la L-homocystéine, avec le ^{11}C -CH₃I (Schéma 4). Le produit radioactif obtenu a été purifié par HPLC semi-préparative avec un rendement radiochimique (RCY) de 50±11% (n= 8) et des puretés chimique et radiochimique élevées. Il est à noter que des précurseurs autres que la thiolactone peuvent être utilisés.

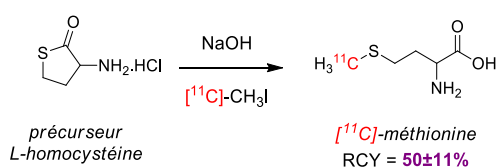


Schéma 4 : Radiosynthèse de la ^{11}C -méthionine

Mais les alkylations via le ^{11}C -CH₃OTf et le ^{11}C -CH₃I peuvent conduire à des problèmes de chimio- et régiosélectivité avec des structures plus complexes. Pour remédier à cela, il existe des agents de marquage alternatifs tels que le ^{11}C -COCl₂, le ^{11}C -HCN, le ^{11}C -CH₂O, le ^{11}C -CS₂, le ^{11}C -CO₂ ou encore le ^{11}C -CO.

Afin de réduire au maximum le nombre d'étapes, il est possible d'effectuer des ^{11}C -carboxylations directement à partir du ^{11}C -CO₂ produit par le cyclotron. L'inconvénient est sa faible réactivité et solubilité dans les solvants organiques. Mais l'utilisation de nucléophiles forts tels que les réactifs de Grignard ou les organolithiens permet des réactions rapides. En effet, la carboxylation de réactifs de Grignard sur le ^{11}C -CO₂ mène à des acides carboxyliques ou des chlorures d'acide marqués, les intermédiaires carboxylates pouvant être convertis en amides correspondants par réaction avec des amines, tandis que l'action d'organolithiens sur le ^{11}C -CO₂ permet de produire des cétones marquées. Cependant, la forte réactivité des réactifs de Grignard et des organolithiens n'est pas compatible avec la plupart des groupements fonctionnels, et ils réagissent facilement avec le dioxyde de carbone atmosphérique, réduisant ainsi l'activité molaire du radiotracer final.

De nouvelles méthodes de marquage plus douces ont cependant été développées pour essayer de résoudre ces problèmes. L'équipe d'Audisio⁹ s'est récemment intéressée au marquage de carbamates

⁷ M. Diksic, Y. L. Yamamoto, W. Feindel, *J. Labelled Compd Radiopharm.*, **1984**, *21*, 815-820

⁸ D. Comar, J.-C. Cartron, M. Maziere, C. Marazano, *Eur. J. Nucl. Med.*, **1976**, *1*, 11-14

⁹ A. Del Vecchio, A. Talbot, F. Caille, A. Chevalier, A. Sallustrau, O. Loreau, G. Destro, F. Taran, D. Audisio, *Chem. Commun.*, **2020**, *56*, 11677-11680

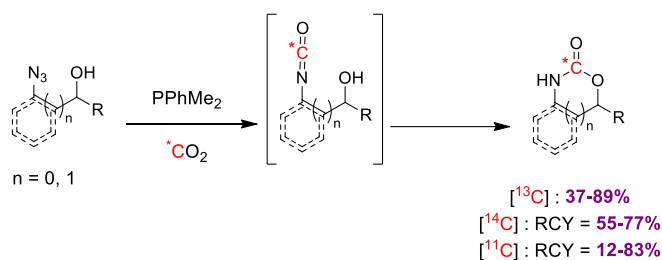
cycliques, un groupement fonctionnel souvent présent dans les composés biologiquement actifs, et en général métaboliquement stables. Des marquages utilisant du [^{11}C]-phosgène ont été précédemment décrits, mais ce réactif dangereux requiert un équipement spécialisé.¹⁰ Les méthodes utilisant le [^{11}C]-CO₂ ne sont en général appliquées qu'aux carbamates linéaires. Quelques exemples de marquage de carbamates cycliques ont été décrits, tels que l'utilisation d'une base fixante en présence de POCl₃¹¹ ou des conditions de Mistunobu.¹²

L'équipe d'Audisio a quant à elle développé un marquage en dernière étape de carbamates cycliques à partir de précurseurs azotures utilisant le [^{11}C]-CO₂ en présence d'une phosphine dans une réaction de Staudinger aza-Wittig. L'optimisation sur un modèle a montré que la diméthylphénylphosphine apportait le meilleur résultat avec le [^{13}C]-CO₂ en quantité stœchiométrique en 5 min dans le *N,N*-diméthylformamide (DMF). Ces conditions ont été appliquées à différents carbamates cycliques à 5 ou 6 chaînons ainsi qu'à des phénols à 5 carbones avec des rendements allant de 37 à 89%. Ensuite, les mêmes conditions ont été utilisées avec le [^{14}C]-CO₂ pour obtenir des carbamates cycliques à 6 carbones marqués au ^{14}C avec de bons rendements radiochimiques allant de 55 à 77%. Enfin, afin de pouvoir réaliser le marquage au ^{11}C , le substrat azoture et la phosphine ont dû être placés 100 fois en excès par rapport au [^{11}C]-CO₂ et la température augmentée à 70°C. Les mêmes substrats engagés précédemment avec le [^{13}C]-CO₂ ont pu être marqués au ^{11}C avec succès, et avec des rendements radiochimiques corrigés allant de 12 à 83%. Ces conditions ont été appliquées à des carbamates d'intérêt pharmaceutique, tels que le Chlorzoxazone et le Métaaxalone possédant des propriétés de relaxation des muscles, le précurseur de Caroxazone, et le Fenspiride montrant une activité anti-inflammatoire (Schéma 5).

¹⁰ Z. Chen, W. Mori, X. Deng, R. Cheng, D. Ogasawara, G. Zhang, M. A. Schafroth, K. Dahl, H. Fu, A. Hatori, T. Shao, Y. Zhang, T. Yamasaki, X. Zhang, J. Rong, Q. Yu, K. Hu, M. Fujinaga, L. Xie, K. Kumata, Y. Gou, J. Chen, S. Gu, L. Bao, L. Wang, T. L. Collier, N. Vasdev, Y. Shao, J.-A. Ma, B. F. Cravatt, C. Fowler, L. Josephson, M.-R. Zhang, S. H. Liang, *J. Med. Chem.*, **2019**, 62, 3336-3353

¹¹ K. Dahl, T. L. Collier, R. Cheng, X. Zhang, O. Sadovskii, S. H. Liang, N. Vasdev, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2018**, 61, 252-262

¹² K. Horkka, K. Dahl, J. Bergare, C. S. Elmore, C. Halldin, M. Schou, *ChemistrySelect*, **2019**, 4, 1846-1849



Conditions

$[^{13}\text{C}]$: 1 eq de $^{13}\text{CO}_2$, 1 eq de PPhMe_2 , DMF, t.a, 5 min
 $[^{14}\text{C}]$: 0,67-1 eq de $^{14}\text{CO}_2$, 1 eq de PPhMe_2 , DMF, t.a, 5 min
 $[^{11}\text{C}]$: 0,01 eq de $^{11}\text{CO}_2$, 1 mg de substrat, 15 μL de PPhMe_2 , DMF, 70°C , 15 min

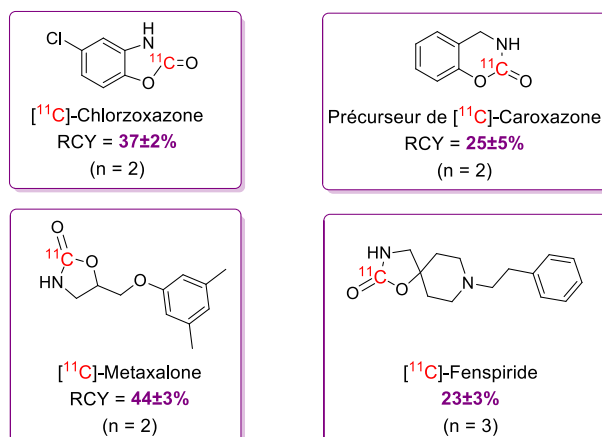


Schéma 5 : Marquage de carbamates cycliques via une réaction de Staudinger aza-Wittig utilisant le $[^*\text{C}]\text{-CO}_2$ et applications à des composés pharmaceutiques

De plus, une autre stratégie a été envisagée dans la même étude afin d'obtenir un accès plus rapide aux carbamates marqués. Une approche déconnection/reconnection a été développée, consistant au clivage d'un carbamate sous de fortes conditions basiques, suivi d'un transfert d'azoture via l'azoture de triflyle pour former l'azidoalcool, qui subit ensuite la cyclisation en carbamate marqué à l'aide de $[^*\text{C}]\text{-CO}_2$ selon les conditions précédentes. Ce protocole a été testé sur un carbamate modèle en version ^{13}C qui a mené à un rendement de 65%, puis le Zolmitriptan, utilisé dans le traitement de la migraine aiguë, a pu être marqué au ^{14}C et au ^{11}C , avec des rendements radiochimiques de 8% et $25 \pm 2\%$ respectivement (Schéma 6). Ces procédures possèdent l'avantage d'utiliser une source de ^{11}C accessible avec des conditions douces, et d'éviter l'emploi de dérivés de sélénium. Dans tous les cas, les composés marqués ont été obtenus avec des activités molaires et des puretés radiochimiques satisfaisantes.

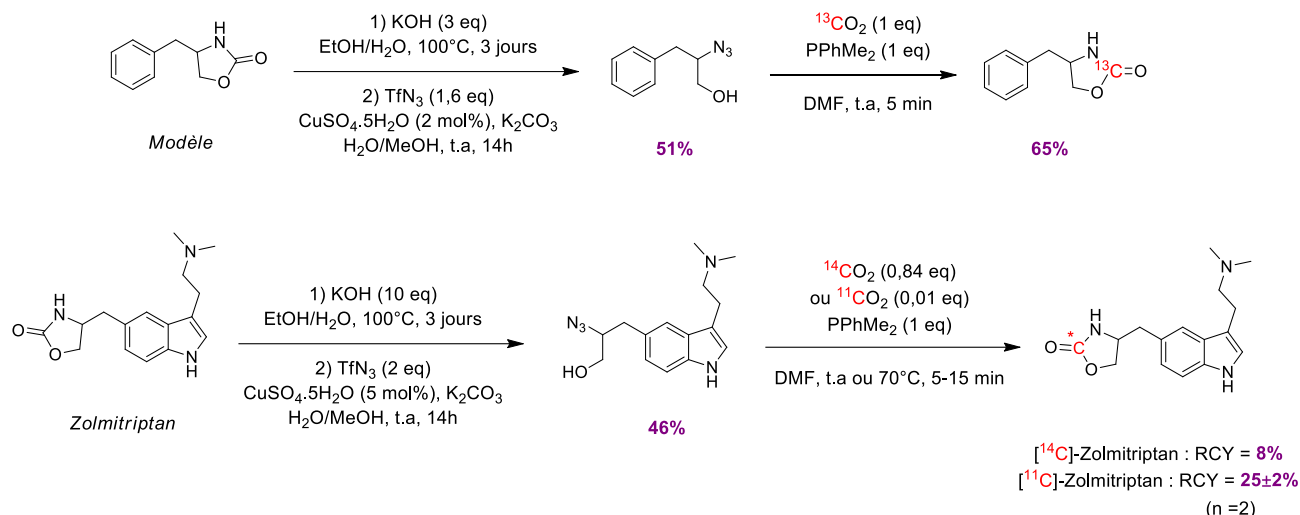


Schéma 6 : Approche déconnection/reconnection sur un modèle et application au marquage du Zolmitriptan

c) Le marquage au [¹¹C]-CO

Dans ce contexte, le [¹¹C]-CO est un agent de marquage émergent qui présente un fort potentiel par sa polyvalence chimique et la présence de groupements carbonyles dans de nombreuses molécules d'intérêt biologique. Il est obtenu généralement en moins de cinq minutes via la réduction partielle de [¹¹C]-CO₂ sur une colonne composée soit de zinc chauffé à 400°C,¹³ soit de molybdène à 845°C.¹⁴ La réduction sur zinc présente plusieurs inconvénients : au bout de plusieurs cycles de production, la surface métallique se dégrade avec la formation d'oxydes de zinc, donc les colonnes doivent être souvent changées et lavées. En outre, le point de fusion du zinc (420°C) est trop proche de la température requise pour la réduction de [¹¹C]-CO₂. L'emploi de molybdène à la place du zinc permet d'obtenir des rendements plus reproductibles. En effet, la formation d'oxydes de molybdène ne dégrade pas la colonne, au contraire elle favorise la réduction du [¹¹C]-CO₂. De plus, le point de fusion du molybdène est bien supérieur à 845°C.

Un des problèmes liés à l'utilisation du monoxyde de carbone est sa solubilité modérée dans les solvants organiques. Les premières synthèses¹⁵ utilisant le [¹¹C]-CO à pression atmosphérique n'ont mené qu'à de faibles conversions, et plus de 90% du réactif n'était pas consommé. De nouvelles approches ont donc été développées telles que des techniques de recirculation, des techniques à haute pression ou des complexations chimiques du [¹¹C]-CO.

D'après le Schéma 7, le [¹¹C]-monoxyde de carbone est impliqué dans de nombreux types de réactions.

¹³ J. C. Clark, P. D. Buckingham, *Short-lived Radioactive Gases for Medical Use*, Butterworth-Heinemann, London, **1975**, 220 pages

¹⁴ S. K. Zeisler, M. Nader, A. Theobald, F. Oberdorfer, *Appl. Radiat. Isot.*, **1997**, 48, 1091-1095

¹⁵ Y. Andersson, B. Långström, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1995**, 1, 287-289

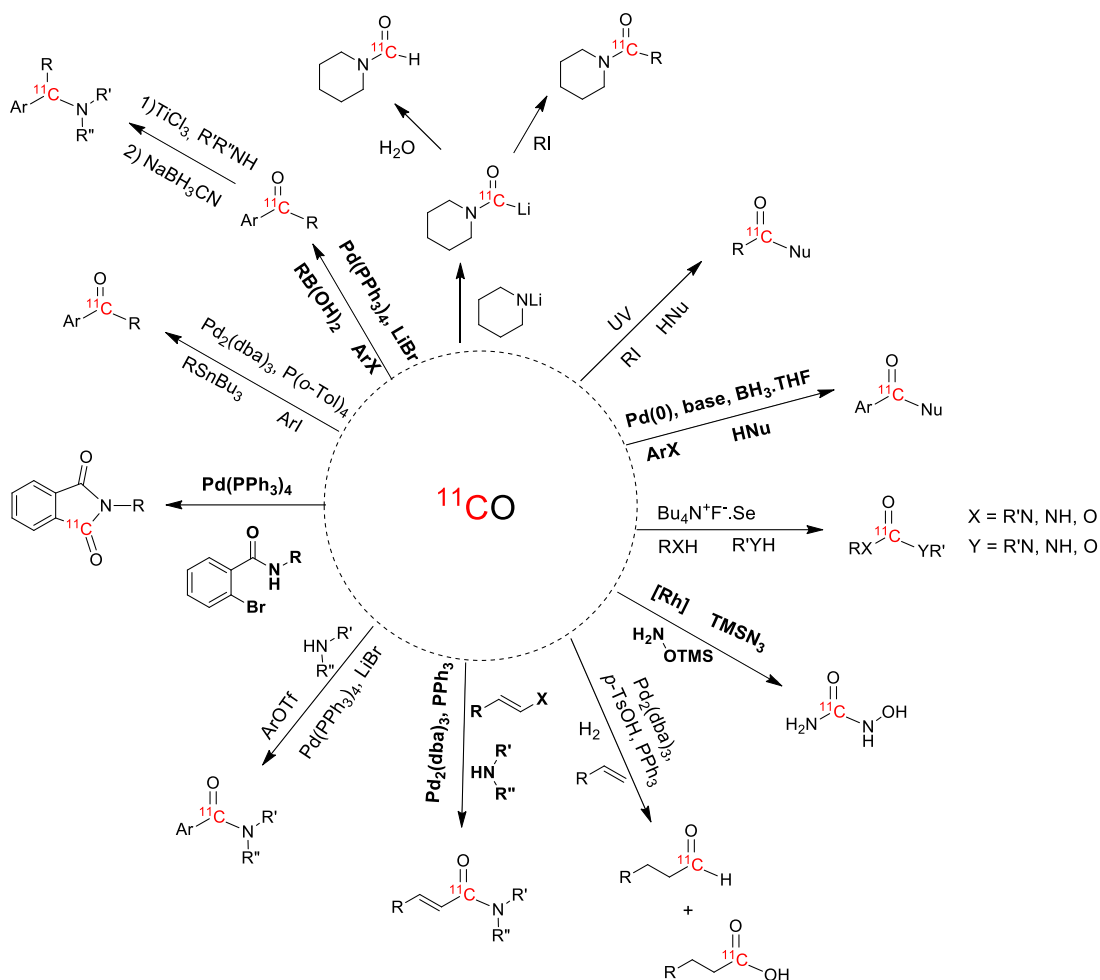


Schéma 7 : Différentes réactions de marquage par le $[^{11}\text{C}]\text{-CO}^{16}$

La réaction du $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ sur des amidures de lithium, suivie d'un traitement aqueux ou avec un iodure d'alkyle mène à des composés de type amide.¹⁷

Cependant, le $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ intervient principalement dans des réactions catalysées par des métaux.

Par exemple, le couplage de Suzuki entre des acides boroniques et des triflates d'aryle avec le catalyseur tétrakis(triphénylphosphine)palladium en présence de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ permet d'obtenir des cétones marquées.¹⁸ Le bromure de lithium est nécessaire dans cette réaction pour activer le triflate d'aryle.

Des séries de plusieurs cétones sont également formées par un couplage de Stille entre des iodures d'aryle et organoétains en générant le catalyseur au palladium(0) *in situ* via le tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium(0) en présence d'un ligand phosphine.¹⁹

Ces cétones peuvent être converties en amines correspondantes grâce à une amination réductrice avec du cyanoborohydrure de sodium en présence de tétrachlorure de titane.²⁰

Le couplage entre des triflates d'aryle et des amines en présence de tétrakis(triphénylphosphine)palladium et de bromure de lithium fonctionne également pour produire des amides marqués.²¹

De même, des amines peuvent être couplées à des halogénures vinyliques en présence de tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium(0) et de triphénylphosphine pour former des acrylamides marqués.²²

¹⁶ B. Långström, O. Itsenko, O. Rahman, *J. Label. Compd Radiopharm.*, **2007**, 50, 794-810

¹⁷ M. R. Kilbourn, P. A. Jarabek, M. J. Welch, *Chem. Commun.*, **1983**, 861-862

¹⁸ O. Rahman, T. Kihlberg, B. Långström, *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 474-478

¹⁹ F. Karimi, J. Barletta, B. Långström, *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 2374-2378

²⁰ O. Rahman, T. Kihlberg, B. Långström, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 1612-1616

²¹ O. Rahman, T. Kihlberg, B. Långström, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 3558-3562

²² J. Eriksson, O. Åberg, B. Långström, *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 455-461

Le rhodium étant un métal de transition qui permet aussi de catalyser de nombreuses réactions, il a été appliqué dans des réactions de marquage au ^{11}C . De cette manière, des diphénylurées et des phénylcarbamates d'éthyle²³ ainsi que des hydroxyurées²⁴ et des malonates²⁵ marqués ont pu être synthétisés par une réaction de carbonylation catalysée au rhodium.

Les carbonylations au sélénium sont très utiles pour la synthèse d'urées et ont donc été appliquées avec le ^{11}C -CO pour marquer des urées et des carbamates.²⁶ Cependant, le sélénium étant insoluble dans les solvants organiques, il est nécessaire de former au préalable un complexe soluble de sélénium avec du fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF) pour obtenir des rendements radiochimiques convenables.

Une méthode de piégeage du ^{11}C -CO par le complexe $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ (borane-tétrahydrofurane) a également été développée. Le monoxyde de carbone ainsi piégé peut ensuite réagir avec un halogénure d'aryle et un nucléophile en présence d'un catalyseur au palladium(0) et d'une base pour former des amides ou des lactones.²⁷

La carbonylation peut également s'effectuer de façon radicalaire. Ceci est très utile dans le cas d'halogénures d'alkyle avec lesquels les réactions médiées par des métaux de transition peuvent être en compétition avec de la β -élimination. Des carbonylations radicalaires avec le ^{11}C -CO, des iodures d'alkyle et des nucléophiles ont notamment permis la synthèse d'amides, d'esters et d'acides aliphatiques.²⁸ Pour cela, la réaction radicalaire est initiée par un rayonnement ultraviolet (UV) qui provoque l'homolyse de l'iodure d'alkyle, puis le radical alkyle s'additionne sur le monoxyde de carbone pour créer un radical acyle. Un atome d'iode d'une autre molécule d'iodure d'alkyle est transféré sur le radical pour obtenir un iodure d'acyle. Enfin, le nucléophile vient réagir sur l'iodure d'acyle pour former le produit final stable. Cette dernière étape constitue donc la force motrice de la réaction (Schéma 8).

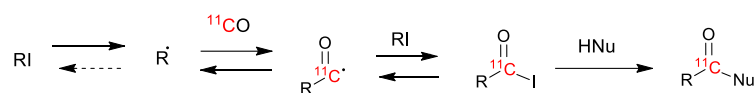


Schéma 8 : Mécanisme de la carbonylation radicalaire

Toutes ces réactions employant le ^{11}C -CO ont pu être appliquées à la synthèse de nouveaux radiotraceurs pour l'imagerie de différentes cibles.^{29,30,31,32}

d) Méthode de marquage au ^{11}C -CO avec un système double chambre

Le ^{11}C -CO est en général produit par la réduction du ^{11}C -CO₂ sur du molybdène à haute température, comme expliqué précédemment. Or, l'oxydation de la surface métallique peut réduire le rendement au fil du temps, et cette méthode nécessite un appareillage spécifique et coûteux.

De plus, lorsque le monoxyde de carbone est produit en version radioactive, l'échelle est au niveau picomolaire et le ^{11}C -CO est engagé de façon stœchiométrique. Or, dans la littérature, jusqu'en 2011, aucune carbonylation en version non radioactive n'avait été effectuée avec le CO gazeux en réactif limitant. Il est souvent exploité en large excès et cela nécessite la présence de détecteurs

²³ H. Doi, J. Barletta, M. Suzuki, R. Noyori, Y. Watanabe, B. Långström, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 3063-3066

²⁴ J. Barletta, F. Karimi, B. Långström, *J. Label. Compd Radiopharm.*, **2006**, 49, 429-436

²⁵ J. Barletta, F. Karimi, H. Doi, B. Långström, *J. Label. Compd Radiopharm.*, **2006**, 49, 801-809

²⁶ T. Kihlberg, F. Karimi, B. Långström, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 3687-3692

²⁷ H. Audrain, L. Martarello, A. Geeb, D. Bendera, *Chem. Commun.*, **2004**, 558-559

²⁸ O. Itsenko, *Dissertation*, The Faculty of Science and Technology, Uppsala University, **2005**, 106, ISBN 91-554-6375-4

²⁹ O. Rahman, T. Kihlberg, B. Långström, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **2002**, 2699-2703

³⁰ H. D. Burns, R. E. Gibson, T. G. Hamill, T. Fukami, *PCT Int. Appl.*, WO 03/010175 A2, **2003**

³¹ J. Madsen, P. Merchtsaki, P. Davoodpour, M. Bergström, B. Långström, K. Andersen, C. Thomsen, L. Martiny, G. M. Knudsen, *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 3447-3456

³² E. D. Hostetler, H. D. Burns, *Nucl. Med. Biol.*, **2002**, 29, 845-848

spécifiques de ce gaz hautement toxique. L'équipe de Skrydstrup³³ s'est donc intéressée à mettre au point un système pour quantifier et délivrer une quantité connue de CO gazeux de façon efficace. Un système double chambre scellé a été mis en place pour le générer *ex situ* dans une chambre et le consommer dans la seconde. Dans un premier temps, le CO a été formé dans la chambre extérieure par décarbonylation du chlorure de pivaloyle **5**, en défaut par rapport au substrat, en présence de palladium de bis(dibenzylidèneacétone) ($\text{Pd}(\text{dba})_2$), tri-*tert*-butylphosphine et de *N,N*-diisopropyléthylamine (DIEA) dans le dioxane à 80°C. Ensuite, le CO a atteint la chambre intérieure dans laquelle ont été placés le tosylate 2-pyridyle **3** et l'hexylamine **4** en présence de $\text{Pd}(\text{dba})_2$, de 1,1'-bis(diisopropylphosphino)ferrocène (*DiPrPF*) et de DIEA pour effectuer l'aminocarbonylation, et obtenir l'amide désiré **5** avec un bon rendement de 79% (Schéma 9). Ce travail utilisant des quantités substœchiométriques de CO présente donc un fort intérêt pour le marquage isotopique.

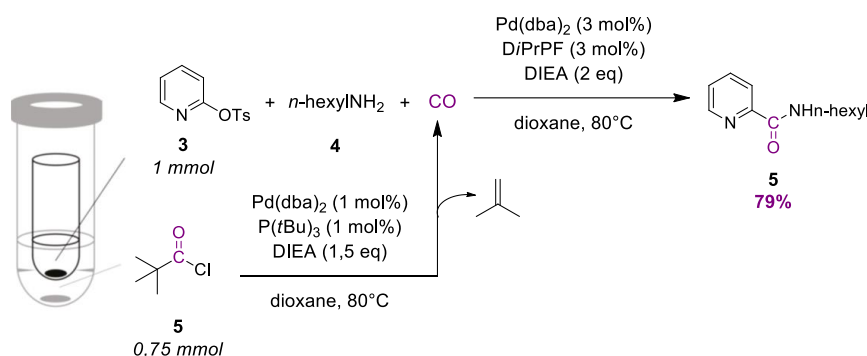


Schéma 9 : Aminocarbonylation par génération substœchiométrique du CO avec le chlorure de pivaloyle **5**

Cette même équipe a réalisé que le chlorure de pivaloyle ne représentait pas le meilleur choix de précurseur de CO marqué. En effet, il est liquide à température ambiante avec un point d'ébullition à 105°C, ce qui rend son utilisation difficile dans les synthèses à petite échelle notamment d'analogues marqués. De plus, la formation additionnelle d'isobutène s'ajoute à la suppression déjà présente dans le système double chambre scellé. Un nouveau précurseur de CO sous forme de solide cristallin stable et ne formant pas de sous-produit volatile a donc été synthétisé, le COgen **7**, à partir du 9-fluorénone commercial en suivant une procédure décrite dans la littérature.³⁴ Il a ainsi été obtenu en quatre étapes avec un rendement total de 61%. De même, sa version marquée au ¹³C a été formée avec un rendement total de 49%. Ces deux composés sont stables et solides à température ambiante. Pour tester ce nouveau précurseur de CO, les chercheurs ont légèrement modifié leur système double chambre pour assurer une meilleure agitation et maniabilité. Les deux chambres étaient cette fois-ci côte à côte et reliées entre elle par un pont. L'aminocarbonylation substœchiométrique a été réalisée entre le 4-iodoanisole **6** et l'hexylamine **4**, pour éviter des réactions secondaires liées au tosylate, en présence de $\text{Pd}(\text{dba})_2$, triphénylphosphine et triéthylamine dans le dioxane à 80°C pour obtenir l'amide correspondant **9** et sa version marquée au ¹³C avec un excellent rendement de 96% (Schéma 10).

³³ P. Hermange, A. T. Lindhardt, R. H. Taaning, K. Bjerglund, D. Lupp, T. Skrydstrup, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 6061-6071

³⁴ M. E. Bowen, B. R. Aavula, E. A. Mash, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 9087-9088

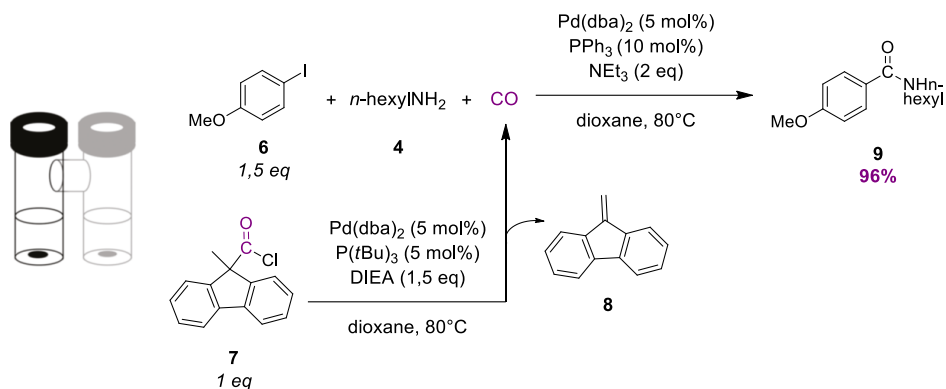


Schéma 10 : Aminocarbonylation par génération substœchiométrique du CO via le COgen 7

L'équipe de Skrydstrup³⁵ a ensuite cherché à simplifier la méthode de génération du CO en développant des précurseurs alternatifs de CO activés par une espèce non métallique. Des travaux précédents ont montré que les boranocarbonates pouvaient libérer du monoxyde de carbone par chauffage (Schéma 11).³⁶

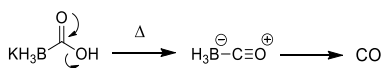


Schéma 11 : Mécanisme proposé pour la génération de CO à partir d'un boranocarbonate

Les dérivés silanes carboxyliques peuvent également convertir rapidement le CO₂ en CO par addition d'un activateur tel qu'une base ou un sel de fluorure, ou par décomposition thermique. En s'inspirant de cela, cette équipe s'est intéressée aux acides silacarboxyliques plus faciles à synthétiser et à utiliser que les boranocarbonates. Après optimisation, l'acide méthyldiphénylsilacarboxylique, appelé silaCOgen, a été sélectionné comme précurseur de CO. Sa version ¹³C a été simplement obtenue en deux étapes par la formation du lithien à partir du chlorure correspondant, puis de son addition sur le [¹³C]-CO₂, avec un excellent rendement de 99% après recristallisation. Le piclamilast, un puissant inhibiteur de phosphodiesterase spécifique de l'adénosine monophosphate (AMP) cyclique pour le traitement de l'asthme, a pu être marqué grâce à ce précurseur. Dans un premier temps, la décarbonylation du [¹³C]-silaCOgen a été effectuée avec du KF dans le toluène à 70°C dans la première chambre, puis le [¹³C]-CO ainsi formé a réagi dans la deuxième chambre pour effectuer l'aminocarbonylation en présence d'acétate de palladium, du ligand phosphine cataCXium® A et de 1,8-diazobicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) dans le toluène à 70°C pendant 20h et obtenir le [¹³C]-piclamilast avec un rendement de 74%. De même, un composé inhibiteur du virus de l'immunodéficience humaine a pu être doublement marqué à l'aide d'un excès de CO généré par l'acide silacarboxylique à température ambiante en présence de KF dans le THF. Le système catalytique de la carbonylation était composé de bis(tri-*tert*-butylphosphine)palladium avec de la DBU. Le composé marqué au ¹³C 14 a été obtenu après 43h de carbonylation à température ambiante et une déprotection d'un groupement *tert*-butoxycarbonyl (Boc) avec un rendement global de 68% (Schéma 12).

³⁵ S. D. Friis, R. H. Taaning, A. T. Lindhardt, T. Skrydstrup, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 18114-18117

³⁶ R. Alberto, K. Ortner, N. Wheatley, R. Schibli, A. P. Schubiger, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 3135-3136

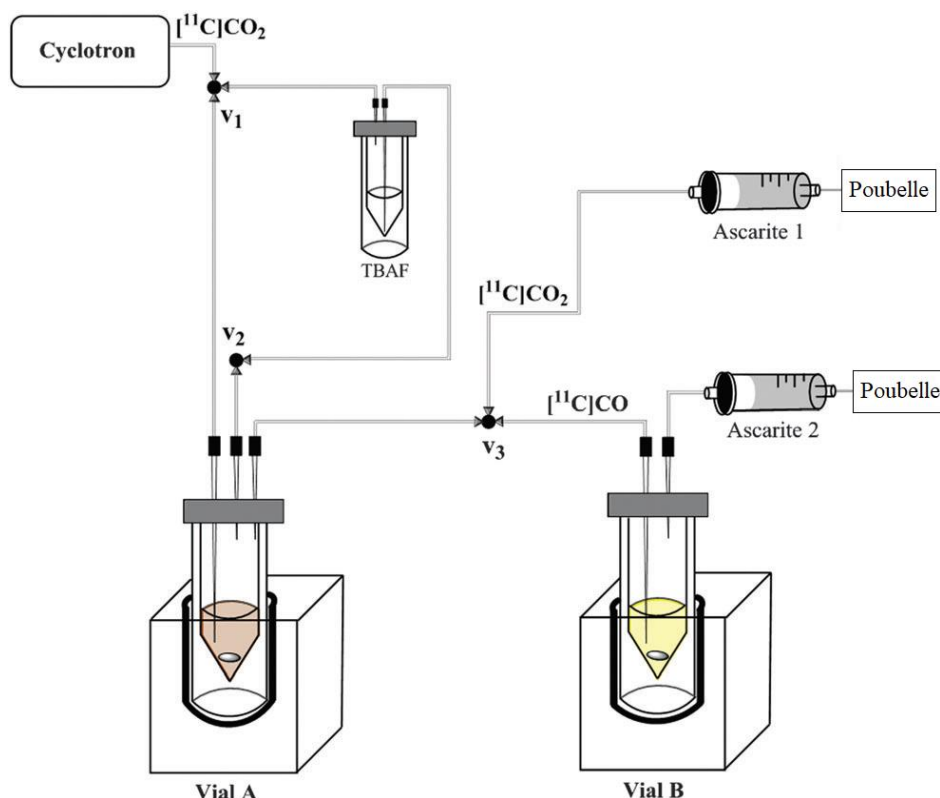


Figure 4 : Système double flacon automatisé pour la production de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ via la décarbonylation d'un acide $[^{11}\text{C}]$ -silacarboxylique

Plusieurs dérivés silylés ont été testés et seul le lithium de méthyldiphénysilyle **16** a permis de capturer le $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ de manière efficace. Une quantité élevée de TBAF a été nécessaire pour améliorer la libération de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$. Initialement, l'ajout de TBAF était effectué après acidification de l'espèce silylée **17**, mais il a été observé que la production de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ était largement améliorée sans l'étape d'acidification. Avec ces conditions optimales, l'amide modèle **20** a pu être marqué en seulement 6 minutes après la fin du bombardement avec un rendement radiochimique de 97% (Schéma 13).

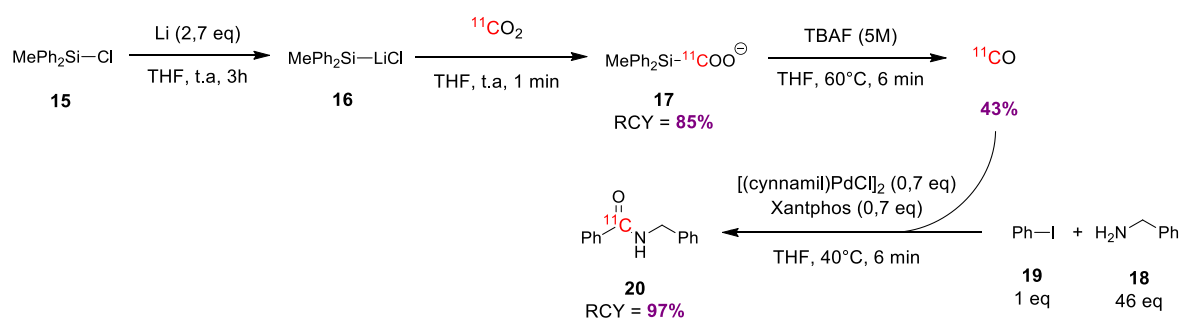


Schéma 13 : $[^{11}\text{C}]$ -Aminocarbonylation appliquée à l'iodobenzène **19** et à la benzylamine **18**

En parallèle, une étude similaire a également été menée par l'équipe de Skrydstrup et d'Antoni.³⁸ Une optimisation de la capture du $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ a été réalisée et le lithium de *tert*-butyldiphénysilyle a été retenu, permettant la formation de l'acide $[^{11}\text{C}]$ -silacarboxylique correspondant avec une pureté radiochimique (RCP) de $94 \pm 5\%$ ($n = 5$). Le $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ n'ayant pas réagi a été capturé par un piège d'Ascarite®. Différentes sources de fluorure ont ensuite été testées en mesurant la radioactivité au cours du temps, et le TBAF dans le THF ou dans le DMF a permis d'observer une libération de la radioactivité quasi-quantitative en seulement une à deux minutes à température ambiante. Cette

³⁸ P. Nordeman, S. D. Friis, T. L. Andersen, H. Audrain, M. Larhed, T. Skrydstrup, G. Antoni, *Chem. Eur. J.*, **2015**, *21*, 17601-17604

méthode a donc permis de piéger le $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ et de libérer le $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ avec une durée totale de 10 min après la fin du bombardement. Ces conditions optimales ont été appliquées à l'aminocarbonylation du 4-iodoanisole **6** avec la *N*-hexylamine **4** en présence de $\text{Pd}(\text{dba})_2$ et de 4,5-bis(diphénylphosphino)-9,9-diméthylxanthène (Xantphos) dans le DMF. Après libération du $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ dans le deuxième flacon, la réaction a été chauffée à 120°C pendant 8 minutes. La purification par radio-HPLC préparative a permis d'obtenir l'amide marqué au ^{11}C avec un rendement radiochimique de $84\pm 3\%$ ($n = 3$) et une durée totale de 27 ± 1 minutes après la fin du bombardement (Schéma 14).

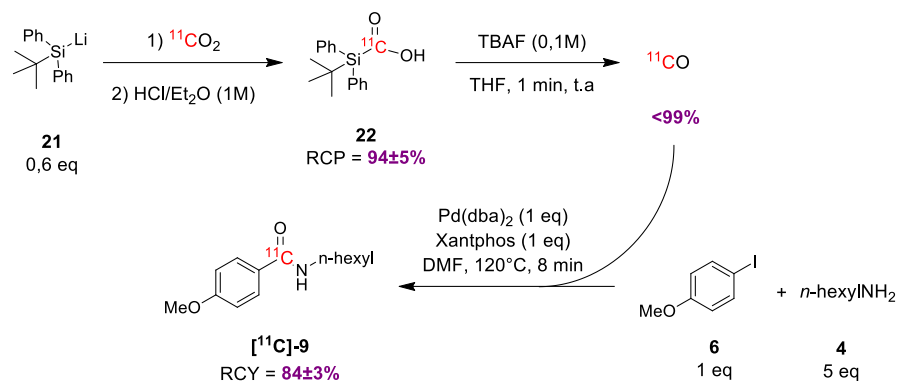


Schéma 14 : $[^{11}\text{C}]\text{-aminocarbonylation}$ appliquée au 4-iodoanisole **6** et à la *N*-hexylamine **4**

Afin de valider cette méthodologie, elle a été appliquée aux marquages de composés biologiquement actifs qui ont mené aux $[^{11}\text{C}]\text{-amides}$ correspondants avec des rendements radiochimiques allant de 29% à 74%.

L'équipe de Gee³⁹ a développé une méthode de production de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ similaire en utilisant des espèces disilanes en tant que précurseurs, ce qui permet d'éviter la longue préparation des dérivés lithiens silylés. Après optimisation avec un disilane modèle, le TBAF a été choisi comme source de fluorure, et le rendement maximum de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ a été obtenu avec 0,1 équivalent de TBAF, le rendement diminuant si les équivalents sont réduits ou augmentés. Le débit du flux porteur de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ a également été optimisé avec une valeur de 10 mL/min pour obtenir une conversion en $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ de $59\pm 6\%$ ($n = 5$). Avec ces conditions optimales, différents précurseurs ont été testés, et le tétraméthyldiphényldisilane **24** a permis d'obtenir le meilleur rendement de production de $[^{11}\text{C}]\text{-CO}$ de $74\pm 6\%$ ($n = 5$). Ce précurseur a été appliqué dans une $[^{11}\text{C}]\text{-aminocarbonylation}$ catalysée au palladium entre l'iodobenzène **19** et la benzylamine **18** pour obtenir l'amide marqué **20** avec une durée totale de synthèse de seulement 10 minutes à partir de la fin du bombardement, un rendement radiochimique de 74% et une pureté radiochimique supérieure à 99% (Schéma 15).

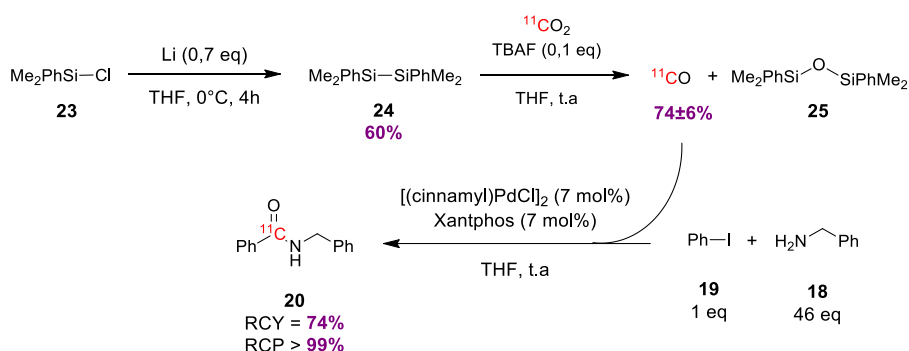


Schéma 15 : $[^{11}\text{C}]\text{-Aminocarbonylation}$ avec le précurseur disilane **24**

³⁹ C. Taddei, S. Bongarzone, A. D. Gee, *Chem. Eur. J.*, **2017**, 23, 7682-7685

e) Marquage par bioconjugaison

Il existe différentes méthodes pour incorporer le radioélément au sein d'un traceur. Pour être spécifique d'une cible, un radiotraceur peut, par exemple, être basé sur une biomolécule qui sera un ligand endogène. Il est donc primordial de développer des stratégies de marquage appropriées aux biomolécules souvent très sensibles. L'une d'entre elles consiste à conjuguer la biomolécule à une plateforme facilement marquée par une réaction très sélective et dans des conditions douces.

Le concept de chimie click s'est révélé être un excellent outil pour le marquage indirect de biomolécules. Parmi ces réactions de chimie click, la cycloaddition alcyne-azoture catalysée au cuivre (CuAAC) permet de former des 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués de façon chimiosélective et régiospécifique en conditions douces avec d'excellents rendements.^{40,41,42} Les triazoles sont des motifs stables *in vivo*⁴³ et apportent un certain degré de polarité.⁴⁴ Ils constituent donc des groupements intéressants dans le cadre du développement de radiotraceurs. Cependant, le mécanisme de cette réaction reste difficile à élucider. L'équipe de Sharpless⁴² a été la première à en proposer un en 2002, qui ne faisait participer qu'une seule espèce de cuivre dans le mécanisme, mais plusieurs études ont par la suite montré qu'il y aurait plutôt l'implication de plusieurs atomes de cuivre dans les intermédiaires réactionnels. L'équipe de Fokin⁴⁵ a donc proposé un nouveau cycle catalytique mettant en scène un intermédiaire avec deux atomes de cuivre (Schéma 16).

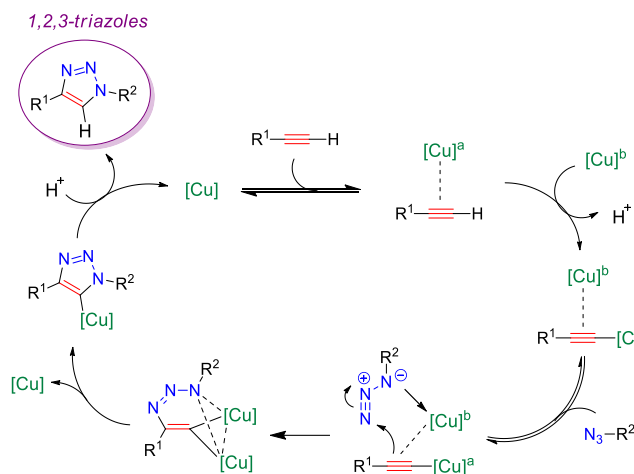


Schéma 16 : Cycle catalytique de la CuAAC proposée par Fokin et al⁴⁵

L'équipe de Sutcliffe a utilisé en 2006 cette réaction pour la première fois dans le cadre du marquage au ¹⁸F.⁴⁶ Depuis, de nombreux groupements prosthétiques, comportant soit une fonction azoture, soit une fonction alcyne, ont été développés pour le marquage au ¹⁸F (Figure 5).⁴⁷

⁴⁰ H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 2004-2021

⁴¹ C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 3057-3064

⁴² V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 2596-2599

⁴³ B. H. M. Kuipers, S. Groothuys, A. C. Soede, P. Laverman, O. C. Boerman, F. L. van Delft, F. P. J. T. Rutjes, *Bioconj. Chem.*, **2007**, *18*, 1847-1854

⁴⁴ V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 51-68

⁴⁵ B. T. Worrell, J. A. Malik, V. V. Fokin, *Science*, **2013**, *340*, 457-460

⁴⁶ J. Marik, J. L. Sutcliffe, *Tet. Lett.*, **2006**, *47*, 6681-6684

⁴⁷ K. Kettenbach, H. Schieferstein, T. L. Ross, *BioMed. Res. Int.*, **2014**, 361329, 1-16

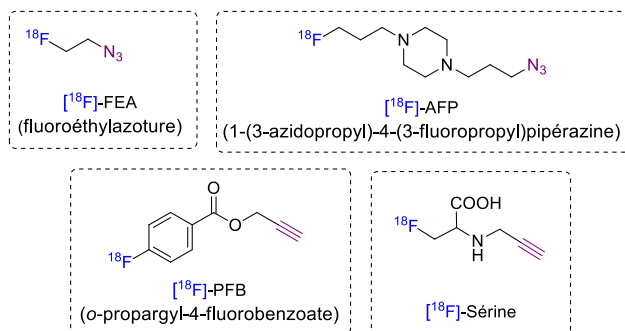


Figure 5 : Exemples de groupements prosthétiques pour le marquage au ^{18}F

Ces groupements prosthétiques peuvent donc être utilisés pour marquer une biomolécule modulable via la réaction click afin d'obtenir un radiotracer TEP choisi. Récemment, l'équipe de Zhang⁴⁸ s'est servie de cette technique pour développer un nouveau radiotracer TEP pour l'imagerie du cancer des poumons. Pour cela, l'icotinib, un inhibiteur de récepteur du facteur de croissance épidermique très sélectif, a été marqué à l'aide du ^{18}F -fluoroéthylazoture (^{18}F -FEA). La radiosynthèse a consisté à former, dans un premier temps, le ^{18}F -FEA à partir 1,2-bis(tosyloxy)éthane **26**. Celui-ci subit ensuite une substitution nucléophile avec l'azoture de sodium pour remplacer un des groupements tosylates par un azoture pour obtenir le composé **27**, puis le deuxième groupement tosylate est substitué par du ^{18}F grâce à un mélange de fluorure marqué, de Kryptofix 222 et de carbonate de potassium pour obtenir le ^{18}F -FEA avec un rendement radiochimique supérieur à 99% et une pureté radiochimique après distillation supérieure à 99%. Enfin, le ^{18}F -FEA ainsi obtenu a été mis en présence de l'icotinib pour effectuer la réaction de CuAAC. Après l'optimisation des conditions de réaction et de purification, le ^{18}F -icotinib a été récupéré avec un rendement radiochimique corrigé de 45% et une pureté radiochimique supérieure à 99%, pour une durée totale de synthèse de 100 min (Schéma 17).

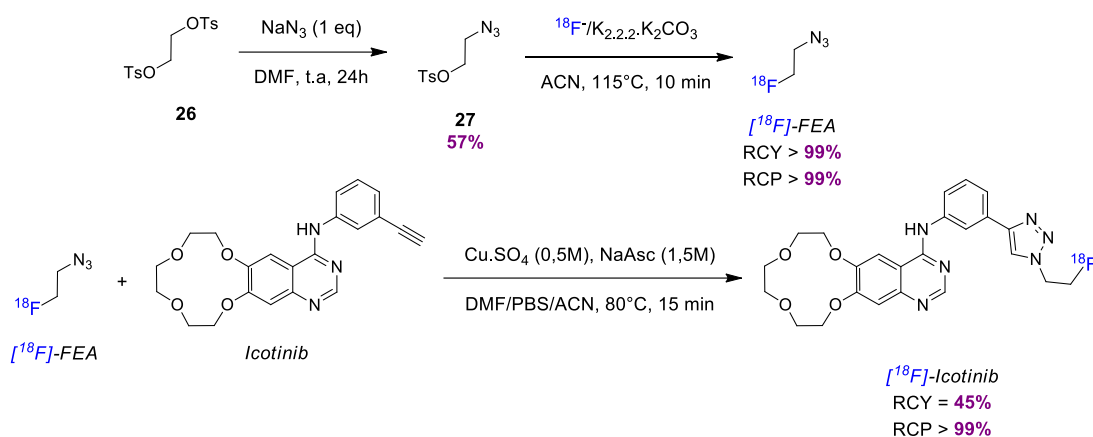


Schéma 17 : Radiosynthèse du ^{18}F -icotinib

En ce qui concerne le ^{11}C possédant un temps de demi-vie plus court, cette méthode peut se révéler très intéressante. Celle-ci peut être réalisée de différentes manières, tant que les conditions restent assez douces pour ne pas dégrader la biomolécule.

L'équipe de Fouquet⁴⁹ a ainsi marqué des nucléosides tels que la thymidine et des oligonucléotides au ^{11}C . Les conditions de formation du CH_3N_3 ont été optimisées à froid en utilisant le 15-C-5. La réaction click a été réalisée avec succès sur un oligonucléotide avec un excellent rendement en 5 min et la thymidine a également été « clickée » avec un rendement de 98%. Ces conditions ont été

⁴⁸ X. Lua, C. Wang, X. Lie, P. Gua, L. Jia, L. Zhang, *Bioorg. Med. Chem.*, **2019**, 27, 545-551

⁴⁹ T. Bordenave, P. P. Hazari, D. James, A. K. Mishra, M. Szlosek-Pinaud, E. Fouquet, *Eur. J. Org. Chem.*, **2013**, 1214-1217

appliquées à la version ^{11}C . Le conjugué avec la thymidine **29** a ainsi été marqué au ^{11}C avec un rendement radiochimique corrigé de $48\pm 12\%$ ($n = 3$) en 30 min à 60°C (Schéma 18).

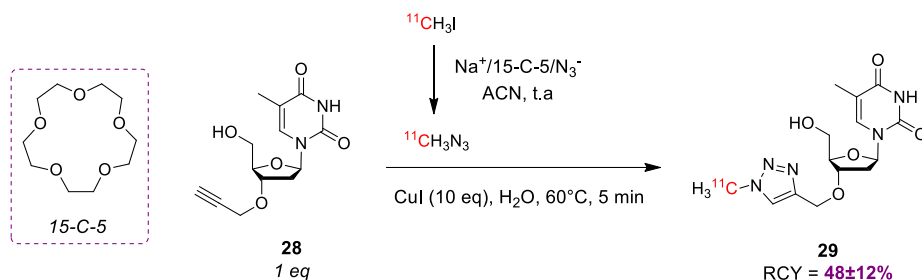


Schéma 18 : Réaction de CuAAC appliquée à la radiosynthèse du conjugué à base de thymidine marqué au ^{11}C **29**

L'équipe de Fouquet⁵⁰ a ensuite décidé de développer une nouvelle plateforme reliée à une biomolécule qui serait facilement marquable afin de réaliser le marquage par une carbonylation en dernière étape de synthèse du radiotraceur. L'alcoycarbonylation intramoléculaire catalysée au palladium a été choisie car il s'agit d'une réaction sélective et très efficace en conditions douces.⁵¹ De plus, il a été montré que les alcools benzyliques ortho iodés (ABOI) sont de bons substrats pour cette réaction en formant en présence de monoxyde de carbone et d'un catalyseur au palladium un phtalide.⁵² Le motif ABOI constitue donc une plateforme marquable au ^{11}C , et une fonction a été introduite pour assurer une liaison avec une biomolécule. Compte tenu de l'expertise de l'équipe, un lien triazole a été choisi (Schéma 19).

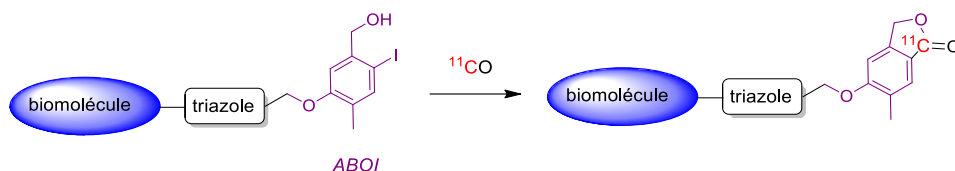


Schéma 19 : Stratégie de marquage avec la plateforme ABOI

De ce fait, deux plateformes ABOI ont été synthétisées pour permettre la CuAAC avec une biomolécule, l'une avec une fonction azoture **32**, l'autre avec une fonction alcyne **33**. Pour cela, le composé commercial **30** a été iodé en position *para* du méthoxy à l'aide du *N*-iodosuccinimide (NIS) et d'une quantité catalytique d'acide trifluoroacétique (TFA) dans l'acétonitrile. Les deux groupements méthoxy ont ensuite été déprotégés par deux équivalents de BBr_3 dans le dichlorométhane (DCM), puis la fonction acide carboxylique a été complètement réduite en alcool grâce à trois équivalents de BH_3 dans le THF. L'alcool **31** a été ainsi obtenu avec un rendement de 82% sur trois étapes. Le phénol formé a permis d'une part l'introduction d'un groupement alcyne à l'aide de bromure de propargyle en présence de la base K_2CO_3 dans le DMF pour obtenir la plateforme **32**. D'autre part, la fonction azoture a été introduite sur le phénol via un précurseur tosylate toujours en présence de la base K_2CO_3 dans le DMF pour former la plateforme **33**. Ces deux réactions ont donné chacune un rendement identique de 68% (Schéma 20).

⁵⁰ T. Cornilleau, H. Audrain, A. Guillemet, P. Hermange, E. Fouquet, *Org. Lett.*, **2015**, 17, 354-357

⁵¹ A. Cowell, J. K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 4193-4198

⁵² T. Kihlberg, P. Lidström, B. Långström, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, 1997, 40, 781-782

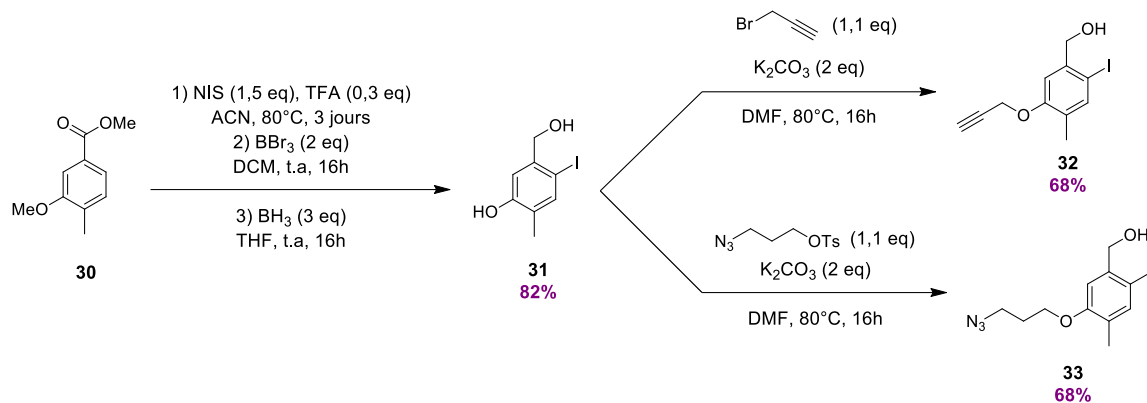


Schéma 20 : Préparation des plateformes ABOI propargylique **32** et azoture **33**

Pour coupler des biomolécules à ces plateformes, des conditions standards de CuAAC ont été utilisées. Les deux partenaires ont été mis en présence de sulfate de cuivre en quantité catalytique et d'ascorbate de sodium (NaAsc) dans un mélange *tert*-butanol/eau à 30°C pendant 16h (Schéma 21). Diverses biomolécules ont ainsi été introduites avec succès avec des rendements allant de 45% à 100%. Par exemple, des dérivés de la cinchonidine, de la biotinamide, du glucopyranose, de la thymidine, de la lysine ou du cyclo-RGD (séquence arginine-glycine-acide aspartique) ont pu être couplés avec la plateforme ABOI propargylée. En parallèle, des dérivés de la cinchonidine, du moxestrol ou de la thymidine ont été couplés avec la plateforme ABOI azoture.

Avant de réaliser la carbonylation sur les plateformes ABOI couplées aux biomolécules, les conditions de cette réaction ont d'abord été optimisées sur le motif ABOI sans les fonctions alcyne ou azoture. Le système de double chambre décrit précédemment a été utilisé en employant le silaCOgen comme précurseur de CO et le TBAF en tant qu'activateur. Les conditions optimales de carbonylation ont été obtenues avec le système Pd(dba)₂, Xantphos et 1,4-diazobicyclo[2.2.2]octane (DABCO) dans le THF à 40°C pendant 16h. L'augmentation de la température à 70°C a permis de réduire le temps de réaction à 1h. Ces conditions ont été appliquées pour le marquage au ¹³C.

Les plateformes couplées aux biomolécules ont été soumises à ces conditions de carbonylation à la fois en ¹²C et en ¹³C (Schéma 21). Les molécules carbonylées au ¹²C ont été obtenues en utilisant un léger excès de précurseur de CO (1,25 eq) après 16h à 40°C avec des rendements allant de 74% à 100%. En ce qui concerne la carbonylation au ¹³C, le précurseur a été introduit en défaut (0,75 eq) et les différentes molécules carbonylées ont été obtenues après seulement 1h à 70°C avec des rendements allant de 79% à 94%.

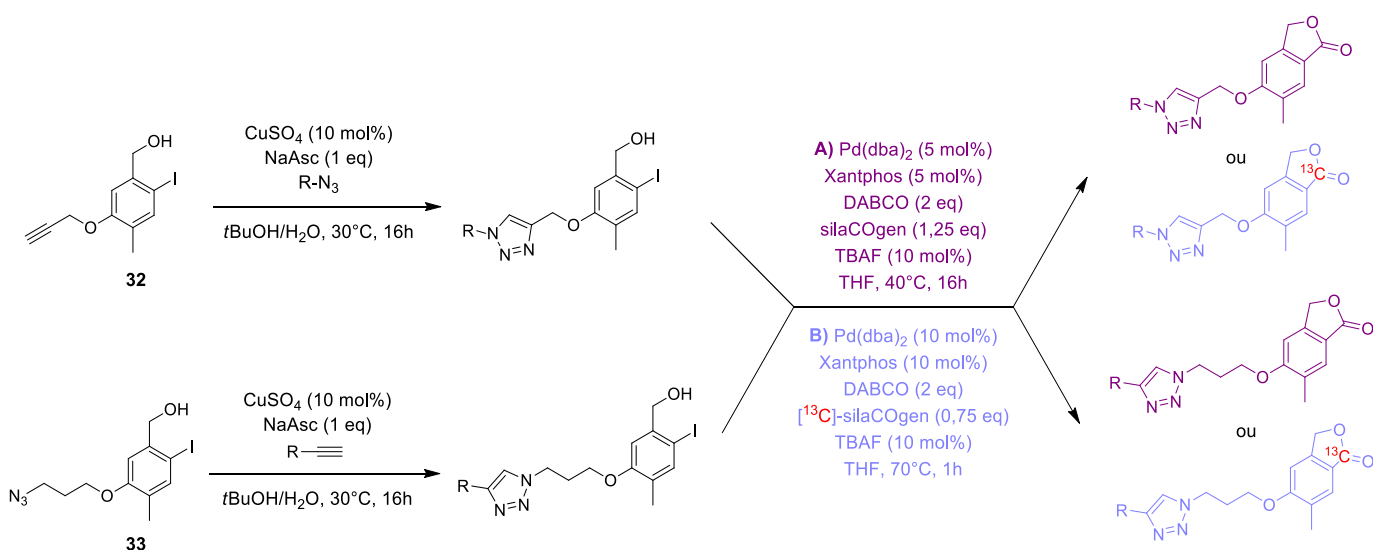


Schéma 21 : Conditions de CuAAC et de carbonylations des plateformes ABOI **32** et **33**

Enfin, ces conditions de carbonylation ont été transférées pour le marquage au ¹¹C. Le [¹¹C]-CO a été obtenu via la réduction du [¹¹C]-CO₂, produit par le cyclotron, sur une colonne de molybdène à

850°C. Les potentielles traces résiduelles de [^{11}C]- CO_2 ont été éliminées à l'aide d'une cartouche d'Ascarite®, composée de silice recouverte d'hydroxyde de sodium, puis le flux d'hélium a entraîné le [^{11}C]-CO, qui a été condensé sur de la silice à -196°C. Ce piège connecté au réacteur contenant les réactifs en solution a été chauffé pour libérer le gaz. A la fin de la réaction, le milieu a été purgé pour éliminer le [^{11}C]-CO restant (Figure 6).

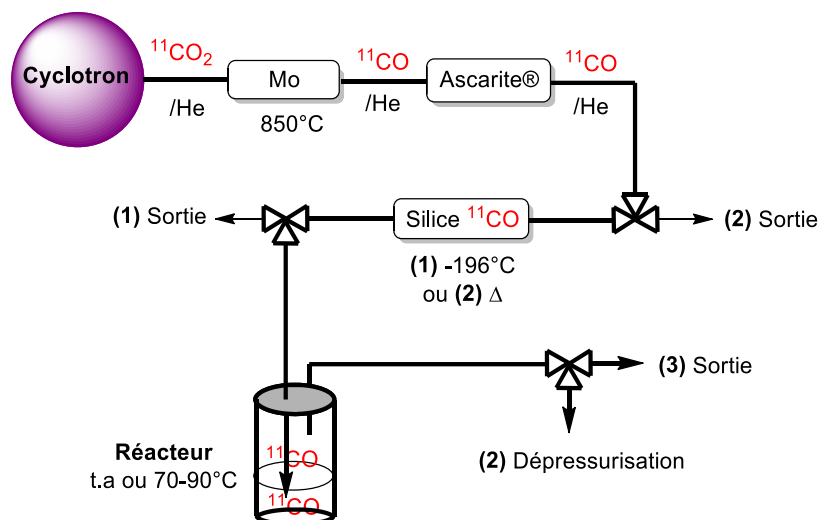


Figure 6 : Schéma du système de la réaction de [^{11}C]-carbonylation

Quatre substrats ont été choisis pour tester ce marquage. Dans un premier temps, la plateforme modèle ABOI méthoxylée a été carbonylée à 70°C pendant 5 min. La plateforme marquée au ^{11}C a été obtenue avec une excellente conversion radiochimique (RCC) de $93\pm 2\%$ ($n = 3$), déterminée par analyse radio HPLC du brut réactionnel. Pour le composé dérivé du glucopyranose, il a été nécessaire d'augmenter la température à 90°C pour obtenir de bonnes conversions radiochimiques de $75\pm 19\%$ ($n = 3$). En revanche, le dérivé du cyclo-RGD a conduit à une moins bonne conversion radiochimique de $48\pm 17\%$ ($n = 3$). Le moxestrol étant commercial et possédant déjà le groupement alcyne nécessaire à la bioconjugaison par click, la préparation de son précurseur pour le marquage au ^{11}C a pu se faire facilement avec la fonction azoture de la plateforme ABOI **33**, puis la [^{11}C]-carbonylation a été effectuée pour obtenir le produit marqué avec une conversion radiochimique de 42% (Schéma 22). Cette méthode a donc permis de marquer des molécules d'intérêt biologique structurellement complexes.

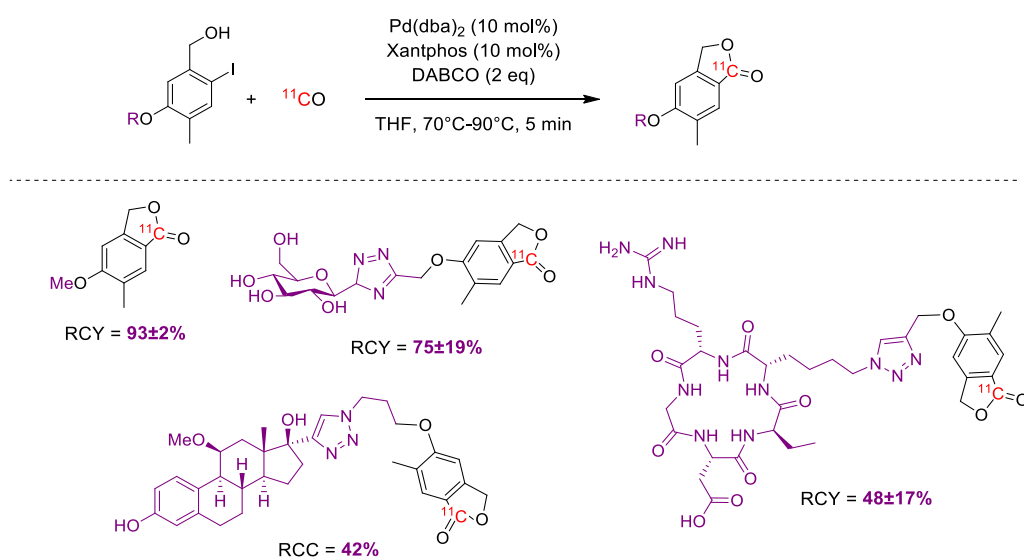


Schéma 22 : [^{11}C]-Carbonylation de molécules bioconjuguées avec les plateformes ABOI

Le moxestrol est connu pour son affinité avec les ER. L'équipe de Fouquet a donc décidé d'évaluer les propriétés *in vivo* de cette molécule marquée au ^{11}C pour observer l'influence du motif lactone. Pour cela, la purification et la production de doses injectables du radiotraceur sont des étapes cruciales. Elles ne doivent pas être trop longues, mais doivent permettre d'atteindre la pureté nécessaire. Dans un premier temps, il a été envisagé une purification directe du milieu réactionnel par HPLC, mais cela s'est révélé impossible à cause d'une précipitation d'espèces de palladium. Une filtration sur une cartouche de Célite® du milieu réactionnel après dilution dans un mélange d'acétonitrile (ACN), d'eau et d'une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium aux proportions 1:1:1 a donc d'abord été réalisée. Ensuite, le filtrat a été injecté en HPLC, puis la fraction collectée a été diluée dans de l'eau, concentrée par SPE sur une cartouche C8 et lavée de nouveau avec de l'eau. Enfin, l'élution avec de l'éthanol et du sérum physiologique a permis d'obtenir une solution aqueuse stérile du radiotraceur sous forme injectable. Initialement, le rendement radiochimique corrigé était de 32%, mais le fait de diminuer la quantité de base à 10 mol% a permis d'obtenir un meilleur rendement de 42%. La pureté radiochimique du ^{11}C -moxestrol conjugué était supérieure à 99% et l'ensemble de ces étapes de purification a duré 19 minutes. Cette méthode a rendu possible des études TEP *in vivo*.

Le métabolisme de ce radiotraceur a d'abord été évalué en l'injectant dans des rates et en analysant des échantillons de sang par radio-HPLC. De façon intéressante, seulement trois métabolites ont été détectés avec des niveaux relativement bas. En effet, 75% du radiotraceur était toujours présent dans le plasma 40 min après l'injection. Ces résultats satisfaisants ont permis la continuité de l'étude *in vivo* sur la biodistribution.

Le moxestrol est connu pour être assimilé à 60% dans le foie et une partie de l'intestin, et à 25% dans les organes de reproduction femelles 24h après l'injection. En comparaison, la plupart du ^{11}C -moxestrol conjugué a été piégé dans le foie en 2 min, puis il a circulé jusqu'à l'intestin. Cependant, aucune image concluante des organes reproducteurs n'a pu être obtenue dans l'abdomen à cause de la proximité du système digestif. Des images du cerveau ont alors été réalisées et comparées avec celles obtenues par le radiotraceur ^{18}F -fluoroœstradiol (^{18}F -FES) utilisé en préclinique. Toutefois, aucune zone spécifique radioactive n'a pu être détectée dans le cerveau contrairement au ^{18}F -FES (Figure 7).

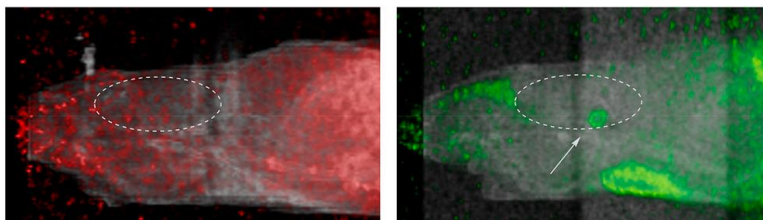
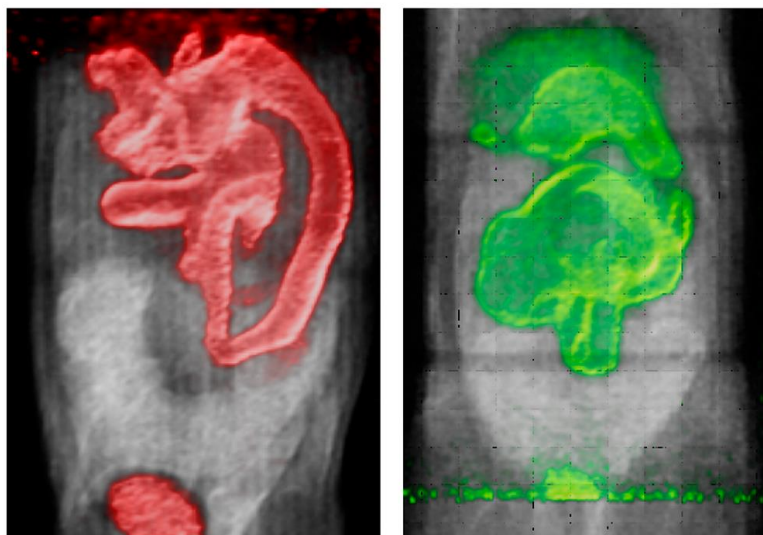


Figure 7 : Comparaison d'images microPET-IRM de rates (en rouge le $[^{11}\text{C}]$ -moxestrol conjugué, en vert le $[^{18}\text{F}]$ -FES)

Il a donc semblé que le radiotracer conjugué n'avait que très peu d'affinité *in vivo* avec les ER malgré des études de modélisation ayant suggéré la possibilité de liaison du moxestrol conjugué dans le site du récepteur. Il a donc été supposé que la modification de la structure ou de la longueur de l'espaceur pourrait permettre d'améliorer cette affinité. Cependant, cette optimisation par des études de TEP serait trop coûteuse et cette voie n'a pas été explorée. Au contraire, l'utilisation d'une plateforme qui serait également fluorescente pourrait être intéressante car les tests biologiques optiques sont plus accessibles et moins contraignants.

2) L'imagerie optique par fluorescence

a) Principe

La luminescence est l'émission de photons ultraviolets, visibles ou infrarouges résultant d'une espèce électronique excitée.⁵³ Les composés luminescents peuvent être organiques (hydrocarbure aromatique, fluorescéine, rhodamine, coumarine, acide aminé, etc...), inorganiques (ion uranyle, ion lanthanide, cristaux, etc...) ou organométalliques (complexe de ruthénium, complexe d'ion lanthanide, complexe d'agent chélatant fluorogénique, etc...).

Selon le mode d'excitation, la luminescence peut prendre plusieurs formes. Lors de l'absorption d'un photon par une espèce, celle-ci entre dans un état électronique excité. On appelle photoluminescence l'émission d'un photon provoqué par la désexcitation de cette espèce. Il existe deux types de photoluminescence : la phosphorescence et la fluorescence. Cette dernière a lieu lors du retour de la molécule excitée à son état fondamental par émission d'un photon. Mais d'autres processus de désexcitation peuvent avoir lieu en compétition avec la fluorescence comme la conversion interne, la conversion intersystème, le transfert de charge intramoléculaire ou le

⁵³ B. Valeur, *Molecular Fluorescence Principles and Applications*, 2002, Weinheim, WILEY-VCH, 381 pages

changement conformationnel (Figure 8). Il peut également y avoir un conflit avec des interactions intermoléculaires.

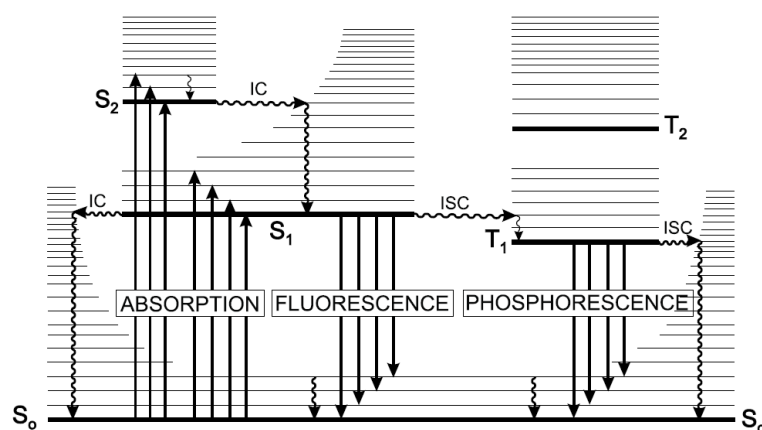


Figure 8 : Diagramme de Perrin-Jablonski⁵³

De plus, la fluorescence est sensible à de nombreux paramètres dans l'environnement de la molécule : la température, la viscosité, la pression, le pH, les liaisons hydrogène, la polarité, l'ionicté, le potentiel électrique et les désactivateurs. Grâce à la forte influence qu'exerce le milieu dans lequel une molécule émet de la fluorescence, les molécules fluorescentes sont souvent utilisées en tant que sondes pour étudier des systèmes physico-chimiques, biochimiques et biologiques. Elles peuvent indiquer une large variété d'informations dans plusieurs domaines différents (polymères, surfaces solides, membranes biologiques, protéines, acides nucléiques, cellules vivantes, etc...).

Les techniques analytiques basées sur la fluorescence sont donc très sensibles et sélectives, et possèdent une bonne résolution spatiale et temporelle. Si la molécule analysée est déjà fluorescente, un spectrofluoromètre permet une détection directe avec des excitations et longueur d'ondes appropriées. C'est le cas dans l'analyse des polluants de l'air ou de l'eau, d'huiles, de nourriture ou de drogues, le suivi de processus industriels ou cliniques, la criminologie, etc...

Cependant, comme la plupart des molécules ne sont pas fluorescentes, il faut procéder par des méthodes indirectes comme la dérivation, la formation d'un complexe fluorescent ou la désactivation de la fluorescence. Il est ainsi possible de rendre une molécule fluorescente en la couplant avec un motif fluorescent.

b) Synthèses de sondes à base de BODIPY

Le 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacène, appelé BODIPY (Figure 9), est un motif fluorescent souvent utilisé dans le marquage de protéines⁵⁴ et d'ADN.⁵⁵ Cette petite molécule présente beaucoup de caractéristiques intéressantes, telles qu'une forte absorption dans le visible, un haut rendement quantique de fluorescence, une résistance à la polarité et au pH de l'environnement, une bonne stabilité chimique, photostabilité et perméabilité cellulaire⁵⁶.

⁵⁴ M.-C. Yee, S. C. Fas, M. M. Stohlmeyer, T. J. Wandless, K. A. Cimprich, *J. Biol. Chem.*, **2005**, *280*, 29053-29059

⁵⁵ M. L. Metzker, WO Patent *WO/2003/066812*, **2003**

⁵⁶ M. Shah, T. Thangarajay, M.-L. Soong, L. T. Wolford, J. H. Boyer, I. R. Politzer, T. G. Pavlopoulos, *Heteroat. Chem.*, **1990**, *1*, 389-399

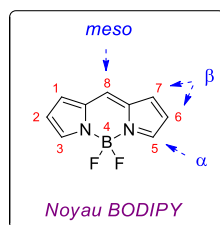


Figure 9 : Structure et nomenclature IUPAC du noyau BODIPY

Le noyau BODIPY dépourvu de substituant s'est révélé plus difficile d'accès que les BODIPY substitués, en partie à cause de la forte instabilité de l'intermédiaire dipyrrométhène. Il a pu être obtenu avec de bons rendements seulement en 2013 grâce à l'équipe de Thompson.⁵⁷ En revanche, il est possible de retrouver dans la littérature de nombreux BODIPY substitués en α , ou à la fois en α et β , ou en position *méso*, par exemple par des groupements méthyles ou phényles (Figure 10). Il est intéressant de noter que la substitution des positions 1 et 7 est primordiale lors de la présence d'un groupement phényle en *méso* pour garder un bon rendement quantique de fluorescence comme le montre le BODIPY **37**. Ces substituants permettent en effet d'empêcher la libre rotation du phényle qui conduit à une perte d'énergie dans l'état excité, provoquant une baisse du rendement quantique de fluorescence comme pour le BODIPY **35**.

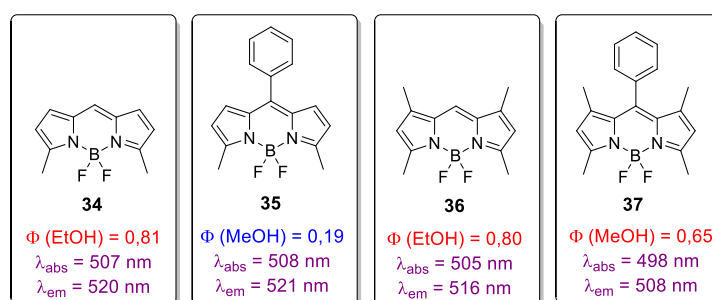


Figure 10 : Propriétés spectroscopiques de différents BODIPY^{58,59,60}

La formation de noyaux BODIPY peut s'effectuer de différentes manières, toutes faisant intervenir des dérivés pyrroles. Ces derniers peuvent être mis en présence de chlorures d'acide, ce qui forme un intermédiaire dipyrrométhène chlorhydraté, en général non isolé car instable. L'ajout d'une base telle que la triéthylamine, puis d'éthérate de trifluorure de bore conduit à la fermeture du noyau BODIPY (Schéma 23A). Les dérivés pyrroles peuvent également réagir avec des aldéhydes aromatiques en présence d'une activation acide, en général à l'aide de TFA, suivie d'une étape d'oxydation. Contrairement à la méthode précédente, les intermédiaires peuvent être isolés. Enfin, la dernière étape de formation du noyau BODIPY reste identique (Schéma 23B).

⁵⁷ B. R. Groves, S. M. Crawford, T. Lundrigan, C. F. Matta, S. Sowlati-Hashjin, A. Thompson, *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 816-818

⁵⁸ E. Vos de Wael, J. A. Pardoën, J. A. van Koevinge, J. Lugtenburg, *Recl. Trav. Chim.*, **1977**, 96, 306-309

⁵⁹ R. Bandichhor, C. Thivierge, N. S. P. Bhuvanesh, K. Burgess, *Acta Cryst.*, **2006**, E62, o4310-o4311

⁶⁰ A. Loudet, K. Burgess, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 4891-4932

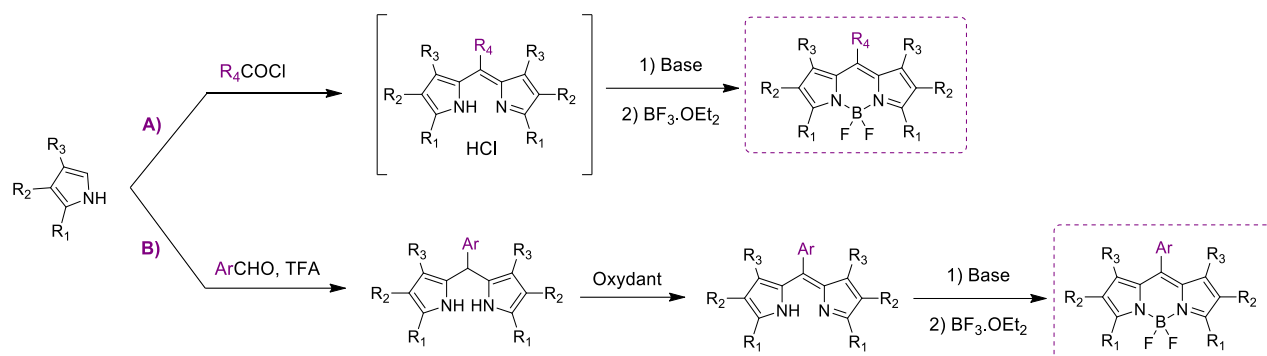


Schéma 23 : Méthodes générales de synthèse du noyau BODIPY

Le noyau BODIPY étant résistant à de nombreuses transformations chimiques, des substituants variés peuvent être introduits. Les formes mésomères montrent que les positions 2 et 6 sont plus sensibles aux substitutions électrophiles. De cette façon, des sulfonations, nitrations ou halogénations électrophiles peuvent avoir lieu. En outre, des BODIPY halogénés en positions 3 et 5 peuvent subir des substitutions nucléophiles pour introduire de nouveaux groupements. Ses inconvénients pour une utilisation en tant que sonde fluorescente sont sa fenêtre d'émission non idéale située entre 500 et 600 nm, et le manque de solubilité de ses dérivés dans l'eau. Cependant, des modifications de sa structure permettent d'ajuster ces caractéristiques. Par exemple, une extension du système conjugué est possible par des condensations de Knoevenagel sur les groupements méthyles en positions 3 et 5. Ceci peut permettre de rapprocher les longueurs d'onde vers le proche infrarouge (PIR) et ainsi obtenir des images de fluorescence de meilleure qualité. L'introduction d'un atome d'azote en position *méso* permet également de déplacer la bande spectrale du BODIPY vers le rouge, formant de ce fait un aza-BODIPY.⁶¹ Les caractéristiques des BODIPY sont donc intéressantes pour des applications en imagerie de fluorescence, et il en existe de nombreux exemples.

L'équipe de Wu⁶² a synthétisé, entre autres, une structure simple à base de BODIPY permettant de détecter les ions Cu^{2+} . Ces derniers peuvent augmenter le risque de maladies neurologiques et sont également des polluants connus pour leur toxicité sur les organismes aquatiques. Une sonde fluorescente à base de BODIPY capable d'analyser la concentration de ces ions a donc été développée en introduisant des récepteurs de type amide sur la structure de base, rendant possible la coordination avec les ions Cu^{2+} . Cette sonde a été synthétisée en trois grandes étapes avec un rendement global de 5%. La première consiste en la formation du BODIPY **40** à partir du 4-hydroxy-3-nitrobenzaldéhyde **38** et du 2,4-diméthylpyrrole **39** avec les conditions classiques qui ont mené à un rendement moyen de 19%, puis la fonction nitro a été réduite en amine à l'aide de fer en présence d'acide chlorhydrique pour obtenir le BODIPY **41** avec un bon rendement de 78%. Enfin, la fonction amide a été introduite via un couplage peptique entre la fonction amine du BODIPY **41** et l'acide salicylique en présence de carbonyldiimidazole, conduisant à la sonde HHPBA-BODIPY avec un rendement moyen de 35% (Schéma 24). Ses caractéristiques spectroscopiques se sont révélées similaires aux BODIPY classiques. Bien que son rendement quantique de fluorescence soit très bas, elle a permis de déterminer des concentrations d'ions Cu^{2+} en mesurant son intensité d'émission de fluorescence qui est neutralisée en leur présence.

⁶¹ H. Lu, J. Mack, Y. Yanga, Z. Shen, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 4778-4823

⁶² R. Sun, L. Wang, C. Jiang, Z. Du, S. Chen, W. Wu, *J. Fluoresc.*, **2020**, 1-8

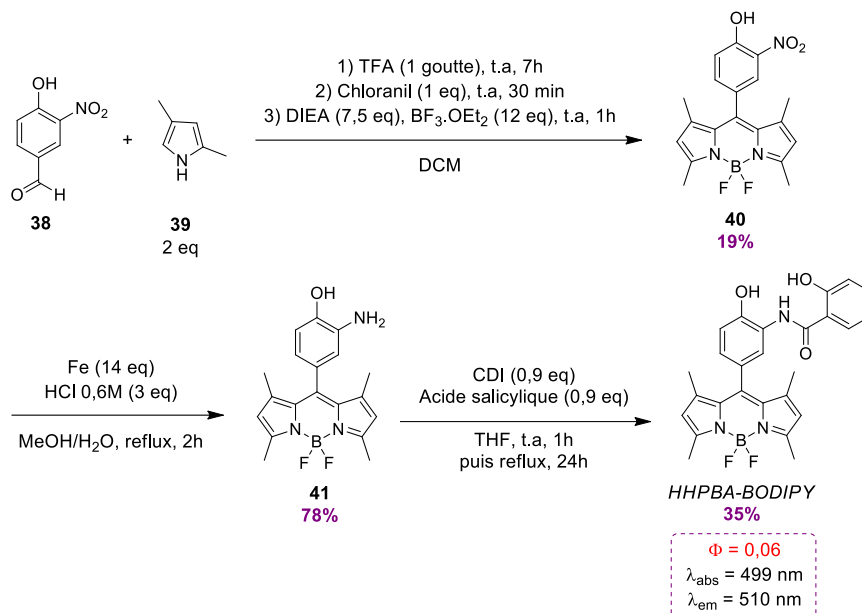


Schéma 24 : Synthèse de la sonde fluorescente HHPBA-BODIPY

Un exemple de traceur fluorescent à base de BODIPY a été développé par l'équipe de Cerecetto⁶³. Un agent très efficace contre le parasite provoquant la maladie de Chagas a été couplé en une étape à un BODIPY afin d'obtenir une nouvelle sonde fluorescente. Le BODIPY tétraméthylé **43**, portant un atome de chlore en position *méso*, a été synthétisé à partir du chlorure de chloroacétyle **42** et du 2,4-diméthylpyrrole **39** selon des conditions classiques, avec un rendement moyen de 24%. L'agent anti-Chagas **44**, constitué d'un système 2,3-dihydrothiazole, a été relié au BODIPY par une substitution nucléophile de son unité pipérazine sur le carbone portant l'atome de chlore du BODIPY **43**, pour obtenir la sonde fluorescente **45** avec un rendement moyen de 24% (Schéma 25). Ses caractéristiques spectroscopiques sont similaires aux BODIPY décrits précédemment. L'étude de son comportement *in vivo* a montré une différenciation de sa distribution dans les organes de souris, ciblant préférentiellement les organes impliqués dans la maladie de Chagas.

