



HAL
open science

Valorisation des sultones et boratranes comme plateformes de radiomarquage au fluor-18 : application au développement de radiotraceurs pour l'imagerie de l'hypoxie par Tomographie par Emission de Positons

Clémence Maingueneau

► **To cite this version:**

Clémence Maingueneau. Valorisation des sultones et boratranes comme plateformes de radiomarquage au fluor-18 : application au développement de radiotraceurs pour l'imagerie de l'hypoxie par Tomographie par Emission de Positons. Chimie. Université de Caen Normandie, 2019. Français. NNT : . tel-03249579

HAL Id: tel-03249579

<https://theses.hal.science/tel-03249579>

Submitted on 4 Jun 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.



Normandie Université

THESE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité CHIMIE

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Valorisation des sultones et boratranes comme plateformes de radiomarquage au fluor-18. Application au développement de radiotraceurs pour l'imagerie TEP de l'hypoxie

Présentée et soutenue par

Clémence MAINGUENEAU

Thèse soutenue publiquement le 15 Novembre 2019
devant le jury composé de

M. ALAIN FAIVRE-CHAUVET	Professeur praticien hospitalier, université de Nantes	Rapporteur du jury
M. YANN SEIMBILLE	Professeur assistant, University medical center of Rotterdam	Rapporteur du jury
M. DOMINIQUE CAHARD	Directeur de recherche, Université Rouen Normandie	Examineur
Mme CECILE PERRIO	Directeur de recherche, Université Caen Normandie	Directeur de thèse

Thèse dirigée par Cécile PERRIO, Imagerie et Stratégie thérapeutique de Pathologies Cérébrales et Tumorales (ISTCT-LDMTEP)



Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur Alain Faivre-Chauvet et Monsieur Yann Seimbille d'avoir accepté d'évaluer ce travail en tant que rapporteur, ainsi que Monsieur Dominique Cahard d'avoir accepté de juger ce travail en tant qu'examineur.

Je tiens à remercier Mme Myriam Bernaudin pour m'avoir accueilli au sein de l'unité ISTCT et Mme Cécile Perrio au sein de l'équipe LDMTEP.

Je remercie sincèrement ma directrice de thèse Cécile Perrio d'avoir accepté que je participe à ses projets et ses nombreuses idées, pour le temps passé sur les corrections pour la préparation de ce manuscrit et de la soutenance. Ce projet de thèse a été très formateur scientifiquement et personnellement.

Je remercie l'ensemble des membres de l'équipe LDMTEP (par ordre alphabétique) Jason Beaufrez, Jérôme Delamare, Fabien Fillesoye, Stéphane Guillouet, Fabienne Gourrand, Meziane Ibazizene, Alexis Lator, Sandrine Lehuan, Cécile Perrio et Olivier Tirel, pour leur accueil dans l'équipe et leur aide pendant trois ans.

Les lignes suivantes sont moins officielles et plus personnelles...

Merci à la team du midi Sandrine, Stéphane, Fabien, Jason et au petit dernier arrivé, Alexis, pour les pauses cafés et repas mais surtout pour votre soutien ces dernières semaines et même de m'avoir nourri (même si je reste une « femme forte et indépendante » 😊)

Un immense merci à Stéphane, qui n'est pas officiellement mon encadrant mais qui m'a soutenue officieusement et sans limite pendant un peu plus de deux ans. Tu m'as transmis ta passion pour les automates de synthèse, merci d'avoir partagé ton « savoir-faire » sans retenue, d'avoir notamment assisté à ces longues heures (littéralement) d'HPLC.

Un merci plein de bonne humeur comme nous le communiquons tous les jours Sandrine, notre petite maman qui prend soin de nous et nous permet d'oublier la chimie.

Merci à Fabien, biblioman, biologiste, collègue, ex-collègue, voisin, presque voisin de bureau et ami. Tous ces qualificatifs pour dire que tu as été là pour moi pendant ces trois ans. Merci pour tes nombreux cours de « biologie pour les nuls ».

Merci à Audrey et Séverine ainsi que les anciens doctorants, post doc et collègues qui ont fait partie de l'équipe et qui ont adouci les heures de dures labeurs. Marine, Mia, Raphaël, Thierry, Martine, Mathilde.

Je tiens à remercier mon enseignant référent Emmanuel Pfund, qui a été à l'écoute, présent pour moi et a vu le meilleur en moi, il y a déjà 6 ans. Merci de m'avoir permis de prendre du recul dans certaines situations.

Merci à Thomas, responsable carboglace, RMN et BDE d'avoir été un soutien (je ne dirais de poids) pendant trois ans et mais surtout un ami.

Merci à Ronan, d'avoir accepté que je fasse parti de son monde, et à qui j'assume que même si je me trouve dans la creuse ou en République Tchèque on se retrouvera pour un café et un cheesecake.

Merci à Inès et Emilie des amies en or. Quel que soit le pays, je sais qu'on se retrouvera pour manger des churros et vivre de nombreuses aventures bien loin du « pays de la rilette » maintenant.

Merci aux membres de ma famille qui s'est agrandi récemment, qui me soutiennent à leur manière. Je sais que vous serez toujours là quoi qu'il arrive. Je vous aime.

Sur une note plus légère, je remercie sincèrement mes fidèles sponsors Nespresso et carte d'or sans qui rien (ou du moins les quelques pages suivantes) n'aurait pas été possibles, sans qui ma vie aurait été moins intense et corsée.

Sommaire

REMERCIEMENTS.....	3
LISTE DES ABREVIATIONS.....	9
LISTE DES FIGURES ET SCHEMAS.....	10
AVANT-PROPOS.....	15
PRESENTATION GENERALE.....	16
CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE ET RADIOSYNTÈSE DE DÉRIVÉS 2-NITROIMIDAZOLE POUR L'IMAGERIE TEP DE L'HYPOXIE.	18
I. INTRODUCTION.....	20
1) L'HYPOXIE.....	20
1.1. L'hypoxie tumorale.....	22
1.2. Résistance aux traitements.....	24
2) CARACTÉRISATION ET DIAGNOSTIC DE L'HYPOXIE.....	27
2.1. Tomographie par émission de positons (TEP).....	28
2.2. Tomographie par émission monophotonique (TEMP).....	29
2.3. Les radioisotopes pour l'imagerie médicale.....	30
3) LES 2-NITROIMIDAZOLES ET L'HYPOXIE : UNE LONGUE HISTOIRE.....	32
3.1. Mécanisme des 2-nitroimidazoles et spécificité pour l'hypoxie.....	32
3.2. Les nitroimidazoles pour la RT.....	33
3.3. Les 2-nitroimidazoles dans les prodrogues.....	35
3.4. Les 2-nitroimidazoles pour l'histologie.....	36
3.5. Les 2-nitroimidazoles pour la fluorescence.....	37
3.6. Les 2-nitroimidazoles pour l'imagerie nucléaire.....	38
3.6.a) Radiotraceurs SPECT.....	38
3.6.b) Radiotraceurs TEP.....	39
4) LES MARQUEURS D'HYPOXIE NON NITROIMIDAZOLE.....	45
4.1. Cuivre ATSM pour la PET.....	45
4.2. Marquage de l'anhydrase carbonique CAIX.....	45
5) RADIOSYNTÈSES DE DÉRIVÉS 2-NITROIMIDAZOLES RADIOFLUORES.....	47
5.1. Rappel de la chimie de fluor-18.....	47

5.1.a) Formation de liaison C- ¹⁸ F en série aliphatique.....	47
5.1.a) Formation de liaison C- ¹⁸ F en série aromatique.....	49
5.2. Radiosynthèse des principaux radiotraceurs de l'hypoxie.....	50
6) CONCLUSIONS.....	57
II. TRAVAUX ENVISAGES.....	59
1) JUSTIFICATION DES CHOIX STRUCTURAUX.....	60
1.1. Le motif 1,2,3-triazole.....	60
1.2. Les chainons alkylidènes, phénylènes et perfluorés.....	61
1.3. Le groupe sulfonate.....	63
1.4. Stratégie et sultones clés.....	67
III. RESULTATS.....	71
2) LE FLUSONIM.....	71
2.1. Synthèse du précurseur du [¹⁸ F]FLUSONIM.....	72
2.1.a) Approche utilisant le bromochlorométhane.....	72
2.1.b) Approches alternatives.....	73
2.2. Fluoruration et radiofluoruration du [¹⁸ F]FLUSONIM.....	84
2.2.a) Purification par cartouches.....	86
2.2.b) Automatisation de la radiosynthèse du [¹⁸ F]FLUSONIM.....	87
2.3. Vers une synthèse GMP du [¹⁸ F]FLUSONIM pour des applications cliniques.....	90
2.4. Evaluation du [¹⁸ F]FLUSONIM.....	92
2.4.a) Pharmacocinétique chez l'animal sain.....	92
2.4.b) Evaluation dans le modèle de rhabdomyosarcome.....	95
2.4.c) Modèles de tumeurs cérébrales.....	98
2.4.a) Evaluation sur un modèle de mélanome murin.....	105
3) DEVELOPPEMENT D'ANALOGUES DU FLUSONIM.....	108
3.1. Présentation.....	108
3.2. Synthèse des précurseurs sultones.....	109
3.2.a) Sultone 132	109
3.2.b) Sultone 133 et 134	110
3.2.c) Sultone 137	111
3.2.d) Sultone 135	111
3.2.e) Sultone 136	112
3.2.f) Sultone 138	113

3.2.g) Sultone 139	114
3.3. Fluoration	114
3.4. Radiofluoration.....	115
3.5. Evaluation des radiotraceurs.....	118
3.5.a) Chez l'animal sain.....	119
3.5.b) Evaluation sur un modèle de mélanome murin.....	123
IV. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	124
CHAPITRE 2 : SYNTHÈSE D'UNE PLATEFORME BORATRANE POUR LA CAPTURE DE L'ION	
[^{19/18}F]FLUORURE	126
I. INTRODUCTION : MARQUAGE AU FLUOR-18 DES MACROMOLÉCULES.....	128
1) FORMATION DE LIAISON C-¹⁸F	130
1.1. Marquage direct par formation de liaison C- ¹⁸ F.....	130
1.2. Marquage indirect par formation de liaison C- ¹⁸ F.....	132
1.3. Conjugaison aux fonctions natives des peptides.....	133
1.4. Groupements prosthétiques pour les peptides modifiés.....	136
2) FORMATION DE LIAISON HÉTÉROATOME-FLUOR	140
2.1. Liaison Silicium-Fluor	140
2.2. Liaison Aluminium-Fluor	145
2.3. Liaison bore-fluor.....	147
2.3.a) Trifluoroborates.....	148
2.3.b) Les composés monofluoroborates.....	154
II. OBJECTIFS	158
1) LES BORATRANES	158
2) TRAVAUX RÉALISÉS.....	159
III. RESULTATS	161
1) CALCULS THÉORIQUES	161
2) SYNTHÈSE.....	162
2.1. Boratrane simple modèle 175	162
2.2. Boratrane substitué.....	163
2.2.a) Alkylation en α	164
2.2.b) Alkylation en β	165

2.3. Protonation et stabilité des boratranes 175 et 192	167
3) FLUORATION NON RADIOACTIVE	168
4) RADIOFLUORATION FAIBLEMENT RADIOACTIVE	169
IV. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	171
EXPERIMENTAL PART	173
RÉFÉRENCES	228
RESUME.....	254
ABSTRACT.....	254

Liste des abréviations

°C : Degrés Celsius

Ac : Acétyle

Aq : Aqueux

ACN : Acétonitrile

AcOH : Acide acétique

ADN : Acide 2'-désoxyribonucléique

AMBF₃ : Ammoniomethyltrifluoroborate

Ar : Aryl

ATP : Adénosine triphosphate

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

Bn : Benzyle

BSH : borocaptate de sodium

BODIPY : Boron-dipyromethene

Bq : Becquerel

CA-IX : Anhydrase carbonique 9

CCM : Chromatographie sur couche mince

Ci : Curie

CuAAC : Copper catalyzed Azide alkyne cycloaddition

DBM : 2,4 Diméthoxybenzyle

DCM : Dichlorométhane

DDQ : 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone

DI : Dose injectée

DiPEA : Diisopropyléthylamine

DMF : *N,N*-diméthylformamide

DMSO : Diméthylsulfoxyde

Equiv., éq : Equivalent

Et : Ethyle

Et₂O : Ether diéthylique

EtOAc : Ethyl acétate

EtOH : Ethanol

EWG : Electron withdrawing group

FDG : Fluorodeoxyglucose

FMISO : Fluoromisonidazole

G : Gramme

GP : Groupe partant

h : Heure(s)

HIF : Hypoxia inducible factor

h pi : Heure post-injection

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

Hz : Hertz

IARC : International Agency for Research on Cancer

iPr : Isopropyle

IR : Infrarouge

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

J : Constante de couplage

K₂₂₂ : 4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosane

LCMS : Chromatographie liquide couplée à de la spectroscopie de masse

MeCN : Acétonitrile

Me : Méthyl

MeOH : Méthanol

min pi : Minutes post injection

MOM : Ether de méthoxyéthyle

***n*-BuLi** : *n*-Butyllithium

NCS : *N*-Bromosuccinimide

NCS : *N*-Chlorosuccinimide

NITTP : [3-(2-Nitroimidazol-1-yl)-2-(oxan-2-yloxy)propyl] 4-méthylbenzenesulfonate

NMR : Nuclear magnetic resonance

NOTA : Acide 1,4,7-triazacyclononane-*N,N,N'*-triacétique

Ph : Phényle

pO₂ : Pression en oxygène

ppm : Partie par million

PSA : Polar Surface Area

RAS : Radioactivité spécifique

RCC : Rendement radiochimique corrigé

Rdt : Rendement

Rf : Rapport frontal

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RT : Radiothérapie

SAR : Structure activity relationship

SPE : Extraction sur phase solide

T_{1/2} : Temps de demi-vie

TA : Température ambiante

TBAF : Fluorure de tétrabutylammonium

TEA : Triéthylamine

TEP : Tomographie par Emission de Positons

TEMP : Tomographie par émission monophotonique

TFA : Acide trifluoroacétique

THF : Tétrahydrofurane

TMEDA : N,N,N',N'-Tetraméthyléthylènediamine

TPSA : Theoric Polar Surface Area

TMS : Triméthylsilyle

t_R : Temps de rétention

Ts : Tosyl

Liste des figures et schémas

Figure 1 : Radiomarquage au fluor-18 des plateformes A) Sultone pour la formation d'un [¹⁸ F]fluorosulfonate B) Boratrane pour la formation d'un [¹⁸ F]monofluoroborate.	16
Graphique 1 : Données sur le cancer en France en 2018 (à partir des données IARC)	21
Figure 2 : Organisation des cellules au sein d'une tumeur hypoxique.	23
Figure 3 : Mécanisme d'action de HIF dans la cellule (adapté de SIMON 2016 ⁸).....	24
Figure 4 : Espèces réactives issues de la radiolyse de l'eau.....	26
Figure 5 : Mécanisme de radiation indirect de L'ADN <i>via</i> les produits issus de la radiolyse de l'eau (Schéma adapté de Wang, Bamatraf et Wardman ²¹ ,	27
Figure 6 : Principe de l'imagerie TEP (images adaptées source CEA)	29
Figure 7 : [¹⁸ F]FDG - FluoroDesoxyGlucose	29
Figure 8 : Principe de l'imagerie TEMP (images adaptées source CEA)	30
Figure 9 : Mécanisme d'action des 2-nitroimidazoles au sein a) d'une cellule normoxique. b) cellule hypoxique.....	33
Figure 10 : Radiosensibilisateurs nitroimidazole connus	34
Figure 11 : Composés borés pour la radiothérapie.....	35
Figure 12 : Mécanisme d'action de l'Evofosfamide	36
Figure 13 : Le Pimonidazoles et l'EF5.....	37
Figure 14 : Structures de sondes pour l'imagerie NIR.....	38
Figure 15 : Radiotraceurs technetiés TEMP de l'hypoxie.	39
Figure 16 : Radiotraceurs iodés pour l'imagerie de l'hypoxie	39
Figure 17 : Radiotraceurs 2-nitroimidazole marqués au gallium-68	40
Figure 18 : Radiotraceurs 2-nitroimidazole marqués au fluor-18.	41
Tableau 3 : Résumé des valeurs des ratio moyens Tumeur sur organe de référence pour les différents radiotraceurs hypoxie pour les études cliniques.	42
Figure 19 : comparaison des ratios tumeur sur muscle du [¹⁸ F]FDG, [¹⁸ F]FAZA, [¹⁸ F]FMISO et [¹⁸ F]HX4 (Peeters <i>et al.</i> 2015) ¹¹²	44
Figure 20 : Structure du Cuivre 64 chélaté par : R = Me [⁶⁴ Cu]ATSM ; R = H [⁶⁴ Cu]PTSM.....	45
Figure 21 : Radiotraceurs pour le marquage du CAIX.	46
Figure 22 : Radiosynthèse du A) [¹⁸ F]FDG ¹²³ B) [¹⁸ F]FLT ¹²⁴ C) [¹⁸ F]FCH choline ¹²⁷ D) [¹⁸ F]FMISO ¹²⁵	48
Figure 23 : Radiosynthèse de la [¹⁸ F]L-FDOPA par substitution SNAr d'un groupement A) nitro B) ester boronique par catalyse au cuivre. ¹²⁸ C) triméthyl ammonium	49
Figure 24 : Radiosynthèses du [¹⁸ F]FMISO	51
Figure 25 : Différentes synthèses pour la préparation du NITTP, précurseur du [¹⁸ F]FMISO.....	52
Figure 26 : Radiosynthèse du [¹⁸ F]FAZA.....	52
Figure 27 : Synthèse du précurseur du [¹⁸ F]FAZA	53
Figure 28 : Radiosynthèse du [¹⁸ F]HX4.	53
Figure 29 : Synthèse du précurseur du [¹⁸ F]HX4.....	54
Figure 30 : Radiosynthèse du [¹⁸ F]FETNIM.....	54
Figure 31 : Synthèse du précurseur du FETNIM	55
Figure 32 : Radiosynthèse du [¹⁸ F]FRP170	55
Figure 33 : Synthèse du précurseur du FRP170	55
Figure 34 : Radiosynthèse de DIFA	56
Figure 35 : Synthèse du précurseur du DIFA	56
Tableau 4 : Caractéristiques des radiotraceurs fluorées 2-nitromidazole les plus connus.....	56
Figure 36 : Répartition de logP des différents radiotraceurs [¹⁸ F]2- nitroimidazole	57
Figure 37 : Dérivés fluorés 2-nitroimidazoliques ciblés	60

Schéma 1 : Produits de réaction de la CuAAC et Mécanisme d'une réaction de CuAAC entre un alcyne et un azoture.....	61
Tableau 5 : Valeur de logP, pKa et PSA des groupements fonctionnels choisis.....	62
Figure 38 : Molécules naturelles ou artificielles contenant un groupement sulfonate molécule dont pour la spectroscopie NIR A)B) C).....	63
Figure 39 : Nomenclature des sultones les plus rencontrées	64
Figure 40 : Exemples d'ouverture de sultones par des nucléophiles	65
Tableau 6 : Dérivé sulfonate issu de l'ouverture du cycle sultone. Schmit 2011 ¹⁷⁵	66
Schéma 2 : Radiofluoruration de la lysine <i>via</i> la bissultone.	66
Schéma 3 : Marquage au fluor-18 du dodécapeptide grâce à la sultone 88.....	67
Figure 41 : Dérivé cible obtenus à partir de la sultone propargylique clé 90	67
Tableau 7 : Synthèses de sultone <i>via</i> alkylation au butyllithium	68
Schéma 4 : Synthèse de la propane ou butane sultone propargylique.....	70
Figure 42 : Molécules cibles 69, 70, 71, 72, 73, 74, 96 et 97	71
Figure 43 : Rétrosynthèse du [¹⁸ F]FLUSONIM	72
Schéma 5 : Synthèse du précurseur du [¹⁸ F]FLUSONIM 98	73
Figure 44 : Approches rétrosynthétiques	74
Figure 45 : Structures du 2-nitroimidazole et de l'imidazole. ¹⁸⁷	74
Schéma 6 : Différentes voies pour l'approche 1.....	75
Figure 46 : Voie de synthèse n°1	75
Tableau 8 : Différents essais réalisés pour l'alkylation du 2-nitroimidazole avec un méthylène dihalogéné.....	75
Schéma 7 : Synthèse du méthylèneditosylate 2-nitroimidazole.	77
Tableau 9 : Différentes conditions pour l'alkylation du 2-nitroimidazole avec le ditosylate.....	77
Figure 47 : Synthèse de l'azoture 99 à partir du ditosylate 108.	78
Schéma 8 : Formation des sels de 2-nitroimidazole.	79
Tableau 10 : Essais pour l'alkylation du 2-nitroimidazole sous forme de sel.	79
Figure 48 : Formation de l'intermédiaire 115.....	79
Schéma 9 : Essais pour synthétiser le 2-nitroimidazol méthanol.....	81
Schéma 10 : Essais pour la synthèse des dérivés chloré 100 ou bromé 102.....	82
Figure 49 : Approche synthétique 2.	82
Figure 50 : Voie de synthèse 1, click effectuée sans protection de l'alcool.....	83
Figure 51 : Voie de synthèse 2 pour la synthèse du précurseur du [¹⁸ F]FLUSONIM.....	84
Figure 52 : Fluoruration au fluor-19 et au fluor-18 du précurseur sultone 98 pour la synthèse du [^{18/19} F]FLUSONIM	84
Tableau 11 : Essais de fluoruration avec le TBAF en chimie non radioactive.....	85
Tableau 12 : Tests en chimie faiblement radioactive pour la radiofluoruration du [¹⁸ F]FLUSONIM	85
Figure 53 : Exemple pour le conditionnement et l'élution des cartouches.....	86
Figure 54 : Exemple de purification du [¹⁸ F]FLUSONIM sur cartouche C18 chromatogrammes du détecteur radioactif de l'HPLC et radioCCM A) brut réactionnel B) de la première élution C) du décrochage du [¹⁸ F]FLUSONIM avec 5% d'EtOH.	87
Figure 55 : A) Photo de l'automate FXFN. B) Schéma du logiciel TRACERlab pour l'automate FXFN C) chromatogrammes HPLC semi préparative détecteur UV et radioactif.	88
Tableau 13 : Essais de radiofluoruration sur automate FXFN en faisant varier les quantités de réactifs.	89
Tableau 14 : Préparation des vials du FXFN pour la préparation du [¹⁸ F]FLUSONIM.....	90
Figure 56 : Contrôle qualité. A = HPLC analytique ; B = radioCCM.....	90
Figure 57 : A) Photo du module Allinone de Trasis B) Interface graphique C) photo du module TRACERlab MX B) Interface informatique	91
Tableau 15 : Contrôle qualité à effectuer avant l'injection chez l'homme.....	92
Figure 58 : Exemples d'images de fusion CT/TEP (vue dorsale) de la biodistribution du [¹⁸ F]FLUSONIM.....	93