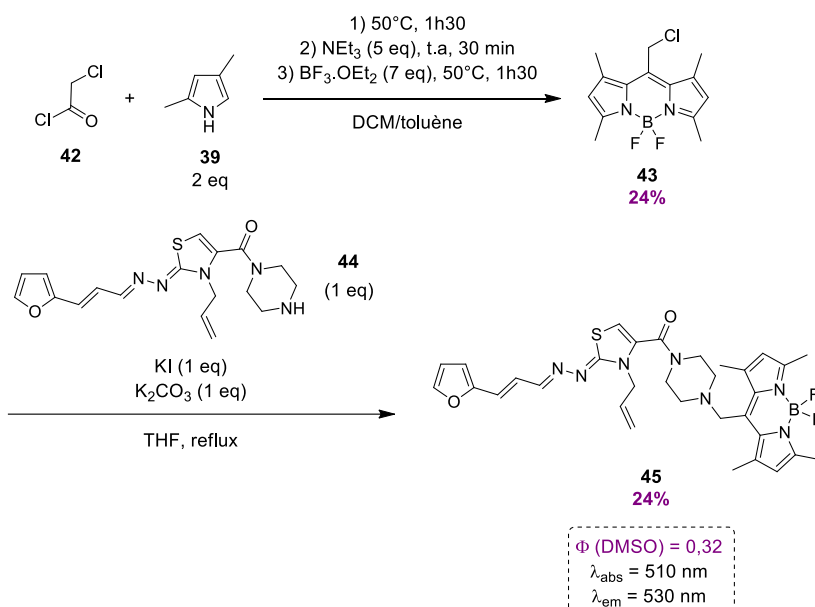


Schéma 25 : Synthèse d'une sonde anti-Chagas **45** à base de BODIPY

⁶³ G. Rodríguez, J. Nargoli, A. López, G. Moyna, G. Álvarez, M. Fernández, C. A. Osorio-Martínez, M. González, H. Cerecetto, *RSC Adv.*, **2017**, 7, 7983-7989

3) L'imagerie bimodale TEP/fluorescence

a) Avantages

L'imagerie TEP possède certes une très bonne spécificité et sensibilité dans la visualisation de tissus, mais elle ne dispose que d'une résolution spatiale limitée de 1 à 3 mm et ne permet pas une corrélation morphologique suffisante de l'accumulation du radiotraceur. C'est pour cette raison qu'elle est le plus souvent combinée à un système de CT qui fournit des informations morphologiques plus détaillées. Récemment, des systèmes de TEP/IRM combinés ont également été développés, l'IRM permettant une meilleure résolution et un meilleur contraste des tissus mous que la CT. Malheureusement, le nombre d'agents bimodaux disponibles pour cette application reste très limité.

Un nouveau système TEP/IO a émergé dans le cadre de traitement du cancer. Bien que l'IO ne possède qu'une pénétration de tissu limitée, elle permet de guider l'intervention chirurgicale en temps réel grâce à sa résolution spatiale et sa sensibilité favorables. De ce fait, le système combiné TEP/IO permet, dans un premier temps, d'identifier et de localiser les lésions tumorales dans le corps entier par un scan TEP. En suivant, l'imagerie optique peropératoire détermine les contours des tumeurs et les ganglions lymphatiques infectés. Afin de différencier les ganglions lymphatiques des tissus environnants ou d'identifier les ganglions infectés, il est nécessaire d'utiliser un agent spécifique de la tumeur.

Des recherches sont donc menées depuis plusieurs années pour développer des agents bimodaux pour l'imagerie TEP/IO.⁶⁴ De nos jours, il est possible d'insérer le radioisotope ¹⁸F au sein du noyau BODIPY par simple substitution d'un de ses atomes de fluor. Ceci permet le développement de nouvelles potentielles sondes d'imagerie bimodales TEP/IO en exploitant la fluorescence de ce motif avec la radioactivité.

b) Radiotraceurs bimodaux TEP/fluorescence à base de BODIPY

Des chercheurs ont montré qu'il était possible de former la version radioactive du motif BODIPY par substitution d'un de ses atomes de fluor. De ce fait, de nombreuses sondes bimodales pourraient être synthétisées à partir des BODIPY couplés à des biomolécules décrits précédemment.

L'équipe de Gabbaï⁶⁵ a montré qu'un BODIPY avec un groupement hydroxyle sur le noyau BF₂ pouvait être facilement converti en fluorure correspondant par traitement avec du bifluorure de potassium, KHF₂, dans le THF. Comme le ¹⁸F est généralement préparé par le bombardement d'eau marquée au ¹⁸O, il est obtenu sous forme d'anion aqueux non nucléophile et nécessite souvent des étapes de séchage fastidieuses. Une radiofluoration en solution aqueuse a donc été mise au point en optimisant d'abord les conditions non radioactives.⁶⁶ Pour cela, le BODIPY **47** a été rendu soluble dans l'eau en formant son dérivé cationique, le sel de triflate **48**. Mais pour qu'il réagisse avec le KHF₂, ce dernier a dû être mis en solution dans un mélange méthanol/eau deutérée en présence d'acide chlorhydrique deutéré. Le BODIPY fluoré **49** a été obtenu après seulement 2 minutes de réaction, possédant des propriétés spectroscopiques typiques des BODIPY. En ce qui concerne la radiofluoration, le [¹⁸F]-fluorure a été agité avec le KHF₂ à 70°C pendant 10 minutes, puis, le BODIPY cationique **48** en solution dans le méthanol a été ajouté à température ambiante et le mélange agité pendant 15 min. Une HPLC en phase inverse a permis d'obtenir le BODIPY [¹⁸F]-**49** avec un rendement de 22±3% (n = 4) et une activité molaire de 25±4 mCi/μmol (Schéma 26).

⁶⁴ U. Seibold, B. Wängler, R. Schirmacher, C. Wängler, *Biomed. Res. Int.*, **2014**, 2014, 153741-153754

⁶⁵ T. W. Hudnall, T.-P. Lin, F. P. Gabbaï, *J. Fluorine Chem.*, **2010**, 131, 1182-1186

⁶⁶ Z. Li, T.-P. Lin, S. Liu, C.-W. Huang, T. W. Hudnall, F. P. Gabbaï, P. S. Contia, *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 9324-9326

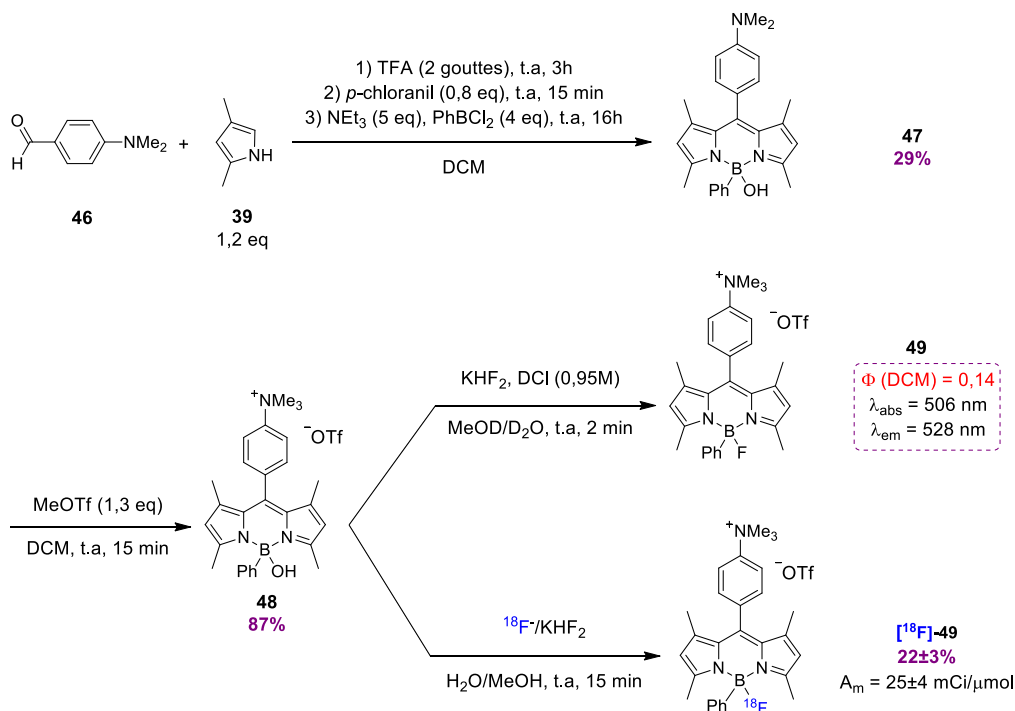


Schéma 26 : Synthèse et radiosynthèse du BODIPY triflate fluoré **49**

Son potentiel en tant qu'agent bimodal a ensuite été démontré dans une étude *in vivo*. La sonde a été injectée dans des souris saines, et son accumulation, en majorité dans le foie et les reins mais aussi la vésicule biliaire, a été observée à l'aide d'un scanner microTEP, ce qui était attendu compte tenu de l'absence de fonctions spécifiques. Ensuite, afin de confirmer le potentiel bimodal de ce BODIPY, les images de fluorescence et de microTEP des organes *ex vivo* ont été comparées, montrant la même accumulation dans le foie et les reins (Figure 11). Une radiofluoruration aqueuse rapide et efficace a donc pu être développée, permettant l'accès à des BODIPY marqués qui représentent de potentiels radiotraceurs bimodaux.

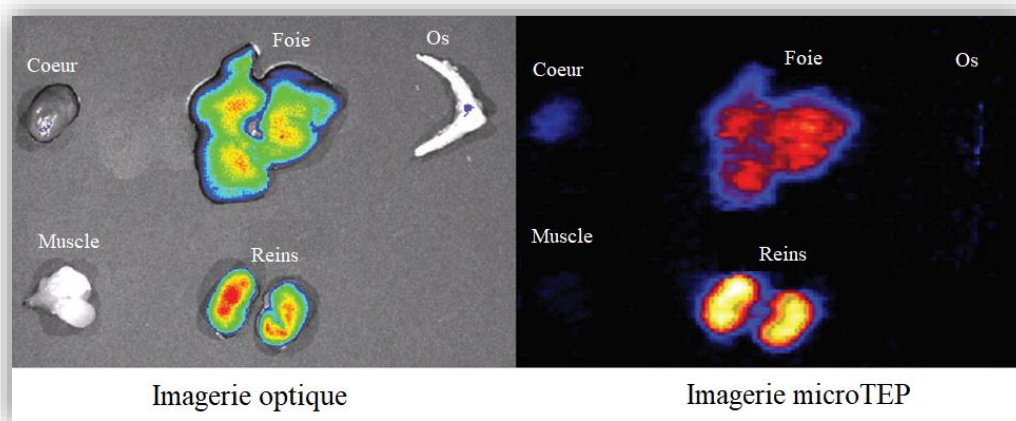


Figure 11 : Comparaison des images de fluorescence et microTEP d'organes de souris saines *ex vivo* par injection du [¹⁸F]-**49**

L'équipe de Mazitschek⁶⁷ a également choisi d'explorer la substitution directe du noyau BF₂ afin de pouvoir marquer des BODIPY déjà synthétisés et couplés avec des biomolécules, et qui ont été validés en tant qu'agents de contraste fluorescent. Dans un premier temps, le passage par un intermédiaire 4-diméthylaminopyridine (DMAP) a été imaginé pour favoriser l'insertion du ¹⁸F. Cette

⁶⁷ J. A. Hendricks, E. J. Keliher, D. Wan, S. A. Hilderbrand, R. Weissleder, R. Mazitschek, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51, 4603-4606

stratégie a été testée sur le BODIPY modèle **50**. A l'aide de triflate de triméthylsilyl (TMSOTf) et de DMAP dans le toluène à 80°C, un atome de fluor du noyau BF₂ a pu être substitué avec la DMAP. Le BODIPY activé **51** a ensuite réagi avec le ¹⁸F⁻ dans le DMF. L'incorporation du ¹⁸F n'a pu être réussie qu'avec le chauffage aux micro-ondes à 100°C pendant 10 minutes pour obtenir le BODIPY [¹⁸F]-**50** avec un rendement radiochimique de 68±23% (n = 3) (Schéma 27A). Cependant, ces conditions peuvent se révéler incompatibles avec des groupements fonctionnels présents sur des biomolécules. De plus, une réaction secondaire a été observée en chauffant en milieu acide. En effet, le BODIPY [¹⁸F]-**50** peut subir une réaction de métathèse dans laquelle le ¹⁹F libéré par la décomposition du produit de départ remplace le ¹⁸F, entraînant une baisse de l'activité molaire. Pour optimiser cela, au lieu de former l'intermédiaire DMAP, il a été décidé de substituer un atome de fluor du noyau BF₂ par un groupement triflate à l'aide de TMSOTf. Ceci s'est effectué quantitativement en 1 minute à température ambiante à partir du BODIPY de départ **50**. Le milieu réactionnel a été immédiatement neutralisé avec du *tert*-butanol pour éliminer l'excès de TMSOTf. La 2,6-lutidine a été ajoutée pour stabiliser l'intermédiaire triflate **52**. L'échange avec le ¹⁸F s'est ensuite effectué en présence d'un complexe ¹⁸F/bromure de tétra-*n*-butylammonium en 1 minute à température ambiante pour obtenir le BODIPY [¹⁸F]-**50** avec un rendement radiochimique de 67% et une activité molaire de 0,96 Ci/μmol (Schéma 27B).

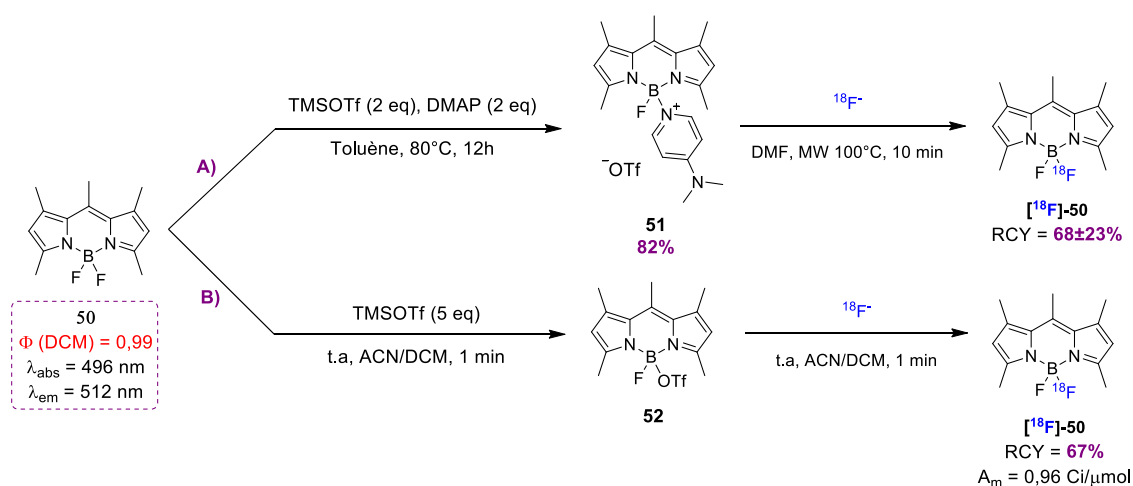


Schéma 27 : Deux stratégies de radiosynthèse par substitution d'un atome de fluor du BODIPY modèle **50**

La deuxième stratégie a été appliquée à une molécule plus sensible telle que le BODIPY ester *N*-hydroxysuccinimide (NHS) qui s'était révélé incompatible avec la première méthode de marquage. Avec cette nouvelle stratégie, ce BODIPY a pu être marqué avec un rendement radiochimique de 73% et une excellente pureté. Enfin, l'efficacité de ce marquage a été démontrée sur l'anticorps Trastuzumab, utilisé pour le traitement du cancer du sein HER2-positif, avec lequel le BODIPY ester NHS marqué au ¹⁸F a pu être couplé avec un rendement radiochimique corrigé de 20%.

S'inspirant des méthodes précédentes, l'équipe de Conti⁶⁸ a mis au point un autre procédé de radiomarquage au ¹⁸F plus facile et plus efficace. Plusieurs acides de Lewis ont été passés en revue et, après optimisation sur un BODIPY modèle sous forme de triflate, le chlorure stannique a été choisi, permettant d'obtenir le BODIPY marqué en 10 minutes avec un excellent rendement radiochimique corrigé supérieur à 95%. Ces conditions ont été utilisées pour marquer un BODIPY ester NHS commercial, le BODIPY® R6G, dans le but final de le coupler avec une biomolécule. Ce BODIPY a donc été mis en présence du chlorure stannique dans l'acétonitrile. Ce mélange a ensuite été combiné avec une solution de ¹⁸F⁻ dans l'acétonitrile. Après agitation à température ambiante pendant 10 minutes et une purification par HPLC, le [¹⁸F]-BODIPY® R6G a été obtenu avec un rendement radiochimique de 79% et une activité molaire de 35±10 mCi/μmol. Ensuite, il a été conjugué avec le RGD, le peptide ligand des intégrines α_vβ₃. Pour cela, le RGD en solution dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) a été

⁶⁸ S. Liu, S. Liu, T.-P. Lin, D. Li, L. Leamer, H. Shan, Z. Li, F. P. Gabbai, P. S. Conti, *Theranostics*, **2013**, *3*, 181-189

ajouté au [^{18}F]-BODIPY® R6G, suivi de l'addition de DIEA. Après agitation à 50°C pendant 15 minutes, neutralisation par de l'acide acétique et purification par HPLC, le [^{18}F]-BODIPY-RGD a été obtenu avec un rendement radiochimique de 82% et une activité molaire de 19 ± 4 mCi/ μmol (Schéma 28).

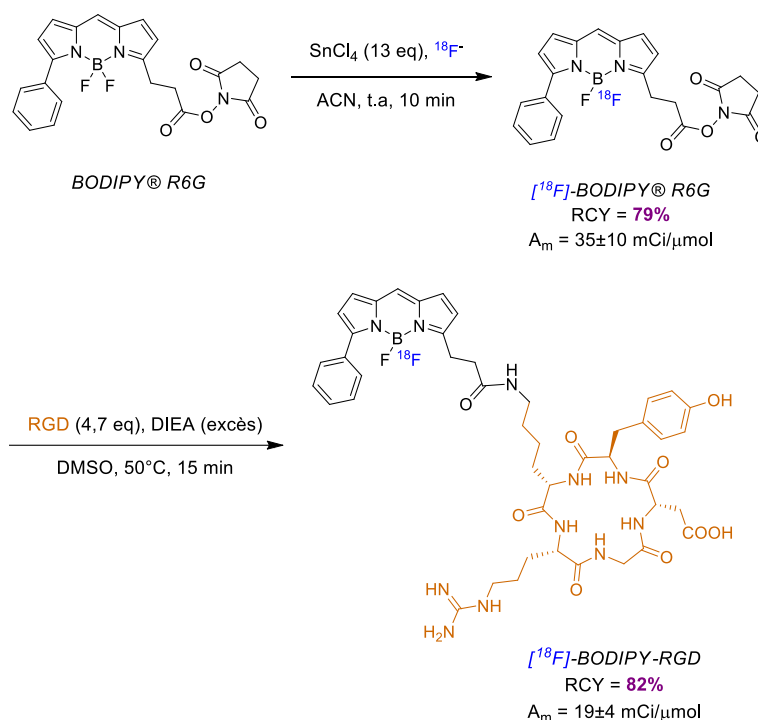


Schéma 28 : Radiosynthèse du [^{18}F]-BODIPY-RGD

L'évaluation *in vivo* par imagerie TEP de ce nouveau radiotraceur sur des souris porteuses de tumeurs cérébrales a montré une forte accumulation dans le foie et les reins, ainsi que dans la tumeur. La bimodalité de cette sonde a été confirmée par les images de fluorescence et de microTEP *ex vivo* sur lesquelles le même résultat a été observé (Figure 12). Cette équipe a donc été la première à développer et évaluer *in vivo* une sonde BODIPY bimodale TEP/IO spécifique.

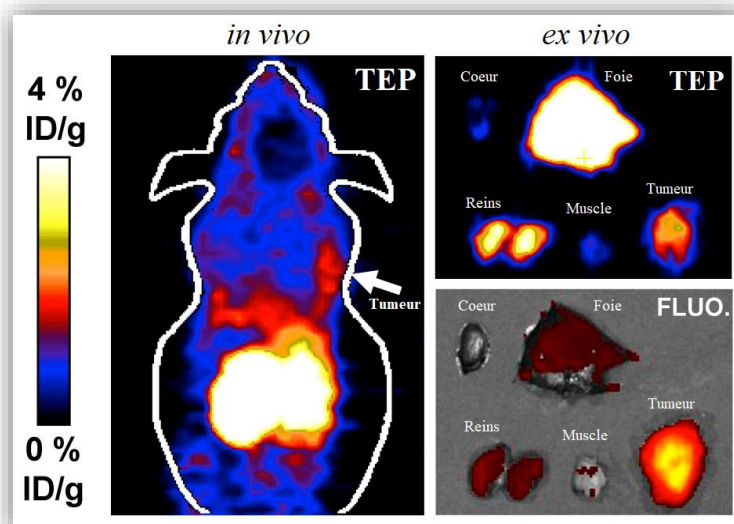


Figure 12 : Images microTEP et fluorescence *in vivo* et *ex vivo* par injection du [^{18}F]-BODIPY-RGD sur une souris porteuse d'une tumeur cérébrale

Il existe donc plusieurs techniques pour marquer un BODIPY au ^{18}F , mais aucune concernant le marquage au ^{11}C n'a été décrite dans la littérature. Par conséquent, la partie suivante de ce chapitre sera consacrée au développement de potentielles sondes bimodales comportant une structure BODIPY couplée à une fonction marquable au ^{11}C par une réaction de carbonylation.

B) Développement d'un nouveau groupement prosthétique à base de BODIPY et marquable au ^{11}C -CO

1) Objectifs

La synthèse de différents potentiels groupements prosthétiques à base de BODIPY et marquable au ^{11}C sera présentée dans cette partie. Le but était d'insérer une plateforme facilement carbonylable sur un BODIPY portant une fonction permettant une future bioconjugaison.

Après greffage de cette plateforme carbonylable sur un BODIPY, une biomolécule serait couplée au système selon différents sites de liaison possibles en fonction des cas, et enfin la carbonylation serait la dernière étape de la synthèse/radiosynthèse selon l'isotope du carbone choisi (Figure 13).

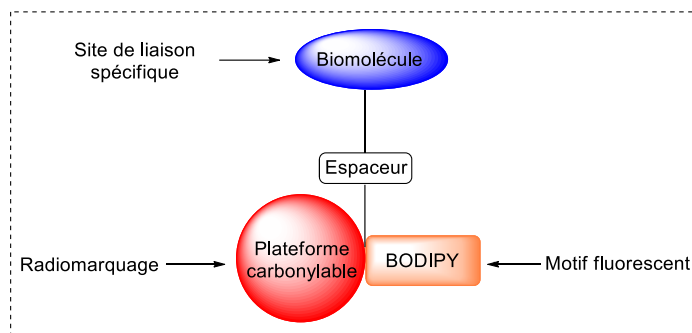


Figure 13 : Structure générale du potentiel radiotraceur

D'après les travaux précédents, le choix de la plateforme carbonylable s'est porté sur l'alcool benzylique ortho iodé, permettant un marquage facile en dernière étape par carbonylation. Une autre plateforme similaire, de type amide, sera également envisagée afin de faciliter les différentes étapes de la synthèse. En ce qui concerne le motif fluorescent, le BODIPY tétraméthylé, souvent utilisé dans des synthèses de traceurs grâce à ses propriétés spectroscopiques avantageuses, sera modifié en fonction des stratégies pour permettre la bioconjugaison et/ou l'insertion de la plateforme carbonylable.

Pour mener à bien les différentes synthèses, plusieurs stratégies ont été envisagées.

2) Synthèse de plateformes bimodales à base d'ABOI

Dans un premier temps, l'intérêt s'est porté sur la plateforme ABOI développée dans notre équipe⁵⁰ pour marquer le traceur en dernière étape à l'aide d'une carbonylation au ^{13}C pour les essais en conditions modèles. Plusieurs recherches ont donc été menées pour réussir à introduire cette plateforme sur un BODIPY.

a) 1^{ère} stratégie : liaison directe de la plateforme ABOI sur le BODIPY

La première stratégie consistait à greffer la plateforme ABOI directement sur un BODIPY en position *méso*, et ainsi éviter des espaceurs encombrants. Le traceur final serait marqué en dernière étape par une carbonylation, après avoir conjugué la biomolécule à la plateforme ABOI. Celle-ci serait formée en même temps que le BODIPY par une méthode décrite récemment dans la littérature.⁶⁹ L'équipe de Gómez a en effet développé une nouvelle réaction one-pot en conditions douces à partir de phtalides pour former des dérivés 8-C-aryl-BODIPY ortho-substitués. Dans le cas présent, un 8-C-aryl-BODIPY avec un alcool benzylique ortho-iodé devrait pouvoir être obtenu, grâce à cette réaction one-pot, à partir du phtalide correspondant (Schéma 29).

⁶⁹ M. Río, F. Lobo, J. C. López, A. Oliden, J. Bañuelos, I. López-Arbeloa, I. Garcia-Moreno, A. M. Gómez, *J. Org. Chem.*, **2017**, 82, 1240-1247

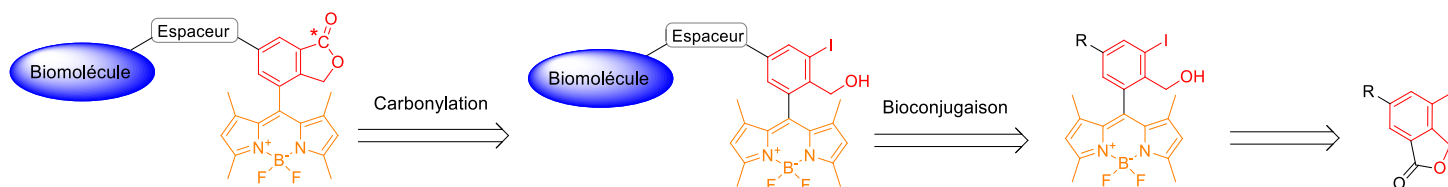


Schéma 29 : Rétrosynthèse générale de la 1^{ère} stratégie de formation de traceur phthalide

Le phthalide nécessaire pour la formation du BODIPY désiré devrait porter une fonction nitro, réduite par la suite en amine, pour permettre une future bioconjugaison, sachant que la formation de BODIPY nitré est connue dans la littérature. Ce phthalide n'étant pas commercial, sa préparation a dû être effectuée au préalable. Il a été synthétisé en deux étapes, dont la première est décrite dans la littérature. Il s'agit d'une nitration du phthalide **53** commercial à l'aide de nitrate de potassium et d'acide sulfurique concentré.⁷⁰ Elle a été réalisée en 2h30 à température ambiante, et le phthalide nitré **54** a été obtenu par simple filtration avec un bon rendement de 87% (Schéma 30). Cette substitution électrophile aromatique est régiosélective grâce à l'effet mésomère attracteur du substituant lactone qui favorise les positions *mé*ta. La deuxième position *mé*ta n'est pas concernée à cause de l'encombrement stérique du méthylène.

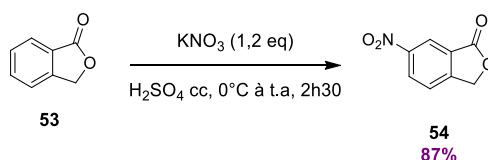


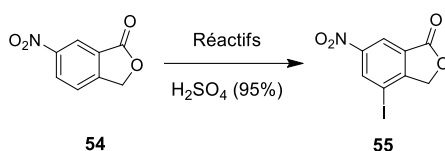
Schéma 30 : Nitration du phthalide **53**

En revanche, la deuxième étape se révèle désavantagée par la présence du groupement nitro désactivant le noyau aromatique. Des agents d'iodation très électrophiles ont donc dû être utilisés. La réaction du nitrophthalide **54** avec le couple de réactifs NIS/TfOH a d'abord été envisagée (Tableau 1). Après trois jours à température ambiante, aucune trace du produit désiré **55** n'a été observée (entrée 1), et après deux jours à 80°C, le produit désiré **55** a été obtenu avec un faible rendement de 5% (entrée 2). D'après l'équipe de Skulski⁷¹, le mélange I₂/NaIO₄ permet d'ioder des systèmes aromatiques désactivés grâce à la formation d'une espèce intermédiaire I⁺ très électrophile. Un premier essai a été réalisé en s'inspirant de ces travaux. Le milieu réactionnel a été chauffé jusqu'à 60°C pendant 20h et un rendement légèrement plus élevé de 10% a été obtenu (entrée 3). Mais une trop haute température (> 100°C) diminue le ratio entre le produit de départ **54** et celui d'arrivée **55**, peut-être par dégradation de l'espèce intermédiaire ou du produit final (entrée 4). En allongeant le temps de réaction à 3 jours puis 7 jours, le rendement a encore pu être augmenté à 24% (entrée 5), puis à 36% respectivement (entrée 6). Enfin, la conversion devient complète en chauffant à 80°C au lieu de 60°C, et le produit iodé désiré **55** a été obtenu avec un rendement de 49% après une simple filtration (entrée 7). Un chauffage plus fort à 100°C n'a pas permis d'augmenter le rendement (entrée 8). L'entrée 7 représente donc les conditions optimales de l'iodation du nitrophthalide **54**.

⁷⁰ P. Stanetty, I. Rodler, B. Krumpak, *J. prakt. Chem.*, **1993**, 335, 17-22

⁷¹ L. Kraszkiewicz, M. Sosnowski, L. Skulski, *Synthesis*, **2006**, 7, 1195-1199

Tableau 1 : Optimisation de l'iodation du nitrophthalide **54**



Entrée	Réactifs	Temps	Température	Ratio 54/55	Rendement
1	NIS (1 eq) TfOH (6 eq)	3 jours	t.a	100/0	-
2	NIS (2 eq) TfOH (6 eq)	2 jours	80°C	90/10	5%
3	I ₂ /NaIO ₄ (2 eq)	20h	30°C à 60°C	70/30	10%
4	I ₂ /NaIO ₄ (2 eq)	27h	90°C à 180°C	88/12	-
5	I ₂ /NaIO ₄ (4 eq)	3 jours	60°C	46/54	24%
6	I ₂ /NaIO ₄ (4 eq)	7 jours	60°C	42/58	36%
7	I ₂ /NaIO ₄ (4 eq)	3 jours	80°C	0/100	49%
8	I ₂ /NaIO ₄ (4 eq)	3 jours	100°C	12/88	43%

Avant de s'atteler à la formation du BODIPY à partir du nitrophthalide **55**, l'application des conditions décrites par l'équipe de Gómez⁶⁹ a été vérifiée sur leur substrat, le phthalide commercial **53** dépourvu de substituant. Leur méthode consistait à activer le phthalide à l'aide du réactif de Meerwein, le Et₃OBf₄, ce qui forme le cation **56** qui réagit ensuite avec le 2,4-diméthylpyrrole pour obtenir un intermédiaire cétal **57**. Après élimination, l'ion oxonium formé est attaqué par un deuxième équivalent de pyrrole pour obtenir le phthalane **58**. Enfin, après traitement avec du BF₃.OEt₂, le BODIPY attendu **59** est formé (Schéma 31).

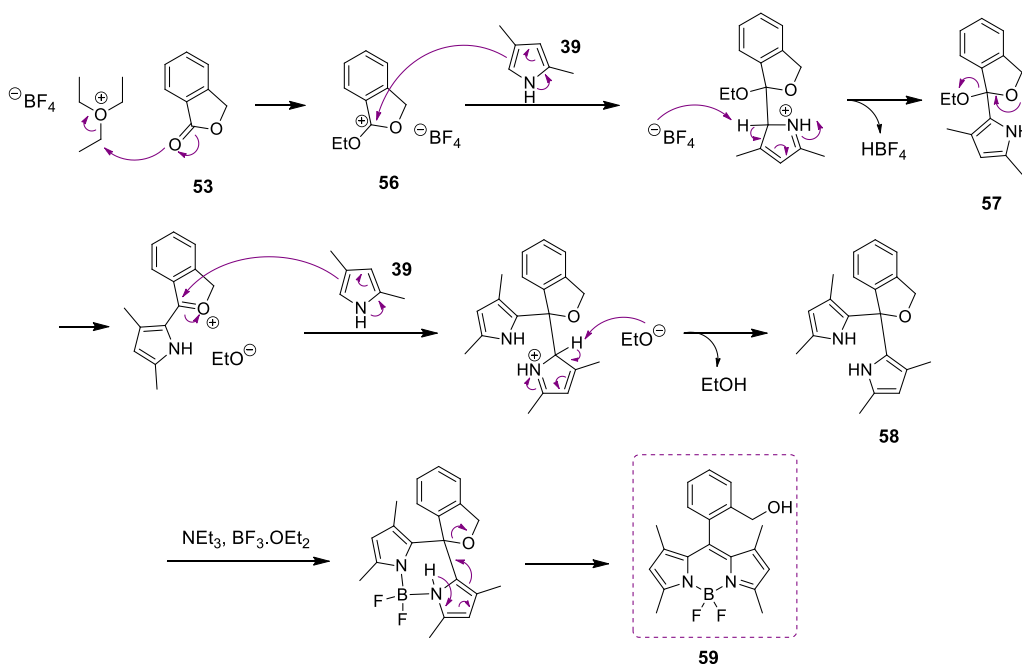
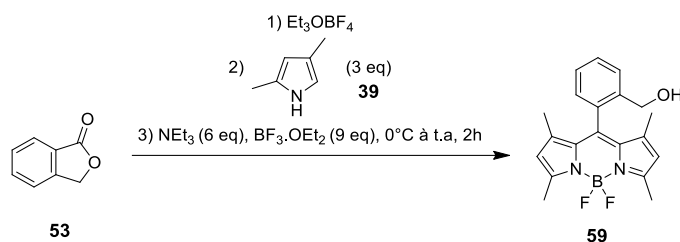


Schéma 31 : Mécanisme de formation one-pot du BODIPY **59** à partir du phthalide **53**

En ce qui concerne les conditions expérimentales, le phtalide a été mis en solution dans du dichlorométhane en présence de tamis moléculaire, puis une solution de Et_3OBF_4 a été ajoutée. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 24h, puis refroidi à 0°C avant d'ajouter le 2,4-diméthylpyrrole. La solution a été de nouveau agitée à température ambiante pendant 3h, puis refroidie encore à 0°C avant l'addition goutte-à-goutte de triéthylamine et de $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 2h. La séparation du phtalide de départ **53** et du BODIPY obtenu **59** se révélant difficile par colonne, la saponification du phtalide **53** a été effectuée par agitation du mélange avec une solution aqueuse de soude (1M) pendant 1h30. Le phtalide sous forme de sel est devenu alors soluble en phase aqueuse et a pu être séparé du BODIPY par extraction.

Lors du premier essai avec ces conditions sans tamis moléculaire, un rendement de seulement 23% a été obtenu (Tableau 2 : entrée 1). Une optimisation de ces conditions a donc dû être menée. L'allongement du temps de réaction de l'étape de l'ajout du 2,4-diméthylpyrrole **39** n'a eu aucune influence (entrée 2). Le chauffage au reflux de l'étape d'activation avec Et_3OBF_4 en présence de tamis moléculaire a, en revanche, diminué le rendement à 10% (entrée 3). Le nombre d'équivalents d' Et_3OBF_4 a ensuite été doublé, et le rendement a très légèrement augmenté (entrée 4). Pour savoir si le tamis moléculaire était nécessaire au bon déroulement de la réaction, la même expérience a été réalisée avec le tamis moléculaire et, comme précédemment, le rendement chute de manière non négligeable (entrée 5). Le tamis moléculaire a donc été supprimé de la suite des manipulations. En chauffant les deux premières étapes au reflux en tube scellé, le rendement a pu être augmenté à 40% (entrée 6), ce qui est satisfaisant par rapport à celui décrit. Par ailleurs, une amélioration a été tentée en changeant de solvant. Malheureusement, le THF n'a pas permis de former le produit souhaité **59** (entrée 8) et le dichloroéthane a mené à une conversion de seulement 12% (entrée 7). Une dernière tentative par chauffage aux micro-ondes à 40°C a conduit à un rendement correct de 36% (entrée 9), permettant de réduire le temps de réaction à 2h pour les deux premières étapes.

Tableau 2 : Optimisation des conditions de formation one-pot du BODIPY modèle **59**



Entrée	Eq (Et_3OBF_4)	Solvant	Conditions 1)	Conditions 2)	Tamis moléculaire	Rendement
1	1	DCM	24h à t.a	3h30 à t.a	Non	23%
2	1	DCM	24h à t.a	24h t.a	Non	23%
3	1	DCM	24h au reflux	3h à t.a	Oui	10%
4	2	DCM	24h à t.a	4h à t.a	Non	26%
5	2	DCM	24h à t.a	3h30 à t.a	Oui	10%
6	2	DCM	24h au reflux	4h au reflux	Non	40%
7	2	DCE	24h au reflux	4h au reflux	Non	Conversion 12%
8	2	THF	24h au reflux	4h au reflux	Non	Conversion 0%
9	2	DCM	2h MW 40°C	2h MW 40°C	Non	36%

L'entrée 6 a donc été sélectionnée comme conditions optimales. Celles-ci ont été appliquées au nitrophtalide **55**, cependant cela n'a pas permis de former le produit désiré **60**, seul un produit intermédiaire a semblé se former en quantité minoritaire et n'a pas été récupéré après la purification. L'équipe de Río ayant déjà réussi à synthétiser des nitro-BODIPY non iodés, la présence de l'atome d'iode semblait être nuisible au bon déroulement de la réaction. De nombreuses conditions ont été tentées mais le meilleur rendement obtenu a été seulement de 9% avec du dichloroéthane en solvant et avec les deux premières étapes aux micro-ondes à 90°C pendant 1h30. En outre, cette réaction s'est révélée peu reproductible (Schéma 32).

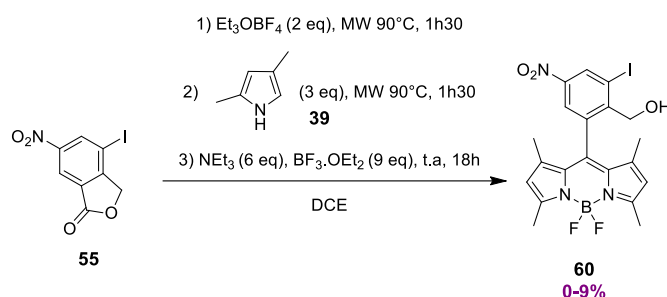


Schéma 32 : Formation one-pot du BODIPY **60** à partir du nitrophtalide iodé **55**

Il restait encore des étapes de synthèse pour aboutir au traceur final, mais ce très faible rendement a rendu cette stratégie peu viable. Malgré cela, la carbonylation a été testée sur ce type de structure jamais décrit dans la littérature. Le précurseur de [¹³C]-CO, le [¹³C]-silaCOgen, a été placé dans la première chambre du système double chambre et le BODIPY **60** dans la deuxième chambre en présence du système catalytique Pd(dba)₂/Xantphos et de la base DABCO. En chauffant à 70°C, le TBAF a été ajouté au [¹³C]-SilaCOgen et du gaz a été immédiatement formé. La formation du produit désiré carbonylé **61** a été vérifiée par RMN (résonance magnétique nucléaire) du carbone 13 du brut après évaporation du milieu réactionnel. Après purification sur colonne, le produit **61** a été obtenu avec un rendement moyen de 31% (Schéma 33). De plus, un rendement quantique de fluorescence très faible de 1% a été mesuré sur ce composé intermédiaire **61**, a priori dû à des transferts monoélectroniques photoinduits.

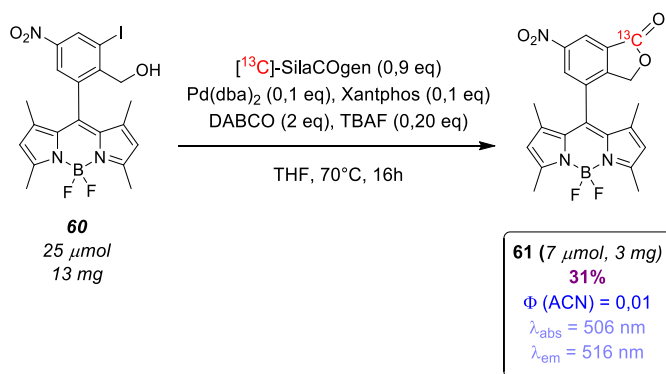


Schéma 33 : [¹³C]-Carbonylation du BODIPY nitré **60**

En parallèle, le but étant de pouvoir fixer une biomolécule avec un espaceur via la fonction amine, il a été envisagé de réduire la fonction nitro du phtalide **55** en amine avant de former le BODIPY. Quelques agents réducteurs ont été testés tels que les couples Zn/hydrazine ou Zn/formiate d'ammonium, mais ils ont conduit à la dégradation du BODIPY. En revanche, le fer dans l'acide acétique à 50°C pendant 3h a permis de réduire le groupement nitro en amine avec un bon rendement de 71%. Ensuite, un seul essai de formation du BODIPY **63** a été réalisé avec les conditions utilisées pour le phtalide nitré **55**. Malheureusement, il ne s'est pas révélé concluant, le spectre RMN ¹H du brut réactionnel montrant la formation d'un produit différent non formellement identifié, mais pouvant provenir de réactions impliquant l'aniline comme nucléophile (Schéma 34).

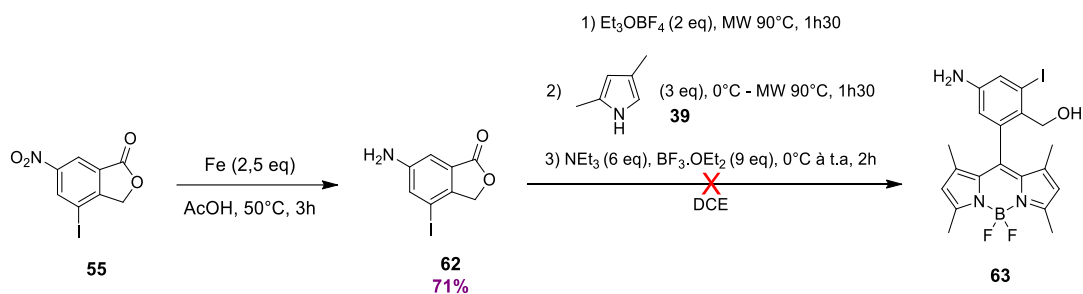


Schéma 34 : Réduction du phthalide nitré **55** et formation du BODIPY **63**

Cette stratégie n'apportant pas de résultats satisfaisants, cette voie de synthèse de liaison directe de la plateforme ABOI sur le BODIPY a été abandonnée.

b) 2^{ème} stratégie : insertion de la plateforme ABOI via une condensation de Knoevenagel sur le BODIPY

Une nouvelle stratégie a été abordée pour greffer la plateforme ABOI au BODIPY. Au lieu d'essayer de former le BODIPY one-pot avec cette plateforme, un BODIPY classique portant toujours une fonction nitro pour la future bioconjugaison pourrait être synthétisé, puis la plateforme ABOI serait insérée via une condensation de Knoevenagel sur un des groupements méthyles du BODIPY en position α grâce à leurs propriétés acides. Ceci permettrait également de déplacer les longueurs d'onde de la molécule vers le PIR et ainsi favoriser sa détection en fluorescence *in vivo*.

La synthèse se terminerait par la carbonylation du motif ABOI, précédée par la bioconjugaison en position *méso* du BODIPY. Avant cela, la plateforme ABOI serait incorporée via une condensation de Knoevenagel de l'aldéhyde portant le motif ABOI **66** sur le BODIPY **65** (Schéma 35). Ces deux partenaires n'étant pas commerciaux, ils devront être synthétisés au préalable.

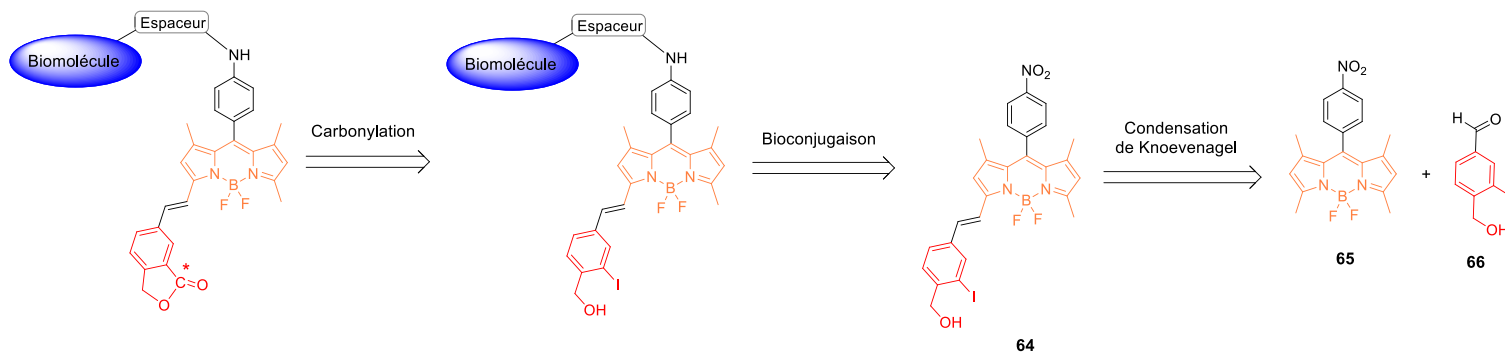


Schéma 35 : Rétrosynthèse générale de la 2^{ème} stratégie de formation du traceur phthalide

Dans un premier temps, l'aldéhyde portant le motif ABOI **66** nécessaire à la condensation de Knoevenagel a été synthétisé. Pour cela, deux voies de synthèse étaient possibles en partant du même substrat de départ commercial et peu coûteux, l'acide 2-aminotéraphalique **67**.

La première et la plus rapide consistait à effectuer une réaction de Sandmeyer sur le substrat commercial, puis à réduire les deux acides carboxyliques en alcools, et à oxyder sélectivement l'alcool le moins encombré en aldéhyde. La réaction de Sandmeyer a donc été réalisée sur le substrat commercial **67** pour substituer la fonction amine par un atome d'iode à l'aide de nitrate de sodium et d'iodure de potassium dans un mélange d'eau et d'acide chlorhydrique concentré, d'après le mode opératoire décrit dans la littérature pour la même molécule.⁷² Après avoir obtenu quantitativement le composé iodé **68**, les deux fonctions acides carboxyliques ont été réduites en alcools grâce à un excès de complexe borane-THF, pour obtenir le glycol **69** avec un rendement moyen de 62%. Ensuite, il a été

⁷² A. Kommreddy, M. S. Bowsher, M. R. Gunna, K. Botha, T. K. Vinod, *Tet. Lett.*, **2008**, 49, 4378-4382

tenté d'oxyder sélectivement la fonction alcool la moins encombrée en aldéhyde. Bien que le composé désiré **66** soit le produit majoritaire formé, la sélectivité par rapport à l'autre aldéhyde **70** ou le composé dioxidé **D** restait faible. Dans le meilleur des cas, c'est-à-dire en oxydant avec l'acide 2-iodoxybenzoïque (IBX) dans le DMSO pendant 30 minutes à température ambiante, le spectre RMN ^1H du brut réactionnel a montré une conversion de 75% avec un ratio produit désiré **66**/isomère **70**/dioxidé **D** de 44/25/31. En outre, la purification par colonne s'est révélée fastidieuse. Pour réussir à séparer les deux isomères, il a été nécessaire d'effectuer une plaque préparative pour obtenir seulement 26% du produit désiré **66** et 10% de l'autre isomère **70** (Schéma 36).

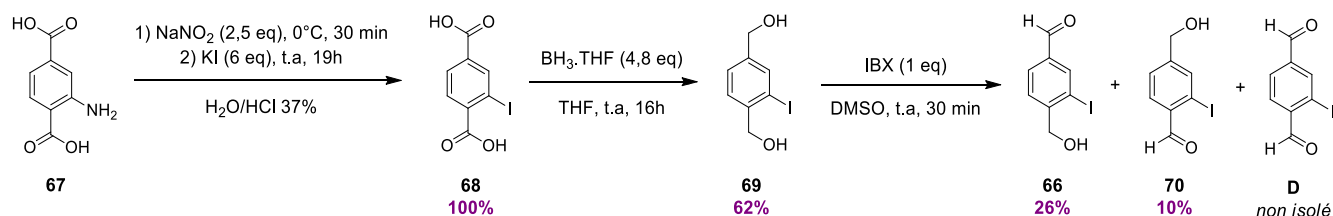


Schéma 36 : Première voie de synthèse de l'aldéhyde **66**

La présence de l'atome d'iode ne permettant pas d'oxyder la fonction alcool désirée de façon suffisamment sélective, une deuxième voie de synthèse a été envisagée. Toujours à partir de l'acide 2-aminotéréphtalique **67** commercial, celui-ci a subi une estérification sélective, suivie de la réduction de l'acide carboxylique en alcool, puis de la réaction de Sandmeyer, pour finir par la réduction partielle de l'ester en aldéhyde. La première étape a été décrite dans la littérature pour le même substrat.⁷³ Elle a pu être réalisée sans problème en suivant les mêmes conditions, c'est-à-dire la mise en suspension de l'acide 2-aminotéréphtalique **67** dans le méthanol en présence de chlorure de triméthylsilyle. Ce dernier, en mélange avec le méthanol, a permis de former de l'acide chlorhydrique *in situ* qui a activé l'acide carboxylique, et celui-ci a pu réagir avec le méthanolate de triméthylsilyle pour former l'ester désiré. Un traitement par extraction et ajustement du pH a suffi à obtenir le produit désiré **71** pur. Ensuite, la réduction de l'acide carboxylique en alcool a été testée à l'aide de borohydrure de sodium en présence de diiode dans le THF. De façon intéressante, l'alcool **72** a été obtenu après purification par colonne avec un bon rendement de 81% sans réduire l'ester. En ce qui concerne la réaction de Sandmeyer, les conditions ont de nouveau dû être modifiées pour améliorer le rendement et rendre cette étape plus reproductible. L'acide chlorhydrique concentré a été remplacé par de l'acide paratoluènesulfonique, agité en premier lieu avec le substrat **72** pendant 5 min, puis le nitrate de sodium a été ajouté à la suspension à 0°C. Le milieu a été agité à 0°C pendant 10 min avant l'ajout d'iodure de potassium. Ces conditions ont permis d'obtenir l'alcool benzylique ortho iodé **73** avec un bon rendement de 75% (Schéma 37).

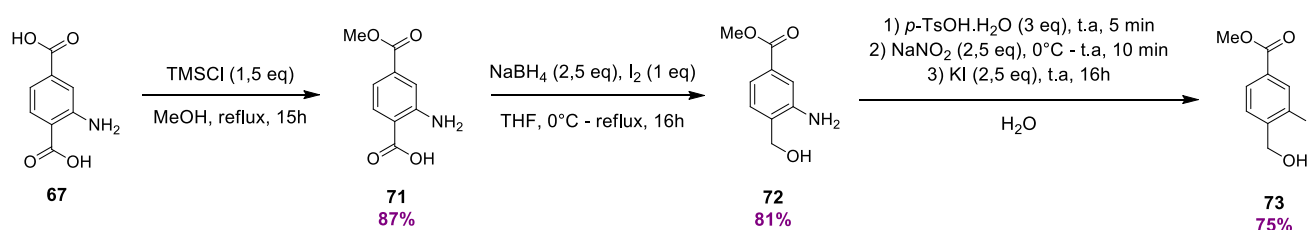


Schéma 37 : Synthèse de l'ester au motif ABOI **73** à partir de l'acide 2-aminotéréphtalique **67**

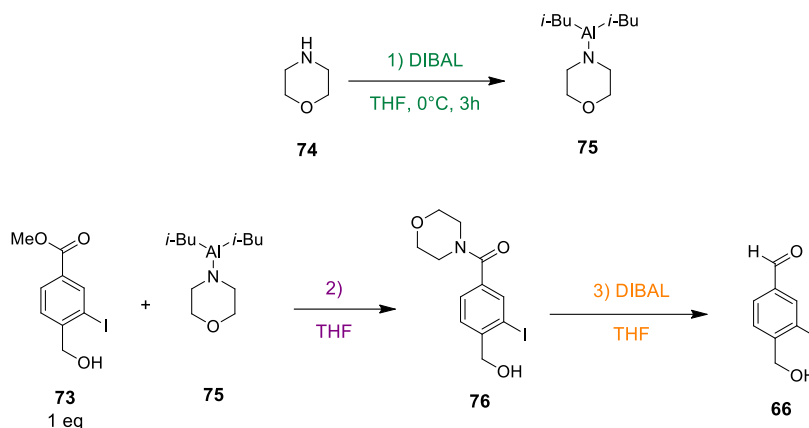
Pour achever la synthèse de l'aldéhyde **66**, il fallait réussir à réduire partiellement l'ester **73** en aldéhyde. Un essai avec un petit excès d'hydrure de diisobutylaluminium (DIBAL) a été tenté mais, que ce soit à -78°C, à 0°C, à température ambiante ou à 50°C, seul le produit de départ a été récupéré. En s'inspirant de la littérature, une autre méthode a été essayée. L'équipe d'An⁷⁴ a réussi à réduire de

⁷³ S. Ursuegui, R. Yougnia, S. Moutin, A. Burr, C. Fossey, T. Cailly, A. Laayoun, A. Laurent, F. Fabis, *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, *13*, 3625-3632

⁷⁴ A. R. Jeon, M. E. Kim, J. K. Park, W. K. Shin, D. K. An, *Tetrahedron*, **2014**, *70*, 4420-4424

nombreux esters différents en aldéhyde via la formation d'amide avec la morpholine **74**. Leurs conditions ont donc été appliquées à l'ester **73** synthétisé : la morpholine **74** a été mise en présence de DIBAL dans le THF à 0°C pendant 3h, formant un intermédiaire **75** qui a réagi ensuite avec l'ester **73** à 0°C pendant 10 minutes pour former un amide de morpholine **76**. Enfin, l'ajout de DIBAL a permis de réduire l'amide **76** en aldéhyde **66** plus facilement que l'ester, toujours à 0°C pendant 10 minutes. Or, ceci n'a mené qu'à une faible conversion de 25%. Cependant, comme aucun produit secondaire n'a été observé, une optimisation des conditions a été réalisée (Tableau 3).

Tableau 3 : Optimisation des conditions de réduction de l'ester **73** en aldéhyde **66**



	Morpholine 74 DIBAL 1)	Conditions 2)	DIBAL 3)	Conditions 3)	Conversion	Rendement
1	2,1 eq 2 eq	10 min à 0°C	1,1 eq	10 min à 0°C	25%	-
2	2,1 eq 2 eq	17h à 40°C	1,1 eq	21h à 40°C	72%	47%
3	2,1 eq 2 eq	17h à 40°C	2 eq	6h à 40°C	40%	29%
4	2,1 eq 2 eq	17h au reflux	2 eq	6h au reflux	71%	40%
5	3,1 eq 3 eq	17h au reflux	2 eq	6h au reflux	100%	75%

Les conditions de la littérature appliquées au composé synthétisé **73** sont représentées dans l'entrée 1. Les étapes 2 et 3 de la réaction ont d'abord été réalisées à température ambiante, puis à 40°C et une nette progression de la conversion a été observée, passant de 25% à 72%. La purification par colonne a cette fois-ci été effectuée, mais le produit de départ **73** et le produit d'arrivée **66** ont été difficiles à séparer, conduisant à un rendement de seulement 47% (entrée 2). En prenant en compte la présence de l'alcool libre, le nombre d'équivalents de DIBAL a été augmenté lors de la dernière étape de réduction de l'amide **76**, mais la conversion, ainsi que le rendement, ont diminué dans ce cas-là (entrée 3). Ceci est potentiellement dû à la réduction du temps de réaction de cette étape. De ce fait, cette expérience a été reproduite en chauffant les étapes 2 et 3 au reflux et une conversion correcte de 71% a été retrouvée (entrée 4). La séparation étant fastidieuse, les nombres d'équivalents de morpholine **74** et de DIBAL de l'étape 1 ont été également augmentés afin d'améliorer la conversion. Ceci a permis d'obtenir une conversion complète et un rendement satisfaisant après colonne de 75% (entrée 5).

Cette deuxième voie de synthèse de l'aldéhyde **66** comporte certes une étape de plus, mais les rendements sont corrects et les étapes reproductibles. De plus, aucun problème de régiosélectivité et de purification n'a été observé. Cette voie a donc été sélectionnée.

En ce qui concerne la synthèse du BODIPY **65**, elle a été décrite dans la littérature⁷⁵ à partir de l'aldéhyde correspondant **77** en présence du 2,4-diméthylpyrrole **39** avec une activation acide par du TFA, suivie par l'oxydation avec la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) et la fermeture du noyau BF₂. Le BODIPY **65** a ainsi été obtenu avec un excellent rendement de 91% (Schéma 38).

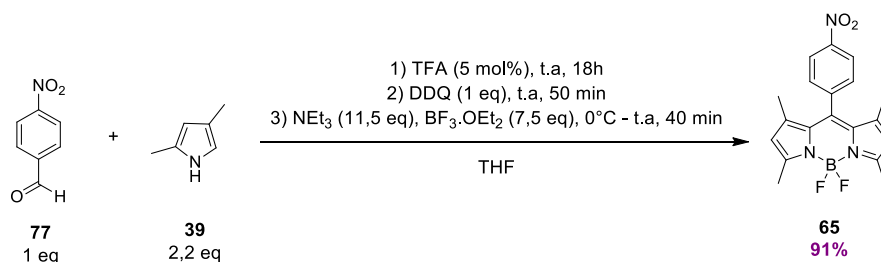


Schéma 38 : Formation du BODIPY nitro **65**

Ensuite, l'étape de condensation de Knoevenagel entre ces deux partenaires a été étudiée. Pour économiser l'aldéhyde synthétisé **66**, cette réaction a d'abord été testée avec des aldéhydes modèles sur le BODIPY nitro **65**.

Dans un premier temps, des conditions de double substitution ont été utilisées, c'est-à-dire avec l'aldéhyde en excès. Les substrats ont été mis en présence d'acide acétique et de pipéridine dans le DMF et le mélange a été chauffé aux micro-ondes à 150°C pendant 5 minutes selon des conditions s'inspirant de la littérature.⁷⁶ La couleur du milieu réactionnel est passée du rouge foncé au bleu foncé, la chromatographie sur couche mince (CCM) montrant également l'apparition d'une tache bleue correspondant au produit désiré, et aucune trace de produit monosubstitué n'a été retrouvée dans les deux cas. Avec le benzaldéhyde **78**, le BODIPY **80** a été obtenu avec un rendement moyen de 49%, et avec l'anisaldéhyde **79**, le BODIPY **81** a été formé avec un plus faible rendement de 23% (Schéma 39).

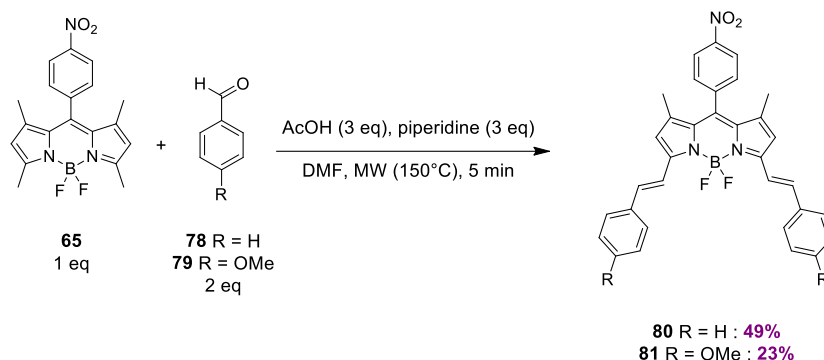


Schéma 39 : Condensations de Knoevenagel d'aldéhydes modèles **78** et **79** sur le BODIPY nitro **65**

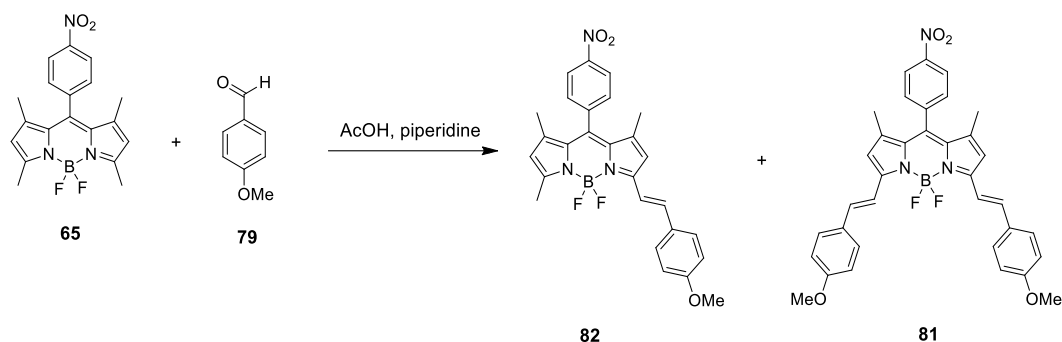
Ensuite, une monosubstitution avec l'anisaldéhyde **79** a été tentée. Plusieurs essais ont été produits et la conversion a été calculée en se basant sur le pourcentage de BODIPY de départ **65** restant d'après le spectre RMN ¹H (Tableau 4). La première tentative a consisté à placer un seul équivalent d'aldéhyde en présence du BODIPY **65**, d'acide acétique et de pipéridine dans le DMF. Selon les mêmes conditions que précédemment, une conversion quasi-complète a été obtenue, mais la formation majoritaire du disubstitué **81** a été observée (entrée 1). En diluant le milieu réactionnel, la conversion a légèrement diminué, mais la formation du disubstitué **81** a été un peu moins favorisée. Cependant, la purification de ces composés s'est révélée ardue et le disubstitué **81** n'a pas pu être récupéré. Seulement 14% du monosubstitué **82** ont été isolés avec des impuretés sur les 30% attendus d'après le ratio brut (entrée 2). En réduisant de moitié la quantité d'aldéhyde, la conversion a diminué, mais le monosubstitué **82** a été formé cette fois-ci en quantité majoritaire. Après une colonne, celui-ci a pu

⁷⁵ D. A. Tekdaş, G. Viswanathan, S. Z. Topal, C. Y. Looi, W. F. Wong, G. M. Y. Tan, Y. Zorlu, A. G. Gürek, H. B. Lee and F. Dumoulin, *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, *14*, 2665-2670

⁷⁶ L. Huang, X. Yu, W. Wu, J. Zhao, *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 2594-2597

être purifié avec un faible rendement de 25% sous forme d'un solide violet, et seulement 10% de disubstitué **81** ont été isolés (entrée 3). En revenant à un équivalent d'aldéhyde **79** et en remplaçant le DMF par du toluène, le chauffage à 110°C aux micro-ondes pendant 35 minutes n'a permis d'observer aucune conversion sur CCM. Par conséquent, le milieu réactionnel a été placé au reflux pendant une journée pour observer l'apparition des tâches caractéristiques violette et bleu correspondant respectivement aux composés mono- et disubstitués, **82** et **81** respectivement. Une nette baisse de la conversion a été observée, mais avec une formation largement majoritaire en faveur du monosubstitué **82**. Celui-ci n'a pas pu être séparé complètement du BODIPY de départ **65**, mais le spectre RMN ^1H a montré un rendement théorique de 22% (entrée 4). De l'éthanol a ensuite été utilisé à la place du toluène et l'acide acétique a été supprimé. En chauffant aux micro-ondes à 90°C pendant 7h, une bonne conversion a été obtenue, mais le ratio des deux produits était équivalent. Malheureusement, après une colonne, seulement 4% du produit désiré **82** ont été récupérés (entrée 5). Une quantité non négligeable d'aldéhyde de départ **79** a pu être observée dans le brut de la réaction, ce qui montrant une dégradation du BODIPY **65** avant qu'il n'ait pu réagir sur l'aldéhyde **79** dans ces conditions. En réduisant le temps de réaction de 7h à 4h, la conversion a diminué mais le ratio a augmenté en faveur du monosubstitué **82**. Après colonne, seulement 10% du produit désiré **82** en présence d'impuretés et 10% du disubstitué **81** ont été récupérés (entrée 6). En réduisant à nouveau le temps de réaction de 4h à 2h, la conversion a encore diminué, mais le disubstitué **81** n'a pas été formé. Le produit monosubstitué **82** a été obtenu avec un rendement de 11% (entrée 7). Une dernière tentative a été réalisée en agitant le milieu réactionnel au reflux pendant plus de deux jours, en présence de tamis moléculaire pour éliminer l'eau formée au cours de la réaction. La conversion n'était toujours pas complète, et le ratio des produits formés était de 67/33, en faveur du produit monosubstitué **82**. Après purification, ce dernier a été récupéré avec un faible rendement de 18% (entrée 8).

Tableau 4 : Optimisation des conditions de monocondensation de Knoevenagel avec un aldéhyde modèle **79**



Entrée	Aldéhyde	AcOH Piperidine	Solvant	Conditions	Temps	Conversion	82/81 (brut)	Rendement 82
1	1 eq	3 eq 3 eq	DMF (0,1 M)	MW 150°C	5 min	93%	24/76	-
2	1 eq	3 eq 3 eq	DMF (0,03 M)	MW 150°C	5 min	85%	35/65	< 14%
3	0,5 eq	3 eq 3 eq	DMF (0,1 M)	MW 150°C	5 min	69%	60/40	25%
4	1 eq	3 eq 3 eq	Toluène (0,03 M)	MW 110°C reflux	35 min 24h	45%	87/13	22% (rdt RMN)
5	1 eq	- 5 eq	EtOH (0,1M)	MW 90°C	7h	78%	52/48	4%
6	1 eq	- 5 eq	EtOH (0,1 M)	MW 90°C	4h	56%	79/21	< 10%
7	1 eq	- 5 eq	EtOH (0,1 M)	MW 90°C	2h	23%	100/0	11%
8	1 eq	3 eq 3 eq	EtOH (0,4 M)	Reflux sur tamis	55h	73%	67/33	18%

L'emploi d'un appareil Dean-Stark pourrait optimiser cette réaction par l'élimination de l'eau formée au cours de la réaction pour déplacer l'équilibre vers la formation des produits. De plus, il semble que des conditions trop dures provoquent la dégradation des différents produits. Cependant, dans la littérature, les rendements de ce type de réaction sur des BODIPY restent, dans la majorité des cas, très faibles.

Etant donné ces rendements non satisfaisants, et afin d'économiser l'aldéhyde **66**, la condensation de Knoevenagel a d'abord été testée avec l'équivalent phthalide **87**, correspondant à la version carbonylée. Sa synthèse étant décrite dans la littérature en 4 étapes,⁷⁷ cet aldéhyde semblait plus simple d'accès. Elle a donc été reproduite avec quelques modifications (Schéma 40). Dans un premier temps, l'acide 2,5-diméthylbenzoïque **83** commercial a subi une estérification par du méthanol en catalyse acide avec un excellent rendement de 90%. Ensuite, les deux groupements méthyles ont été bromés à l'aide d'une réaction radicalaire utilisant du *N*-bromosuccinimide (NBS) en présence de peroxyde de benzoyle, l'initiateur radicalaire, avec un rendement moyen de 53%, le tétrachlorométhane ayant été remplacé par du chlorobenzène à cause de sa toxicité. Le composé bromé **85** a été chauffé à 150°C, libérant le bromométhane, pour former le phthalide attendu **86** avec un excellent rendement de 87%. Enfin, le bromure de benzyle a été soumis à l'oxydation de Sommelet à l'aide d'hexaméthylènetétramine (HMTA) en milieu acide pour obtenir l'aldéhyde final **87**.

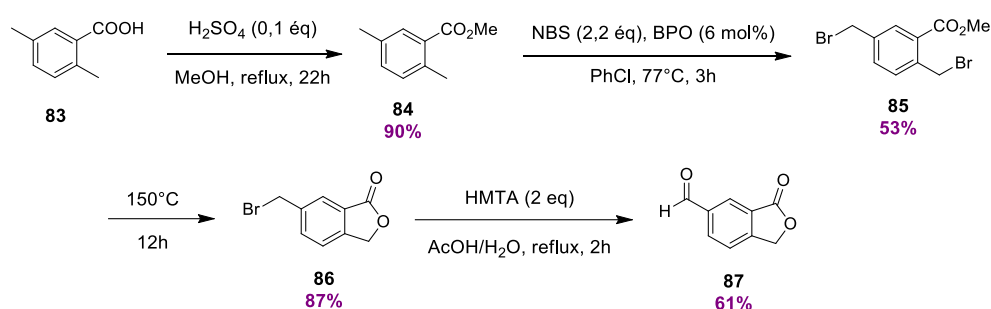


Schéma 40 : Synthèse du phthalide formylé **87**

La double condensation de Knoevenagel de l'aldéhyde **87** sur le BODIPY nitro **65** a alors été tentée avec les conditions du Schéma 39, mais le spectre RMN ¹H du brut réactionnel a montré la présence de beaucoup d'impuretés qui ont rendu la détermination de la conversion difficile et, après colonne, seulement 9% du produit désiré **88** impur ont été récupérés. De ce fait, la température de la réaction a été diminuée de 150°C à 80°C pour empêcher une potentielle dégradation. Une conversion complète du BODIPY de départ **65** a été observée, mais il restait toujours l'aldéhyde **87** et, après colonne et plaque préparative, le produit souhaité **88** a été obtenu avec 23% de rendement en présence de quelques impuretés (Schéma 41). D'autres modifications des conditions ont été effectuées telles que le changement du solvant ou de la base, mais aucune amélioration n'a été observée.

⁷⁷ K. C. Nicolaou, Y. Wang, M. Lu, D. Mandal, M. R. Pattanayak, R. Yu, A. A. Shah, J. S. Chen, H. Zhang, J. J. Crawford, L. Pasunoori, Y. B. Poudel, N. S. Chowdari, C. Pan, A. Nazeer, S. Gangwar, G. Vite, E. N. Pitsinos, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, 8235-8246

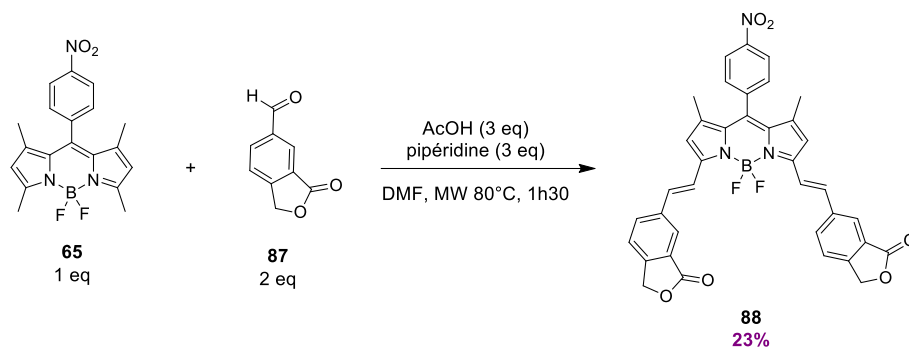


Schéma 41 : Double condensation de Knoevenagel avec le phthalide formylé **87** sur le BODIPY nitro **65**

Un seul essai de monocondensation avec ces mêmes substrats a ensuite été effectué en utilisant les conditions de l'entrée 2 du Tableau 4. Après 2h aux micro-ondes, aucune conversion n'a été observée, l'agitation de la réaction a donc été poursuivie au reflux pendant 72h, ce qui a abouti au même résultat.

Malgré tout, cette réaction a été tentée avec l'aldéhyde portant le motif ABOI **66**. Un seul essai avec les conditions de l'entrée 7 du Tableau 4 a été réalisé, conduisant à la formation des produits mono- et disubstitués, **64** et **89**, d'après la RMN du brut réactionnel. Malheureusement, seules des traces de ces produits ont été récupérées après une purification sur colonne et en présence d'impuretés et d'aldéhyde de départ **66** (Schéma 42).

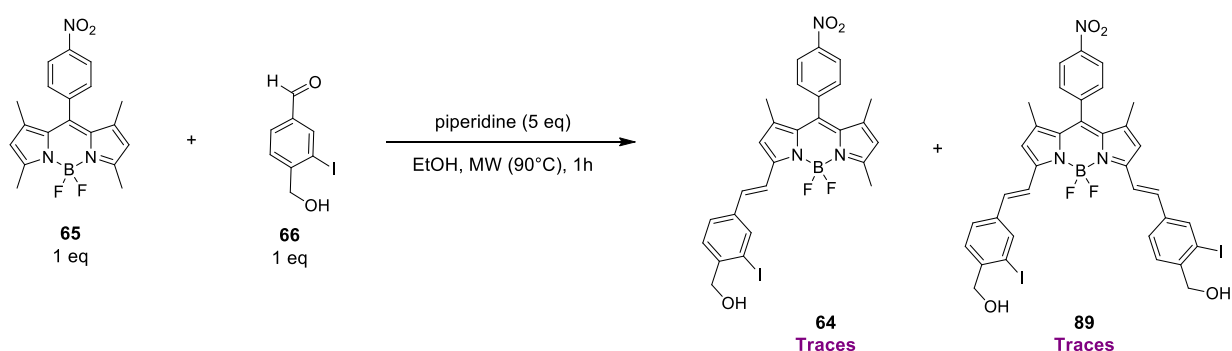


Schéma 42 : Monocondensation de Knoevenagel avec l'aldéhyde **66** sur le BODIPY nitro **65**

Au vu des très faibles rendements des condensations de Knoevenagel, cette stratégie n'a pas semblé être appropriée pour le greffage de la plateforme ABOI **66** sur le BODIPY **65**. Comme l'aldéhyde au motif ABOI **66** a pu être synthétisé avec d'assez bons rendements, il a semblé intéressant d'envisager la formation du BODIPY correspondant en présence du 2,4-diméthylpyrrole. Ainsi, le motif ABOI serait placé en position *méso* du BODIPY.

c) 3^{ème} stratégie : liaison de la plateforme ABOI par substitution d'un atome de fluor sur le BODIPY

Une nouvelle stratégie a donc été envisagée pour réussir à obtenir une plateforme BODIPY de type ABOI en utilisant l'aldéhyde synthétisé précédemment **66** contenant le motif ABOI pour former le BODIPY correspondant **90**. De ce fait, la bioconjugaison ne pouvant plus s'effectuer sur la plateforme ABOI, une autre méthode de couplage devra être utilisée, tel qu'un greffage par l'atome de bore.^{78,79}

⁷⁸ A. M. Courtis, S. A. Santos, Y. Guan, J. A. Hendricks, B. Ghosh, D. M. Szantai-Kis, S. A. Reis, J. V. Shah, R. Mazitschek, *Bioconjugate Chem.*, **2014**, 25, 1043-1051

⁷⁹ L. G. Meimetis, E. Boros, J. C. Carlson, C. Ran, P. Caravan, R. Weissleder, *Bioconjugate Chem.*, **2016**, 27, 257-263

La carbonylation pourrait être réalisée en dernière étape de synthèse. Au préalable, la biomolécule serait couplée via un espaceur par une réaction click au BODIPY **91**, dont un des atomes de fluor aura été substitué par un groupement portant une fonction alcyne. En présence de 2,4-diméthylpyrrole **39**, l'aldéhyde au motif ABOI **66** pourrait former le BODIPY souhaité **90** selon les conditions classiques énoncées précédemment (Schéma 43).

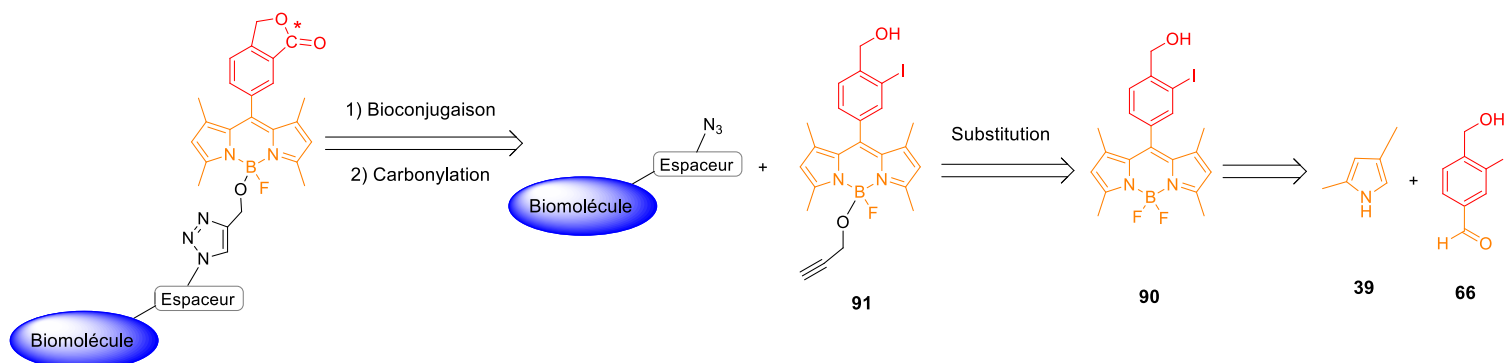


Schéma 43 : Rétrosynthèse générale de la 3^{ème} stratégie de formation de traceur phtalide

La formation du BODIPY **90** a été réalisée en mettant en solution l'aldéhyde **66** et le 2,4-diméthylpyrrole **39** dans du THF en présence d'une quantité catalytique de TFA pour activer le carbonyle de l'aldéhyde et permettre au pyrrole de réagir avec lui. Après confirmation de la conversion par CCM, la DDQ a été ajoutée au milieu réactionnel pour oxyder le composé formé. Enfin, l'ajout de triéthylamine et de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ a permis de former le noyau BF_2 du BODIPY **90** (Schéma 44). Les rendements se sont montrés variables et fortement dépendants du lot de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ utilisé. En doublant les quantités de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, des rendements supérieurs à 65% ont pu finalement être obtenus. La purification a aussi dû être optimisée car le produit **90** a montré une forte adhérence à la silice lors de la colonne chromatographique.

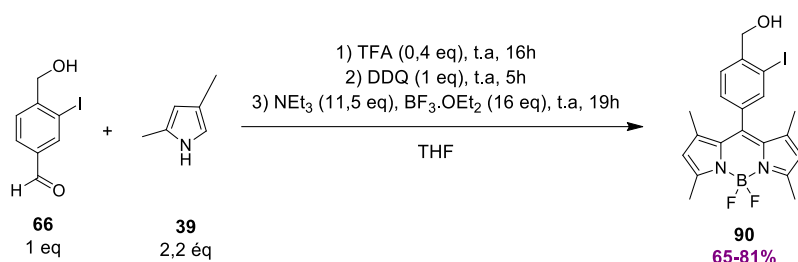


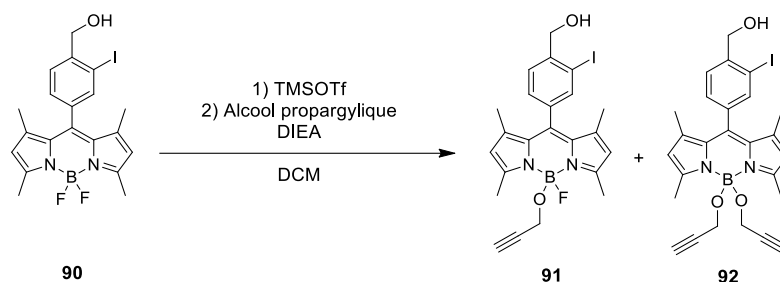
Schéma 44 : Formation du BODIPY **90** à partir de l'aldéhyde **66**

Le BODIPY **90** ainsi formé doit ensuite être substitué au niveau d'un de ses atomes de fluor pour insérer le groupement alcyne nécessaire à la bioconjugaison. L'alcool propargylique a été choisi pour réaliser par la suite une réaction de CuAAC avec l'alcyne vrai introduit. Pour cela, en s'inspirant des conditions de substitution de la littérature utilisées lors de l'échange isotopique de l'atome de fluor pour le radiomarquage, quelques essais ont été entrepris (Tableau 5). Dans un premier temps, le BODIPY **90** en solution dans le dichlorométhane a été mis en présence d'une solution de TMSOTf en excès dans le dichlorométhane à 0°C pendant 2 minutes, puis une solution d'alcool propargylique et de DIEA dans le dichlorométhane a été ajoutée et le mélange a été agité pendant 1h à température ambiante. Malheureusement, d'après le spectre RMN ^1H du brut réactionnel, deux signaux différents pour les protons de l'alcyne vrai ont été observés, montrant la formation de deux produits : le monosubstitué **91** et le disubstitué **92**. Tous les autres signaux de ces deux molécules ont présenté les mêmes déplacements chimiques que ceux du produit de départ **90**, ce qui a rendu la détermination de la conversion difficile, mais le ratio entre les deux molécules formées a pu être estimé à 60/40 en faveur du disubstitué **92**. De plus, la présence de la fonction alcool libre a probablement entraîné la formation d'autres sous-produits. Les deux molécules d'intérêt ayant des rapports frontaux très similaires, il a été compliqué de les séparer par colonne. Seul le monosubstitué **91** a pu être récupéré.

de façon pure avec un rendement de 9%, une fraction restant en mélange avec le disubstitué **92** (entrée 1).

Afin d'éviter une double substitution, la quantité de TMSOTf a été réduite à 1,2 équivalents et une inversion de la tendance a pu être observée avec un ratio de 64/36 en faveur du produit monosubstitué **91**. Malgré cela, le rendement restait du même ordre de grandeur avec 11% pour le produit monosubstitué **91**, et l'autre produit **92** a été récupéré impur (entrée 2). Le TMSOTf a ensuite été placé en défaut et la réaction avec l'alcool propargylique a été agitée plus longtemps pour espérer avoir une conversion complète. Malheureusement, la CCM a encore montré la présence du produit de départ **90** en plus des deux produits formés, et d'après le spectre RMN ^1H , un ratio identique de 63/37 en faveur du produit monosubstitué **91** a été observé. Après une colonne, du produit de départ **90** et un mélange des deux produits substitués ont été récupérés. Ce mélange a pu être séparé grâce à une plaque préparative pour obtenir le monosubstitué **91** avec un rendement de 14% et le disubstitué **92** avec un rendement de 7% (entrée 3). La quantité d'alcool propargylique a ensuite été réduite à 1,5 équivalents, mais cela a mené à une chute de rendement. De plus, le produit monosubstitué **91** n'a pas pu être récupéré pur (entrée 4). L'expérience avec 10 équivalents d'alcool propargylique a été réitérée en laissant agir le TMSOTf à température ambiante, mais cela a mené à de la dégradation (entrée 5).

Tableau 5 : Essais de substitution d'un atome de fluor du BODIPY **90**



Entrée	Eq (TMSOTf)	Eq (Alcool)	Eq (DIEA)	Conditions 1)	Conditions 2)	Ratio 91/92	Rendement
1	3	10	5	2 min à 0°C	1h à t.a	41/59	9% de 91 Mélange 91+92
2	1,2	10	5	2 min à 0°C	1h à t.a	64/36	11% de 91 <4% de 92
3	0,9	10	5	2 min à 0°C	24h à t.a	63/37	14% de 91 7% de 92
4	1	1,5	5	2 min à 0°C	1h à t.a	Indéterminé	<7% de 91
5	1	10	5	30 min à 0°C 1h à t.a	16h à t.a	-	Dégradation du brut

Au vu de ces résultats non satisfaisants, il a été supposé que la fonction alcool libre intervenait dans des réactions secondaires, entraînant une chute du rendement. Des tentatives de protection de cette fonction ont donc été réalisées. Dans un premier temps, une protection par un groupement méthoxyméthyle (MOM) a été envisagée en déprotonant d'abord la fonction alcool à l'aide de NaH, puis en ajoutant le méthyle chlorométhyle éther (MOMCl). Malheureusement, même après deux jours

d'agitation à température ambiante, aucune trace du produit protégé **93** n'a été observée, seul le produit de départ **90** a été récupéré après purification (Schéma 45).

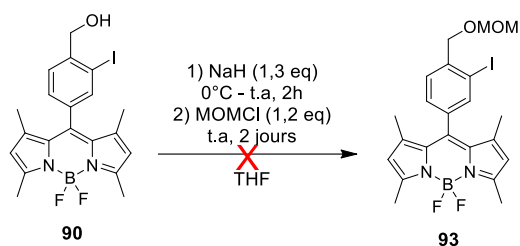
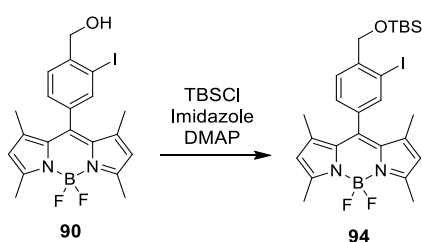


Schéma 45 : Protection de la fonction alcool du BODIPY **90** par un groupement MOM

Une deuxième tentative de protection par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyl (TBS) a été effectuée à l'aide de TBSCl, d'imidazole et de DMAP (Tableau 6). Un premier essai a été réalisé dans le dichlorométhane en agitant à température ambiante pendant une journée, mais la CCM montrant une conversion incomplète, le milieu réactionnel a été chauffé au reflux pendant trois jours. D'après le spectre RMN ^1H du brut réactionnel, une conversion de seulement 45% a été observée et un rendement de 33% a été obtenu après purification. Le solvant a ensuite été remplacé par du DMF dans un deuxième essai, et les équivalents des réactifs ont été doublés. Après une nuit d'agitation à 50°C, une conversion plus élevée de 70% a été observée. Elle n'a pas varié même après un chauffage à 80°C. Malheureusement, le rendement après purification de 41% est resté assez faible.

Tableau 6 : Tentatives de protections de la fonction alcool du BODIPY **90** par un groupement TBS



Entrée	TBSCl, imidazole DMAP	Solvant	Conditions	Conversion	Rendement
1	1,5 eq 0,1 eq	DCM	24h à t.a 3 jours au reflux	45%	33%
2	3 eq 0,2 eq	DMF	17h à 50°C 3h à 80°C	70%	41%

Enfin, la substitution d'un atome de fluor avec l'alcool propargylique a été testée sur le BODIPY protégé **94** suivant le même mode opératoire que l'entrée 1 du Tableau 5. Plusieurs produits présentant des signaux quasiment identiques ont été formés, mais n'ont pas pu être identifiés par RMN ^1H . Après une première tentative de purification par chromatographie sur gel de silice, des fractions du produit de départ **94**, du produit de départ déprotégé **90** et d'un mélange du produit désiré **95** et du produit déprotégé **91** ont été récupérées. Ce mélange n'a pas pu être séparé même après une plaque préparative (Schéma 46).

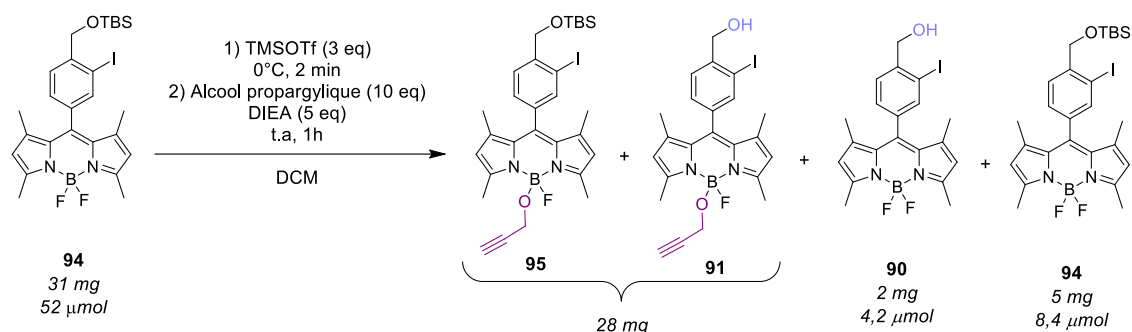


Schéma 46 : Essai de substitution d'un atome de fluor du BODIPY protégé **94**

Au vu de ce mélange complexe, une autre stratégie a été envisagée. Afin de vérifier que le problème était bien issu de la présence d'une fonction alcool libre, le motif ABOI du BODIPY **90** a été carbonylé avant de retenter la substitution. Avec le système double chambre, le BODIPY carbonylé **96** a été obtenu avec un très bon rendement de 80%. Ensuite, la substitution avec l'alcool propargylique a été effectuée dans les mêmes conditions que l'entrée 1 du Tableau 5. La conversion n'a pas pu être déterminée via la RMN ^1H du brut réactionnel, mais le produit monosubstitué **97** a été isolé après purification avec un meilleur rendement de 72% (Schéma 47). Aucune trace de produit disubstitué ni de produit de départ **96** n'a été retrouvée.