Graphique 2 : Cinétique d'élimination urinaire pour le [¹⁸ F]FLUSONIM	93
Figure 59 : Résultats de dissection et répartition du [¹⁸ F]FLUSONIM dans les différents organes à 15, 30, 60 et 150min ; les reins placés à part comprennent le maximum de radioactivité.	94
Figure 60 : Radiochromatogrammes A) contrôle qualité du FLUSONIM. Echantillons sanguins à B) 60 min et C) 150 min.	95
Figure 61 : A) Courbe de temps-activité en bleu le [¹⁸ F]FMISO et en vert le [¹⁸ F]FLUSONIM B) plan représentatif de l'animal portant la tumeur. Images représentatives en CT/TEP d'un même animal porteur de RMS. C) [¹⁸ F]FLUSONIM de 40 à 60 min D) [¹⁸ F]FMISO de 160 à 180 min	96
Figure 62 : Images microscopiques de coupes adjacentes tumorales. A) Hoechst qui permet de colorer par fluorescence l'ADN B) H&E qui colore en bleu les noyaux des cellules et le cytoplasme en rose. C) anticorps qui révèle le CA IX. D) Autoradiographie du [¹⁸ F]FLUSONIM à 60 min.....	97
Figure 63 : Volumes hypoxiques 17 et 23 jours après implantation des cellules tumorales (Valable <i>et al.</i> 2011).	98
Figure 64 : Coupes axiales de l'imagerie TEP et IRM du A) [¹⁸ F]FLUSONIM de 0-150 min à J-22 B) [¹⁸ F]FMISO de 0-180 min images de Valable 2011, à J20 après implantation des cellules tumorales. .	99
Figure 65 : Courbes de temps-activité A) [¹⁸ F]FLUSONIM B) [¹⁸ F]FMISO (Valable 2011)	99
Figure 66 : SUV _{moyen} du [¹⁸ F]FLUSONIM dans la tumeur C6 à J15 et J22.	100
Figure 67 : Images TEP/CT de l'animal entier et coupe axiale TEP et IRM du [¹⁸ F]FLUSONIM à 60-80 min sur A) le modèle C6 hypoxique ; B) le modèle non hypoxique 9L.	101
Figure 68 : Courbe temps-activité du [¹⁸ F]FLUSONIM et du [¹⁸ F]FMISO en fonction de l'organe de référence A) Tumeur sur muscle B) Tumeur sur control latéral	102
Figure 69 : Images TEP et IRM du A) [¹⁸ F]FLUSONIM 40-60 min avec anesthésie. B) [¹⁸ F]FMISO temps 120-140 min avec anesthésie. C) [¹⁸ F]FMISO temps 120-140 min avec réveil.....	103
Figure 70 : Coupes de tumeurs révélées avec différents colorants pour les modèles A) C6 B) 9L C) U251.....	104
Figure 71 : Etudes radiométriques. (A) niveaux de radioactivité sur les différents tissus prélevés. (B) Répartition de la radioactivité sur les tissus prélevés. (C) Analyses de la fraction libre par HPLC pour la tumeur et le plasma. (D) Répartition de la radioactivité sur la fraction extraite....	106
Figure 72 : Rétrosynthèse des molécules cibles et leurs précurseurs	109
Schéma 11 : Préparation de la sultone 132.....	110
Schéma 12 : Synthèse des sultones 133 et 134.	111
Schéma 13 : Préparation de la sultone 139.....	111
Schéma 14 : Synthèse de la sultone 135.....	112
Schéma 15 : Synthèse de la sultone 136.....	113
Schéma 16 : Préparation du précurseur sultone 138.....	113
Schéma 17 : Préparation du précurseur sultone 139 sans 2-nitroimidazole.	114
Figure 73 : Synthèse des fluorosulfonates 69, 70, 71, 72, 73, 74, 96 et 97.	115
Figure 74 : Fluoruration du composé 90 pour l'obtention du sulfonate 71 en deux étapes	115
Tableau 16 : Radiofluoruration des sultones 132, 136, 137, 138 et 139 en chimie hautement radioactive.....	116
Figure 75 : Valeurs des logP/D, et de la surface polaire théorique du [¹⁸ F]FLUSONIM des fluorosulfonates [¹⁸ F]69, [¹⁸ F]73, [¹⁸ F]74, [¹⁸ F]96 et [¹⁸ F]97	118
Figure 76 : Images TEP/CT à 60 min du [¹⁸ F]FLUSONIM et du [¹⁸ F]FMISO et des dérivés [¹⁸ F]69, [¹⁸ F]73, [¹⁸ F]74 et [¹⁸ F]97 à 60 min (images normalisées en SUV)	119
Figure 77 : Cinétiques d'élimination A) de la vessie et B) du foie pour les dérivés [¹⁸ F]69, [¹⁸ F]73, [¹⁸ F]74 et [¹⁸ F]97, le [¹⁸ F]FLUSONIM et [¹⁸ F]FMISO chez l'animal sain.	120
Tableau 17: ½ vie de distribution, d'élimination, voie d'élimination et valeurs de logP des dérivés [¹⁸ F]69, [¹⁸ F]73, [¹⁸ F]74 et [¹⁸ F]97, le [¹⁸ F]FLUSONIM et [¹⁸ F]FMISO	121
Tableau 18 : Valeurs des niveaux de radioactivité des prélèvements sanguins.	122
Figure 78 : Contrôle qualité et analyse plasmatique des dérivés [¹⁸ F]FLUSONIM, [¹⁸ F]69, [¹⁸ F]73, [¹⁸ F]74 à 1 h pi.....	123

Figure 79 : A) Stomatotatine marquée à l'iode B) ^{68}Ga -DOTATATE et le ^{177}Lu -DOTATATE (LUTATHERA [®])	129
C) ^{68}Ga -PSMA-11	129
Schéma 18 : Fluoration directe par ouverture d'aziridine.....	130
Schéma 19 : Marquage d'un peptide par SNAr	131
Schéma 20 : Radiofluoration directe du cRGD et cRGD dimérique par SN_{Ar} d'un groupe NO_2	132
Schéma 21 : Synthèse du ^{18}F SFB.	133
Tableau 19 : Principaux groupes prosthétiques pour le marquage de peptides contenant une fonction A) Amine B) Acide carboxylique C) thiol D)1,2aminothiol	135
Figure 80: Groupements prothétiques pour la réaction de chimie click A) de type azoture B) de type alcyne.	136
Figure 81 : Radiosynthèse du ^{18}F FEA	137
Figure 82 : Réaction de SPAAC avec obtention de deux régioisomères. Exemples de cyclooctynes. .	138
Figure 83 : Réaction de Diels Alder à demande inverse en électron.....	139
Figure 84 : TzPEG ₁₁ -Al ^{18}F -NOTA marquée précurseur de réaction d'IEDDA avec le 5B1-TCO <i>in vivo</i>	140
Tableau 20 : Energie de liaison de différente liaison avec le fluor	140
Figure 85 : Premiers exemples de formation de liaison Si-fluor-18.	141
Figure 86 : Stabilité des différentes structures SIFA (repris de Schirmacher 2019)	141
Figure 87 : LysMe ₃ -g-carboxy-D-Glu ; B = g-carboxy-D-Glu ; C = SiFAlin	142
Figure 88 : Méthode de radiofluoration pour la formation de liaison Si-F.....	142
Schéma 22 : Marquage au fluor-18 du triethoxysilane	142
Schéma 23 : Radiomarquage de la bombésine au fluor-18 <i>via</i> un précurseur silane.....	143
Schéma 24 : Radiomarquage de l'octréotide <i>via</i> la formation de liaison Si-F	144
Schéma 25 : Marquage d'un peptide modifié <i>via</i> un fluorosilane par échange isotopique.	144
Figure 89 : Groupements prothétiques pour la formation de liaisons Si- ^{18}F	145
Figure 90 : A) NOTA, B) NOTA-GA ; C) p-SCN-Bz-NOTA G) stratégie de radiomarquage directe d'un peptide par liaison Al- ^{18}F	146
Figure 91 : Marquage de petites <i>via</i> la formation de liaison Al- ^{18}F . A) un analogue de la bombésine B) - ^{18}F Alfatide C) ^{18}F 173 dérivé du ^{18}F PSMA-11	147
Figure 92 : Différentes synthèses de potassium organotrifluoroborates.....	148
Schéma 26 : A) Synthèse usuelle d'un trifluoroborate B) Hydrolyse d'un aryltrifluoroborate.	149
Figure 93: Formation d'un trifluoroborate marqué au fluor-18	149
Schéma 27 : Radiosynthèse du biotinylated ^{18}F -p-aminophényltrifluoroborate.....	150
Figure 94 : Différents précurseurs pour la formation de liaison B- ^{18}F A) alcyne B)précurseur alcyne' C) D) précurseur alcyne ^{250,282}	150
Schéma 28 : Radiofluoration d'un dérivé du marimastate	151
Figure 95 : Précurseurs trifluoroborates pour la formation de liaison B- ^{18}F par échange isotopique. Phosphoré 175 l'AMBF3	152
Figure 96 : Marquage direct grâce au AMBF3 de A) octréate TATE B) dérivé de la bombésine.....	152
Figure 97 : Echange isotopique ^{18}F - ^{19}F à partir A) d'un phosphonium borane pour le marquage de l'indométhacine B) carbène N-hétérocyclique-BF ₃ (NHC-BF ₃) pour le marquage peptide neurotensine (NT) et du glutamate-urée-Lysine	153
Figure 98 : A) Formule générale BODIPY et B) Marquage direct du cRGD.....	154
Figure 99 : Principaux groupements prosthétiques pour le marquage au fluor-18 contenant un atome de bore	154
Figure 100 : Préparation du triphénylfluoroborate tétralkylammonium.	155
Schéma 29 : Fluoration générale des complexes de bore. Exemple du complexe triméthyloléthane borate	155
Schéma 30 : A) Fluoration de l'ammonium borate B) différents monofluoroborates stabilisés par un cation.	156
Schéma 31 : Fluoration de composés aromatiques par relargage du fluorure d'un monofluoroborate sulfonium.	156

Schéma 32 : Radiofluoration de substrat <i>via</i> phosphonium borane.....	157
Figure 101: A) Atrane B) quasi-atrane C) pro-atrane	158
Figure 102: Structures du A) carbaboratrane B) thiaboratrane C) azaboratrane D) Boratrane. E)	
Exemples de boratranes.	158
Schéma 33 : Fluorotation du boratrane.	159
Figure 103 : A) Boratrane 175 B) Boratrane fluoré 177 C) Richesse électronique du boratrane fluoré 177 D) Boratrane fluoré 178 E) AMBF ₃	161
Figure 104 : Protonation théorique des boratranes 177 et 178	162
Schéma 34 : Synthèse et fluoration en milieu aqueux d'un boratrane simple.	163
Figure 105 : a) RMN ¹¹ B de l'acide borique (DMSO) 20.1 ppm b) RMN ¹¹ B (DMSO) du boratrane 175 à 14.5 ppm	163
Figure 106 : Rétrosynthèse pour la substitution du boratrane envisagée sur le carbone en α et en β	164
Schéma 35 : Synthèse de l'ester 183	164
Schéma 36 : Synthèse du triol 185	165
Schéma 37 : Préparation du triol 189	166
Schéma 38 : Purification du composé 187	166
Schéma 39 : Préparation du boratrane 192	167
Schéma 40 : Protonation et méthylation du boratrane simple 175 décrit dans la littérature. ³³⁰	167
Figure 107 : Protonation du boratrane 192. Suivis RMN du ¹¹ B dans A) HCl B) TFA C) CF ₃ SO ₃ H 32mM D) CF ₃ SO ₃ H 1equiv.	168
Figure 108 : Fluorotation des boratranes 175 et 192 RMN ¹¹ B et ¹⁹ F des boratranes fluorés 201 et 202.	169
Schéma 41 : Radiofluoration du boratrane 192	170
Figure 109 : Analyses radioCCM et HPLC de la réaction de radiofluoration du boratrane 192.....	170
Figure 110 : Photos of: (left) fumehood with lead-shielded wall (right) hot cell.....	224

Avant-propos

Cette thèse a été financée par la région Normandie. (Allocation régionale CRBN 2016-2019)

Communications par affiche

IFSC, Oxford, 23-27 Juillet 2018. « Boratrane as captor of fluoride ».

JEDNC, Le Havre, 7 Juin 2018, : « Boratrane as captor of fluoride » et “Synthesis of specific hypoxic PET ^{18}F -radiotracer with low uptake time.

Communications orales

JEDNC, Le Havre, 7 Juin 2018 : « Boratrane as captor of fluoride »

SECO56, La Clusaz, 12-17 Juillet 2019 : “Synthesis and *in vivo* evaluation of new 2-nitroimidazole ^{18}F -radiotracers for PET hypoxia imaging”

Formations effectuées

Ecoles doctorales :

Module 1 : Rechercher l'information, Méthodes et outils en STS Mettre en place une veille documentaire grâce aux fils RSS pour faire sa bibliographie

Module 3 : Initiation au logiciel de gestion des références bibliographiques ZOTERO

Module 4 : Règles de publication des documents scientifiques (articles, thèses, posters)

Module 7 : Protéger ses données et son travail de recherche

Formation au dôme : Se former à la médiation scientifique

Vulgarisation scientifique

L'atelier jeune chercheur, FENO-Caen Normandie (avril 2019), fête de la science (octobre 2017, octobre 2018)

Présentation générale

Les travaux de thèse ont visé à développer des plateformes de radiomarquage polyvalentes pour faciliter l'incorporation du fluor-18, un isotope de choix pour l'imagerie TEP (Figure 1).