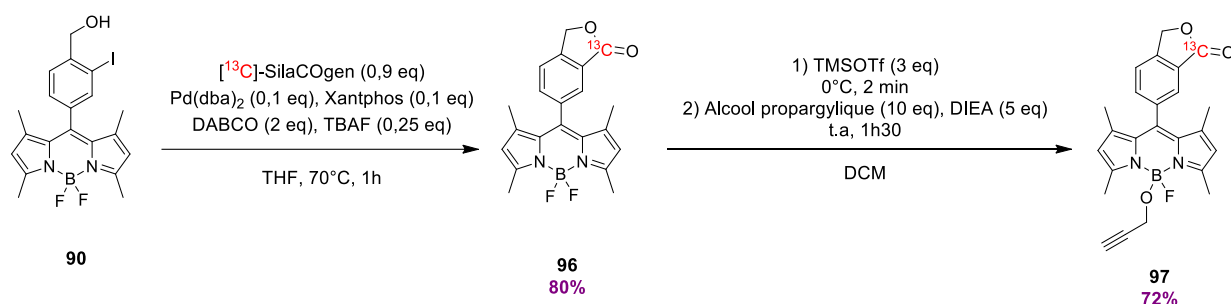


Schéma 47 : ^{13}C -Carbonylation du BODIPY **90** et substitution d'un atome de fluor

Cette stratégie a donc permis de former le BODIPY **97** avec la plateforme carbonylée en position *méso*. Les conditions utilisées ont obligé à carbonyler le motif ABOI au préalable pour obtenir un rendement correct de substitution de l'atome de fluor. Une meilleure optimisation des conditions de substitution de l'atome de fluor du BODIPY **90** sera nécessaire pour permettre la carbonylation en dernière étape.

Un premier groupement prosthétique à base de BODIPY et du motif ABOI marquant au ^{13}C a donc pu être synthétisé et pourra être, par la suite, couplée à une biomolécule via sa fonction alcyne.

d) Développement d'un motif triazole carbonylable

Afin de pouvoir développer un nouveau groupement prosthétique au motif similaire à l'ABOI, des travaux sur un nouveau motif triazole portant une fonction alcool et un atome d'iode ont été menés en parallèle.

La réaction de CuAAC nécessite traditionnellement un alcyne vrai qui génère *in situ* un acétylure de cuivre pour former uniquement un triazole 1,4-disubstitué. Afin de surpasser ces limitations, l'équipe de Fokin⁸⁰ a développé des alcynes iodés qui montrent une excellente réactivité dans la cycloaddition catalysée au cuivre avec des azotures. Cette méthode s'est révélée rapide, chimio- et régiosélective pour former des triazoles 1,4,5-trisubstitués. Cette réaction a été effectuée à l'aide d'iodure de cuivre en présence d'un ligand amine. Après avoir testé différents ligands et solvants, les

⁸⁰ J. E. Hein, J. C. Tripp, L. B. Krasnova, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 8018-8021

conditions optimales ont été déterminées avec 5 mol% d'iodure de cuivre et de TTTA (tris[(1-*tert*-butyl-1*H*-1,2,3-triazolyl)méthyl]amine) comme ligand dans le THF à température ambiante. Ce ligand à base de triazole permet de stabiliser l'espèce de cuivre formé au cours de la réaction. La tris[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl]amine (TBTA), comportant des groupements benzyles à la place des *tert*-butyles, a également mené à un bon rendement, bien que plus faible. En seulement 2h, des produits avec différents substituants sur le partenaire azoture ou le partenaire alcyne iodé ont pu être obtenus avec des rendements allant de 59% à 99% (Schéma 48).

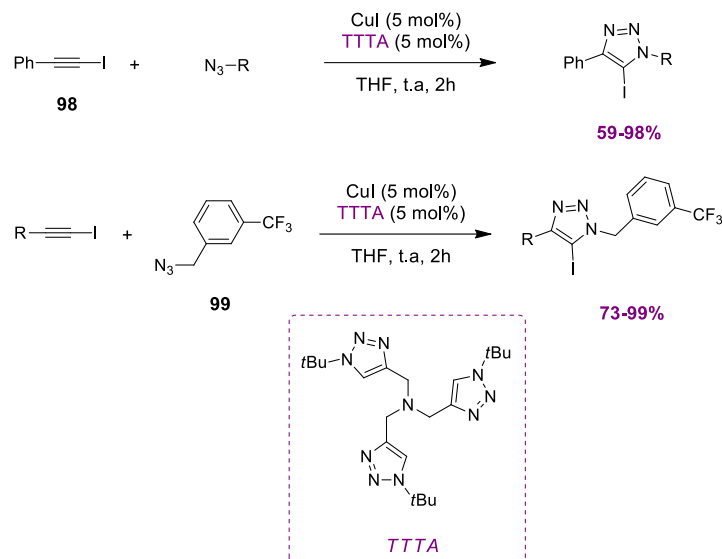


Schéma 48 : Réactions de CuAAC avec différents alcynes iodés et azotures

Par la suite, l'équipe de Lautens⁸¹ a utilisé ces 5-iodotriazoles dans des couplages intramoléculaires catalysés au palladium pour obtenir des triazoles fusionnés avec un autre cycle. De manière intéressante, ce type de molécule représente des potentiels agents thérapeutiques.⁸² Des couplages de Heck intramoléculaires ont été réalisés sur des 5-iodo-1,2,3-triazoles substitués par différents alcènes avec un système catalytique composé de $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$ et de triphénylphosphine en présence de pivalate de césium (CsOPiv) en tant que base pour obtenir des triazoles fusionnés avec des cycles à six carbones avec de très bons rendements allant de 61% à 99% (Schéma 49).

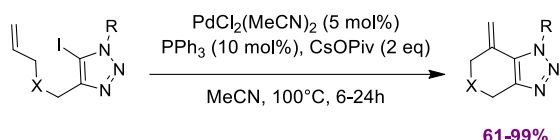


Schéma 49 : Couplages de Heck intramoléculaires de 5-iodotriazoles

Cette équipe a également effectué des arylations directes intramoléculaires sur d'autres substrats de type 5-iodotriazoles. Les produits désirés ont été obtenus avec de bons rendements allant de 51% à 93% grâce à un autre système composé du même catalyseur au palladium et de tris(4-fluorophényl)phosphine comme ligand, en présence de carbonate de potassium et d'acide pivalique en tant que base et additif respectivement (Schéma 50).

⁸¹ J. M. Schulman, A. A. Friedman, J. Panteleev, M. Lautens, *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 55-57

⁸² D. Niculescu-Duvaz, I. Niculescu-Duvaz, B. M. J. M. Suijkerbuijk, D. Menard, A. Zambon, A. Nourry, L. Davies, H. A. Manne, F. Friedlos, L. Ogilvie, D. Hedley, A. K. Takle, D. M. Wilson, J.-F. Pons, T. Coulter, R. Kirk, N. Cantarino, S. Whittaker, R. Marais, C. J. Springer, *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 6934-6952

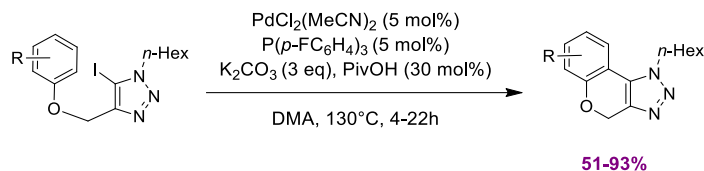


Schéma 50 : Arylations directes intramoléculaires de 5-iodotriazoles

Enfin, l'équipe de Latyshev⁸³ a mis au point une méthoxycarbonylation catalysée au palladium de 5-iodotriazoles différemment substitués. Après optimisation, cette réaction a pu être effectuée avec succès à l'aide de Pd(OAc)₂ en présence de triéthylamine en excès et d'une atmosphère de monoxyde de carbone dans le méthanol pour obtenir les esters correspondants avec des rendements allant de 6% à 96% (Schéma 51).

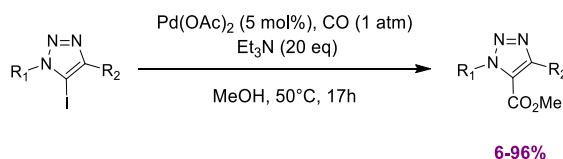


Schéma 51 : Méthoxycarbonylations catalysées au palladium de 5-iodotriazoles

Il a donc été envisagé de réaliser des carbonylations de 5-iodotriazoles, substitués par un groupement alcool méthylique, utilisant le système double chambre et la génération *in situ* du monoxyde de carbone (Schéma 52). Ceci pourrait permettre le développement de nouvelles structures comportant un triazole fusionné avec la plateforme marquable.

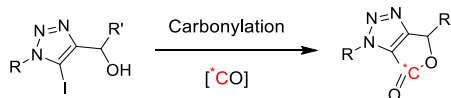


Schéma 52 : Réaction de carbonylation envisagée

Dans un premier temps, le substrat 5-iodotriazole nécessaire pour la carbonylation a dû être synthétisé. Sa synthèse étant décrite dans la littérature, le 5-iodotriazole modèle **104** a été choisi.⁸³ Celle-ci devait s'effectuer par une réaction de CuAAC entre l'iodoalcyne **103** substitué par un groupement alcool méthylique et l'azoture benzylique **101** à l'aide du ligand TTTA. Cependant, la disponibilité commerciale de la TBTA a favorisé son utilisation la place de la TTTA.

Tout d'abord, la synthèse des deux substrats a été réalisée, l'azoture benzylique **101** ayant été obtenu d'après une méthode décrite dans la littérature⁸⁴ par une simple substitution du bromure de benzyle **100** à l'aide d'azoture de sodium dans le DMF avec un rendement de 67%. D'autre part, la préparation de l'alcyne iodé **103** a été tentée selon les conditions de la littérature.⁸⁵ L'alcool propargylique **102** en solution dans le méthanol a été mis en présence d'une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium, puis de l'iode en défaut (0,9 eq) a été ajouté. Une conversion de 90% a été observée, mais il a été nécessaire de chauffer le bain de l'évaporateur rotatif afin d'éliminer le restant de l'alcool propargylique **102**, conduisant à un rendement de 70%. La réaction a été réitérée avec l'iode en excès pour arriver à une conversion complète, et après traitement, l'alcyne iodé **103** a été récupéré pur avec un rendement quantitatif (Schéma 53).

⁸³ Y. N. Kotovshchikov, G. V. Latyshev, I. P. Beletskaya, N. V. Lukashev, *Synthesis*, **2018**, 50, 1926-1934

⁸⁴ H. Yuan, M. Wang, Z. Xu, H. Gao, *Adv. Synth. Catal.*, **2019**, 361, 4386-4392

⁸⁵ E. Jahnke, J. Weiss, S. Neuhaus, T. N. Hoheisel, H. Frauenrath, *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15, 388-404

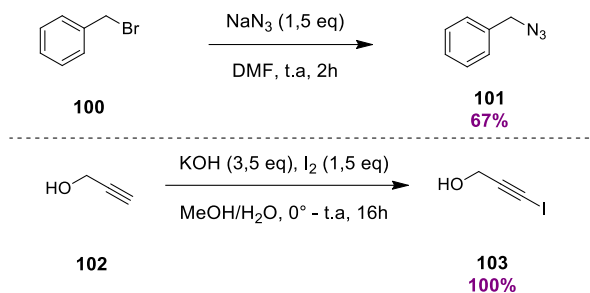


Schéma 53 : Synthèses des substrats azoture **101** et alcyne **103** pour la réaction de CuAAC

La réaction de CuAAC a été ensuite réalisée avec les deux partenaires synthétisés. Ces deux substrats en solution dans le THF ont été agités en présence d'iodure de cuivre et du ligand TBTA pendant une nuit à 50°C. Une conversion complète a été observée avec la formation de traces de l'alcool propargylique **102** issu de la réduction de l'alcyne iodé **103** en plus du produit désiré **104**. Après purification, le 5-iodotriazole **104** a été récupéré avec un excellent rendement de 94% (Schéma 54).

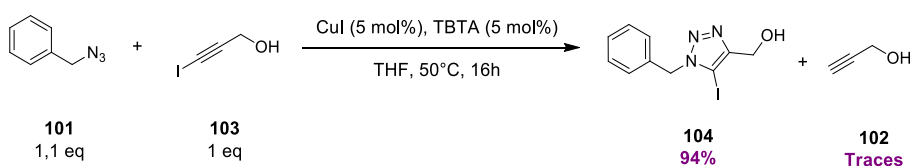


Schéma 54 : Réaction de CuAAC entre l'azoture benzylique **101** et l'alcyne iodé **103**

Enfin, la carbonylation du 5-iodotriazole **104** a été testée en système double chambre selon les conditions classiques. Malheureusement, après 1h d'agitation à 70°C, aucune trace du produit carbonylé **105-A** n'a été observée. Cette carbonylation a ensuite été testée via la préformation du complexe de palladium à l'aide de $\text{Pd(PPh}_3)_4$, et un suivi RMN du ^1H et du ^{31}P a bien montré la formation d'un complexe avec le palladium avec une conversion complète en plus d'un autre produit non identifié avec des signaux du ^{31}P à 22 et 20 ppm (Figure 14), mais la carbonylation n'a pas menée au produit désiré **105-A** (Schéma 55), et les mêmes signaux du ^{31}P étaient visible en RMN (Figure 15).

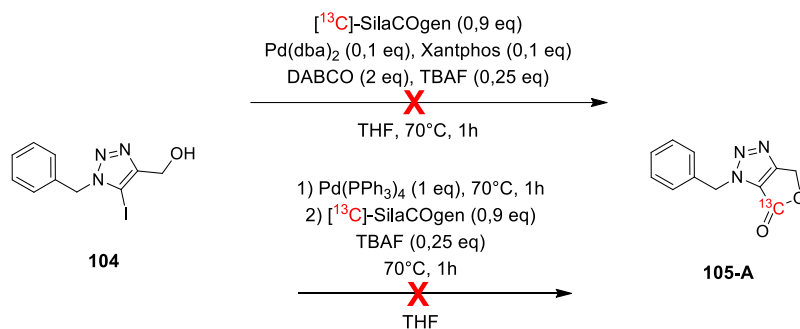


Schéma 55 : Tentatives de carbonylations du 5-iodotriazole **104**

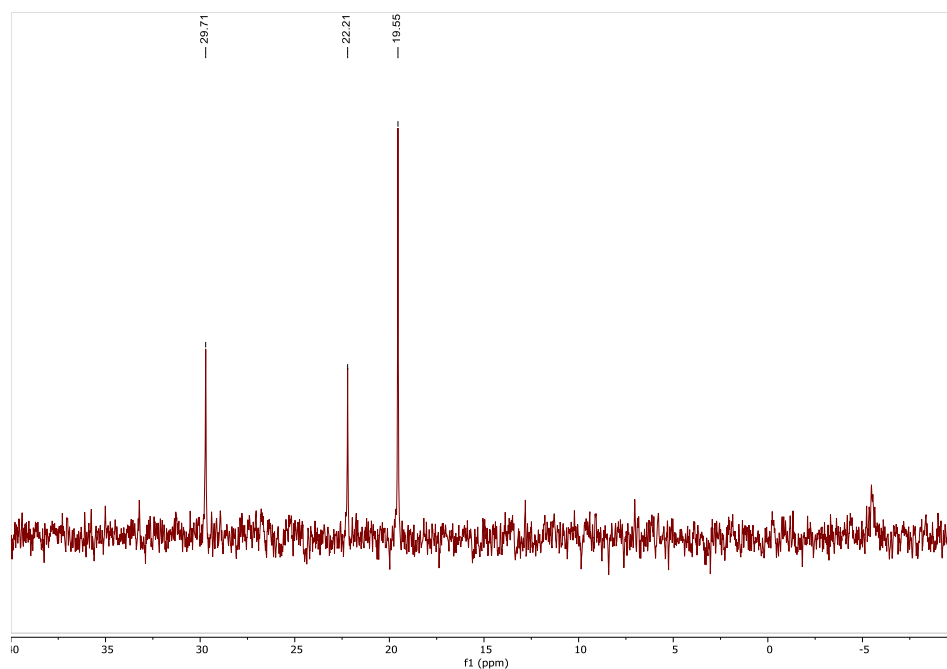


Figure 14 : Spectre RMN ^{31}P du suivi de la formation du complexe de palladium

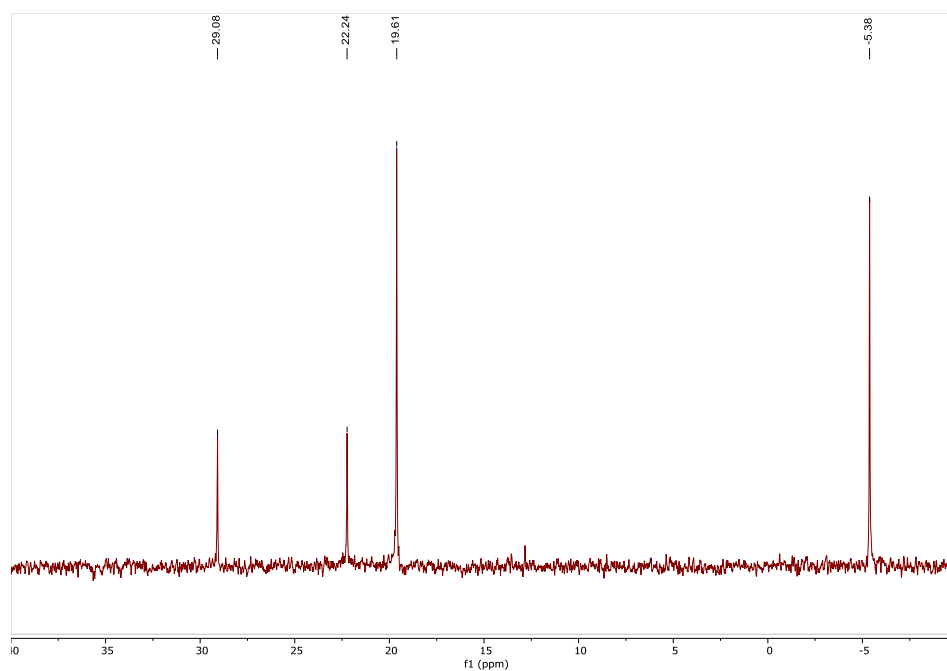


Figure 15 : Spectre RMN ^{31}P après carbonylation

Un autre essai inspiré des travaux de l'équipe de Latyshev⁸³ a été mené. Le 5-iodotriazole **104** a été dissous dans du méthanol et mis en présence du catalyseur $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ et de triéthylamine en tant que base. Cependant, après une nuit d'agitation à 50°C, seul le méthanol a réagi avec le substrat **104** et le ^{13}CO provenant du ^{13}C -silacOgen, conduisant au produit de carbonylation ^{13}C -**105-B** non désiré avec un rendement moyen de 40% (Schéma 56).

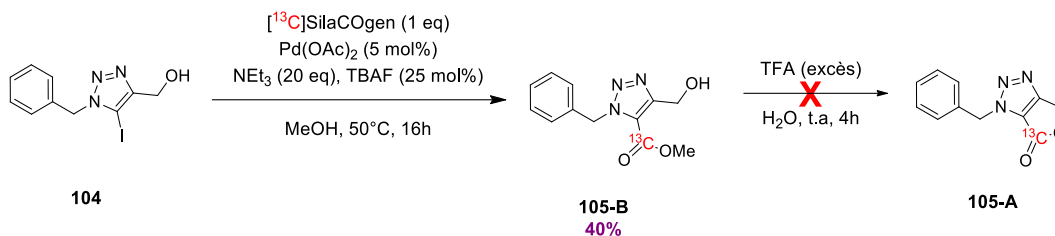


Schéma 56 : Carbonylation du 5-iodotriazole **104** dans le méthanol

En remplaçant le méthanol par le THF, aucun produit ne s'est formé après 1h de réaction. Il pourrait donc être supposé que la fonction alcool du substrat **104** ne soit pas suffisamment réactive pour réaliser la carbonylation. En effet, la réaction de méthoxycarbonylation décrite précédemment a montré que le méthanol devait être en large excès pour obtenir de bons rendements.

Il pourrait être envisagé de modifier le système catalytique pour former le produit carbonylé **105**, comme changer de catalyseur au palladium ou de base. De plus amples études sont donc nécessaires pour prouver le potentiel de ce nouveau motif triazole.

3) Synthèse de plateformes bimodales à base de benzamides ortho iodés (BzOI)

D'après les expériences précédentes, le motif alcool benzylique ortho iodé peut se carbonyler de manière efficace pour former un phthalide. Or, des difficultés d'insertion de cette plateforme sur le BODIPY ont été rencontrées. La nature de cette plateforme a donc été modifiée pour espérer une synthèse plus accessible. Un motif amide benzylique ortho iodé plus facilement modulable pourrait permettre l'introduction soit du BODIPY, soit de la biomolécule par couplage peptidique, et la carbonylation de l'amide formé pourrait s'effectuer en dernière étape pour obtenir un traceur de type phthalimide.

a) Généralités sur la carbonylation de motifs BzOI

L'aminocarbonylation intramoléculaire de benzamides permet d'obtenir un phthalimide, plusieurs exemples ayant été décrits dans la littérature. Parmi eux, l'aminocarbonylation intramoléculaire a été effectuée sur des benzamides orthoiodés afin de favoriser l'addition oxydante, et ainsi rendre les conditions de réactions plus douces. L'équipe de Sekar⁸⁶ a utilisé des nanoparticules de palladium réutilisables en tant que catalyseur et un ballon de monoxyde de carbone pour obtenir différents phthalimides. Les équipes de Bhanage⁸⁷ et Wu⁸⁸ ont utilisé d'autres sources de CO, le formiate de phényle pour la première et le mélange $\text{PPh}_3/\text{I}_2/\text{HCOOH}$ pour la deuxième (Schéma 57).

⁸⁶ N. Sharma, G. Sekar, *Adv. Synth. Catal.*, **2016**, 358, 314-320

⁸⁷ S. P. Chavan, B. M. Bhanage, *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, 2405-2410

⁸⁸ Y. Wang, Y. Zhou, M. Lei, J. Hou, Q. Jin, D. Guo, W. Wu, *Tetrahedron*, **2019**, 75, 1180-1185

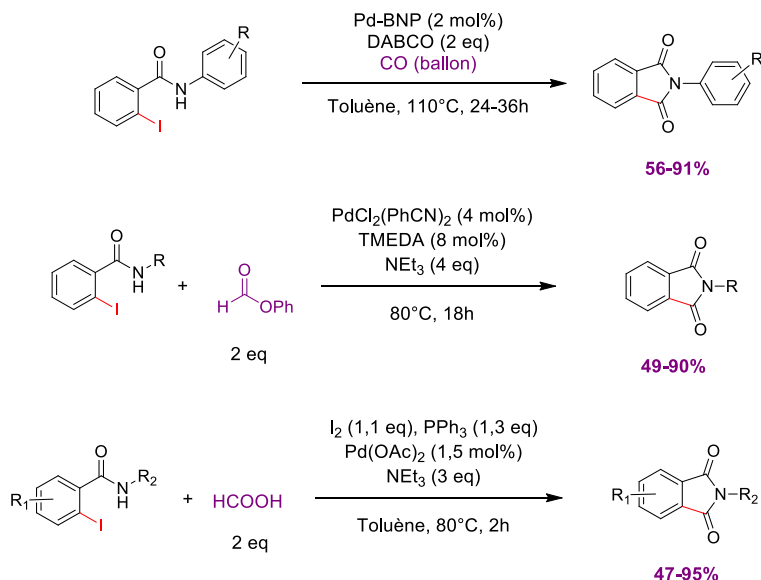


Schéma 57 : Exemples d'aminocarbonylations intramoléculaires de motifs BzOI

Il est également possible de carbonyler des benzamides après activation de la liaison C-H sp^2 avec un catalyseur au cuivre et le nitrométhane comme source de CO⁸⁹, ou avec une cocatalyse au cuivre et au nickel avec le DMF comme source de CO⁹⁰, ou bien avec une catalyse au cobalt avec l'azodicarboxylate de diisopropyle (DIAD) comme source de CO⁹¹ et d'autres encore.

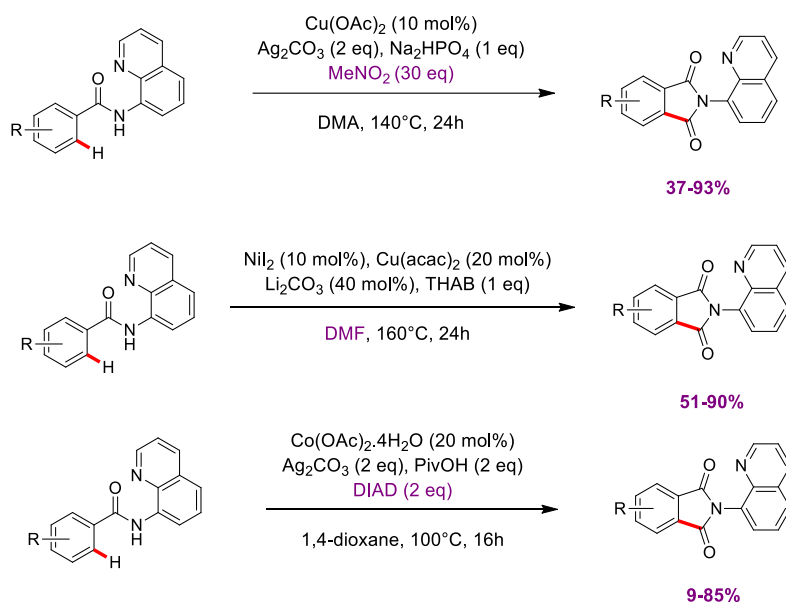


Schéma 58 : Exemples d'aminocarbonylations de benzamides par activation C-H

Cependant, ces réactions de C-H activation nécessitent des conditions opératoires plus dures. De ce fait, il a été décidé de privilégier les motifs benzamides orthoiodés pour la synthèse de nouvelles plateformes. Afin de prouver l'efficacité du système double chambre pour la carbonylation de motifs BzOI, des essais ont été menés sur des benzamides modèles avant d'envisager la synthèse des nouveaux groupements prosthétiques.

Pour cela, deux benzamides modèles ont été synthétisés pour subir par la suite la carbonylation en double chambre. Dans un premier temps, un *N*-propylamide benzylique ortho iodé **107** a été formé

⁸⁹ X. Wu, J. Miao, Y. Li, G. Li, H. Ge, *Chem. Sci.*, **2016**, 7, 5260-5264

⁹⁰ X. Wu, Y. Zhao, H. Ge, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137, 4924-4927

⁹¹ J. Ni, J. Li, Z. Fan, A. Zhang, *Org. Lett.*, **2016**, 18, 5960-5963

avec un bon rendement de 92% à partir de l'acide benzoïque ortho iodé **106** et de la propylamine en passant par un chlorure d'acide, selon les conditions décrites dans la littérature⁹². Ensuite, la carbonylation en double chambre a été tentée avec les conditions habituelles. Au bout d'une heure à 70°C, seulement 46% de conversion ont été atteints. Après purification sur colonne, le phthalimide formé [¹³C]-**108** n'a pas pu être séparé du ligand dba issu du catalyseur Pd(dba)₂. Cependant, un rendement théorique de 51% a pu être déterminé d'après le spectre RMN ¹H (Schéma 59). Le produit **108** étant déjà décrit dans la littérature, sa structure a pu être confirmée. Il s'agit ici de la première carbonylation d'amide via ces conditions, dont le rendement pourrait être amélioré par l'allongement du temps de réaction ou le changement de base.

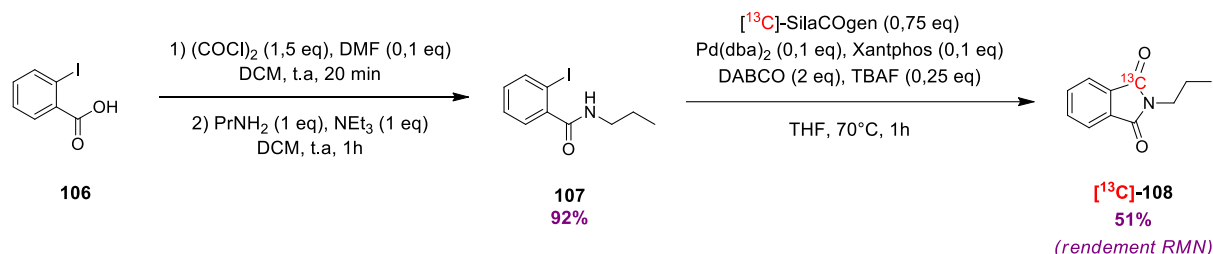


Schéma 59 : Formation et carbonylation de l'amide N-propyle **107**

Pour confirmer le potentiel de cette réaction sur les motifs BzOI, elle a été testée sur un autre modèle un peu plus encombré. L'amide benzylique ortho iodé N-phényle **109** a été formé à partir de l'acide benzoïque ortho iodé **106** et de l'aniline en passant intermédiairement par le chlorure d'acide selon les conditions décrites dans la littérature⁹³ avec un bon rendement de 93% après purification. Enfin, la carbonylation a été réalisée avec le même mode opératoire que pour le modèle précédent **107** et une conversion plus élevée de 70% a été obtenue. Après deux colonnes, le phthalimide désiré [¹³C]-**110** a été isolé avec un rendement satisfaisant de 65% (Schéma 60).

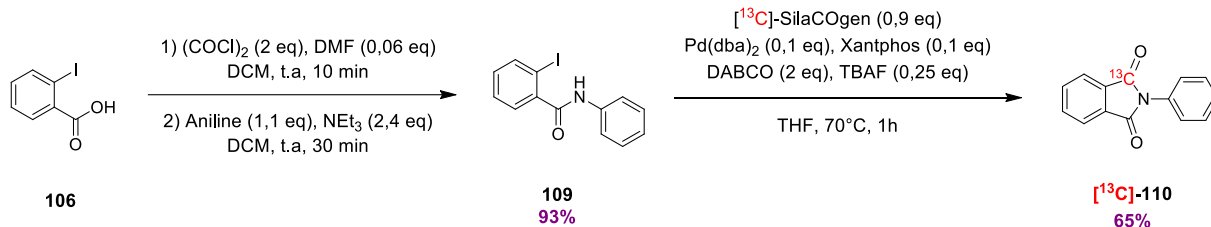


Schéma 60 : Formation et carbonylation de l'amide N-phényle **109**

Grâce à la validation de ce motif BzOI carbonylable, des nouvelles stratégies de synthèse de groupements prosthétiques à base de BODIPY ont été mises en place. Pour cela, deux voies différentes ont été choisies : l'introduction de la biomolécule sous forme d'amine par couplage peptidique sur un BODIPY portant une fonction acide carboxylique, et inversement, le couplage du BODIPY amine sur une plateforme acide carboxylique disposant d'une fonction alcyne pour réaliser une réaction click avec la biomolécule.

b) 1^{ère} stratégie : synthèse d'un BODIPY acide carboxylique ortho iodé

Pour la première voie de synthèse, il a été envisagé la synthèse d'un BODIPY portant une fonction acide carboxylique permettant par la suite le couplage avec une biomolécule reliée à une fonction amine pour obtenir le motif BzOI.

La carbonylation de la plateforme amide serait, comme toujours, effectuée idéalement en dernière étape pour introduire potentiellement le [¹³C]-CO. Cette plateforme serait formée par un couplage

⁹² B. Yao, Q. Wang, J. Zhu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 12992-12996

⁹³ K. Dev, R. Maurya, *RSC Adv.*, **2015**, 5, 13102-13106

peptidique entre une amine liée par un espaceur à la biomolécule et un acide carboxylique porté par le BODIPY **111**. Ce dernier pourrait être issu de l'oxydation de l'alcool correspondant **90** (Schéma 61).

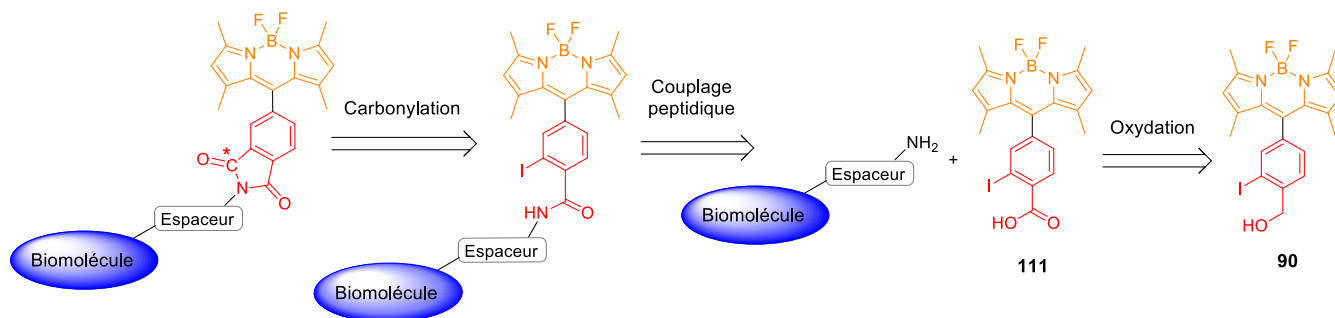


Schéma 61 : Rétrosynthèse générale de la 1^{ère} stratégie de formation de traceur phthalimide

La première étape consistait donc à oxyder la fonction alcool portée par le BODIPY **90** synthétisé antérieurement. Initialement, une oxydation directe en acide carboxylique a été envisagée, et elle a d'abord été tentée sur le composé modèle **112**. L'acide correspondant **113** a été obtenu à l'aide de permanganate de potassium dans un mélange acétonitrile/eau avec un très bon rendement de 85% après colonne (Schéma 62).

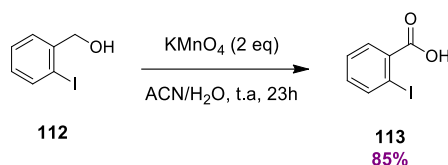
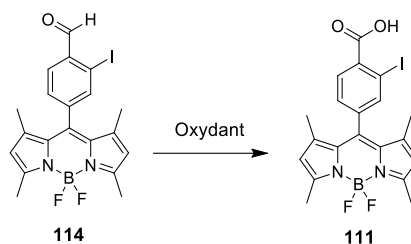


Schéma 62 : Oxydation de l'alcool modèle **112** en acide carboxylique **113**

Cependant, lorsque ces conditions ont été appliquées au BODIPY **90**, aucune réaction n'a été observée, puis en chauffant à 50°C pendant 3 jours, le produit désiré **111** semblait se former avec seulement 31% de conversion et en présence de beaucoup d'impuretés. En remplaçant l'acétonitrile par le *tert*-butanol et en utilisant une solution aqueuse de permanganate de potassium à 1M, seule de la dégradation a été observée. L'emploi d'un autre système oxydant tel que le couple perruthénate de tétrapropylammonium/*N*-oxyde de *N*-méthylmorpholine dans l'acétonitrile a conduit également majoritairement à de la dégradation.

Après ces essais infructueux, l'oxydation a donc été réalisée en deux étapes, en commençant par la transformation en aldéhyde (Tableau 7). Dans un premier temps, du dioxyde de manganèse en large excès a été agité avec le BODIPY **90** dans du dichlorométhane toute la nuit à température ambiante. Comme seulement 40% de conversion ont été observés d'après le spectre RMN ¹H du brut réactionnel, celui-ci a été réengagé en chauffant au reflux toute la nuit. Cette fois-ci, une conversion complète a été obtenue, mais le produit désiré **114** a été récupéré avec un rendement de seulement 45% après colonne (entrée 1). Ceci peut être expliqué par une dégradation du produit de départ **90** ou d'arrivée **114** pendant la réaction car, après le traitement qui consiste en une simple filtration sur Célite®, seulement 62% de la masse de brut attendue ont été récupérés. De ce fait, le mode opératoire a été modifié. Le BODIPY **90** dissous dans du DMSO a été mis en présence d'IBX en quantité stœchiométrique à température ambiante pendant 3h. Après extraction et lavages aqueux, le spectre RMN ¹H du brut réactionnel a montré une conversion complète et la présence de restes de DMSO, ce qui a permis de déterminer un rendement RMN de 52% (entrée 2). Étonnamment, lors d'une expérience identique, quand l'IBX a été neutralisé en ajoutant de l'eau dans le milieu réactionnel, un précipité orange a été formé. Il a été filtré, lavé avec des solutions aqueuses et séché, et il s'est avéré être le produit désiré **114** qui a pu être récupéré pur après filtration avec un excellent rendement de 90% (entrée 3). La formation de ce précipité dépend probablement de la quantité d'eau ajoutée au milieu réactionnel. Lors de l'essai précédent, il n'en a peut-être pas été ajouté suffisamment puisque la mesure de la quantité d'eau était approximative.

Tableau 8 : Optimisation de l'oxydation de l'aldéhyde porté par le BODIPY **114** en acide carboxylique **111**



Entrée	Oxydant	Solvant	Conditions	Conversion	Rendement
1	KMnO ₄ (2 eq)	ACN/H ₂ O	19h à t.a 22h à 50°C	50%	0%
2	NaClO ₂ (1,4 eq) NaH ₂ PO ₄ (0,3 eq) H ₂ O ₂ (1,2 eq)	ACN/H ₂ O	2h à 10°C 20h à t.a	13%	-
3	Oxone® (2 eq)	DMF	3 jours à t.a	100%	80%
4	Oxone® (2 eq)	DMF	1h aux 80°C (MW) 1h aux 120°C (MW) 16h à t.a	70%	-

Ainsi, un accès à la plateforme BODIPY-acide carboxylique **111** a pu être mis au point, et celle-ci permettra de former par la suite le motif BzOI après conjugaison à une biomolécule par une liaison peptidique. Le couplage et la carbonylation de la structure résultante seront présentées dans le chapitre suivant.

c) 2^{ème} stratégie : synthèse d'un BODIPY BzOI

L'autre stratégie de synthèse envisagée consistait au couplage entre un BODIPY de type amine et une plateforme acide portant un groupement propargylique, qui permettrait par la suite la bioconjugaison par chimie click avec la biomolécule. Cette stratégie a nécessité des étapes de synthèse supplémentaires afin de disposer de la plateforme acide **116** et du BODIPY de type amine **117**.

Ce nouveau traceur phthalimide pourrait donc toujours être marqué au [¹¹C]-CO via une carbonylation du motif BzOI en dernière étape de synthèse. Avant cela, une réaction de bioconjugaison par chimie click permettrait de coupler la biomolécule à la plateforme carbonylable reliée au BODIPY **115**. Cette molécule serait formée par le couplage peptidique entre le BODIPY de type amine **117** et la plateforme acide **116** (Schéma 63). Ces deux partenaires n'étant pas commerciaux, ils devront être synthétisés au préalable.

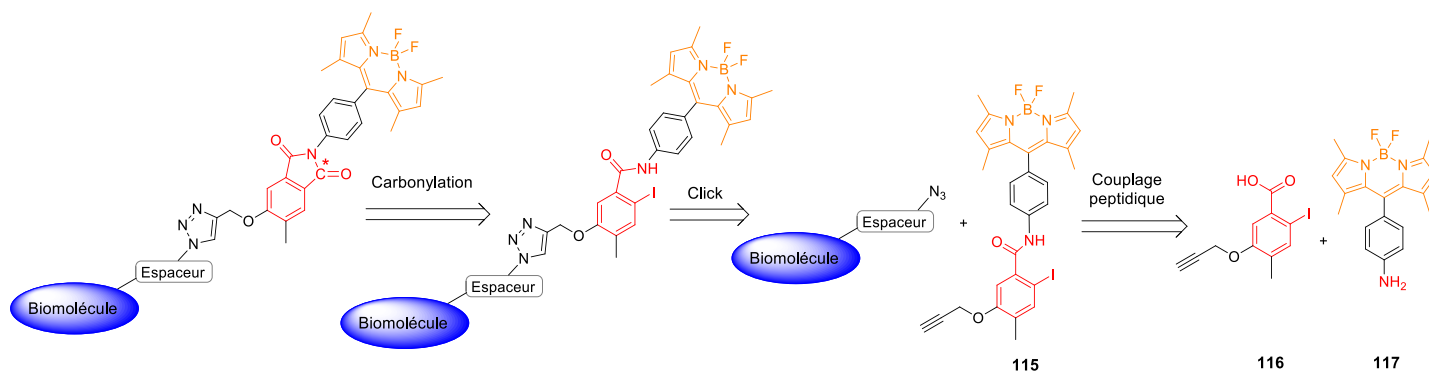


Schéma 63 : Rétrosynthèse générale de la 2^{ème} stratégie de formation de traceur phthalimide

La synthèse a débuté par la formation de la plateforme acide carboxylique propargylée **116**. Comme le 3-méthoxy-4-méthylbenzoate de méthyle **118** était disponible et que l'étape d'iodation était décrite, ce substrat a été choisi comme point de départ, mais le groupement méthyle n'était pas indispensable. Après l'iodation, les groupements ester et méthoxy peuvent être déprotégés pour conduire à l'acide carboxylique et l'alcool respectivement, pour ensuite effectuer la substitution du groupement hydroxyle nouvellement formé par le bromure de propargyle.

D'après les conditions décrites dans la littérature, l'iodation s'est effectuée de façon majoritaire en position *para* du groupement méthoxy du composé **118** à l'aide de NIS en présence de TFA dans l'acétonitrile à 80°C pendant 72h.⁵⁰ En suivant ce protocole, le composé **119** iodé en position désirée a été obtenu avec un rendement de 80% après colonne (Schéma 64).

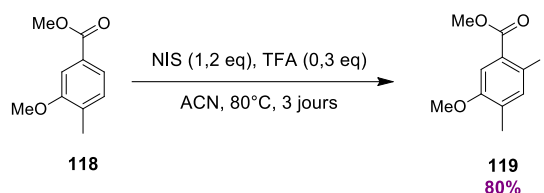


Schéma 64 : Iodation de l'ester **118**

Ensuite, pour déprotéger les deux groupements ester et méthoxy, du tribromure de bore a été utilisé en excès, et une conversion complète a été observée, mais le produit isolé après colonne était toujours en présence d'une petite quantité d'un sous-produit non identifié. Ensuite, lorsque la monosubstitution du phénol a été tentée avec 1,1 équivalents de bromure de propargyle, la formation de plusieurs produits a été observée, correspondant à la substitution sur la fonction acide carboxylique seulement et à celle sur les deux positions acide carboxylique et phénol avec des rendements isolés de 39% et 15% respectivement. Les équivalents de bromure de propargyle ont donc été augmentés pour obtenir uniquement le produit doublement substitué **120**, qui a ensuite été saponifié pour obtenir l'acide carboxylique **116**. De ce fait, après l'étape de réduction, le brut réactionnel a été directement engagé dans la double substitution et le produit souhaité **120** a été obtenu après une colonne avec un rendement sur deux étapes de 60%. Enfin, la saponification de l'ester à l'aide d'hydroxyde de potassium a donné le composé attendu **116** avec un rendement de 95% sans étape de purification (Schéma 65).

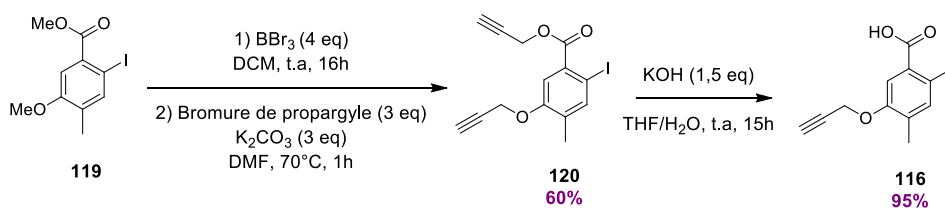


Schéma 65 : Synthèse de la plateforme acide **116** à partir de l'ester **119**

Le premier partenaire du couplage peptidique **116** a donc été synthétisé avec succès. En parallèle, la formation du deuxième partenaire BODIPY **121** a été effectuée en deux étapes selon une méthode décrite dans la littérature.⁷⁵ Le BODIPY **65** synthétisé précédemment a subi une réduction de la fonction nitro en amine via l'hydrazine hydratée en présence de palladium sur charbon pour obtenir le BODIPY **121** avec un excellent rendement de 91% après colonne (Schéma 66).

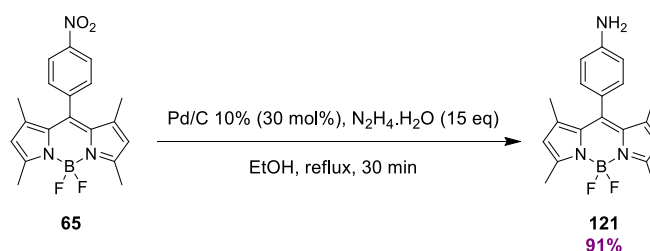


Schéma 66 : Réduction du BODIPY nitro **65** en amine **121**

Avant de réaliser le couplage entre les deux partenaires **116** et **121**, il a été testé entre un acide modèle **106** et le BODIPY amine **121**, celui-ci étant plus facilement accessible que la plateforme acide **116**.

Dans un premier temps, les conditions passant par la formation d'un chlorure d'acide via le chlorure d'oxalyle ont été testées, et l'amide correspondant **122** a été obtenu après colonne avec un bon rendement de 71% (Schéma 67). Il a été ici nécessaire de mettre le BODIPY amine **121** en défaut afin d'éviter des problèmes de purification, celui-ci possédant le même rapport frontal que le produit d'arrivée **122**.

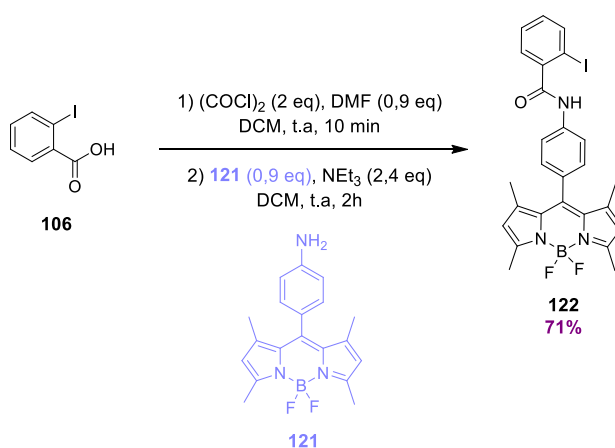


Schéma 67 : Test de couplage entre un acide modèle **106** et le BODIPY amine **121**

Ce rendement étant satisfaisant, ce mode opératoire a été appliqué pour le couplage des partenaires **116** et **121** synthétisés précédemment. Le produit désiré **115** a pu être obtenu avec un rendement similaire de 72% (Schéma 68). Il est intéressant de noter qu'ici, l'ajout de triéthylamine au milieu réactionnel a provoqué la formation d'un précipité orange qui s'est révélé être l'amide souhaité **115**, obtenu pur après une simple filtration.

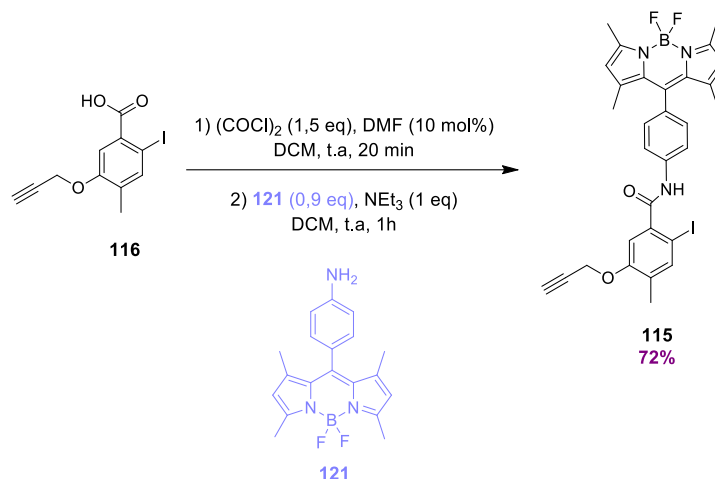


Schéma 68 : Couplage peptidique entre la plateforme acide **116** et le BODIPY amine **121**

De ce fait, un nouveau et dernier groupement prosthétique au motif BzOI **115** a été synthétisé avec succès. Le BODIPY a été relié à la plateforme carbonylable, possédant une fonction alcyne pour la future bioconjugaison.

Deux nouveaux groupements prosthétiques à base de BODIPY conjugables à une biomolécule ont donc pu être obtenus par différentes stratégies, l'un possédant une fonction acide carboxylique **111** qui deviendra un motif BzOI après couplage avec une biomolécule, et l'autre comportant déjà le motif BzOI **115** qui sera bioconjugué grâce à une réaction de CuAAC.

Des nouvelles conditions de carbonylations ont également été testées en parallèle pour tenter de favoriser la dernière étape de synthèse des futurs traceurs.

4) Développement de nouvelles méthodes de carbonylation

a) La carbonylation via la préformation d'un complexe de palladium stœchiométrique

A cause du faible temps de demi-vie du ¹¹C, l'étape de marquage par carbonylation doit s'effectuer rapidement. Or, le cycle catalytique standard de cette réaction implique de nombreuses étapes, comme l'addition oxydante ou l'échange de ligand, qui peuvent être limitantes. Afin de pallier ces éventuels problèmes, il a été envisagé de préformer un complexe de palladium avec le substrat pour réagir directement avec le [¹¹C]-CO, améliorant ainsi la cinétique globale de la carbonylation. Cette méthode s'est révélée efficace pour la ¹¹C-aminocarbonylation, comme l'a démontrée l'équipe de Skrydstrup et d'Antoni en 2015.⁹⁴

La préformation du complexe de palladium issu de l'addition oxydante de substrats amides avec le Pd(PPh₃)₄ a donc été testée afin d'éviter potentiellement l'usage du système catalytique complexe.

Elle a d'abord été expérimentée sur l'amide modèle **109**. La formation du complexe de palladium **124** a été observée par suivi RMN ³¹P avec un signal à 21 ppm (Figure 16), et il a été immédiatement engagé dans la réaction de carbonylation en plaçant ce complexe dans une chambre d'une part, et le [¹²C]-silaCOgen dans l'autre chambre. Après l'ajout du TBAF et agitation à 40°C toute la nuit, une conversion complète a été observée. Après colonne, le phthalimide désiré **110** a été obtenu avec un bon rendement de 75% (Schéma 69).

⁹⁴ T. L. Andersen, S. D. Friis, H. Audrain, P. Nordeman, G. Antoni, T. Skrydstrup, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 1548-1555

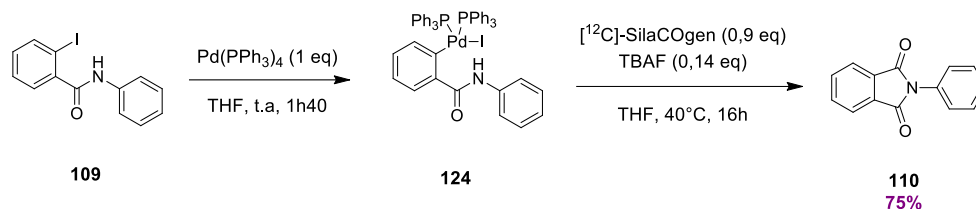


Schéma 69 : Carbonylation du complexe de palladium **124** formé à partir de l'amide modèle **109**

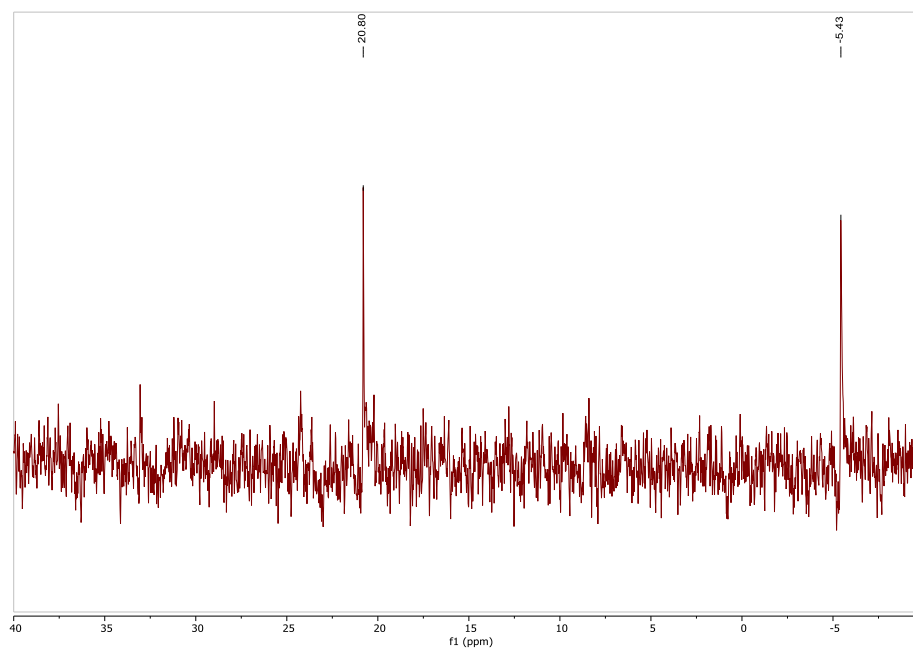


Figure 16 : Spectre RMN ^{31}P du suivi de la formation du complexe de palladium **124**

Cependant, lors de l'application de ces conditions au BODIPY modèle de type amide **122**, la formation de traces du complexe de palladium a bien été observée à 21 ppm sur le spectre RMN du ^{31}P , mais avec de faibles conversions et la présence d'autres signaux à 13 et 22 ppm (Figure 17). Même après l'ajout d'une base telle que Na_2CO_3 , la carbonylation n'a pas mené au produit désiré (Schéma 70). En particulier, de nouveaux pics non identifiés ont été observés sur la RMN du ^{31}P , montrant une possible dégradation du complexe.

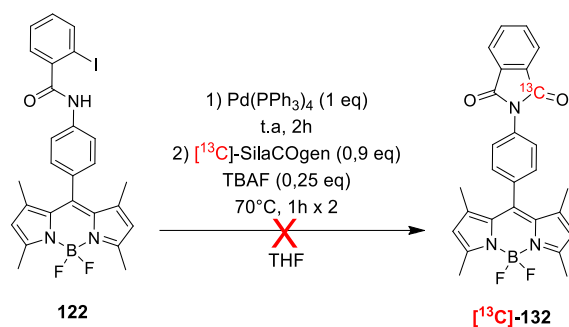


Schéma 70 : Essai de carbonylation du complexe de palladium formé à partir du BODIPY amide modèle **122**

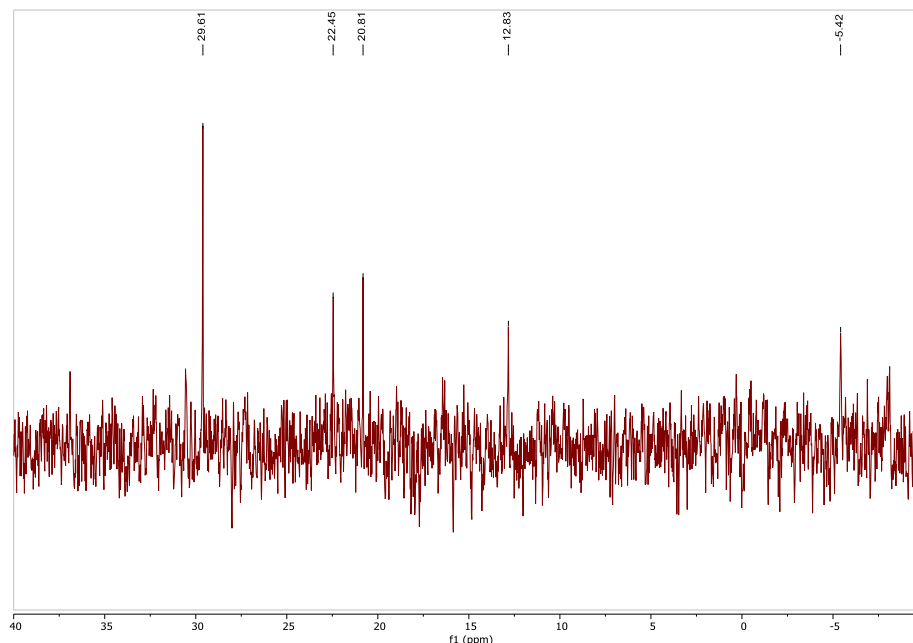


Figure 17 : Spectre RMN ^{31}P du suivi de la formation du complexe de palladium du BODIPY **122**

Il pourrait être supposé que le BODIPY **122** ne soit pas un modèle représentatif et que des essais sur d'autres BODIPY seraient nécessaires.

b) La carbonylation supportée appliquée à la synthèse des groupements prosthétiques

Un autre problème lié au temps de demi-vie du ^{13}C est la longue purification par HPLC du produit carbonylé. L'équipe d'Hermange et de Fouquet a montré que la préparation d'un précurseur supporté permet de faciliter la séparation du produit marqué avec le produit de départ d'une part, et de remplacer l'HPLC par une simple filtration d'autre part, permettant un gain de temps considérable.⁹⁵ La préparation du complexe supporté **127** a été réalisée en deux étapes et optimisée à partir d'un motif ABOI simple **125**. Dans un premier temps, le complexe de palladium **126** a été formé quantitativement à l'aide de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ en une heure à température ambiante, puis un échange de ligand a été effectué avec une résine portant des fonctions triphénylphosphines pour obtenir le précurseur supporté **127**. Enfin, ce dernier a été carbonylé avec du ^{13}C -CO pour obtenir le phtalide marqué ^{13}C -**128** avec un bon rendement de 60% sur l'ensemble des étapes (Schéma 71).

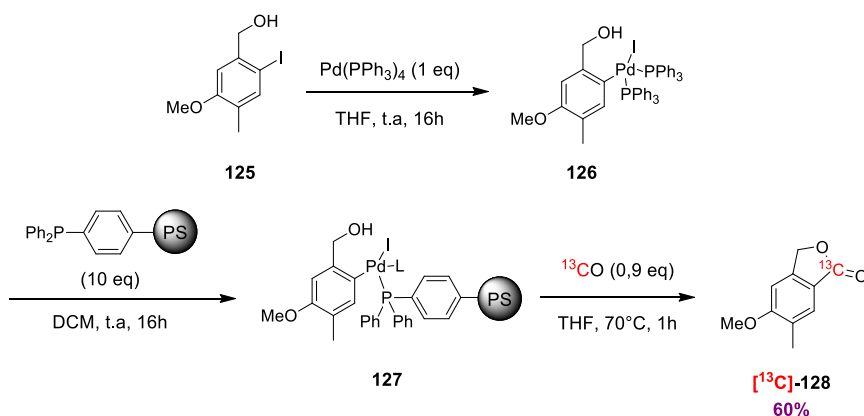


Schéma 71 : Préparation d'un complexe ABOI supporté **127** et ^{13}C -carbonylation

⁹⁵ A. Tabey, H. Audrain, E. Fouquet, P. Hermange, *Chem. Commun.*, **2019**, 55, 7587-7590

Ces conditions optimales ont été appliquées à diverses structures telles que des conjugués stéroïdes, des BODIPY, des biotines, des cyclopeptides ou des sucres avec des rendements allant de 12 à 52% et des excellentes puretés après une simple filtration. L'équipe a également transféré cette méthode pour la $[^{11}\text{C}]$ -carbonylation de ces mêmes conjugués supportés en augmentant la température à 108°C pour effectuer la carbonylation en 10 minutes. Une filtration sur seringue a permis d'obtenir les conjugués marqués au ^{11}C avec des rendements radiochimiques allant de 4 à 71% et des puretés radiochimiques allant de 86% à plus de 98%.

Ainsi, des travaux relatifs à la carbonylation supportée du motif amide ont été menés afin d'apporter une simplification de la purification des potentiels traceurs bimodaux BODIPY de type phthalimide finaux. Des tests ont d'abord été effectués sur des modèles simples, puis sur un BODIPY modèle.

Dans un premier temps, la préparation des complexes de palladium issus de l'addition oxydante des substrats amides avec le $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ doit être réalisée, puis les échanges de ligand avec une résine portant des fonctions triphénylphosphines seront effectués pour finir avec la carbonylation des amides supportés, aboutissant aux produits carbonylés purs avec une simple filtration (Schéma 72).

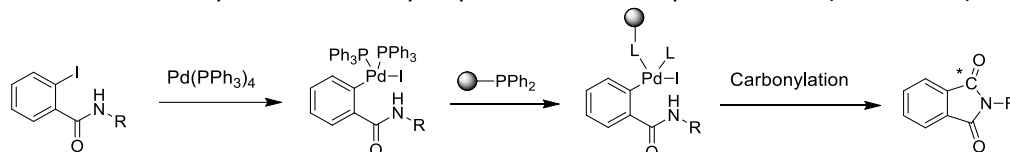


Schéma 72 : Réaction générale de la carbonylation supportée avec des amides

Ce mode opératoire a été testé sur l'amide modèle **109**, utilisé lors des tests de carbonylation précédents. L'amide **109** a été agité en présence de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ dans le THF pendant 2h à température ambiante. Après avoir confirmé la formation du complexe de palladium par la RMN du ^{31}P (signal à 21 ppm), le milieu réactionnel a été transféré sur la résine de triphénylphosphine, avec une agitation toute la nuit à température ambiante. La nouvelle résine ainsi obtenue **129** a été filtrée, lavée et séchée pour être engagée dans la réaction de carbonylation. Celle-ci a consisté à placer la résine **129** dans une chambre d'une part, et le silaCOgen dans l'autre chambre. Après avoir ajouté du THF dans chaque chambre, le TBAF a été additionné sur le silaCOgen pour produire le monoxyde de carbone. Dans le cas présent, du silaCOgen non marqué a été utilisé, et le phthalimide désiré **110** a pu être obtenu pur, après une simple filtration de la résine, avec un rendement correct de 57% (Schéma 73).

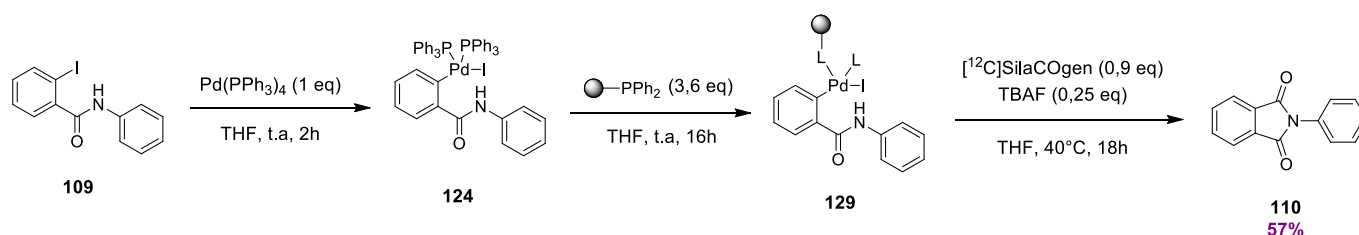
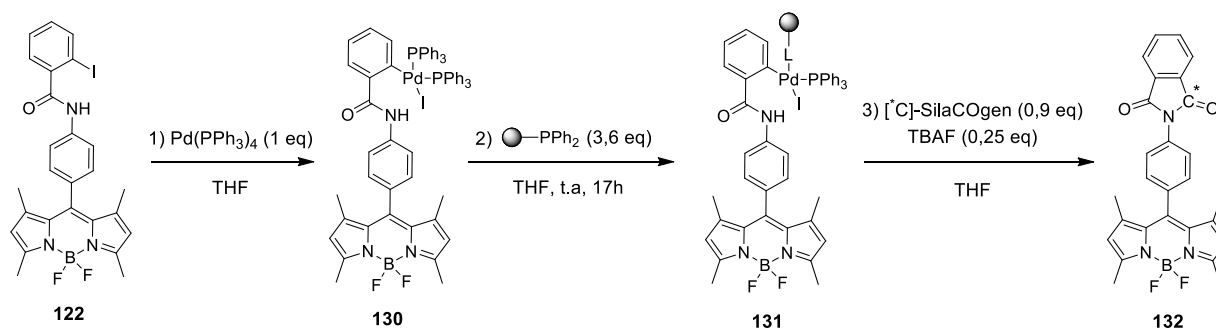


Schéma 73 : Préparation du complexe amide supporté **129** et carbonylation

Ces conditions ont ensuite été appliquées à un BODIPY modèle **122** portant un motif amide, synthétisé précédemment (Tableau 9). Le produit carbonylé **132** a bien été formé, mais il n'a pas pu être récupéré totalement pur après la filtration et avec un faible rendement (entrée 1). Une autre carbonylation a été tentée avec du $[^{13}\text{C}]$ -silaCOgen en chauffant à la fois l'étape de formation du complexe de palladium **130** et l'étape de carbonylation à 70°C pendant 1h. Cette fois-ci, le suivi RMN ^{31}P après la formation du complexe de palladium **130** a montré la présence d'un seul signal aux alentours de 21 ppm, et le BODIPY désiré $[^{13}\text{C}]$ -**132** a été obtenu pur après carbonylation, mais avec un rendement toujours faible de 24% (entrée 2). Le rendement est resté identique même en laissant agiter le milieu une nuit à 70°C.

Tableau 9 : Tests de carbonylation supportée sur un BODIPY modèle **122**



Entrée	Conditions 1)	[*C]	Conditions 3)	Rendement
1	2h à t.a	[¹² C]	17h à 40°C	<23%
2	1h à 70°C	[¹³ C]	1h à 70°C	24%

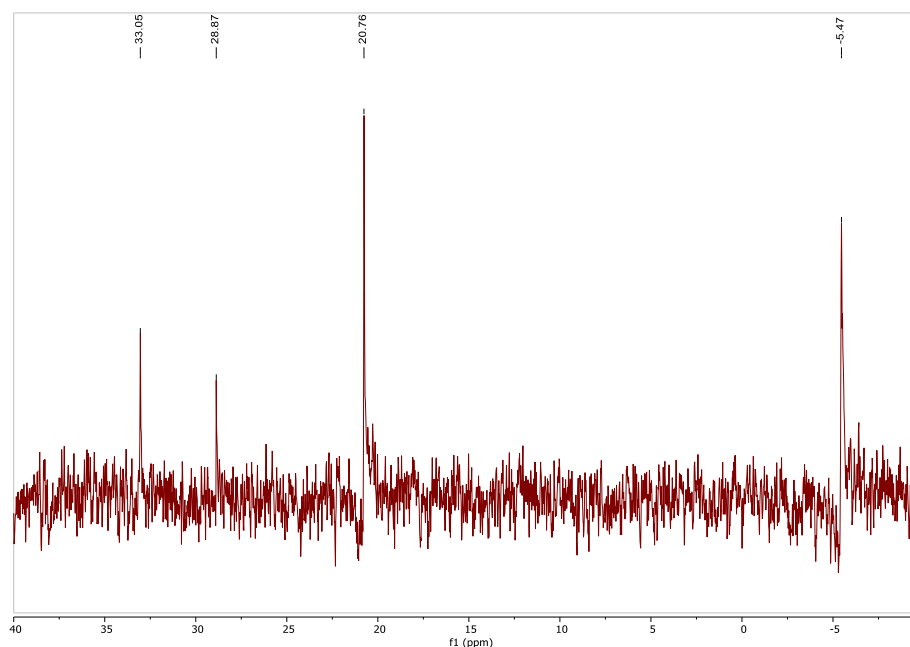


Figure 18 : Spectre RMN ³¹P du suivi de la formation du complexe de palladium **130**

Ces premiers résultats se montrant peu satisfaisants, il a été décidé de ne pas continuer dans cette voie.

Trois nouveaux groupements prosthétiques ont donc été synthétisés dans ce chapitre. Dans le chapitre suivant sera discutée la conjugaison de ces nouvelles molécules avec des dérivés d'œstrogènes comme biomolécules modèles, suivie de la carbonylation pour obtenir de potentiels traceurs bimodaux de type phtalide et phtalimide. Un paragraphe sera également consacré aux tests biologiques effectués avec les molécules finales obtenues.

Chapitre 2

Vers des traceurs conjugués bimodaux des récepteurs aux œstrogènes

Chapitre 2 : Vers des traceurs conjugués bimodaux des récepteurs aux œstrogènes

A) Généralités et bibliographie

1) *Le cancer du sein*

En France, le cancer du sein est le plus fréquent chez les femmes, avec environ 177 000 nouveaux cas en 2019.⁹⁶ Bien qu'il ne survienne en général qu'après 40 ans, il touche une femme sur neuf. Cependant, la mortalité n'a pas augmenté depuis les années 80 et plus de trois cancers du sein sur 4 sont guéris.⁹⁷

Les œstrogènes sont des hormones stéroïdiennes impliquées dans de nombreuses maladies, et plus particulièrement dans le cancer du sein.^{98,99} Chez les femmes, les organes principalement ciblés sont l'utérus, le vagin, les ovaires et les glandes mammaires. Les œstrogènes sont produits par les ovaires et sécrétés dans le sang. Grâce à un transducteur, le récepteur aux œstrogènes (ER), ils peuvent cibler certaines cellules de manière spécifique. Il existe deux types de récepteurs aux œstrogènes : ER α et ER β , les deux étant des récepteurs nucléaires. L'ER α est la forme la plus classique découverte dans les années 60, alors que la forme ER β a été découverte plus récemment. Plusieurs observations montrent l'implication des œstrogènes dans le cancer du sein, comme par exemple l'augmentation du taux de cancers lors de l'administration d'œstrogènes ou lors de la prise prolongée de contraceptifs oraux œstrogéniques chez des petits animaux. Cependant, leurs mécanismes moléculaires restent flous. Cette hausse serait due à des métabolites d'œstrogènes pouvant induire des mutations ou la prolifération des cellules épithéliales du sein.

Il a donc été supposé que le fait de supprimer la source d'œstrogène ou l'empêcher de se lier à ses récepteurs pourrait entraver la croissance de la tumeur.⁹⁸ La plus ancienne forme de thérapie est l'ovariectomie décrite par Beatson¹⁰⁰ il y a plus de cent ans. Il s'agit d'une ablation chirurgicale des ovaires qui provoque une baisse immédiate et permanente du taux d'œstrogènes. Cependant, cet acte irréversible entraîne une forte morbidité et mortalité. De nos jours, le traitement de choix contre le cancer du sein est celui par des modulateurs sélectifs de récepteurs d'œstrogènes (SERM), appelé thérapie hormonale. Les SERM montrent à la fois des effets œstrogéniques et anti-œstrogéniques tels que le tamoxifène®, le médicament le plus utilisé (Figure 19). En effet, il empêche l'interaction des œstrogènes avec les ER α , mais fonctionne comme l'œstrogène dans les cellules osseuses et endométriales.

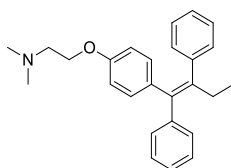


Figure 19 : Structure du tamoxifène®

Il a été démontré que dans le cas de femmes ménopausées, le traitement par des inhibiteurs d'aromatase (AI) était plus efficace. Ils permettent d'empêcher la formation d'œstrogènes en inhibant l'enzyme qui catalyse leur production. Les AI classiquement utilisés sont l'anastrozole® et le létrozole® (Figure 20). L'anastrozole® est généralement mieux toléré que le tamoxifène® mais la possibilité de développer de l'ostéoporose à long terme n'est pas exclue.

⁹⁶ INCa

⁹⁷ Ligue contre le cancer

⁹⁸ M. J. Duffy, *Clinical Laboratory Sciences*, **2006**, 43, 325-347

⁹⁹ S. C. Hewitt, K. S. Korach, *Endocrine Reviews*, **2018**, 39, 664-675

¹⁰⁰ GT. Beatson, *Lancet*, **1896**, 2, 104-107

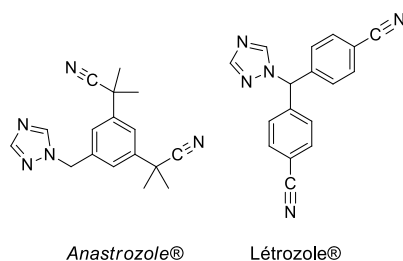


Figure 20 : Inhibiteurs d'aromatase

Il a été également établi que les patientes atteintes de cancer du sein qui présentent des tumeurs surexprimant peu les ER (ER-) sont peu susceptibles de réagir au traitement hormonal, et doivent être soumises à des interventions chirurgicales ou à de la chimiothérapie. Il est donc nécessaire d'identifier facilement et rapidement les tumeurs et métastases contenant des ER répondant positivement à la thérapie hormonale (ER+) pour adapter les traitements. Il est à noter qu'environ 70% des patientes atteintes du cancer du sein possèdent des tumeurs ER+.¹⁰¹ De ce fait, un intérêt grandissant de synthétiser de nouveaux radiotraceurs capables de se lier spécifiquement aux ER est observé.

Dans les années 80, les chercheurs se sont inspirés de l'œstradiol, l'œstrogène agoniste endogène des ERs le plus efficace, présent chez l'humain, pour tester de nouveaux ligands des ERs. La structure générale des œstrogènes consiste en un stéroïde avec un noyau stérane, un tétracycle, caractéristique. Selon la nomenclature IUPAC, les cycles sont nommés de **A** à **D** et les carbones ont également leur propre numérotation. Les œstrogènes diffèrent par les substituants localisés sur les cycles. Par exemple, l'œstrone possède un groupement carbonyle en position 17. S'il est remplacé par un groupement hydroxyle, il s'agit de l'œstradiol (Figure 21). L'œstriol est substitué par une deuxième fonction alcool en position 16.

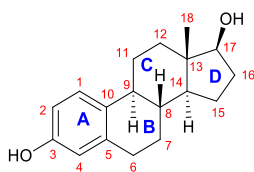


Figure 21 : Nomenclature IUPAC de l'œstradiol

Pour développer de nouveaux ligands à partir de l'œstradiol, il faut noter que les substitutions au niveau du cycle A diminuent généralement l'affinité de liaison avec l'ER mais sont tolérées pour les cycles B, C et D. Les substitutions au niveau du cycle C se révèlent en général plus difficiles que pour les cycles B et D. Les groupes hydroxyles sont essentiels pour une bonne affinité. Les seules positions tolérant des groupements encombrants sont les carbones 7 α et 11 β .¹⁰²

Plus le cancer est détecté rapidement, plus il est facilement traité. Les critères importants pour la détection du cancer sont : une haute sensibilité, une bonne spécificité, une facilité d'utilisation et un bas coût. Il existe plusieurs technologies qui répondent plus ou moins à ces critères. L'imagerie généralement utilisée depuis 30 ans est la mammographie qui consiste en un examen du sein par rayons X.¹⁰³ Cependant, elle ne distingue pas avec précision les tumeurs malignes des tumeurs bénignes, ce qui peut conduire à des faux positifs.^{104, 105} Plus la poitrine est dense, moins la mammographie est sensible ce qui constitue un inconvénient de cette technique. De plus, elle nécessite une compression de la poitrine ce qui apporte une gêne à la patiente. D'autres techniques

¹⁰¹ M. Van Kruchten, E. G. E. de Vries, M. Brown, E. F. J. de Vries, A. W. J. M. Glaudemans, R. A. J. O. Dierckx, C. P. Schröder, G. A. P. Hospers, *Lancet Oncol.*, **2013**, 14, e465-e475

¹⁰² G. M. Anstead, K. E. Carlson, J. A. Katzenellenbogen, *Steroids*, **1997**, 62, 268-303

¹⁰³ A. B. Nover, S. Jagtap, W. Anjum, H. Yegingil, W. Y. Shih, W.-H. Shih, A. D. Brooks, *International Journal of Biomedical Imaging*, **2009**, 1-14

¹⁰⁴ K. Kerlikowske, J. Barclay, D. Grady, E. A. Sickles, V. Ernster, *J. Natl. Cancer Inst.*, **1997**, 89, 77-82

¹⁰⁵ M. J. Homer, *Radiol. Clin. N. Am.*, **1985**, 23, 459-472

couplées à la mammographie peuvent être utilisées comme l'IRM ou l'ultrason, mais elles manquent soit de spécificité, soit de sensibilité, et coûtent cher.

Pour remédier à ces problèmes, la médecine nucléaire peut être utilisée pour détecter le cancer du sein. En effet, la densité de la poitrine n'affecte pas sa sensibilité et aucune compression de la poitrine n'est effectuée. Il est donc possible d'utiliser la radioimmunosintigraphie comme la TEMP (Tomographie d'émission monophotonique ou SPECT) ^{99m}Tc , mais elle possède un coût élevé pour des sensibilités et spécificités modérées. Au contraire, la TEP profite d'une haute sensibilité et spécificité, et est très utile pour des examens de suivi du corps entier. Elle est donc souvent utilisée en oncologie.

De façon intéressante, l'imagerie optique par fluorescence dispose également d'une forte sensibilité et d'un moindre coût, et peut être un outil efficace pour la chirurgie. De nombreux ligands fluorescents des ERs ont ainsi été synthétisés et d'autres sont encore en cours de développement.

2) L'imagerie TEP dans le diagnostic des cancers du sein

La détection précoce du cancer du sein étant primordiale pour le choix du traitement, la TEP se révèle être efficace grâce à la visualisation de processus biologiques spécifiques, notamment en observant les variations au niveau des phénotypes et les changements biochimiques au sein des tissus. Bien que cette technique d'imagerie soit le plus souvent utilisée sur un corps entier, des systèmes dédiés à certaines parties du corps sont également développés. En l'occurrence, un nouveau système consacré à l'imagerie du sein a été conçu, nommé mammographie par émission de positons (PEM). Ceci a permis une meilleure résolution spatiale, un temps d'imagerie plus court et une réduction des doses de radiotraceurs injectés. Par exemple, une tumeur mammaire a pu être clairement identifiée après injection d'un radiotraceur à l'aide de cette technique d'imagerie (Figure 22). L'assimilation du radiopharmaceutique a été clairement visualisée dans le sein droit d'une patiente d'âge moyen.

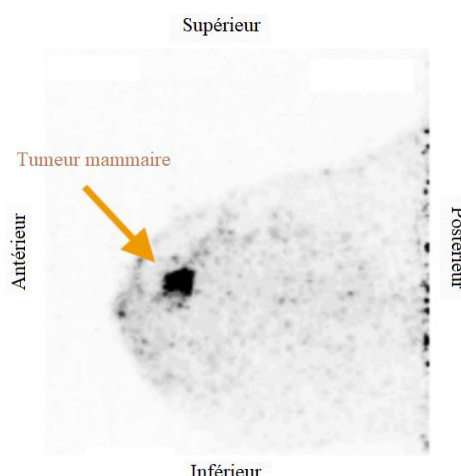


Figure 22 : Image TEP d'un cancer du sein¹⁰⁶

a) Les radiotraceurs généraux marqués au ^{18}F et ^{11}C

Le [^{18}F]-FDG couramment utilisé en oncologie a aussi une application dans le traitement du cancer du sein. La réduction rapide et significative de son assimilation après une thérapie hormonale permet de prédire la diminution des tumeurs cancéreuses,¹⁰⁷ mais il ne permet pas de détecter des cancers primaires (Schéma 74).

¹⁰⁶ J. L. Vercher-Conejero, L. Pelegrí-Martínez, D. López-Aznar, M. del Puig Cózar-Santiago, *Diagnostics*, **2015**, 5, 61-83

¹⁰⁷ R. L. Whal, K. Zasadny, M. Helvie, G. D. Hutchins, B. Weber, R. Cody, *J. Clin. Oncol.*, **1993**, 11, 2101–2111

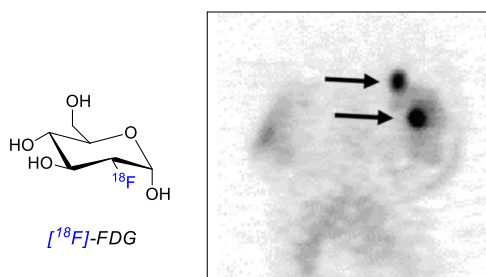


Schéma 74 : Image TEP d'un cancer du sein avancé après injection du radiotracteur [¹⁸F]-FDG ¹⁰⁸

L'augmentation de la synthèse de protéines dans les cellules tumorales montre également l'importance de l'incorporation d'acides aminés ou de leurs analogues dans les radiotraceurs. En 1999, l'équipe de Goodman¹⁰⁹ a synthétisé un nouveau radiotracteur analogue de la L-Leucine, le [¹⁸F]-fluciclovine (Schéma 75), aussi appelé [¹⁸F]-FACBC ou Axumin®. Il s'est révélé très efficace pour le diagnostic de cancer de la prostate récurrent et du cancer du sein. En effet, dans ce dernier cas, il a permis de visualiser en PET/CT les tumeurs des cancers du sein canaux infiltrants (le type le plus fréquent) et lobulaires infiltrants, et d'évaluer la réponse des tumeurs à un traitement.

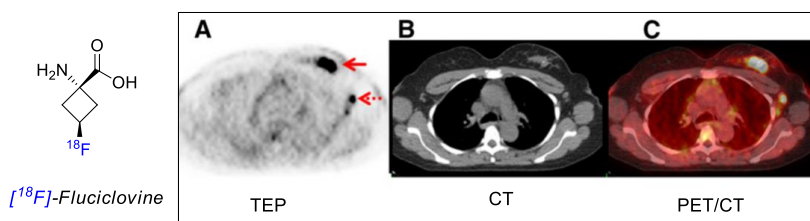


Schéma 75 : Images PET/CT d'un cancer du sein primaire et de métastases après injection du radiotracteur [¹⁸F]-fluciclovine¹¹⁰

Un autre radiotracteur potentiel, la [¹⁸F]-fluorothymidine ([¹⁸F]-FLT), a été synthétisé en 1998 par l'équipe de Grierson¹¹¹ en 100 min avec des rendements radiochimiques corrigés variant de 2 à 10% (Figure 23). Il s'agit d'un analogue résistant à la métabolisation à l'inverse de la thymidine. Il a été utile pour l'imagerie de la prolifération de tumeurs grâce à sa faculté d'être retenu dans une cellule par interaction avec une enzyme. L'équipe de Dohmen¹¹² s'est intéressée à cette molécule pour l'imagerie TEP du cancer du sein, et a réussi à visualiser des tumeurs primaires et des métastases démontrant une incorporation du [¹⁸F]-FLT en hausse dans ces tumeurs (Figure 23).

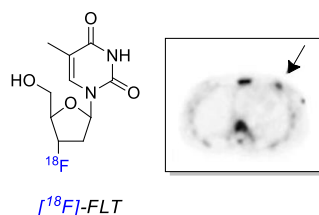


Figure 23 : Image TEP d'un cancer du sein primaire après injection du radiotracteur [¹⁸F]-FLT

¹⁰⁸ E. L. Rosen, W. B. Eubank, D. A. Mankoff, *RadioGraphics*, **2007**, 27, S215-S229

¹⁰⁹ T. M. Shoup, J. Olson, J. M. Hoffman, J. Votaw, D. Eshima, L. Eshima, V. M. Camp, M. Stabin, D. Votaw, M. Goodman, *J. Nucl. Med.*, **1999** 40, 331-338

¹¹⁰ G. A. Ulaner, D. A. Goldman, A. Corben, S. K. Lyashchenko, M. Gönen, J. S. Lewis, M. Dickler, *J. Nucl. Med.*, **2017**, 58, 1037-1042

¹¹¹ J. R. Grierson, A. F. Shields, J. F. Eary, *J. Labelled Compounds Radiopharm.*, **1997**, 40, 60-62

¹¹² B. Smyczek-Gargya, N. Fersis, H. Dittmann, U. Vogel, G. Reisch, H.-J. Machulla, D. Wallwiener, R. Bares, B. M. Dohmen, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **2004**, 31, 720-724

En 2001, l'équipe de Coleman¹¹³ s'est penchée sur le développement de la version ¹⁸F de la choline, la [¹⁸F]-fluorocholine (FCH), afin de profiter de son temps de demi-vie plus long. Une haute assimilation de ce radiotracer dans plusieurs parties du corps a été démontrée, mais il est peu utilisé dans le cas du cancer du sein. L'équipe d'Appanna¹¹⁴ a montré qu'il était plus assimilé dans les patientes préménopausées. De plus, il a été utilisé pour détecter l'apparition de métastases leptoméningées chez une patiente déjà atteinte d'un cancer du sein avancé (Figure 24).¹¹⁵

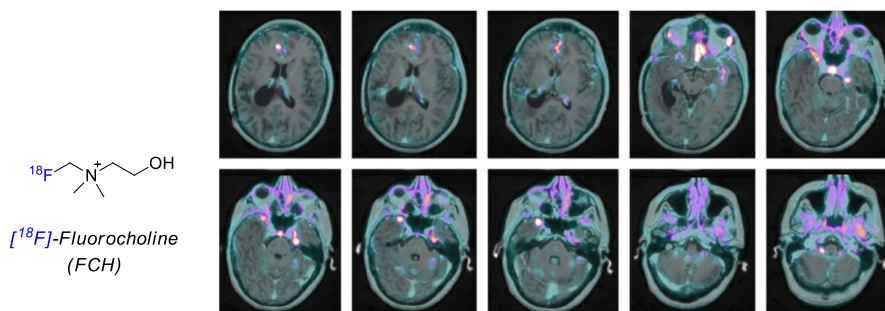


Figure 24 : Images TEP/CT de métastases leptoméningées après injection du radiotracer FCH

L'utilisation du carbone 11 est également possible. Par exemple, la choline étant rapidement consommée par les cellules tumorales proliférantes, sa version radiomarquée et ses analogues sont aussi utilisés en imagerie TEP. Des chercheurs ont remarqué que l'accumulation de la [¹¹C]-choline dans les tumeurs est simplement liée à la synthèse de phospholipides, ce qui donne une image plus claire des tumeurs. En comparaison, le [¹⁸F]-FDG offre une image moins précise de la tumeur à cause de son assimilation élevée dans les tissus sains. La [¹¹C]-choline permet la détection de plusieurs cancers, mais est largement utilisée dans le cas du cancer de la prostate. En 2009, l'équipe d'Aboagye¹¹⁶ fut la première à proposer une étude TEP des cancers du sein avec la [¹¹C]-choline. Il a été supposé que l'hyperphosphorylation des ERα par la protéine kinase activée par mitogène contribuerait à la résistance de patients aux agents anti-endocriniens tels que le tamoxifène®.¹¹⁷ Cette équipe a donc présumé que la phosphorylation en hausse de la choline serait associée au grade tumoral. Leur étude TEP leur a permis de remarquer que la [¹¹C]-choline ne permettait pas de visualiser les lésions trop petites, mais une incorporation plus élevée dans les tumeurs en phase IV que dans celles en phase II, et beaucoup moins élevée dans les tissus sains a été observée (Figure 25). Ce radiotracer nécessite donc davantage d'études pour prouver son efficacité, mais il permettrait potentiellement d'évaluer le phénotype des tumeurs.

¹¹³ T. R. DeGrado, S. W. Baldwin, S. Wang, M. D. Orr, R. P. Liao, H. S. Friedman, R. Reiman, D. T. Price, R. E. Coleman, *J. Nucl. Med.*, **2001**, 42, 1805-1814

¹¹⁴ F. F. A. Saad, M. H. Zakaria, B. Appanna, *J. Int. Med. Res.*, **2018**, 46, 3138-3148

¹¹⁵ L. Cuppari, P. Reccia, M. Burei, A. R. Cervino, L. Evangelista, *Clin. Nucl. Med.*, **2019**, 44, e96-e97

¹¹⁶ K. B. Contractor, L. M. Kenny, J. Stebbing, A. Al-Nahhas, C. Palmieri, D. Sinnett, J. S. Lewis, K. Hogben, S. Osman, S. Shousha, C. Lowdell, R. C. Coombes, E. O. Aboagye, *Clin. Cancer Res.*, **2009**, 15, 5503-5510

¹¹⁷ S. Kato, H. Endoh, Y. Masuhiro, T. Kitamoto, S. Uchiyama, H. Sasaki, S. Masushige, Y. Gotoh, E. Nishida, H. Kawashima, D. Metzger, P. Chambon, *Science*, **1995**, 270, 1491-1494

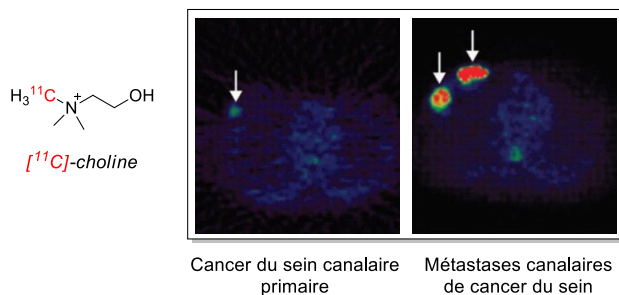


Figure 25 : Images PET de cancer du sein primaire et de métastases après injection du radiotracer $[^{11}\text{C}]\text{-choline}$

En plus de la $[^{11}\text{C}]\text{-choline}$, d'autres radiotraceurs marqués au ^{11}C ont été utilisés dans le cas du cancer du sein. La $[^{11}\text{C}]\text{-méthionine}$, un analogue marqué de l'acide aminé essentiel pour la synthèse de protéines, est principalement utilisée en imagerie neuro-oncologique, mais a permis de détecter des métastases leptoméningées d'un cancer du sein avancé que les analyses du liquide céphalo-rachidien et que l'IRM n'avaient pas pu identifier¹¹⁸ (Figure 26).

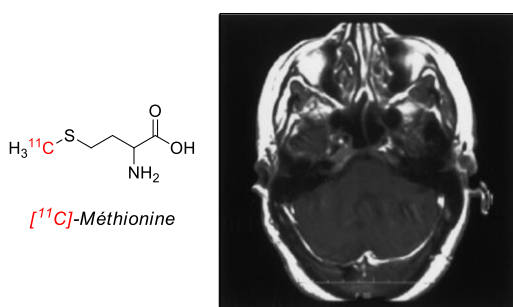


Figure 26 : Image TEP de métastases leptoméningées après injection du radiotracer $[^{11}\text{C}]\text{-méthionine}$

b) Les radiotraceurs dérivés de l'œstradiol spécifiques des ER

Plus de 75% des carcinomes du sein impliquent les ER,¹¹⁶ ainsi l'évaluation *in situ* de ces récepteurs permet d'optimiser les choix de traitements. Le développement de traceurs TEP pour le diagnostic spécifique et précoce du cancer du sein a été envisagé en ciblant ces récepteurs.

Plus de 45 traceurs TEP différents ont été ou sont actuellement testés sur des patients.¹¹⁹ Pour l'instant, seul le $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ est utilisé pour le suivi du cancer du sein en observant la diminution de son assimilation dans les tumeurs après traitement. Cependant, il manque de sélectivité du fait de la consommation de glucose par de nombreux types de cellules.

La version fluorée de l'œstradiol, le $[^{18}\text{F}]\text{-FES}$, a été synthétisée par l'équipe de Welch¹²⁰ en 1984 et plusieurs améliorations ont été apportées depuis, notamment l'automatisation de la radiosynthèse par l'équipe de McEwan.¹²¹ Ce composé s'est révélé très efficace dans des essais précliniques pour le diagnostic, la classification et le suivi post-thérapeutique des cancers du sein aux ER+. Il s'agit donc de l'analogue œstradiol le plus fréquemment utilisé en études cliniques (Figure 27).

¹¹⁸ M. V. Padma, M. Jacobs, G. Kraus, M. Collins, K. Dunigan, J. Mantil, *J. Neurooncol.*, **2001**, 55, 39-44

¹¹⁹ S. C. van Es, C. M. Venema, A. W. J. M. Glaudemans, M. N. Lub-de Hooge, S. G. Elias, R. Boellaard, G. A. P. Hospers, C. P. Schröder, E. G. E. de Vries, *J. Nucl. Med.*, **2016**, 57, 96S-104S

¹²⁰ D. O. Kiesewetter, M. R. Kilbourn, S. W. Landvatter, D. F. Heiman, J. A. Katzenellenbogen, M. J. Welch, *J. Nucl. Med.*, **1984**, 25, 1212-1221

¹²¹ P. Kumar, J. Mercer, C. Doerkson, K. Tonkin, A. J. B. McEwan, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **2007**, 10, 256S-265S

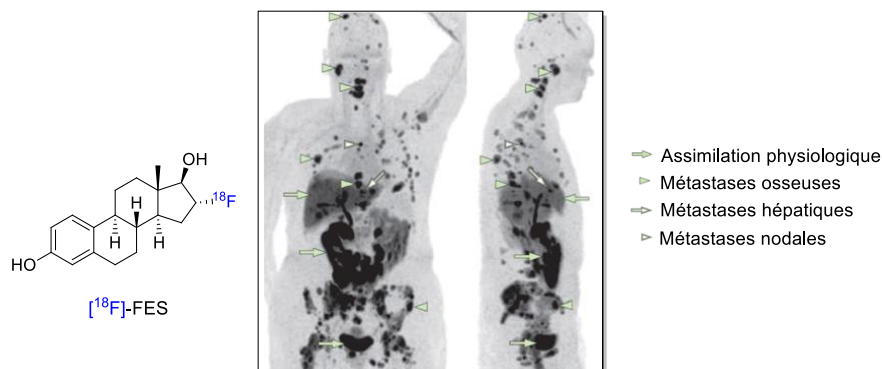


Figure 27 : Images TEP de métastases après injection du radiotracer $[^{18}\text{F}]\text{-FES}$ ¹⁰¹

Malheureusement, le $[^{18}\text{F}]\text{-FES}$ est rapidement métabolisé, principalement dans le foie, et la production de radiométabolites dans le sang entraîne une baisse de la qualité de l'image.¹²² Afin de résoudre ce problème, plusieurs dérivés ont été étudiés au fil des années. Il a été notamment décrit que l'ajout de substituant en position 11 β de l'œstradiol peut permettre d'augmenter certaines propriétés de l'œstrogène. Par exemple, des substituants lipophiles sur ce site peuvent améliorer jusqu'à 30 fois l'affinité avec le récepteur par rapport à l'œstradiol.¹²³

L'équipe de Katzenellenbogen¹²⁴ s'est donc intéressée à la substitution de la position 11 β par un groupement méthoxy d'une part et par un groupement éthyle d'autre part (Schéma 76) et a déterminé leurs affinités *in vivo*. Le composé 11 β -méthoxy **133** s'est révélé être le plus sélectif avec une bonne assimilation dans l'utérus, bien que l'affinité de liaison relative soit moins élevée que le FES. Le composé 11 β -éthyle **134** a montré certes une meilleure affinité avec le récepteur, mais il est aussi le plus lipophile et pourrait donc être assimilé de façon moins spécifique.

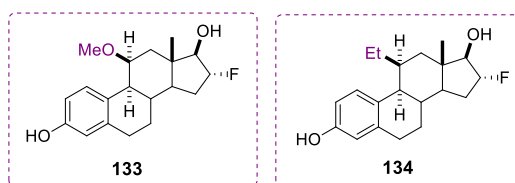


Schéma 76 : Structures des 11 β -méthoxy- et 11 β -éthyl-16 α -fluoroœstradiols **133** et **134**

L'équipe de van Lier¹²⁵ a ajouté, en plus du 11 β -méthoxy, un autre substituant en position C₄ : un atome de fluor. En effet, il a été démontré auparavant que l'ajout d'un atome de fluor en position C₂ ou C₄ sur des analogues d'œstradiols permettait d'améliorer la stabilité métabolique.^{126, 127} Le précurseur sulfate **135** a donc été synthétisé¹²⁸ et le radiomarquage a été réalisé avec du ^{18}F dans l'acétonitrile en chauffant à 110°C pendant 15 min, suivi d'un traitement acide et d'une purification sur HPLC pour obtenir le 4-fluoro-11 β -méthoxy-16 α - $[^{18}\text{F}]\text{-fluoroœstradiol}$ ($[^{18}\text{F}]\text{-4FMFES}$) avec un rendement radiochimique corrigé d'environ 50%. Bien que l'évaluation *in vivo* ait montré une affinité quatre fois moins élevée que pour le $[^{18}\text{F}]\text{-FES}$, le $[^{18}\text{F}]\text{-4FMFES}$ présentait une meilleure spécificité. L'étude de la biodistribution a montré une radioactivité plus importante dans l'utérus et les ovaires de souris par rapport au $[^{18}\text{F}]\text{-FES}$. Une plus forte accumulation dans les tumeurs ER+ a également été observée, ce qui a donné une image TEP de meilleure qualité (Schéma 77). De plus, il était 2,5 fois

¹²² D. A. Mankoff, T. J. Tewson, J. F. Eary, *Nucl. Med. Biol.*, **1997**, 24, 341-348

¹²³ R. D. Bindal, K. E. Carlson, G. C. A. Reiner, J. A. Katzenellenbogen, *J. Steroid. Biochem.*, **1987**, 28, 361-370

¹²⁴ M. G. Pomper, H. VanBroeklin, A. M. Thieme, R. D. Thomas, D. O. Kiesewetter, K. E. Carlson, C. J. Mathias, M. J. Welch, J. A. Katzenellenbogen, *J. Med. Chem.*, **1990**, 33, 3143-3155

¹²⁵ Y. Seimbille, J. Rousseau, F. Bénard, C. Morin, H. Ali, G. Avvakumov, G. L. Hammond, J. E. van Lier, *Steroids*, **2002**, 67, 765-775

¹²⁶ H. Ali, J. Rousseau, T. G. Gantchev, J. E. van Lier, *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, 4255-4263

¹²⁷ H. Ali, J. Rousseau, J. E. van Lier, *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, 3061-3072

¹²⁸ Y. Seimbille, H. Ali, J. E. van Lier, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **2002**, 657-663

moins métabolisé que le [^{18}F]-FES chez l'humain. Le [^{18}F]-4FMFES a donc semblé être une alternative au [^{18}F]-FES.

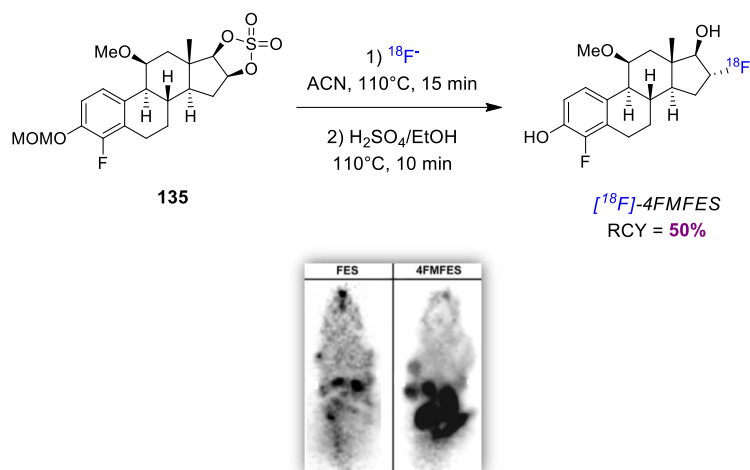
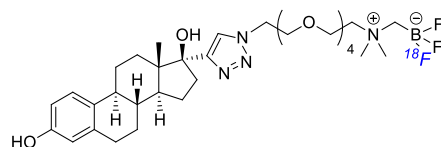


Schéma 77 : Radiosynthèse du [^{18}F]-4FMFES et comparaison d'images TEP de souris porteuses de tumeurs ERs entre l'injection de [^{18}F]-FES ou de [^{18}F]-4FMFES

De nos jours, le [^{18}F]-FES est un agent potentiellement très utile dans l'évaluation des ER. Cependant, le radiomarquage nécessite deux étapes de réactions, le séchage de l'ion $^{18}\text{F}^-$ et une HPLC semi-préparative, ce qui diminue les rendements d'activité. Des chercheurs ont donc très récemment mis en place une nouvelle méthode de radiomarquage par un simple échange isotopique ^{18}F - ^{19}F en une étape. Pour cela, l'équipe de Lin ¹²⁹ a développé un nouveau radiotraceur basé sur l'éthinylœstradiol, le [^{18}F]-AmBF₃-TEG-ES. Le marquage s'est effectué par un simple échange isotopique ^{18}F - ^{19}F du groupement trifluoroborate à 80°C par réaction du précurseur avec l'ion $^{18}\text{F}^-$ produit par le cyclotron. De ce fait, le radiotraceur [^{18}F]-AmBF₃-TEG-ES a été obtenu en 30 min sans étape de purification avec un rendement radiochimique de 61% et une pureté radiochimique supérieure à 98%. Cette méthode s'est donc révélée plus courte mais aussi plus efficace. De plus, son évaluation biologique a montré une stabilité et une spécificité des ER+ élevées. Il a donc été testé en imagerie micro TEP sur des souris porteuses de lignées cellulaires du cancer du sein et s'est accumulé dans les tumeurs de type ER+ (Schéma 78). Il s'agit donc d'un agent d'imagerie TEP prometteur pour visualiser les tumeurs ER+ du cancer du sein. Il est à noter que le précédent composé synthétisé par cette même équipe et ne possédant pas la chaîne PEG ne montrait aucune assimilation dans les mêmes conditions, ce qui prouve que l'espaceur PEG aurait permis de réduire l'encombrement stérique nuisant à l'interaction entre le radiotraceur et le récepteur.

¹²⁹ H. Huang, K. Li, G. Lv, G. Liu, X. Zhao, Q. Liu, S. Wang, X. Li, L. Qiu, J. Lin, *Contrast Media & Molecular Imaging*, **2018**, 1-9



[¹⁸F]-AmBF₃-TEG-ES

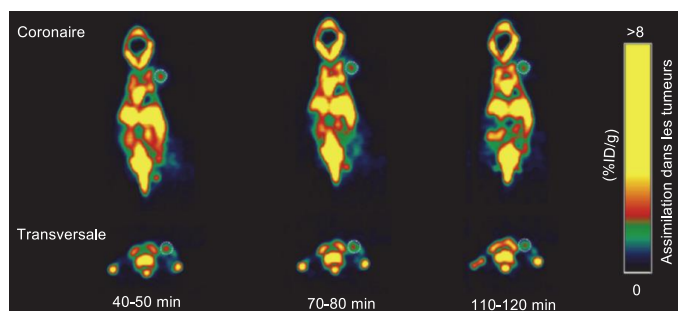


Schéma 78 : Images micro-TEP de souris porteuses de tumeurs du cancer du sein après injection du radiotracer [¹⁸F]-AmBF₃-TEG-ES

Des traceurs dérivés de l'œstradiol marqués au ¹¹C ont également été développés. Par exemple, le 17α-éthinyloœstradiol **140** et le moxestrol (un dérivé avec un groupement méthoxy en position 11) sont connus comme œstrogènes efficaces se liant avec une forte affinité aux ER d'utérus de rates et stimulant la croissance utérine de jeunes rates.¹³⁰ En effet, l'œstradiol substitué par un groupement éthynyle est deux fois plus assimilé par les tissus ciblés que l'œstradiol non substitué. De plus, la substitution en position 17α de l'éthinyloœstradiol **140** permet d'augmenter encore l'affinité de liaison avec les ERs et de réduire la métabolisation du cycle D.¹³¹

De ce fait, l'équipe de Vaalburg¹³² a décidé de marquer l'EE **140** avec du ¹¹C afin de ne pas modifier son activité hormonale. L'acétylure de lithium [¹¹C]-**138** a été produit par la réaction du *n*BuLi sur l'acétylène [¹¹C]-**137** généré par l'addition d'eau sur le carbure de calcium [¹¹C]-**136**. L'œstrone **139** mis en présence du lithien [¹¹C]-**138** a permis d'obtenir l'éthinyloœstradiol [¹¹C]-**140** après 15 min à 50°C avec un faible rendement radiochimique de 3,5% (Schéma 79).

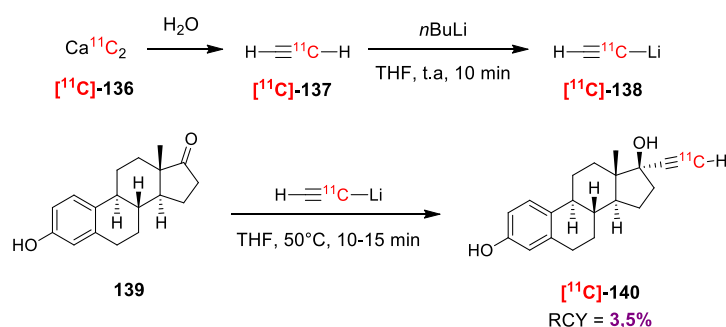


Schéma 79 : Radiosynthèse de l'éthinyloœstradiol [¹¹C]-**140**

Cette même équipe¹³³ a également marqué le moxestrol au ¹¹C. Malheureusement, leurs deux composés n'ont pas pu être évalués *in vivo* à cause de la synthèse trop longue, incompatible avec le temps de demi-vie du ¹¹C, et des trop faibles activités molaires obtenues. Afin d'étudier leur potentiel en tant que radiotraceurs, l'équipe de Feenstra¹³⁰ a testé *in vivo* leurs analogues marqués au ³H. Le 17α-éthinyloœstradiol [³H]-**140** et le moxestrol ont montré une distribution sélective dans les tissus de

¹³⁰ A. Feenstra, G. M. J. Noltén, W. Vaalburg, S. Reiffers, M. G. Woldring, *J. Nucl. Med.*, **1982**, 23, 599-605

¹³¹ H. M. Bolt, *Pharmacol. Ther.*, **1979**, 4, 155-181

¹³² W. Vaalburg, S. Reiffers, E. Beerling, J. J. Pratt, M. G. Woldring, H. Wynberg, *J. Lab. Comp. Radiopharm.*, **1977**, 13, 200-201

¹³³ W. Vaalburg, A. Feenstra, T. Wiegman, H. D. Beerling, S. Reiffers, A. Talma, M. G. Woldring, H. Wynberg, *In Proceedings of the Third International Symposium on Radiopharmaceutical Chemistry*, **1980**, 100-101

rates matures et de rates avec des tumeurs mammaires. Il est à noter que le moxestrol semble plus sélectif dans le cas de rates portant des tumeurs.

3) La fluorescence dans le cas du cancer du sein

a) Intérêt

De nos jours, même avec les techniques modernes de chirurgie, 20 à 25% des cancers du sein sont opérés de façon incomplète^{134,135} et une récurrence locale a lieu dans 12 à 28% des cas¹³⁶. Il existe donc un besoin d'aider ces interventions chirurgicales. Une méthode pour remédier à cela serait d'assister la chirurgie par une technique d'imagerie. Il faudrait qu'elle permette de visualiser les cellules malignes à retirer, et les nerfs et les vaisseaux sanguins à ne pas toucher. Depuis 2010, la nouvelle technologie d'imagerie par fluorescence PIR a émergé.^{137, 138} Elle consiste à évaluer les propriétés optiques des tissus. En effet, les propriétés optiques intrinsèques de la poitrine permettent la visualisation de lésions sans agent de contraste. Cependant, la sensibilité est trop faible pour détecter assez tôt les lésions. Par conséquent, l'usage d'un agent fluorescent reste nécessaire pour améliorer le contraste des lésions et détecter les changements dans les tissus de la poitrine. Ces sondes peuvent soit se lier spécifiquement à des cibles du cancer du sein, ou s'accumuler de façon non spécifique dans le site de la tumeur. Cette technique d'imagerie offre de nombreux avantages tels que sa très bonne sensibilité dans une concentration de nanomolaire à picomolaire, son bas coût et son accessibilité. Malgré cela, elle n'est pas encore utilisée à cause du développement difficile d'agents de contraste fluorescents spécifiques, mais offre un bon potentiel pour la détection précoce du cancer du sein.

En ce qui concerne la pratique, l'imagerie optique fonctionne par transmission de la lumière à travers la poitrine dans laquelle elle est à la fois absorbée et dispersée par les composants des tissus. La lumière résiduelle est ensuite enregistrée par des détecteurs, et des algorithmes reconstruisent les images (Figure 28).

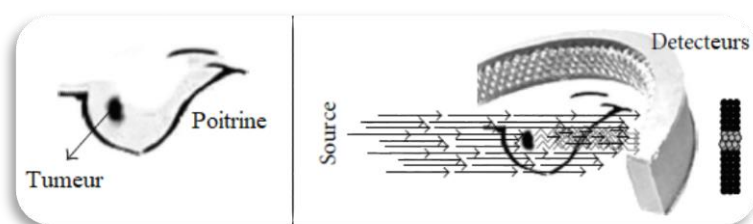


Figure 28 : Principe de l'imagerie optique avec un agent fluorescent¹³⁸

Cette technique possède le potentiel de guider en temps réel les chirurgiens en utilisant la fluorescence dans la fenêtre PIR, c'est-à-dire entre 600 et 1000 nm. Dans cette fenêtre, la majorité des biomolécules absorbent peu la lumière, et l'autofluorescence des tissus est relativement basse. Ainsi, la pénétration des photons dans le tissu est élevée, ce qui permet d'avoir un fort ratio signal sur bruit grâce au fluorophore PIR. Des systèmes d'imagerie sont déjà actuellement disponibles mais le développement de nouveaux fluorophores PIR reste difficile et lent. En effet, une absorption vers 700 nm nécessite la présence d'au moins 7 doubles liaisons sans compter l'influence des substituants. De plus, l'ajout de doubles liaisons augmente l'hydrophobie du fluorophore, ce qui peut poser problème *in vivo* lors du passage des barrières hémato-encéphalique et hémato-nerveuse, et diminuer la spécificité de l'assimilation dans les tissus ou organes ciblés. Les deux seuls fluorophores PIR approuvés

¹³⁴ M. R. Bani, M. P. Lux, K. Heusinger, E. Wenkel, A. Magener, R. Schulz-Wendtland, M. W. Beckmann, A. P. Fasching, *Eur. J. Surg. Oncol.*, **2009**, *35*, 32-37

¹³⁵ D. E. Schiller, L. W. Le, B. C. Cho, B. J. Youngson, D. R. McCready, *Ann. Surg. Oncol.*, **2007**, *15*, 833-842

¹³⁶ I. Besana-Ciani, M. J. Greenall, *Int. Semin. Surg. Oncol.*, **2008**, *5*, 13

¹³⁷ S. Gioux, H. S. Choi, J. V. Frangioni, *Molecular Imaging*, **2010**, *9*, 237-255

¹³⁸ M. Herranz, A. Ruibal, *J. Oncol.*, **2012**, *863747*, 1-10

actuellement pour des essais cliniques sont le bleu de méthylène et le vert d'indocyanine (ICG) (Figure 29).

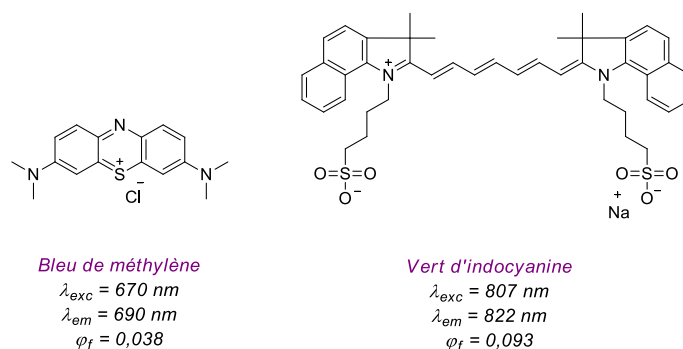


Figure 29 : Structures et propriétés du bleu de méthylène et du vert d'indocyanine

Le bleu de méthylène est un dérivé phénothiazine hydrophile émettant vers 700 nm qui fournit des images pour l'identification d'uretères¹³⁹ et du canal biliaire extrahépatique¹⁴⁰ et la détection de tumeurs neuroendocrines comme l'insulinome.¹⁴¹ Le vert d'indocyanine est un indocyanine heptaméthine disulfoné et émet vers 800 nm. Il est utile pour l'angiographie PIR de vaisseaux sanguins¹⁴² et l'identification du canal biliaire extrahépatique¹⁴⁰ et de métastases du foie.¹⁴³ Il est à noter que le vert d'indocyanine a également été utilisé pour la première fois dans le cas du cancer du sein. Une augmentation marquée de l'absorption dans les tumeurs malignes a été observée grâce à l'accumulation de cet agent fluorescent dans l'étude *in vivo* de l'équipe de Yodh.¹⁴⁴ Une accumulation d'ICG a pu être remarquée dans la poitrine dans trois cas de patientes atteintes du cancer du sein (Figure 30).

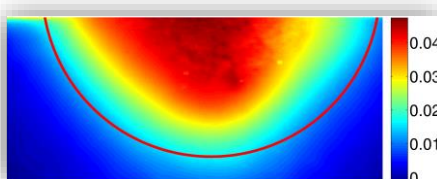


Figure 30 : Image de tomographie optique diffuse par fluorescence d'un cancer du sein avec l'accumulation d'ICG¹⁴⁴

Des agents de contraste fluorescents peuvent donc potentiellement être utilisés comme agents théranostiques, combinant le diagnostic et la thérapie.

b) Exemples de sondes fluorescentes ciblant le cancer du sein

Les protéases jouent un rôle critique dans la formation de tumeurs et l'infiltration locale et métastatique de tumeurs. Dans le cas du cancer du sein, les hauts niveaux d'expression de protéases

¹³⁹ A. Matsui, E. Tanaka, H. S. Choi, V. Kianzad, S. Gioux, S. J. Lomnes, J. V. Frangioni, *Surgery*, **2010**, 148, 78-86

¹⁴⁰ A. Matsui, E. Tanaka, H. S. Choi, J. H. Winer, V. Kianzad, S. Gioux, R. G. Laurence, J. V. Frangioni, *Surgery*, **2010**, 148, 87-95

¹⁴¹ J. H. Winer, H. S. Choi, S. L. Gibbs-Strauss, Y. Ashitate, Y. L. Colson, J. V. Frangioni, *Ann. Surg. Oncol.*, **2010**, 17, 1094-1100

¹⁴² A. Matsui, B. T. Lee, J. H. Winer, C. S. Vooght, R. G. Laurence, J. V. Frangioni, *Plast. Reconstr. Surg.*, **2009**, 123, 125e-127e

¹⁴³ T. Aoki, D. Yasuda, Y. Shimizu, M. Odaira, T. Niiya, T. Kusano, K. Mitamura, K. Hayashi, N. Murai, T. Koizumi, H. Kato, Y. Enami, M. Miwa, M. Kusano, *World J. Surg.*, **2008**, 32, 1763-1767

¹⁴⁴ A. Corlu, R. Choe, T. Durduran, M. A. Rosen, M. Schweiger, S. R. Arridge, M. D. Schnall, A. G. Yodh, *Optics Express*, **2007**, 15, 6696-6716

thiols, comme la cathepsine B, sont liés à l'agressivité des tumeurs.¹⁴⁵ L'équipe de Heindel¹⁴⁶ s'est donc intéressée au développement d'une sonde de détection de protéase fluorescente pour détecter le cancer du sein dans un modèle de tumeur spontanée chez la souris. Cette équipe s'est servie de la sonde de détection de la cathepsine **141** synthétisée par l'équipe de Weissleder¹⁴⁷ constituée d'un copolymère de L-lysine. Celle-ci est activée par un clivage enzymatique au niveau des lysines non protégées. La fluorescence émise est alors détectée par Fluorescence Reflectance Imaging (FRI) dans le PIR avec une longueur d'onde d'excitation de 675 nm et une longueur d'onde d'émission de 694 nm. La fluorescence des tumeurs s'est révélée bien plus élevée par rapport au bruit de fond, ce qui a permis de délimiter clairement les nodules de tumeurs (Figure 31A). De plus, la différenciation de tumeurs a pu être effectuée.¹⁴⁸ Sur une même souris ont été greffées deux tumeurs d'agressivités différentes et une différence dans les fluorescences de chaque tumeur a pu être observée (Figure 31B).

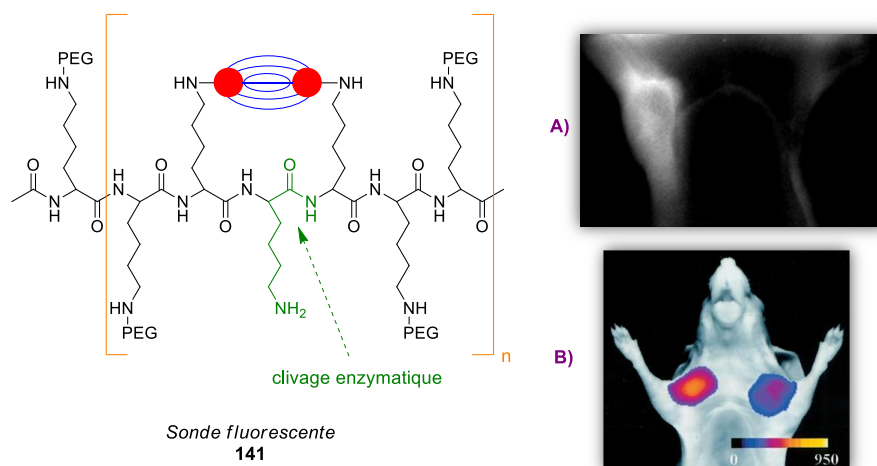


Figure 31 : Images FRI dans le PIR de tumeurs des glandes mammaires chez la souris après injection de la sonde fluorescente **141**^{146,148}

Les cancers du sein peuvent aussi être liés aux récepteurs de l'EGF (facteur de croissance épidermique) tels que le récepteur de HER-2/neu. Cette protéine et son récepteur sont surexprimés dans 25 à 30% des tumeurs du sein.¹⁴⁹ L'équipe de Kaiser¹⁵⁰ a donc proposé une détection *in vivo* non-invasive par imagerie de fluorescence PIR des tumeurs surexprimant les protéines HER-2/neu. Pour cela, l'Herceptin®, un anticorps utilisé pour traiter le cancer du sein métastatique¹⁵¹, a été marqué avec un colorant cyanine, connu pour leurs maximums d'absorbance et de fluorescence dans la région PIR. Après l'avoir injecté dans des souris, une différence de signal entre les tumeurs surexprimant HER-2/neu et les normales a été observée. De ce fait, l'emploi de l'Herceptin® pourrait être étendu au diagnostic et au suivi thérapeutique.

¹⁴⁵ T. M. Maguire, S. G. Shering, C. M. Duggan, E. W. McDermott, N. J. O'Higgins, M. J. Duffy, *Int. J. Biol. Markers*, **1998**, 13, 139-144

¹⁴⁶ C. Bremer, V. Ntziachristos, B. Weitkamp, G. Theilmeier, W. Heindel, R. Weissleder, *Invest. Radiol.*, **2005**, 40, 321-327

¹⁴⁷ R. Weissleder, C.-H. Tung, U. Mahmood, A. Bogdanov Jr., *Nat. Biotechnol.*, **1999**, 17, 375-378

¹⁴⁸ C. Bremer, C.-H. Tung, A. Bogdanov Jr., R. Weissleder, *Radiology*, **2002**, 222, 814-818

¹⁴⁹ D. Slamon, G. M. Clark, S. G. Wong, W. J. Levin, A. Ullrich, W. L. McGuire, *Science*, **1987**, 235, 177-182

¹⁵⁰ I. Hilger, Y. Leistner, A. Berndt, C. Fritsche, K. M. Haas, H. Kosmehl, W. A. Kaiser, *Eur. Radiol.*, **2004**, 14, 1124-1129

¹⁵¹ C. McNeil, *J. Natl. Cancer Inst.*, **2000**, 92, 683-684

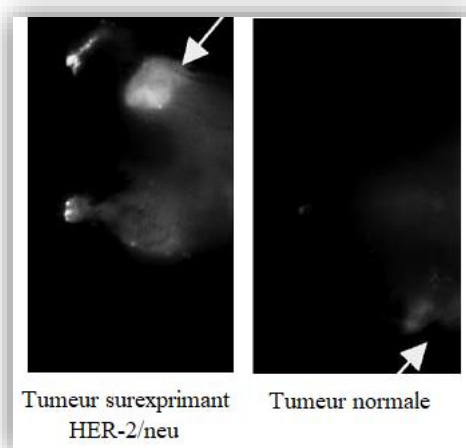


Figure 32 : Images de fluorescence PIR de souris porteuses de tumeurs différentes après injection d'une sonde à base d'Herceptin^{®150}

Une autre équipe s'est intéressée à la détection des récepteurs d'EGF. Pour cela, Li *et al*¹⁵² ont synthétisé une sonde fluorescente composée d'EGF couplée au colorant cyanine Cy5.5 : (EGF)-Cy5.5. La conjugaison de l'EGF avec la Cy5.5 n'a pas affecté les propriétés optiques associées à la cyanine, la sonde et le Cy5.5 présentant des spectres d'absorbance et d'émission similaires. Par des études *in vitro* sur des cellules humaines du cancer du sein, il a été montré que cette sonde se liait aux cellules tumorales exprimant des récepteurs d'EGF et non à celles n'exprimant pas ces récepteurs. De plus, la liaison de la sonde avec les cellules tumorales a été empêchée lorsque ces dernières ont préalablement été traitées avec l'anticorps C225 ou avec l'EGF lui-même. Ceci a été confirmé par des études *in vivo* sur des souris greffées avec ces cellules tumorales. En effet, la fluorescence liée à la sonde (EGF)-Cy5.5 a été visible seulement dans les tumeurs exprimant les récepteurs (Figure 33). La sonde (EGF)-Cy5.5 s'est donc accumulée spécifiquement dans les récepteurs d'EGF, et s'est révélée être un potentiel agent de contraste pour l'imagerie non-invasive de l'expression des récepteurs d'EGF et le suivi thérapeutique.

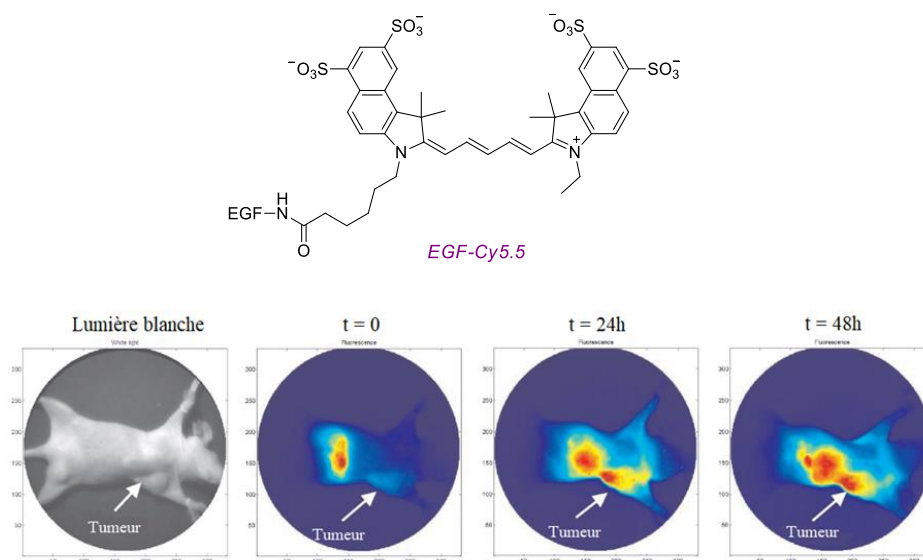


Figure 33 : Images de fluorescence PIR d'une souris porteuse de tumeurs exprimant les récepteurs EGF après injection de la sonde EGF-Cy5.5

¹⁵² S. Ke, X. Wen, M. Gurfinkel, C. Charnsangavej, S. Wallace, E. M. Sevik-Muraca, C. Li, *Cancer Research*, **2003**, 63, 7870-7875

Les ERs intervenant dans la majorité des cancers du sein, le développement de ligands des ER fluorescents est en plein essor, car ils pourraient être très utiles pour détecter les récepteurs. Plusieurs sondes ont déjà été décrites, notamment avec des colorants liés à l'EE **142**,¹⁵³ au 4-hydroxytamoxifène **143**¹⁵⁴ ou à un dérivé du cyclofénil **144**,¹⁵⁵ des ligands efficaces des ERs (Figure 34). Malheureusement, leurs affinités aux ERs se sont révélées moins élevées que celles des ligands naturels.

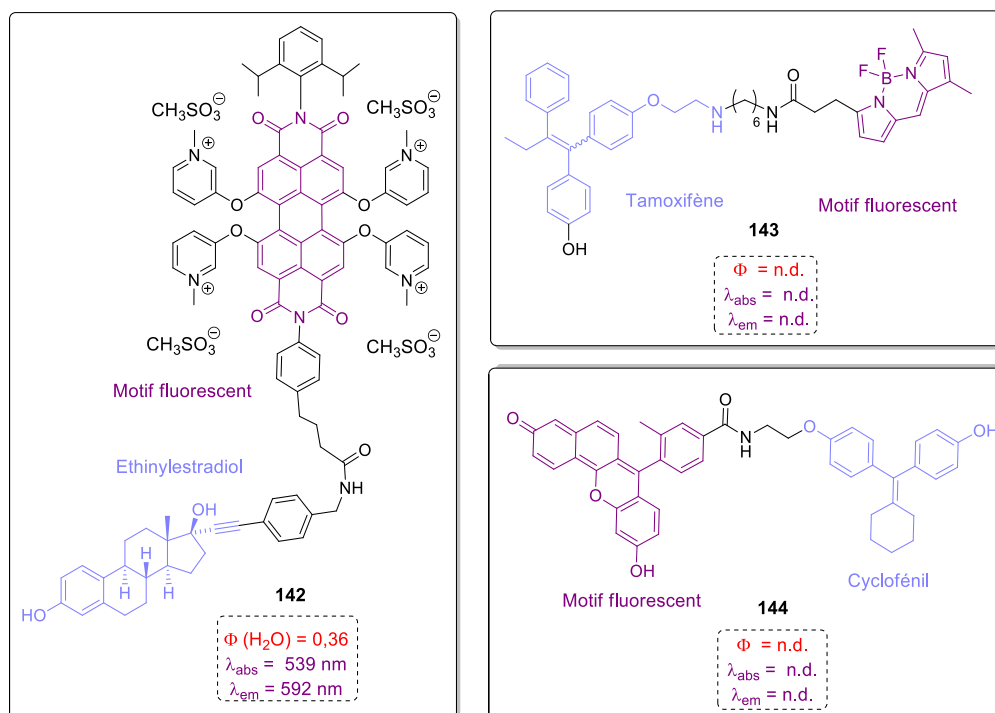


Figure 34 : Sondes fluorescentes avec différents ligands des ER et colorants

L'équipe de Seitz¹⁵⁶ a donc relevé le défi de concevoir des ligands fluorescents présentant une bonne affinité aux ERs. Un second site de liaison hydrophobe existant dans chaque monomère d'ER, il a été envisagé d'avoir une interaction entre des ligands ER hydrophobes et ce site de liaison supplémentaire. Des groupements hydrophobes ont été couplés à des ligands ER connus avec des rendements allant de 55 à 71% et leurs affinités de liaison relatives par rapport à l'œstradiol ont été déterminées. Ainsi, lors de cette étude, des dérivés de raloxifène couplés à différentes cyanines se sont révélés beaucoup plus efficaces que le raloxifène libre, certains conjugués ayant même une affinité supérieure à l'œstradiol. Un docking dans le site de liaison de l'ERα a été réalisé, montrant la possible interaction entre la cyanine et le site de liaison hydrophobe (en bleu) (Figure 35). La microscopie de fluorescence montre également pour un des conjugués un haut niveau de contraste dans des cellules contenant des ERs. Il a donc été montré que le marquage fluorescent de ligands avec des colorants hydrophobes et des espaceurs courts permettait d'atteindre de bonnes affinités dans certains cas.

¹⁵³ F. J. Cespedes-Guirao, A. B. Ropero, E. Font-Sanchis, Á. Nadal, F. Fernández-Lázaro, Á. Sastre-Santos, *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 8307-8309

¹⁵⁴ E. L. Rickert, S. Oriana, C. Hartman-Frey, X. Long, T. T. Webb, K. P. Nephew, R. V. Weatherman, *Bioconjugate Chem.*, **2010**, 21, 903-910

¹⁵⁵ S. H. Kim, J. R. Gunther, J. A. Katzenellenbogen, *Org. Lett.*, **2008**, 10, 4931-4934

¹⁵⁶ F. Abendroth, M. Solleder, D. Mangoldt, P. Welker, K. Licha, M. Weber, O. Seitz, *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, 2157-2166

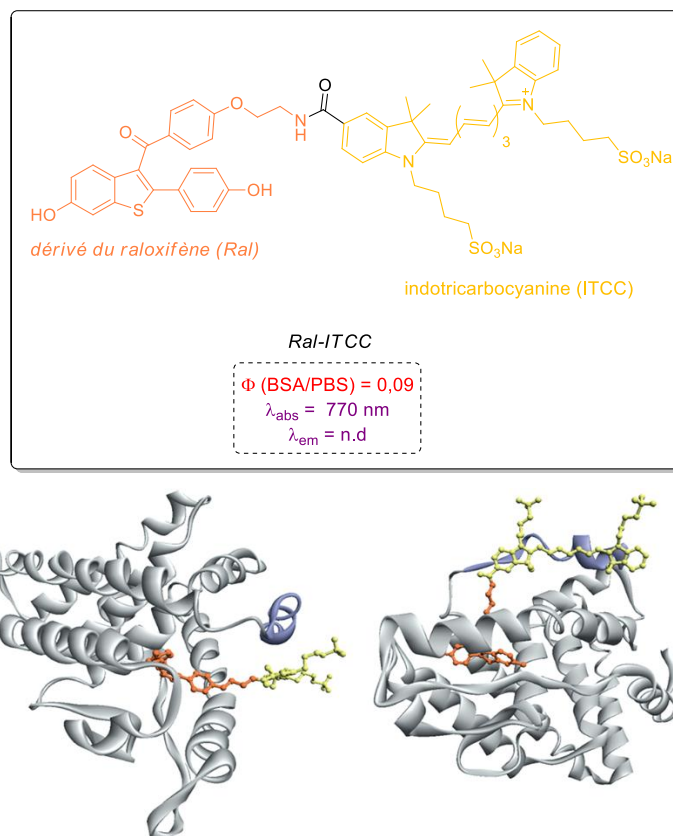


Figure 35 : Docking d'un exemple d'un SERM couplé à un marqueur fluorescent dans un ER α

En ce qui concerne le marquage fluorescent de l'œstradiol, de nombreux essais ont été réalisés de 1995 à aujourd'hui.¹⁵⁷ Toutes ces tentatives ont permis de déterminer les potentiels sites de liaisons affectant peu l'affinité pour les ERs. Par exemple, la substitution en position 6 entraîne une baisse d'affinité et de sélectivité, alors qu'elle est très bien tolérée en positions 7 α et 17 α . L'introduction de fluorophores par la position 16 conduit également à une baisse de l'affinité de liaison. La position 11 β est celle présentant le meilleur potentiel (Figure 36). Mais peu de ligands ont à ce jour été testés en imagerie *in vivo* pour la détection de tumeurs du cancer du sein.

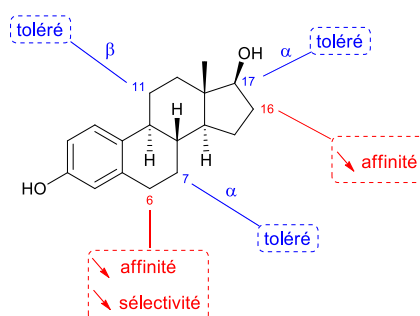


Figure 36 : Influence des différents sites de liaison de l'œstradiol

L'équipe de Tian¹⁵⁸ a récemment réussi à développer une sonde fluorescente PIR **148** sensible et efficace pour visualiser les tumeurs ER+ *in vivo* sur des souris. Elle est constituée d'œstradiol couplé au colorant IRDye800CW. Pour la synthétiser, une réaction de chimie click a d'abord été effectuée entre l'éthinyloestradiol **140** et l'azoture **146** préparé à partir de la 3-chloropropylamine **145**. Ensuite, le

¹⁵⁷ N. Gajadeera, R. N. Hanson, *Steroids*, **2019**, *144*, 30-46

¹⁵⁸ C. Tang, Y. Du, Q. Liang, Z. Cheng, J. Tian, *Mol. Pharmaceutics*, **2018**, *15*, 4702-4709

composé ainsi obtenu **147** a été mis en présence de l'ester du IRDye800CW activé par le NHS et de triéthylamine pour former la sonde fluorescente IRDye800CW-E₂ **148** (Schéma 80).

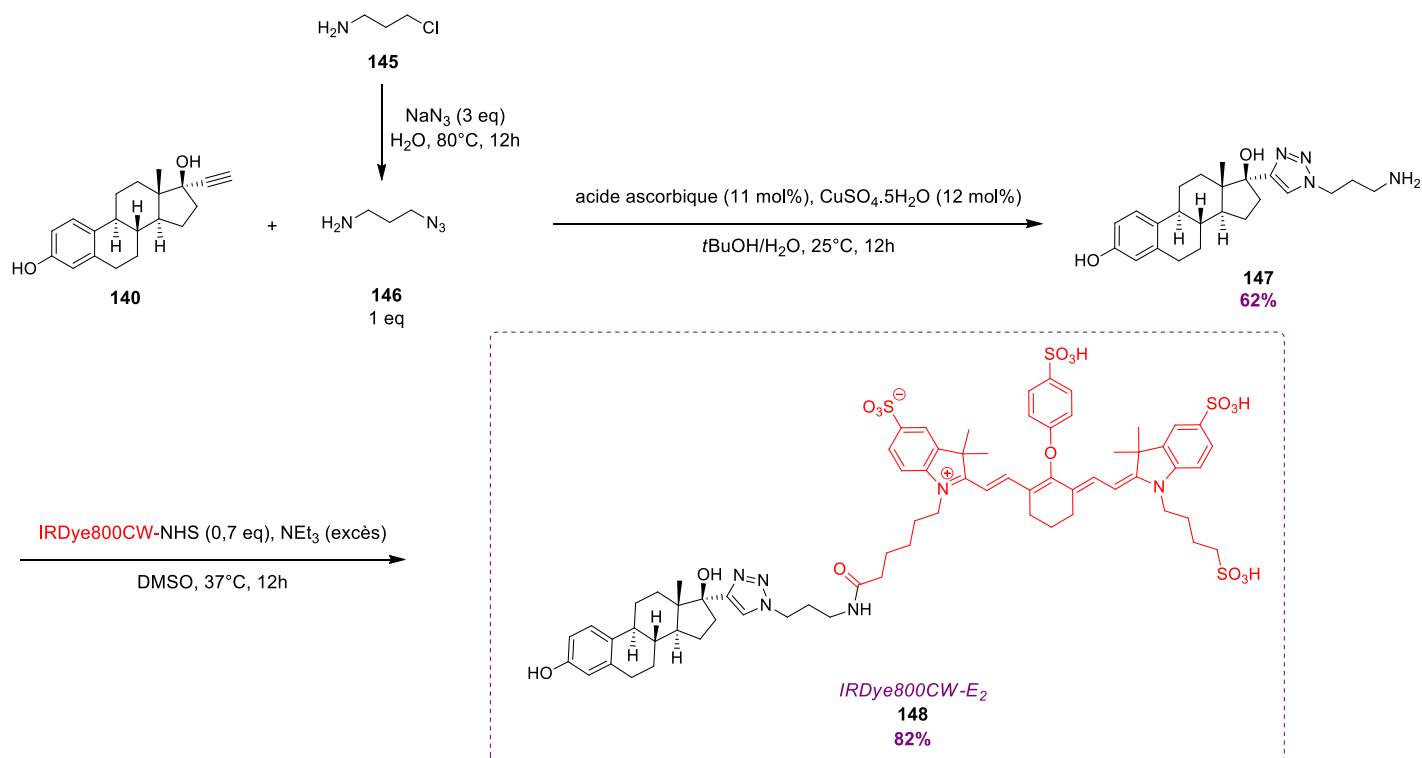


Schéma 80 : Synthèse de la sonde fluorescente IRDye800CW-E₂ **148**

La comparaison de l'affinité de liaison avec les ERs entre la sonde IRDye800CW-E₂ et l'éthinylœstradiol a montré une amélioration de l'affinité de liaison avec les ER α pour ce nouveau ligand fluorescent. En plus de cela, il s'est révélé plus sélectif en faveur des ER α . Encouragés par ces résultats, les chercheurs ont testé cette sonde en imagerie PIR *in vivo* sur des souris greffées avec des tumeurs du cancer du sein humaines. L'IRDye800CW-E₂ a très rapidement ciblé la zone des tumeurs avec des signaux de fluorescence détectés au bout de 4h (Figure 37), confirmant également sa spécificité des ER α . Des signaux de fluorescence ont aussi montré qu'elle était éliminée à travers le foie et les reins. Cette nouvelle sonde s'est donc comporté comme un potentiel outil pour l'imagerie par fluorescence PIR des tumeurs ER+ afin d'offrir un diagnostic précoce du cancer du sein.

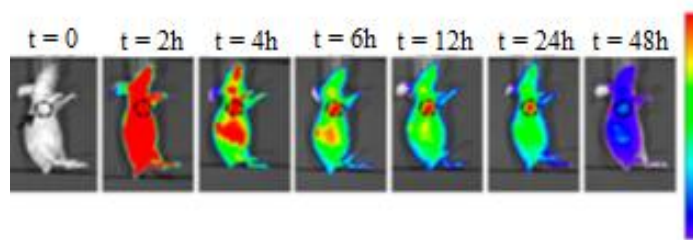


Figure 37 : Images de fluorescence PIR de souris porteuses de tumeurs ER+ après injection de la sonde IRDye800CW-E₂

Divers colorants ont ainsi été couplés à des ligands spécifiques pour cibler le cancer du sein, le défi étant de réussir à garder une bonne affinité de liaison. Pour cela, il a pu être constaté que l'introduction de groupements hydrophobes était importante. Le motif BODIPY a de ce fait également été étudié pour le couplage avec des dérivés d'œstradiol.

c) Synthèses de sondes fluorescentes à base de BODIPY

Il existe plusieurs exemples de conjugaison de BODIPY à des stéroïdes en différentes positions pour l'imagerie du cancer du sein. De nombreuses structures à base de BODIPY couplé à des dérivés d'œstradiol ont été développées, mais peu ont été évalués biologiquement. L'équipe de van Lier, notamment, en a synthétisé plusieurs afin d'identifier les relations structure-activité.¹⁵⁹

Dans un premier temps, des couplages de Sonogashira ont été effectués entre des dérivés d'éthinylœstradiol et des BODIPY iodés à différents endroits. Cinq potentielles sondes fluorescentes ont ainsi pu être formées avec de bons rendements allant de 70 à 81%. D'une part, l'éthinylœstradiol **140** et le dérivé **149** ont été couplés au niveau du phényle en position *méso* du BODIPY tétraméthyle **150** pour obtenir les sondes **151** et **152** avec des rendements de 86% et 53% respectivement. Un BODIPY dibromé **153** a également été couplé à l'éthinylœstradiol **140** de façon similaire pour former la sonde **154** avec un rendement de 70%. Le BODIPY **155** iodé en position 2 a pu être couplé à l'éthinylœstradiol pour obtenir la sonde **156** avec un bon rendement de 81%. Enfin, un BODIPY plus complexe **157** étant monosubstitué en α par une amine styryle a été couplé avec succès en position *méso* à l'éthinylœstradiol **140** pour former la dernière sonde **158** avec un rendement de 71% (Schéma 81).

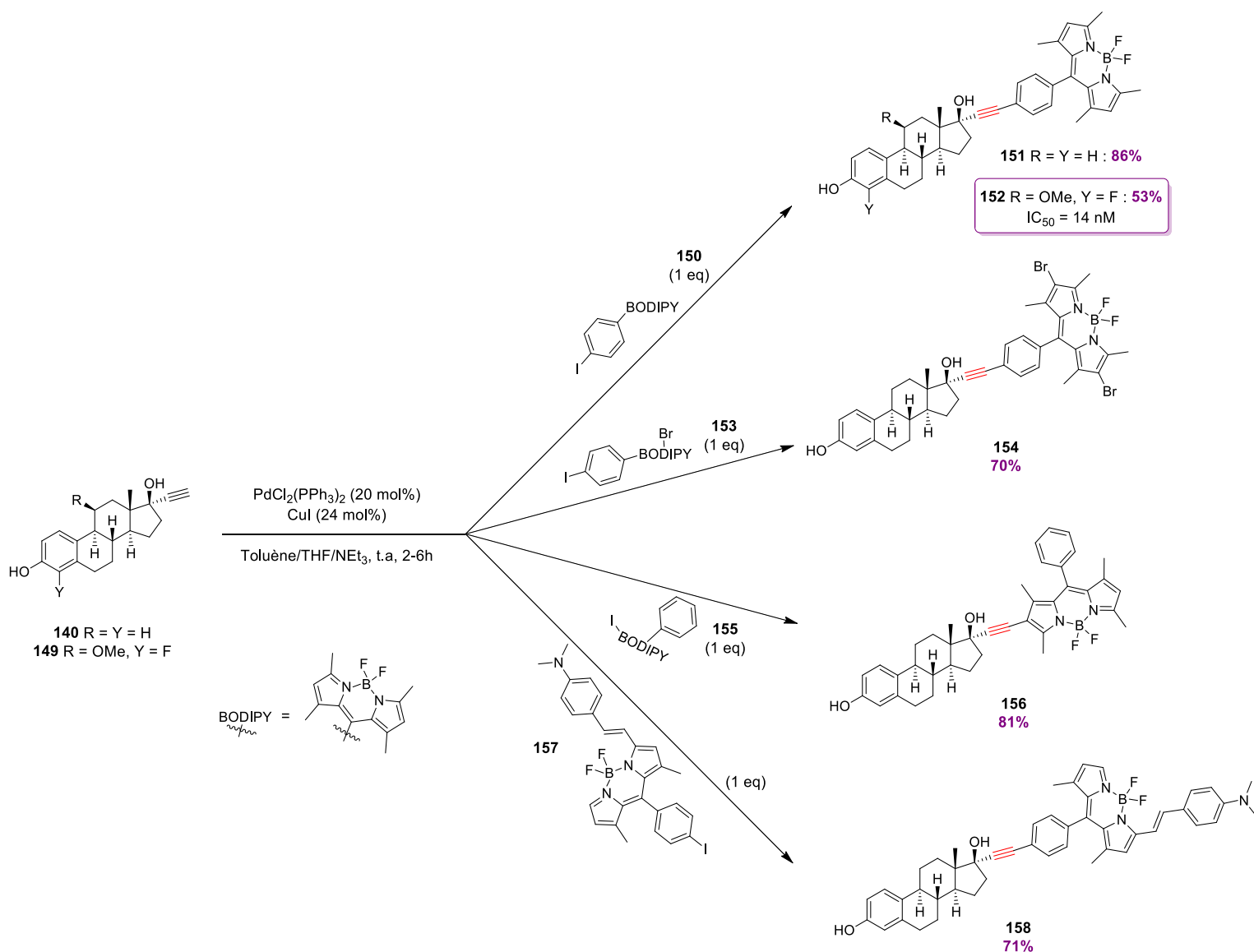
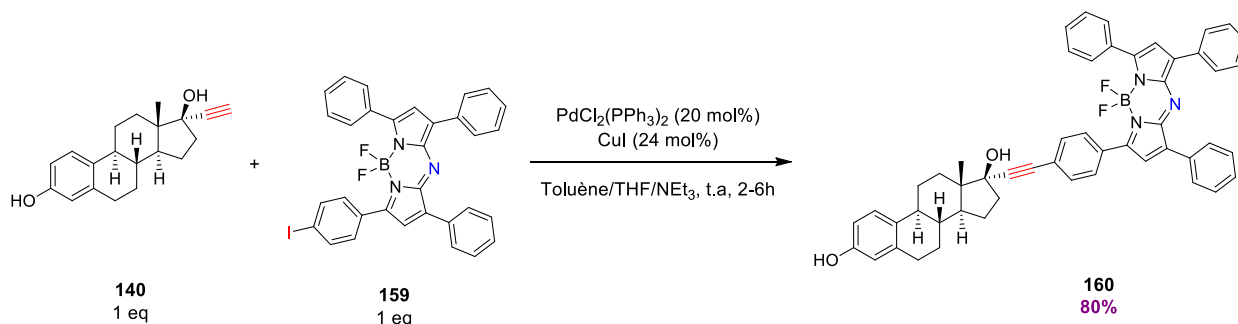


Schéma 81 : Couplages de Sonogashira entre des dérivés d'éthinylœstradiol et différents BODIPY

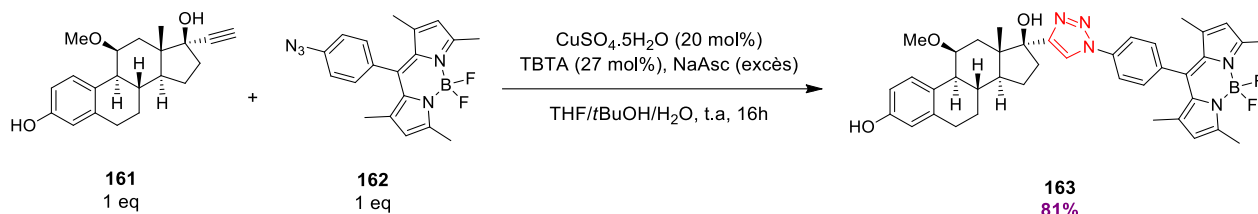
¹⁵⁹ S. Osati, H. Ali, B. Guerin, J. E. van Lier, *Steroids*, **2017**, 123, 27-36

Des tests d'affinité *in vitro* ont été réalisés avec les sondes **151** et **152**.¹⁶⁰ Malheureusement, aucune liaison avec le récepteur ER α n'a été observée avec la sonde **151**. En revanche, la présence du substituant méthoxy en position 11 β et de l'atome de fluor en position 4 de la sonde **152** a permis d'obtenir une affinité avec le récepteur, et une concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) de 14 nM a été déterminée.

Une stratégie pour déplacer les longueurs d'onde du BODIPY vers le rouge consiste à insérer un atome d'azote en position *méso* pour former un aza-BODIPY. Le couplage de Sonogashira a donc aussi été effectué entre l'éthinylœstradiol **140** et l'aza-BODIPY tétraphénylé **159** pour obtenir la nouvelle molécule **160** avec un très bon rendement de 80% (Schéma 82).



De plus, sachant que la substitution en position 11 β peut favoriser l'affinité de liaison avec les récepteurs, le moxestrol **161** a été conjugué avec le BODIPY azoture **162** selon les conditions de CuAAC en présence du ligand TBTA pour stabiliser le Cu(I) (Schéma 83).



Dans cette même étude d'affinités, un des composés synthétisés a montré une affinité de liaison significative avec le récepteur ER α . Il s'agit du BODIPY **165** relié à l'éthinylœstradiol par un espaceur linéaire plus long qui a montré une IC₅₀ de 47 nM (Schéma 84). Bien que son affinité de liaison reste largement inférieure à celle de l'œstradiol, elle n'en est pas moins assez conséquente pour imaginer sa potentielle utilisation en tant que traceur fluorescent pour le cancer du sein.

¹⁶⁰ S. Osati, H. Ali, F. Marques, M. Paquette, S. Beaudoin, B. Guerin, J. V. Leyton, J. E. van Lier, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2017**, 27, 443-446

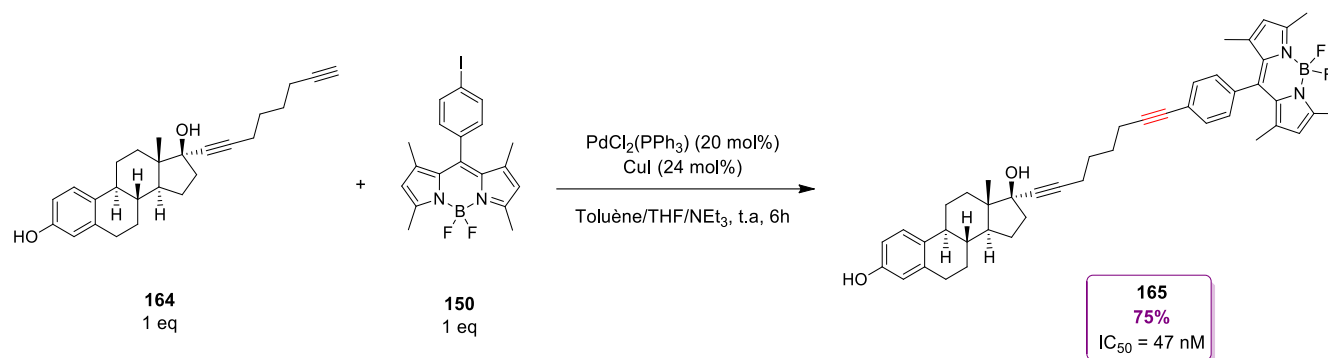


Schéma 84 : Couplage de Sonogashira entre le dérivé œstradiol **164** et le BODIPY tétraméthylé **150**

Après avoir obtenu toutes ces molécules, leurs spectres d'absorption ont été comparés. Le bioconjugué **156** n'a montré aucune bande d'absorption dans l'UV-visible. Les sondes **151** et **152** ont montré une bande d'absorption maximum à 502 nm. Un décalage de 28 nm vers le rouge a été observé lorsque le BODIPY était dibromé avec la molécule **154**. Un plus grand décalage a été remarqué vers le rouge avec le BODIPY **158** monosubstitué en α par une amine styryle avec une large bande d'absorption maximum à 598 nm. Il n'a pas été représenté ici, mais une seconde substitution avec l'amine styryle a résulté en un décalage de plus de 100 nm avec une bande d'absorption maximum à 704 nm. Enfin, parmi les composés présentés, celui avec la longueur d'onde d'absorption maximum la plus élevée était l'aza-BODIPY **160** avec une valeur de 658 nm, ce qui correspond à un décalage de 156 nm par rapport au premier bioconjugué **151**.

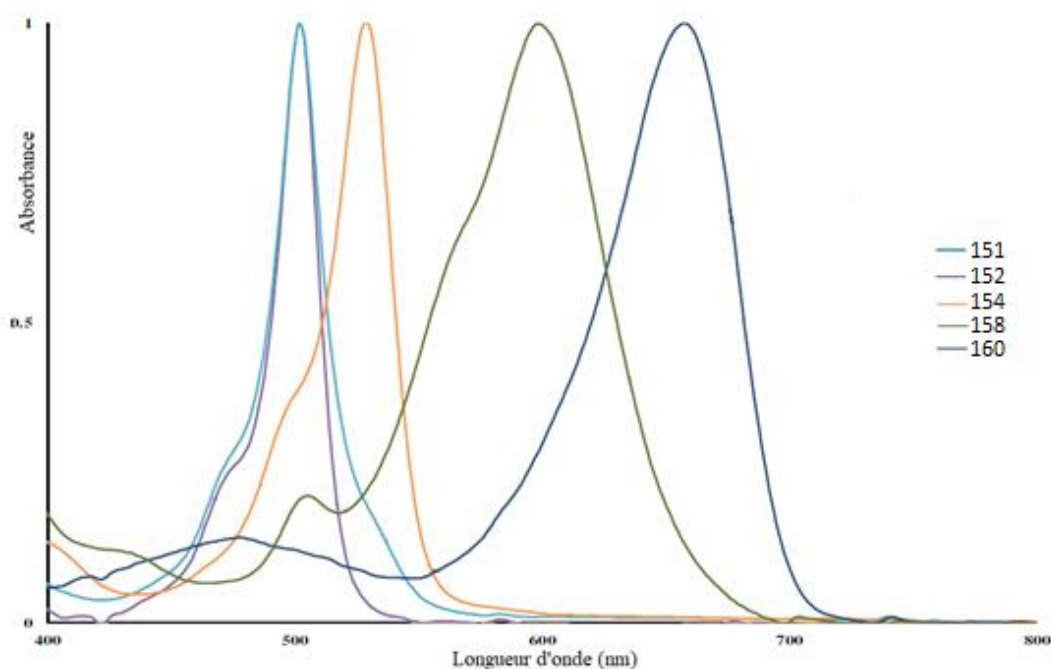


Figure 38 : Spectres d'absorption des différents bioconjugués

Pour conclure, cette équipe a pu synthétiser divers bioconjugués fluorescents avec des propriétés spectroscopiques différentes qui pourraient avoir un intérêt en imagerie optique. Pour cela, des études biologiques sont en cours.

En outre, l'équipe de Shimizu¹⁶¹ a montré que la substitution en position 7 α de l'œstradiol affectait peu l'affinité de liaison. Le couplage d'un BODIPY avec l'œstradiol dans cette position a donc pu être réalisé avec une longue chaîne carbonée en tant qu'espaceur. Les produits de départ **166** et **167** ont

¹⁶¹ M. Okamoto, S. Kobayashi, H. Ikeuchi, S. Yamada, K. Yamanouchi, K. Nagasawa, S. Maekawa, T. Kato, I. Shimizu, *Steroids*, **2012**, 77, 845-849

précédemment été décrits dans la littérature^{162,163} et ont été couplés par métathèse d'oléfines en employant le catalyseur de Grubbs de seconde génération pour obtenir la sonde **168** avec un rendement de 44% (Schéma 85).

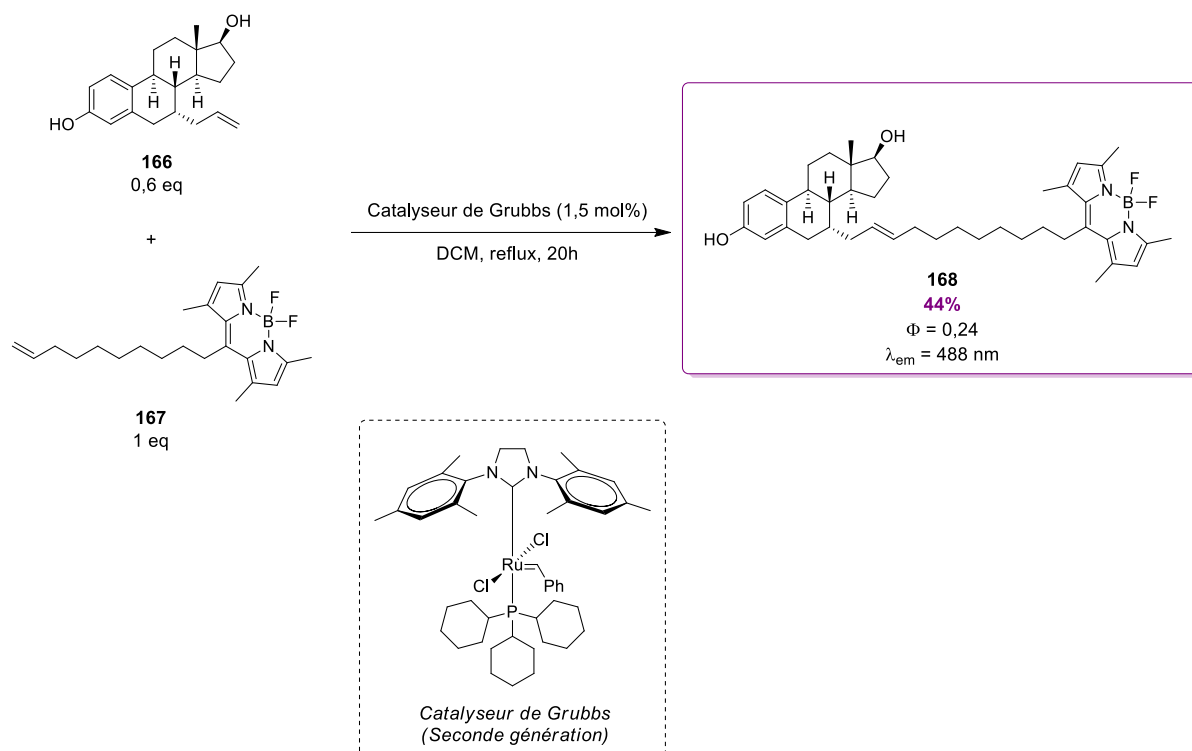


Schéma 85 : Métathèse entre le 7α-allylœstradiol **166** et le 9-décényl-BODIPY **167**

L'activité biologique de ce nouveau ligand fluorescent **168** a été comparée avec l'œstradiol dans l'utérus de rates et il s'est avéré qu'ils avaient le même comportement. Les chercheurs ont pu également observer une fluorescence localisée dans les noyaux cellulaires de l'épithélium de l'utérus. Cette sonde a stimulé la prolifération cellulaire en fonction de la dose injectée dans des cellules tumorales mammaires, ce qui démontre son activité œstrogénique. Son affinité de liaison avec les ERs en comparaison avec l'œstradiol est restée relativement bonne. De plus, elle n'a présenté aucune toxicité. Des études sont encore en cours pour analyser sa sélectivité pour l'ERα, mais cette sonde semble être un bon candidat pour l'imagerie par fluorescence *in vivo* de tumeurs ER+.

Pour finir, l'équipe de Çoşut¹⁶⁴ s'est intéressée à la substitution de l'éthinyloœstradiol **140** en position 17α par deux BODIPY différents, d'une part le BODIPY tétraméthylé **169**, d'autre part le BODIPY **172** avec plusieurs chaînes PEG substituées en α. Le BODIPY de départ **169** avec la fonction azoture a été synthétisé selon la méthode classique à partir de l'aldéhyde correspondant.¹⁶⁵ La première sonde **170** a été formée par une réaction de CuAAC entre ce BODIPY **169** et l'éthinyloœstradiol **140** avec un rendement moyen de 48%. Ses propriétés spectroscopiques étaient similaires aux BODIPY classiques avec des longueurs d'onde d'absorption et d'émission maximums de 500 et 508 nm respectivement. Son rendement quantique de fluorescence est resté correct avec une valeur de 0,45. Quant à la synthèse de la deuxième sonde **173**, le BODIPY de départ **169** a d'abord été soumis à une condensation de Knoevenagel avec le benzaldéhyde **171** portant des chaînes PEG pour apporter une meilleure solubilité dans l'eau. Ce benzaldéhyde **171** a été formé au préalable selon une méthode décrite dans la littérature.¹⁶⁶ Le nouveau BODIPY **172** a ainsi été obtenu avec un rendement moyen de

¹⁶² M. B. Skaddan, F. R. Wüst, J. A. Katzenellenbogen, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 8108-8121

¹⁶³ C. Peters, A. Billich, M. Ghobrial, K. Högenauer, T. Ullrich, P. Nussbaumer, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 1842-1845

¹⁶⁴ H. H. Kazan, E. Özcan, E. T. Eçik, B. Çoşut, *ChemistrySelect*, **2018**, *3*, 2962-2967

¹⁶⁵ E. T. Eçik, E. Şenkuytu, Z. Cebesoy, G. Y. Çiftçi, *RSC Adv.*, **2016**, *6*, 47600-47606

¹⁶⁶ S. Atilgan, Z. Ekmekci, A. L. Dogan, D. Gucb, E. U. Akkaya, *Chem. Commun.*, **2006**, *42*, 4398-4400

44%. Ensuite, il a été couplé avec l'éthinylestradiol **140** de la même façon que la première sonde **170** pour mener à la deuxième sonde **173** avec un rendement moyen de 40%. Concernant ses propriétés spectroscopiques, un déplacement de l'absorption vers le rouge a été observé, comme attendu par l'extension de la conjugaison du système BODIPY. Cette nouvelle sonde **173** absorbait à 640 nm et émettait à 650 nm avec un rendement quantique de fluorescence moins élevé de 0,27 (Schéma 86).

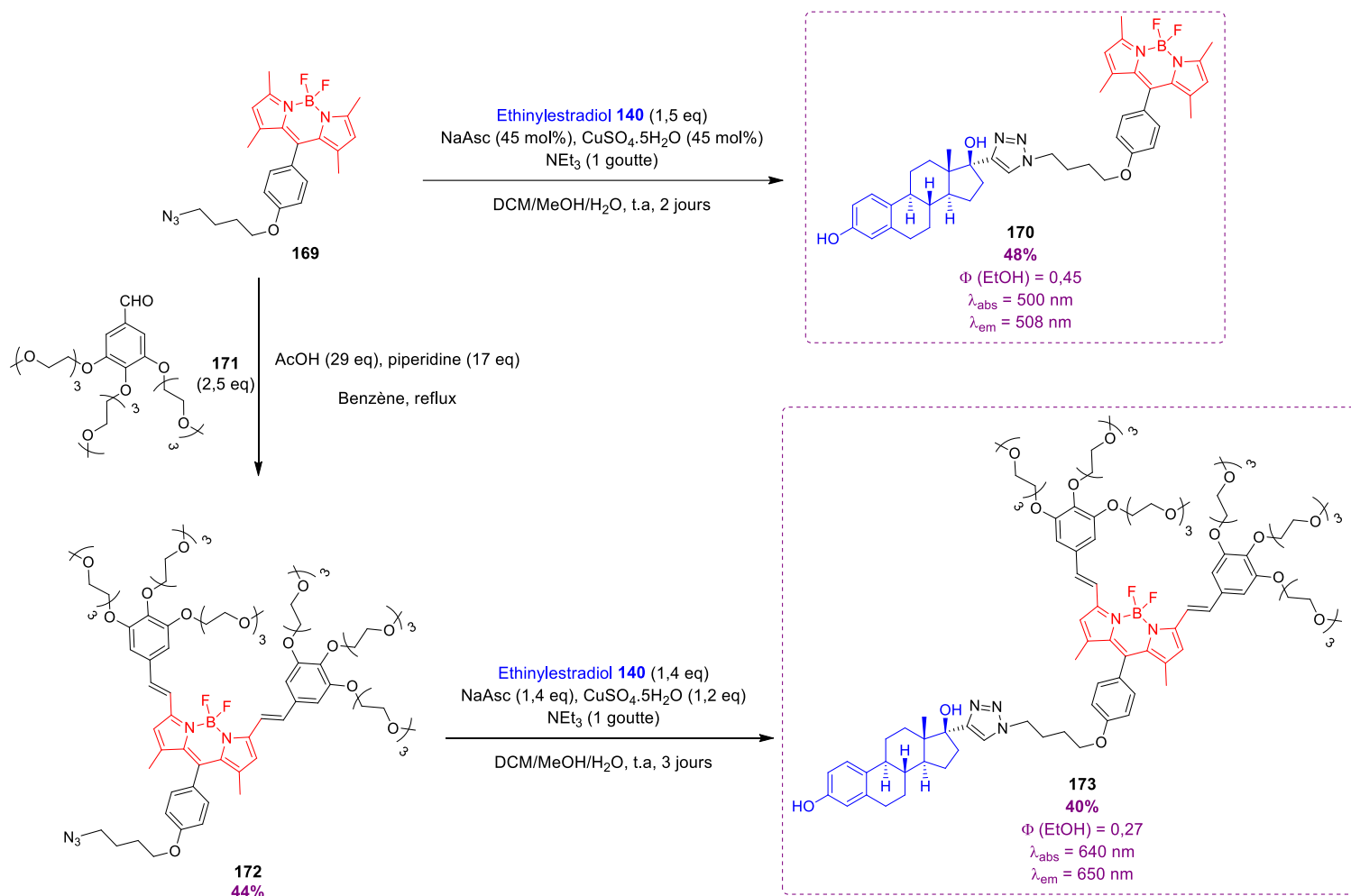


Schéma 86 : Synthèses de deux sondes fluorescentes **170** et **173** par substitution de l'éthinylestradiol **140** en position 17 α par deux BODIPY différents **169** et **172**

Ces deux sondes **170** et **173** ont ensuite été évaluées sur des cellules tumorales ER+ et ER-. Dans un premier temps, leur activité biologique s'est révélée similaire à celle de l'éthinylestradiol **140**, c'est-à-dire qu'elles participaient aussi à la prolifération cellulaire dans les tumeurs de type ER+. De plus, elles n'ont pas été toxiques pour les cellules, puis leur biodistribution a été comparée en observant les signaux de fluorescence dans les cellules tumorales ER+ et ER-. En ce qui concerne la première sonde **170**, les signaux de fluorescence intracellulaires ne se sont pas différenciés entre les deux types de cellules (Figure 39).

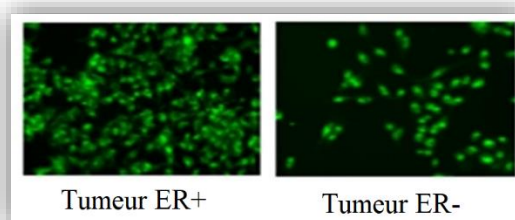


Figure 39 : Images par fluorescence de tumeurs ER+ et ER- après injection de la première sonde **170**

En revanche, la deuxième sonde **173** s'est révélée plus spécifique. En effet, ses signaux de fluorescence ont été plus intenses dans les cellules tumorales ER+ (Figure 40). Jusqu'à ce jour, il s'agit de la première sonde fluorescente capable de distinguer les sous-types du cancer du sein. En plus de cela, elle est soluble dans l'eau ce qui améliore sa biodisponibilité. Des études *in vivo* sont encore en cours.

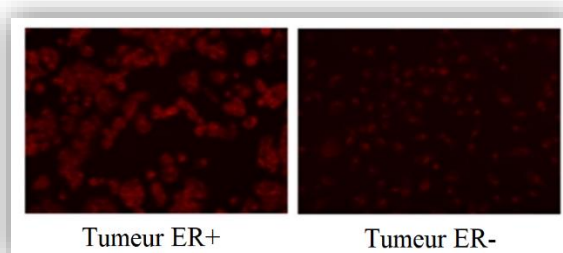


Figure 40 : Images par fluorescence de tumeurs ER+ et ER- après injection de la deuxième sonde **173**

Des développements sont toujours en cours pour améliorer la solubilité dans l'eau et l'affinité de liaison avec les ERs, et limiter les baisses d'affinités observées. Au vu des différentes études, l'espacement et le site de liaison du fluorophore sont donc des paramètres cruciaux.

B) Développement de nouveaux conjugués de l'œstradiol fluorescents et marquables au [¹⁴C]CO

Lors de l'opération de cancers, il est important d'identifier les contours des tumeurs et les petites métastases ainsi que le ganglion sentinelle dans le cas de certains cancers du sein. En effet, l'analyse du ganglion sentinelle au microscope permet d'adapter le traitement en fonction de la présence ou non de cellules cancéreuses. Or, l'identification peropératoire de ces tumeurs ou ganglions est complexe avec l'imagerie bimodale TEP/CT ou TEP/IRM, ce qui rend la résection de la masse tumorale difficile.

Pour remédier à ce problème, l'application de nouveaux systèmes TEP/IO a émergé dans le domaine du cancer du sein. Bien que l'IO ne possède qu'une pénétration de tissu limitée, elle permet de guider l'intervention chirurgicale en temps réel grâce à sa résolution spatiale et sa sensibilité favorables. De ce fait, le système combiné TEP/IO permet, dans un premier temps, d'identifier et de localiser les lésions tumorales dans le corps entier par un scan TEP. En suivant, l'imagerie optique peropératoire détermine les contours des tumeurs et les ganglions lymphatiques infectés. Cependant, afin de différencier les ganglions lymphatiques des tissus environnants ou d'identifier les ganglions infectés, il est nécessaire d'utiliser un agent spécifique de la tumeur.

Il a ainsi été envisagé pour cette partie des recherches d'utiliser les plateformes BODIPY-ABOI **91** et BODIPY-BzOI **111** et **115** synthétisées précédemment, et de les conjuguer avec une biomolécule de type œstradiol avec différents espaceurs afin d'obtenir de potentiels traceurs bimodaux spécifiques des ER. L'éthinylœstradiol a été choisie en tant que biomolécule pour cibler les récepteurs ER grâce à sa bonne affinité de liaison et la présence de la fonction alcyne, permettant la liaison avec différents espaceurs.

1) Synthèses des bioconjugués

a) Bioconjugaison de la plateforme BODIPY-ABOI **91** par réaction click

Dans un premier temps, la plateforme ABOI reliée à un BODIPY et portant une fonction alcyne **91** a été couplée avec l'éthinylœstradiol relié à un espaceur de chaînes PEG étant introduit afin de favoriser l'hydrophilie. Un premier potentiel traceur bimodal de type phtalide **174** serait donc obtenu après conjugaison par chimie click entre le BODIPY **91** et le partenaire azoture portant la biomolécule **175**, et carbonylation du motif ABOI (Schéma 87).

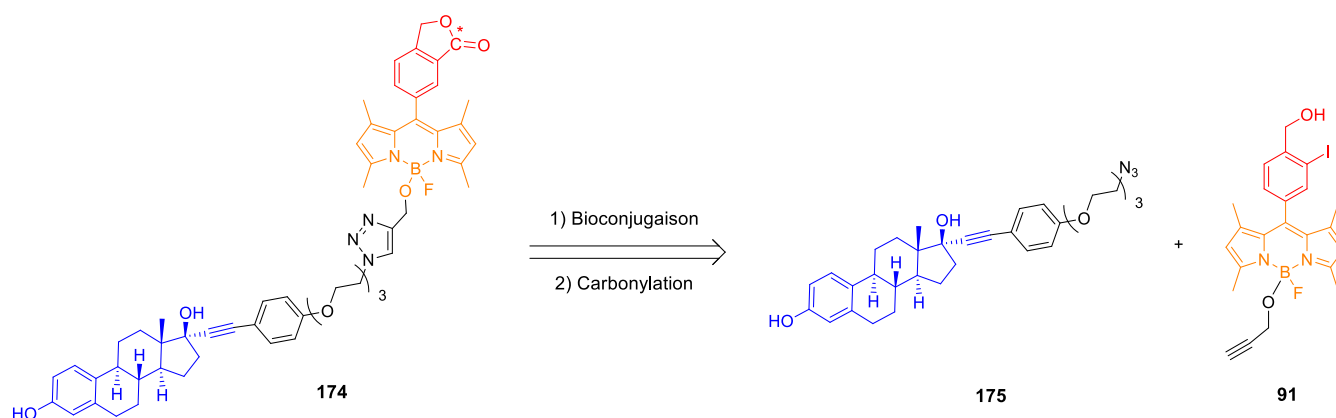


Schéma 87 : Rétrosynthèse du premier traceur bimodal phtalide **174**

En premier lieu, le partenaire azoture **175** constitué de la biomolécule et d'un espaceur a été conçu en synthétisant un espaceur de type PEG **178**, qui a été ensuite couplé à l'éthinylœstradiol **140**.

En utilisant les conditions de la littérature,¹⁶⁷ l'atome de chlore du monochlorure de triéthylène glycol **176** commercial a été remplacé par un azoture à l'aide d'azoture de sodium. Une conversion complète a été observée par RMN ¹H, et le brut réactionnel a été ensuite engagé dans l'étape de tosylation de la fonction alcool avec du chlorure de tosyloxy (*p*-TsCl) en présence de triméthylamine chlorhydratée et de triéthylamine. Le produit désiré **177** a été obtenu avec un très bon rendement de 86% sans purification. La suite de la synthèse a été décrite dans la thèse du Dr. Alexis Tabey.¹⁶⁸ Le tosylate a été substitué par le 4-iodophénol à l'aide de la base K₂CO₃ pour obtenir le composé iodé **178** avec un excellent rendement de 93% après colonne. Enfin, le couplage de Sonogashira entre ce produit **178** et l'éthinylestradiol **140** a été effectué en présence du système catalytique Pd(PPh₃)₄/CuI et de la base triéthylamine en excès. Le partenaire azoture final **175** a été obtenu avec un rendement correct de 62% après colonne (Schéma 88).

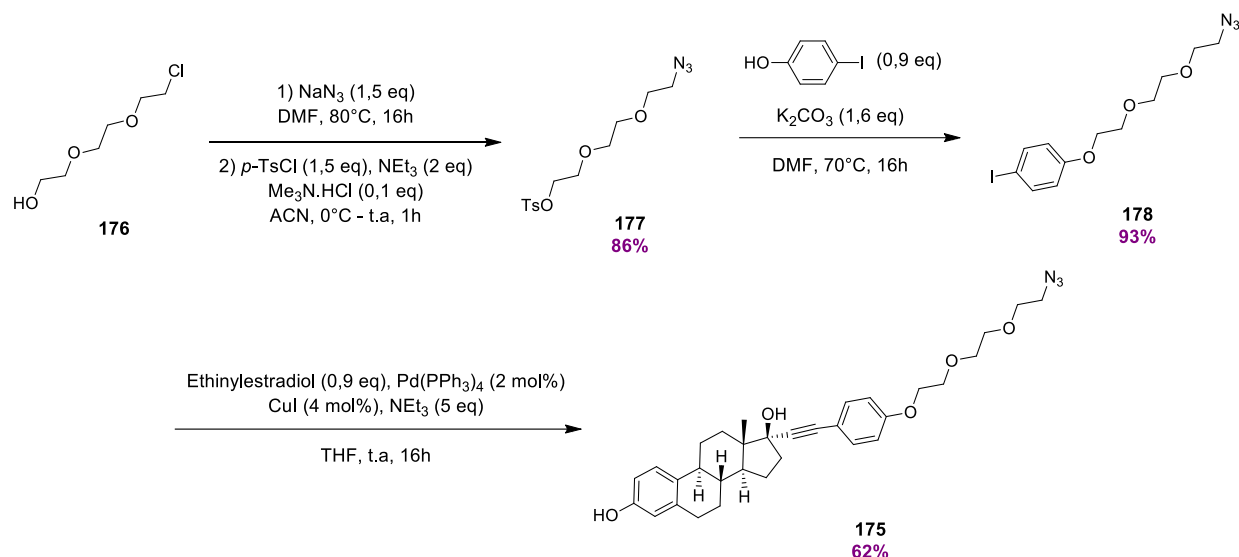


Schéma 88 : Synthèse du partenaire azoture **175**

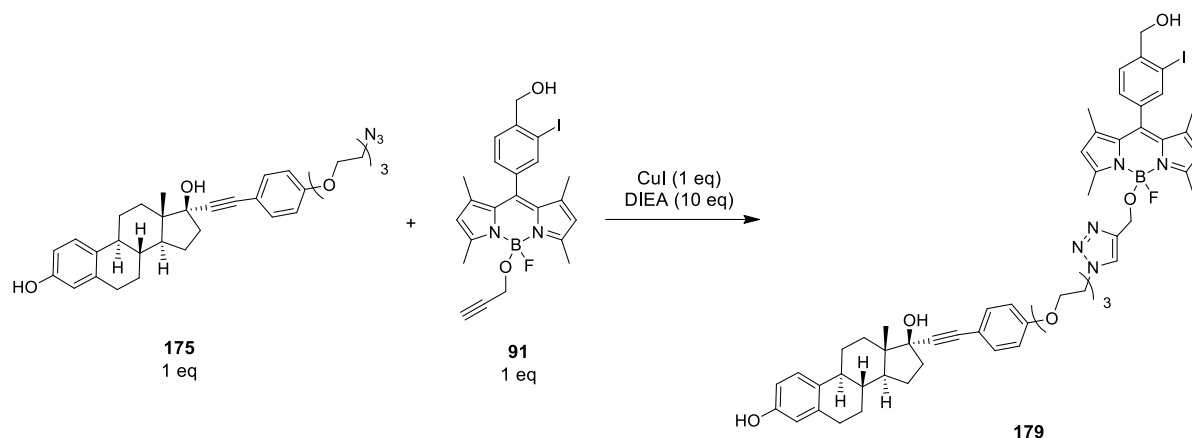
Limités par la faible quantité de la plateforme BODIPY-ABOI **91** ayant été isolée, seulement deux essais de réaction click ont été réalisés entre ce produit **91** et le partenaire azoture **175** en présence de CuI et de DIEA (Tableau 10).