Deux plateformes ont été à l'étude. La première comporte une structure sultone conduisant à un [^{18}F]-fluorosulfonate par ouverture du cycle avec le [^{18}F]fluorure. Celle-ci sera valorisée par le couplage à un ligand nitroimidazolique pour former des agents d'imagerie de l'hypoxie qui seront évalués *in vivo* par tomographie par émission de positons dans des modèles animaux tumoraux. Une série de dérivés caractérisés par des propriétés d'hydrophilie différentes a été synthétisée afin de comparer l'impact sur l'imagerie.

La seconde plateforme est de nature boratrane, composée d'une entité borée, capable de réagir avec le [^{18}F]fluorure en milieu physiologique pour former une espèce zwiterionique [^{18}F]monofluoroborate stable *in vivo*. Après mise au point de sa synthèse et de sa radiofluoration, cette plateforme sera exploitée pour le radiomarquage direct de structures peptidiques et protéiques avec une haute radioactivité spécifique grâce à la séparation facile entre précurseur boratrane neutre et l'espèce radiofluorée zwiterionique.

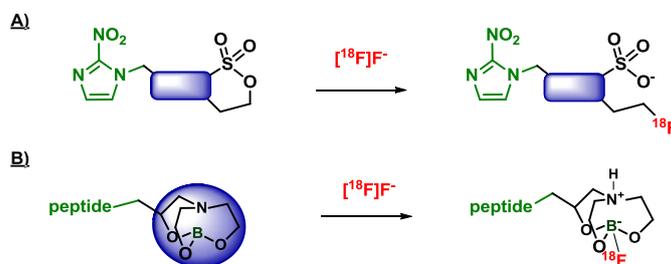


Figure 1 : Radiomarquage au fluor-18 des plateformes A) Sultone pour la formation d'un [^{18}F]fluorosulfonate B) Boratrane pour la formation d'un [^{18}F]monofluoroborate.

L'ensemble des recherches envisagées ont impliqué des travaux pluridisciplinaires en chimie (synthèse des plateformes), en radiochimie (marquage au fluor-18), en développement de radioligands incluant l'optimisation et l'automatisation des radiosynthèses, la production répétée pour les évaluations par imagerie et les études de radiométabolisation.

Chapitre 1 : Synthèse et radiosynthèse de dérivés 2-nitroimidazole pour l'imagerie TEP de l'hypoxie.

I. Introduction

1) L'Hypoxie

L'oxygène, essentiel aux organismes aérobies, intervient dans différents processus de l'organisme. L'oxygène passe par la trachée puis les poumons où il est introduit dans le réseau capillaire. L'oxygène est transporté *via* l'hémoglobine du réseau capillaire jusqu'aux tissus. Il joue le rôle de carburant dans les cellules lors de la production d'ATP (adénosine triphosphate) : énergie nécessaire pour la vie des cellules. Tous les tissus n'ont pas besoin du même apport en oxygène pour fonctionner, ainsi la pression partielle en oxygène (pO_2) ne sera pas la même dans tous les organes et les tissus (**Tableau 1**).¹

Tableau 1 : Pressions normales en oxygène dans certains tissus. (Koh & Powis)

Tissus	pO_2 normale (mmHg)	% O_2
Trachée	150	19,7
Sang artériel	100	13,2
Sang veineux	40	5,3
Cerveau	35	4,4
Muscle	29	3,8

Le niveau normal en oxygène pour un organe en condition physiologique est appelé normoxie. En dessous du niveau physiologique, on parle d'hypoxie. Ce manque d'oxygène dans certaines cellules est dû à une inadéquation entre l'apport et la consommation en oxygène. Il existe différents degrés d'hypoxie. L'hypoxie est considérée comme modérée jusqu'à environ 8 mmHg d'oxygène et sévère en dessous de 8 mmHg.² En dessous de 0.08 mmHg (soit en l'absence d'oxygène), c'est une situation d'anoxie. En condition d'anoxie, l'ATP n'est plus produite conduisant à la mort cellulaire (nécrose). L'hypoxie est accrue par une demande en oxygène supérieure à ce qui ne peut être fourni, et entraîne des situations

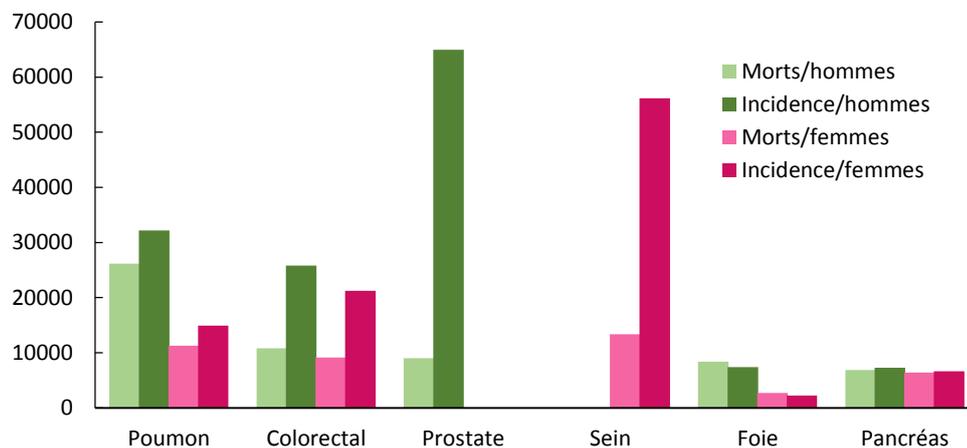
¹ M. Y. Koh, G. Powis, *Trends Biochem. Sci.* **2012**, 37, 364

² S. K. Chitneni, G. M. Palmer, M. R. Zalutsky, M. W. Dewhirst, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2011**, 52, 165

pathologiques et dysfonctionnements plus ou moins sévères et réversibles.³ L'hypoxie est caractéristique de nombreuses situations pathologiques telles que l'athérosclérose, des maladies rénales et la polyarthrite rhumatoïde.⁴ Des tissus ou régions hypoxiques sont localisés dans les zones d'ischémie ou d'hémorragie ainsi que dans les tumeurs solides malignes comme les cancers du poumon, du sein, du pancréas, de la prostate, du cerveau, tête et cou souvent associés à des pronostics défavorables.^{5,6}

Le cancer, tout type confondu, est la 2^e cause de décès en France après les maladies cardiovasculaires et représente un problème de santé publique majeur. En France en 2018, 157400 décès ont été recensés (54 % d'hommes et 46 % de femmes). Cette même année 382 000 nouveaux cas dont 57 % d'hommes et 43 % de femmes ont été diagnostiqués. Chez la femme, ce sont les cancers du sein (11 900 décès), du poumon (10 200 décès) et du côlon (8 400 décès) qui sont les plus meurtriers. Chez l'homme, ce sont les cancers du poumon (20 800 décès), du côlon (9 300 décès) et de la prostate (8 200 décès) (**Graphique 1**). Les données et les graphiques sont recueillis à partir de données de l'IARC « International Agency for Research on Cancer ».

Nombre estimé de morts et d'incidence pour les hommes/femmes en France en 2018



Graphique 1 : Données sur le cancer en France en 2018 (à partir des données IARC)

³ P. Vaupel, L. Harrison, *The Oncologist* **2004**, 9, 4

⁴ P. Bonnitcho, S. Grieve, G. Figtree, *Free Radic. Biol. Med.* **2018**, 126, 296

⁵ M. V. C. Maldaun, D. Suki, F. F. Lang, S. Prabhu, W. Shi, G. N. Fuller, D. M. Wildrick, R. Sawaya, *J. Neurosurg.* **2004**, 100, 61

⁶ S. Jawhari, M.-H. Ratinaud, M. Verdier, *Cell Death Dis.* **2016**, 7, e2434

La différence entre l'incidence et le nombre de décès indique le pronostic de survie des patients. Pour le cancer de la prostate et du sein, le pronostic est considéré comme bon car la survie du patient après 5 ans est supérieure à 80%. Pour le cancer du côlon, elle est comprise entre 20 et 80%. Pour le cancer du poumon et du pancréas, le pronostic de survie est défavorable avec une survie après 5 ans inférieure à 20%. D'après l'IARC l'incidence et la mortalité dues aux cancers vont incontestablement augmenter du fait de l'augmentation de la population et de son vieillissement. Entre 2010 et 2018, le nombre de cancers avérés diagnostiqués a augmenté. Néanmoins une baisse de mortalité de 0,7% chez les femmes et de 2% chez l'homme a été observée. Cette baisse s'explique par des traitements plus efficaces mais aussi grâce à de nombreuses campagnes de préventions contre les facteurs de risques et pour le dépistage, qui génèrent des diagnostics plus précoces. Ces diagnostics se traduisent par des examens cliniques (consultation par un médecin), examens biologiques (sanguin et urinaire), des biopsies (par ponction ou chirurgie exploratoire) et des examens d'imagerie qui sont la première étape de la prise en charge du cancer et avant toute démarche de traitement.

Pour résumer, les cancers les plus meurtriers, sont tous des tumeurs « solides » malignes qui évoluent rapidement. La croissance cellulaire très rapide engendre une vascularisation imparfaite des tissus tumoraux et entraîne un déséquilibre entre l'apport d'oxygène nécessaire et le besoin réel des cellules tumorales : l'hypoxie.

1.1. L'hypoxie tumorale

Au sein d'une même tumeur, la répartition des tissus hypoxiques est très hétérogène avec différents degrés d'hypoxie. L'hypoxie tumorale comprend l'hypoxie chronique et l'hypoxie aiguë qui se différencient selon la durée à laquelle les cellules sont exposées au manque d'oxygène. Ces phénomènes évoluent au cours du temps et s'influencent mutuellement. Dans les cas d'hypoxie tumorale, la prolifération cellulaire entraîne une vascularisation dysfonctionnelle de la tumeur. Cela engendre l'éloignement des cellules par rapport aux vaisseaux sanguins (**Figure 2**). Pour des régions situées à une distance de 70 à 100 μm d'un

vaisseau, la quantité d'oxygène diminue mais reste suffisante pour la survie des cellules.⁷ Dans le cas où l'éloignement des cellules par rapport aux vaisseaux est trop grand (> 100 μm), celui-ci génère une restriction totale de l'apport en oxygène et de production d'ATP : les régions sont dites nécrotiques.

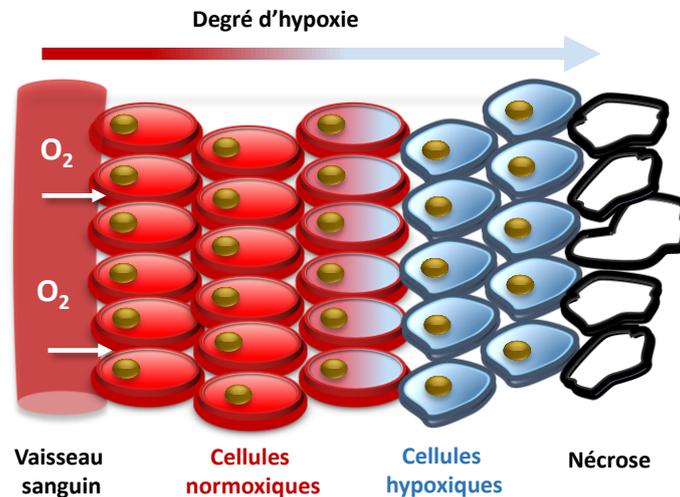


Figure 2 : Organisation des cellules au sein d'une tumeur hypoxique.