La première tentative a été effectuée dans le DMF en agitant à 50°C pendant 1h. Le produit souhaité **179** a été obtenu avec un rendement de 31%, mais contenant quelques impuretés (entrée 1). Le deuxième essai dans le THF en agitant toute la nuit à température ambiante a donné un spectre RMN ¹H du brut réactionnel plus propre, et le produit souhaité **179** a été isolé avec un rendement similaire de 32%, mais de façon pure (entrée 2).

¹⁶⁷ S. Eising, F. Lelivelt, K. M Bongers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**, 55, 12243-12247

¹⁶⁸ Thèse d'A. Tabey, *Synthèse de nouveaux complexes aryl-palladium et aryl-or pour le marquage par du monoxyde de carbone de composés bioconjugués supportés et pour des réactions de couplages*, **2019**, Université de Bordeaux

Tableau 10 : Conditions de click entre l'azoture **175** et le BODIPY ABOI **91**



Entrée	Solvant	Conditions	Conversion	Rendement
1	DMF	1h à 50°C	100%	<31%
2	THF	17h à t.a	100%	32%

Une optimisation n'a pas pu être réalisée par manque de temps, mais il pourrait être envisagé d'améliorer le rendement par l'ajout d'un ligand tel que la TBTA pour stabiliser l'espèce cuivrée.

Pour finir, un seul essai de carbonylation de ce BODIPY **179** a été réalisé à partir de l'échantillon résultant de l'entrée 1. Toujours avec le système double chambre, le produit **179** a été carbonylé et une conversion complète a été observée, mais de nombreux sous-produits ont été détectés lors de la purification par plaque préparative, ce qui n'a pas permis d'isoler le produit désiré [¹³C]-**174** de façon pure. Un rendement modeste inférieur à 20% a donc été obtenu (Schéma 89).

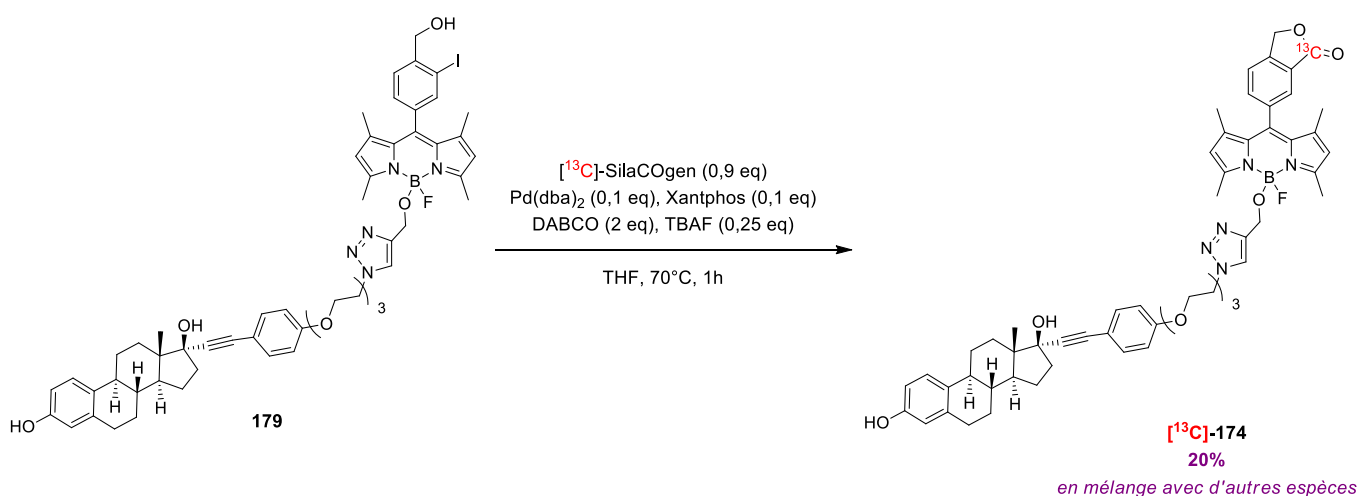
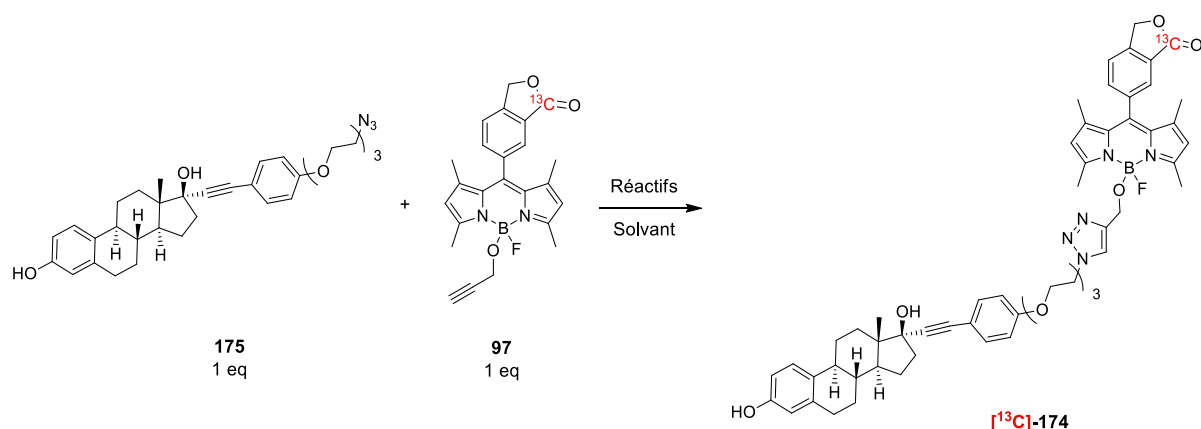


Schéma 89 : [¹³C]-Carbonylation du BODIPY **179** couplé à l'éthinylœstradiol

La réaction de click a ensuite été testée sur le BODIPY-ABOI déjà carbonylé **97** obtenu précédemment (Tableau 11). Avec les conditions classiques utilisant le sulfate de cuivre pentahydraté en présence d'ascorbate de sodium dans un mélange *tert*-butanol (*t*BuOH)/eau, la conversion était incomplète après une nuit d'agitation à 40°C, certainement à cause du manque de solubilité (entrée 1). Les réactifs ont ensuite été remplacés par l'iodure de cuivre et la DIEA, et en chauffant le milieu réactionnel à 50°C pendant 1h20, et une conversion complète a été obtenue. Malheureusement, seulement 17% de la molécule souhaitée [¹³C]-**174** ont été isolés après purification (entrée 2). Toutefois, celle-ci s'est révélée beaucoup plus pure que dans la séquence inverse couplage/carbonylation. Une dernière tentative d'amélioration du rendement a été réalisée en remplaçant le ligand par la TBTA, qui permet de stabiliser l'espèce de cuivre. Après une nuit d'agitation

à 50°C, la conversion était aussi complète, et le produit désiré [¹³C]-**174** a pu être récupéré pur après une chromatographie sur gel de silice avec un rendement nettement plus satisfaisant de 74% (entrée 3).

Tableau 11 : Réaction click entre l'azoture **175** et le BODIPY ABOI carbonylé **97**



Entrée	Réactifs	Solvant	Conditions	Conversion	Rendement
1	CuSO ₄ .5H ₂ O (10 mol%) NaAsc (1 eq)	<i>t</i> BuOH/H ₂ O	16h à 40°C	Incomplète	-
2	CuI (1 eq) DIEA (10 eq)	THF	1h20 à 50°C	100%	17%
3	CuI (5 mol%) TBTA (5 mol%)	THF	17h à 50°C	100%	74%

Les propriétés spectroscopiques du conjugué phtalide obtenu [¹³C]-**174** ont ensuite été étudiées. En concentration à 1,3 µmol/L dans l'acétonitrile, sa bande d'absorption maximale se situe à 501 nm avec une absorbance de 0,046. Avec une excitation à 489 nm, il émet en fluorescence à 513 nm avec un rendement quantique correct de 0,43. Il possède donc des propriétés similaires aux BODIPY classiques, malgré la présence de l'espaceur et de l'éthinylœstradiol.

Pour résumer cette stratégie de synthèse, le premier potentiel traceur des ER de type phtalide [¹³C]-**174** a été obtenu en 8 étapes avec un rendement total de 0,2% si la carbonylation a lieu en dernière étape, et de 12% si elle est réalisée avant la substitution du noyau BF₂ (Schéma 89). La deuxième méthode semble donc la plus adaptée pour obtenir le composé [¹³C]-**174** car l'étape limitante de substitution de l'atome de fluor du BODIPY **90** est moins efficace en présence de la fonction alcool libre. En outre, des optimisations au niveau des réactions click et des carbonylations sont encore possibles afin d'améliorer les rendements de la première voie pour envisager un passage au ¹¹C.

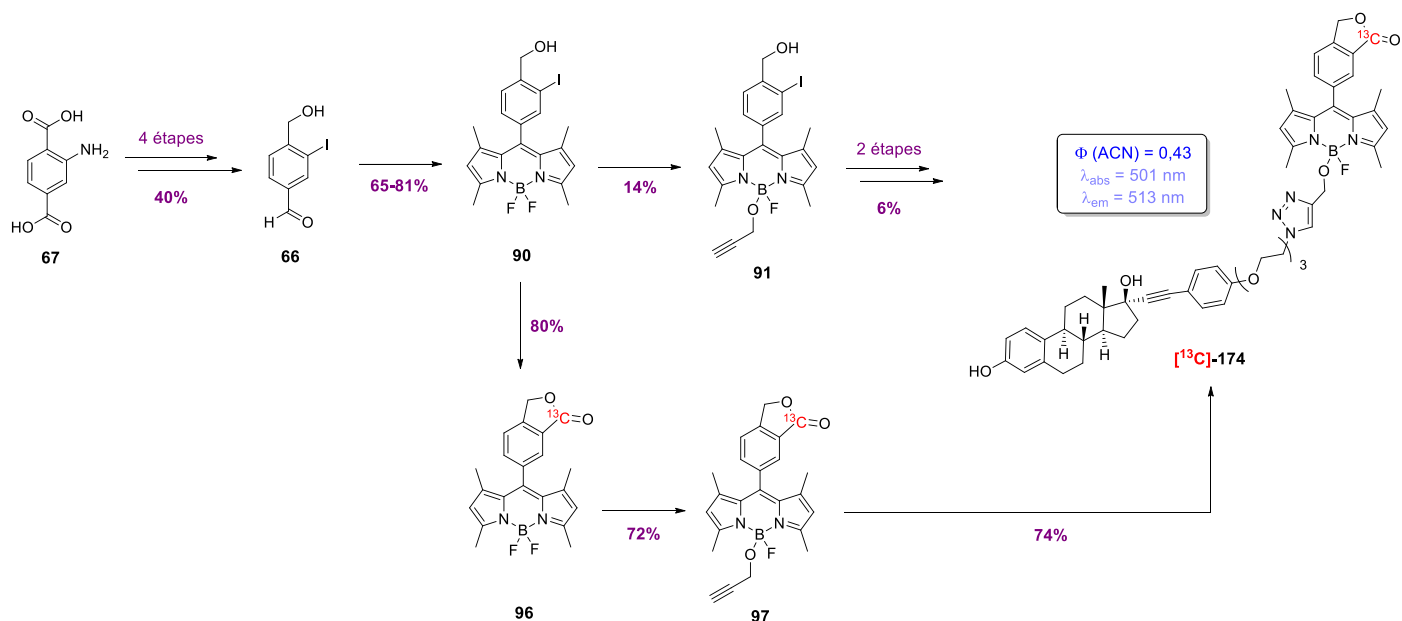


Schéma 90 : Résumé de la synthèse du premier traceur bimodal phtalide [^{13}C]-174

b) Bioconjugaison de la plateforme BODIPY acide **111** par couplage peptidique

Dans un second temps, la bioconjugaison de la plateforme acide **111** synthétisée précédemment a été entreprise par le couplage avec un partenaire amine **181** portant l'éthynylœstradiol, ce dernier pouvant facilement être obtenu par une réduction du partenaire azoture **175** précédent. Le deuxième potentiel traceur bimodal de type phtalimide **180** serait donc obtenu après l'amidation entre ces deux partenaires **181** et **111**, suivie de la réaction de carbonylation (Schéma 91).

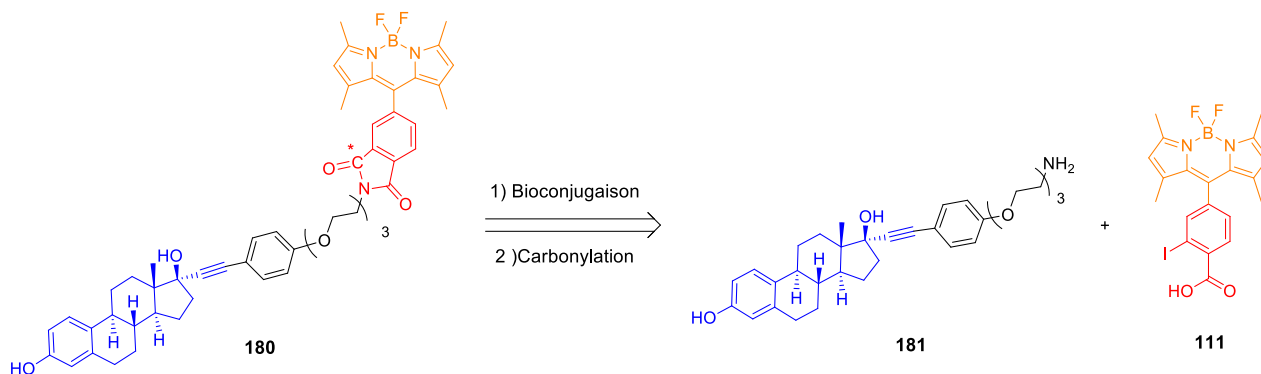


Schéma 91 : Rétrosynthèse du deuxième traceur bimodal de type phtalimide **180**

Dans un premier temps, la formation du partenaire amine **181** a été réalisée en réduisant l'azoture du partenaire **175** de la réaction click de la synthèse précédente à l'aide d'une réaction de Staudinger utilisant la triphénylphosphine. L'imino-phosphorane ainsi formé a été ensuite hydrolysé pour obtenir l'amine désirée **181**. L'hydrolyse a été d'abord effectuée à température ambiante, et le produit désiré **181** a été obtenu avec un rendement moyen de 48% après purification par chromatographie sur gel de silice. De façon intéressante, le rendement a pu être augmenté à 65% en chauffant le milieu à 50°C lors de l'hydrolyse (Schéma 92).

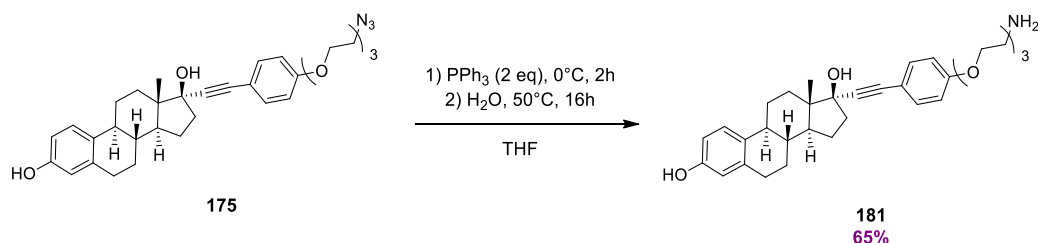


Schéma 92 : Réaction de Staudinger sur l'azoture **175**

La suite de la synthèse a consisté à coupler les deux partenaires amine **181** et acide **111** par une réaction d'amidation. Le BODIPY acide **111** étant long et difficile à synthétiser, le couplage a d'abord été testé entre l'amine **181** et l'acide modèle **106**. Dans un premier temps, les conditions de la littérature utilisées précédemment pour former les amides modèles ont été essayées. L'acide modèle **106** a été converti en chlorure d'acide à l'aide de chlorure d'oxalyle et de DMF, puis l'amine **181** en solution dans le dichlorométhane a été ajoutée, suivie de la triéthylamine. Le spectre RMN ^1H du brut réactionnel a montré une conversion complète, or un sous-produit majoritaire a été formé en plus du produit désiré, avec un ratio 58/42, les deux présentant des rapports frontaux très proches sur CCM. Après une plaque préparative, le produit souhaité **182** a été isolé avec un rendement de seulement 21%. Le sous-produit semblait être issu d'un deuxième couplage de l'acide de départ **106** sur le phénol de l'éthinylœstradiol de l'amine **181**. Les conditions ont donc été changées, et dans un deuxième essai, des agents d'activation d'acide tels que le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC) et l'hydroxybenzotriazole (HOBT) ont été utilisés en présence de triéthylamine. Tous les substrats et réactifs ont été mélangés en one-pot, et après une nuit à température ambiante, une conversion complète a été observée par RMN. Le même sous-produit a été formé à nouveau, mais de façon minoritaire avec un ratio de 74/26. Après colonne, les deux produits ont été séparés, avec un rendement de 67% pour celui souhaité **182** (Schéma 93). Cette méthode a permis de limiter la formation du sous-produit et a semblé donc plus adaptée pour le couplage peptidique avec le BODIPY **111**.

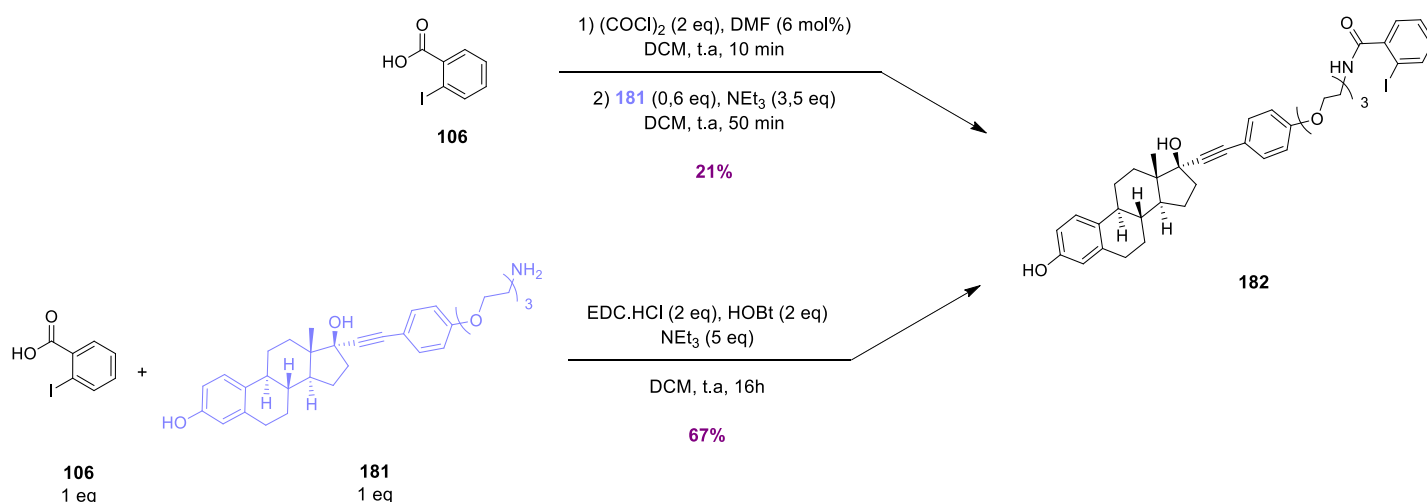


Schéma 93 : Couplages peptidiques entre l'acide modèle **106** et l'amine **181**

Le couplage peptidique de cette amine **181** avec le BODIPY acide **111** a donc été testé avec ces conditions, et a permis de former le produit désiré **183** avec un rendement moyen de 49% après colonne (Schéma 94).

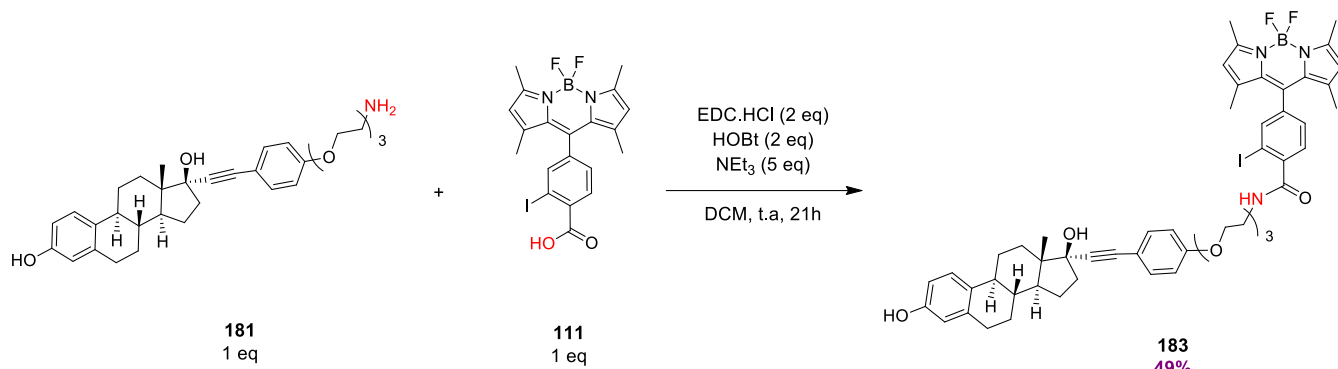


Schéma 94 : Couplage peptidique entre l'amine **181** et le BODIPY acide **111**

Enfin, la dernière étape de synthèse consistant à carbonyler le motif amide obtenu après le couplage peptidique a été réalisée. Avant cela, la carbonylation avec les conditions habituelles a été testée sur l'amide **182** formé à partir de l'acide modèle **106** et de l'amine **181**, et le produit carbonylé ^{13}C -**184** a été obtenu en une nuit avec un bon rendement de 78%. Ces conditions ont donc été appliquées à la molécule d'intérêt **183**. La réaction a été arrêtée après une heure et la conversion semblait complète d'après le spectre RMN ^1H du brut réactionnel, or 30% du produit de départ **183** ont été récupérés après la purification sur colonne. Malgré tout, le composé final ^{13}C -**180** a été isolé avec un rendement de 53% (Schéma 95).

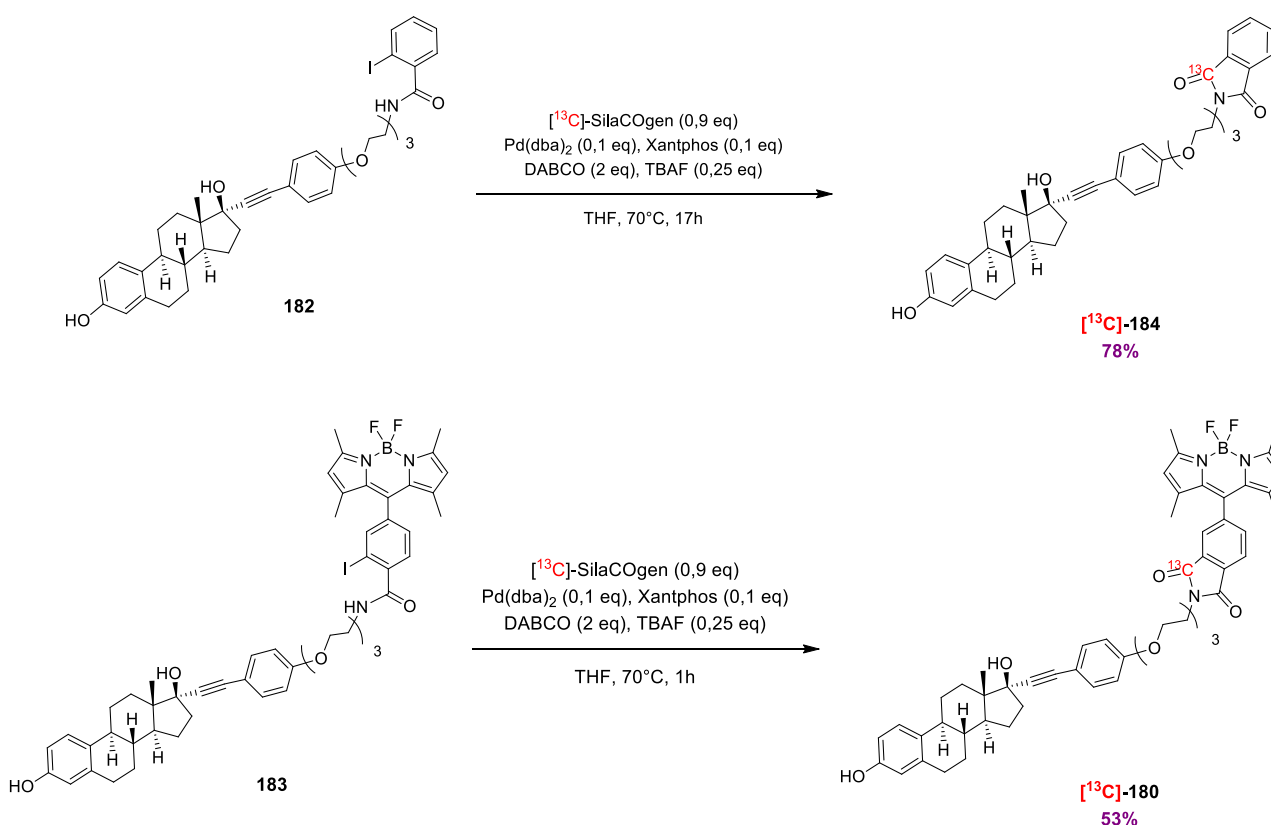


Schéma 95 : ^{13}C -Carbonylations de l'amide modèle **182** et de la plateforme BODIPY BzOI **183**

Pour finir, les propriétés spectroscopiques de ce nouveau conjugué de type phthalimide ^{13}C -**180** ont été étudiées. En concentration à $1\ \mu\text{mol/L}$ dans l'acétonitrile, sa bande d'absorption maximale se situe à 501 nm avec une absorbance de 0,068. Avec une excitation à 489 nm, il émet en fluorescence à 516 nm avec un rendement quantique de 0,13. Il possède donc une absorption et une émission similaires au précédent traceur synthétisé ^{13}C -**174**, mais son rendement quantique de fluorescence est significativement plus faible.

Pour résumer cette stratégie de synthèse, le potentiel deuxième traceur bimodal de type phtalimide [^{13}C]-**180** a été obtenu en 9 étapes avec un rendement total de 5% (Schéma 96). Cette synthèse est plus longue que la précédente, mais présente un meilleur rendement global. Malheureusement, le rendement quantique de fluorescence du composé final [^{13}C]-**180** s'est révélé moins élevé.

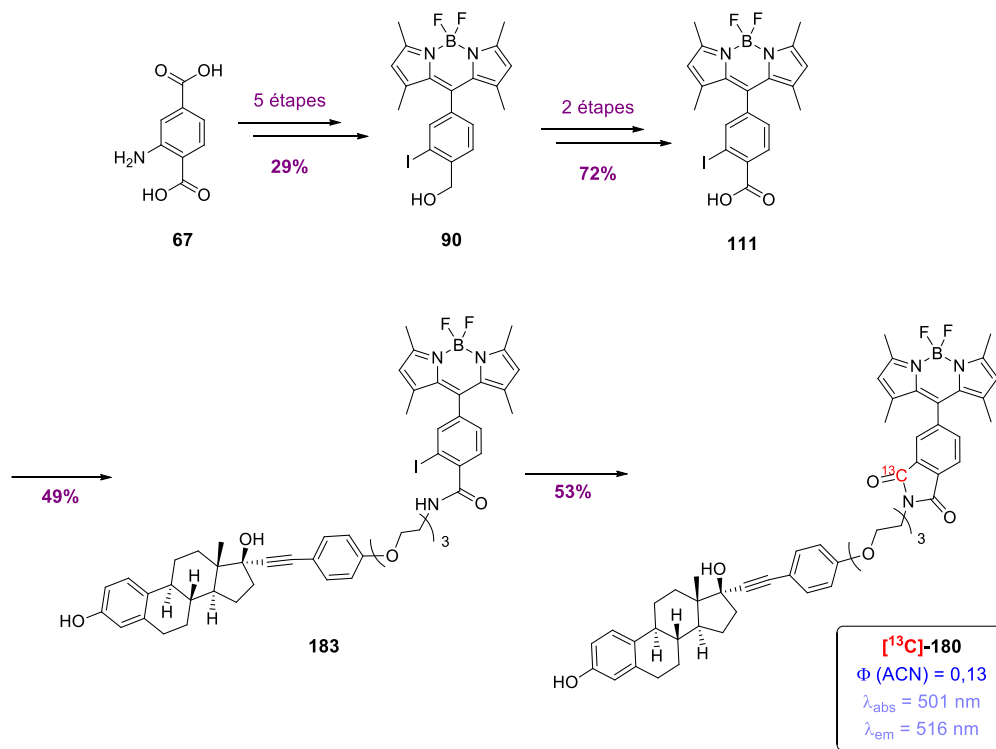


Schéma 96 : Résumé de la synthèse du deuxième traceur bimodal de type phtalimide [^{13}C]-**180**

c) Bioconjugaison de la plateforme BODIPY-BzOI **115** par réaction click

Enfin, la bioconjugaison de la plateforme BODIPY-BzOI **115** synthétisée précédemment a été menée. Le dernier potentiel traceur bimodal de type phtalimide **185** serait obtenu par la bioconjugaison par chimie click entre la plateforme propargylée reliée au BODIPY **115** et le partenaire azoture comportant l'éthinylœstradiol **175**, suivie de la carbonylation du motif BzOI en dernière étape (Schéma 97).

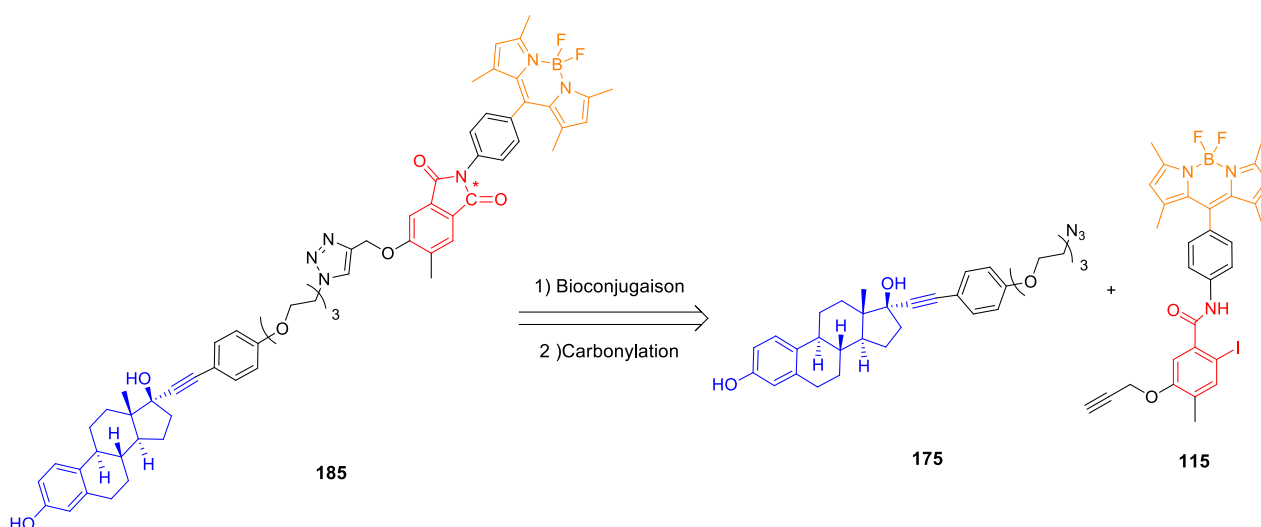
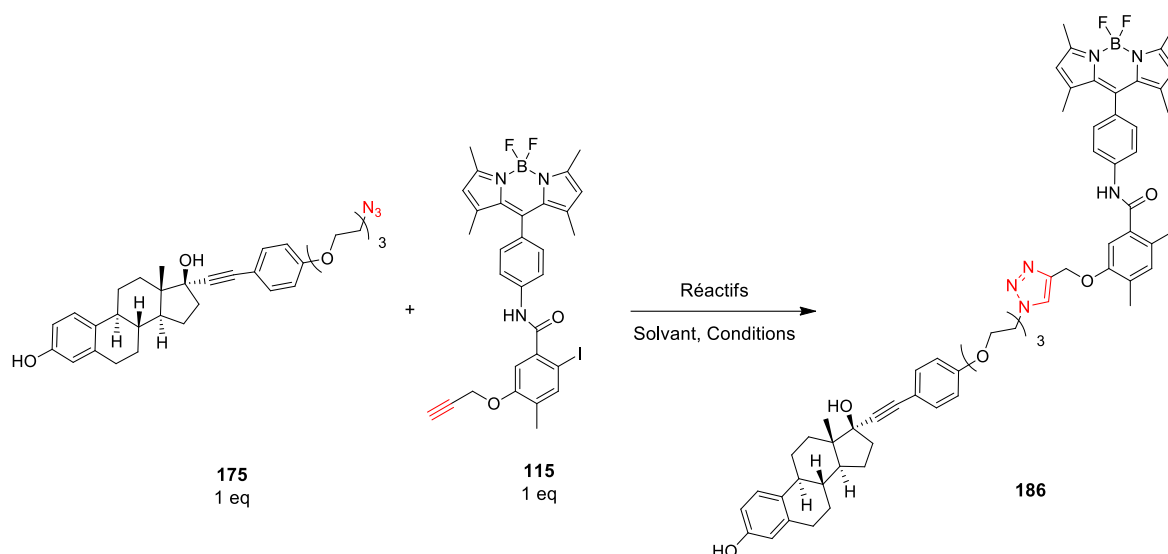


Schéma 97 : Rétrosynthèse du troisième traceur bimodal de type phtalimide **185**

Le partenaire azoture **175** étant identique à celui de la bioconjugaison de la plateforme ABOI **91**, la réaction de click a été directement réalisée avec le BODIPY-BzOI **115** (Tableau 12). Les conditions classiques avec le sulfate de cuivre pentahydraté et l'ascorbate de sodium dans un mélange *tert*-butanol/eau n'ont pas permis de former le produit **186** même en chauffant jusqu'à 80°C (entrée 1). Ce résultat est peut-être dû au manque de solubilité de l'amide **115** dans le mélange de solvant. Cependant, le produit de couplage **186** a pu être obtenu via l'iodure de cuivre en présence de DIEA dans le DMF en chauffant à 50°C. La conversion était complète, mais le rendement après colonne ne s'élevait qu'à 31% (entrée 2). Afin d'augmenter le rendement, le ligand a été remplacé par la TBTA pour stabiliser l'espèce de cuivre, et le THF a été utilisé comme solvant pour éviter de retrouver le DMF en mélange avec le produit final **186** après purification. La CCM montrant une conversion incomplète après 6h d'agitation à 50°C, le milieu réactionnel a été agité pendant 72h afin d'obtenir une conversion complète et à température ambiante pour éviter une éventuelle dégradation. Le produit désiré **186** a pu être obtenu de façon pure avec un rendement plus élevé de 64%, démontrant le rôle important du ligand (entrée 3).

Tableau 12 : Bioconjugaison par réaction click entre l'azoture **175** et la plateforme BODIPY-BzOI **115**



Entrée	Réactifs	Solvant	Conditions	Conversion	Rendement
1	CuSO ₄ .5H ₂ O (10 mol%) NaAsc (1 eq)	<i>t</i> BuOH/H ₂ O (3:1)	18h à t.a 21h à 50°C 7h à 80°C	0%	-
2	CuI (1 eq) DIEA (10 eq)	DMF	1h à 50°C	100%	31%
3	CuI (5 mol%) TBTA (5 mol%)	THF	6h à 50°C 3 jours à t.a	100%	64%

Pour finir, la dernière étape de la synthèse a consisté en la carbonylation du motif BzOI de la molécule **186**. De la même manière que précédemment, le troisième traceur bimodal de type phthalimide [^{13}C]-**185** a été obtenu avec un rendement isolé correct de 53% (Schéma 98).

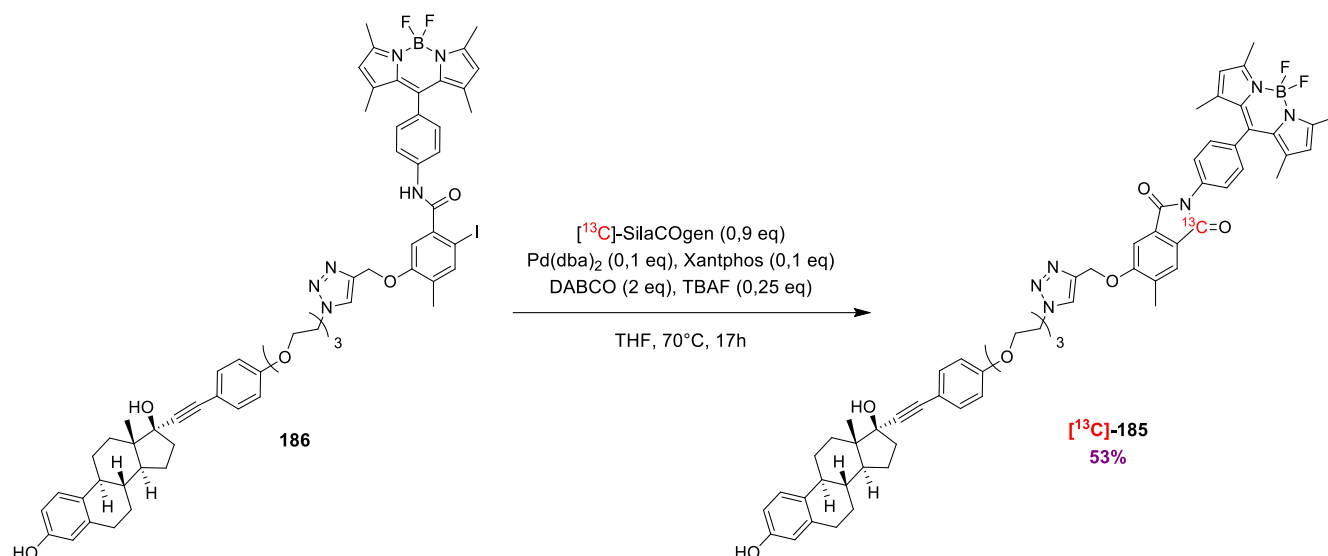


Schéma 98 : [^{13}C]-Carbonylation de l'amide **186**

Enfin, ses propriétés spectroscopiques ont été étudiées. En concentration à 2 $\mu\text{mol/L}$ dans le méthanol, sa bande d'absorption maximale se situe à 498 nm avec une absorbance de 0,065. Avec une excitation à 489 nm, il émet en fluorescence à 509 nm avec un rendement quantique de 0,34. Il possède aussi une absorption et une émission similaires aux précédents traceurs synthétisés et son rendement quantique de fluorescence est plus élevé que l'autre traceur de type phthalimide, mais toujours plus faible que le premier traceur de type phthalide [^{13}C]-**174**, même si la comparaison entre solvants différents empêche toute conclusion formelle. Ici, le motif phthalimide ne semble pas nuire à la fluorescence émise par le traceur. Il peut être supposé que l'éloignement du noyau BODIPY par rapport à la biomolécule favorise un meilleur rendement quantique en limitant les potentiels transferts électroniques photoinduits.

Pour résumer cette dernière stratégie de synthèse, le potentiel troisième traceur bimodal de type phthalimide [^{13}C]-**185** a été obtenu en 3 étapes avec un rendement total de 24% à partir de deux molécules, elles-mêmes synthétisées en 4 étapes avec un rendement global de 46% pour la plateforme **116** et en 2 étapes avec un rendement total de 83% pour le BODIPY **121** (Schéma 99). Cette synthèse plus convergente permet en particulier des modifications structurales séparément sur le BODIPY et la plateforme acide.

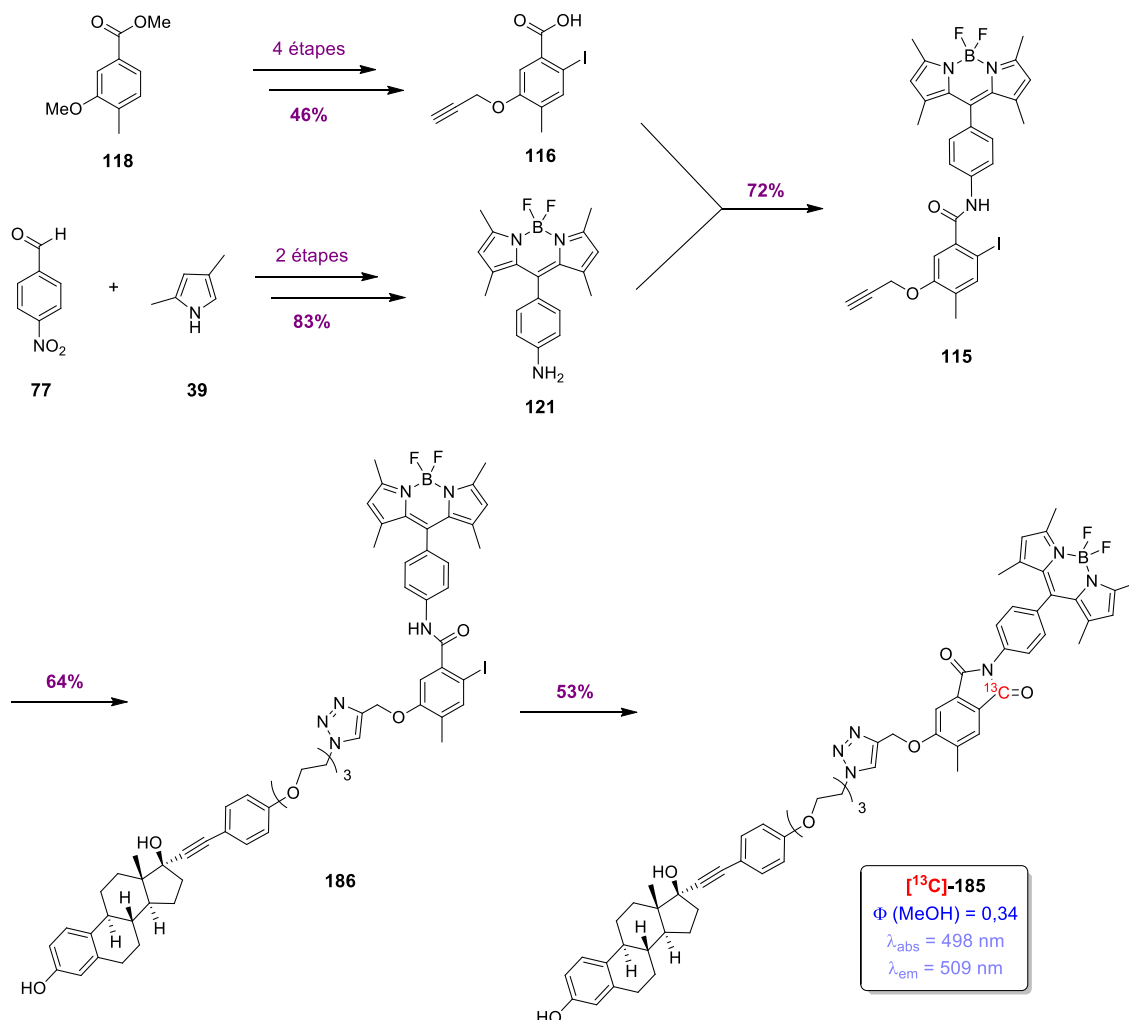


Schéma 99 : Résumé de la synthèse du troisième traceur bimodal de type phtalimide [^{13}C]-185

2) Evaluation biologique des nouveaux potentiels traceurs bimodaux

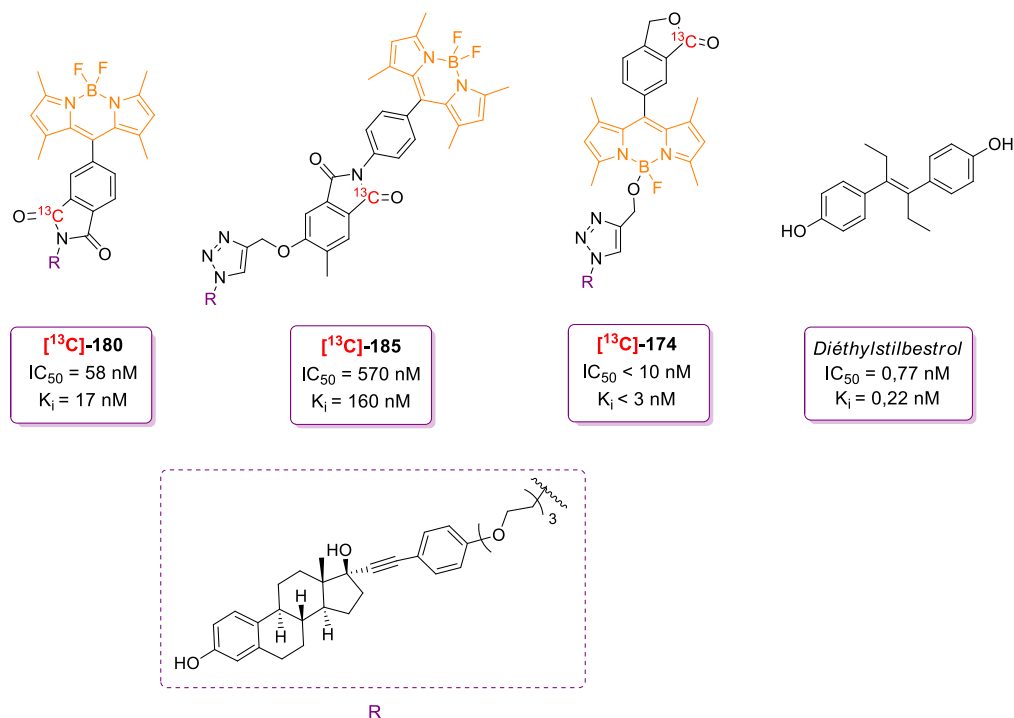
a) Détermination des propriétés biologiques *in vitro*

Dans un premier temps, les pourcentages d'inhibition de la liaison spécifique du radioligand agoniste [^3H]-œstradiol avec des ER α entiers de cellules humaines Sf9 recombinantes ont été étudiés pour chaque composé synthétisé. Concernant le protocole expérimental, le récepteur a été incubé pendant 2 heures à 22°C avec une concentration de 0,5 nM de [^3H]-œstradiol, et soit en l'absence, soit en présence du composé à tester. Après l'incubation, les échantillons ont été filtrés, séchés et la radioactivité a été mesurée par une méthode de scintillation. Un composé référence a également été testé, le diéthylstilbestrol, de son nom commercial Distilbène®, qui est une hormone de synthèse présentant de fortes propriétés œstrogéniques, permettant d'obtenir une courbe de compétition afin de calculer les différents IC₅₀. L'IC₅₀ du diéthylstilbestrol a été déterminée à 0,77 nM, sa valeur de référence se situant à 0,45 nM.¹⁶⁹ Le premier phtalimide [^{13}C]-180 a présenté un IC₅₀ de 58 nM tandis que celle du deuxième phtalimide [^{13}C]-185 s'est révélée dix fois plus élevée avec une valeur de 570 nM. Le phtalimide [^{13}C]-174 a quant à lui montré l'IC₅₀ le plus bas parmi les nouveaux composés avec une valeur inférieure à 10 nM (Figure 41).

Les constantes d'inhibition (K_i) ont ensuite été calculées à l'aide des valeurs d'IC₅₀ afin de déterminer l'affinité de chaque composé pour le récepteur. Le phtalimide [^{13}C]-185 a montré la moins

¹⁶⁹ R. M. Blair, H. Fang, W. S. Branham, B. S. Hass, S. L. Dial, C. L. Moland, W. Tong, L. Shi, R. Perkins, D. M. Sheehan, *Toxicological Sciences*, **2000**, 54, 138-153

bonne affinité avec une valeur de 160 nM. En revanche, elle s'est révélée dix fois plus élevée pour le phtalimide [^{13}C]-180 avec une valeur de 17 nM. La molécule présentant la meilleure affinité est le phtalide [^{13}C]-174 qui a montré une constante d'inhibition inférieure à 10 nM, se rapprochant de la constante d'affinité de l'éthinylœstradiol (0,47 nM). A l'aide de valeurs décrites dans la littérature,¹⁶⁹ une comparaison a pu être effectuée avec des ligands d'œstrogènes connus tels que l'œstradiol, l'éthinylœstradiol et le diéthylstilbestrol. Pour ces trois composés de référence, les constantes d'affinité se trouvent toutes en-dessous de 0,2 nM.



Données de référence :

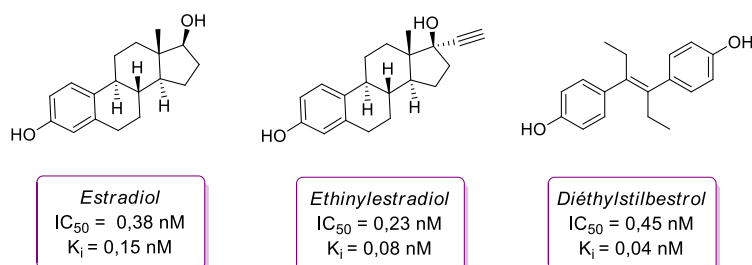


Figure 41 : Valeurs des IC_{50} et des constantes d'inhibition des trois traceurs bimodaux et de références

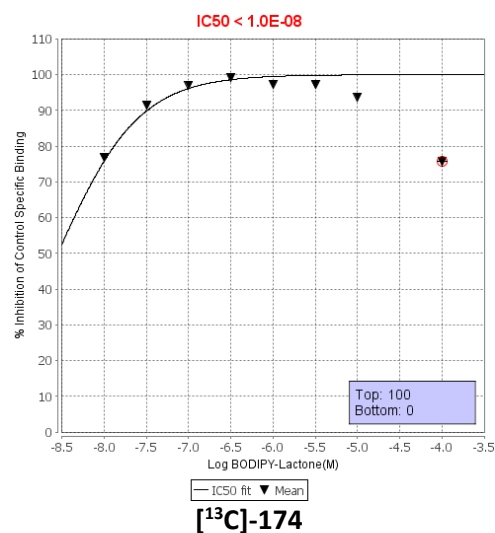
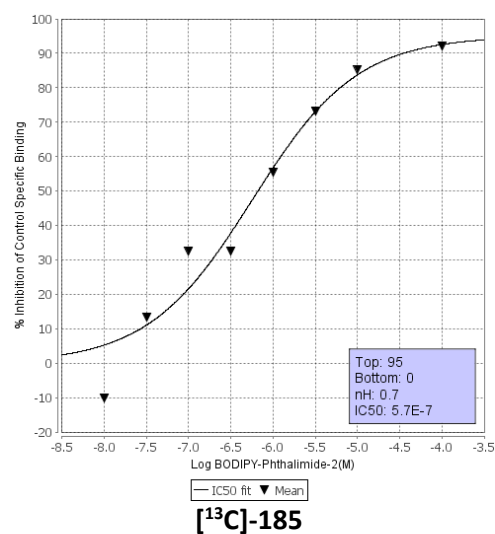
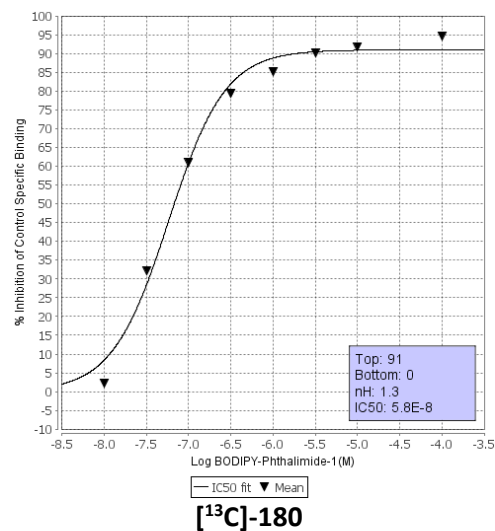


Figure 42 : Evolutions du pourcentage d'inhibition de liaison spécifique en fonction du log de la concentration des trois traceurs

De plus, par comparaison avec les BODIPY testés *in vitro* par l'équipe de van Lier¹⁶⁰, le phthalide [¹³C]-174 a montré de meilleures IC₅₀. Cette sonde semble donc la molécule la plus prometteuse parmi les trois traceurs synthétisés en terme d'affinités.

La toxicité des molécules synthétisées a également été évaluée sur des cellules U87, cellules humaines cancéreuses de glioblastomes. Pour cela, les différents traceurs ont été dissous dans du

DMSO, puis dilués avec une solution de tampon phosphate salin (PBS). Afin de déterminer la concentration idéale en DMSO, des tests sur des cellules en culture en l'absence des traceurs ont été effectués et ont montré qu'une concentration de 5% de DMSO induisait une mort cellulaire. Après plusieurs essais, une toxicité raisonnable de 6-7% a pu être observée avec une concentration en DMSO de 1%. Les tests suivants ont donc été réalisés avec cette quantité de DMSO.

Chaque traceur a été testé sur des cellules en culture avec plusieurs concentrations finales dans une solution de PBS allant de 2 à 400 nM, et il s'est avéré qu'aucune toxicité n'a été observée pour chaque échantillon (Figure 43).

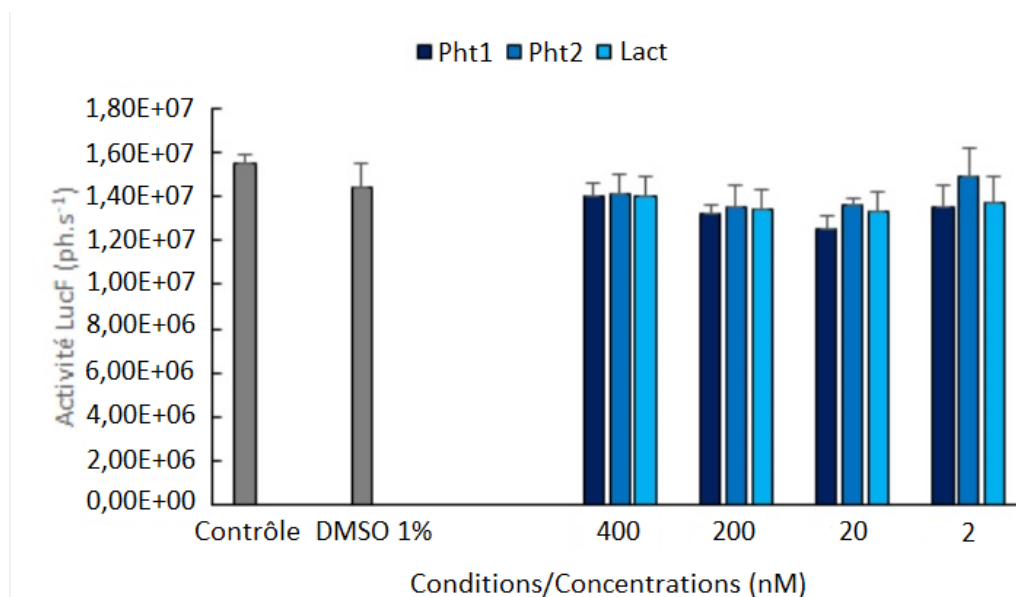


Figure 43 : Graphique de viabilité cellulaire du contrôle, du DMSO seul à 1% et des trois traceurs avec 1% de DMSO en fonction des concentrations finales dans le PBS

Afin de pouvoir observer plus efficacement la fluorescence dans les futurs tests *in vivo*, des concentrations plus élevées de chaque traceur ont été évaluées dans des cellules U87 et des cellules MCF-7, une lignée de cellules tumorales mammaires. Pour des concentrations finales dans le PBS de 100 μ M, 10 μ M, 1 μ M et 0,1 μ M, de nouveau aucune toxicité n'a été observée dans les cellules U87. En revanche, sur les cellules MCF-7, une toxicité est apparue pour la plus forte concentration de 100 μ M.

b) Tests biologiques *in vivo*

Des essais d'injection des trois composés [¹³C]-174, [¹³C]-180 et [¹³C]-185 sont actuellement en cours chez des souris porteuses de tumeurs orthotopiques de cellules MCF-7. L'injection sera réalisée par voie intracardiaque pour maximiser la diffusion de ces composés relativement hydrophobes. Les souris seront ensuite sacrifiées pour mesurer par fluorescence la distribution dans les différents organes.

Chapitre 3

Nouvelles structures à base de BODIPY pour la génération d'oxygène singulet

Chapitre 3 : Nouvelles structures à base de BODIPY pour la génération d'oxygène singulet

A) Généralités et bibliographie

1) L'oxygène singulet : propriétés, synthèse et réactivité

Le premier état électronique excité du dioxygène est nommé oxygène singulet ($^1\Delta_g$). Il existe un deuxième état excité ($^1\Sigma_g^+$), mais sa durée de vie trop courte en solution l'empêche d'intervenir dans des réactions chimiques. L'oxygène singulet ($^1\Delta_g$) est donc considéré comme l'intermédiaire réagissant dans des réactions d'oxydation en solution (noté 1O_2).

La durée de vie de l' 1O_2 varie selon le solvant utilisé (Tableau 13). Dans des solvants polaires comme l'eau ou le méthanol, elle est très courte, mais elle est largement allongée dans le cas de leurs analogues deutérés.^{170,171}

Tableau 13 : Durée de vie de l'oxygène singulet dans différents solvants

Solvant	H ₂ O	MeOH	EtOH	Cyclohexane	D ₂ O	Benzène	Acétone	ACN	CHCl ₃	CDCl ₃
Durée de vie (μs)	2	7	12	17	20	24	26	30	60	300

La courte durée de vie de l' 1O_2 fait qu'il est généralement préparé *in situ*. Il ne peut pas être formé directement par réaction photochimique de l'oxygène triplet, car cette transition est interdite. Il existe plusieurs méthodes thermiques de génération de l' 1O_2 : par décomposition d'ozonure de phosphite¹⁷², par décomposition de peroxyde transannulaire¹⁷³ ou par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'hypochlorite de sodium.¹⁷⁴ Cependant, la méthode la plus courante est la photosensibilisation de l'oxygène triplet (3O_2) par un colorant ou photosensibilisateur (PS).¹⁷⁵ Celle-ci consiste à exciter un photosensibilisateur par irradiation à l'aide d'une lampe émettant dans le visible pour former l'état singulet excité du PS. Ensuite, une conversion intersystème rapide permet de générer l'état triplet excité du PS. En présence de dioxygène dans son état fondamental (3O_2), les deux espèces subissent un transfert d'énergie qui régénère le PS dans son état fondamental en produisant l'oxygène singulet (Schéma 100).¹⁷⁶

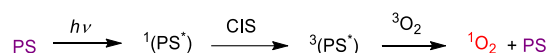


Schéma 100 : Génération d'oxygène singulet par photosensibilisation

L'oxygène singulet ainsi formé peut réagir suivant plusieurs mécanismes. En présence d'un alcène avec un atome d'hydrogène allylique, il permet d'effectuer une réaction éne menant à la formation d'un hydroperoxyde avec un déplacement de la double liaison, puis la réduction de cet intermédiaire entraîne la génération d'un alcool allylique (Schéma 101).

¹⁷⁰ P. B. Merkel, D. R. Kearns, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 7244-7253

¹⁷¹ C. A. Long, D. R. Kearns, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 2018-2020

¹⁷² R. W. Murray, M. L. Kaplan, *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 5358-5364

¹⁷³ H. H. Wasserman, J. R. Scheffer, J. L. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 4991-4996

¹⁷⁴ C. S. Foote, S. Wexler, W. Ando, R. Higgins, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 975-981

¹⁷⁵ W. Adam, P. Klug, *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 3416-3420

¹⁷⁶ H. H. Wasserman, R. W. Murray, *Singlet oxygen*, **1979**, New York, Academic Press, 684 pages

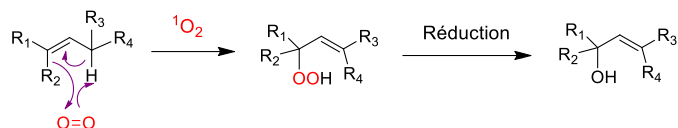


Schéma 101 : Mécanisme de la réaction ène avec l'oxygène singulet

L'alcène peut aussi réagir avec l'oxygène singulet selon une cycloaddition [2+2] pour former un 1,2-dioxétane (

Schéma 102). Cependant, la réaction ène étant beaucoup plus rapide, la cycloaddition [2+2] ne peut avoir lieu qu'en l'absence de proton allylique.

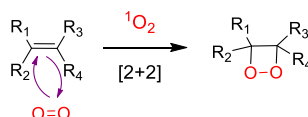


Schéma 102 : Mécanisme de cycloaddition [2+2] entre un alcène et l'oxygène singulet

De plus, l'oxygène singulet peut réaliser une cycloaddition [4+2] avec un diène pour former un 1,2-dioxane avec une double liaison (Schéma 103).

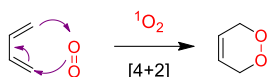


Schéma 103 : Mécanisme de cycloaddition [4+2] entre un diène et l'oxygène singulet

Il peut également réaliser des oxydations d'hétéroatomes¹⁷⁷ et des fonctionnalisations de liaisons C-H.¹⁷⁸

Ces différentes réactions possibles avec l'oxygène singulet sont en général effectuées en conditions douces, ce qui représente un certain avantage pour la synthèse de produits naturels ou de molécules d'intérêt biologique. Les principaux inconvénients sont l'usage de lampes fortes et l'introduction d'un large excès d'oxygène.

Les photosensibilisateurs les plus fréquemment utilisés sont le bleu de méthylène, la tétraphénylporphyrine et le rose Bengale (Figure 44). Les PS doivent posséder certaines caractéristiques pour être efficaces en photocatalyse : une forte absorption dans le visible, de préférence dans les régions verte et rouge du spectre, un état excité triplet suffisamment peuplé et une durée de vie assez longue pour permettre le transfert mono-électronique. Enfin, sa structure doit être facilement modulable pour optimiser les propriétés photophysiques et électrochimiques.

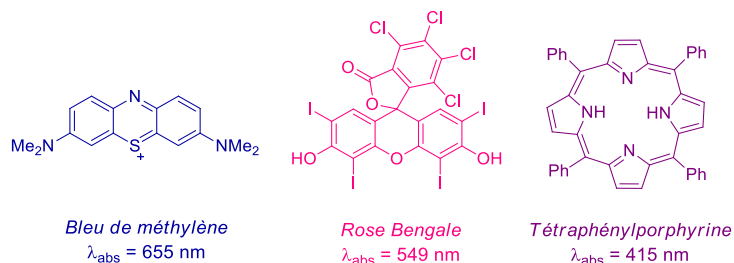


Figure 44 : Structures de différents photosensibilisateurs

¹⁷⁷ N. Sawwan, A. Greer, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 3247-3285

¹⁷⁸ A. Sagadevan, K. C. Hwang, M.-D. Su, *Nat. Commun.*, **2017**, 8, 1812

2) La photooxygénation par l'oxygène singulet

a) Photosensibilisateurs à base de BODIPY

De façon intéressante, les motifs à base de BODIPY (motifs développés dans la partie précédente) peuvent également agir en tant que photosensibilisateurs de l'oxygène triplet en singulet.¹⁷⁹

L'équipe de Zhao¹⁸⁰ a exploré la photooxydation de dihydroxynaphtalènes avec l' $^1\text{O}_2$ généré par différents BODIPY iodés. Des atomes d'iode ont été introduits sur le noyau π du BODIPY afin d'améliorer la conversion intersystème via l'effet d'atome lourd, permettant de favoriser l'état triplet excité du BODIPY. Deux BODIPY iodés ont donc été synthétisés, le BODIPY **205** dissymétrique avec un substituant en position 2, et le BODIPY **206** symétrique avec des groupements styryles en position α pour déplacer l'absorption vers le rouge. Ces PS ont été appliqués dans la réaction de photooxydation de dihydroxynaphtalènes avec un groupement hydroxyle placé sur différentes positions. Les naphtoquinones correspondantes ont été formées avec de très bons rendements isolés allant de 73 à 87% (Schéma 104).

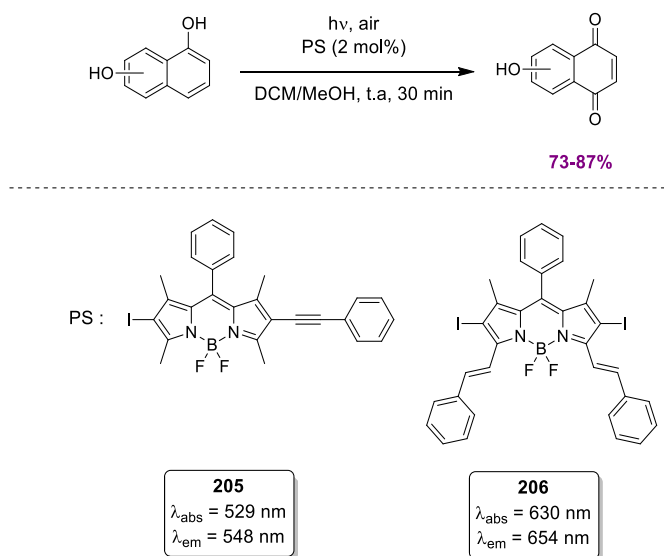


Schéma 104 : Photooxydation de dihydroxynaphtalènes à l'aide des BODIPY **205** et **206**

L'équipe de Ramaiah¹⁸¹ ayant découvert une génération efficace d'oxygène singulet à partir d'aza-BODIPY, elle a testé une de ces molécules comme potentiel catalyseur de photooxygénation. Pour cela, la photooxydation du 1-naphtol **207**, substrat similaire au cas précédent, a été effectuée en présence de l'aza-BODIPY **209** avec un flux constant d'oxygène pour former la 1,4-naphtoquinone **208** avec un rendement quantitatif (Schéma 105). De plus, cette même réaction avec d'autres photosensibilisateurs communs tels que la tétraphénylporphyrine, le bleu de méthylène ou le rose Bengale n'a mené qu'à un rendement maximum de 40%. Ceci a montré l'efficacité des structures à base de BODIPY pour la production d'oxygène singulet.

¹⁷⁹ P. De Bonfils, L. Péault, P. Nun, V. Coeffard, *Eur. J. Org. Chem.*, **2021**, DOI : [10.1002/ejoc.202001446](https://doi.org/10.1002/ejoc.202001446)

¹⁸⁰ L. Huang, J. Zhao, S. Guo, C. Zhang, J. Ma, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 5627-5637

¹⁸¹ N. Adarsh, M. Shanmugasundaram, R. R. Avirah, D. Ramaiah, *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 12655-12662

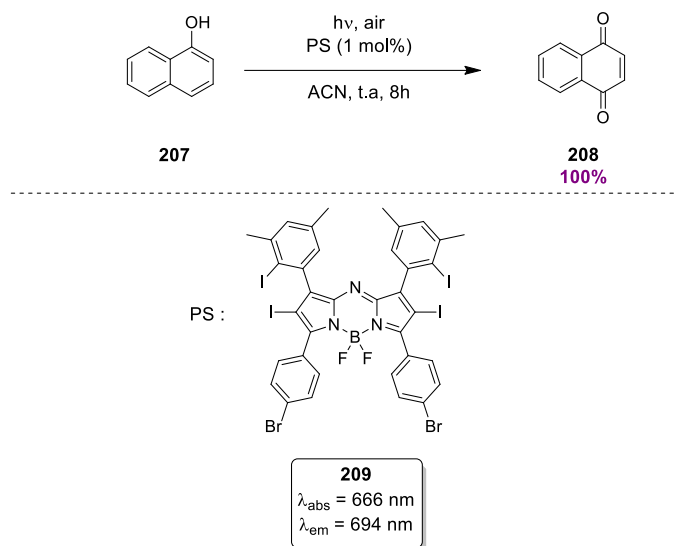


Schéma 105 : Photooxydation du 1-naphtol **207** à l'aide de l'aza-BODIPY **209**

Des oxyfonctionnalisations multiples sur divers substrats à l'aide de réactions en cascade ène/cycloaddition [4+2] avec l'oxygène singulet ont été décrites dans la littérature. Or, ceci n'a jamais été appliqué aux substrats de type phénol, pourtant connus comme étant réactifs avec l'oxygène singulet. C'est pour cette raison que l'équipe de Coeffard¹⁸² s'est intéressée très récemment au développement d'une photooxygénation domino sur des 2-alcénylphénols. Le BODIPY iodé connu **210** a été employé en tant que photosensibilisateur,¹⁸⁰ en réalisant la réaction en deux étapes one-pot. A partir de différents 2-alcénylphénols, des rendements très variables ont été obtenus. Avec un phényle portant des groupements méthyles, éthyles ou des halogènes sur l'alcène, le produit attendu a été obtenu avec des rendements allant de 30% à 54%, mais le groupement nitro sur le phényle n'a pas été toléré. Des variations de la substitution du phénol ont été effectuées en introduisant des groupements méthyles, éthyles et phényles, et les produits ont été isolés avec des rendements allant jusqu'à 60% (Schéma 106).

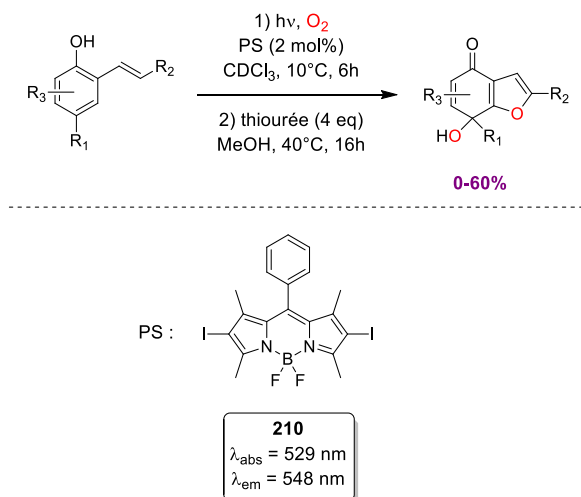


Schéma 106 : Photooxygénation domino de différents 2-alcénylphénols à l'aide du BODIPY iodé **210**

En ce qui concerne le mécanisme de cette réaction, la première étape consistait à effectuer la photooxygénation domino à l'aide d'une lampe et du PS en solution avec le substrat dans laquelle de l'oxygène est bullé en continu. L'¹O₂ réagit en premier lieu avec le phénol riche en électrons pour donner un premier intermédiaire hydroperoxyde. Ensuite, celui-ci subit une cycloaddition [4+2] avec l'¹O₂ pour obtenir un endoperoxyde. Cependant, cet intermédiaire se révélant instable, la deuxième

¹⁸² A. Mauger, J. Farjon, P. Nun, V. Coeffard, *Chem. Eur. J.*, **2018**, 24, 1-5

étape de réduction est réalisée à la suite pour aboutir au produit final. Pour cela, la thiourée a été utilisée pour réduire à la fois l'hydroperoxyde et l'endoperoxyde, permettant de former le furane (Schéma 107).

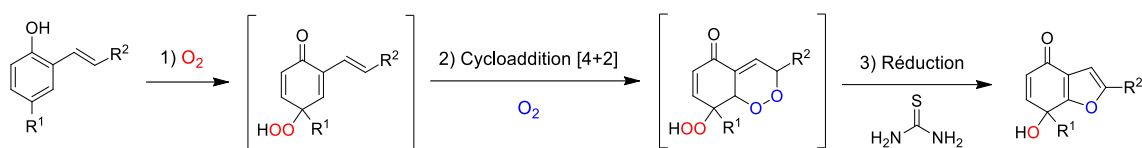


Schéma 107 : Mécanisme de la photooxygénation domino

En outre, la réactivité d'autres PS communs tels que le bleu de méthylène et la tétraporphyrine a été comparée avec le BODIPY **210**. Sur le même substrat et avec les mêmes conditions, ils n'ont permis de former l'endoperoxyde qu'avec un rendement maximum de 15% tandis qu'avec le BODIPY **210**, le produit a été obtenu avec un rendement de 65%.

L'équipe de Coeffard¹⁸³ a également exploré le contrôle de la sélectivité de la photooxygénation à l'aide du même BODIPY **210** en présence d'un additif. L'oxygène singulet étant un oxydant puissant, sa réactivité est difficile à contrôler. Pour mener à bien ce défi, l'ajout d'une quinine au système a été envisagé pour neutraliser physiquement l'¹O₂. Pour prouver cet effet, un mélange de deux substrats a été soumis à la photooxygénation, le β-cétoester **211** donneur de liaisons hydrogènes et l'anthracène **194**. En présence de quinine, le β-cétoester **211** a été déprotoné, le rendant plus réactif et permettant l'oxydation sélective de ce substrat en alcool **212**, avec un rendement RMN ¹H de 79%, par rapport à l'anthracène **194** qui n'a pas pu réagir avec l'¹O₂. Au contraire, en l'absence de quinine, seulement 13% de l'hydroperoxyde du β-cétoester **213** ont été formés contre 36% de l'endoperoxyde de l'anthracène **214**, et aucune trace de l'alcool **212** n'a été observée (Schéma 108).

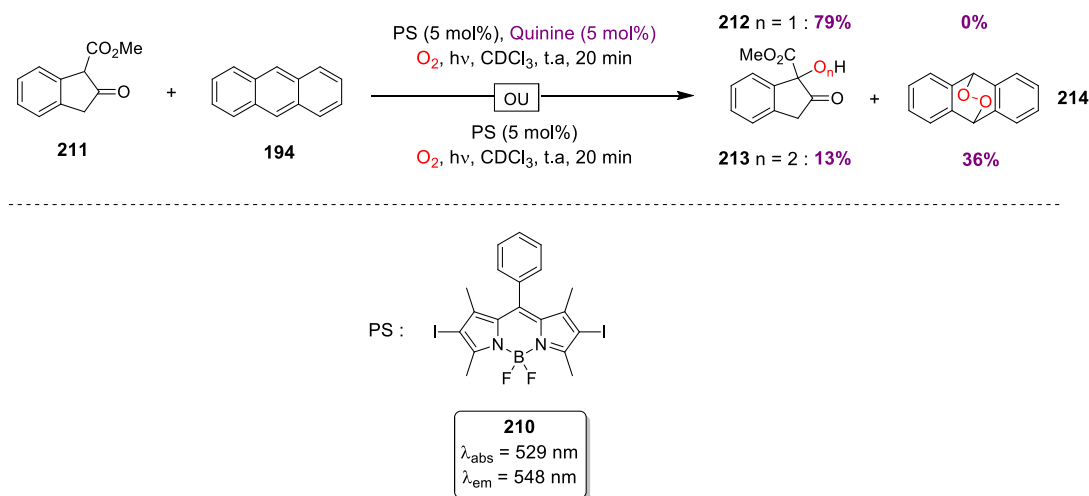


Schéma 108 : Photooxygénation sélective entre le β-cétoester **211** et l'anthracène **194**

La même tendance a été observée en remplaçant l'anthracène **194** par le cyclopentène **216** ou le β-cétoester **211** par le *para*-crésol **215**. Afin de mettre en évidence l'importance de la quinine dans la photooxygénation sélective, une compétition entre les quatre substrats a été réalisée en suivant. Un mélange du β-cétoester **211**, de l'anthracène **194**, du cyclopentène **216** et du *para*-crésol **215** a été soumis aux mêmes conditions. Une fois de plus, en présence de quinine, l'alcool issu de l'oxydation du β-cétoester **212** a été obtenu en majorité avec un rendement RMN ¹H de 96%, alors que seules des traces des autres produits ont été observées. Au contraire, en l'absence de quinine, un mélange complexe de produits a été formé, montrant une réaction plus lente pour les substrats donneurs de liaisons hydrogène, comme attendu (Schéma 109).

¹⁸³ J. Fischer, H. Serier-Brault, P. Nun, V. Coeffard, *Synlett.*, **2020**, *31*, 463-468

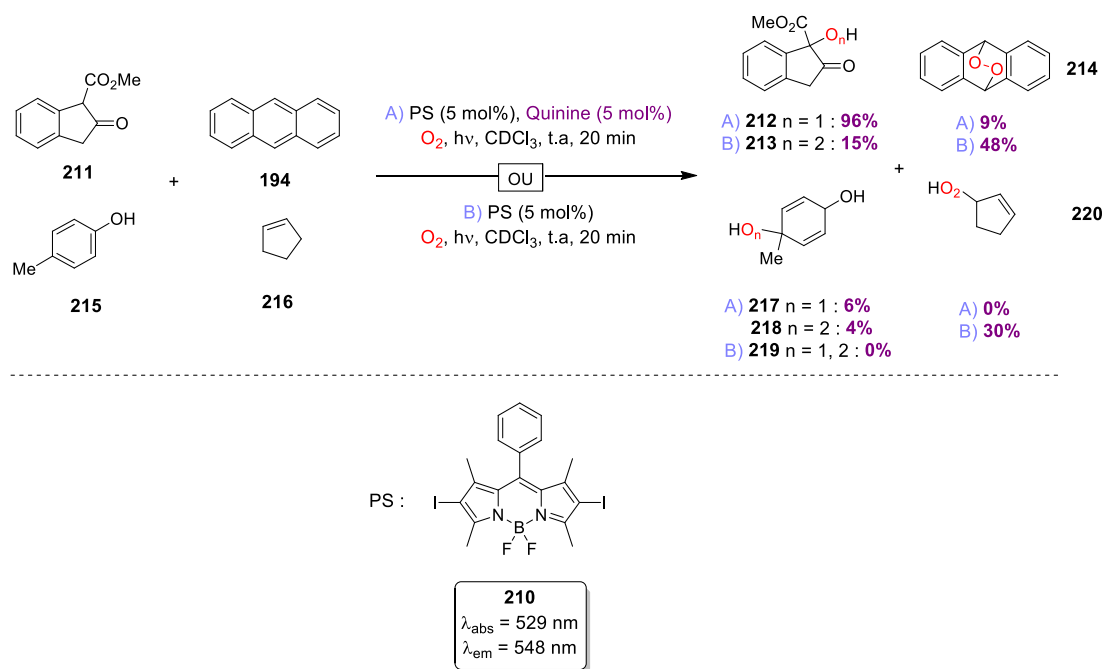


Schéma 109 : Photooxygénation sélective entre quatre substrats différents

Ces différents exemples ont prouvé l'efficacité des BODIPY pour la photosensibilisation de l' O_2 appliquée à l'oxydation, ainsi que l'importance des additifs pour contrôler la sélectivité.

b) Photooxygénation avec une quantité limitée d'oxygène

Les synthèses utilisant l'oxygène singulet emploient en général une irradiation forte et un large excès d'oxygène pour être efficaces. En effet, un flux d'oxygène constant est bullé au sein du milieu réactionnel, mais cela peut mener à des pertes de solvant, surtout pour les réactions à longue durée.

Cependant, des photooxydations de substrats simples ont pu récemment être réalisées avec des diodes électroluminescentes (LED) irradiant à une longueur d'onde définie et en utilisant entre 3 et 16 équivalents d'oxygène. L'équipe de Hulce¹⁸⁴ a, dans un premier temps, remplacé le flux d'oxygène par l'ajout d'un excès connu d'oxygène à l'aide d'une seringue imperméable aux gaz dans un réacteur scellé. Après seulement 20 minutes d'irradiation avec une lampe 500W à filtre IR en présence du bleu de méthylène, le substrat, le 9,10-diméthylanthracène, a été complètement consommé pour former l'endoperoxyde correspondant en tant qu'unique produit. L'efficacité de la photooxydation avec une quantité d'oxygène limitée a donc été prouvée.

En suivant, cette équipe s'est intéressée à la substitution de la lampe par une source d'énergie plus concentrée et à plus faible consommation. Pour cela, la nouvelle source de lumière a été construite à partir de LED de 5 mm, de la même longueur d'onde d'émission. L'expérience précédente a été réitérée avec cette source d'énergie et une conversion supérieure à 98% a été obtenue en trois fois moins de temps. L'efficacité de ce système a été appliquée à plusieurs autres substrats avec d'excellents rendements. Les photooxydations d'anthracènes, du naphthalène **197** et de l' α -terpinène **199** ont mené aux endoperoxydes **194**, **195**, **196** et **200** correspondants. Celle de la cyclone **201** a conduit à la dicétone **202** issue de la décarbonylation de l'endoperoxyde et celle du furfural **203** à la lactone **204** (Schéma 110). Cette équipe a donc réussi à effectuer des photooxydations efficaces à partir d'une source d'énergie bon marché et de quantités limitées d'oxygène. Ceci a ouvert le chemin à un potentiel transfert pour du marquage isotopique par l'oxygène. En effet, les précurseurs de marquage étant souvent coûteux, il est déconseillé d'introduire l'oxygène en large excès et une quantité stœchiométrique est privilégiée.

¹⁸⁴ J. M. Carney, R. J. Hammer, M. Hulce, C. M. Lomas, D. Miyashiro, *Synthesis*, **2012**, 44, 2560-2566

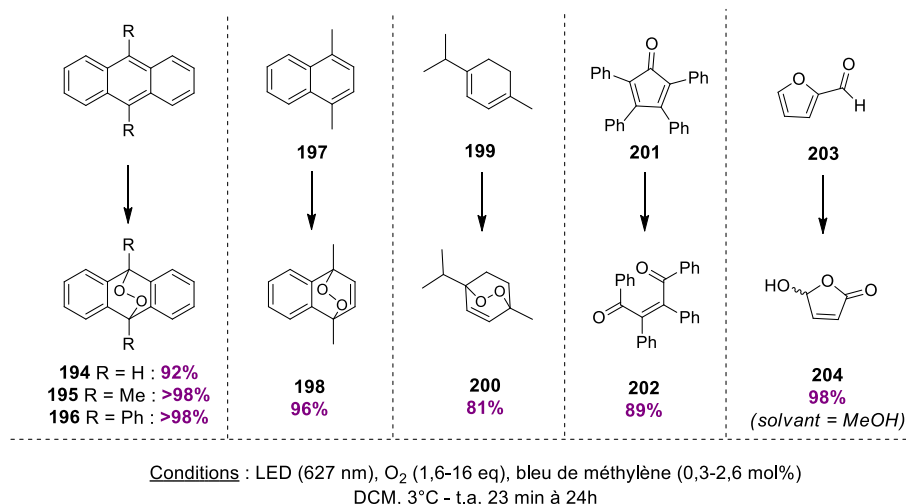


Schéma 110 : Photooxydation avec des LED et une quantité connue d'oxygène de divers substrats

Cependant, diminuer encore plus le nombre d'équivalents d'oxygène reviendrait à baisser la cinétique de la réaction. En outre, une certaine quantité d'oxygène singulet produite *in situ* est neutralisée par le solvant, surtout ceux polaires, réduisant encore l'oxygène singulet disponible pour la photooxydation. Afin d'éviter la baisse de rendement ainsi induite, une alternative serait de développer un processus de photosensibilisation-cycloaddition intramoléculaire.

c) Photooxygénations intramoléculaires

L'oxygène singulet peut intervenir dans des réactions de photooxygénations, et il est en général produit par un photosensibilisateur externe au substrat. Cependant, il existe des systèmes intégrant le PS au substrat, ce qui permet d'améliorer la cinétique de la réaction.

L'équipe de Linker¹⁸⁵ s'est inspirée de systèmes délivrant le sensibilisateur à proximité du tissu tumoral.¹⁸⁶ Elle avait auparavant étudié la compétition entre le transfert d'oxygène singulet intramoléculaire et celui avec un accepteur non relié au donneur d'¹O₂, et en avait conclu la prédominance du transfert intramoléculaire.¹⁸⁷ Cependant, le système développé ne pouvait fournir qu'un seul équivalent d'¹O₂, limitant une étude plus étendue. Une nouvelle méthode générant l'¹O₂ en continu a donc été imaginée. Pour cela, un photosensibilisateur a été connecté avec un accepteur d'¹O₂ via un espaceur alkyle de longueur variable. En ce qui concerne le PS, il s'agissait dans ce cas de la tétraphénylporphyrine, substituée avec un groupement hydroxyle. L'accepteur d'¹O₂ était un alcène trisubstitué, avec une chaîne d'un à sept carbones, portant un atome de brome en bout de chaîne. Celui-ci a permis de relier l'accepteur au PS à l'aide d'une réaction de Williamson formant un lien éther via l'hydroxyle du PS. La photooxygénation de ce système a consisté en une réaction éne donnant un mélange de deux hydroperoxydes régioisomères (Schéma 111). Pour comparer les différents effets, le système sans l'unité PS a également été synthétisé.

¹⁸⁵ M. Klaper, W. Fudickar, T. Linker, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138, 7024-7029

¹⁸⁶ T. Patrice, A. C. E. Moor, B. Ortel, T. Hasan, *Photodynamic Therapy*, **2003**, Cambridge, Royal Society of Chemistry, 284 pages

¹⁸⁷ M. Klaper, T. Linker, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137, 13744-13747

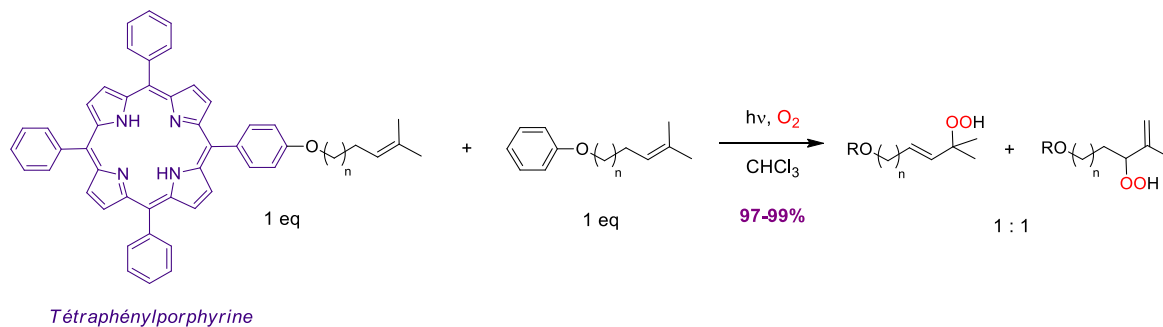


Schéma 111 : Photooxygénation du système intramoléculaire en présence d'une référence

L'étude cinétique de cette photooxydation a ensuite été entreprise. Il a été montré que les molécules avec un nombre de méthylènes pair dans l'espaceur réagissaient plus vite que celles avec un nombre impair, que ce soit de façon intramoléculaire ou intermoléculaire. Dans l'acétonitrile, la cinétique a été légèrement améliorée avec le système intramoléculaire. Avec un solvant désactivant plus l' $^1\text{O}_2$ tel que l'éthanol, la cinétique des deux systèmes a été fortement réduite, comme attendu, mais le ratio entre les deux a augmenté en faveur du système intramoléculaire, montrant un effet positif de l'effet intramoléculaire. En ajoutant une compétition avec un autre substrat tel que le tétraméthyléthylène très réactif avec l' $^1\text{O}_2$, une quasi-absence de réaction intermoléculaire a été observée avec la référence. En revanche, la cinétique du système intramoléculaire est restée élevée. De plus, plus la longueur de la chaîne de l'espaceur augmentait, plus le ratio des réactions intra-/intermoléculaires diminuait, montrant l'impact de la distance sur la cinétique de la réaction intramoléculaire. Cette étude a prouvé que les processus intramoléculaires sont beaucoup plus efficaces que ceux intermoléculaires dans des environnements avec des temps de vie faibles pour l' $^1\text{O}_2$, et que la distance entre le PS et l'accepteur d' $^1\text{O}_2$ y joue un rôle important.