L'hypoxie induit des conditions de stress cellulaire conduisant alors la mise en place de différents mécanismes de survie. Au niveau moléculaire, l'adaptation des cellules à un environnement hypoxique va être régulée par la famille des facteurs de transcription HIFs (*Hypoxia Inducible Factor*). Les protéines HIFs sont des hétérodimères constituées d'une sous-unité α dont la stabilité dépend de la concentration en oxygène, et d'une sous-unité β constitutive. En situation de normoxie, HIF α est hydroxylée par une enzyme PHD (*Prolyl Hydroxylase Domain*), qui permet sa reconnaissance par la protéine de von Hippel-Lindau (pVHL), et entraîne son ubiquitination, puis sa dégradation par le protéasome. En cas d'hypoxie, l'activité de PHD est réduite et la sous-unité HIF α n'est pas dégradée. Celle-ci va alors pouvoir se dimériser avec la sous-unité HIF β , entrer dans le noyau et exercer son rôle de facteur de transcription, en se liant à la séquence de l'ADN spécifique que l'on appelle éléments de réponse à l'hypoxie (HRE pour *Hypoxia Responsive Element*) (Figure 3). Il existe de nombreux gènes cibles induits par l'hypoxie sous le contrôle des protéines HIFs, comme

⁷ I. N. Fleming, R. Manavaki, P. J. Blower, C. West, K. J. Williams, A. L. Harris, J. Domarkas, S. Lord, C. Baldry, F. J. Gilbert, *Br. J. Cancer* **2015**, 112, 238

l'ADM (adrenomedulline) ou le VEGF (vascular endothelial growth factor), impliqués dans l'angiogénèse (phénomène physiologique normal de construction des nouveaux vaisseaux sanguins), GLUT1, impliqué dans le transport du glucose, ou CA-IX (carbonic anhydrase IX), impliquée dans la régulation du pH. L'expression de ces gènes participe au développement et à la survie de la tumeur dans un environnement hypoxique ainsi qu'à la résistance aux traitements.⁸

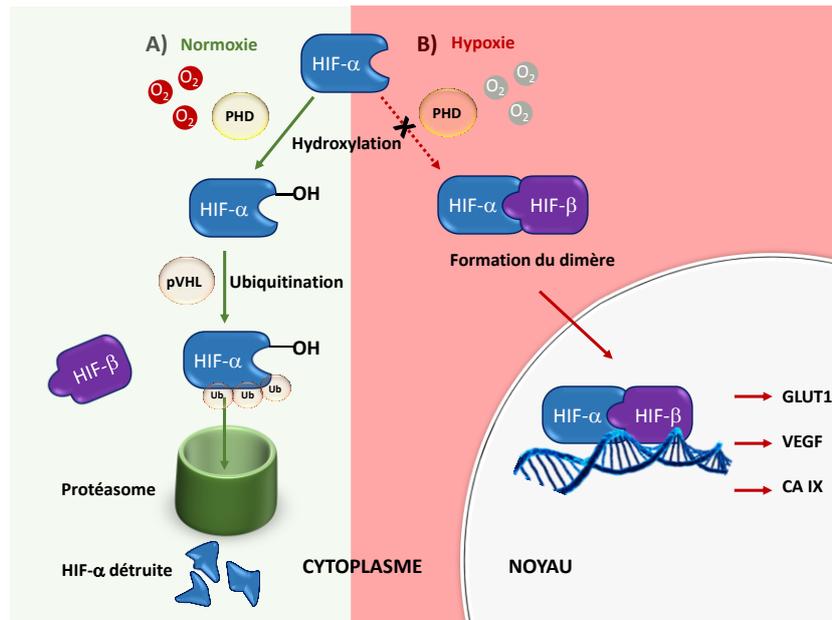


Figure 3 : Mécanisme d'action de HIF dans la cellule (adapté de SIMON 2016⁸)

1.2. Résistance aux traitements

L'hypoxie est souvent associée à un faible pronostic de survie en raison de la batterie de gènes activés sous le contrôle de HIF pour la survie et la croissance de la tumeur, diminuant ainsi l'efficacité des traitements (qu'ils soient chimio ou radio-thérapeutiques) et conduisant aux mécanismes de résistance.^{9,10} La chimiorésistance peut être due à une mauvaise délivrance des drogues au niveau tumoral en raison d'un réseau vasculaire altéré ou d'une

⁸ M. C. Simon, *N. Engl. J. Med.* **2016**, 375, 1687

⁹ K. Graham, E. Unger. *Int. J. Nanomedicine* **2018**

¹⁰ M. Gérard, A. Corroyer-Dulmont, P. Lesueur, S. Collet, M. Chérel, M. Bourgeois, D. Stefan, E. J. Limkin, C. Perrio, J.-S. Guillamo, B. Dubray, M. Bernaudin, J. Thariat, S. Valable, *Front. Med.* **2019**, 6, 117

modification du pH tissulaire.^{11,12,13,14} La radiorésistance s'explique par la sensibilité aux radiations 2 à 3 fois moins grande des cellules hypoxiques par rapport aux cellules normales.^{12,15,16,17} Cependant, la radiothérapie (RT) reste une pratique importante dans le traitement des cancers.

La radiothérapie (RT), utilisée depuis plus d'un siècle, est une méthode utilisée, seule ou en complément, dans le traitement du cancer.¹⁸ Il existe deux types de radiothérapie : la thérapie interne et la thérapie externe. La thérapie interne comprend la thérapie vectorisée α ou β (injection d'un radiopharmaceutique capable de se fixer de manière spécifique sur les cellules tumorales à traiter) et la curiethérapie qui implique l'introduction d'une source radioactive (iridium-192 (β^-) et l'iode-125 (γ)) au contact de la zone à traiter (indiquée généralement pour les cancers de la prostate ou gynécologique). La thérapie externe comprend la thérapie conventionnelle (par RX), et de manière moins fréquente l'hadronthérapie incluant la proton- et carbone-thérapie. La radiothérapie externe reste la technique plus utilisée dans les hôpitaux et doit faire correspondre le plus précisément possible la zone sur laquelle vont être dirigés les rayons, sur la tumeur. L'hadronthérapie utilise un faisceau de particules tels que les protons ou les ions carbonés et permet d'obtenir une précision balistique en ajustant l'énergie du faisceau pour que le parcours des hadrons corresponde rigoureusement à la profondeur de la tumeur (en liaison à l'existence du « pic de Bragg »). Cette balistique permet ainsi de disposer d'une efficacité maximum d'ionisation au sein de la tumeur pour stériliser les cellules cancéreuses, mais aussi de créer moins de dommages dans les tissus sains traversés en amont, tout en épargnant ceux qui sont situés au-delà de la zone d'arrêt des protons. Ces avantages sont à la base de l'intérêt potentiel de l'hadronthérapie par rapport à la radiothérapie par rayons X traversant le corps du patient. Dans les deux cas, un examen d'imagerie sensible et précis du volume tumoral est indispensable.

¹¹ E. J. Moon, D. M. Brizel, J. A. Chi, M. W. Dewhirst, *Antioxid. Redox Signal.* **2007**, 9, 1237

¹² L. H. Gray, A. D. Conger, M. Ebert, S. Hornsey, O. C. A. Scott, *Br. J. Radiol.* **1953**, 26, 638.

¹³ A. Unruh, A. Ressel, H. G. Mohamed, R. S. Johnson, R. Nadrowitz, E. Richter, D. M. Katschinski, R. H. Wenger, *Oncogene* **2003**, 22, 3213

¹⁴ M. M. Vleugel, A. E. Greijer, A. Shvarts, P. van der Groep, M. van Berkel, Y. Aarbodem, H. van Tinteren, A. L. Harris, P. J. van Diest, E. van der Wall, *J. Clin. Pathol.* **2005**, 58, 17

¹⁵ P. Vaupel, M. Höckel, A. Mayer, *Antioxid. Redox Signal.* **2007**, 9, 1221

¹⁶ J. D. Chapman, R. C. Urtasun, E. A. Blakely, K. C. Smith, C. A. Tobias, *Br. J. Cancer. Suppl.* **1978**, 3, 184

¹⁷ W. R. Wilson, M. P. Hay, *Nat. Rev. Cancer* **2011**, 11, 393

¹⁸ B.-J. Hong, J. Kim, H. Jeong, S. Bok, Y.-E. Kim, G.-O. Ahn, *Radiat. Oncol. J.* **2016**, 34, 239

La RT de manière générale exploite les rayonnements ionisants ciblés sur les cellules tumorales pour arracher des électrons à la matière. Cela conduit à l'endommagement direct de l'ADN et des macromolécules entraînant la mort cellulaire ou bien majoritairement à la création d'espèces radicalaires *via* la radiolyse de l'eau.¹⁹ La molécule H₂O se dissocie en radicaux libres HO[•] (radical hydroxyle) et H[•] (radical hydrogène) très instables et réactifs. Ces radicaux hydroxyles vont créer d'autres espèces radicalaires comme des peroxydes générant un stress oxydatif dans la cellule (**Figure 4**). Ces peroxydes en présence d'O₂ peuvent former d'autres espèces radicalaires ou peroxydes qui vont attaquer et endommager l'ADN ou les macromolécules conduisant à la mort cellulaire.²⁰

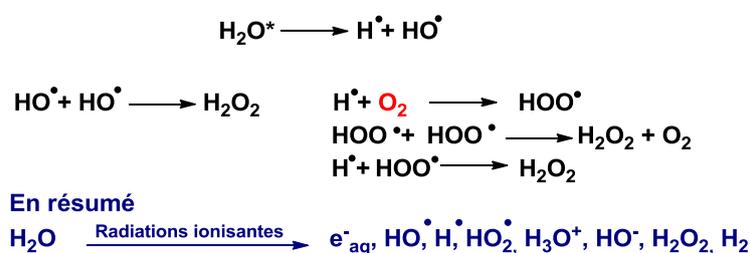


Figure 4 : Espèces réactives issues de la radiolyse de l'eau

La production de radicaux libres essentielle au mécanisme de destruction de la cellule est donc accrue par la présence d'O₂ : c'est « l'effet oxygène ».²¹ En 1933, Crabtree et Cramer ont montré que la réponse d'une cellule aux radiations dépendait de son taux d'oxygène.²² Dans les cas d'hypoxie, la présence des espèces radicalaires (peroxydes) est diminuée en raison de la faible proportion d'O₂ et de la production de glutathion activée qui neutralise les peroxydes. Ces mécanismes ont pour conséquence de diminuer l'effet létal des radiations et conduisent à la radiorésistance. (**Figure 5**).

¹⁹ S. Le Caër, *Water* **2011**, 3, 235

²⁰ P. Kovacic, J. Osuna Jr., *Curr. Pharm. Des.* **2000**, 6, 277

²¹ H. Wang, X. Mu, H. He, X.-D. Zhang, *Trends Pharmacol. Sci.* **2018**, 39, 24

²² H. G. Crabtree, W. Cramer, J. A. Murray, *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Contain. Pap. Biol. Character* **1933**, 113, 238

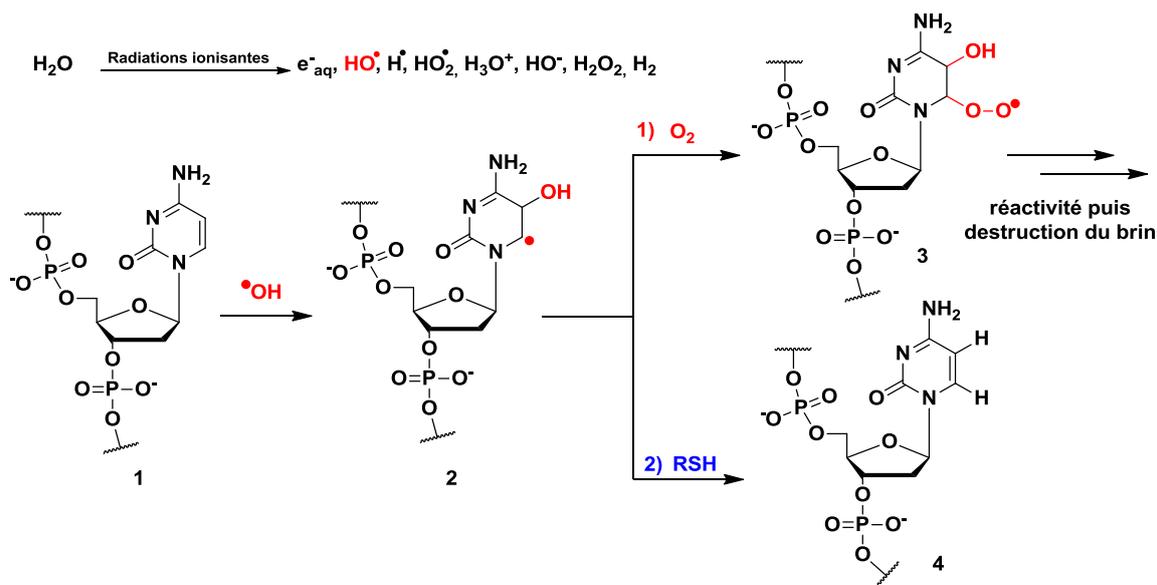


Figure 5 : Mécanisme de radiation indirect de L'ADN *via* les produits issus de la radiolyse de l'eau (Schéma adapté de Wang, Bamatraf et Wardman^{21,23,24})

2) Caractérisation et diagnostic de l'hypoxie

Comme discuté précédemment, les conséquences de l'hypoxie sont nombreuses au niveau moléculaire et cellulaire. Disposer d'une technique d'imagerie de l'hypoxie sensible pour la cancérologie permettrait de : 1) caractériser la nature de la tumeur, 2) aider dans le choix de la stratégie thérapeutique, 3) mieux cerner les zones à traiter (cartographie) et guider la radiothérapie 4) suivre l'efficacité des traitements, 5) évaluer la résistance.²⁵ Des essais cliniques récents ont montré que l'identification de l'hypoxie dans les tumeurs permettait d'avoir de meilleures réponses après l'adaptation des traitements comparé à une thérapie standard qui donnait même de mauvais résultats sur les tumeurs hypoxiques.²⁶

Historiquement, l'hypoxie était détectée grâce à la mesure à la pression d'oxygène ($p\text{O}_2$), *via* des électrodes implantées dans la tumeur. Cette méthode invasive n'était envisageable que sur les tumeurs facilement accessibles. Elle s'est également révélée peu reproductible en raison de l'emplacement de l'électrode choisi pour la mesure.²⁷ Les techniques d'imagerie médicales non invasives, et notamment les imageries nucléaires, ont largement été

²³ M. M. M. Bamatraf, P. O'Neill, B. S. M. Rao, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11852

²⁴ P. Wardman, *Clin. Oncol.* **2007**, *19*, 397

²⁵ J. C. Walsh, A. Lebedev, E. Aten, K. Madsen, L. Marciano, H. C. Kolb, *Antioxidants & Redox.* **2014**, *21*, 1516

²⁶ M. R. Horsman, L. S. Mortensen, J. B. Petersen, M. Busk, J. Overgaard, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2012**, *9*, 674

²⁷ C. J. Koch, S. M. Evans, *Semin. Nucl. Med.* **2015**, *45*, 163

exploitées pour le diagnostic de l'hypoxie, celles-ci devant répondre aux critères suivants^{7,28,29}

- être spécifiques de l'hypoxie
- être sensibles à la pO₂
- être reproductibles quelles que soient la taille et la nature de la tumeur
- être non invasive.

Les deux techniques d'imagerie nucléaire majeures sont la TEP (Tomographie par Emission de Positons) et la TEMP (Tomographie par Emission MonoPhotonique), qui reposent toutes les deux sur l'injection d'une molécule radioactive (traceur, radiotraceur ou radiopharmaceutique) possédant un radionucléide instable capable d'émettre suite à sa désintégration un rayonnement détectable à l'extérieur de la matière.

2.1. Tomographie par émission de positons (TEP)

La TEP met en jeu un isotope émetteur de positon (β^+). Son principe est basé sur la détection par une série de détecteurs, disposés en couronne, de deux photons gamma de 511 keV et diamétralement opposés résultant de l'annihilation du positon émis par le radionucléide avec un électron. Des images 2D et 3D peuvent être ensuite reconstituées informatiquement.²⁸ La TEP est caractérisée par une très bonne sensibilité temporelle mais une faible résolution spatiale (4-7 mm pour les imageurs cliniques, ~1.5 mm pour les imageurs précliniques).

²⁸ A. G. Rickard, G. M. Palmer, M. W. Dewhirst, *Adv. Exp. Med. Biol.* **2019**, 1136, 19

²⁹ M. M. Khalil, J. L. Tremoleda, T. B. Bayomy, W. Gsell, *Int. J. Mol. Imag.* **2011**, 796025

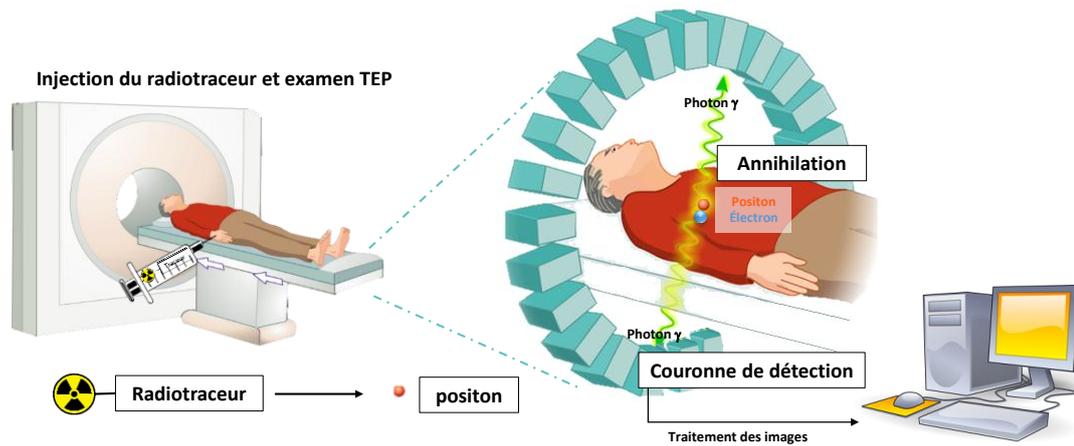


Figure 6 : Principe de l'imagerie TEP (images adaptées source CEA)

La TEP utilise en routine quasi-exclusivement le [^{18}F]FDG (fluorodésoxyglucose), un analogue fluoré du glucose, qui contient un atome radioactif, le fluor-18 (Figure 7). Le [^{18}F]FDG, « gold » standard en imagerie TEP, est un marqueur métabolique qui permet de visualiser la consommation du glucose particulièrement active dans les cellules cancéreuses.³⁰ Cependant, le [^{18}F]FDG est connu pour son manque de spécificité générant ainsi des faux positifs (en particulier dans le cas des cellules du système immunitaire impliquées dans la réaction inflammatoire).

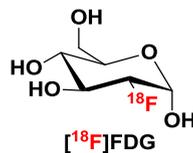


Figure 7 : [^{18}F]FDG - FluoroDesoxyGlucose

2.2. Tomographie par émission monophotonique (TEMP)

La Tomographie par émission monophotonique utilise des radioisotopes émetteurs d'un seul photon. Ces derniers traversent le corps du patient et sont détectés par la caméra équipée d'un collimateur qui ne laisse passer que les rayons parallèles, pour délimiter les points

³⁰ J. Maublant, J.-P. Vuillez, J.-N. Talbot, J. Lumbrosco, J.-P. Muratet, J.-Y. Herry, J.-C. Artus, *Bull. Cancer* **1998**, 85, 935

d'émission des photons. La caméra tourne autour du patient afin d'obtenir, après reconstitution informatique, des images 3D de l'organe étudié. Sa résolution spatiale est légèrement plus faible que celle de la TEP néanmoins, elle a un moindre coût et utilise des isotopes émetteur γ tels que : le technetium-99m et l'iode-123 souvent moins onéreux à produire et avec une demi-vie plus longue que celle des radioisotopes émetteurs de positons.

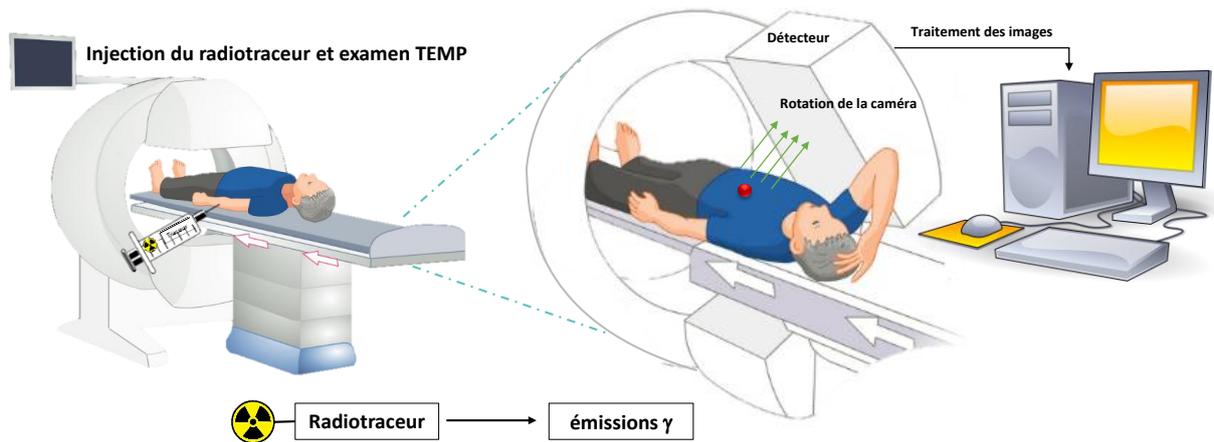


Figure 8 : Principe de l'imagerie TEMP (images adaptées source CEA)

A côté des techniques nucléaires, l'imagerie moléculaire comprend également l'imagerie optique par fluorescence ou par bioluminescence.³¹ Sa résolution spatiale, de l'ordre de 100 μm , est bien meilleure que celle de la TEP ou la TEMP. Néanmoins, elle ne permet pas une imagerie en profondeur et reste limitée aux études précliniques ou aux diagnostics de surface.

2.3. Les radioisotopes pour l'imagerie médicale

Les radioisotopes utilisés en imagerie TEMP et TEP se caractérisent par leur demi-vie, leur mode de désintégration, l'énergie des particules ou photons émis ainsi que par leur méthode de production (**Tableau 2**).

³¹ M. J. Sanderson, I. Smith, I. Parker, M. D. Bootman, *Cold Spring Harb. Protoc.* **2014**, 7179

En TEP, les radioisotopes les plus connus sont le fluor-18, le carbone-11, l'oxygène-15, l'azote-13, le gallium-68 et le cuivre-64. Le fluor-18 reste le radioisotope le plus avantageux en raison 1) de sa période de 2 h suffisamment courte pour l'innocuité vis-à-vis du patient et suffisamment longue pour développer une radiochimie et des examens d'imagerie confortables, 2) de sa pureté d'émission β^+ ($\approx 97\%$) favorable pour la sensibilité, 3) de l'énergie cinétique faible du positon émis lui conférant le parcours le plus court dans la matière avant de rencontrer l'électron et donc induisant la meilleure résolution spatiale. Le carbone-11 trouve son utilité pour le marquage de molécules ne possédant pas d'atome de fluor. Le cuivre-64 avec sa période de 12 h est souvent exploité avec succès pour le radiomarquage de radiopharmaceutiques caractérisés par des pharmacocinétiques particulièrement lentes comme les anticorps.³² Enfin, le gallium-68 est attractif en clinique par sa production à partir d'un générateur de moindre coût de fonctionnement et de plus grande disponibilité qu'un cyclotron.

Le technétium-99m utilisé en TEMP est aussi fourni à partir d'un générateur. Comme pour le gallium-68 et le cuivre-64, sa radiochimie fait appel à la chimie de complexation ou de coordination plutôt dédiée au marquage de peptides et de macromolécules. Enfin, l'iode-123 dont l'application la plus connue est celle du MIBG, est le plus souvent limité au marquage de dérivés iodoaromatiques. En effet, la liaison carbone-iode aliphatique est instable *in vivo* et des problèmes de déshalogénéation sont souvent observés.

Tableau 2 : Caractéristiques des isotopes pour la TEP et TEMP.