D'autres équipes ont montré qu'il était possible de réaliser une photooxydation avec un PS relié au substrat par des liaisons non covalentes. Celle de Xiao¹⁸⁸ s'est intéressée à une réaction de photooxydation asymétrique, car la plupart des photocatalyseurs utilisés à ce jour pour ce type de réaction sont accompagnés séparément de cocatalyseurs chiraux. Il a donc été tenté de mettre au point un photocatalyseur chiral unique permettant à la fois de générer l'oxygène singulet et d'induire une stéréosélectivité. Après une étude de la littérature, des ligands de type bisoxazolines (BOX) ont été utilisés en combinaison avec des thioxanones en tant que PS. Ces deux motifs ont été liés ensemble par un pont ester, en faisant varier les substituants sur le ligand. Ces potentiels photocatalyseurs ont été testés dans une réaction d'hydroxylation oxydante utilisant la plupart du temps un oxydant fort. Dans le cas présent, ces catalyseurs permettraient de se placer en conditions plus douces en employant simplement l'oxygène de l'air comme oxydant. Tous les composés synthétisés ont donc été engagés dans la photooxygénation asymétrique de β -céto esters. Le ligand BOX a permis de former un complexe énolate avec le substrat en présence d'acide de Lewis métallique. Le photocatalyseur ainsi relié de façon non covalente au β -céto ester a alors été soumis à une irradiation pour former l'oxygène singulet, réagissant ensuite avec l'énolate. La stéréosélectivité était contrôlée par le ligand qui empêchait l'attaque de l' $^1\text{O}_2$ sur une des faces de l'énolate (Schéma 112).

¹⁸⁸ W. Ding, L.-Q. Lu, Q.-Q. Zhou, Y. Wei, J.-R. Chen, W.-J. Xiao, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 63-66

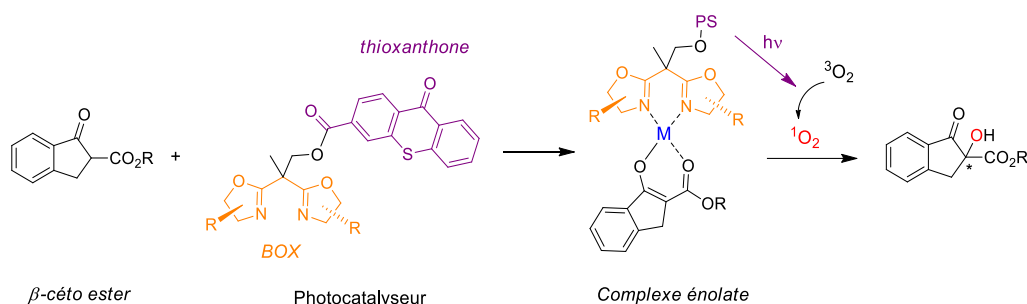


Schéma 112 : Mécanisme de l'hydroxylation oxydante asymétrique de β -céto esters par liaison métallique avec un photocatalyseur bifonctionnel

Les conditions ont été optimisées sur un β -céto ester d'isopropyle **187** avec différents acides de Lewis, solvants et ligands. Le mode opératoire retenu a consisté à utiliser le ligand substitué par des groupements phényles, et l'acétylacétonate de nickel(II), soit Ni(acac)₂, en tant qu'acide de Lewis dans le toluène à -15°C. Ceci a permis d'obtenir le produit d'hydroxylation **190** de configuration *R* avec un rendement de 80% et un excès énantiomérique (ee) de 75%. Les résultats ont pu être améliorés en remplaçant l'isopropyle du substrat par un groupement adamantyle pour former le produit **191** avec un rendement de 97% et un ee de 95% (Schéma 113).

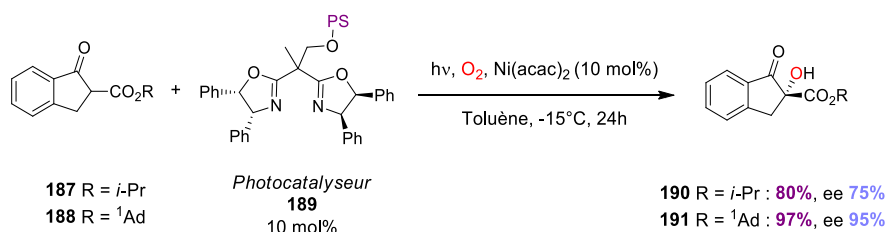


Schéma 113 : Conditions optimales d'hydroxylation asymétrique photocatalysée de β -céto esters

Cette photocatalyse a été appliquée à une grande variété de β -céto esters, donnant de bons rendements et ee. La substitution par des groupements électroattracteurs ou -donneurs sur le phényle n'a eu que peu d'impact. De plus, les motifs sujets à l'oxydation tels que la pyridine ou le thiophène n'ont pas été touchés grâce aux conditions douces. Les substrats avec l'ester encombré ou l'amide ont également donné lieu à d'excellents rendements et ee. Enfin, une molécule plus complexe a été soumise à cette hydroxylation asymétrique. L'œstrone **192** a pu en effet être oxydée avec succès avec une excellente stéréosélectivité et un rendement correct, démontrant l'utilité synthétique de leur photocatalyseur bifonctionnel **189** (Schéma 114).

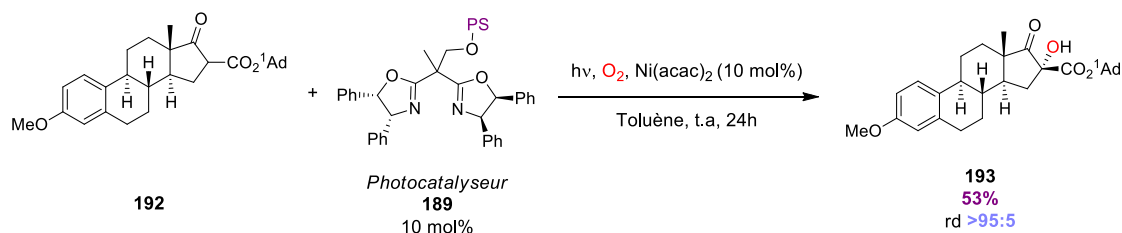


Schéma 114 : Hydroxylation asymétrique photocatalysée appliquée à la molécule d'intérêt pharmaceutique **192**

Cette équipe a donc pu développer un nouveau type de photocatalyseur bifonctionnel **189** qui permet à la fois de générer le réactif oxydant sous irradiation et d'induire la stéréosélectivité via une complexation *in situ* avec le substrat à l'aide d'un précurseur métallique.

De façon similaire à la photooxygénation sélective développée par l'équipe de Coeffard,¹⁸³ cette même équipe a également mis au point un photocatalyseur bifonctionnel à base de BODIPY.¹⁸⁹ Leur

¹⁸⁹ J. Fischer, L. Mele, H. Serier-Brault, P. Nun, V. Coeffard, *Eur. J. Org. Chem.*, **2019**, 6352-6358

objectif était de concevoir un système catalytique permettant de contrôler l'énantiosélectivité de la photooxygenation tout en activant le substrat en présence d'oxygène singulet. De même que précédemment, la quinine a été choisie pour jouer ce double rôle, après un criblage de plusieurs catalyseurs dérivés de *Cinchona*. La photooxygenation du substrat modèle **211** en présence de 5 mol% de quinine et de 2 mol% du BODIPY **210** dans le chloroforme a conduit à un rendement de 83% et un excès énantiomérique de 38% (Schéma 115).

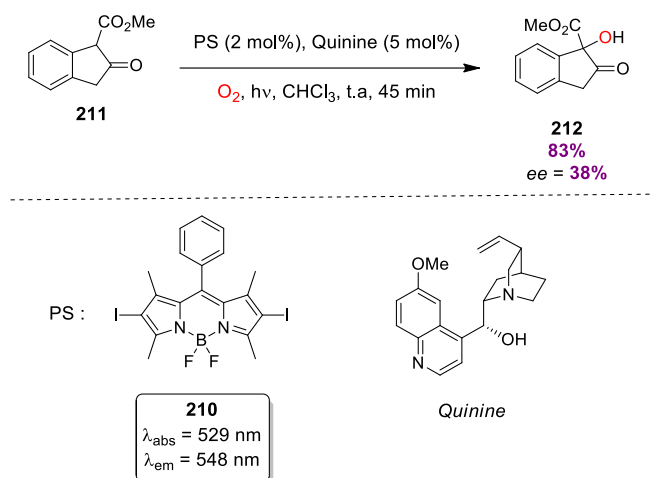


Schéma 115 : Photooxygenation énantiosélective du β -cétoester **211** en présence du PS **210** et de la quinine

Afin d'améliorer cet excès énantiomérique, il a été envisagé de rapprocher la source d'oxygène singulet à la quinine, permettant de minimiser la racémisation éventuelle. Le catalyseur bifonctionnel **210-Q** composé du BODIPY **210** relié à la quinine par une réaction de CuAAC a donc été synthétisé et testé dans la même réaction de photooxygenation. Une légère amélioration de l'excès énantiomérique à 40% a été observée dans les mêmes conditions. De plus, la baisse de la température à 0°C a permis d'améliorer le rendement à 80% sans modifier l'excès énantiomérique (Schéma 116).

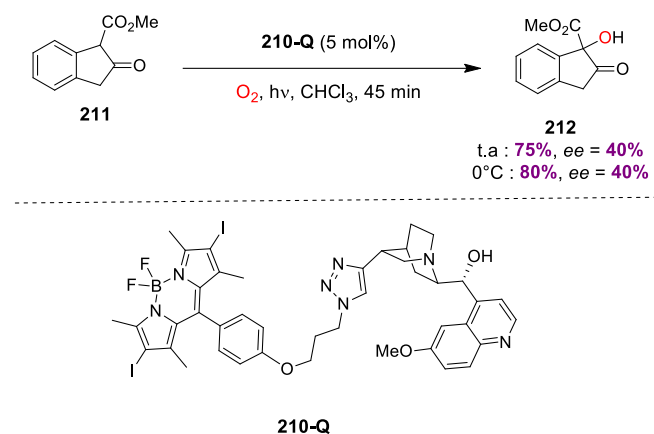


Schéma 116 : Photooxygenation énantiosélective du β -cétoester **211** en présence du catalyseur bifonctionnel **210-Q**

Il existe ainsi différents systèmes composés de PS permettant d'améliorer les cinétiques de réactions de photooxydation avec l'oxygène singulet par effet intramoléculaire. Les BODIPY diiodés sont particulièrement intéressants dans ce type de système de par leur rendement quantique de production d'oxygène singulet élevé et leur modularité.

3) La thérapie photodynamique (PDT)

a) Exemples de BODIPY appliqués en thérapie photodynamique

Un autre intérêt des BODIPY en tant que photosensibilisateur de l'oxygène est leur application en thérapie photodynamique, une technique permettant le traitement de tumeurs cancéreuses. Elle nécessite un PS, de la lumière et de l'oxygène. Le PS sous irradiation génère l'oxygène singulet qui cause des dommages aux tissus environnants. Comme la durée de vie de l' $^1\text{O}_2$ est relativement courte dans l'eau, son action est hautement localisée. Dans le traitement du cancer, la thérapie photodynamique peut ainsi détruire les systèmes vasculaires autour des cellules tumorales et activer les réponses immunitaires contre ces cellules. Cette technique non-invasive peut être répétée sans induire de résistance.¹⁹⁰

Il n'existe à ce jour qu'un nombre limité d'agents de thérapie photodynamique approuvés cliniquement, la plupart à base de porphyrine. Cependant, ils présentent de faibles absorbances, ce qui nécessite une irradiation prolongée via une source de haute énergie entraînant souvent des complications. De ce fait, le développement de nouveaux agents plus efficaces est en plein essor. Ils doivent pour cela posséder certaines propriétés : une faible toxicité en l'absence de lumière, des effets secondaires minimes, un équilibre lipophilie/hydrophilie approprié pour une accumulation sélective dans les tissus tumoraux, un coefficient d'extinction molaire élevé pour une pénétration de la lumière dans les tissus plus profonde et une conversion intersystème efficace.

Cependant, la modification des tétrapyrroles cycliques pour optimiser leurs propriétés photophysiques et biologiques se révèle particulièrement difficile. Les BODIPY ont donc récemment émergé comme potentiels agents de thérapie photodynamique. En effet, leur structure est facilement modulable et ils présentent des coefficients d'extinction molaire élevés.

Afin d'améliorer la conversion intersystème, des équipes se sont intéressées à l'introduction d'halogènes pour induire l'effet d'atome lourd, comme expliqué précédemment. Par exemple, l'équipe de Nagano¹⁹¹ a iodé le BODIPY tétraméthylé classique en positions 2 et 6. Ceci n'a pas affecté son coefficient d'extinction molaire, qui est resté élevé, mais comme attendu, son rendement quantique de fluorescence a drastiquement chuté, passant de 0,7 à 0,02 dans le méthanol. Ils ont ensuite comparé sa capacité à générer l'oxygène singulet avec le rose Bengale et il s'est révélé 1,34 fois plus efficace. De plus, son efficacité est restée similaire dans plusieurs solvants différents. Enfin, sa phototoxicité a été étudiée en le plaçant en présence de cellules cancéreuses et en le soumettant à une lumière verte pendant 1 minute. Après l'ajout de calcéine AM, un marqueur de cellules vivantes, et d'homodimère-1 éthidium (EthD-1), un marqueur de cellules mortes, aucun signal de fluorescence n'a été observé avec la calcéine AM, mais au contraire, des signaux sont apparus avec l'EthD-1 en présence de lumière, et inversement en l'absence de lumière. Ceci a prouvé la phototoxicité cellulaire du BODIPY **221** sous irradiation, qui a donc montré son potentiel pour la thérapie photodynamique (Figure 45).

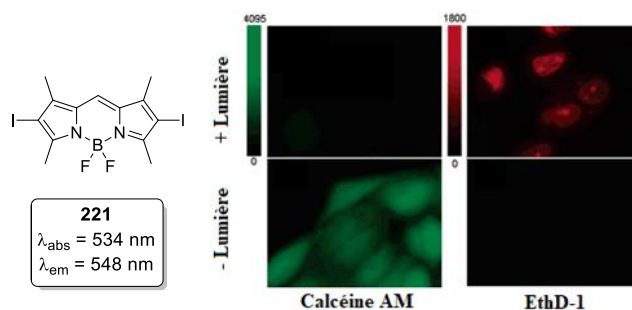


Figure 45 : Images de fluorescence de cellules cancéreuses traitées avec le BODIPY iodé **221** avec ou sans lumière et en présence de marqueurs de cellules vivantes ou mortes

¹⁹⁰ A. Kamkaew, S. H. Lim, H. B. Lee, L. V. Kiew, L. Y. Chung, K. Burgess, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 77-88

¹⁹¹ T. Yogo, Y. Urano, Y. Ishitsuka, F. Maniwa, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 12162-12163

D'autre part, l'équipe de Gallagher¹⁹² a pu prouver l'efficacité de l'aza-BODIPY dibromé **222** *in vivo*. Une série de plusieurs aza-BODIPY a montré une phototoxicité sur diverses lignées cellulaires tumorales.¹⁹³ Le plus prometteur a ensuite été sélectionné pour des essais *in vivo* sur des souris greffées avec des tumeurs du cancer du sein. La thérapie photodynamique avec l'aza-BODIPY **222** s'est révélée tolérée et hautement efficace avec un taux de guérison de 71%. L'ablation de la tumeur a été observée grâce à la réduction de la fluorescence émise par une protéine fluorescente verte (Figure 46). De plus, l'aza-BODIPY **222** possède des biodistribution et élimination idéales. Deux jours après le traitement, aucun signal de fluorescence liée au BODIPY **222** et aucune toxicité n'ont été observés. Cette molécule **222** représente donc un potentiel nouvel agent de thérapie photodynamique applicable pour un essai clinique de phase I.

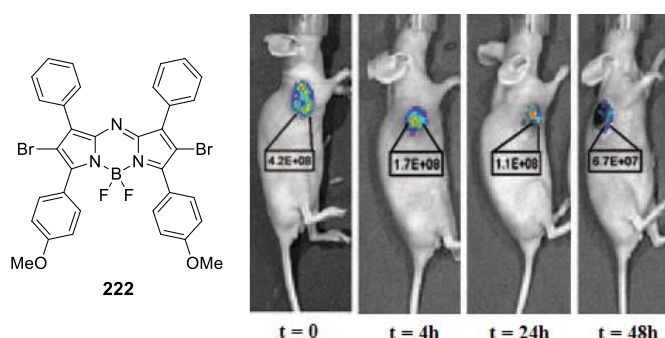


Figure 46 : Images par fluorescence de souris greffées avec des tumeurs mammaires traitées par thérapie photodynamique avec l'aza-BODIPY **222**

Cependant, l'introduction d'atomes lourds peut parfois mener à une toxicité dans le noir et à une faible fluorescence, limitant potentiellement les applications biologiques. De nouvelles stratégies sont donc développées pour améliorer la conversion intersystème et donc l'efficacité de la génération d'oxygène singulet. Par exemple, il existe des approches par des états excités doublement substitués, par conversion de spin ou par transfert d'électrons photoinduit.

Très récemment, l'équipe de Nguyen¹⁹⁴ s'est particulièrement intéressée au concept consistant à moduler la différence d'énergie entre l'état excité singulet le plus bas en énergie et l'état triplet le plus bas en énergie (ΔE_{ST}). Ils ont donc cherché à construire des systèmes π -conjugués donneur-accepteur (D-A) de BODIPY « tordus » en liant un groupement donneur à un BODIPY via un espaceur phényle. Parmi les différents composés synthétisés, le plus prometteur a été le BODIPY tétraméthylé substitué en position *méso* par une phénoxazine **223**. Des calculs théoriques ont montré que l'augmentation de la force du groupement donneur entraînait la diminution du ΔE_{ST} . Avec la phénoxazine, l'angle de torsion s'est agrandi menant au ΔE_{ST} le plus bas. Concernant ses propriétés spectroscopiques, le composé **223** possède un coefficient d'extinction molaire élevé et son rendement quantique de fluorescence a drastiquement chuté en lien avec l'amélioration de la conversion intersystème. En effet, son rendement quantique de production d'oxygène singulet s'est révélé plutôt élevé. Ceci a prouvé l'efficacité de la stratégie de modulation du ΔE_{ST} . Pour tester cette molécule *in vitro* et *in vivo*, elle a été encapsulée dans des nanoparticules. L'évaluation *in vitro* sur des cellules cancéreuses a montré une bonne efficacité de génération d'oxygène singulet et une phototoxicité élevée après une heure d'irradiation. En effet, les cellules mortes ont été visualisées à l'aide d'iodure de propidium, alors qu'aucun signal n'a été observé en l'absence de lumière. Enfin, ses capacités thérapeutiques *in vivo* ont été évaluées sur des souris porteuses de tumeurs. Après une injection directe dans la tumeur, un fort signal de fluorescence a été observé (Figure 47). Trois jours après un traitement par irradiation,

¹⁹² A. T. Byrne, A. E. O'Connor, M. Hall, J. Murtagh, K. O'Neill, K. M. Curran, K. Mongrain, J. A. Rousseau, R. Lecomte, S. McGee, J. J. Callanan, D. F. O'Shea, W. M. Gallagher, *Br. J. Cancer*, **2009**, *101*, 1565-1573

¹⁹³ A. Gorman, J. Killoran, C. O'Shea, T. Kenna, W. M. Gallagher, D. F. O'Shea, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 10619-10631

¹⁹⁴ V.-N. Nguyen, Y. Yim, S. Kim, B. Ryu, K. M. K. Swamy, G. Kim, N. Kwon, C.-Y. Kim, S. Park, J. Yoon, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, *59*, 1-7

70% de la croissance de la tumeur ont été inhibés et des lésions nécrotiques ont été observées. Cette étude a prouvé que le BODIPY **223** pouvait être un potentiel agent théranostique.

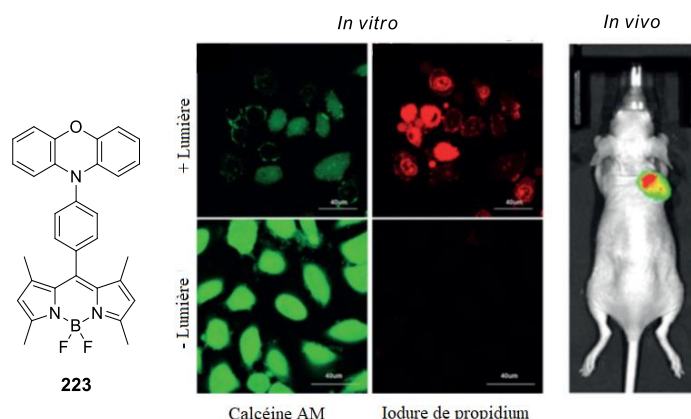


Figure 47 : Images par fluorescence à l'aide de marqueurs de cellules vivantes ou mortes de cellules cancéreuses traitées avec le BODIPY **223** par irradiation et d'une tumeur portée par une souris injectée avec le BODIPY **223**

Cependant, l'inconvénient majeur de la thérapie photodynamique reste son manque de sélectivité pour une cible précise. La réactivité élevée de l'oxygène singulet peut en effet causer des dommages aux tissus sains, bien que son périmètre d'action se limite par sa courte durée de vie. Il peut donc être intéressant de conjuguer les PS avec des molécules spécifiques d'une cible biologique afin d'avoir des molécules thérapeutiques plus spécifiques.

b) Applications spécifiques au cancer du sein

En 1993, la PDT a été étudiée en tant que traitement palliatif du cancer du sein dans le cas de récurrence cutanée,¹⁹⁵ puis son utilisation potentielle en tant que traitement curatif a été examinée. L'équipe de Fukumura¹⁹⁶ a prouvé que la PDT pouvait retarder la croissance tumorale dans des modèles de tumeurs orthotopiques du cancer du sein sur des souris. Cependant, la plupart des agents de PDT s'accumulait peu dans les cellules malignes, conduisant à un besoin de développer de nouveaux agents plus spécifiques. C'est dans ce contexte que l'équipe de Ray¹⁹⁷ a envisagé le couplage d'un œstrogène avec une toxine présentant une tendance naturelle dans les cellules tumorales. La photo-toxine ester diméthylrique de chlorure e6 a donc été couplée avec l'éthinylœstradiol via un espaceur de chaîne variable pour former les conjugués E₁₇-POR (n = 1-3, 8). Des études *in vitro* de ces conjugués ont montré leur capacité à se lier spécifiquement aux ERα en fonction de leur concentration, malgré une affinité bien moins élevée que l'œstradiol. Les concentrations efficaces médianes ont été déterminées entre 3 et 8 nM pour les conjugués, contre 0,01 nM pour l'œstradiol. Leur activité photodynamique a ensuite été étudiée en la comparant avec la chlorure e6 non conjugué. Les images fournies par un microscope des cellules MCF-7 traitées avec les conjugués E₁₇-POR ou la chlorure e6 dans le noir n'ont montré aucune différence avec le contrôle. Or, après irradiation, une forte destruction des cellules a été observée en présence des conjugués E₁₇-POR, alors qu'aucune cellule n'a été touchée avec la chlorure e6 (Figure 48). Ces images ont été comparées avec celles de cellules d'ER-MDA-MB 231, et dans ce cas, aucune différence n'a été observée entre les conjugués E₁₇-POR ou la chlorure e6 et le contrôle, que ce soit en absence ou en présence d'irradiation, démontrant l'accumulation spécifique des conjugués E₁₇-POR en présence d'ER, malgré une affinité de liaison plus faible que l'œstradiol. Ces conjugués ont donc montré un fort potentiel d'agents de PDT pour cibler les ER, et de plus amples études *in vivo* sont en cours.

¹⁹⁵ S. A. Khan, T. J. Dougherty, T. S. Mang, *Eur. J. Cancer*, **1993**, 29, 1686-1690

¹⁹⁶ D. E. J. G. J. Dolmans, A. Kadambi, J. S. Hill, K. R. Flores, J. N. Gerber, J. P. Walker, I. H. M. Borel Rinkes, R. K. Jain, D. Fukumura, *Cancer Res.*, **2002**, 62, 4289-4294

¹⁹⁷ N. Swamy, A. Purohit, A. Fernandez-Gacio, G. B. Jones, R. Ray, *J. Cell. Biochem.*, **2006**, 99, 966-977

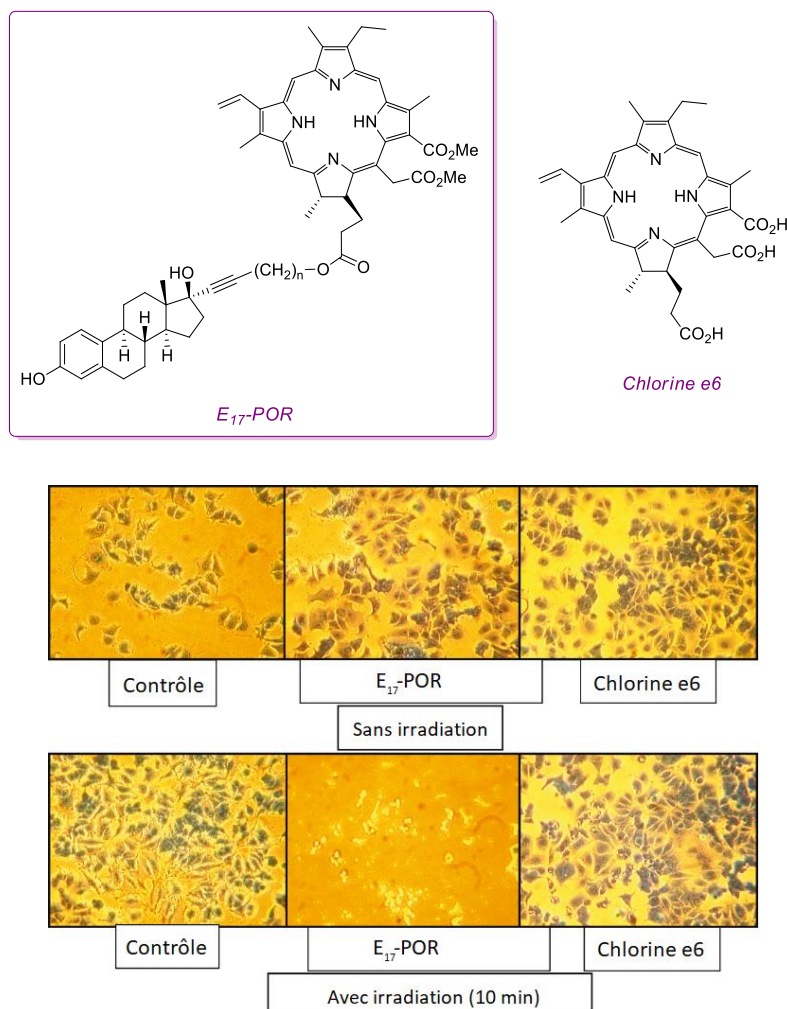


Figure 48 : Images des cellules MCF-7 traitées avec l'*E₁₇-POR* ou la chlorine e6, soit exposées à la lumière rouge, soit gardées dans le noir

L'équipe de Fan¹⁹⁸ s'est récemment intéressée au développement d'un agent de PDT basé sur un complexe de ruthénium polypyridyle. En effet, ceux-ci sont connus pour leur forte absorption dans le visible et leur état triplet excité de longue durée de vie, menant à une génération efficace d'oxygène singulet. De plus, ils possèdent une solubilité dans l'eau favorable à l'internalisation cellulaire. Plusieurs PS efficaces à base de complexe de ruthénium ont déjà été décrits, mais ils manquent de sélectivité pour les cellules cancéreuses, conduisant à une phototoxicité non souhaitée sur les cellules saines. Dans le cas du cancer du sein, leur application reste donc limitée. L'équipe de Fan a alors développé un potentiel agent de PDT, le Ru-tmx, composé d'un complexe de ruthénium polypyridyle relié au tamoxifène par un espaceur composé d'un triazole (Figure 49).

¹⁹⁸ X. Zhao, M. Li, W. Sun, J. Fan, J. Du, X. Peng, *Chem. Commun.*, **2018**, 54, 7038-7041

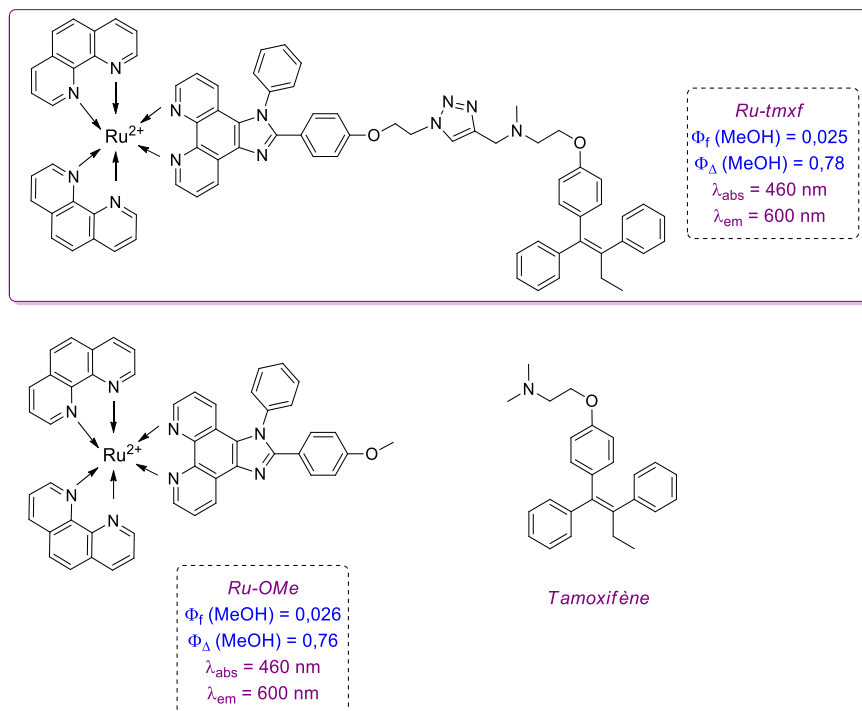


Figure 49 : Structures du potentiel agent de PDT Ru-tmx, du PS Ru-OMe et du tamoxifène

Son activité *in vitro* sur des cellules MCF-7 a été comparée avec un complexe de ruthénium non conjugué, le Ru-OMe, par l'observation des signaux de fluorescence correspondants, et cette étude a montré une meilleure accumulation cellulaire du Ru-tmx, prouvant l'efficacité de la bioconjugaison. De plus, le Ru-tmx s'est révélé sélectif pour les ER par comparaison avec les cellules ER- MDA-MB 231 où une très faible fluorescence a été observée. Une étude de compétition avec l'œstradiol a également été menée dans les cellules MCF-7, montrant que l'addition d'œstradiol inhibait significativement l'assimilation de Ru-tmx par les cellules, alors qu'aucun changement n'a été remarqué avec le Ru-OMe. La phototoxicité du potentiel agent de PDT a ensuite été examinée. Dans le noir, le Ru-tmx et le Ru-OMe n'ont montré qu'une très faible cytotoxicité, en revanche, une concentration de 16 μ M de Ru-tmx a permis, après irradiation, une réduction de la viabilité cellulaire de 99%, alors que le Ru-OMe n'a entraîné que 17% de mort cellulaire dans les mêmes conditions. Des images de luminescence de traitement photodynamique de différentes cellules avec le Ru-tmx en présence de marqueurs cellulaires ont été réalisées, montrant une forte phototoxicité seulement dans le cas de cellules MCF-7 (Figure 50). Ceci a permis de prouver l'excellente spécificité de l'agent Ru-tmx pour les cellules cancéreuses de type ER+.

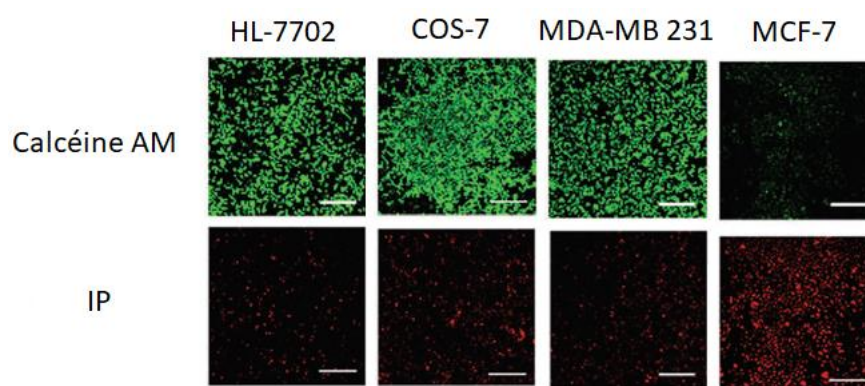


Figure 50 : Images de luminescences de différentes cellules traitées avec le Ru-tmx après irradiation

B) Développement de nouveaux photosensibilisateurs bifonctionnels

Les catalyseurs bifonctionnels présentés précédemment ont inspiré le développement de nouveaux photocatalyseurs permettant l'utilisation de quantité stœchiométrique d'oxygène via une interaction intramoléculaire. Pour cela, il a été envisagé de former une liaison du photosensibilisateur avec le substrat à oxyder de façon non covalente par des liaisons hydrogènes ou de manière covalente par une liaison réversible.

Dans le premier cas, des fonctions de type urées permettraient les interactions par liaisons hydrogène et dans le second, une amine pourrait former une liaison réversible avec un groupement carbonyle. Le BODIPY diiodé a été choisi comme PS du fait de son rendement de production d'oxygène singulet élevé, sur lequel les fonctions nécessaires pourront être greffées. Concernant le substrat, le furfural comportant un groupement carbonyle est apparu comme un modèle convaincant, sa photooxydation étant décrite dans la littérature.

En parallèle, des références seront synthétisées pour pouvoir comparer l'activité des nouveaux photocatalyseurs dans la photooxydation du furfural.

1) Objectifs

Pour étudier les nouveaux photocatalyseurs, l'intérêt s'est porté sur la photooxydation du furfural. Elle est en effet connue dans la littérature et ce substrat comporte un groupement carbonyle capable d'effectuer soit des liaisons hydrogène avec une urée, soit une réaction avec une amine pour former une imine.

L'hypothèse consistait à supposer que le furfural interagirait avec la fonction urée introduite sur le BODIPY par l'intermédiaire de liaisons hydrogène, permettant de rapprocher le substrat de la source de production d'oxygène singulet, et ainsi augmenter la cinétique de la réaction (Figure 51).

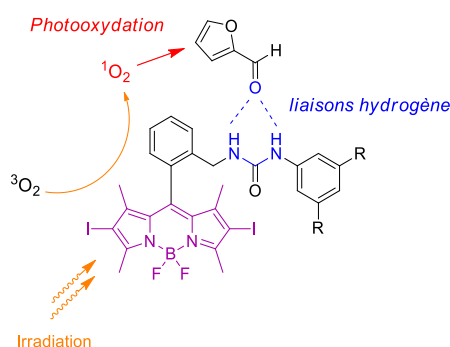


Figure 51 : Hypothèse de formation d'interactions intramoléculaires par liaisons hydrogène avec le BODIPY de type urée

De même, le BODIPY de type amine pourrait former une imine avec le furfural pour le rapprocher du noyau BODIPY (Figure 52).

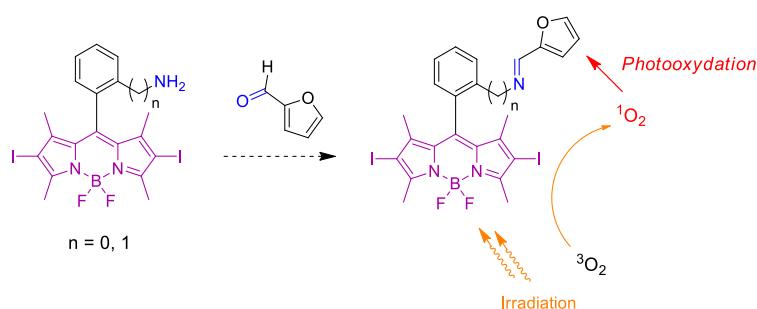


Figure 52 : Hypothèse de formation de liaisons covalentes réversibles avec le BODIPY de type amine

Concernant le mécanisme de la photooxydation du furfural **203**, il a été étudié en premier lieu par l'équipe de Gollnick en 1985 (Schéma 117).¹⁹⁹ La réaction du furfural **203** avec l' $^1\text{O}_2$ donnerait dans un premier temps un intermédiaire endopéroxyde **230**. Ensuite, l'atome d'oxygène d'une fonction alcool ou de l'eau attaquerait l'atome de carbone du groupement carbonyle de l'intermédiaire **230** et, après réarrangement, la 5-hydroxyfuran-2(5H)-one **204** serait formée en présence du formiate de l'alcool correspondant ou de l'acide formique.

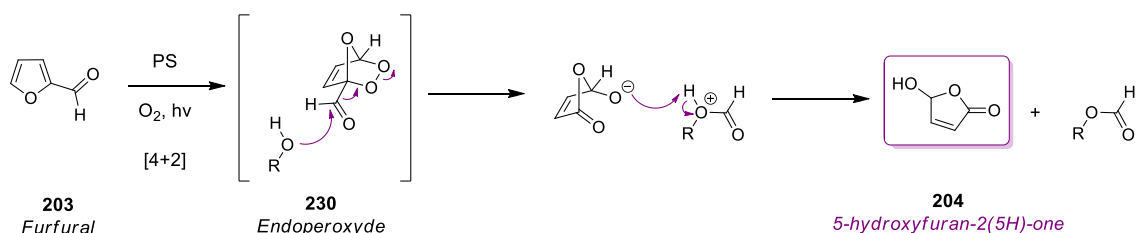


Schéma 117 : Mécanisme supposé de la photooxydation du furfural **203**

2) Synthèse de nouveaux photosensibilisateurs

a) Synthèse de photosensibilisateurs de type urée

Dans le cadre de la stratégie énoncée, il a été envisagé de synthétiser des BODIPY diiodés en positions 2 et 6, et substitués en position *méso* par un phényle, sur lequel les fonctions urées seront ajoutées. Comme expliqué précédemment, l'introduction des atomes d'iodes permet d'améliorer la production d'oxygène singulet via l'effet d'atomes lourds. Les fonctions urées pourraient être introduites via l'addition d'un BODIPY amine sur un isocyanate. Cette amine pourrait être formée par la réduction d'un azoture **231**, issu du BODIPY **59** possédant une fonction alcool synthétisé précédemment.

Dans un premier temps, la formation du BODIPY de type urée désiré a été tentée avant la diiodation. Pour cela, la fonction alcool du BODIPY **59** a été convertie en azoture à l'aide d'azoture de diphénylphosphoryle (DPPA) et de DBU dans le toluène, donnant le BODIPY azoture désiré **231** avec un rendement de 72% et le sous-produit d'oxyde de phosphore **232** (Schéma 118).

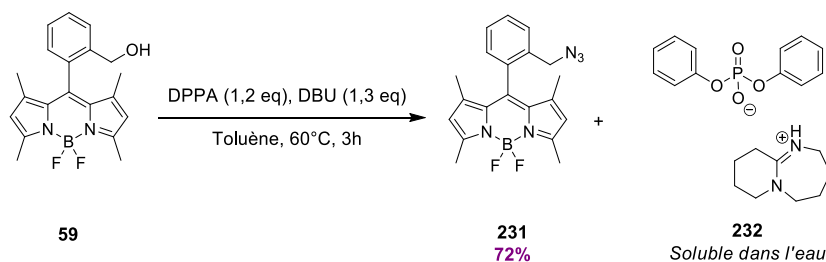


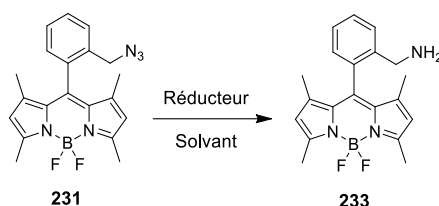
Schéma 118 : Formation de l'azoture **231** à partir du BODIPY **59**

Ensuite, l'azoture **231** a été engagé dans l'étape de réduction pour obtenir l'amine **233** correspondante. Pour cela, plusieurs solutions étaient disponibles (Tableau 14). Tout d'abord, une simple hydrogénation sur palladium dans l'éthanol a été testée. Malheureusement, le produit **233** semblait s'être dégradé d'après le spectre RMN ^1H du brut réactionnel (entrée 1). Le même résultat a été observé en utilisant un réducteur fort tel que le LAH (entrée 2). Des conditions plus douces ont été utilisées en employant du zinc couplé avec du chlorure d'ammonium et la formation du produit désiré **233** a enfin été observée, mais en présence de plusieurs sous-produits. Après colonne, 15% de produit de départ **231** et une fraction de mélange du BODIPY **59** avec un sous-produit ont été récupérés, mais

¹⁹⁹ K. Gollnick, A. Grifsbek, *Tetrahedron*, **1985**, 41, 2057-2068

aucune trace de l'amine désirée **233** (entrée 3). La CCM du brut réactionnel a présenté une succession de tâches, montrant la potentielle dégradation du produit souhaité **233**. Le zinc combiné avec du formiate d'ammonium a permis de former le produit **233** plus rapidement et avec une meilleure conversion, mais des sous-produits ont encore été observés dans le brut réactionnel. De même, après une colonne, l'amine **233** n'a pas pu être récupérée, seul du produit de départ **231** a été isolé (entrée 4). Un dernier essai a été tenté avec la triphénylphosphine, pour effectuer une réaction de Staudinger, en ajoutant de l'eau distillée après la formation de l'iminophosphorane. Cette réaction a semblé très efficace avec une conversion totale et l'absence de sous-produits, mais le produit désiré **233** était en présence d'une grande quantité d'oxyde de triphénylphosphine. Une purification était donc primordiale pour caractériser le produit **233**, or il semblait se dégrader sur silice (entrée 5). La formation du chlorhydrate correspondant a donc été essayée à l'aide d'acide chlorhydrique, mais sans succès.

Tableau 14 : Essais de réduction de l'azoture **231** en amine **233**



Entrée	Réducteur	Solvant	Conditions	Conversion	Rendement
1	H ₂ Pd/C (0,5 eq)	EtOH	15h à t.a	Dégradation	-
2	LiAlH ₄ (1 eq)	THF	45 min à t.a	Dégradation	-
3	Zn (1,3 eq) NH ₄ Cl (2,5 eq)	EtOH/H ₂ O	22h à 80°C	37% Plusieurs produits	0%
4	Zn (3 eq) HCOONH ₄ (2 eq)	MeOH	4h à t.a	70% Plusieurs produits	0%
5	1) PPh ₃ (2 eq) 2) H ₂ O	THF	1) 2h à 0°C 2) 16h à t.a	100%	Traces en mélange

La stratégie a donc été modifiée en remplaçant la formation de l'azoture **231** à partir du BODIPY **59** par sa conversion en mésylate correspondant **234**. Cette réaction s'est effectuée très rapidement à l'aide de chlorure de mésylate en présence de DMAP et de triéthylamine avec un excellent rendement de 90% sans besoin de purification (Schéma 119).

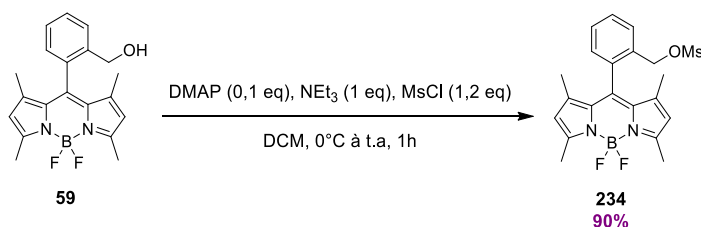
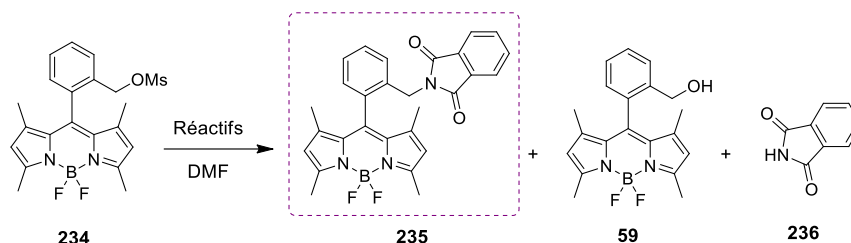


Schéma 119 : Conversion de l'alcool **59** en mésylate **234**

Un groupement phtalimide a ensuite été introduit à la place du mésylate (Tableau 15). Dans un premier temps, le NaH a été mis en présence de phtalimide pour déprotoner ce dernier. En agitant la réaction pendant 3 jours à température ambiante, une faible conversion de 34% a été observée. Le produit **235** n'a pas pu être isolé, car son rapport frontal sur CCM était identique à ceux du phtalimide **236** et du produit de départ **234**, mais la RMN ¹H a indiqué un rendement théorique de 7% (entrée 1).

L'expérience a été réitérée en augmentant la quantité de NaH, et en chauffant le milieu réactionnel jusqu'à 100°C pour arriver à une conversion complète. Quelques milligrammes de produit pur **235** ont pu être obtenus grâce à une plaque préparative, conduisant à l'obtention du produit **235** avec un rendement de 18% (entrée 2). En dernier recours, l'utilisation directe du phtalimide de potassium a été tentée en chauffant à 70°C pour arriver à une conversion correcte de 79%, mais cette fois-ci, la formation du BODIPY **59**, en plus de celui désiré **235**, a été observée (entrée 3).

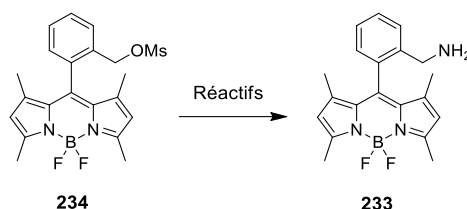
Tableau 15 : Essais de substitution du mésylate **234** par un phtalimide **235**



	Réactifs	Conditions	Conversion	Rendement
1	NaH (1,2 eq) Phtalimide (1,2 eq)	3 jours à t.a	34%	235/59/SM : 11/63/26 rdt RMN 235 = 7%
2	NaH (2 eq) Phtalimide (1,2 eq)	16h à t.a, 1h à 50°C, 2h à 80°C, 1h à 100°C	100%	18%
3	Phtalimide de potassium (2,4 eq)	4h à 70°C	79%	236 en majorité Traces de 235 et 59

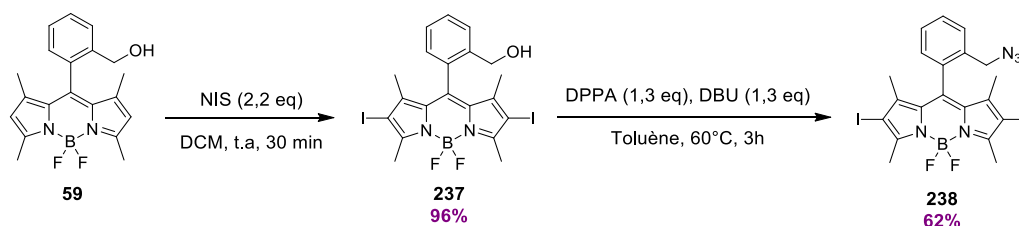
Enfin, la déprotection du phtalimide **235** en amine **233** a été tentée à l'aide d'hydrazine. Une conversion complète a bien été observée, mais un produit différent de celui souhaité et de nombreuses impuretés ont été formés.

Au lieu de passer par un phtalimide **235**, il a été envisagé de substituer directement le mésylate **234** avec une solution d'ammoniac pour obtenir l'amine désirée **233** (Tableau 16). Dans un premier temps, une solution d'ammoniac dans le méthanol a été utilisée, mais la formation de plusieurs sous-produits (dont celui issu de la substitution du mésylate par le méthanol) a été observée. Un produit ressemblant au produit désiré **233** d'après le spectre RMN ¹H a quand même été isolé avec un rendement de 25%, mais l'analyse de masse n'a pas été concluante (entrée 1). Pour éviter les réactions secondaires, une solution aqueuse d'ammoniaque a ensuite été engagée. Le même produit correspondant à l'amine **233** a été formé en l'absence de sous-produits, mais il n'a été récupéré après colonne que de façon impure et avec un rendement de 28% malgré une conversion complète (entrée 2). Un dernier essai a été réalisé en formant l'ammoniac *in situ* à l'aide de chlorure d'ammonium et de *tert*-butylate de potassium, mais seul un mélange complexe a été observé (entrée 3).

Tableau 16 : Essais de substitution du mésylate **234** par NH_3 

Entrée	Réactifs	Solvant	Conditions	Conversion	Rendement
1	NH_3/MeOH (7M) (excès)	DMF	24h au reflux	100%	25% ?
2	NH_3 (aq) (excès)	THF	15h à 68°C	100%	28% ?
3	NH_4Cl (10 eq) $t\text{BuOK}$ (10 eq)	DMF	22h à t.a	Dégradation	0%

Tous ces essais infructueux amenant à penser que le BODIPY amine **233** était peu stable, l'hypothèse de l'introduction des atomes d'iode avant la réduction de l'azoture pour permettre d'améliorer la stabilité a été émise. Le BODIPY alcool **59** a donc été diiodé à l'aide de NIS dans le dichlorométhane avec un excellent rendement de 96% sans besoin de purification. Puis, le BODIPY iodé **237** a été engagé dans la réaction avec le DPPA en présence de DBU pour former l'azoture **238** dans les mêmes conditions que précédemment. Le BODIPY azoture diiodé **238** a été obtenu avec un rendement de 62%, légèrement plus faible que le non iodé **231** (Schéma 120).

Schéma 120 : Formation de l'azoture iodé **238** à partir de l'alcool **59**

Compte tenu des résultats de réduction précédents sur le BODIPY non iodé **231**, la réaction de Staudinger semblait être la plus efficace. Le BODIPY azoture iodé **238** a donc été engagé dans les mêmes conditions en présence de triphénylphosphine, mais le problème de séparation entre l'oxyde de triphénylphosphine et le produit désiré **240** a de nouveau été rencontré, malgré un rendement théorique de 56%. Une chromatographie sur alumine a été tentée, mais sans succès. Pour s'affranchir de la formation de l'oxyde de triphénylphosphine, la réaction de Staudinger a été tentée à l'aide de triphénylphosphine supportée. Cependant, moins de 15% du produit attendu **240** en présence d'impuretés ont été récupérés après filtration du milieu réactionnel.

Etant donné la difficulté d'isoler l'amine iodé **240**, il semblait préférable de protéger cette fonction sitôt la réduction réalisée. De ce fait, la réaction de Staudinger avec la triphénylphosphine a été effectuée sur l'azoture iodé **238**, et après avoir vérifié la complétion de la réaction, le milieu réactionnel a été concentré sous vide puis engagé directement dans la protection de la fonction amine par un groupement Boc à l'aide de dicarbonate de di-*tert*-butyle en présence de triéthylamine. La réaction a été quasiment complète, mais deux produits ont été formés avec un ratio de 65/35, le produit désiré **239** étant majoritaire et l'autre non identifié. Malheureusement, après colonne, le produit souhaité **239** a été récupéré avec un rendement de seulement 15%. Cependant, il a pu être purifié sans problème de contamination avec l'oxyde de triphénylphosphine avec ces conditions.

Deux tentatives de déprotection en amine iodé **240** ont ensuite été réalisées en milieu acide, la première utilisant un large excès de TFA, et la deuxième étant réalisée avec de l'acide chlorhydrique dans l'éther diéthylique, toujours en large excès. Malheureusement, ces conditions n'ont pas permis d'obtenir le produit désiré **240** et de nombreux sous-produits de dégradation se sont formés (Schéma 121).

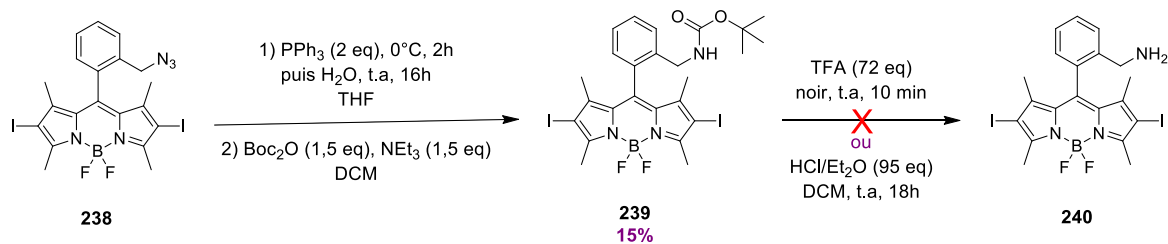


Schéma 121 : Réduction de l'azoture iodé **238** et protection/déprotection en amine iodé **240**

Après ces nombreux essais non concluants, il a été envisagé de faire réagir l'amine **240** non isolée directement avec un isocyanate pour former l'urée finale **241**. Dans un premier temps, l'isocyanate de phényle commercial a été engagé après la concentration sous vide du milieu réactionnel à l'issue de la réaction de Staudinger. Après 1h de réaction à température ambiante, une conversion complète et un seul produit formé ont été observés. Après une purification sur colonne, l'urée désirée **241** a été isolée avec un rendement convenable de 41% (Schéma 122). Ce nouveau protocole a donc permis la synthèse du premier photocatalyseur de type urée **241**.

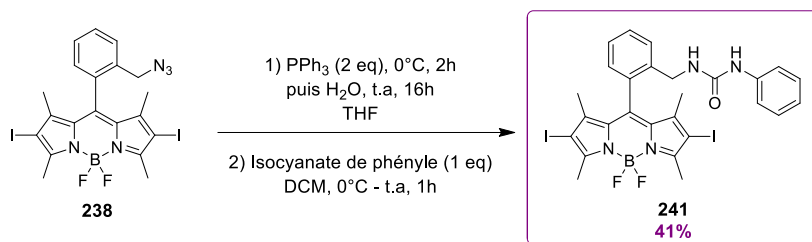


Schéma 122 : Formation de l'urée **241** à partir de l'azoture **238**

Pour pouvoir comparer son activité, un autre isocyanate a été choisi pour obtenir une urée différente, l'isocyanate de 3,5-bis(trifluorométhyl)phényle **242**. Il diffère par la présence de deux groupements trifluorométhyles sur le phényle. L'impact de groupements électroattracteurs sur l'activité du photocatalyseur pourra donc être observé. Ainsi, la réaction de Staudinger sur l'azoture **238**, suivie de l'ajout de l'isocyanate **242** ont été réalisés comme précédemment, ce qui a permis de former un deuxième nouveau photocatalyseur **243** avec un rendement similaire de 37% (Schéma 123). Après plusieurs essais, il a été observé que l'allongement du temps de réaction provoquait une chute de rendement.

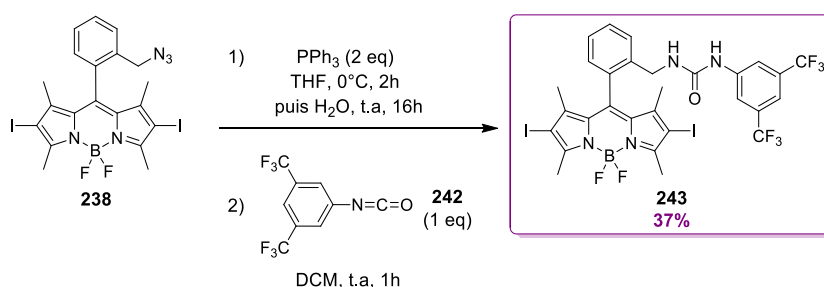


Schéma 123 : Formation de l'urée **243** à partir de l'azoture **238**

b) Synthèse du photocatalyseur de type amine

Afin de disposer du BODIPY amine pour tester un troisième photocatalyseur qui pourrait former une liaison covalente réversible avec le substrat par la formation d'une imine, la stratégie a dû être modifiée. Comme l'amine en position benzylique **240** n'a pas pu être isolée, il a été imaginé de former une amine de type aniline, donc directement relié au phényle. Pour cela, il suffirait de former le BODIPY nitro **245** correspondant, de réduire cette fonction en amine et de diioder le BODIPY.

Pour commencer, la formation du BODIPY nitro **245** a été réalisée à partir de l'aldéhyde correspondant **244** et du 2,4-diméthylpyrrole **39** avec les conditions classiques. Après une colonne et un lavage acide pour enlever toutes les impuretés, le BODIPY désiré **245** a été obtenu avec un rendement correct de 42% (Schéma 124).

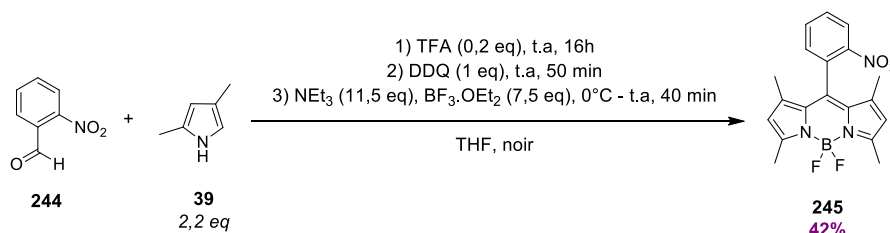


Schéma 124 : Formation du BODIPY nitro **245**

En suivant, la réduction du groupement nitro du BODIPY **245** en amine **246** a été envisagée. Les conditions utilisées précédemment consistant à placer le BODIPY **245** en présence d'une quantité catalytique de palladium sur charbon, puis à ajouter l'hydrazine et à chauffer au reflux pendant une demi-heure ont été appliquées. Le BODIPY amine **246** a été obtenu pur après filtration du palladium avec un rendement quantitatif (Schéma 125).

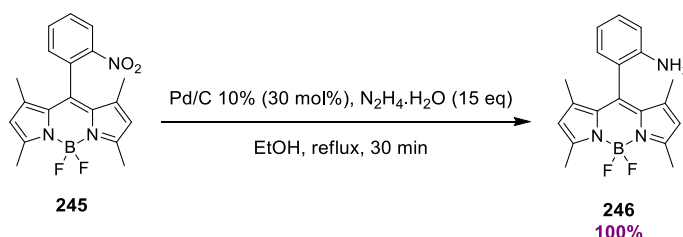


Schéma 125 : Réduction du BODIPY nitro **245** en amine **246**

L'étape de diiodation devait être réalisée en dernière étape, car les conditions de réduction du BODIPY nitro **245** pouvaient provoquer des réactions secondaires de type déiodation. Pour finir, cette étape s'est donc effectuée à l'aide de NIS dans le dichlorométhane, comme précédemment. Mais, avec ce substrat **246**, il a été primordial de réaliser la réaction à basse température afin d'empêcher des réactions secondaires. En effet, lorsqu'elle a été effectuée à température ambiante selon les conditions classiques, la formation d'un sous-produit non identifié migrant à proximité du produit désiré **247** a été observée, augmentant la difficulté de la séparation, ce qui a conduit à l'obtention du produit pur **247** avec un rendement de seulement 29%. Au contraire, en laissant la réaction agiter pendant 10 minutes à 0°C, seul le produit désiré **247** a été formé et a pu être obtenu sous forme pure sans purification et avec un excellent rendement de 93% (Schéma 126).

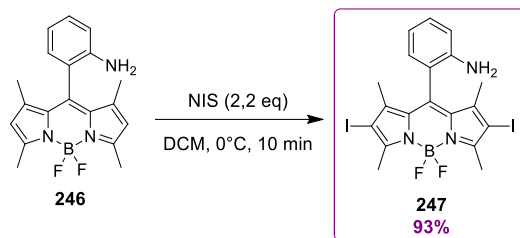


Schéma 126 : Diiodation du BODIPY amine **246**

Trois nouveaux potentiels photocatalyseurs ont donc pu être synthétisés, deux de type urée **241** et **243** et un de type amine **247**, qui seront testés dans une réaction de photooxygénation du furfural **203**. Les PS de type urée **241** et **243** ont été obtenus en quatre étapes avec un rendement global de 24% et 22% respectivement, et celui de type amine **247** a été formé après seulement trois étapes avec un meilleur rendement total de 39%.

c) Synthèse de la référence catalytique

Pour pouvoir évaluer l'activité catalytique intramoléculaire de ces nouveaux photosensibilisateurs, une référence ne comportant ni de fonction urée ni de fonction amine a également été synthétisée.

La molécule **250** a été décrite dans la littérature²⁰⁰, le mode opératoire consistant à isoler l'intermédiaire réactionnel **249**. En effet, une chromatographie sur colonne du produit issu de l'oxydation par la DDQ a été effectuée après réaction entre le 2-méthylbenzaldéhyde **248** et le 2,4-diméthylpyrrole **39** en présence de TFA. Il n'était pas précisé dans la publication la nature de l'alumine utilisée pour la purification. Dans un premier temps, de l'alumine neutre a été utilisée mais le produit attendu **249** n'a été récupéré qu'avec 44% de rendement et en présence de beaucoup d'impuretés. En remplaçant l'alumine neutre par de l'alumine basique, le rendement est monté à 90%. Ensuite, la formation du BODIPY **250** a été complétée par l'ajout de triéthylamine et d'éthérate de trifluorure de bore, conduisant au produit attendu **250** avec un rendement correct de 41% (Schéma 127). Il est intéressant de noter que le BODIPY **250** a été obtenu pur après une colonne, tandis que les auteurs de la publication ont dû effectuer une recrystallisation, ce qui a mené à un faible rendement de 10% sur les deux étapes.

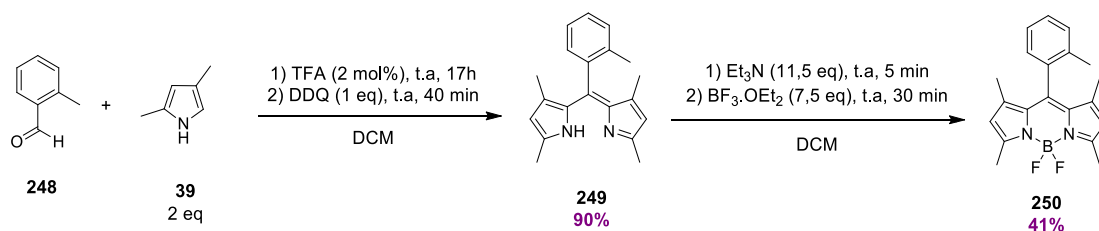


Schéma 127 : Formation du BODIPY méthyle **250** en deux étapes

Enfin, le BODIPY **250** a été diiodé en positions 2 et 6 avec les conditions classiques utilisées précédemment pour conduire après un simple traitement par extraction au produit pur **251** avec un excellent rendement de 90% (Schéma 128).

²⁰⁰ H. Sunahara, Y. Urano, H. Kojima, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 5597-5604

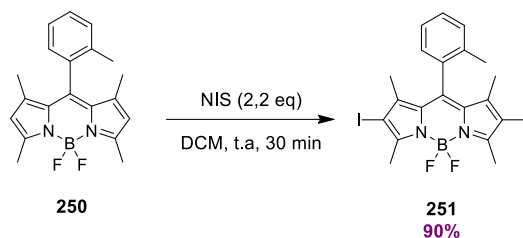


Schéma 128 : Diiodation du BODIPY méthyle **250**

En parallèle, afin de vérifier un éventuel effet intermoléculaire des fonctions urées, les dérivés benzyles **252** et **253** des urées précédentes **241** et **243** ont également été synthétisés.

La première urée de référence **252** a été obtenue d'après des conditions décrites dans la littérature.²⁰¹ La benzylamine **18** a été mise en présence de l'isocyanate de phényle, et le précipité formé après 4h de réaction a été filtré pour obtenir le produit désiré pur **252** avec un rendement moyen de 48% (Schéma 129).

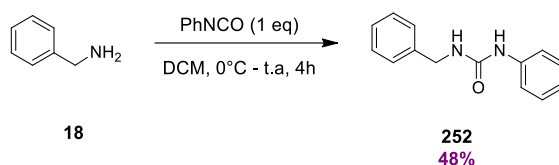


Schéma 129 : Synthèse de la première urée de référence **252**

De même, un protocole décrit dans la littérature a été utilisé pour synthétiser la deuxième urée de référence **253**.²⁰² Cette fois-ci, le produit **253** n'a pas précipité et une purification sur colonne a été nécessaire pour l'isoler pur avec un excellent rendement de 86% (Schéma 130).

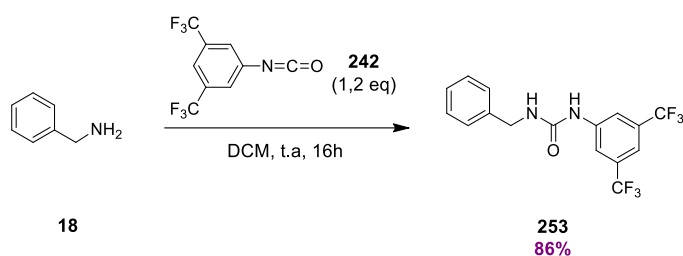


Schéma 130 : Synthèse de la deuxième urée de référence **253**

Deux PS de type urée **241** et **243** et un PS de type amine **247**, ainsi qu'un PS de référence **251** ont donc été synthétisés. Leurs propriétés spectroscopiques ont été analysées, montrant une fenêtre d'absorption et d'émission maximales similaire, soit environ 530 nm pour la longueur d'onde d'absorption maximum, et 550 nm pour la longueur d'onde d'émission maximum (Figure 53).

²⁰¹ C. M. Sanabria, C. M. Sanabria, M. T. do Casal, R. B. A. de Souza, L. C. S. de Aguiar, M. C. S. de Mattos, *Synthesis*, **2016**, 48, A-G

²⁰² M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, G. Piersanti, M. Retini, G. Zappia, *Tetrahedron*, **2016**, 72, 7039-7049

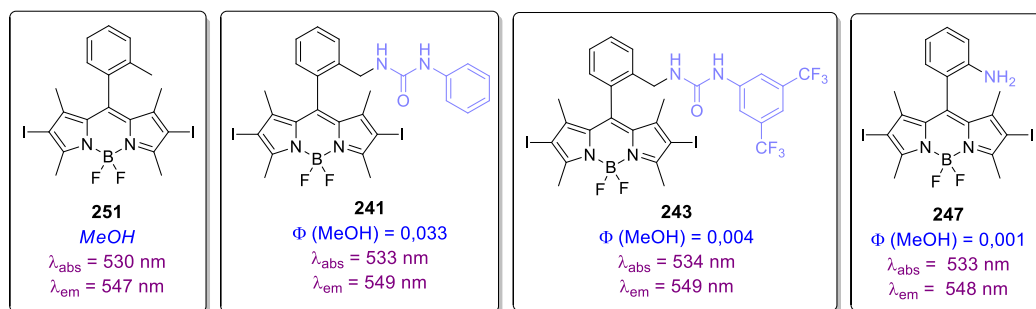


Figure 53 : Propriétés spectroscopiques de la référence **251** et des photocatalyseurs synthétisés **241**, **243** et **247**

3) Etude de la cinétique de réaction d'oxydation du furfural **203** avec les différents photosensibilisateurs synthétisés

Pour cette étude, la photooxydation du furfural **203** a été réalisée dans différents solvants et avec divers moyens d'introduction de l'oxygène dans le milieu réactionnel. Etant donné que tous les composés synthétisés absorbent à la même longueur d'onde d'environ 530 nm, une LED émettant dans le vert a été utilisée. Le furfural **203** a été mis en solution dans un tube scellé de 2 mL à une concentration de 1 mol/L en présence du PS ou du système de référence à 2 mol% et d'un étalon interne (mésitylène). Les systèmes de référence sont chacun constitués du BODIPY méthylé **251** et de la benzylurée ou de l'aniline correspondant aux PS étudiés. La formation de plusieurs produits a pu être observée par RMN ^1H : les molécules **A** et **B** étant issues de la réaction désirée de photooxygénation du furfural, et **C** un sous-produit provenant de l'acétalisation l'aldéhyde de départ. Les ratios RMN ^1H de formation des produits A et B, calculés selon la formule $(A+B)/(SM+A+B+C)$, et les rendements RMN ^1H (A+B par rapport au mésitylène) ont ainsi pu être déterminés par analyse RMN ^1H d'aliquotes des bruts réactionnels à différents temps de réaction (Schéma 131).

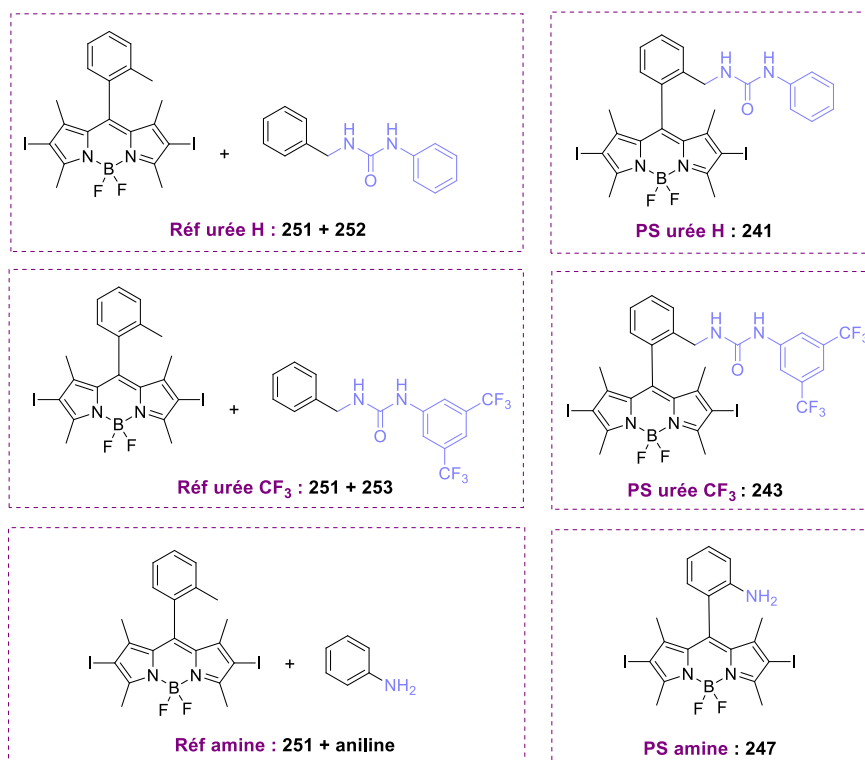
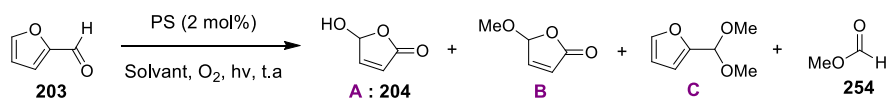


Schéma 131 : Photooxydation du furfural **203** avec les différents systèmes de PS

a) Introduction de l'oxygène en excès dans le méthanol

Dans un premier temps, le substrat **203** et le photosensibilisateur ont été mis en solution dans le méthanol, et l'oxygène a été introduit en large excès dans le milieu réactionnel via un ballon en purgeant préalablement l'atmosphère. Dans ce cas, l'acétal **C** n'a pas été observé, la réaction de photooxygénation semblant plus rapide grâce à l'excès d'oxygène singulet. De plus, le produit **A** a été formé en quantités majoritaires, le composé **B** apparaissant seulement après 24h de réaction.

L'urée **243** a été comparée avec le système **Réf urée CF₃**, et un rendement RMN de 100% a été atteint avec la référence après seulement 7 heures de réaction, alors qu'il n'était que de 87% avec l'urée **243**. Une cinétique assez rapide a donc été observée pour les deux systèmes, mais le mélange de **251** et **252** s'est révélé plus efficace que le catalyseur combiné **243**.

De la même manière, l'amine **247** a été comparée avec le système **Réf amine**. Les rendements RMN ont été moins élevés après 7 heures de réaction, seulement 87% pour le mélange de référence et 77% pour l'amine **247**. Cependant, la tendance est restée similaire, et une cinétique de réaction plus élevée a été observée pour le système de référence que pour l'amine **247** dans ces conditions (Figure 54).

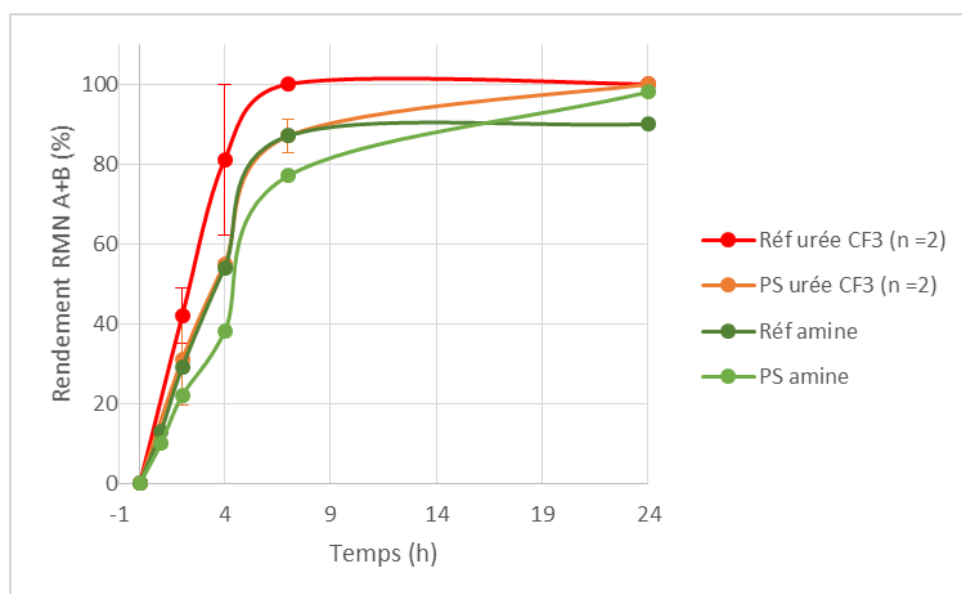


Figure 54 : Comparaison des cinétiques de réaction entre l'urée **243** et l'amine **247** avec leurs références correspondantes dans le méthanol avec un ballon d'oxygène

Ces résultats ne permettant pas d'observer un effet des interactions intramoléculaires, il a été supposé que l'utilisation d'une atmosphère d'O₂ pur entraînait des cinétiques de réaction trop rapides et n'était pas adaptée à cette étude. De ce fait, des tentatives d'introduire l'oxygène en quantité plus faible ont été réalisées, en commençant par se servir d'air (21% d'O₂).

Dans un second temps, l'atmosphère interne a donc été placée en équilibre avec l'extérieur via une aiguille plantée dans le septum du réacteur pour minimiser l'évaporation du solvant au cours du temps. Cependant, l'acétal **C** a été observé en quantités non négligeables, jusqu'à 60% après 4h de réaction. Le produit désiré **A** est resté majoritaire par rapport au composé **B**, celui-ci n'apparaissant que sous forme de traces après 48h de réaction.

Les cinétiques de réaction ont alors été généralement ralenties pour l'ensemble des catalyseurs/systèmes catalytiques étudiés (**241** vs **Réf urée H**, **243** vs **Réf urée CF₃**). Cependant, bien qu'un léger effet bénéfique semble être observé en début de réaction avec les PS urées **241** et **243**, la faible reproductibilité des résultats après quelques heures de réaction a empêché de tirer des conclusions formelles (Figure 55).

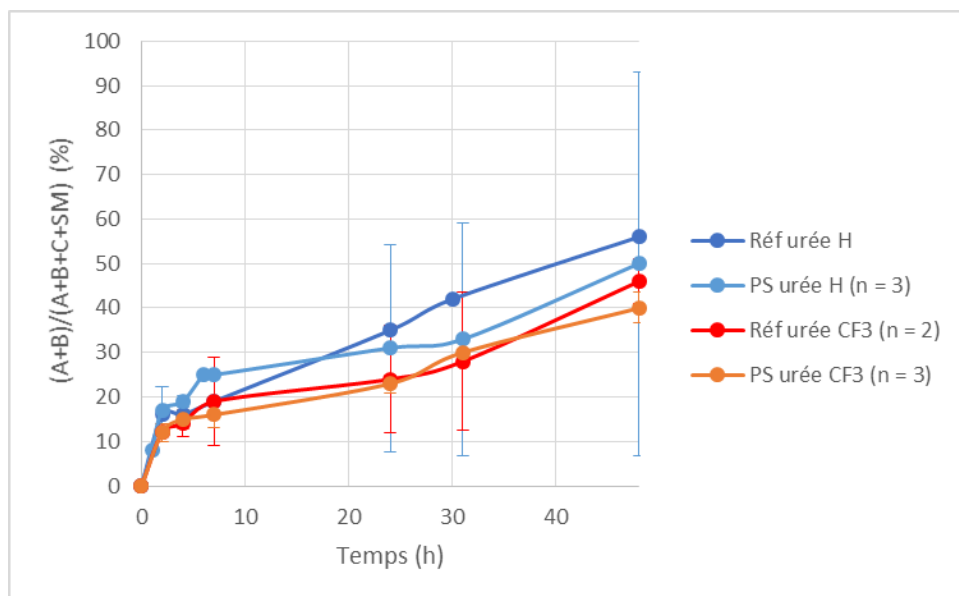


Figure 55 : Comparaison des cinétiques de réaction entre les PS de type urée **241** et **243** avec leurs systèmes de référence correspondants dans le méthanol avec une aiguille plantée dans le septum

b) Etude de l'influence du solvant avec l'atmosphère interne en équilibre avec l'extérieur

L'influence du solvant sur la cinétique de la réaction a ensuite été évaluée avec l'urée **241** et le système **Réf urée H** dans les conditions précédentes. Pour réaliser la photooxydation dans le chloroforme ou l'acétonitrile, il a été nécessaire d'ajouter du méthanol (2 eq) conformément au mécanisme de la réaction. La durée de vie de l'oxygène singulet étant plus longue dans le chloroforme et l'acétonitrile, une cinétique de réaction plus élevée était attendue. Cependant, malgré les incertitudes élevées après une dizaine d'heures de réaction, l'étude des résultats obtenus sur les 4 premières heures des réactions a révélé des cinétiques similaires entre l'acétonitrile et le chloroforme, mais plus faibles que dans le cas du méthanol (rendements inférieurs à 15% après 4h d'agitation, Figure 56).

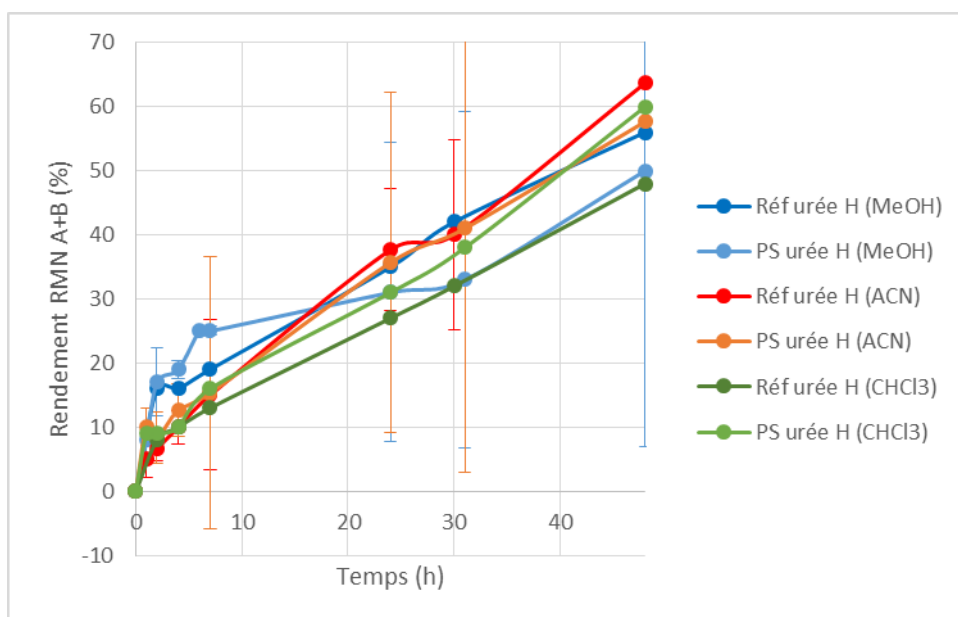


Figure 56 : Comparaison des cinétiques de réaction de **Réf urée H** et de l'urée **241** dans différents solvants avec introduction de l'oxygène de l'air par une aiguille

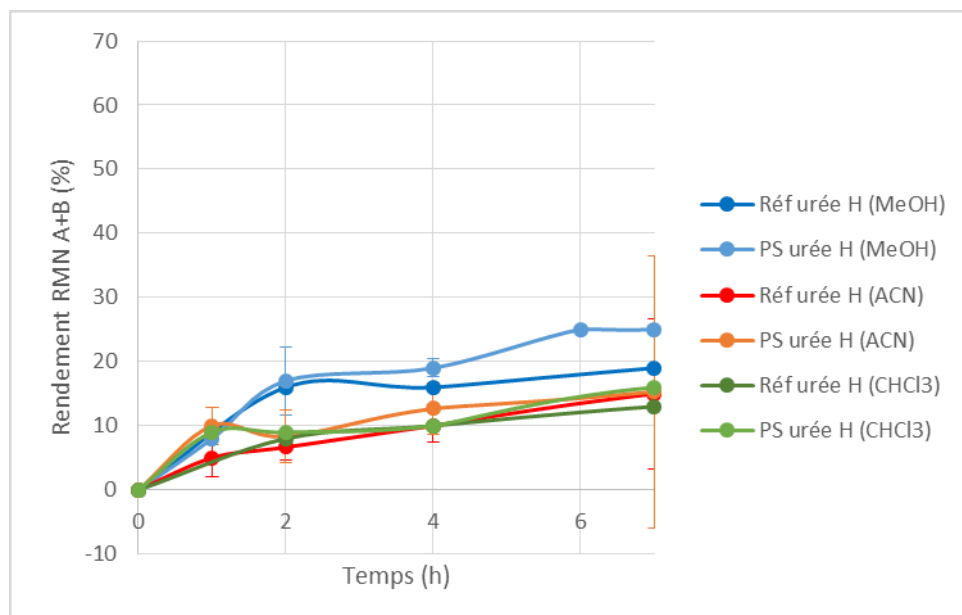


Figure 57 : Zoom entre 0 et 7h de la Figure 56

Il semble donc que dans le cas où l'atmosphère du réacteur est équilibrée avec l'extérieur, l'étape cinétiquement déterminante soit l'attaque nucléophile du méthanol et l'ouverture de l'endoperoxyde **230**. Il a été également supposé que la quantité d'oxygène de l'atmosphère extérieure disponible via l'aiguille plantée dans le septum était trop importante, et il a été tenté d'introduire une quantité définie d'oxygène par injection via une seringue, sur le modèle des travaux de Hulce.¹⁸⁴

c) Introduction de l'oxygène en quantité connue dans le méthanol

En prenant la loi des gaz parfaits en approximation, le volume de gaz à prélever pour obtenir une quantité de matière connue a pu être calculé. Cette équation a été appliquée à l'oxygène, et différents nombres d'équivalents d'O₂ ont été introduits via une seringue dans le milieu réactionnel (préalablement purgé et dégazé avec de l'azote). Le méthanol a été choisi en tant que solvant pour rendre l'attaque nucléophile du méthanol la plus rapide possible et éviter qu'elle soit l'étape déterminante cinétiquement.

La réaction a été étudiée avec le système **Réf urée CF₃** en fonction du nombre d'équivalent d'oxygène introduit. Le produit **B** n'a pas été observé dans les différentes expériences réalisées, mais l'acétal **C** était toujours présent en quantités non négligeables. Avec 1 équivalent d'oxygène, le rendement RMN ¹H de A est monté à 35% après 7h de réaction, mais il a également atteint la même valeur lors de l'introduction de seulement 0,5 équivalent d'oxygène, bien que le solvant ait été dégazé avec de l'azote dans les deux cas. Il a ensuite été décidé de comparer le simple dégazage à l'azote avec une purge de type « freeze and pump » pour l'essai avec 0,25 équivalent d'oxygène. Dans ce dernier cas, le milieu réactionnel fermé a ainsi été congelé dans de l'azote liquide et trois cycles de vide/azote ont été effectués. Cependant, les deux méthodes ont donné des résultats relativement similaires, avec des rendements RMN ¹H proches de celui attendu après 7h (25-30%), mais augmentant jusqu'à 40-45% après 24h. (Figure 58). L'expérience a été réitérée sans introduire d'oxygène dans le réacteur scellé, et un rendement de 35% a également été atteint après 24h de réaction, ce qui a confirmé a priori un problème d'étanchéité du système sur le long terme.

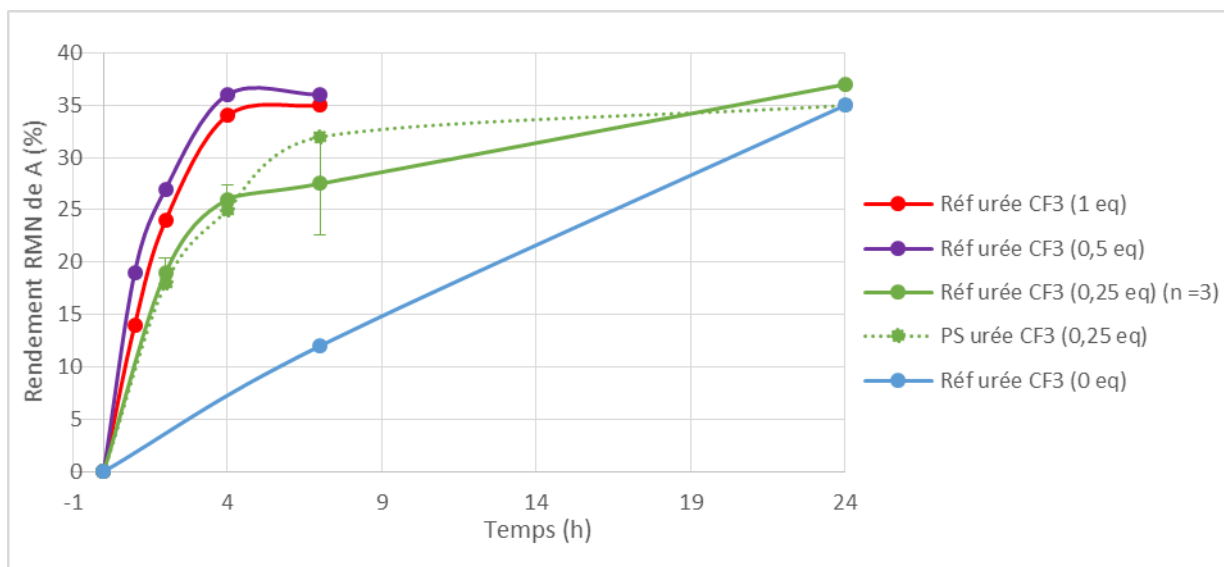


Figure 58 : Comparaison des cinétiques de réaction du système **Réf urée CF₃** dans le méthanol avec différents équivalents d'oxygène

Par manque de temps, les essais n'ont pu être poursuivis pour en déterminer la cause, mais il semble nécessaire de développer un nouveau mode d'introduction de l'oxygène afin d'améliorer la reproductibilité. Pour cela, l'utilisation d'un précurseur d'oxygène liquide ou solide et d'un système double chambre pourrait être une piste intéressante.

4) Applications des traceurs en thérapie photodynamique

Comme démontré dans l'état de l'art précédent, la thérapie photodynamique joue un rôle important dans le traitement du cancer. Comme il est possible de convertir un motif BODIPY en photosensibilisateur en diiodant les positions 2 et 6, il semblait intéressant d'essayer de transformer les traceurs [¹³C]-174, [¹³C]-180 et [¹³C]-185 synthétisés dans le chapitre précédent en photosensibilisateurs pour une éventuelle utilisation en thérapie photodynamique contre le cancer du sein.

Tout d'abord, il a été envisagé de vérifier que la carbonylation d'un motif BODIPY diiodé était possible sans altérer les positions iodées. Le BODIPY modèle **90** comportant une plateforme ABOI a donc été diiodé dans un premier temps à l'aide de NIS. Le BODIPY modèle diiodé **255** a été obtenu sans purification avec un rendement de 67% (Schéma 132).