RADIOISOTOPE	DEMI-VIE	MODE DE DESINTEGRATION	E_{\max} (keV)	MODE DE PRODUCTION	REACTION NUCLEAIRE
^{18}F	109.7 min	β^+ 97% CE 3%	634	Cyclotron	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$
^{13}N	9.97 min	β^+ 100%	1190	Cyclotron	$^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$
^{15}O	2.1 min	β^+ 100%	1732	Cyclotron	$^{14}\text{N}(d,n)^{15}\text{O}$
^{11}C	20 min	β^+ 100%	961	Cyclotron	$^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$
^{64}Cu	12.8 h	β^+ 19% CE 41% β^- 40%	656	Cyclotron	$^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$
^{68}Ga	67.6 min	β^+ 89% CE 11%	1890	Générateur	Décroissance ^{68}Ge
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	6 h	γ 100%	141	Générateur	$^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$

³² J. Barbet, M. Bardiès, M. Bourgeois, J.-F. Chatal, M. Chérel, F. Davodeau, A. Faivre-Chauvet, J.-F. Gestin, F. Kraeber-Bodéré, *Methods Mol. Biol.* **2012**, 907, 681

^{123}I	13.2 h	γ 83%	159	Cyclotron	$^{121}\text{Sb}(\alpha, 2n)^{123}\text{I}$ $^{122}\text{Te}(d, n)^{123}\text{I}$
------------------	--------	--------------	-----	-----------	--------------------------------------------------------------------------------------

CE: capture électronique

3) Les 2-nitroimidazoles et l'hypoxie : une longue histoire

3.1. Mécanisme des 2-nitroimidazoles et spécificité pour l'hypoxie

En 1981 Chapman a décrit le marquage du misonidazole au carbone-14,³³ et au tritium-3.^{34 35} Ces traceurs, adaptés du radiosensibilisateur misonidazole, ont mis en lumière l'hétérocycle 2-nitroimidazole **6** comme motif clé pour la spécificité vis-à-vis des cellules hypoxiques.^{16,36,37,38,39} Le motif 2-nitroimidazole a été intégré à de nombreuses molécules pour créer des outils de diagnostic et de traitement de l'hypoxie

La spécificité du 2-nitroimidazole provient de la sensibilité de cet hétérocycle à l'oxydo-réduction.³⁶ En effet, il a été proposé que dans les cellules en normoxie, le groupement fonctionnel nitro est facilement réduit par un transfert d'électrons, puis facilement ré-oxydé par l'oxygène présent (**Figure 9 a**)). Le dérivé 2-nitroimidazole est alors sans cesse régénéré, pouvant ressortir (puis re-pénétrer) de la cellule. En revanche, en condition d'hypoxie, la ré-oxydation n'est pas possible. L'hétérocycle est soumis à plusieurs réductions successives par les enzymes nitroréductases conduisant aux dérivés nitroso, hydroxylamines ou amines capables de se lier de manière irréversible à divers composants et protéines cellulaires environnants. Ainsi, le dérivé initial 2-nitroimidazole n'est pas régénéré ; il reste piégé et s'accumule dans le milieu intracellulaire sous forme de métabolites de différentes natures (**Figure 9 b**)).⁴⁰ Des études couplées en histochimie et en spectroscopie de masse ont mis en évidence récemment le couplage de dérivés 2-aminoimidazoliques issus des composés parents 2-nitroimidazoliques avec le glutathion (**GS**) **7**, un tripeptide composé d'acide glutamique, de cystéine et de glycine. Le **GS 7** peut jouer le rôle de transporteur, le produit

³³ A. J. Varghese, G. F. Whitmore, *Cancer Res.* **1980**, *40*, 2165

³⁴ J. L. Born, B. R. Smith, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1983**, *20*, 429

³⁵ B. R. Smith, J. L. Born, *Int. J. Radiat. Oncol.* **1984**, *10*, 1365

³⁶ J. D. Chapman, *N. Engl. J. Med.* **1979**, *301*, 1429

³⁷ J. D. Chapman, A. J. Franko, J. Sharplin, *Br. J. Cancer* **1981**, *43*, 546

³⁸ J. D. Chapman, E. L. Engelhardt, C. C. Stobbe, R. F. Schneider, G. E. Hanks, *Radiother. Oncol.* **1998**, *46*, 229

³⁹ J. S. Rasey, Z. Grunbaum, S. Magee, N. J. Nelson, P. L. Olive, R. E. Durand, K. A. Krohn, *Radiat. Res.* **1987**, *111*, 292

⁴⁰ K. A. Krohn, J. M. Link, R. P. Mason, *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 129S

de couplage pouvant ainsi ressortir de la cellule.^{36,37} Ce couplage est important car il relativise le mécanisme des 2-nitroimidazoles initialement admis impliquant l'accumulation des 2-nitroimidazoles modifiés dans les cellules hypoxiques.

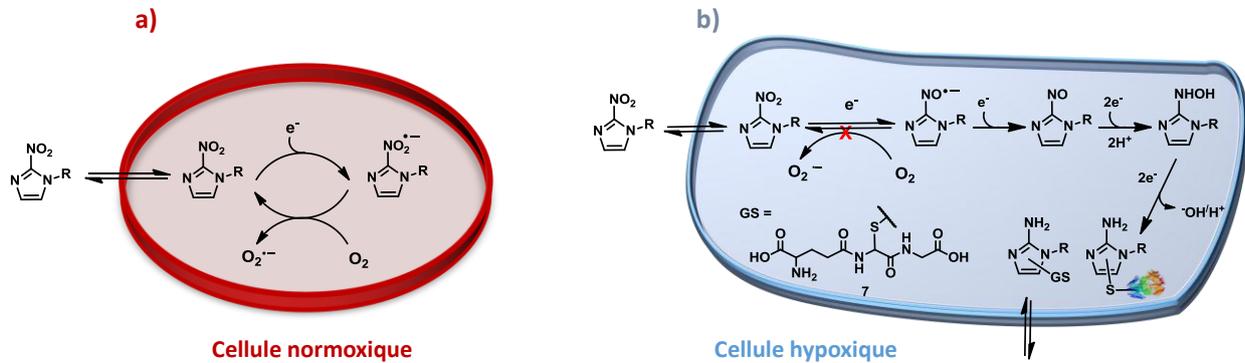


Figure 9 : Mécanisme d'action des 2-nitroimidazoles au sein a) d'une cellule normoxique. b) d'une cellule hypoxique.

3.2. Les nitroimidazoles pour la RT

Pour rappel, le manque d'oxygène (nécessaire à la création de radicaux) est une des causes de la diminution de l'effet létal de la radiothérapie (partie 1.2.). Pour pallier ce problème, différentes stratégies sont adoptées telles que l'augmentation locale de la dose de rayons ou la réoxygénation locale. Les radiosensibilisateurs sont des molécules qui permettent de rendre les cellules tumorales plus sensibles aux radiations tout en contribuant à endommager leur ADN (phénomène de potentialisation).

Les radiosensibilisateurs les plus connus sont le **misonidazole**,^{41,42,43} **l'étanidazole**⁴⁴ et le **nimorazole**⁴⁵ (Figure 10). Leur efficacité en tant que radiosensibilisateur, prouvée sur des modèles murins, est controversée chez humain avec des problèmes de dose et de toxicité neurologique. Néanmoins le nimorazole qui contient un cycle 5-nitroimidazole, est utilisé en phase 2 au Danemark en complément de la radiothérapie.⁴⁶ Le mécanisme détaillé restant

⁴¹ J. D. Chapman, K. Baer, J. Lee, *Cancer Res.* **1983**, *43*, 1523

⁴² A. J. Franko, *Int. J. Radiat. Oncol.* **1986**, *12*, 1195

⁴³ A. J. Franko, J. D. Chapman, *Br. J. Cancer* **1982**, *45*, 694

⁴⁴ P. Webb, M. D. Threadgill, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1990**, *28*, 265

⁴⁵ J. Overgaard, M. Overgaard, A. R. Timothy, *Br. J. Cancer* **1983**, *48*, 27

⁴⁶ L.-B.-A. Tran, A. Bol, D. Labar, T.-T. Cao-Pham, B. Jordan, V. Grégoire, B. Gallez, *Radiotherapy & Oncology*. **2015**, *114*, 189

toujours inconnu (celui-ci étant toutefois basé sur la capacité des nitroimidazoles à former des espèces radicalaires permettant de fixer les lésions radioinduites au niveau de l'ADN, le design de nouvelles molécules plus efficaces reste difficile.⁴⁷

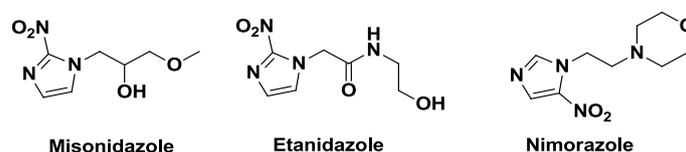


Figure 10 : Radiosensibilisateurs nitroimidazole connus

La borothérapie, ou BNCT (Boron Neutron Capture Therapy), proposée par Locher en 1936, consiste en l'injection d'un composé boré s'accumulant de manière spécifique dans les cellules tumorales. Ces cellules sont par la suite, exposées à un bombardement de neutrons.^{48,49} L'isotope ^{11}B absorbe ces neutrons et se divise en particules d'hélium et de lithium. Ces particules libèrent un rayonnement γ de haute énergie au plus proche de la zone à traiter. Dans les années 90, les groupes de Wilbur,^{50,51} Wood^{48,52} et Masunaga^{53,54} ont développé des dérivés borés couplés au cycle nitroimidazole tels que le **TX-2060** et le composé **8** en utilisant le cycle borocaptate de sodium (**BSH**) connu pour libérer de manière localisée un rayonnement alpha conduisant à la mort des cellules cancéreuses (Figure 11).

⁴⁷ S. Pandeti, L. Feketeová, T. J. Reddy, H. Abdoul-Carime, B. Farizon, M. Farizon, T. D. Märk, *RSC Adv.* **2017**, 7, 45211

⁴⁸ W. G. Woods, *Environ. Health Perspect.* **1994**, 102, 5

⁴⁹ J. A. Coderre, G. M. Morris, *Radiat. Res.* **1999**, 151, 1

⁵⁰ D. S. Wilbur, D. K. Hamlin, J. C. Livesey, R. R. Srivastava, G. E. Laramore, T. W. Griffin, *Nucl. Med. Biol.* **1994**, 21, 601

⁵¹ D. H. Swenson, B. H. Laster, R. L. Metzger, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1540

⁵² P. J. Wood, M. Scobie and M. D. Thread, *Int. J. Radiat. Biol.* **1996**, 70, 587

⁵³ S. Masunaga, H. Nagasawa, M. Hiraoka, Y. Sakurai, Y. Uto, H. Hori, K. Nagata, M. Suzuki, A. Maruhashi, Y. Kinashi, K. Ono, *Appl. Radiat. Isot.* **2004**, 61, 953

⁵⁴ S.-I. Masunaga, H. Nagasawa, M. Hiraoka, Y. Sakurai, Y. Uto, H. Hori, K. Nagata, M. Suzuki, A. Maruhashi, Y. Kinashi, K. Ono, *Anticancer Res.* **2004**, 24, 2975

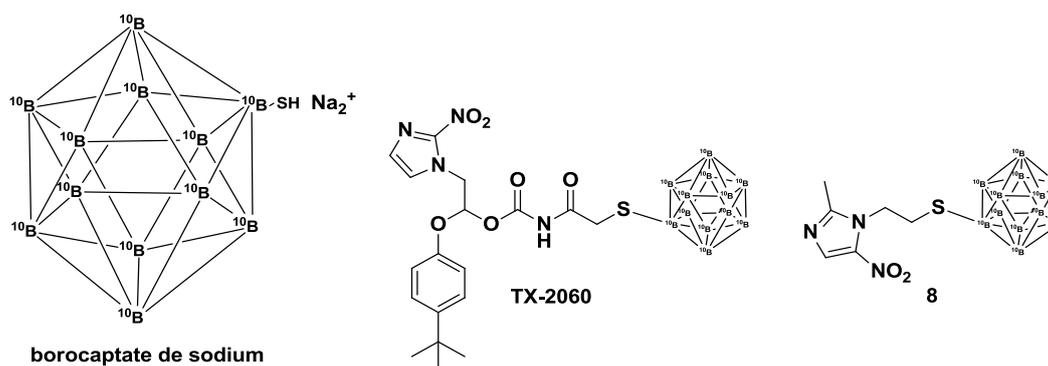


Figure 11 : Composés borés pour la radiothérapie

3.3. Les 2-nitroimidazoles dans les prodrogues

Les prodrogues sont des molécules dont l'activité biologique initiale n'est pas exprimée, leur efficacité est révélée après réactions biologiques ou métabolisation dans l'organisme. Ces molécules sont conçues pour « libérer » la partie active de la prodrogue au niveau de la partie ciblée. La bioconversion fait intervenir divers mécanismes comme l'activité enzymatique ou l'hydrolyse.