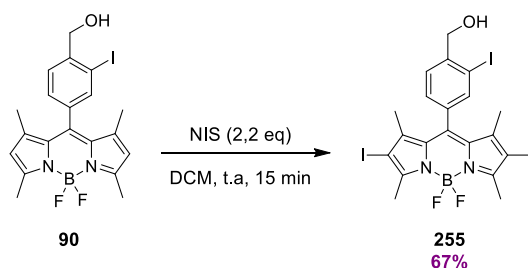


Schéma 132 : Diiodation du BODIPY modèle **90**

Ensuite, la carbonylation a été réalisée à l'aide de [¹³C]-silaCOgen dans le système double chambre dans les conditions classiques. Le produit carbonylé désiré **256** a ainsi été obtenu avec un rendement modeste de 19%, mais il a été le seul produit observé dans le brut réactionnel (Schéma 133). Il serait donc a priori possible d'optimiser la réaction, par exemple en allongeant le temps de réaction, en augmentant la température ou en changeant le système catalytique et la base.

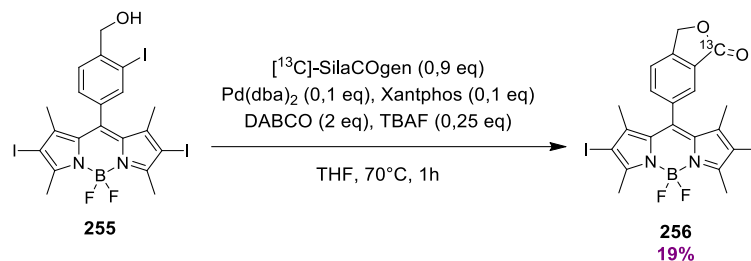


Schéma 133 : $[^{13}\text{C}]$ -Carbonylation du BODIPY diodé **255**

Il a donc été montré que le noyau BODIPY diiodé était stable sous ces conditions de carbonylation, prouvant l'intérêt de la stratégie d'utilisation des motifs conjugués à l'œstradiol pour le traitement du cancer du sein par thérapie photodynamique (Figure 59).

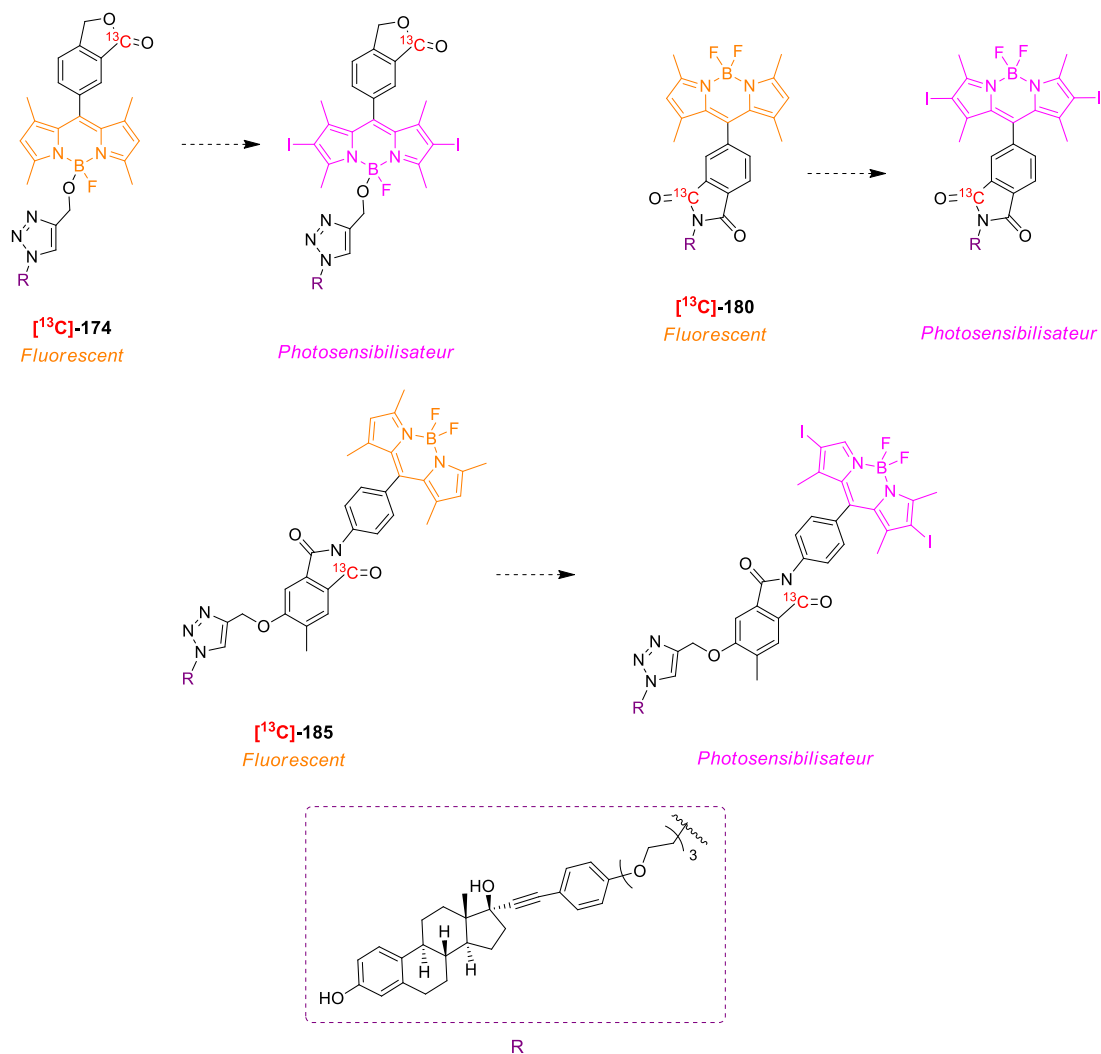


Figure 59 : Application des potentiels traceurs bimodaux en thérapie photodynamique par diiodation des noyaux BODIPY

Conclusion générale

Cette thèse a été divisée en trois parties. La première a consisté en un développement de nouveaux traceurs bimodaux marquables au $[^{11}\text{C}]$ pour l'imagerie TEP/IO, puis la deuxième en leur application pour la synthèse de traceurs spécifiques du cancer du sein, et enfin la troisième partie porte sur la synthèse et l'étude de nouveaux photosensibilisateurs pour la génération d'oxygène singulet.

En ce qui concerne la première partie, l'objectif principal résidait dans la synthèse de nouveaux groupements prosthétiques carbonylables et à base de BODIPY.

La première stratégie évoquait la possibilité d'introduire une plateforme ABOI carbonylable sur un BODIPY en one-pot. Cette voie de synthèse offrait l'avantage d'être rapide et directe. Cependant, le BODIPY désiré **60** n'a été obtenu qu'en très petites quantités, et de façon peu reproductible. Il a donc ensuite été décidé d'introduire la plateforme ABOI via une condensation de Knoevenagel, mais cette deuxième stratégie s'est également révélée infructueuse. Toutefois, la plateforme ABOI a pu finalement être intégrée avec succès à un BODIPY par fonctionnalisation de l'atome de bore par une fonction alcyne du composé **90**, lui-même formé à partir de l'aldéhyde **66** correspondant, conduisant au composé **91**. Un premier groupement prosthétique a ainsi été synthétisé, mais la dernière étape nécessite encore des optimisations car la présence de l'alcool libre entraîne une chute du rendement (Schéma 134). Quelques essais ont également été entrepris pour développer une nouvelle plateforme ABOI directement liée à un motif triazole, mais de plus amples études sont nécessaires pour mener à bien la carbonylation de cette plateforme.

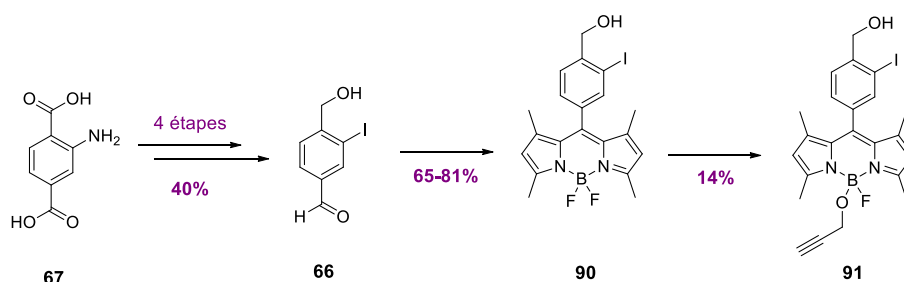


Schéma 134 : Résumé de la synthèse du premier groupement prosthétique **91**

Un autre type de plateforme carbonylable, les amides BzOI, a été envisagé en parallèle. Quelques expériences sur des modèles ont prouvé l'efficacité de la carbonylation de ces motifs. De ce fait, une première stratégie a été mise en place pour former un groupement prosthétique composé d'un BODIPY et d'une plateforme BzOI. Elle consistait en la synthèse du BODIPY acide carboxylique ortho iodé **111**, réalisée à partir du BODIPY **90** (Schéma 135). La fonction acide est ensuite couplée avec une amine pour former le motif désiré. Puis, une deuxième stratégie a été mise au point pour conduire à une nouvelle structure. Pour cela, le BODIPY amine **121** et la plateforme acide **116** ont été couplés ensemble, formant le dernier groupement prosthétique **115** (Schéma 136).

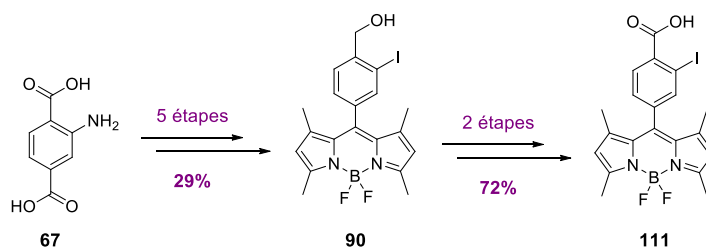


Schéma 135 : Résumé de la synthèse du deuxième groupement prosthétique **111**

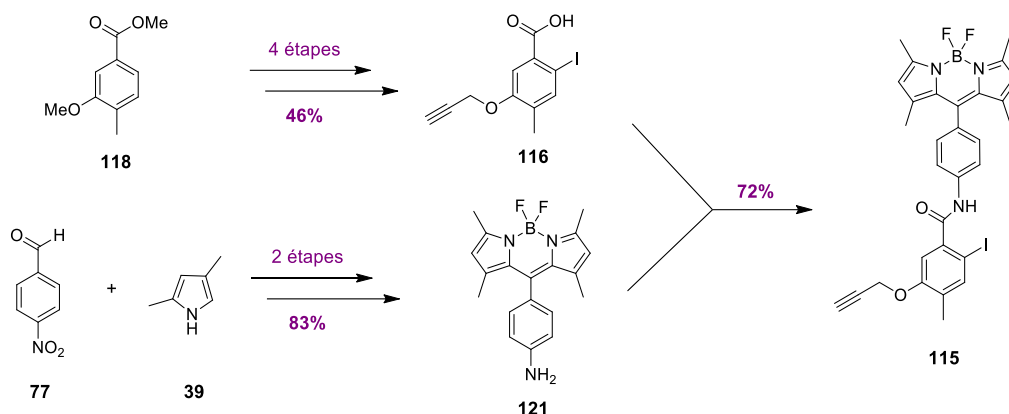


Schéma 136 : Résumé de la synthèse du troisième groupement prosthétique **115**

En parallèle, des travaux ont été menés pour potentiellement améliorer la future étape de carbonylation. Dans un premier temps, la préformation de complexe de palladium, suivie de la carbonylation ont été effectuées avec un amide modèle, mais lors de l'application aux structures BODIPY, la carbonylation s'est révélée infructueuse. Dans un second temps, la carbonylation de complexes de palladium supportés à partir de l'amide modèle a été réalisée avec succès, simplifiant ainsi l'étape de purification, mais le résultat s'est de nouveau révélé insatisfaisant lors de l'application à des BODIPY. De plus amples études sont nécessaires pour améliorer ces résultats.

L'objectif de la première partie étant atteint, la suite consistait à développer de nouveaux traceurs bimodaux potentiels à partir des groupements prosthétiques synthétisés.

Afin de cibler les récepteurs ER α , l'éthinylœstradiol a été choisie en tant que biomolécule. Celle-ci a été couplée à un espaceur pour conduire au composé **175** qui a pu être combiné avec le BODIPY **91** via une réaction de CuAAC. La carbonylation réalisée en suivant a pu mener au premier traceur [^{13}C]-**174**, le rendement restant à être optimisé. Il a été observé qu'en carbonylant le motif ABOI avant l'étape de substitution de l'atome de fluor, les rendements ont été nettement améliorés, bien que cette stratégie ne soit pas envisageable pour un radiomarquage ^{11}C en dernière étape de synthèse (Schéma 137).

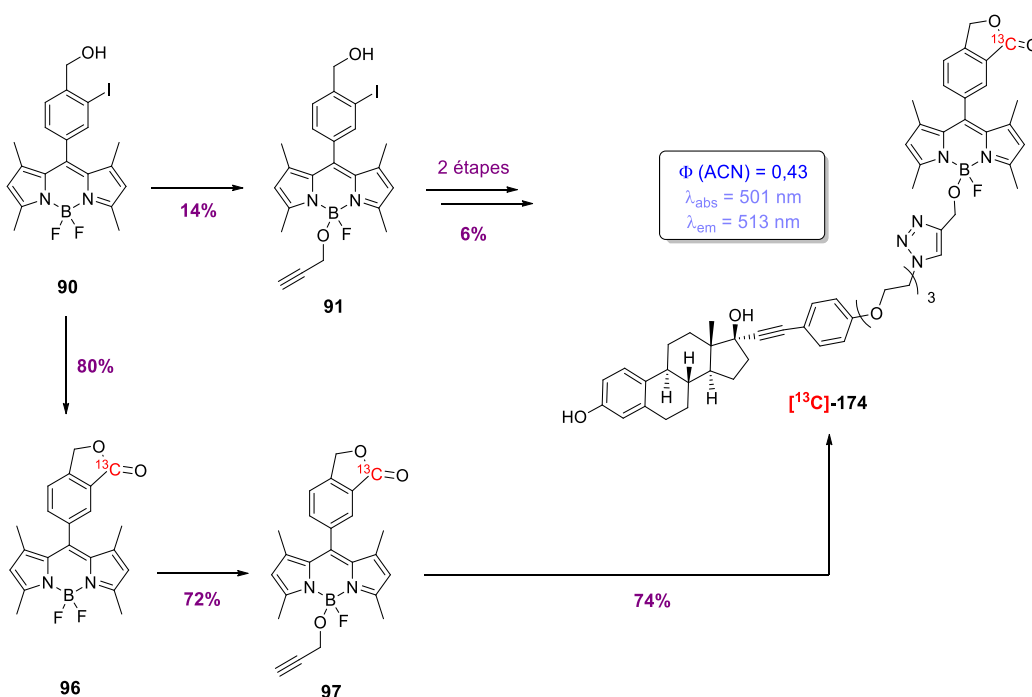


Schéma 137 : Bioconjugaison du premier groupement prosthétique **91**

Ensuite, le deuxième groupement prosthétique **111** a été couplé avec l'amine **181** portée par un espaceur relié à l'éthinylœstradiol, puis le motif amide ainsi obtenu a pu être carbonylé pour conduire au deuxième traceur [^{13}C]-**180** avec des rendements corrects (Schéma 138). Enfin, le troisième groupement prosthétique **115** a été couplé par chimie click avec le composé **175** portant la biomolécule, et il a été carbonylé pour obtenir le dernier traceur [^{13}C]-**185** avec des rendements satisfaisants (Schéma 139).

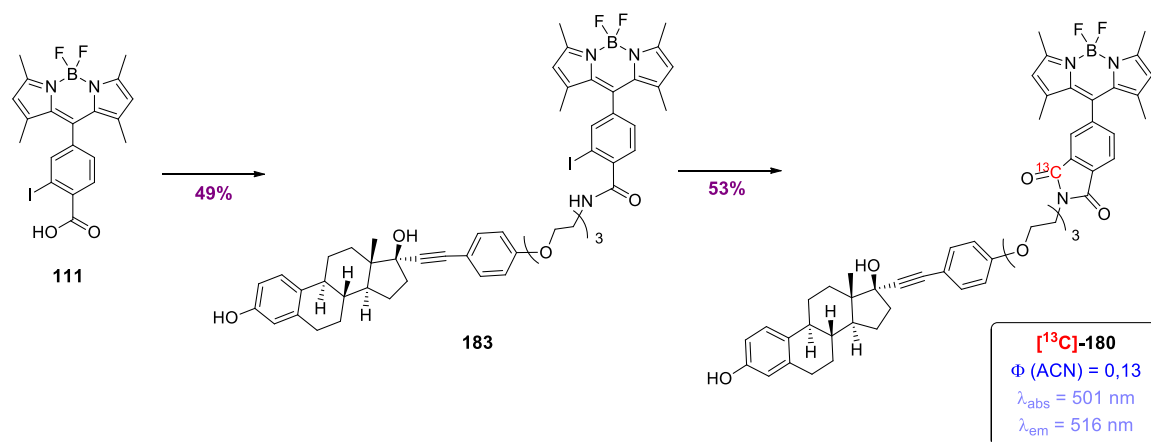


Schéma 138 : Bioconjugaison du deuxième groupement prosthétique **111**

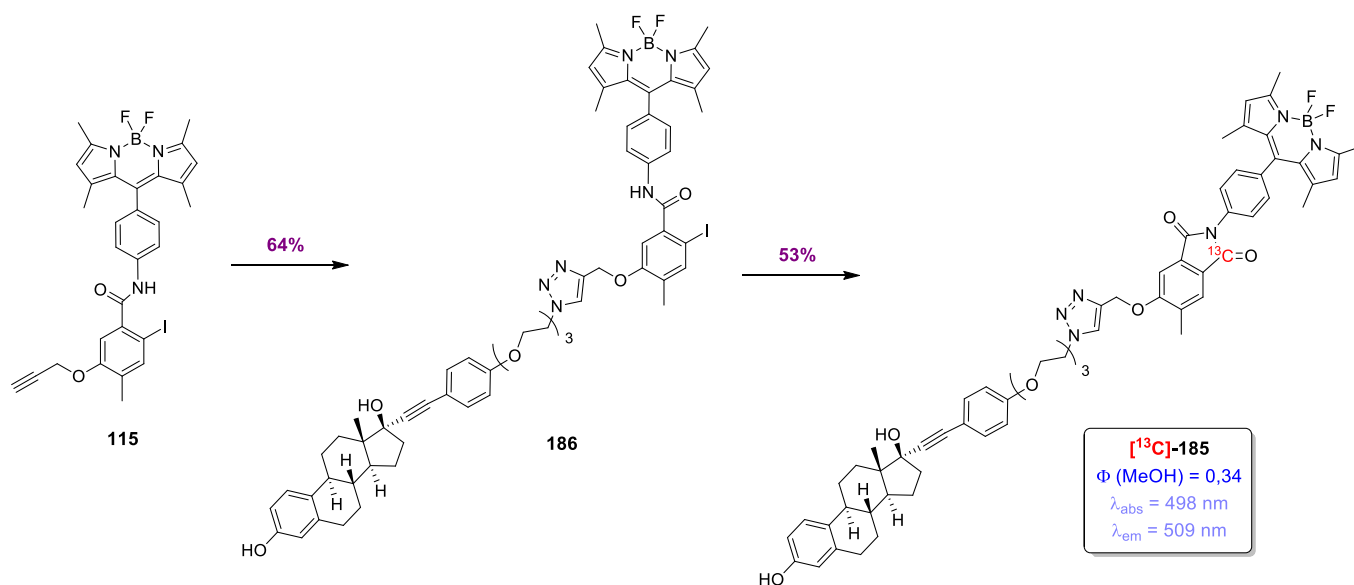


Schéma 139 : Bioconjugaison du troisième groupement prosthétique **115**

Les rendements globaux des traceurs [^{13}C]-**174**, [^{13}C]-**180** et [^{13}C]-**185** ont été respectivement de 12% en 8 étapes, 5% en 9 étapes et 9% en 9 étapes. Leurs rendements quantiques de fluorescence ont été déterminés respectivement à 43%, 13% et 34%. Leurs propriétés biologiques *in vitro* ont été évaluées. Bien que le phtalimide [^{13}C]-**185** ait montré un IC_{50} élevé par rapport aux deux autres traceurs synthétisés, son rendement quantique de fluorescence correct encourage la modification de la structure pour améliorer ses propriétés *in vitro*. L' IC_{50} du phtalimide [^{13}C]-**180** était dix fois moins élevé, ce qui montre une potentielle efficacité de traceur à base de phtalimide. Le phtalide [^{13}C]-**174** a été le plus prometteur avec une IC_{50} proche de celle de l'éthinylœstradiol et un bon rendement quantique de fluorescence (Figure 60). Des études *in vivo* sont en cours, qui permettraient de valider l'application de ces composés. Le marquage au ^{11}C est également envisagé pour démontrer formellement le caractère bimodal des structures synthétisées (collaboration avec le Dr. H. Audrain à Aarhus).

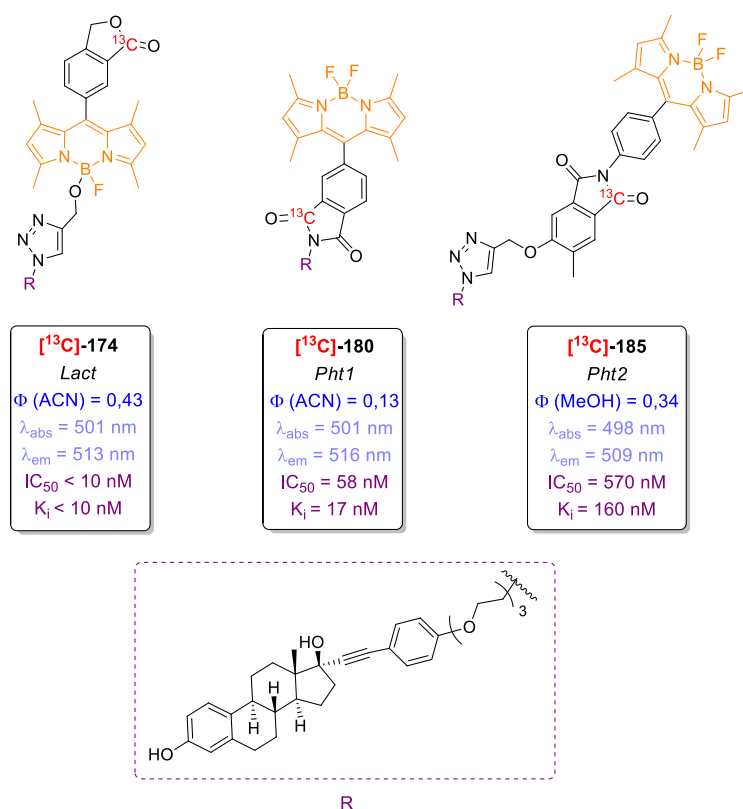


Figure 60 : Propriétés des trois nouveaux traceurs bimodaux

Des modifications de structure sont envisageables pour améliorer les propriétés physiques et biologiques, telles que l'augmentation de la conjugaison par condensation de Knoevenagel afin de décaler les absorbances vers le rouge. D'une manière générale, l'introduction de davantage de groupements hydrophobes pourrait également favoriser la liaison aux récepteurs, comme démontré dans la littérature.¹⁵⁶

Ces trois nouveaux traceurs pourront également être modifiés pour devenir de potentiels photosensibilisateurs applicables en thérapie photodynamique (Figure 61). Des premiers résultats ont montré qu'il était possible de carbonyler un système BODIPY diiodé sans observer de réactions secondaires de déiodation sur les positions 2 et 6 des BODIPY.

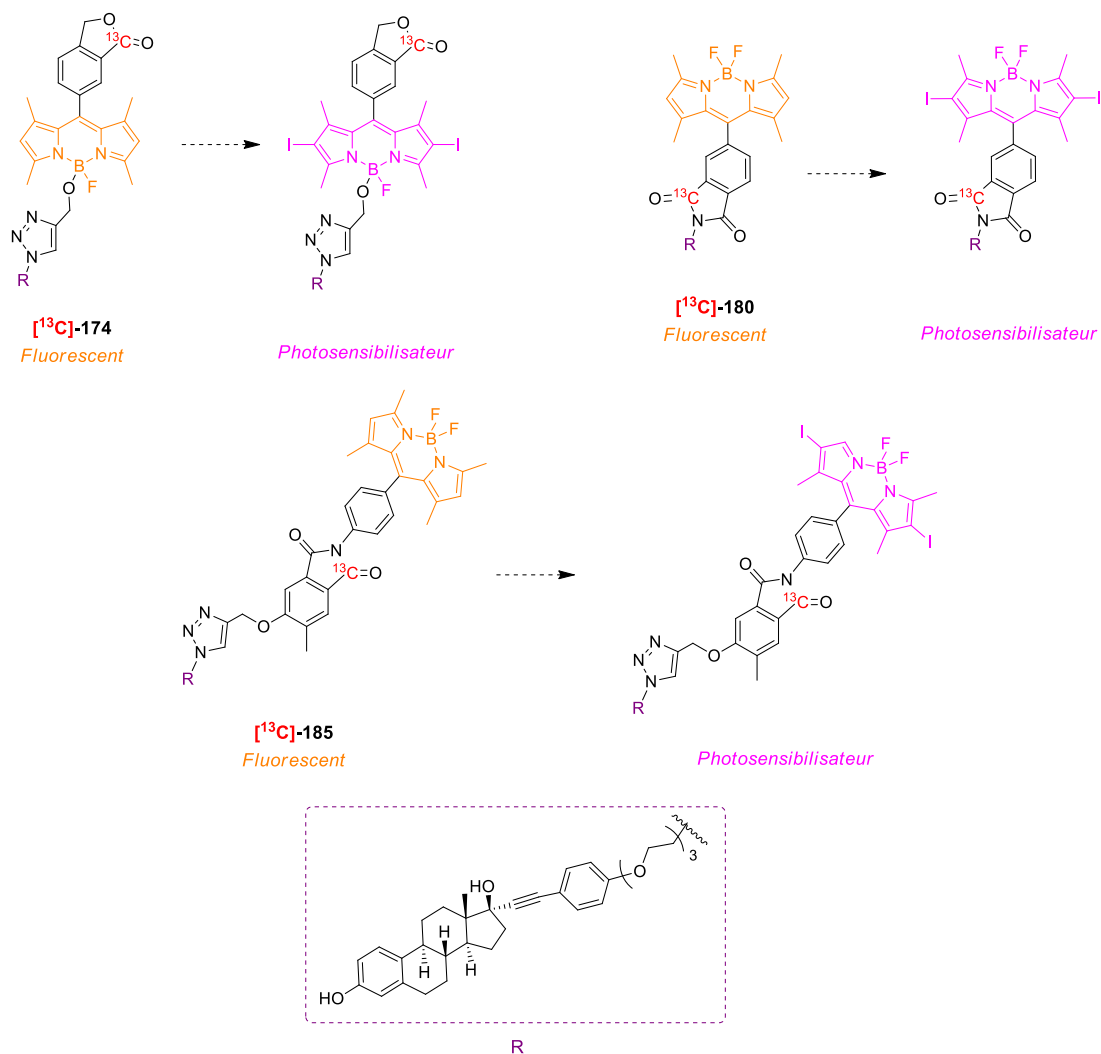


Figure 61 : Application des potentiels traceurs bimodaux en thérapie photodynamique par diiodation des BODIPY

L'objectif de la troisième partie était différent mais portait toujours sur la synthèse de nouvelles structures à base de BODIPY. L'intérêt était de développer des photosensibilisateurs de photooxygénation permettant de produire de l'oxygène singulet par irradiation et possédant une fonction pouvant potentiellement former une interaction avec le furfural. Pour cela, trois nouveaux photosensibilisateurs ont été synthétisés. Les deux PS à base d'urée **241** et **243** ont été formés avec des rendements globaux de 24% en quatre étapes et 22% en 4 étapes respectivement. Quant au PS de type amine, il a été synthétisé avec un rendement global de 39% en trois étapes. L'étude de leur réactivité dans la photooxygénation du furfural par comparaison avec une référence n'a pas pu permettre de démontrer la formation d'interactions des fonctions urées ou amine avec le substrat. En effet, dans tous les cas, les cinétiques déterminées par RMN ¹H étaient assez semblables lors de l'introduction de l'oxygène. Ensuite, lors d'essais d'introduction de l'oxygène en quantité limitée, des problématiques liées à cette introduction de façon complètement contrôlée se sont posées. De plus amples études sont donc nécessaires afin de développer un nouveau système délivrant *in situ* l'oxygène singulet. Enfin, ces catalyseurs seront également étudiés dans le cadre d'autres réactions impliquant l'oxygène singulet (cycloaddition,...).

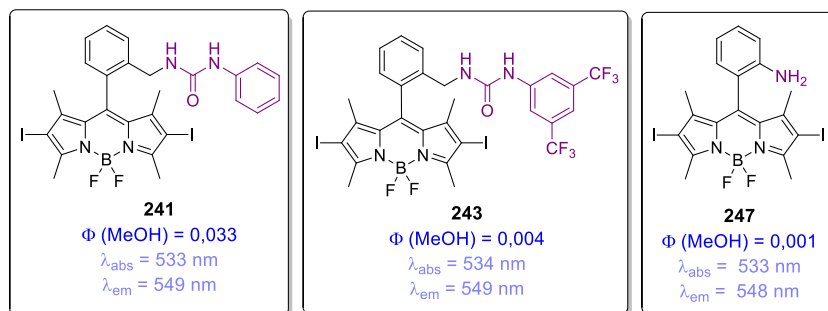


Figure 62 : Propriétés des trois nouveaux photosensibilisateurs

Partie expérimentale

Méthodes générales

All commercial materials were used without further purification, unless indicated. ^1H NMR and ^{13}C NMR were recorded on Bruker Avance I (^1H : 300 MHz, ^{13}C : 75.3 MHz), Bruker Avance II (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100.2 MHz) or Bruker Avance III (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150.3 MHz) spectrometers. The chemical shifts for the NMR spectra are reported in ppm relative to the solvent residual peak²⁰³. Coupling constants J are reported in hertz (Hz). The following abbreviations are used for the multiplicities : s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; qt, quintet; st, sextet; m, multiplet; br, broad; dd, doublet of doublet. Melting points were not corrected and were determined by using a Stuart Scientific apparatus (SMP3). Yields refer to isolated material determined to be pure by NMR spectroscopy and thin-layer chromatography (TLC), unless specified in the text. Analytical TLC was performed on Fluka Silica Gel 60 F254. The two-chamber system (S) was bought at SyTracks (<http://www.sytracks.com>). High resolution mass spectra were performed by the CESAMO (Talence, France) and were recorded on Qq-TOF tandem mass spectrometer (API Q-STAR Pulsari, Applied Biosystems). Positive or negative ion mode ESI-MS were used for the analysis. Green light irradiations were performed with a LED. Experiments under microwave irradiation were performed using a Biotage Initiator 2.5.

Etudes photophysiques

Mother solutions at 10^{-4}M were prepared by dissolving in acetonitrile or methanol the adequate mass of the compound studied, and these solutions were diluted to a concentration of 10^{-6}M in acetonitrile or methanol. UV-vis absorption and fluorescence spectra were recorded on a Cary 100 Scan spectrophotometer and a Cary Eclipse spectrofluorometer, respectively. The fluorescence spectra were obtained by exciting at 489 nm.

Determination of the fluorescence quantum yields (QY) :²⁰⁴

The fluorescence QY were calculated using the following equation : $\varphi_f^i = \frac{F^i f_s n_i^2}{F^s f_i n_s^2} \varphi_f^s$

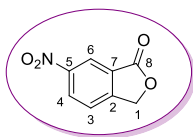
where φ_f^i and φ_f^s are the fluorescence QY of the sample and that of the standard respectively; F^i and F^s are the integrated intensities (areas) of sample and standard fluorescence spectra; f_i and f_s is the absorption factor ($f_x = 1 - 10^{-A_x}$ where A is the absorbance) of sample and standard; n_i and n_s are the refractive indices of the sample and standard respectively.

The chosen standard for our samples was fluorescein. Absorption and fluorescence spectra were recorded with a 10^{-6}M solution of fluorescein in an aqueous solution of NaOH (0,1M). Its fluorescence QY with excitation at 488 nm is 92% according to literature.²⁰⁴

²⁰³ G. R. Fulmer, A. J. M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stolz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics*, **2010**, 29, 2176

²⁰⁴ Brouwer A. M., *Pure Appl. Chem.*, **2011**, 83, 2213-2228

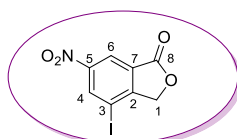
Experimental procedures



6-nitroisobenzofuran-1(3H)-one (**54**)

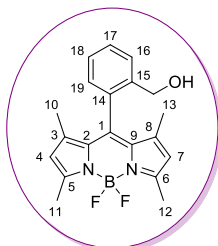
A solution of phthalide (1 eq, 22 mmol, 3 g) in 30 mL of H_2SO_4 (95-98%) was added dropwise at 0°C to a solution of KNO_3 (1.2 eq, 26 mmol, 2.63 g) in 12 mL of H_2SO_4 (95-98%). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2h30 then poured in ice. The resulting precipitate was filtered under reduced pressure and washed with distilled water. The filtrate was once again filtered under reduced pressure and the remaining solid was washed with distilled water. The combined solids were dried under reduced pressure to give 6-nitroisobenzofuran-1(3H)-one **54** (3.41 g, 87%) as a beige solid; R_f (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.19; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.78 (H_6 , d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.58 (H_4 , dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 7.72 (H_3 , d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.45 (H_1 , s, 2H); HRMS (ESI) : $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{N}^{23}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculated 202.0111, found 202.0104.

The spectral data was in accordance with the literature (P. Stanetty *et al*, *J. prakt. Chem.*, **1993**, 335, 17-22).



4-iodo-6-nitroisobenzofuran-1(3H)-one (**55**)

Iodine (1.8 eq, 20.2 mmol, 5.13 g) was added to 34 mL of H_2SO_4 (95-98%) followed by NaIO_4 (0.6 eq, 6.7 mmol, 1.43 g). The resulting mixture was stirred at 30°C for 30 min then 6-nitroisobenzofuran-1(3H)-one **54** (1 eq, 11.2 mmol, 2 g) was added. The reaction mixture was stirred at 80°C for 3 days then poured on ice. The resulting precipitate was filtered under reduced pressure. The solid was dissolved in DCM, washed with a 10mol% aqueous solution of sodium thiosulfate (1x) and distilled water (1x). The organic layer was dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure to give 4-iodo-6-nitroisobenzofuran-1(3H)-one **55** (1.66 g, 49%) as a white solid; mp : 157°C ; R_f (cyclohexane/ethyl acetate : 70/30) 0.38; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.89 (H_4 , d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.73 (H_6 , d, J = 1.9 Hz, 1H), 5.20 (H_1 , s, 2H); ^{13}C NMR (75.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 168.1, 156.5, 137.5, 128.9, 121.0, 88.6, 72.8, 1.2; HRMS (TOF MS) : $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_4\text{NNaI}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculated 327.908, found 327.908; $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3087 ($=\text{C}-\text{H}_{\text{Ar}}$), 1770 ($\text{C}=\text{O}$), 1534 ($\text{C}-\text{NO}_2$), 1345 ($\text{C}-\text{NO}_2$), 1090 ($\text{C}-\text{O}$).

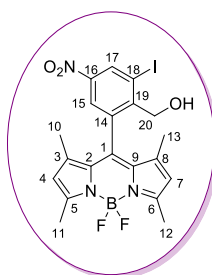


8-(2-Hydroxymethylphenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (**59**)

To a solution of phthalide (1 eq, 0.75 mmol, 100 mg) in 0.75 mL of anhydrous dichloromethane in a sealed tube was added triethyloxonium tetrafluoroborate (5M in dichloromethane, 2 eq, 1.5 mmol, 0.3 mL) under N_2 . The resulting solution was stirred under reflux at 40°C for 24h. After cooling down

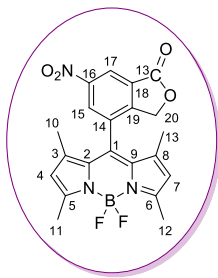
to 0°C, 2,4-dimethylpyrrole (3 eq, 2.25 mmol, 0.23 mL) was added and the resulting mixture stirred under reflux at 40°C for 4h. After recooling down to 0°C, triethylamine (6 eq, 4.5 mmol, 0.63 mL) and borontrifluoride diethyl etherate complex (9 eq, 6.75 mmol, 1.8 mL) were added dropwise and the reaction mixture was stirred at rt for another 2h. The reaction mixture was diluted with dichloromethane and washed with water (3x) and saturated sodium chloride (1x). The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. To remove the unreacted phthalide, the residue was stirred in a mixture of dichloromethane and 1M NaOH aqueous solution at room temperature overnight. The organic layer was separated, washed with water (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 8/2) to give the BODIPY **59** (104 mg, 40%) as orange crystals; *R_f* (20% ethyl acetate/cyclohexane) 0.17; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.65 (H_{Ar}, dd, *J* = 6.3 Hz, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.52 (H_{Ar}, td, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.42 (H_{Ar}, td, *J* = 7.5 Hz, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.20 (H_{Ar}, dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 5.98 (H₄, H₇, s, 2H), 4.60 (CH₂, s, 2H), 2.56 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.36 (H₁₀, H₁₃, s, 6H).

The spectral data was in accordance with the literature (M. del Río, F. Lobo, J. C. López, A. Oliden, J. Bañuelos, I. López-Arbeloa, I. Garcia-Moreno and A. M. Gómez, *J. Org. Chem.*, **2017**, 82, 1240-1247).



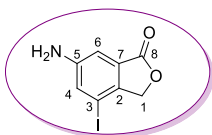
5,5-difluoro-10-(2-(hydroxymethyl)-3-iodo-5-nitrophenyl)-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (60)

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of 4-iodo-6-nitroisobenzofuran-1(3H)-one **55** (1 eq, 0.16 mmol, 51 mg) in 0.4 mL of distilled DCE in a sealed tube was added Et₃OBF₄ (5M) (2 eq, 0.32 mmol, 66 µL). The resulting solution was stirred under micro-wave irradiation at 90°C for 1h30. Then 2,4-dimethylpyrrole (3 eq, 0.49 mmol, 51 µL) was added at 0°C. The reaction mixture was stirred under micro-wave irradiation at 90°C for 1h30. Then triethylamine (6 eq, 0.98 mmol, 0.14 mL) and BF₃·OEt₂ (45%) (9 eq, 1.5 mmol, 0.4 mL) were added dropwise at 0°C. The resulting solution was stirred at room temperature for 18h and diluted with DCM, washed with distilled water (3x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in DCM and stirred in the presence of an aqueous solution of sodium hydroxide (1M) at room temperature for 16h to remove the starting material. The resulting solution was separated, the organic layer was washed with distilled water (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 8/2) to give the BODIPY **60** (8 mg, 9%) as an orange solid; *R_f* (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.22; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.84 (H₁₇, d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.16 (H₁₅, d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.04 (H₄, H₇, s, 2H), 4.76 (H₂₀, d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.57 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.38 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 157.5 (C₅, C₆), 147.9 (C₁₉), 146.9 (C₁₆), 142.6 (C₃, C₈), 137.0 (C₁₈), 135.5 (C₁₇), 130.8 (C₂, C₉), 124.0 (C₁₅), 122.4 (C₄, C₇), 101.0 (C₁₄, C₁₉), 65.6 (C₂₀), 15.0 (C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃); HRMS (TOF MS) : C₂₀H₁₉BN₃O₃F₂NaI [M+Na]⁺ calculated 548.0424, found 548.0423.



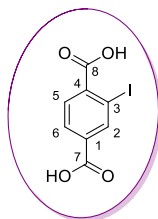
[¹³C]-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-10-(6-nitro-1-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-4-yl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide ([¹³C]-61)

In the chamber 1 of the two-chamber system was added $\text{Ph}_2\text{MeSi}^{13}\text{COOH}$ (0.9 eq, 23 μmol , 5 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added BODIPY **60** (1 eq, 25 μmol , 13 mg), $\text{Pd}(\text{dba})_2$ (0.1 eq, 3 μmol , 1 mg), Xantphos (0.1 eq, 2 μmol , 1 mg) and DABCO (2 eq, 50 μmol , 6 mg). The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 1 ml of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 70°C, then 5 μl of a solution of TBAF (1M in THF, 5 μmol , 20 mol%) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 70°C for 16 hours. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/diethyl ether : 7/3) to give the BODIPY [¹³C]-**61** (3 mg, 31%) as an orange solid; mp : 225 °C; R_f (30% diethyl ether/petroleum ether) 0.25; ¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.88 (H_{17} , dd, J = 3.1, 2.0 Hz, 1H), 8.54 (H_{15} , d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.07 (H_4 , H_7 , s, 2H), 5.25 (H_{20} , d, J = 2.1 Hz, 2H), 2.59 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 1.34 (H_{10} , H_{13} , s, 6H); ¹³C NMR (150.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 167.8 (¹³C-enriched), 158.5 (C_5 , C_6), 150.9 (C_{16} , C_{18}), 141.5 (C_3 , C_8 , C_{17}), 129.1 (C_2 , C_9), 122.9-122.1 (C_4 , C_7 , C_{15}), 69.2 (C_{20}), 15.0 (C_{10} , C_{13}), 14.8 (C_{11} , C_{12}); HRMS (ESI) : $\text{C}_{20}^{13}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}_3^{10}\text{BF}_2$ [$\text{M}-\text{H}$]⁻ calculated 424.1356, found 424.1348; $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3030 (=C- H_{Ar}), 1733 (C=O), 1545 (C- NO_2), 1346 (C- NO_2), 1060 (C-O).



6-amino-4-iodoisobenzofuran-1(3H)-one (62)

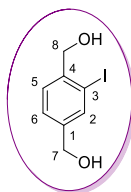
To a suspension of compound **55** (1 eq, 0.4 mmol, 122 mg) in 1.5 mL of acetic acid was added iron iron powder (2.5 eq, 1 mmol, 56 mg). The resulting mixture was stirred at 50°C for 3h. After returning at room temperature, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved with water and a saturated aqueous solution of sodium bicarbonate was added until pH 8. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 8/2) to give the amine **62** (78 mg, 71%) as a yellow solid; mp : 208.4 °C; R_f (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.25; ¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.33 (H_4 or H_6 , d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.10 (H_4 or H_6 , d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.00 (H_1 , s, 2H), 3.97 (NH_2 , br. s, 2H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 171.5 (C_8), 148.9 (C_5), 140.4 (C_2), 129.4 (C_4 or C_6), 128.6 (C_3 or C_7), 110.0 (C_4 or C_6), 88.5 (C_3 or C_7), 72.5 (C_1); HRMS (TOF MS) : $\text{C}_8\text{H}_6\text{NO}_2\text{NaI}$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺, calculated 297.9335, found 297.9344.



2-iodoterephthalic acid (**68**)

To a suspension of 2-aminoterephthalic acid (1 eq, 5.5 mmol, 1 g) in 30 mL of a mixture of distilled H₂O/HCl cc (1:1) was added a solution of sodium nitrite (2.5 eq, 13.8 mmol, 952 mg) in 10 mL of distilled water dropwise at 0°C. The resulting solution was stirred at 0°C for 30 min. The reaction mixture was poured into a solution of potassium iodide (6 eq, 33 mmol, 5.5 g) in 50 mL of distilled water. The resulting dark solution was stirred at room temperature for 19h. Sodium thiosulfate was added until the solution became light brown. The resulting solid was filtered under vacuum, triturated with DCM/H₂O (1 : 1) and dried under vacuum to give the 2-iodoterephthalic acid **68** (1.6 g, quant.) as a tan coloured solid; R_f (40% ethyl acetate/petroleum ether/1% acetic acid) 0.19; ¹H NMR (300 MHz, Acetone-d₆) δ (ppm): 8.61 (H₂, d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.13 (H₆, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.94 (H₅, d, *J* = 8.0 Hz, 1H).

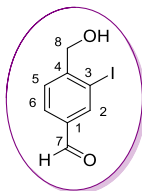
The spectral data was in accordance with the literature (*Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 4378-4382).



(2-iodo-1,4-phenylene)dimethanol (**69**)

Under a nitrogen atmosphere, to a suspension of 2-iodoterephthalic acid **68** (1 eq, 0.34 mmol, 100 mg) in 2 mL of anhydrous THF was added BH₃.THF (1M) (4.8 eq, 1.6 mmol, 1.6 mL) dropwise. The resulting mixture was stirred at room temperature for 16h and quenched with distilled water and HCl (1M). The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/ethyl acetate : 6/4) to give the glycol **69** (56 mg, 62%) as a white solid; R_f (40% ethyl acetate/petroleum ether) 0.23; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 7.75 (H₂, s, 1H), 7.41 (H_{Ar}, d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.33 (H_{Ar}, d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.39 (OH, t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.24 (OH, t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.45 (CH₂, d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 4.39 (CH₂, d, *J* = 5.5 Hz, 2H).

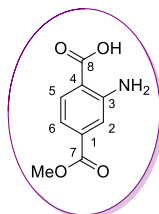
The spectral data was in accordance with the literature (C. Schweez *et al*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2016**, 55, 3328-3333).



4-(hydroxymethyl)-3-iodobenzaldehyde (**66**)

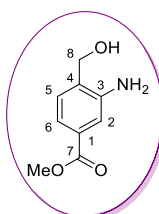
Under a nitrogen atmosphere, to a solution of glycol **69** (1 eq, 0.19 mmol, 50 mg) in 1 mL of anhydrous DMSO was added IBX (45 mass%, 1 eq, 0.19 mmol, 118 mg) portionwise. The resulting solution was stirred at room temperature for 30 min, quenched with distilled water and filtered under reduced pressure. The solid was washed with ethyl acetate. The layers of the filtrate were separated,

the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x), the combined organic layers were washed with a saturated aqueous solution of sodium bicarbonate (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative TLC (50% diethyl ether/petroleum ether) to give the aldehyde **66** (13 mg, 26%) as a white solid; mp : 86 °C; R_f (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.38; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.94 (H₇, s, 1H), 8.31 (H₂, d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.89 (H₆, dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 7.69 (H₅, d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.74 (H₈, s, 2H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 190.5 (C₇), 149.2 (C₄), 140.1 (C₂), 137.0 (C₁), 129.9 (C₆), 128.3 (C₅), 96.9 (C₃), 69.2 (C₈); HRMS (ESI) : C₈H₆O₂¹²⁷I [M-H]⁻ calculated 260.9418, found 260.9412; ν_{max}/cm⁻¹ : 3306 (O-H), 2840 (=C-H_{Ar}), 1692 (C=O), 1593 (C=C_{Ar}), 1190 (C-O).



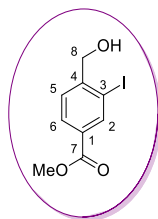
2-amino-4-(methoxycarbonyl)benzoic acid (**71**)

Under a nitrogen atmosphere, to a suspension of 2-aminoterephthalic acid (1 eq, 10 mmol, 1.81 g) in 40 mL of methanol was added TMSCl (1.5 eq, 15 mmol, 1.9 mL). The resulting mixture was stirred at reflux overnight and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in a saturated aqueous solution of sodium bicarbonate and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3x), the combined organic layers were washed with a saturated aqueous solution of sodium bicarbonate (1x). The combined aqueous layers were acidified with acetic acid until neutral pH and extracted with EtOAc (3x), the combined organic layers were washed with brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the acid **71** (1.7 g, 87%) as a yellow solid; R_f (40% ethyl acetate/petroleum ether/1% AcOH) 0.55; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 7.78 (H₅, d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.40 (H₂, d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.02 (H₆, dd, *J* = 8.3, 1.6 Hz, 1H), 3.83 (-OCH₃, s, 3H). The spectral data was in accordance with the literature (S. Ursuegui *et al*, *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, *13*, 3625-3632).



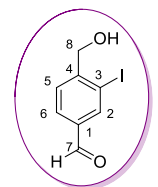
methyl 3-amino-4-(hydroxymethyl)benzoate (**72**)

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of acid **71** (1 eq, 5 mmol, 976 mg) and I₂ (1 eq, 5 mmol, 1.27 g) in 30 mL of anhydrous THF was added NaBH₄ (2.5 eq, 12.5 mmol, 473 mg) at 0°C. The resulting mixture was stirred at reflux overnight. After returning to room temperature, the reaction mixture was diluted with 30 mL of ethyl acetate and quenched with 30 mL of a saturated aqueous solution of ammonium chloride at 0°C. The layers were separated and the organic layer was washed with distilled water (1x). The combined aqueous layers were extracted with ethyl acetate (2x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 6/4 then 5/5) to give the alcohol **72** (730 mg, 81%) as a yellow solid; mp : 103 °C; R_f (60% ethyl acetate/petroleum ether) 0.34; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.39 (H₂, H₆, m, 2H), 7.14 (H₅, d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.72 (H₈, s, 2H), 3.89 (-OCH₃, s, 3H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 167.3 (C₇), 146.1, 130.9, 129.4, 129.0, 119.4, 116.9, 64.0, 52.2; HRMS (ESI) : C₉H₁₂O₃N [M+H]⁺ calculated 182.0812, found 182.0812; ν_{max}/cm⁻¹ : 3355 (N-H), 3211 (O-H), 2948 (=C-H_{Ar}), 1707 (C=O), 1440 (N-H), 1301 (C-N), 1248 (C-O).



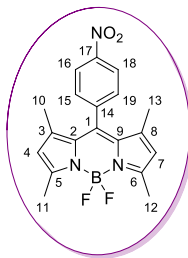
methyl 4-(hydroxymethyl)-3-iodobenzoate (**73**)

To a suspension of alcohol **72** (1 eq, 4 mmol, 730 mg) in 50 mL of distilled water was added *p*-TsOH.H₂O (3 eq, 12 mmol, 2.28 g). The resulting mixture was stirred at room temperature for 5 min and NaNO₂ (2.5 eq, 10 mmol, 690 mg) was added at 0°C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 10 min and KI (2.5 eq, 10 mmol, 1.66 g) was added. The resulting dark brown solution was stirred at room temperature overnight and was quenched with 50 mL of an aqueous solution of sodium thiosulfate (0.1M). The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were washed with brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 9/1) to give the alcohol **73** (876 mg, 75%) as a yellow solid; *R*_f (20% ethyl acetate/Petroleum ether) 0.28; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.47 (H₂, d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.04 (H₆, dd, *J* = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.57 (H₅, d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.71 (H₈, d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.92 (-OCH₃, s, 3H). The spectral data was in accordance with the literature (H. Konishi *et al*, *Org. Lett.*, **2017**, *19*, 1578-1581).



4-(hydroxymethyl)-3-iodobenzaldehyde (**66**)

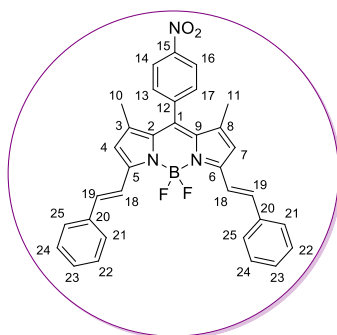
Under a nitrogen atmosphere, to a solution of morpholine (3.1 eq, 0.62 mmol, 55 μL) in 2 mL of anhydrous THF was added DIBAL (3 eq, 0.60 mmol, 0.60 mL) dropwise at 0°C. The resulting mixture was stirred at 0°C for 3h and poured on the ester **73** (1 eq, 0.20 mmol, 58 mg) under a nitrogen atmosphere. The reaction mixture was stirred at reflux overnight. To the reaction mixture was added DIBAL (2 eq, 0.40 mmol, 0.40 mL) dropwise at room temperature. The resulting mixture was stirred at reflux for 6h. After returning to room temperature, the reaction mixture was quenched with HCl (1M), the aqueous layer was extracted with Et₂O (3x). The combined organic layers were dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 8/2) to give the aldehyde **66** (39 mg, 75%) as a white solid; mp : 86 °C; *R*_f (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.38; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.94 (H₇, s, 1H), 8.31 (H₂, d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.89 (H₆, dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 7.69 (H₅, d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.74 (H₈, s, 2H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 190.5 (C₇), 149.2 (C₄), 140.1 (C₂), 137.0 (C₁), 129.9 (C₆), 128.3 (C₅), 96.9 (C₃), 69.2 (C₈); HRMS (ESI) : C₈H₆O₂¹²⁷I [M-H]⁻ calculated 260.9418, found 260.9412; ν_{max}/cm⁻¹ : 3306 (O-H), 2840 (=C-H_{Ar}), 1692 (C=O), 1593 (C=C_{Ar}), 1190 (C-O).



5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-10-(4-nitrophenyl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (65)

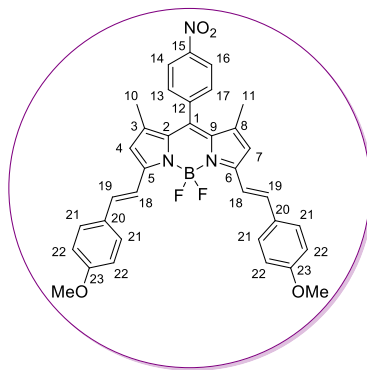
Under an inert atmosphere, to a solution of 4-nitrobenzaldehyde (1 eq, 6.6 mmol, 1 g) and 2,4-dimethylpyrrole (2.2 eq, 14.5 mmol, 1.5 mL) in 100 mL of anhydrous THF was added TFA (0.05 eq, 0.33 mmol, 0.025 mL). The resulting solution was stirred at room temperature for 18h. Complete consumption of the starting aldehyde was observed by TLC. To the reaction mixture was added a solution of DDQ (1 eq, 6.6 mmol, 1.5 g) in 100 mL of anhydrous THF. The reaction mixture was then stirred for 50 min. To the solution was added triethylamine (11.5 eq, 75.9 mmol, 10.6 mL) and $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 46.5 mol% (7.5 eq, 49.5 mmol, 13 mL) dropwise at 0°C. The reaction mixture was stirred for 40 min and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/EtOAc : 9/1 then 7/3 then 5/5) to afford the BODIPY **65** (2.22 g, 91%) as a red solid; R_f (10% EtOAc/petroleum ether) 0.22; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.39 (H_{16} , H_{18} , d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.54 (H_{19} , H_{15} , d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.02 (H_4 , H_7 , s, 2H), 2.57 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 1.36 (H_{10} , H_{13} , s, 6H)

The spectral data was in accordance with the literature (Duygu Aydın Tekdas et al., *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, 14, 2665-2670)



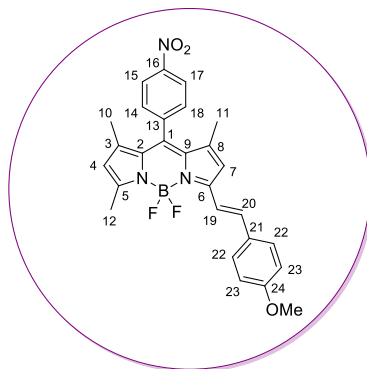
5,5-difluoro-1,9-dimethyl-10-(4-nitrophenyl)-3,7-di((E)-styryl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (80)

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of BODIPY **65** (1 eq, 0.1 mmol, 37 mg) in 1 mL of anhydrous DMF was added benzaldehyde (2 eq, 0.2 mmol, 20 μL), acetic acid (3 eq, 0.3 mmol, 17 μL) and piperidine (3 eq, 0.3 mmol, 30 μL). The resulting mixture was stirred under micro-waves at 150°C for 5 min and concentrated under vacuum. The residue was purified by silica gel column chromatography (100% dichloromethane) to give the BODIPY **80** (27 mg, 49%) as a dark solid; mp : 274.8 °C; R_f (20% EtOAc/petroleum ether) 0.59; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.42 (H_{14} , H_{16} , d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.69 (H_{Ar} or/and H_{18} , H_{19} , m, 6H), 7.58 (H_{13} , H_{17} , d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.39 (H_{Ar} or/and H_{18} , H_{19} , m, 8H), 6.68 (H_4 , H_7 , s, 2H), 1.44 (H_{10} , H_{11} , s, 6H); ^{13}C NMR (75.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 153.6 (C_2 , C_9), 148.5 (C_{12}), 142.3 (C_{15}), 141.5 (C_{18} , C_{19}), 137.3 (C_{Ar}), 136.5 (C_5 , C_6), 135.6 (C_1), 132.7 (C_3 , C_8), 130.3 (C_{13} , C_{17}), 129.4 (C_{Ar}), 129.0 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 124.4 (C_{14} , C_{16}), 119.1-118.6 (C_4 , C_7), 15.1 (C_{10} , C_{11}); HRMS (ESI): $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_3^{11}\text{BF}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculated 546.2159, found 546.2148.



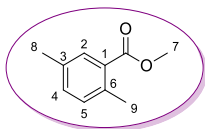
5,5-difluoro-3,7-bis((E)-4-methoxystyryl)-1,9-dimethyl-10-(4-nitrophenyl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (81)

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of BODIPY **65** (1 eq, 0.1 mmol, 37 mg) in 1 mL of anhydrous DMF was added 4-methoxybenzaldehyde (2 eq, 0.2 mmol, 24 μ L), acetic acid (3 eq, 0.3 mmol, 17 μ L) and piperidine (3 eq, 0.3 mmol, 30 μ L). The resulting mixture was stirred under microwave irradiation at 150°C for 5 min and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/dichloromethane : gradient 50/50 then 40/60 then 30/70 then 100% dichloromethane) to give the BODIPY **81** (14 mg, 23%) as a dark brown solid; mp > 350 °C; R_f (70% dichloromethane/petroleum ether) 0.52; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.40 (H_{14} , H_{16} , d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.60 (H_{13} , H_{17} , H_{21} , H_{22} , d, J = 8.8 Hz, 10H), 6.94 (H_{18} , H_{19} , d, J = 8.8 Hz, 4H), 6.64 (H_4 , H_7 , s, 2H), 3.87 (OCH_3 , s, 6H), 1.43 (H_{10} , H_{11} , s, 6H); ^{13}C NMR (75.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 160.8 (C_{23}), 153.7 (C_2 , C_9), 148.5 (C_{12}), 142.6 (C_{15}), 141.1 (C_{18} , C_{19}), 139.4 (C_{20}), 136.8 (C_5 , C_6), 134.6 (C_1), 132.5 (C_3 , C_8), 130.4-129.4 (C_{13} , C_{17} , C_{21} , C_{22}), 124.4 (C_{14} , C_{16}), 118.2 (C_4 , C_7), 55.6 (OCH_3), 15.1-14.3 (C_{10} , C_{11}); HRMS (ESI): $\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{N}_3^{10}\text{BF}_2^{23}\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, calculated 627.2226, found 627.2228.



(E)-5,5-difluoro-3-(4-methoxystyryl)-1,7,9-trimethyl-10-(4-nitrophenyl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (82)

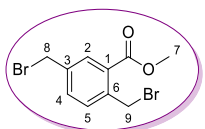
To a solution of BODIPY **65** (1 eq, 0.1 mmol, 37 mg) in 1 mL of anhydrous DMF under a nitrogen atmosphere was added 4-methoxybenzaldehyde (0.5 eq, 0.05 mmol, 7 mg), acetic acid (3 eq, 0.3 mmol, 17 μ L) and piperidine (3 eq, 0.3 mmol, 30 μ L). The resulting mixture was stirred under microwave irradiation at 150°C for 5 min and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate/triethylamine : 9/1/0.01 then 8/2/0.01) to give the BODIPY **82** (6 mg, 25%) as dark violet solid; mp : 201.5 °C; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether/1% triethylamine) 0.41; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.39 (H_{15} , H_{17} , d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.57 (H_{Ar} , m, 5H), 7.21 (H_{Ar} , s, 1H), 6.91 (H_{19} , H_{20} , d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.62 (H_7 , s, 1H), 6.03 (H_4 , s, 1H), 3.85 (OCH_3 , s, 3H), 2.60 (H_{12} , s, 3H), 1.41-1.38 (H_{10} , H_{11} , s, 6H); ^{13}C NMR (75.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 160.9 (C_{24}), 155.6 (C_5), 154.6 (C_6), 148.4 (C_{16}), 142.3 (C_{13}), 142.1 (C_1), 141.5 (C_3 , C_8), 137.4 (C_{Ar}), 132.2-130.9 (C_2 , C_9), 130.1 (C_{21}), 129.4 (C_{Ar}), 124.4 (C_{15} , C_{17}), 121.7 (C_4), 118.3 (C_7), 116.8 (C_{Ar}), 114.5 (C_{19} , C_{20}), 55.5 (OCH_3), 14.8 (C_{10} , C_{11} , C_{12}); HRMS (ESI): $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{N}_3^{10}\text{BF}_2^{23}\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, calculated 509.1807, found 509.1808.



methyl 2,5-dimethylbenzoate (84**)**

To a suspension of 2,5-dimethylbenzoic acid (1 eq, 13.3 mmol, 2 g) in 4 mL of methanol was added 95-98% H₂SO₄ (0.1 eq, 1.33 mmol, 71 µL). The resulting mixture was stirred at reflux at 65°C for 22h. After returning to room temperature, the reaction mixture was diluted with mL of ethyl acetate, washed with distilled water (1x), a 1M aqueous solution of NaOH (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the ester **84** (1.96 g, 90%) as a colorless liquid; R_f (10% ethyl acetate/petroleum ether) 0.86; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.72 (H₂, d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.21 (H₄, dd, *J* = 7.8 Hz, 1.3 Hz, 1H), 7.13 (H₅, d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.89 (H₇, s, 3H), 2.55 (H₉, s, 3H), 2.34 (H₈, s, 3H).

The spectral data was in accordance with the literature (K. C. Nicolaou, Y. Wang, M. Lu, D. Mandal, M. R. Pattanayak, R. Yu, A. A. Shah, J. S. Chen, H. Zhang, J. J. Crawford, L. Pasunoori, Y. B. Poudel, N. S. Chowdari, C. Pan, A. Nazeer, S. Gangwar, G. Vite, and E. N. Pitsinos, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, 8235-8246)

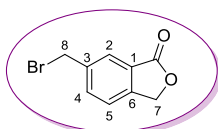


methyl 2,5-bis(bromomethyl)benzoate (85**)**

To a solution of ester **84** (1 eq, 2 mmol, 328 mg) in 6 mL of chlorobenzene under a nitrogen atmosphere was added NBS (2.2 eq, 4.4 mmol, 783 mg). The resulting mixture was stirred at 77°C for 10 min and benzoyl peroxide 75% (0.06 eq, 0.12 mmol, 39 mg) was added. The solution was stirred at 77°C for 17h. After returning to room temperature, the reaction mixture was diluted with 6 mL of ethyl acetate, washed with a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/dichloromethane : 8/2) to give the ester **85** (306 mg, 48%) as a white solid; R_f (40% dichloromethane/petroleum ether) 0.19; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.00 (H₂, d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.53 (H₄, dd, *J* = 7.9 Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.45 (H₅, d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.94 (H₉, s, 2H), 4.48 (H₈, s, 2H), 3.96 (H₇, s, 3H).

The spectral data was in accordance with the literature (K. C. Nicolaou, Y. Wang, M. Lu, D. Mandal, M. R. Pattanayak, R. Yu, A. A. Shah, J. S. Chen, H. Zhang, J. J. Crawford, L. Pasunoori, Y. B. Poudel, N. S. Chowdari, C. Pan, A. Nazeer, S. Gangwar, G. Vite, and E. N. Pitsinos, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, 8235-8246)

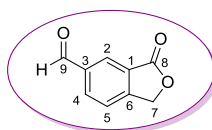
Attribution des protons : H. K. Neudeck *et al.*, *Monatsh. Chem.*, **1996**, *127*, 201-217



6-(bromomethyl)isobenzofuran-1(3H)-one (86**)**

To a flask was added ester **85** (1 eq, 0.88 mmol, 282 mg). The flask was heated to 150°C under vacuum for 12h to give the phthalide **86** (173 mg, 87%) as a white solid; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.17; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.94 (H₂, s, 1H), 7.73 (H₄, dd, *J* = 7.9 Hz, 1.6 Hz, 1H), 7.49 (H₅, d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.33 (H₇, s, 2H), 4.57 (H₈, s, 2H).

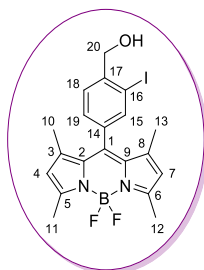
The spectral data was in accordance with the literature (K. C. Nicolaou, Y. Wang, M. Lu, D. Mandal, M. R. Pattanayak, R. Yu, A. A. Shah, J. S. Chen, H. Zhang, J. J. Crawford, L. Pasunoori, Y. B. Poudel, N. S. Chowdari, C. Pan, A. Nazeer, S. Gangwar, G. Vite, and E. N. Pitsinos, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, 8235-8246)



3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-5-carbaldehyde (**87**)

To a suspension of phthalide **86** (1 eq, 5.4 mmol, 1.22 g) and hexamethylenetetramine (2 eq, 10.8 mmol, 1.51 g) in 7 mL of acetic acid was added 5 mL of distilled water. The resulting mixture was stirred at reflux for 2h. After returning to room temperature, the reaction mixture was poured into 20 mL of distilled water and extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were washed with a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (4x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 6/4) to give the aldehyde **87** (533 mg, 61%) as a white solid; *R_f* (40% ethyl acetate/petroleum ether) 0.41; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 10.13 (H₉, d, *J* = 0.6 Hz, 1H), 8.42 (H₂, d, *J* = 0.6 Hz, 1H), 8.25 (H₄, dd, *J* = 7.9 Hz, 1.4 Hz, 1H), 7.68 (H₅, d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.42 (H₇, s, 2H).

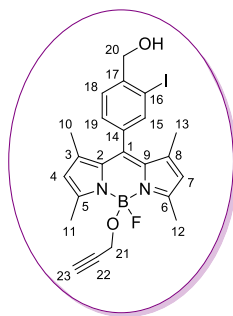
The spectral data was in accordance with the literature (K. C. Nicolaou, Y. Wang, M. Lu, D. Mandal, M. R. Pattanayak, R. Yu, A. A. Shah, J. S. Chen, H. Zhang, J. J. Crawford, L. Pasunoori, Y. B. Poudel, N. S. Chowdari, C. Pan, A. Nazeer, S. Gangwar, G. Vite, and E. N. Pitsinos, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, 8235-8246).



5,5-difluoro-10-(4-(hydroxymethyl)-3-iodophenyl)-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (**90**)

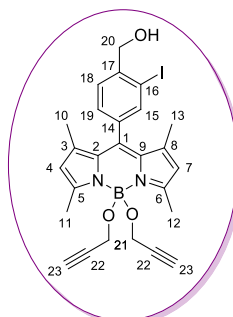
Under a nitrogen atmosphere, to a solution of the aldehyde **66** (1 eq, 1.8 mmol, 472 mg) and 2,4-dimethylpyrrole (2.2 eq, 4.0 mmol, 0.41 mL) in 25 mL of anhydrous THF was added trifluoroacetic acid (0.4 eq, 0.72 mmol, 55 μL). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight. A solution of DDQ (1 eq, 1.8 mmol, 409 mg) in 25 mL of anhydrous THF was added and the resulting mixture was stirred for 5h. At 0°C were added triethylamine (11.5 eq, 20.7 mmol, 2.9 mL) and BF₃·OEt₂ (16 eq, 28.8 mmol, 3.6 mL) dropwise. The resulting solution was stirred at room temperature overnight then washed twice with distilled water. The aqueous layers were extracted twice with ethyl acetate. The combined organic layers were dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (pentane/ethyl acetate : 90/10 then 80/20 then 50/50) to give the BODIPY **90** (697 mg, 81%) as an orange solid; mp : 230 °C; *R_f* (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.47; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.78 (H₁₅, d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.61 (H₁₈, d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.33 (H₁₉, dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 5.99 (H₄, H₇, s, 2H), 4.76 (H₂₀, s, 2H), 2.55 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.43 (H₁₀, H₁₃, s, 6H) ; ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 156.1 (C₅, C₆), 143.8 (C₃, C₈), 143.1 (C₁₇), 139.3-138.5 (C₁, C₁₅), 136.1 (C₁₄), 131.4 (C₂, C₉), 128.5-128.4 (C₁₈, C₁₉), 121.6 (C₄, C₇), 96.9

(C₁₆), 69.1 (C₂₀), 15.0 (C₁₀, C₁₃), 14.8 (C₁₁, C₁₂); HRMS (ESI) : C₂₀H₂₁ON₂¹⁰BF₂¹²⁷I [M+H]⁺ calculated 480.0790, found 480.0790; $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3534 (O-H), 2924 (=C-H_{Ar}), 1546 (C=C_{Ar}), 1193 (C-O), 1157 (C-N).



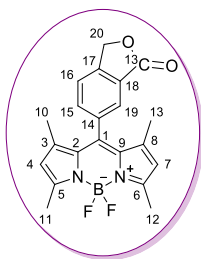
5-fluoro-10-(4-(hydroxymethyl)-3-iodophenyl)-1,3,7,9-tetramethyl-5-(prop-2-yn-1-yloxy)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (91**)**

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of BODIPY **90** (1 eq, 0.3 mmol, 144 mg) in 2 mL of anhydrous dichloromethane was added dropwise at 0°C a solution of TMSOTf (0.9 eq, 0.27 mmol, 49 μL) in 0.5 mL of anhydrous dichloromethane. The resulting mixture was stirred at 0°C for 2 min and a solution of propargyl alcohol (10 eq, 3 mmol, 0.17 mL) and DIEA (5 eq, 1.5 mmol, 0.26 mL) in 1 mL of anhydrous dichloromethane was added dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature for 24h and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/dichloromethane : 1/9 then dichloromethane/methanol : 99/1) then by preparative chromatography (dichloromethane/methanol : 98/2) to give the BODIPY **91** (19 mg, 14%) as an orange solid; R_f (2% methanol/dichloromethane) 0.45; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.78 (H₁₅, s, 1H), 7.62 (H₁₈, d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.33 (H₁₉, ddd, J = 1.6, 3.6, 8.0 Hz, 1H), 5.99 (H₄, H₇, s, 2H), 4.77 (H₂₀, s, 2H), 3.82 (H₂₁, s, 2H), 2.57 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 2.13 (H₂₃, m, 1H), 1.43 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); HRMS (ESI) : C₂₃H₂₃O₂N₂¹⁰BF¹²⁷I²³Na [M+Na]⁺ calculated 538.0810, found 538.0807.



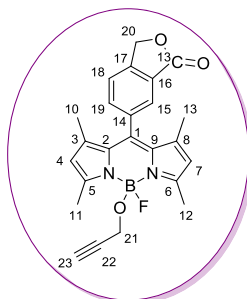
10-(4-(hydroxymethyl)-3-iodophenyl)-1,3,7,9-tetramethyl-5,5-bis(prop-2-yn-1-yloxy)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (92**)**

Using the same procedure as BODIPY **91**, the residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/dichloromethane : 1/9 then dichloromethane/methanol : 99/1) then by preparative chromatography (dichloromethane/methanol : 98/2) to give the BODIPY **92** (11 mg, 7%) as an orange solid; R_f (2% methanol/dichloromethane) 0.48; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.78 (H₁₅, d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.63 (H₁₈, d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.33 (H₁₉, dd, J = 1.4, 7.8 Hz, 1H), 5.98 (H₄, H₇, s, 2H), 4.77 (H₂₀, s, 2H), 3.82 (H₂₁, d, J = 2.1 Hz, 4H), 2.58 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 2.08 (H₂₃, td, J = 2.1, 6.9 Hz, 1H), 1.42 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); HRMS (ESI) : C₂₆H₂₆O₃N₂¹⁰B¹²⁷I²³Na [M+Na]⁺ calculated 574.1010, found 574.1005.



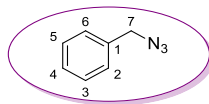
[¹³C]-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-10-(3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-5-yl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide ([¹³C]-96)

In the chamber 1 of the two-chamber system was added $\text{Ph}_2\text{MeSi}^{13}\text{COOH}$ (0.9 eq, 40 μmol , 10 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added BODIPY **90** (1 eq, 44 μmol , 21 mg), $\text{Pd}(\text{dba})_2$ (0.1 eq, 4.4 μmol , 3 mg), Xantphos (0.1 eq, 4.4 μmol , 3 mg) and DABCO (2 eq, 88 μmol , 10 mg). The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 1 ml of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 70°C, then 11 μl of a solution of TBAF (1M in THF, 25 mol%, 11 μmol) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 70°C for 1 hour. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 8/2 then 7/3) to give the BODIPY [¹³C]-**96** (12 mg, 80%) as an orange solid; mp : 268 °C; R_f (40% ethyl acetate /petroleum ether) 0.35; ¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.90 (H_{16} , m, 1H), 7.65 (H_{15} , H_{19} , m, 2H), 6.00 (H_4 , H_7 , s, 2H), 5.44 (H_{20} , d, J = 2.0 Hz, 2H), 2.57 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 1.32 (H_{10} , H_{13} , s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 170.2 (¹³C-enriched), 156.6 (C_5 , C_6), 147.3 (C_{17}), 142.7 (C_3 , C_8), 136.7 (C_1 , C_{14}), 134.3 (C_{15}), 131.4 (C_2 , C_9), 126.5 (C_{18}), 125.9 (C_{16}), 123.3 (C_{19}), 121.9 (C_4 , C_7), 69.8 (C_{20}), 15.0 (C_{10} , C_{13}), 14.8 (C_{11} , C_{12}); HRMS (ESI) : $\text{C}_{20}^{13}\text{CH}_{19}\text{O}_2\text{N}_2^{11}\text{BF}_2^{23}\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ calculated 404.1433, found 404.1432; $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 2924 (=C-H_{Ar}), 1722 (C=O), 1547 (C=C_{Ar}), 1193 (C-O), 1157 (C-N).



[¹³C]-5-fluoro-1,3,7,9-tetramethyl-10-(3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-5-yl)-5-(prop-2-yn-1-yloxy)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide ([¹³C]-97)

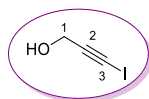
Under a nitrogen atmosphere, to a solution of BODIPY [¹³C]-**96** (1 eq, 0.063 mmol, 24 mg) in 0.6 mL of anhydrous dichloromethane was added dropwise at 0°C TMSOTf (3 eq, 0.19 mmol, 34 μL). The resulting mixture was stirred at 0°C for 2 min and a solution of propargyl alcohol (10 eq, 0.63 mmol, 37 μL) and DIEA (5 eq, 0.32 mmol, 56 μL) in 0.4 mL of anhydrous dichloromethane was added dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1.5h and diluted with dichloromethane. The organic layer was washed with brine (3x). The combined aqueous layers were extracted with dichloromethane (1x). The combined organic layers were dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (dichloromethane/methanol : 100/0 then 99/1 then 98/2) to give the BODIPY [¹³C]-**97** (13 mg, 50%) as an orange solid; R_f (4% methanol/dichloromethane) 0.61; ¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.91 (H_{Ar} , m, 1H), 7.65 (H_{Ar} , m, 2H), 5.99 (H_4 , H_7 , m, 2H), 5.45 (H_{20} , m, 2H), 3.85 (H_{21} , s, 2H), 2.58 (H_{11} , H_{12} , m, 6H), 2.08 (H_{23} , m, 1H), 1.31 (H_{10} , H_{13} , s, 6H); HRMS (ESI) : $\text{C}_{23}^{13}\text{CH}_{22}\text{O}_3\text{N}_2^{10}\text{BF}^{23}\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ calculated 439.1670, found 439.1663.



(azidomethyl)benzene (101)

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of benzyl bromide (1 eq, 5 mmol, 0.59 mL) in 10 mL of anhydrous DMF was added sodium azide (1.5 eq, 7.5 mmol, 488 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature for 2h and diluted with distilled water. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were washed with distilled water (3x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the (azidomethyl)benzene (449 mg, 67%) as a yellow oil; R_f (10% dichloromethane/petroleum ether) 0.32; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.43-7.31 (H_{Ar}, m, 5H), 4.35 (H₇, s, 2H).

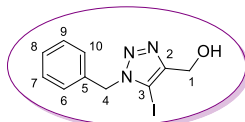
The spectral data was in accordance with the literature (J. Pietruszka, G. Solduga, *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 5998-6008).



3-iodoprop-2-yn-1-ol (103)

To a solution of propargyl alcohol (1 eq, 2 mmol, 0.12 mL) in 3 mL of methanol were added at 0°C a solution of potassium hydroxide (3.5 eq, 7 mmol, 462 mg) in 1 mL of cold distilled water, and then I₂ (1.5 eq, 3 mmol, 761 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and was neutralized with a 1M aqueous solution of HCl. The aqueous layer was extracted with diethyl ether (3x), the combined organic layers were washed with a saturated aqueous solution of Na₂S₂O₃ (3x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the alcohol **103** (328 mg, 100%) as a white solid; R_f (10% methanol/dichloromethane) 0.7; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 4.42 (H₁, s, 2H), 1.72 (-OH, br, 1H).

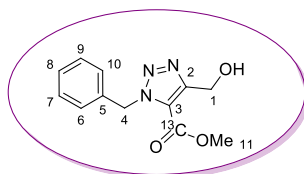
The spectral data was in accordance with the literature (E. Jahnke, J. Weiss, S. Neuhaus, T. N. Hoheisel, H. Frauenrath, *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15, 388-404).



(1-benzyl-5-iodo-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanol (104)

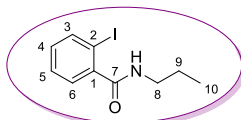
In a sealed tube under a nitrogen atmosphere were suspended benzyl azide **101** (1.1 eq, 0.11 mmol, 15 mg), copper iodide (5 mol%, 5 μmol, 1 mg), TBTA (5 mol%, 5 μmol, 3 mg) and the alcohol **103** (1 eq, 0.1 mmol, 18 mg) in 1 mL of anhydrous THF. The resulting suspension was stirred at 50°C overnight and was diluted with ethyl acetate. The organic layer was washed with brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative chromatography (dichloromethane/methanol : 97/3) to give the compound **104** (30 mg, 94%) as a white solid; R_f (3% methanol/dichloromethane) 0.18; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.36-7.26 (H_{Ar}, m, 5H), 5.60 (H₄, s, 2H), 4.73 (H₁, s, 2H).

The spectral data was in accordance with the literature (Y. N. Kotovshchikov, G. V. Latyshev, I. P. Beletskaya, N. V. Lukashev, *Synthesis*, **2018**, 50, 1926-1934).



[¹³C]-methyl 1-benzyl-4-(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazole-5-carboxylate (105-B**)**

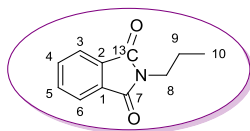
In the chamber 1 of the two-chamber system was added Ph₂MeSi¹³COOH (1 eq, 0.1 mmol, 26 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added the compound **104** (1 eq, 0.1 mmol, 32 mg) et Pd(OAc)₂ (5 mol%, 5 μmol, 1 mg). The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 1 ml of anhydrous THF was added by syringe in the chamber 1 and 2 mL of distilled methanol in the chamber 2 through the silicone/PTFE seal. To the chamber 2 was added NEt₃ (20 eq, 2 mmol, 0.28 mL). The loaded two-chamber system was stirred at 50°C, then 25 μl of a solution of TBAF (1M in THF, 25 mol%, 25 μmol) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 50°C overnight. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative chromatography (petroleum ether/diethyl ether : 1/9) to give the compound [¹³C]-**105-B** (10 mg, 40%) as a colorless liquid; R_f (80% ethyl acetate /petroleum ether) 0.5; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.31 (H₆, H₇, H₈, H₉, H₁₀, m, 5H), 5.89 (H₄, s, 2H), 4.93 (H₁, s, 2H), 3.92 (H₁₁, d, 3H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 159.1 (¹³C-enriched), 151.8 (C₂), 135.0 (C₃, C₅), 129.0-128.0 (C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀), 57.3 (C₁), 54.3 (C₄), 53.0 (C₁₁); HRMS (ESI) : C₁₁¹³CH₁₃O₃N₃²³Na [M+Na]⁺ calculated 271.0883, found 271.0881.



2-iodo-N-propylbenzamide (107**)**

To a solution of 2-iodobenzoic acid (1 eq, 2 mmol, 496 mg) in 4 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere were added oxalyl chloride (1.5 eq, 3 mmol, 0.25 mL) and DMF (0.1 eq, 0.2 mmol, 15 μL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 20 min until complete dissolution and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 4 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere and propylamine (1 eq, 2 mmol, 0.16 mL) was added followed by triethylamine (1 eq, 2 mmol, 0.28 mL). The resulting solution was stirred at room temperature for 1h and 4 mL of distilled water were added. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3x). The combined organic layers were washed with a 10% aqueous solution of HCl (1x), a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the amide **107** (532 mg, 92%) as a white solid; R_f (10% ethyl acetate/petroleum ether) 0.06; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.85 (H₃, m, 1H), 7.38 (H₅, H₆, m, 2H), 7.09 (H₄, m, 1H), 5.74 (-NH-, br. s, 1H), 3.43 (H₈, m, 2H), 1.68 (H₉, m, 2H), 1.02 (H₁₀, t, J = 7.4 Hz, 3H).

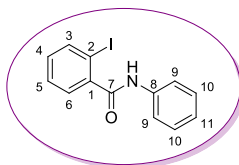
The spectral data was in accordance with the literature (B. Yao, Q. Wang and J. Zhu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 12992-12996).



[¹³C]-2-propylisoindoline-1,3-dione ([¹³C]-108)

In the chamber 1 of the two-chamber system was added Ph₂MeSi¹³COOH (0.75 eq, 0.23 mmol, 55 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added the amide **107** (1 eq, 0.3 mmol, 87 mg), Pd(dba)₂ (0.1 eq, 0.03 mmol, 17 mg), Xantphos (0.1 eq, 0.03 mmol, 17 mg) and DABCO (2 eq, 0.6 mmol, 67 mg). The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 2 ml of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 70°C, then 75 µl of a solution of TBAF (1M in THF, 25 mol%, 75 µmol) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 70°C for 1 hour. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 9/1 then 8/2) to give the phthalimide [¹³C]-**108** in a mixture with dibenzylideneacetone (36 mg, 51% NMR yield) as a pale yellow solid; R_f (20% ethyl acetate /petroleum ether) 0.69; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.84 (H₃, H₆, m, 2H), 7.70 (H₄, H₅, m, 2H), 3.65 (H₈, m, 2H), 1.71 (H₉, sext, *J* = 7.2 Hz, 2H), 0.95 (H₁₀, t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 168.6 (¹³C-enriched, C₇), 134.0-130.7 (C₁, C₂, C₄, C₅), 123.3 (C₃, C₆), 39.8 (C₈), 22.1 (C₉), 11.5 (C₁₀).

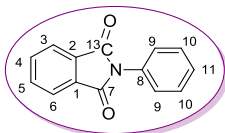
The spectral data was in accordance with the literature (H. Konishi, H. Nagase and K. Manabe, *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 1854-1857).



2-iodo-N-phenylbenzamide (109)

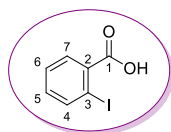
To a solution of 2-iodobenzoic acid (1 eq, 2 mmol, 496 mg) in 10 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere were added oxalyl chloride (2 eq, 4 mmol, 0.34 mL) and DMF (0.06 eq, 0.12 mmol, 9 µL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 10 min until complete dissolution and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 10 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere and aniline (1.1 eq, 2.2 mmol, 0.2 mL) was added followed by triethylamine (2.4 eq, 4.8 mmol, 0.67 mL). The resulting solution was stirred at room temperature for 30 min and 10 mL of distilled water were added. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3x). The combined organic layers were washed with a 10% aqueous solution of HCl (1x), a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 9/1 then 8/2) to give the amide **109** (600 mg, 93%) as a white solid; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.34; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.92 (H_{Ar}, d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.64 (H_{Ar}, d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.54 (H_{Ar}, dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.42 (H_{Ar}, dt, *J* = 7.7 Hz, *J* = 20.3 Hz, 4H), 7.17 (H_{Ar}, m, 2H).

The spectral data was in accordance with the literature (K. Devab and R. Maurya, *RSC Adv.*, **2015**, 5, 13102-13106).



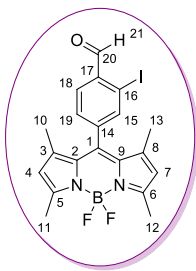
[¹³C]-2-phenylisoindoline-1,3-dione (^[13C]-110)

In the chamber 1 of the two-chamber system was added Ph₂MeSi¹³COOH (0.9 eq, 0.27 mmol, 65 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added the amide **109** (1 eq, 0.3 mmol, 97 mg), Pd(dba)₂ (0.1 eq, 0.03 mmol, 17 mg), Xantphos (0.1 eq, 0.03 mmol, 17 mg) and DABCO (2 eq, 0.6 mmol, 67 mg). The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 2 ml of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 70°C, then 75 µl of a solution of TBAF (1M in THF, 25 mol%, 75 µmol) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 70°C for 1 hour. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified twice by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 9/1 then 7/3 for the first one and petroleum ether/dichloromethane : 5/5 for the second one) to give the phthalimide [¹³C]-**110** (39 mg, 65%) as a beige solid; R_f (20% ethyl acetate /petroleum ether) 0.40; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.97 (H_{Ar}, m, 2H), 7.80 (H_{Ar}, m, 2H), 7.52 (H_{Ar}, m, 2H), 7.42 (H_{Ar}, m, 3H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 167.4 (¹³C-enriched, C₇), 134.5 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 126.7 (C_{Ar}), 123.9 (C_{Ar}). The spectral data was in accordance with the literature (J.-C. Hsieh, C.-H. Cheng, *Chem. Commun.*, **2005**, 4554-4556).



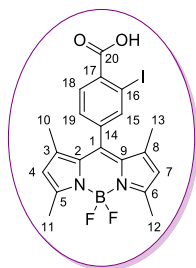
2-iodobenzoic acid (113**)**

To a solution of 2-iodobenzyl alcohol (1 eq, 0.5 mmol, 117 mg) in 6 mL of ACN/H₂O (5:1) was added KMnO₄ (2 eq, 1 mmol, 158 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature for 23h and neutralized with a 10% aqueous solution of sodium thiosulfate for 15 min. The aqueous layer was acidified with a 1M aqueous solution of HCl until pH = 2 and extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 2/8) to give the 2-iodobenzoic acid **113** (106 mg, 85%) as a white solid; R_f (80% ethyl acetate/petroleum ether) 0.17; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.04 (H₄, H₇, ddd, J = 1.4, 7.9, 15.4 Hz, 2H), 7.45 (H₆, td, J = 1.4, 7.9 Hz, 1H), 7.21 (H₅, td, J = 1.4, 7.9 Hz, 1H). The spectral data was in accordance with the literature (A.-K. C. Schmidt, C. B. W. Stark, *Org. Lett.*, **2011**, 13, 4164-4167).



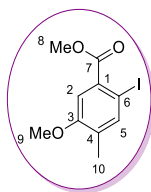
5,5-difluoro-10-(4-formyl-3-iodophenyl)-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (114**)**

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of BODIPY **90** (1 eq, 0.2 mmol, 96 mg) in 5 mL of anhydrous DMSO was added IBX 30% (1 eq, 0.2 mmol, 187 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature for 3h and diluted with 5 mL of distilled water to form an orange precipitate which was filtered under vacuum, washed with distilled water and a saturated aqueous solution of NaHCO₃. The solid was dissolved in ethyl acetate, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the BODIPY **114** (101 mg, 90%) as a black red solid; R_f (40% dichloromethane/pentane) 0.33; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 10.13 (H₂₁, d, *J* = 0.6 Hz, 1H), 8.00 (H₁₈, d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.96 (H₁₅, d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.46 (H₁₉, d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.02 (H₄, H₇, s, 2H), 2.56 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.43 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 195.0 (C₂₀), 156.8 (C₅, C₆), 142.7 (C₃, C₈), 140.4 (C₁₅), 135.6 (C₁₇), 130.7 (C₂, C₉, C₁₉), 129.1 (C₁₈), 122.0 (C₄, C₇), 100.5 (C₁₄), 15.0 (C₁₀, C₁₃), 14.8 (C₁₁, C₁₂); HRMS (ESI) : C₂₀H₁₇ON₂¹⁰BF₂¹²⁷I [M-H]⁻ calculated 476.0478, found 476.0491.



10-(4-carboxy-3-iodophenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (111**)**

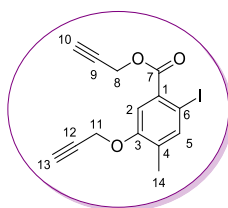
To a suspension of BODIPY **114** (1 eq, 0.1 mmol, 48 mg) in 0.4 mL of DMF was added Oxone® (2 eq, 0.2 mmol, 124 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature for 3 days and quenched with 2 mL of a 1M aqueous solution of HCl. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were washed with a 1M aqueous solution of HCl (3x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the BODIPY **111** (39 mg, 80%) as a black green solid; mp : 153.4 °C; R_f (10% methanol/dichloromethane) 0.23; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.13 (H₁₈, d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.06 (H₁₅, d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.42 (H₁₉, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 6.02 (H₄, H₇, s, 2H), 2.56 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.44 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 169.4 (C₂₀), 156.6 (C₅, C₆), 142.9 (C₃, C₈), 141.6 (C₁₄, C₁₅), 134.2 (C₁₆), 132.5 (C₁₈), 132.1 (C₁), 130.9 (C₂, C₉), 128.2 (C₁₉), 121.9 (C₄, C₇), 95.2 (C₁₇), 15.1 (C₁₀, C₁₃), 14.8 (C₁₁, C₁₂); HRMS (ESI) : C₂₀H₁₇O₂N₂¹⁰BF₂¹²⁷I [M-H]⁻ calculated 492.0438, found 492.0436.



methyl 2-iodo-5-methoxy-4-methylbenzoate (119**)**

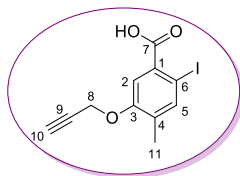
Under a nitrogen atmosphere, to a solution of methyl 3-methoxy-4-methylbenzoate (1 eq, 2 mmol, 360 mg) and NIS (1.2 eq, 2.4 mmol, 540 mg) in 8 mL of ACN was added TFA (0.3 eq, 0.6 mmol, 46 μ L). The resulting mixture was stirred at reflux for 3 days and quenched with a saturated aqueous solution of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. The aqueous layer was extracted with DCM (3x). The combined organic layers were washed with a 1M aqueous solution of NaOH (1x) and distilled water (1x), dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (pentane/dichloromethane : 8/2) to give the ester **119** (492 mg, 80%) as a pale yellow solid; R_f (30% dichloromethane/pentane) 0.32; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.72 (H_5 , s, 1H), 7.31 (H_2 , s, 1H), 3.92 (H_8 , s, 3H), 3.84 (H_9 , s, 3H), 2.19 (H_{10} , s, 3H).

The spectral data was in accordance with the literature (Thèse de T. Cornilleau, *Développement de nouvelles molécules plateformes pour le marquage par du monoxyde de carbone. Applications en imagerie par Tomographie d'Emission de Positrons (TEP) et imagerie bimodale TEP/optique*, Bordeaux, 2016).



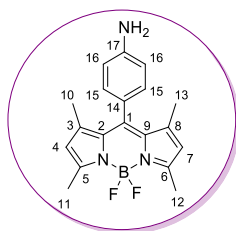
prop-2-yn-1-yl 2-iodo-4-methyl-5-(prop-2-yn-1-yloxy)benzoate (120**)**

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of the ester **119** (1 eq, 3.2 mmol, 979 mg) in 3.2 mL of anhydrous DCM was added a 1M solution of BBr_3 (4 eq, 13 mmol, 13 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and quenched with distilled water. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 20 mL of anhydrous DMF under a nitrogen atmosphere. To this solution were added propargyl bromide (3 eq, 9.6 mmol, 0.73 mL) and K_2CO_3 (3 eq, 9.6 mmol, 1.33 g). The resulting mixture was stirred at 70°C overnight and quenched with distilled water at room temperature. The aqueous layer was extracted with Et_2O (3x). The combined organic layers were washed with a saturated aqueous solution of NaHCO_3 (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/dichloromethane : 6/4) to give the ester **120** (675 mg, 60%) as a white solid; R_f (50% dichloromethane/petroleum ether) 0.43; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.77 (H_5 , s, 1H), 7.48 (H_2 , s, 1H), 4.93 (H_8 , d, J = 2.5 Hz, 2H), 4.74 (H_{11} , d, J = 2.4 Hz, 2H), 2.54 (H_{10} , H_{13} , q, J = 2.8 Hz, 2H), 2.23 (H_{14} , s, 3H); ^{13}C NMR (75.3 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 165.1 (C_7), 155.7 (C_3), 143.5 (C_5), 134.3-131.7 (C_1 , C_4), 114.7 (C_2), 84.9 (C_6), 76.3-75.5 (C_9 , C_{10} , C_{12} , C_{13}), 56.3 (C_{11}), 53.0 (C_8), 16.1 (C_{14}); HRMS (ESI) : $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_3^{127}\text{I}^{23}\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ calculated 376.9645, found 376.9635.



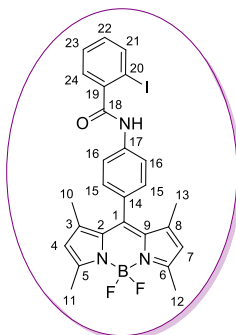
2-iodo-4-methyl-5-(prop-2-yn-1-yloxy)benzoic acid (116**)**

To a solution of the ester **120** (1 eq, 0.24 mmol, 84 mg) in 2 mL of a mixture 1:1 of THF/H₂O was added KOH (85%, 1.5 eq, 0.36 mmol, 24 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and acidified with a 1M aqueous solution of HCl until pH = 5-6. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the acid **116** (72 mg, 95%) as a white solid; *R*_f (10% methanol/dichloromethane) 0.33; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.81 (H₅, s, 1H), 7.63 (H₂, s, 1H), 4.74 (H₈, d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 2.54 (H₁₀, t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 2.23 (H₁₁, s, 3H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 155.7 (C₇), 143.8 (C₅), 134.8 (C₁, C₃, C₄), 115.3 (C₂), 85.3 (C₆), 77.0 (C₉, C₁₀), 56.2 (C₈), 16.1 (C₁₁); HRMS (ESI) : C₁₁H₈O₃¹²⁷I [M-H]⁻ calculated 314.9524, found 314.9522.



10-(4-aminophenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (121**)**

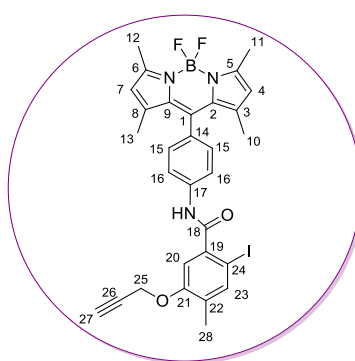
To a solution of BODIPY **65** (1 eq, 3.17 mmol, 1.17 g) in 115 mL of degassed ethanol under a nitrogen atmosphere were added palladium on carbon 10% (0.3 eq, 0.95 mmol, 1.01 g) and N₂H₄·H₂O (15 eq, 47.6 mmol, 2.3 mL). The resulting mixture was stirred at reflux for 30 min. After returning to room temperature, the reaction mixture was filtered on celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure to give the BODIPY **121** (985 mg, 91%) as a dark red solid; *R*_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.24; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 6.90 (H₁₅, d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.70 (H₁₆, d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.13 (H₄, H₇, s, 2H), 2.41 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.48 (H₁₀, H₁₃, s, 6H). The spectral data was in accordance with the literature (D. A. Tekdaş, G. Viswanathan, S. Z. Topal, C. Y. Looi, W. F. Wong, G. M. Yi Tan, Y. Zorlu, A. G. Gürek, H. B. Lee and F. Dumoulin, *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, 14, 2665-2670).



5,5-difluoro-10-(4-(2-iodobenzamido)phenyl)-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (122**)**

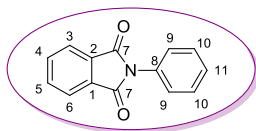
To a solution of 2-iodobenzoic acid (1 eq, 0.16 mmol, 40 mg) in 1 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere were added oxalyl chloride (2 eq, 0.32 mmol, 27 µL) and DMF (0.9 eq, 0.14 mmol, 11 µL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 10 min until complete

dissolution and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 1 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere and was added on the BODIPY **121** (0.9 eq, 0.14 mmol, 48 mg). To this solution was added triethylamine (2.4 eq, 0.38 mmol, 53 μ L). The resulting solution was stirred at room temperature for 2h and 2 mL of distilled water were added. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3x). The combined organic layers were washed with a 10% aqueous solution of HCl (1x), a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (pentane/ethyl acetate : 8/2 then 7/3) to give the BODIPY **122** (57 mg, 71%) as an orange solid; mp : 262.8 °C; R_f (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.40; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.94 (H₂₁, dd, *J* = 8.0, 1.0 Hz, 1H), 7.80 (H₁₆, d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.65 (NH, s, 1H), 7.58 (H₂₄, dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.46 (H₂₃, td, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 7.29 (H₁₅, d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.19 (H₂₂, t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 5.99 (H₄, H₇, s, 2H), 2.56 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.46 (H₁₀, H₁₃, d, *J* = 7.2 Hz, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 167.3 (C₁₈), 155.7 (C₅, C₆), 143.2 (C₃, C₈), 141.8-141.2 (C₁, C₁₉), 140.4 (C₂₁), 138.5 (C₁₄), 131.9 (C₂₂), 131.7 (C₂, C₉), 131.4 (C₁₇), 129.1-128.6 (C₁₅, C₂₃, C₂₄), 121.4 (C₄, C₇), 120.4 (C₁₆), 92.5 (C₂₀), 14.8 (C₁₀, C₁₃), 14.6 (C₁₁, C₁₂); HRMS (ESI) : C₂₆H₂₃ON₃¹⁰BF₂¹²⁷I²³Na [M+Na]⁺ calculated 591.0875, found 591.0871.



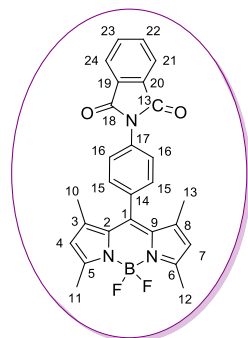
5,5-difluoro-10-(4-(2-iodo-4-methyl-5-(prop-2-yn-1-yloxy)benzamido)phenyl)-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (115**)**

Under a nitrogen atmosphere, to a suspension of the acid **116** (1 eq, 1.81 mmol, 573 mg) in 8 mL of anhydrous DCM were added (COCl)₂ (1.5 eq, 2.72 mmol, 0.23 mL) and DMF (0.1 eq, 0.18 mmol, 14 μ L). The resulting mixture was stirred at room temperature for 20 min (until complete dissolution) and concentrated under reduced pressure. Under a nitrogen atmosphere, the residue was dissolved in 8 mL of anhydrous DCM and added to the BODIPY **121** (0.9 eq, 1.63 mmol, 553 mg). To this solution was added NEt₃ (1 eq, 1.81 mmol, 0.25 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 1h. The orange precipitate is filtrated, washed with DCM and dried under vacuum to give the BODIPY **115** (832 mg, 72%) as an orange solid; mp : 278.9 °C; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.22; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) : 10.6 (-NH-, s, 1H), 7.93 (H₁₅, d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.72 (H₂₃, s, 1H), 7.35 (H₁₆, d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.22 (H₂₀, s, 1H), 6.19 (H₄, H₇, s, 2H), 4.90 (H₂₅, s, 2H), 3.62 (H₂₇, s, 1H), 2.46 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 2.18 (H₂₈, s, 3H), 1.44 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) : 167.4 (C₁₈), 155.4 (C₅, C₆), 154.8 (C₂₁), 142.7 (C₃, C₈), 141.9-141.2 (C₁, C₁₉), 140.3 (C₂₃), 139.9 (C₁₄), 130.9 (C₂, C₉), 130.2 (C₁₇), 129.0 (C₁₆), 128.4 (C₂₂), 121.3 (C₄, C₇), 119.9 (C₁₅), 112.4 (C₂₀), 82.9 (C₂₄), 79.0 (C₂₇), 78.6 (C₂₆), 56.1 (C₂₅), 15.3 (C₂₈), 14.3 (C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃); HRMS (ESI) : C₃₀H₂₆O₂N₃¹⁰BF₂¹²⁷I [M-H]⁻ calculated 635.1173, found 635.1173.



2-phenylisoindoline-1,3-dione (**110**)

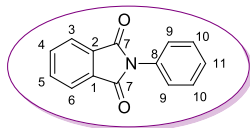
A solution of the amide **109** (1 eq, 0.19 mmol, 61 mg) and $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1 eq, 0.19 mmol, 225 mg) in 8 mL of anhydrous THF was stirred under a nitrogen atmosphere at room temperature for 2 hours. The reaction mixture was transferred into a round-bottom flask containing a triphenylphosphine resin (3 mmol/g, 3.6 eq, 0.68 mmol, 225 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and filtered. The resin was washed with DCM and methanol and dried under vacuum. In the chamber 1 of the two-chamber system was added $\text{Ph}_2\text{MeSi}^{12}\text{COOH}$ (0.9 eq, 0.17 mmol, 41 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added the resin. The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 2 mL of anhydrous THF were added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 40°C, then 48 μL of a solution of TBAF (1M in THF, 25 mol%, 48 μmol) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 40°C overnight. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was filtered and the resin was washed with DCM and methanol. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give the phthalimide **110** (24 mg, 57%) as a beige solid; R_f (20% ethyl acetate /petroleum ether) 0.40; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.97 (H_{Ar} , m, 2H), 7.80 (H_{Ar} , m, 2H), 7.52 (H_{Ar} , m, 2H), 7.42 (H_{Ar} , m, 3H). The spectral data was in accordance with the literature (J.-C. Hsieh, C.-H. Cheng, *Chem. Commun.*, **2005**, 4554-4556).



$[^{13}\text{C}]$ -10-(4-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)phenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide ($[^{13}\text{C}]$ -**132**)

A solution of BODIPY **122** (1 eq, 0.05 mmol, 28 mg) and $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1 eq, 0.05 mmol, 58 mg) in 2 mL of anhydrous THF was stirred under a nitrogen atmosphere at 70°C in the dark for 1h. The reaction mixture was transferred with a syringe on a triphenylphosphine resin (3 mmol/g, 3.6 eq, 0.18 mmol, 60 mg) under a nitrogen atmosphere. The resulting mixture was stirred in the dark at room temperature overnight and filtrated. The resin was washed with DCM and methanol and dried under vacuum. In the chamber 1 of the two-chamber system was added $\text{Ph}_2\text{MeSi}^{13}\text{COOH}$ (0.9 eq, 45 μmol , 11 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added the resin. The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 1 mL of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 70°C, then 13 μL of a solution of TBAF (1M in THF, 25 mol%, 13 μmol) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 70°C for 1 hour. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was filtrated and the resin was washed with DCM and methanol. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give the BODIPY $[^{13}\text{C}]$ -**132** (5 mg, 24%) as an orange solid; mp

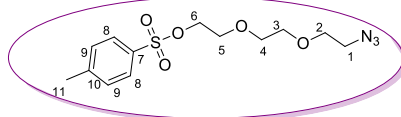
> 350 °C; R_f (100% dichloromethane) 0.3; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.99 (H_{21} , H_{24} , m, 2H), 7.83 (H_{16} , m, 2H), 7.35 (H_{15} , H_{22} , H_{23} , m, 4H), 6.01 (H_4 , H_7 , s, 2H), 2.57 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 1.47 (H_{10} , H_{13} , s, 6H); ^{13}C NMR (150.6 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 167.1 (^{13}C -enriched), 156.0 (C_5 , C_6), 143.3 (C_3 , C_8), 140.7 (C_1 , C_{19} , C_{20} , C_{21}), 134.8-132.8 (C_{Ar}), 131.8 (C_2 , C_9), 131.5 (C_{17}), 128.9-126.9 (C_{15} , C_{23} , C_{24}), 124.0 (C_{Ar}), 121.6 (C_4 , C_7), 14.8 (C_{10} , C_{11} , C_{12} , C_{13}); HRMS (ESI) : $\text{C}_{26}^{13}\text{CH}_{22}\text{O}_2\text{N}_3^{10}\text{BF}_2^{23}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculated 492.1735, found 492.1733.



2-phenylisoindoline-1,3-dione (**110**)

A solution of compound **109** (1 eq, 0.1 mmol, 32 mg) and $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1 eq, 0.1 mmol, 116 mg) in 4 mL of anhydrous THF under a nitrogen atmosphere was stirred at room temperature for 1h40. The complete conversion was observed by ^1H NMR. The reaction mixture was filtered on celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure. In the chamber 1 of the two-chamber system was added $\text{Ph}_2\text{MeSiCOOH}$ (0.9 eq, 0.09 mmol, 22 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added the crude. The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 2 mL of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 40°C, then 14 μL of a solution of TBAF (1M in THF, 14 mol%, 14 μmol) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 40°C for 17 hour. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/dichloromethane : 6/4 then 5/5) to give the phthalimide **110** (15 mg, 75%) as a beige solid; R_f (20% ethyl acetate /petroleum ether) 0.40; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.97 (H_{Ar} , m, 2H), 7.80 (H_{Ar} , m, 2H), 7.52 (H_{Ar} , m, 2H), 7.42 (H_{Ar} , m, 3H).

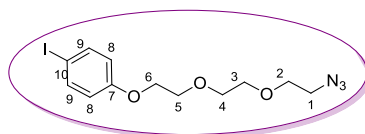
The spectral data was in accordance with the literature (J.-C. Hsieh and C.-H. Cheng, *Chem. Commun.*, **2005**, 4554-4556).



2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate (**177**)

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of triethylene glycol monochlorohydrin (1 eq, 10 mmol, 1.45 mL) in 20 mL of anhydrous DMF was added sodium azide (1.5 eq, 15 mmol, 975 mg). The resulting mixture was stirred at 80°C overnight and quenched with 20 mL of distilled water. The aqueous layer was extracted with DCM (3x). The combined organic layers were washed with brine (1x), dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 13 mL of distilled acetonitrile under a nitrogen atmosphere. To this solution were added at room temperature triethylamine (2 eq, 20 mmol, 2.8 mL) and trimethylamine hydrochloride (0.1 eq, 1 mmol, 96 mg) and then at 0°C *p*-toluenesulfonyl chloride (1.5 eq, 15 mmol, 2.86 g) slowly. The resulting mixture was stirred at 0°C for 30 min then at room temperature for 50 min and quenched with distilled water. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were washed with brine (1x), dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure to give the sulfonate **177** (2.82 g, 86%) as a colorless oil; R_f (30% ethyl acetate/pentane) 0.30; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.80 (H_8 , d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.34 (H_9 , d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 4.16 (H_6 , m, 2H), 3.72-3.60 (H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , m, 8H), 3.36 (H_1 , t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.45 (H_{11} , s, 3H).

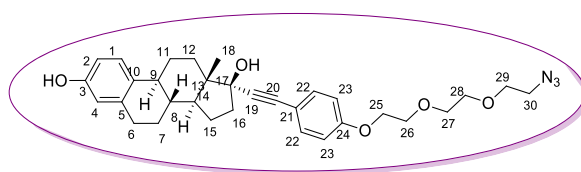
The spectral data was in accordance with the literature (S. Eising *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**, *55*, 12243-12247).



1-(2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethoxy)-4-iodobenzene (178)

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of the sulfonate **177** (1.1 eq, 1.57 mmol, 517 mg) and 4-iodophenol (1 eq, 1.43 mmol, 315 mg) in 3 mL of anhydrous DMF was added K_2CO_3 (1.8 eq, 2.57 mmol, 355 mg). The resulting mixture was stirred at 70°C overnight and diluted with distilled water. The aqueous layer was extracted with diethyl ether (3x). The combined organic layers were washed with distilled water (1x), dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (pentane/ethyl acetate : 8/2) to give the azide **178** (502 mg, 93%) as a colorless oil; R_f (20% ethyl acetate/pentane) 0.41; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.54 (H_9 , d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.70 (H_8 , d, J = 9.0 Hz, 2H), 4.09 (H_6 , m, 2H), 3.86 (H_5 , m, 2H), 3.73 (H_4 , m, 2H), 3.68 (H_2 , H_3 , m, 4H), 3.38 (H_1 , t, J = 5.0 Hz, 2H).

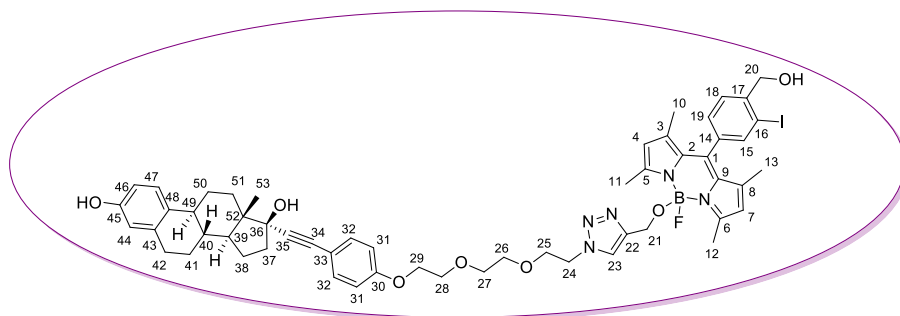
The spectral data was in accordance with the literature (A. Tabey *et al.*, *Chem. Commun.*, **2019**, *55*, 7587-7590).



(8R,9S,13S,14S,17S)-17-((4-(2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)ethynyl)-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,17-diol (175)

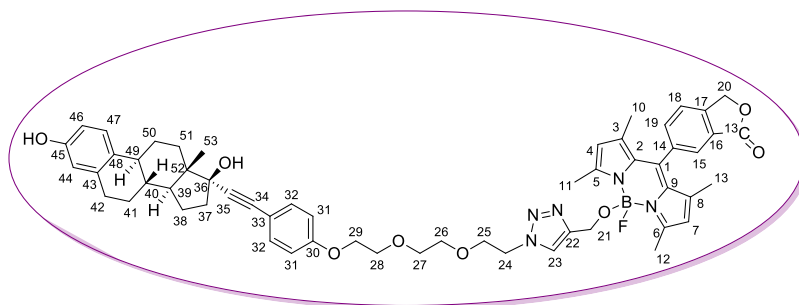
Under a nitrogen atmosphere, to a suspension of the azide **178** (1 eq, 6.76 mmol, 2.55 g), 17 α -ethynyl α -estradiol (0.9 eq, 6.08 mmol, 1.8 g), $Pd(PPh_3)_4$ (2 mol%, 0.14 mmol, 162 mg) and CuI (4 mol%, 0.27 mmol, 51 mg) in 30 mL of anhydrous THF was added triethylamine (5 eq, 34 mmol, 4.7 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and diluted with a saturated aqueous solution of NH_4Cl . The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x). The combined organic layers were washed with brine (1x), dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 6/4) to give the azide **175** (2.07 g, 62%) as a colorless oil; R_f (40% ethyl acetate/petroleum ether) 0.19; 1H NMR (300 MHz, MeOD) δ (ppm) : 7.34 (H_{22} , d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.10 (H_1 , d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.90 (H_{23} , d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.54 (H_2 , dd, J = 2.6, 8.4 Hz, 1H), 6.48 (H_4 , d, J = 2.6 Hz, 1H), 4.13 (H_{25} , m, 2H), 3.85 (H_{26} , m, 2H), 3.71 (H_{27} , m, 2H), 3.66 (H_{28} , H_{29} , m, 4H), 3.33 (H_{30} , m, 2H), 2.78 (H_6 , m, 2H), 2.32 (H_9 , H_{11} , m, 2H), 2.11 (H_{16} , m, 2H), 1.87 (H_7 , H_{12} , H_{14} , H_{15} , m, 5H), 1.40 (H_7 , H_8 , H_{11} , H_{15} , m, 4H), 0.92 (H_{18} , s, 3H).

The spectral data was in accordance with the literature (A. Tabey *et al.*, *Chem. Commun.*, **2019**, *55*, 7587-7590).



5-((1-(2-(2-(2-(4-(((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-dihydroxy-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)ethynyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-5-fluoro-10-(4-(hydroxymethyl)-3-iodophenyl)-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (**179**)

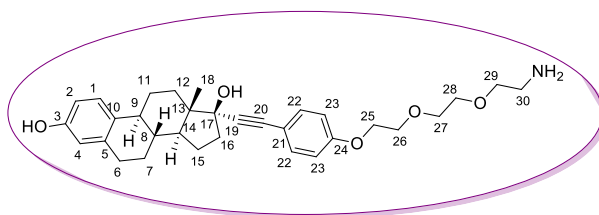
To a suspension of BODIPY **91** (1 eq, 0.029 mmol, 15 mg), azide **175** (1 eq, 0.029 mmol, 16 mg) and Cul (1 eq, 0.029 mmol, 6 mg) in 1 mL of anhydrous THF under a nitrogen atmosphere was added distilled DIEA (10 eq, 0.29 mmol, 51 μ L). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and diluted with ethyl acetate. The organic layer was washed with brine (3x), dried with anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 1/9) to give the BODIPY **179** (10 mg, 32%) as an orange solid; R_f (90% ethyl acetate/petroleum ether) 0.56; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.75 (H₁₅, m, 1H), 7.62 (H₁₈, m, 1H), 7.39 (H₃₂, m, 2H), 7.34 (H₁₉, m, 1H), 7.18 (H₄₇, m, 1H), 6.87 (H₃₁, m, 2H), 6.65 (H₄₆, m, 1H), 6.58 (H₄₄, s, 1H), 6.00 (H₄, H₇, m, 2H), 4.78 (H₂₀, CH₂-O, m, 4H), 4.55 (CH₂-O, m, 2H), 4.29 (H₂₃, s, 1H), 3.88-3.82 (H₂₁, CH₂-O, m, 6H), 3.70 (CH₂-O, m, 2H), 3.65 (CH₂-O, m, 2H), 2.83 (H₄₂, m, 2H), 2.56 (H₁₁, H₁₂, m, 6H), 2.44-2.37 (H₃₇, H₅₀, m, 3H), 2.22 (H₄₉, m, 1H), 2.01 (H₃₇, m, 1H), 1.89 (H₄₁, H₅₁, m, 2H), 1.79-1.72 (H₃₈, H₃₉, H₅₁, m, 3H), 1.45-1.40 (H₁₀, H₁₃, H₃₈, H₄₀, H₄₁, m, 9H), 0.95 (H₅₃, s, 3H); ¹³C NMR (150.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 158.8 (C₃₀), 155.8 (C₅, C₆), 153.6 (C₄₅), 148.6 (C₂₂), 143.7 (C₁, C₁₄), 142.3 (C₃, C₈), 138.6-138.4 (C₁₅, C₄₃), 136.2 (C₁₇), 133.0 (C₃₂), 132.7 (C₄₈), 131.0 (C₂, C₉), 128.5 (C₁₈, C₁₉), 126.7 (C₄₇), 121.7 (C₄, C₇), 115.5 (C₄₄), 114.8 (C₃₁), 112.9 (C₄₆), 91.8 (C₃₄, C₃₅), 85.9 (C₃₃), 80.5 (C₃₆), 70.9-69.6 (CH₂-O), 69.1 (C₂₀), 60.6 (C₄₀), 56.8 (C₂₃), 50.5-50.0 (CH₂-O), 49.8 (C₃₉), 47.8 (C₅₁), 43.8 (C₄₉), 39.1 (C₃₇), 33.2 (C₅₂), 29.8 (C₄₂), 27.4 (C₄₁), 26.7 (C₅₀), 23.1 (C₃₈), 15.0 (C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃), 13.1 (C₅₃); HRMS (ESI) : C₅₅H₆₂O₇N₅¹⁰BF¹²⁷I²³Na [M+Na]⁺ calculated 1083.3700, found 1083.3689.



[¹³C]-5-((1-(2-(2-(2-(4-(((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-dihydroxy-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)ethynyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-5-fluoro-1,3,7,9-tetramethyl-10-(3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-5-yl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide ([¹³C]-**174**)

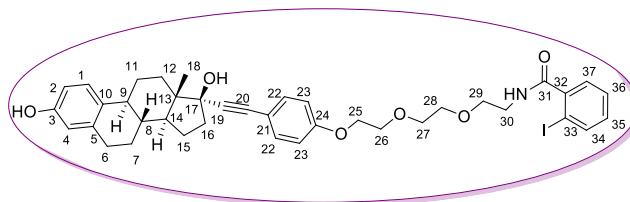
Under a nitrogen atmosphere, a suspension of azide **175** (1 eq, 0.031 mmol, 17 mg), BODIPY [¹³C]-**97** (1 eq, 0.031 mmol, 13 mg), CuSO₄·5H₂O (10 mol%, 3 μ mol, 1 mg) and sodium ascorbate (1 eq, 0.031 mmol, 6 mg) in 1 mL of tBuOH/H₂O (3:1) was stirred at 40°C overnight and diluted with ethyl acetate. The organic layer was washed with brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. Under a nitrogen atmosphere, to a suspension of the residue and Cul (1 eq, 0.031 mmol, 6 mg) in 0.8 mL of anhydrous THF was added DIEA (10 eq, 0.31 mmol, 54 μ L). The resulting mixture was stirred at 50°C for 1.5h and diluted with ethyl acetate. The organic layer was washed with

brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative chromatography (dichloromethane/methanol : 95/5) to give the BODIPY [¹³C]-**174** (5 mg, 17%) as an orange solid; mp : 162.7 °C; R_f (5% methanol/dichloromethane) 0.19; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.74 (H₁₅, m, 1H), 7.65 (H₁₈, m, 1H), 7.34 (H₁₉, H₃₂, m, 3H), 7.24 (H₄₇, m, 1H), 6.83 (H₃₁, m, 2H), 6.64 (H₄₆, m, 1H), 6.58 (H₄₄, s, 1H), 5.95 (H₄, H₇, m, 2H), 5.44 (H₂₀, m, 2H), 4.45 (CH₂-O, m, 2H), 4.30 (CH₂-O, m, 2H), 4.10 (CH₂-O, m, 2H), 3.86 (H₂₃, m, 1H), 3.82 (H₂₁, CH₂-O, m, 4H), 3.67 (CH₂-O, m, 2H), 3.62 (CH₂-O, m, 2H), 2.77 (H₄₂, m, 2H), 2.54 (H₁₁, H₁₂, m, 6H), 2.39 (-CH₂-, m, 2H), 2.33 (-CH₂-, m, 2H), 2.19 (-CH₂-, m, 2H), 2.08 (-CH₂-, -CH-, m, 2H), 1.97 (-CH-, m, 1H), 1.46 (-CH₂-, -CH-, m, 2H), 1.39 (-CH₂-, m, 2H), 1.30 (H₁₀, H₁₃, m, 6H), 0.91 (H₅₃, s, 3H); ¹³C NMR (150.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 170.5 (¹³C-enriched), 158.9 (C₃₀), 156.7 (C₅, C₆), 154.0 (C₄₅), 149.5 (C₂₂), 142.2 (C₃, C₈), 138.2 (C₄₃), 136.8 (C₁₇), 134.7 (C₁₅), 134.4 (C₁₈), 133.2 (C₂, C₉, C₃₂), 132.7 (C₄₈), 132.1 (C₁, C₁₄), 129.2 (C₁₉), 128.2 (C₄₇), 122.9 (C₂₃), 122.0 (C₄, C₇), 115.5 (C₄₄), 114.7 (C₃₁), 113.0 (C₄₆), 91.7 (C₃₄, C₃₅), 85.9 (C₃₃), 80.5 (C₃₆), 70.9 (-CH₂-, CH₂-O), 69.9 (CH₂-O), 69.7 (C₂₀), 67.6 (CH₂-O), 56.8 (CH₂-O), 50.1 (-CH₂-, CH₂-O), 43.8 (-CH₂-), 39.7 (-CH₂-), 39.2 (-CH-), 33.2 (-CH₂-, C₅₂), 27.4 (-CH-, -CH₂-), 23.1 (-CH-), 15.1 (C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃), 13.1 (C₅₃); HRMS (ESI) : C₅₅¹³CH₆₂O₈N₅¹⁰BF [M+H]⁺ calculated 962.4740, found 962.4748.



*(8R,9S,13S,14S,17S)-17-((4-(2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)ethynyl)-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,17-diol (**181**)*

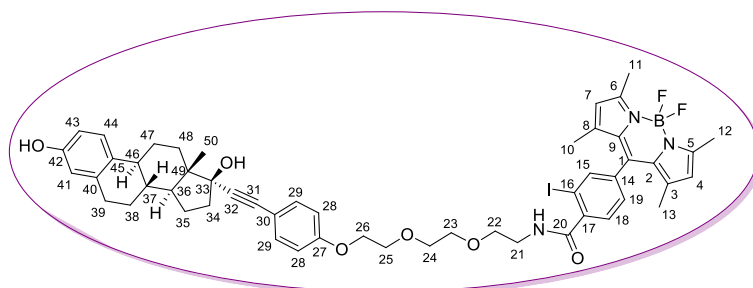
Under a nitrogen atmosphere, to a solution of the azide **175** (1 eq, 0.1 mmol, 55 mg) in 0.4 mL of anhydrous THF was added at 0°C PPh₃ (2 eq, 0.2 mmol, 52 mg). The resulting mixture was stirred at 0°C for 2h and 0.4 mL of distilled water were added. The reaction mixture was then stirred at 50°C overnight. The aqueous layer was extracted with diethyl ether (3x). The combined organic layers were washed with distilled water (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (dichloromethane/methanol : 9/1 then 9/1 + 1% NEt₃) to give the amine **181** (34 mg, 65%) as a white solid; mp : 72.6 °C; R_f (10% methanol/dichloromethane) 0.08; ¹H NMR (600 MHz, MeOD) δ (ppm) : 7.34 (H₂₂, d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.09 (H₁, d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.89 (H₂₃, d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.54 (H₂, dd, *J* = 8.5, 2.4 Hz, 1H), 6.47 (H₄, d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.11 (H₂₅, m, 2H), 3.83 (H₂₆, m, 2H), 3.70 (H₂₇, m, 2H), 3.63 (H₂₈, m, 2H), 3.52 (H₂₉, t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 2.78 (H₆, H₃₀, m, 4H), 2.34 (H₉, H₁₁, m, 2H), 2.15 (H₁₆, m, 1H), 2.02-1.88 (H₇, H₁₂, H₁₆, m, 3H), 1.80 (H₁₂, H₁₄, H₁₅, m, 3H), 1.43 (H₇, H₈, H₁₁, H₁₅, m, 4H), 0.91 (H₁₈, s, 3H); ¹³C NMR (150.3 MHz, MeOD) δ (ppm) : 160.2 (C₂₄), 156.0 (C₃), 138.8 (C₅), 134.0 (C₁₀), 132.5 (C₂₂), 127.3 (C₁), 116.2 (C₂₃), 115.6 (C₄), 113.7 (C₂), 92.9 (C₂₁), 86.2 (C₁₉, C₂₀), 80.8 (C₁₇), 72.9 (C₂₉), 71.7 (C₂₇), 71.3 (C₂₆, C₂₈), 70.7 (C₃₀), 68.6 (C₂₅), 51.0 (C₁₄), 45.2 (C₁₃), 41.9 (C₉), 41.2 (C₈), 39.9 (C₁₂), 34.3 (C₁₆), 30.8 (C₆), 28.9 (C₁₁), 27.9 (C₇), 23.9 (C₁₅), 13.5 (C₁₈); HRMS (ESI) : C₃₂H₄₂O₅N [M+H]⁺ calculated 520.3058, found 520.3053.



*N-(2-(2-(2-(4-(((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-dihydroxy-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)ethynyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)-2-iodobenzamide (**182**)*

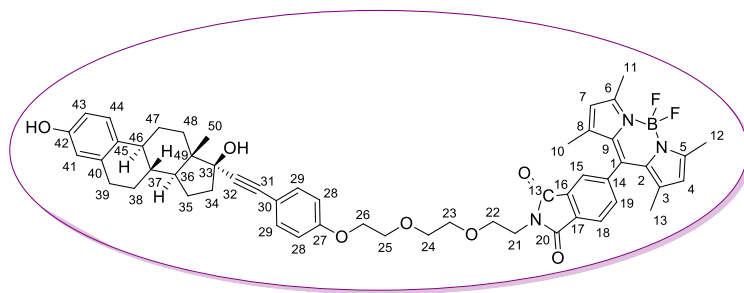
Under a nitrogen atmosphere, to a solution of 2-iodobenzoic acid (1 eq, 0.1 mmol, 25 mg), EDC.HCl (2 eq, 0.2 mmol, 38 mg), HOBT (2 eq, 0.2 mmol, 27 mg) and amine **181** (1 eq, 0.1 mmol, 52 mg) in 1 mL

of anhydrous dichloromethane was added NEt_3 (5 eq, 0.5 mmol, 70 μL). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (dichloromethane/methanol : 98/2) to give the amide **182** (50 mg, 67%) as a light brown paste; R_f (5% methanol/dichloromethane) 0.25; ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ (ppm) : 7.83 (H_{34} , d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.34 (H_{22} , H_{36} , H_{37} , m, 4H), 7.10 (H_1 , H_{35} , m, 2H), 6.86 (H_{23} , d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.54 (H_2 , dd, J = 2.4, 8.4 Hz, 1H), 6.48 (H_4 , d, J = 2.4 Hz, 1H), 4.07 (H_{25} , m, 2H), 3.81 (H_{26} , m, 2H), 3.70 (H_{27} , m, 2H), 3.66 (H_{28} , H_{29} , m, 4H), 3.52 (H_{30} , t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.76 (H_6 , m, 2H), 2.34 (H_9 , H_{11} , m, 2H), 2.15 (H_{16} , m, 1H), 2.02-1.87 (H_7 , H_{12} , H_{16} , m, 3H), 1.81 (H_{12} , H_{14} , H_{15} , m, 3H), 1.48-1.28 (H_7 , H_8 , H_{11} , H_{15} , m, 4H), 0.91 (H_{18} , s, 3H); ^{13}C NMR (150.3 MHz, MeOD) δ (ppm) : 172.6 (C_{31}), 160.1 (C_{24}), 155.9 (C_3), 144.0 (C_{32}), 140.7 (C_{34}), 138.8 (C_5), 133.9 (C_{10}), 132.5 (C_{22}), 127.3 (C_1), 116.1 (C_{23}), 115.7 (C_4), 113.8 (C_2), 93.3 (C_{33}), 92.9 (C_{21}), 86.2 (C_{19} , C_{20}), 80.9 (C_{17}), 71.8 (C_{29}), 71.3 (C_{27}), 70.7-70.3 (C_{26} , C_{28} , C_{30}), 68.6 (C_{25}), 51.1 (C_{14}), 45.2 (C_{13}), 41.2 (C_9), 40.9 (C_8), 40.0 (C_{12}), 34.4 (C_{16}), 30.8 (C_6), 28.6 (C_{11}), 27.8 (C_7), 23.9 (C_{15}), 13.6 (C_{18}); HRMS (ESI) : $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{O}_6\text{N}^{127}\text{I}^{23}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculated 772.2106, found 772.2099.



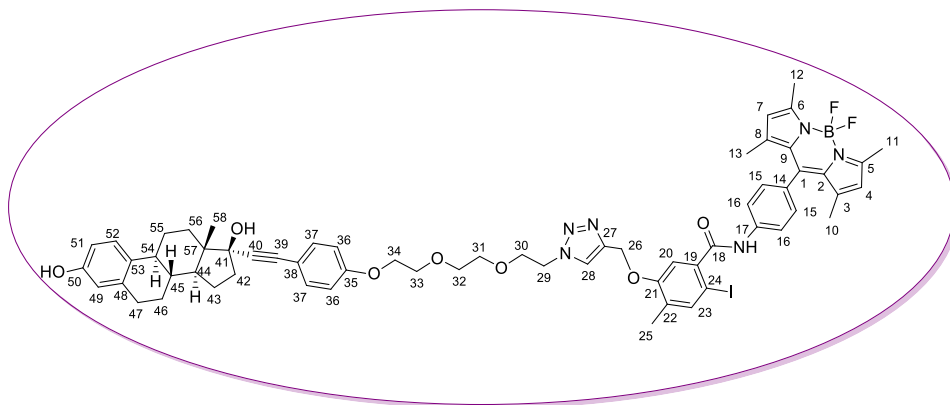
*10-(4-((2-(2-(4-(((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-dihydroxy-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)ethynyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)carbonyl)-3-iodophenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (**183**)*

To a solution of the BODIPY **111** (1 eq, 0.13 mmol, 64 mg), amine **181** (1 eq, 0.13 mmol, 70 mg), EDC.HCl (2 eq, 0.26 mmol, 50 mg) and HOBt (2 eq, 0.26 mmol, 35 mg) in 1.3 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere was added triethylamine (5 eq, 0.65 mmol, 91 μL). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and diluted with dichloromethane. The organic layer was washed with a 10% aqueous solution of hydrochloric acid (1x), a saturated aqueous solution of NaHCO_3 (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 2/8 then 100% ethyl acetate) to give the BODIPY **183** (63 mg, 49%) as a black red solid; R_f (90% ethyl acetate/petroleum ether) 0.43; ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ (ppm) : 7.80 (H_{15} , s, 1H), 7.48 (H_{18} , d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.34 (H_{19} , d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.32 (H_{29} , d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.07 (H_{44} , d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.87 (H_{28} , d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.51 (H_{43} , d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.46 (H_{41} , s, 1H), 6.06 (H_4 , H_7 , s, 2H), 4.10 (H_{26} , m, 2H), 3.83 (H_{25} , CH_2O , m, 2H), 3.72-3.68 (H_{22} , H_{23} , H_{24} , m, 6H), 3.57 (H_{21} , CH_2O , m, 2H), 2.74 (H_{39} , m, 2H), 2.49 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 2.33 (H_{47} , m, 2H), 2.01 (H_{34} , H_{46} , m, 3H), 1.80 (H_{35} , H_{36} , H_{38} , H_{48} , m, 5H), 1.41 (H_{10} , H_{13} , H_{35} , H_{37} , H_{38} , m, 9H), 0.90 (H_{50} , s, 3H); ^{13}C NMR (150.3 MHz, MeOD) δ (ppm) : 171.9 (C_{20}), 160.1 (C_{27}), 157.3 (C_5 , C_6), 155.9 (C_{42}), 144.4 (C_{17}), 140.4 (C_3 , C_8), 140.2 (C_{15}), 138.8 (C_{40}), 133.9 (C_2 , C_9 , C_{29}), 132.5 (C_1 , C_{45}), 132.2 (C_{14}), 129.8 (C_{18}), 129.3 (C_{19}), 127.3 (C_{44}), 122.6 (C_4 , C_7), 116.1 (C_{41}), 115.7 (C_{28}), 113.7 (C_{43}), 93.0 (C_{16}), 86.2 (C_{30} , C_{31} , C_{32}), 80.9 (C_{33}), 71.9-70.4 (C_{21} , C_{22} , C_{23} , C_{24} , C_{25}), 68.6 (C_{26}), 51.1 (C_{36}), 45.2 (C_{49}), 41.2 (C_{46}), 41.0 (C_{37}), 40.0 (C_{48}), 34.4 (C_{34}), 30.7 (C_{39}), 28.6 (C_{47}), 27.8 (C_{38}), 23.9 (C_{35}), 15.4 (C_{10} , C_{13}), 14.7 (C_{11} , C_{12}), 13.6 (C_{50}); HRMS (ESI) : $\text{C}_{52}\text{H}_{56}\text{O}_6\text{N}_3^{10}\text{BF}_2^{127}\text{I}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ calculated 993.3317, found 993.3306.



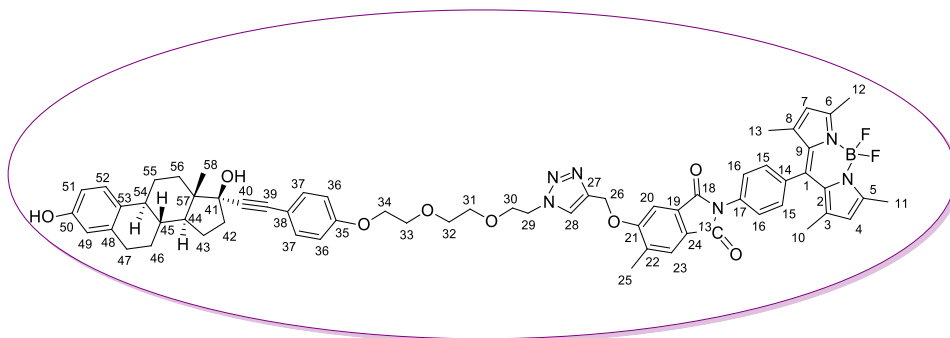
*[¹³C]-10-(2-(2-(2-(2-(4-(((8*R*,9*S*,13*S*,14*S*,17*S*)-3,17-dihydroxy-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6*H*-cyclopenta[*a*]phenanthren-17-yl)ethynyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)-1,3-dioxoisindolin-5-yl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5*H*-dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide* (**[¹³C]-180**)

In the chamber 1 of the two-chamber system was added Ph₂MeSi¹³COOH (0.9 eq, 0.023 mmol, 6 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system were added the BODIPY **183** (1 eq, 25 μmol, 25 mg), Pd(dba)₂ (0.1 eq, 2.5 μmol, 2 mg), Xantphos (0.1 eq, 2.5 μmol, 2 mg) and DABCO (2 eq, 50 μmol, 6 mg). The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 1 ml of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 70°C, then 6 μl of a solution of TBAF (1M in THF, 25 mol%, 6 μmol) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 70°C for 1 hour. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative chromatography (pentane/ethyl acetate : 5/5) to give the BODIPY [¹³C]-**180** (9 mg, 43%) as an orange solid; *R_f* (50% ethyl acetate/petroleum ether) 0.34; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.95 (H₁₈, d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.79 (H₁₅, s, 1H), 7.64 (H₁₉, d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.36 (H₂₉, d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.16 (H₄₄, d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.84 (H₂₈, d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.61 (H₄₃, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, 1H), 6.54 (H₄₁, d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.00 (H₄, H₇, s, 2H), 4.10 (H₂₆, m, 2H), 3.93 (H₂₅, m, 2H), 3.80 (H₂₄, H₂₃, H₂₂, m, 6H), 3.70 (H₂₁, m, 2H), 2.81 (H₃₉, m, 2H), 2.56 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 2.38 (H₃₄, H₄₇, m, 3H), 2.21 (H₄₆, m, 1H), 2.09 (H₃₄, m, 1H), 1.87 (H₃₈, H₄₈, m, 2H), 1.78 (H₃₅, H₃₆, H₄₈, m, 3H), 1.46 (H₃₅, H₃₇, H₃₈, m, 3H), 1.34 (H₁₀, H₁₃, s, 6H), 0.92 (H₅₀, s, 3H); ¹³C NMR (150.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 167.5 (¹³C-enriched, C₂₀), 158.9 (C₂₇), 156.9 (C₅, C₆), 153.5 (C₄₂), 142.6 (C₁₇), 141.6 (C₃, C₈), 138.4 (C₁₅, C₁₈, C₄₀), 134.3 (C₂₉), 133.2-132.8 (C₁, C₁₄, C₁₉, C₄₅), 131.0 (C₂, C₉), 126.7 (C₄₄), 122.0 (C₄, C₇), 115.4 (C₄₁), 114.8 (C₂₈), 112.8 (C₄₃), 91.6 (C₁₆), 85.9 (C₃₀, C₃₁, C₃₂), 80.5 (C₃₃), 71.0-67.6 (C₂₁, C₂₂, C₂₃, C₂₄, C₂₅), 60.6 (C₂₆), 49.9 (C₃₆), 47.7 (C₄₉), 43.8 (C₄₆), 39.6 (C₃₇), 39.2 (C₄₈), 37.6, 33.2 (C₃₄), 29.8 (C₃₉), 27.4 (C₄₇), 26.7 (C₃₈), 23.1 (C₃₅), 15.1 (C₁₀, C₁₃), 14.3 (C₁₁, C₁₂), 13.1 (C₅₀); HRMS (ESI) : C₅₂¹³CH₅₅O₇N₃¹⁰BF₂ [M-H]⁺ calculated 894.4177, found 894.4180.



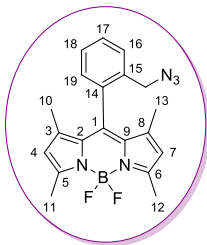
10-(4-(5-((1-(2-(2-(2-(4-(((8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-dihydroxy-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)ethynyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-2-iodo-4-methylbenzamido)phenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (186**)**

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of the azide **175** (1 eq, 0.05 mmol, 27 mg), the BODIPY **123** (1 eq, 0.05 mmol, 32 mg) and CuI (1 eq, 0.05 mmol, 10 mg) in 0.8 mL of anhydrous DMF was added DIEA (10 eq, 0.5 mmol, 87 μ L). The resulting mixture was stirred at 50°C for 1h and diluted at room temperature with ethyl acetate. The organic layer was washed with brine (3x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 4/6 puis 2/8) to give the BODIPY **186** (18 mg, 31%) as a red solid; R_f (80% ethyl acetate/petroleum ether) 0.38; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.34 (NH, s, 1H), 7.89 (H₁₅, d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.84 (H₂₈, s, 1H), 7.61 (H₂₃, s, 1H), 7.32 (H₂₀, H₃₇, d, *J* = 8.7 Hz, 3H), 7.26 (H₁₆, d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.09 (H₅₂, d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.79 (H₃₆, d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.60 (H₅₁, dd, *J* = 8.4, 2.7 Hz, 1H), 6.53 (H₄₉, d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 5.98 (H₄, H₇, s, 2H), 5.15 (H₂₆, s, 2H), 4.54 (H₃₄, t, *J* = 5.0 Hz, 2H), 4.08 (H₃₃, t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.86 (H₃₂, t, *J* = 4.9 Hz, 2H), 3.79 (H₃₁, m, 2H), 3.64 (H₃₀, H₂₉, m, 4H), 2.76 (H₄₇, m, 2H), 2.55 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 2.38 (H₅₅, m, 1H), 2.31 (H₄₂, m, 1H), 2.17 (H₅₄, m, 1H), 2.15 (H₂₅, s, 3H), 2.09 (H₅₅, m, 1H), 1.95-1.85 (H₄₆, H₅₆, m, 2H), 1.77 (H₄₃, H₄₄, H₅₆, m, 3H), 1.46 (H₁₀, H₁₃, s, 6H), 1.42-1.33 (H₄₂, H₄₃, H₄₅, H₄₆, m, 4H), 0.90 (H₅₈, s, 3H); ¹³C NMR (150.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 167.0 (C₁₈), 158.7 (C₃₅), 156.4 (C₂₁), 155.6 (C₅, C₆), 153.9 (C₅₀), 143.3 (C₃, C₈), 141.9 (C₂₃), 141.4 (C₁), 139.2 (C₁₉), 138.9 (C₁₄), 138.2 (C₄₈), 133.2 (C₂₂, C₃₇), 132.2 (C₅₃), 132.1 (C₃₈), 131.7 (C₂, C₉), 131.0 (C₁₇), 128.9 (C₁₆), 126.5 (C₅₂), 124.7 (C₂₈), 121.4 (C₄, C₇), 120.4 (C₁₅), 115.6 (C₂₇), 115.4 (C₄₉), 114.6 (C₃₆), 112.9 (C₂₀, C₅₁), 85.7 (C₃₉, C₄₀), 81.8 (C₂₄), 80.4 (C₄₁), 70.8 (C₂₉), 70.6 (C₃₀), 69.8 (C₃₁), 69.4 (C₃₂), 67.5 (C₃₃), 61.8 (C₂₆), 49.9 (C₃₄, C₄₄), 47.7 (C₅₇), 43.8 (C₅₄), 39.6 (C₄₅), 39.2 (C₅₅), 33.2 (C₅₆), 29.8 (C₄₇), 27.4 (C₄₆), 26.6 (C₄₂), 23.1 (C₄₃), 16.0 (C₂₅), 14.7 (C₁₀, C₁₃), 14.3 (C₁₁, C₁₂), 13.1 (C₅₈); HRMS (ESI) : C₆₂H₆₅O₇N₆¹⁰BF₂¹²⁷I [M-H]⁺ calculated 1180.4062, found 1180.4058.



[¹³C]-10-(4-(5-((1-(2-(2-(2-(4-(((8*R*,9*S*,13*S*,14*S*,17*S*)-3,17-dihydroxy-13-methyl-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-decahydro-6*H*-cyclopenta[*a*]phenanthren-17-yl)ethynyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-6-methyl-1,3-dioxoisindolin-2-yl)phenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5*H*-dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide ([¹³C]-185**)**

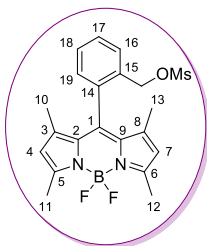
In the chamber 1 of the two-chamber system was added Ph₂MeSi¹³COOH (0.9 eq, 14 μmol, 3 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added the BODIPY **186** (1 eq, 15 μmol, 18 mg), Pd(dba)₂ (0.1 eq, 1.5 μmol, 1 mg), Xantphos (0.1 eq, 1.5 μmol, 1 mg) and DABCO (2 eq, 30 μmol, 3 mg). The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 1 ml of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 70°C, then 4 μL of a solution of TBAF (1M in THF, 4 μmol, 25 mol%) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 70°C overnight. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (dichloromethane/methanol : 99/1 then 97/3) to give the BODIPY [¹³C]-**185** (8 mg, 53%) as a red solid; R_f (5% methanol/dichloromethane) 0.28; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.93 (H₂₈, s, 1H), 7.70 (H₂₃, d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.65 (H₁₅, d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.42 (H₂₀, s, 1H), 7.39 (H₁₆, d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.29 (H₃₇, d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.12 (H₅₂, d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.78 (H₃₆, d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.61 (H₅₁, dd, *J* = 2.2, 8.4 Hz, 1H), 6.54 (H₄₉, s, 1H), 6.00 (H₄, H₇, s, 2H), 5.23 (H₂₆, s, 2H), 4.59 (H₃₄, t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 4.10 (H₃₃, t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.90 (H₃₂, t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.81 (H₃₁, t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.67 (H₂₉, H₃₀, m, 4H), 2.77 (H₄₇, m, 2H), 2.56 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 2.37 (H₅₅, m, 1H), 2.35 (H₄₂, m, 1H), 2.30 (H₂₅, s, 3H), 2.18 (H₅₄, m, 1H), 2.07 (H₅₅, m, 1H), 1.96-1.83 (H₄₆, H₅₆, m, 2H), 1.76 (H₄₃, H₄₄, H₅₆, m, 3H), 1.46 (H₁₀, H₁₃, s, 6H), 1.42 (H₄₂, H₄₃, H₄₅, H₄₆, m, 4H), 0.90 (H₅₈, s, 3H); ¹³C NMR (150.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 167.3 (¹³C-enriched), 161.9 (C₁₈), 158.7 (C₃₅), 155.9 (C₂₁), 153.7 (C₅, C₆, C₅₀), 143.4 (C₃, C₈), 142.6 (C₁₉, C₂₄), 140.8 (C₁), 138.3 (C₄₈), 134.9 (C₁₄), 133.2 (C₃₇), 133.0 (C₂₂), 132.5 (C₃₈, C₅₃), 131.9 (C₂, C₉), 131.5 (C₁₇), 128.8 (C₁₆), 126.8 (C₁₆), 126.6 (C₁₅, C₅₂), 126.2 (C₂₃), 124.0 (C₂₈), 121.5 (C₄, C₇), 115.7 (C₂₇), 115.4 (C₄₉), 114.6 (C₃₆), 112.9 (C₅₁), 105.7 (C₂₀), 91.9-85.6 (C₃₉, C₄₀), 80.4 (C₄₁), 70.8-70.6 (C₂₉, C₃₀), 69.8 (C₃₁), 69.5 (C₃₂), 67.6 (C₃₃), 62.7 (C₂₆), 50.6 (C₃₄), 49.9 (C₄₄), 47.7 (C₅₇), 43.8 (C₅₄), 39.6 (C₄₅), 39.2 (C₅₅), 33.2 (C₅₆), 29.8 (C₄₇), 27.4 (C₄₆), 26.6 (C₄₂), 23.1 (C₄₃), 17.5 (C₂₅), 14.8 (C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃), 13.1 (C₅₈); HRMS (ESI) : C₆₂¹³CH₆₅O₈N₆¹⁰BF₂²³Na [M+Na]⁺ calculated 1105.4887, found 1105.4887.



10-(2-(azidomethyl)phenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (231**)**

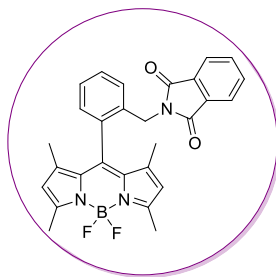
Under a nitrogen atmosphere, to a solution of the BODIPY **59** (1 eq, 0.97 mmol, 343 mg) and DBU (1.3 eq, 1.26 mmol, 0.19 mL) in 30 mL of distilled toluene was added DPPA (1.2 eq, 1.16 mmol, 0.25 mL). The resulting solution was stirred at 60°C for 3h. The reaction mixture was quenched with HCl (1M). The aqueous layer was extracted with EtOAc (4x), the combined organic layers were washed with water (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/ethyl acetate : 9/1) to give the BODIPY **231** (265 mg, 72%) as a red solid; R_f (10% ethyl acetate/cyclohexane) 0.29; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.59-7.50 (H₁₈, H₁₉, m, 2H), 7.46 (H₁₇, dt, *J* = 7.2, 1.7 Hz, 1H), 7.42-7.33 (H₁₆, m, 1H), 6.00 (H₄, H₇, s, 2H), 4.34 (CH₂, s, 2H), 2.57 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.35 (H₁₀, H₁₃, s, 6H).

The spectral data was in accordance with the literature (M. del Río, F. Lobo, J. C. López, A. Oliden, J. Bañuelos, I. López-Arbeloa, I. Garcia-Moreno and A. M. Gómez, *J. Org. Chem.*, **2017**, 82, 1240-1247).



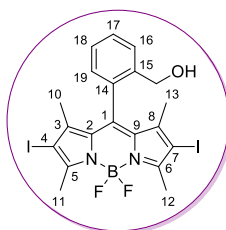
5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-10-(2-(((methylsulfonyl)oxy)methyl)phenyl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (234**)**

To a solution of the BODIPY **59** (1 eq, 0.85 mmol, 300 mg) and DMAP (0.1 eq, 85 μmol, 10 mg) in 1.3 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere was added triethylamine (1 eq, 0.85 mmol, 0.12 mL). At 0°C was added mesyl chloride (1.2 eq, 1 mmol, 77 μL) dropwise. The resulting mixture was stirred at room temperature for 1h and quenched at 0°C with an aqueous solution of HCl (1M). The layers were separated and the aqueous layer was extracted with dichloromethane (3x). The combined organic layers were washed with a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the BODIPY **234** (330 mg, 90%) as a red solid; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.21; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.64 (H₁₉, m, 1H), 7.56 (H₁₇, H₁₈, m, 2H), 7.32 (H₁₆, m, 1H), 6.02 (H₄, H₇, s, 2H), 5.06 (CH₂, s, 2H), 2.68 (CH₃-SO₂, s, 3H), 2.55 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.34 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 156.5 (C₅, C₆), 143.4 (C₃, C₈), 138.2 (C₁, C₁₄), 135.2 (C₁₅), 131.3 (C₂, C₉), 130.8-128.9 (C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉), 121.8 (C₄, C₇), 69.5 (CH₂), 36.4 (CH₃-SO₂), 14.8 (C₁₀, C₁₃), 14.1 (C₁₁, C₁₂); HRMS (TOF MS): C₂₁H₂₃BN₂O₃F₂NaS [M+Na]⁺ calculated 455.1382, found 455.1401.



10-(2-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl)phenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (235**)**

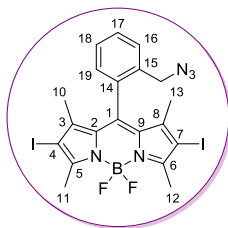
To a solution of sodium hydride 95% (2 eq, 0.16 mmol, 4 mg) in 0.2 mL of anhydrous DMF under a nitrogen atmosphere was added at 0°C phthalimide (1.2 eq, 0.1 mmol, 15 mg). The resulting mixture was stirred at 0°C for 15 min then a solution of the BODIPY **234** (1 eq, 0.08 mmol, 35 mg) in 0.5 mL of anhydrous DMF was added. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight, then at 50°C for 1h, then at 80°C for 2h and finally at 100°C for 1h. After returning to room temperature, the reaction solution was quenched with a saturated aqueous solution of NH₄Cl and extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic layers were washed with distilled water (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative chromatography (petroleum ether/diethyl ether : 5/5) to give the BODIPY **235** (7 mg, 18%) as an orange solid; R_f (50% diethyl ether/petroleum ether) 0.59; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.80 (m, 6H), 7.42 (m, 2H), 5.94 (s, 2H), 4.78 (s, 2H), 2.54 (s, 6H), 1.43 (s, 6H); HRMS (TOF MS): C₂₈H₂₄BN₃O₂F₂Na [M+Na]⁺ calculated 506.1821, found 506.1817.



5,5-difluoro-10-(2-(hydroxymethyl)phenyl)-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (237**)**

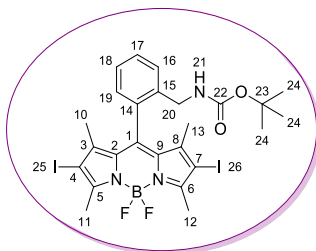
Under an inert atmosphere, to a solution of the BODIPY **59** (1 eq, 1.39 mmol, 494 mg) in 30 mL of anhydrous dichloromethane was added NIS (2.2 eq, 3.06 mmol, 688 mg). The resulting solution was stirred at room temperature for 30 min. The organic layer was washed with an aqueous solution of Na₂S₂O₃ (10%w/w). The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3x). The combined organic layers were washed with distilled water (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the BODIPY **TCH237** (807 mg, 96%) as a red solid; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.33; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.70 (H₁₉, d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.56 (H₁₈, t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.47 (H₁₇, t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.17 (H₁₆, d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 4.57 (CH₂, s, 2H), 2.65 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.38 (H₁₀, H₁₃, s, 6H).

The spectral data was in accordance with the literature (M. del Río, F. Lobo, J. C. López, A. Oliden, J. Bañuelos, I. López-Arbelo, I. Garcia-Moreno and A. M. Gómez, *J. Org. Chem.*, **2017**, 82, 1240-1247).



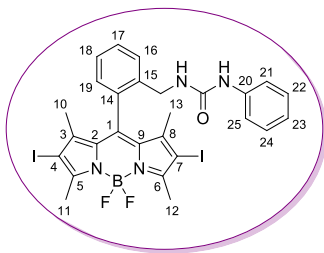
10-(2-(azidomethyl)phenyl)-5,5-difluoro-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (238)

Under an inert atmosphere, to a solution of the BODIPY **237** (1 eq, 33 μ mol, 20 mg) and DBU (1.3 eq, 0.043 mmol, 7 μ L) in 1 mL of distilled toluene was added DPPA (1.2 eq, 40 μ mol, 9 μ L). The resulting solution was stirred at 60°C for 3h. The reaction mixture was quenched with HCl (1M). The aqueous layer was extracted with EtOAc (4x), the combined organic layers were washed with water (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/diethyl ether : 8/2) to give the BODIPY **238** (13 mg, 62%) as a red solid; *R_f* (20% diethyl ether/petroleum ether) 0.64; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.58 (H₁₈, H₁₉, m, 2H), 7.49 (H₁₇, m, 1H), 7.22 (H₁₆, m, 1H), 4.30 (CH₂, s, 2H), 2.66 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.36 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 157.6 (C₅, C₆), 145.1 (C₃, C₈), 138.6 (C₁, C₁₄), 133.8 (C₁₅), 133.6 (C₂, C₉), 130.5-120.3 (C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉), 86.2 (C₄, C₇), 52.1 (CH₂), 16.7 (C₁₀, C₁₃), 16.3 (C₁₁, C₁₂); HRMS (TOF MS) : C₂₀H₁₈BF₂I₂N₅ [M+N⁺] calculated 653.9605, found 653.9608.



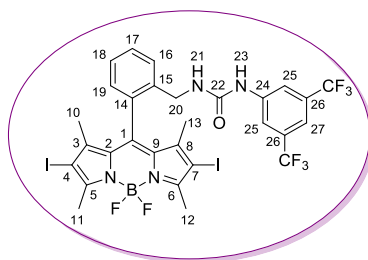
10-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)phenyl)-5,5-difluoro-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (239)

To a solution of the BODIPY **238** (1 eq, 0.14 mmol, 90 mg) in 0.6 mL of anhydrous THF under a nitrogen atmosphere was added at 0°C PPh₃ (2 eq, 0.28 mmol, 73 mg). The resulting mixture was stirred at 0°C for 2h and 0.6 mL of distilled water were added. The reaction solution was stirred at room temperature overnight and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 2 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere and triethylamine (1.5 eq, 0.21 mmol, 29 μ L) was added. To this solution was added at 0°C Boc₂O (1.5 eq, 0.21 mmol, 46 mg) and the resulting mixture was stirred at room temperature overnight then at reflux for 5h. 2 mL of distilled water were added and the reaction solution was extracted with dichloromethane (3x). The combined organic layers were washed with brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/dichloromethane : 3/7 then 2/8 then 100% dichloromethane) to give the BODIPY **239** (15 mg, 15%) as a red solid; *R_f* (80% dichloromethane/petroleum ether) 0.43; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.46 (H₁₇, H₁₈, H₁₉, m, 3H), 7.20 (H₁₆, m, 1H), 4.16 (H₂₀, d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.65 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.40 (H₂₄, s, 9H), 1.37 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); HRMS (TOF MS) : C₂₅H₂₈BN₃O₂F₂I₂ calculated 705.0337, found 705.0348.



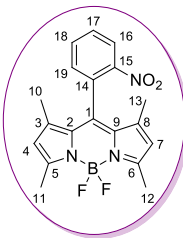
5,5-difluoro-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-10-(2-((3-phenylureido)methyl)phenyl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (241**)**

To a solution of the BODIPY **238** (1 eq, 0.32 mmol, 200 mg) in 1.5 mL of anhydrous THF under a nitrogen atmosphere was added PPh_3 (2 eq, 0.64 mmol, 168 mg) at 0°C. The resulting solution was stirred at 0°C for 2h. To the reaction mixture was added 1.5 mL of water and the solution was stirred at r.t for 17h. The reaction mixture was diluted with DCM, dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 5 mL of anhydrous DCM under an inert atmosphere. To this solution was added phenyl isocyanate (1 eq, 0.32 mmol, 35 μL). The resulting solution was stirred at room temperature for 1h and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane/ethyl acetate : 8/2) to give the BODIPY **241** (94 mg, 41%) as a red solid; mp : 200.5 °C; R_f (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.73; ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) : 8.51 (NH, s, 1H), 7.56-7.37 (H_{Ar} , m, 3H), 7.26 (H_{21} , H_{25} , d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.20 (H_{Ar} , d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.14 (H_{Ar} , t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.83 (H_{Ar} , t, J = 7.1 Hz, 1H), 6.46 (NH, t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.06 (CH_2 , d, J = 5.9 Hz, 2H), 2.47 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 1.31 (H_{10} , H_{13} , s, 6H); ^{13}C NMR (75.3 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) : 156.2 (C_5 , C_6), 155.0 ($\text{C}=\text{O}$), 144.9 (C_3 , C_8), 140.3 (C_1 , C_{14}), 137.6 (C_{20}), 132.0 (C_{15}), 130.4 (C_2 , C_9), 130.1-127.8 (C_{Ar}), 127.4, 121.2 (C_{Ar}), 117.9 (C_{21} , C_{25}), 87.0 (C_4 , C_7), 40.4 (CH_2), 16.0 (C_{10} , C_{11} , C_{12} , C_{13}); HRMS (ESI) : $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{BF}_2\text{I}_2\text{N}_4\text{O}$ calculated 724.0157, found 724.0184.



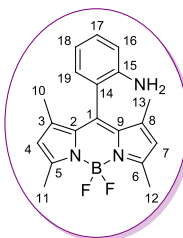
10-(2-((3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)ureido)methyl)phenyl)-5,5-difluoro-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (243**)**

To a solution of the BODIPY **238** (1 eq, 0.32 mmol, 200 mg) in 1.5 mL of anhydrous THF was added under a nitrogen atmosphere, PPh_3 (2 eq, 0.64 mmol, 168 mg) at 0°C. The resulting solution was stirred at 0°C for 2h. To the reaction mixture was added 1.5 mL of water and the solution was stirred at r.t for 16h. The reaction mixture was diluted with DCM, dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 5 mL of anhydrous DCM under an inert atmosphere. To this solution was added 3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl isocyanate (1 eq, 0.32 mmol, 56 μL). The resulting solution was stirred at room temperature for 1h and concentrated under reduced pressure. The residue was purified twice by silica gel column chromatography (firstly with petroleum ether/ethyl acetate : 8/2 and secondly 9/1) to give the BODIPY **243** (103 mg, 37%) as a red solid; mp : 207.4 °C; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.38; ^1H NMR (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ (ppm): 8.53 (H_{23} , s, 1H), 8.07 (H_{25} , s, 2H), 7.69-7.53 (H_{17} , H_{18} , H_{19} , m, 3H), 7.52 (H_{27} , s, 1H), 7.35 (H_{16} , dd, J = 1.2, 7.5 Hz, 1H), 6.51 (H_{21} , t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.39 (H_{20} , d, J = 5.8 Hz, 2H), 2.55 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 1.45 (H_{10} , H_{13} , s, 6H); ^{13}C NMR (75.3 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ (ppm) : 157.2 (C_5 , C_6), 155.2 (C_{22}), 146.0 (C_3 , C_8), 143.3 (C_1 , C_{14}), 138.5 (C_{24}), 132.1 (C_{26}), 130.9 (C_{15}), 131.9 (C_2 , C_9), 129.5-129.2 (C_{16} , C_{17} , C_{18} , C_{19}), 126.3 (CF_3), 118.4 (C_{25}), 114.7 (C_{27}), 86.2 (C_4 , C_7), 42.1 (C_{20}), 16.8 (C_{10} , C_{13}), 16.1 (C_{11} , C_{12}); HRMS (TOF MS) : $\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{BF}_8\text{I}_2\text{N}_4\text{O}$ calculated 859.9906, found 859.9921.



5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-10-(2-nitrophenyl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (245**)**

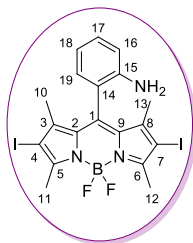
To a solution of 2-nitrobenzaldehyde (1 eq, 2 mmol, 302 mg) and 2,4-dimethylpyrrole (2.2 eq, 4.4 mmol, 0.45 mL) in 28 mL of anhydrous THF under a nitrogen atmosphere was added TFA (0.2 eq, 0.4 mmol, 31 μ L). The resulting mixture was stirred in the dark at room temperature for 16h. Then a solution of DDQ (1 eq, 2 mmol, 454 mg) in 28 mL of anhydrous THF was added and the reaction mixture was stirred in the dark at room temperature for 50 min. At 0°C were added dropwise triethylamine (11.5 eq, 23 mmol, 3.2 mL) and $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 46.5% (7.5 eq, 15 mmol, 4 mL). The resulting solution was stirred in the dark at room temperature for 40 min and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 9/1 then 8/2) then washed with HCl (1M) to remove the remaining impurities and to give the BODIPY **245** (313 mg, 42%) as a dark red solid; R_f (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.45; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.18 (H_{16} , dd, J = 1.2, 8.2 Hz, 1H), 7.78 (H_{17} , td, J = 1.2, 7.5 Hz, 1H), 7.71 (H_{16} , td, J = 1.6, 8.2 Hz, 1H), 7.47 (H_{15} , dd, J = 1.6, 7.5 Hz, 1H), 5.99 (H_4 , H_7 , s, 2H), 2.56 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 1.36 (H_{10} , H_{13} , s, 6H). The spectral data was in accordance with the literature (H. Sunahara, Y. Urano, H. Kojima and T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 5597-5604).



10-(2-aminophenyl)-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (246**)**

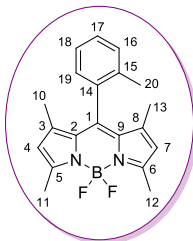
To a suspension of the BODIPY **245** (1 eq, 0.56 mmol, 208 mg) and palladium on carbon 10%w/w (0.3 eq, 0.17 mmol, 181 mg) in 22 mL of degassed ethanol under a nitrogen atmosphere was added $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (15 eq, 8.4 mmol, 0.41 mL). The resulting mixture was stirred at reflux for 30 min. After returning to room temperature, the reaction mixture was filtered under reduced pressure and the filtrate was concentrated under reduced pressure to give the BODIPY **246** (195 mg, quant.) as a dark red solid; R_f (10% ethyl acetate/petroleum ether) 0.21; ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 7.18 (H_{19} , td, J = 7.1 Hz, J = 1.6 Hz, 1H), 6.87 (H_{18} , dd, J = 7.1 Hz, J = 1.6 Hz, 1H), 6.79 (H_{17} , dd, J = 7.1 Hz, J = 1.1 Hz, 1H), 6.72 (H_{16} , td, J = 7.1 Hz, J = 1.1 Hz, 1H), 6.15 (H_4 , H_7 , s, 2H), 4.91 (NH_2 , s, 2H), 2.44 (H_{11} , H_{12} , s, 6H), 1.53 (H_{10} , H_{13} , s, 6H).

The spectral data was in accordance with the literature (H. Sunahara, Y. Urano, H. Kojima and T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 5597-5604).



10-(2-aminophenyl)-5,5-difluoro-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (247**)**

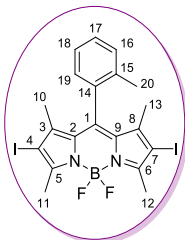
To a solution of the BODIPY **246** (1 eq, 0.1 mmol, 34 mg) in 1.8 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere was added at 0°C NIS (2.2 eq, 0.22 mmol, 49 mg) portionwise. The resulting solution was stirred at 0°C for 10 min and washed with an aqueous solution of Na₂S₂O₃ (10%w/w) (1x), distilled water (1x) and brine (1x). The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the BODIPY **247** (55 mg, 93%) as a dark pink solid; mp : 169.7 °C; R_f (10% ethyl acetate/petroleum ether) 0.37; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.30 (H₁₉, m, 1H), 6.95 (H₁₈, m, 1H), 6.89 (H₁₇, m, 1H), 6.78 (H₁₆, d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 2.64 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.59 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 157.2 (C₅, C₆), 145.6 (C₁₅), 143.2 (C₁, C₃, C₈, C₁₄), 131.0 (C₁₉, C₂, C₉), 128.6 (C₁₈), 119.8 (C₁₇), 116.2 (C₁₆), 85.7 (C₄, C₇), 16.3 (C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃); HRMS (ESI) : C₁₉H₁₇N₃BF₂I₂ [M+H]⁺ calculated 589.9578, found 589.9583.



5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-10-(*o*-tolyl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (250**)**

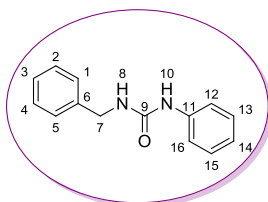
To a solution of *o*-tolualdehyde (1 eq, 2 mmol, 0.23 mL) and 2,4-dimethylpyrrole (2 eq, 4 mmol, 0.41 mL) in 125 mL of anhydrous dichloromethane under nitrogen was added TFA (0.02 eq, 39 μmol, 3 μL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 17h. A solution of DDQ (1 eq, 2 mmol, 454 mg) in 25 mL of anhydrous dichloromethane was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 40 min, washed with distilled water (3x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by basic alumina gel column chromatography (dichloromethane/methanol : 9/1) to give the (Z)-2-((3,5-dimethyl-2H-pyrrol-2-ylidene)(*o*-tolyl)methyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrrole. This intermediate (1 eq, 1.8 mmol, 523 mg) was dissolved in 150 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere. Triethylamine (11.5 eq, 20.7 mmol, 2.9 mL) was added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 5 min. Then 46.5% BF₃·OEt₂ (7.5 eq, 13.5 mmol, 3.6 mL) was added dropwise. The reaction solution was stirred at room temperature for 30 min, washed with distilled water (2x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/dichloromethane: 7/3 then 6/4 then 5/5) to give the BODIPY **250** (247 mg, 37%) as a red solid; R_f (40% dichloromethane/petroleum ether) 0.41; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.32 (H₁₇, H₁₈, H₁₉, m, 3H), 7.16 (H₁₆, m, 1H), 5.97 (H₄, H₇, s, 2H), 2.56 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 2.20 (H₂₀, s, 3H), 1.36 (H₁₀, H₁₃, s, 6H).

The spectral data was in accordance with the literature (H. Sunahara, Y. Urano, H. Kojima, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 5597-5604)



5,5-difluoro-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-10-(o-tolyl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (251**)**

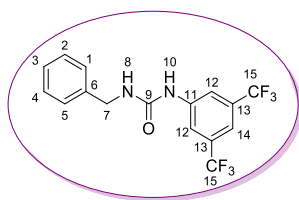
To a solution of the BODIPY **250** (1 eq, 0.65 mmol, 219 mg) in 13 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere was added NIS (2.2 eq, 1.4 mmol, 315 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature for 30 min, washed with an aqueous solution of Na₂S₂O₃ 10%w/w (1x), distilled water (1x) and brine (1x), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give the BODIPY **251** (346 mg, 90%) as a pink solid; mp : 217.4 °C; R_f (30% dichloromethane/petroleum ether) 0.25; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.42 (H₁₆, m, 1H), 7.33 (H₁₇, H₁₈, t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 7.12 (H₁₉, m, 1H), 2.65 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 2.17 (H₂₀, s, 3H), 1.37 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 156.8 (C₅, C₆), 145.1 (C₃, C₈), 141.4 (C₁, C₁₄), 135.4 (C₁₅), 134.3 (C₂, C₉), 131.1-127.3 (C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉), 85.7 (C₄, C₇), 19.4 (C₂₀), 16.4 (C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃); HRMS (TOF MS): C₂₀H₁₉N₂¹⁰BF₂¹²⁷I₂, calculated 588.9735, found 588.9759.



1-benzyl-3-phenylurea (252**)**

To a solution of phenyl isocyanate (1 eq, 0.93 mmol, 0.1 mL) in 2 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere was added at 0°C a solution of benzylamine (1 eq, 0.93 mmol, 0.1 mL) in 2 mL of anhydrous dichloromethane dropwise. The resulting mixture was stirred at room temperature for 4h. The precipitate was filtered and dried under vacuum to give the urea **252** (101 mg, 48%) as a white solid; R_f (30% ethyl acetate/petroleum ether) 0.51; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.38-7.27 (H_{Ar}, m, 8H), 7.24 (H₃, m, 1H), 7.10 (H₁₄, m, 1H), 4.44 (H₇, s, 2H).

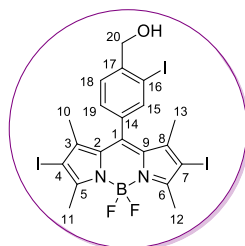
The spectral data was in accordance with the literature (H. K. Oh, J. E. Park, D. D. Sung, I. Lee, *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 3150-3153)



1-benzyl-3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)urea (253**)**

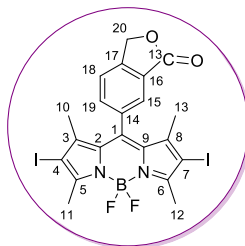
To a solution of benzylamine (1 eq, 1.7 mmol, 0.19 mL) in 3 mL of anhydrous dichloromethane under a nitrogen atmosphere was added 3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl isocyanate (1.2 eq, 2 mmol, 0.35 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 9/1 then 8/2) to give the urea **253** (529 mg, 86%) as a white solid; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.28; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 9.37 (H₁₀, s, 1H), 8.10 (H₁₂, s, 2H), 7.55 (H₁₄, s, 1H), 7.37-7.24 (H₁-H₅, m, 5H), 7.03 (H₈, t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.32 (H₇, d, *J* = 6.1 Hz, 2H).

The spectral data was in accordance with the literature (M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, G. Piersanti, M. Retini, G. Zappia, *Tetrahedron*, **2016**, 72, 7039-7049).



5,5-difluoro-10-(4-(hydroxymethyl)-3-iodophenyl)-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide (255**)**

Under a nitrogen atmosphere, to a solution of the BODIPY **90** (1 eq, 0.12 mmol, 58 mg) in 2.5 mL of anhydrous dichloromethane was added NIS (2.2 eq, 0.26 mmol, 58 mg). The resulting mixture was stirred at room temperature for 15 min and washed with an aqueous solution of Na₂S₂O₃ (10%w/w) (1x), distilled water (1x) and brine (1x). The combined aqueous layers were extracted with dichloromethane (1x). The combined organic layers were dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum to give the BODIPY **255** (59 mg, 67%) as a red solid; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.34; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.75 (H₁₅, d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.65 (H₁₈, d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.30 (H₁₉, dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 4.78 (H₂₀, s, 2H), 2.64 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.44 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 157.4 (C₅, C₆), 145.3 (C₃, C₈), 144.5 (C₁₇), 138.9 (C₁), 138.2 (C₁₅), 135.7 (C₁₄), 131.3 (C₂, C₉), 128.7 (C₁₈), 128.1 (C₁₉), 97.0 (C₁₆), 86.1 (C₄, C₇), 69.0 (C₂₀), 17.6 (C₁₀, C₁₃), 16.2 (C₁₁, C₁₂); HRMS (ESI) : C₂₀H₁₇ON₂¹⁰BF₂¹²⁷I₃ [M-H]⁺ calculated 729.8567, found 729.8574.



[¹³C]-5,5-difluoro-2,8-diiodo-1,3,7,9-tetramethyl-10-(3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-5-yl)-5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-4-ium-5-uide ([¹³C]-256**)**

In the chamber 1 of the two-chamber system was added Ph₂MeSi¹³COOH (0.9 eq, 68 μmol, 18 mg). The chamber 1 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. In the chamber 2 of the two-chamber system was added the BODIPY **255** (1 eq, 75 μmol, 55 mg), Pd(dba)₂ (0.1 eq, 8 μmol, 5 mg), Xantphos (0.1 eq, 8 μmol, 5 mg) and DABCO (2 eq, 0.15 mmol, 17 mg). The chamber 2 was sealed with a screwcap fitted with a silicone/PTFE seal. The atmosphere of the two-chamber system was purged three times with nitrogen. Then, 1 ml of anhydrous THF was added by syringe in each chamber through the silicone/PTFE seal. The loaded two-chamber system was stirred at 70°C, then 19 μL of a solution of TBAF (1M in THF, 19 μmol, 25 mol%) were added through a silicone/PTFE seal in the chamber 1. The system was stirred at 70°C for 1h. After a careful opening, the crude reaction mixture from chamber 2 was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 8/2 then 7/3) and then by preparative TLC (petroleum ether/ethyl acetate : 8/2) to give the BODIPY [¹³C]-**256** (8 mg, 19%) as a red solid; R_f (20% ethyl acetate/petroleum ether) 0.15; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.88 (H₁₅, s, 1H), 7.70 (H₁₈, d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.61 (H₁₉, d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 5.47 (H₂₀, d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 2.66 (H₁₁, H₁₂, s, 6H), 1.33 (H₁₀, H₁₃, s, 6H); ¹³C NMR (75.3 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 169.9 (¹³C-enriched), 157.9 (C₅, C₆), 147.7 (C₁₇), 144.9 (C₃, C₈), 138.6 (C₁), 136.4 (C₁₄), 134.0 (C₁₉), 131.3 (C₂, C₉), 127.5 (C₁₆), 125.9 (C₁₅), 123.7 (C₁₈), 86.5 (C₄, C₇), 69.8 (C₂₀), 17.6 (C₁₀, C₁₃), 16.3 (C₁₁, C₁₂); HRMS (ESI) : C₂₀¹³CH₁₈O₂N₂¹⁰BF₂¹²⁷I₂ [M+H]⁺ calculated 632.9583, found 632.9583.

Synthèses et propriétés de nouvelles structures à base de BODIPY pour l'imagerie bimodale TEP/IO et la génération d' $^1\text{O}_2$

Résumé

L'imagerie médicale est un outil très important pour le diagnostic de nombreuses maladies. La tomographie par émission de positons (TEP scan) est l'une des techniques les plus employées de par sa forte sensibilité, mais le très court temps de demi-vie du radionucléide utilisé implique une synthèse rapide du traceur radioactif. L'imagerie optique (IO) évite l'utilisation d'éléments radioactifs, mais sa sensibilité limitée dans les tissus profonds peut entraver son application *in vivo*. Afin d'obtenir des sondes plus modulables en fonction du besoin du biologiste (études *in vitro* ou *in vivo*), le développement de nouveaux traceurs bimodaux est devenu un axe de recherche important. Dans ce contexte, de nouvelles molécules bimodales à base de BODIPY (fluorescentes), pouvant être marquées au ^{11}C , ont été synthétisées. Celles-ci ont été conjuguées à des dérivés d'œstradiol pour cibler les cellules tumorales du cancer du sein. Des études *in vivo* pour évaluer la biodistribution des molécules marquées au ^{13}C sont en cours. En parallèle, leur transformation en photosensibilisateurs pour la production d'oxygène singulet a été également envisagée pour une potentielle application dans le domaine de la thérapie photodynamique. D'autre part, plusieurs photosensibilisateurs à base de BODIPY ont été synthétisés et évalués dans une réaction de photooxygénation, et leur application à d'autres types de réactions est actuellement en cours.

Mots-clés : Tomographie par émission de positons, fluorescence, BODIPY, traceur bimodal, cancer du sein, thérapie photodynamique, oxygène singulet

Abstract

Medical imaging is a very important tool for the diagnosis of numerous diseases. The positron emission tomography (PET scan) is one of the most employed technique for its high sensibility, but the very short lifetime of the radionuclide used implies a very fast synthesis of the radioactive tracer. Optical imaging (OI) avoids the use of radioactive elements, but its limited sensibility in deep tissues can hamper its *in vivo* application. In order to obtain more modular probes depending on the need of the biologist (*in vitro* or *in vivo* studies), the development of new bimodal tracers is becoming an important research axis. In this context, new bimodal BODIPY-based molecules (fluorescent) that could be labelled by ^{11}C (PET) have been synthesized. The different structures were conjugated to œstradiol to target the tumour cells of breast cancer. *In vivo* studies are being carried out to evaluate the biodistribution of the [^{13}C]-labelled molecules. In parallel, their modification in photosensitizers for the production of singlet oxygen has also been considered for potential applications in the field of photodynamic therapy. On the other hand, several BODIPY-based photosensitizers have been synthesized and evaluated in a photooxygenation reaction, and their application to other types of reaction are in progress.

Keywords : Positron emission tomography, fluorescence, BODIPY, bimodal tracer, breast cancer, photodynamic therapy, singlet oxygen