L'Evofosfamide (ou **TH302**) impliqué dans de nombreux essais cliniques dont un essai en phase 3 pour le traitement du sarcome, est une prodrogue contenant le cycle 2-nitroimidazole, celui-ci jouant le rôle d'agent de ciblage des cellules hypoxiques.^{55,56,57} Le **TH302** permet la libération dans les cellules hypoxiques de la cytotoxine bromo-isophosphoramidate (**Br-IMP**), un agent alkylant de l'ADN composé **10**, contribuant à sa destruction (**Figure 12**).

⁵⁵ J. D. Sun, Q. Liu, D. Ahluwalia, D. J. Ferraro, Y. Wang, D. Jung, M. D. Matteucci, C. P. Hart, *Cancer Biol. Ther.* **2016**, *17*, 371

⁵⁶ C. R. Hong, B. D. Dickson, J. K. Jaiswal, F. B. Pruijn, F. W. Hunter, M. P. Hay, K. O. Hicks, W. R. Wilson, *Biochem. Pharmacol.* **2018**

⁵⁷ R. T. H. M. Larue, L. Van De Voorde, M. Berbée, W. J. C. van Elmpt, L. J. Dubois, K. M. Panth, S. G. J. A. Peeters, A. Claessens, W. M. J. Schreurs, M. Nap, F. A. R. M. Warmerdam, F. L. G. Erdkamp, M. N. Sosef, P. Lambin, *BMC Cancer* **2016**, *16*, 644

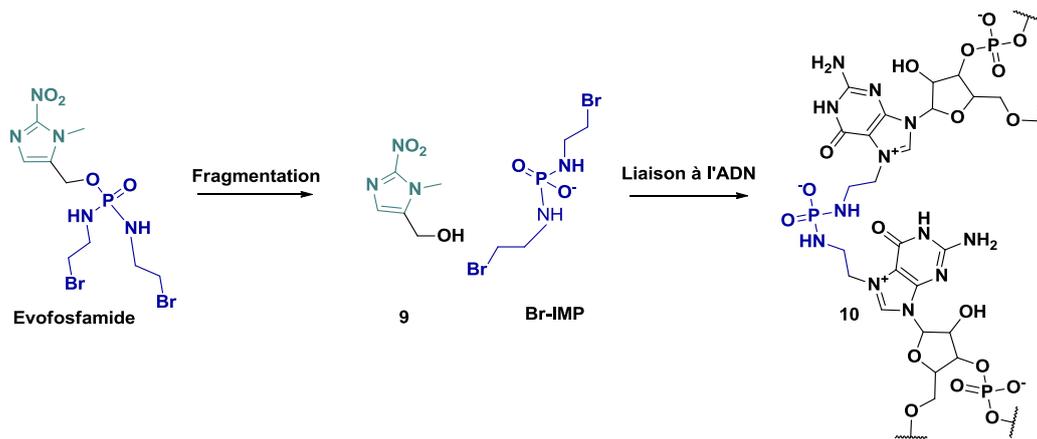


Figure 12 : Mécanisme d'action de l'Evofosfamide

3.4. Les 2-nitroimidazoles pour l'histologie

L'histologie est l'étude des tissus biologiques et utilise des colorants pour révéler des tissus *via* une réaction ou un processus biologique connu. L'immunohistologie utilise les anticorps pour se lier de manière spécifique aux antigènes ciblés. Cette méthode couramment utilisée en oncologie par les anatomopathologistes, est un bon moyen de corréliser les résultats *in vitro* avec ceux obtenus *in vivo* en TEP (voir les sondes radioactives spécifiques de l'hypoxie, partie 3.6.b). L'histologie permet une sensibilité de détection de l'hypoxie inférieure à 1 mmHg et donne des informations sur la distribution des zones plus ou moins hypoxiques au niveau cellulaire. Néanmoins les études histologiques requièrent une biopsie ou résection, des prélèvements invasifs pour le patient et peut également manquer de reproductibilité en fonction de la localisation du tissu prélevé et de l'hétérogénéité de l'ensemble du tissu.

Le **pimonidazole** développé par Raleigh^{58,59} et l'**EF5** développé par Koch⁶⁰ (**Figure 13**) sont couramment utilisés en histologie. Ils présentent tous les deux des sensibilités de détection pour une pO_2 d'environ 10 mmHg. Les adduits résultants des réductions successives (antigène) et couplage sont révélés grâce aux anticorps spécifiques fluorescents ou

⁵⁸ J. Raleigh, G. Miller, A. Franko, C. Koch, A. Fuciarelli, D. Kelly, *Br. J. Cancer* **1987**, 56, 395

⁵⁹ M. A. Varia, D. P. Calkins-Adams, L. H. Rinker, A. S. Kennedy, D. B. Novotny, W. C. Fowler, J. A. Raleigh, *Gynecol. Oncol.* **1998**, 71, 270

⁶⁰ C. J. Koch, S. M. Evans, E. M. Lord, *Br. J. Cancer* **1995**, 72, 869

phosphorescents. Le couple **pimonidazole**/anticorps est commercialisé sous forme de kit Hypoxyprobe®.

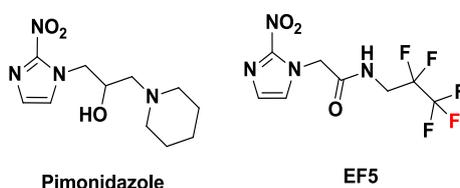


Figure 13 : Le Pimonidazoles et l'EF5

3.5. Les 2-nitroimidazoles pour la fluorescence

Comme déjà évoqué, l'imagerie optique présente l'intérêt d'avoir une haute résolution spatiale, une facilité de mise en œuvre et un affichage en temps réel. L'utilisation de la lumière dans la région du proche infrarouge (NIR I) de 700 à 900 nm, permet la faible diffusion de la lumière et limite la pénétration tissulaire sur quelques centimètres, une profondeur suffisante pour l'imagerie des petits animaux et les tumeurs superficielles.^{62,63} L'imagerie par fluorescence proche infrarouge est une technique d'imagerie non invasive et peu onéreuse mais reste limitée aux cibles de « surface » pour guider l'histologie ou la chirurgie.

Le **GPU-167** développé pour l'imagerie NIR, a été synthétisé à partir du colorant tricarbocyanine qui porte deux motifs 2-nitroimidazole.^{63,64} Les analyses *in vivo* et *ex vivo* ont montré une corrélation entre la fluorescence détectée et la présence de l'activation de HIF (**Figure 14**). En 2018, le groupe de Meng a développé la sonde bimodale **IR1048-MZ** activable en proche infrarouge (NIR II) de 1000 à 1700 nm. Cette sonde s'est également avérée efficace comme photosensibilisateur pour la photothérapie thermique (**Figure 14**).⁶⁵ En 2013, Xu *et al.* ont synthétisé la sonde **Cy-NO₂** de structure cyanine (**Figure 14**).⁶⁴

⁶² B. G. M. Youssif, K. Okuda, T. Kadonosono, O. I. A. R. Salem, A. A. M. Hayallah, M. A. Hussein, S. Kizaka-Kondoh, H. Nagasawa, *Chem. Pharm. Bull.* **2012**, *60*, 402

⁶³ K. Okuda, Y. Okabe, T. Kadonosono, T. Ueno, B. G. M. Youssif, S. Kizaka-Kondoh, H. Nagasawa, *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23*, 324

⁶⁴ K. Xu, F. Wang, X. Pan, R. Liu, J. Ma, F. Kong, B. Tang, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 2554

⁶⁵ X. Meng, J. Zhang, Z. Sun, L. Zhou, G. Deng, S. Li, W. Li, P. Gong, L. Cai, *Theranostics*, **2018**, *8*, 6025

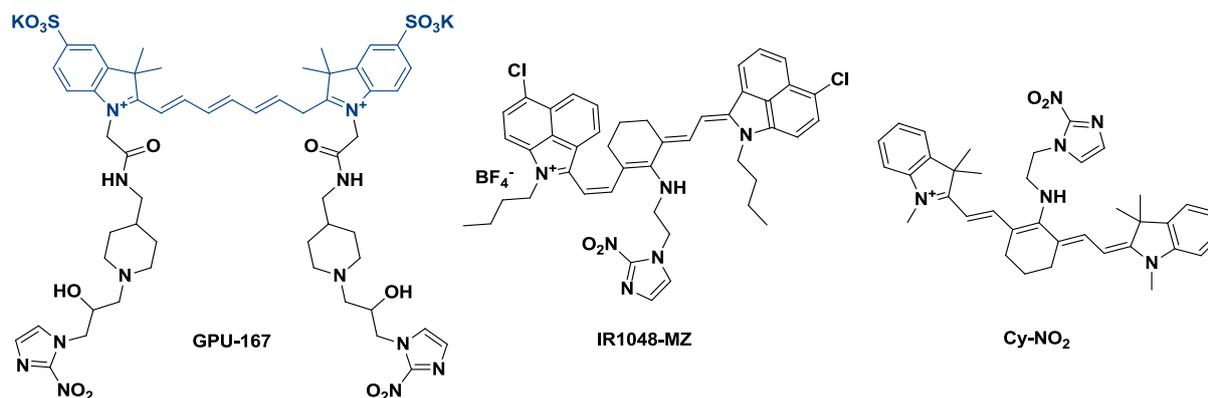


Figure 14 : Structures de sondes pour l'imagerie NIR

3.6. Les 2-nitroimidazoles pour l'imagerie nucléaire

3.6.a) Radiotraceurs SPECT

- Avec du technétium

Le $^{99m}\text{TcO}(\text{PnAO-1-(2-nitroimidazole)})$ également appelé **BMS-181321**, est le premier nitroimidazole marqué au Tc-99m. Il a été développé par Rumsey en 1993 et Linder en 1994 et a montré une accumulation spécifique dans les régions hypoxiques du myocarde.^{66,67} En 2000, Melo et son équipe ont développé une seconde-génération de dérivés avec le **BRU59-21** plus stable que son prédécesseur **BMS-181321**.⁶⁸ Le **HL91**, réduit à la structure complexée sans motif 2-nitroimidazole, utilisé au départ comme contrôle négatif, a montré une spécificité inattendue envers les cellule ; s hypoxiques (**Figure 15**).^{69,70,71}

⁶⁶ J. R. Ballinger, J. W. M. Kee, A. M. Rauth, *J. Nucl. Med.* **1996**, 37, 1023

⁶⁷ Ng Chin K., Sinusas Albert J., Zaret Barry L., Soufer Robert, *Circulation*, **1995**, 92, 1261

⁶⁸ T. Melo, J. Duncan, J. R. Ballinger, A. M. Rauth, *J. Nucl. Med.* **2000**, 41, 169

⁶⁹ G. J. R. Cook, S. Houston, S. F. Barrington, I. Fogelman, *J. Nucl. Med.* **1998**, 39, 99

⁷⁰ L. Li, J. Yu, L. Xing, K. Ma, H. Zhu, H. Guo, X. Sun, J. Li, G. Yang, W. Li, J. Yue, B. Li, *Am. J. Clin. Oncol.* **2006**, 29, 628

⁷¹ Okada Robert D., Johnson Gerald, Nguyen Kiem N., Edwards Barbara, Archer Colin M., Kelly James D., *Circulation* **1997**, 95, 1892

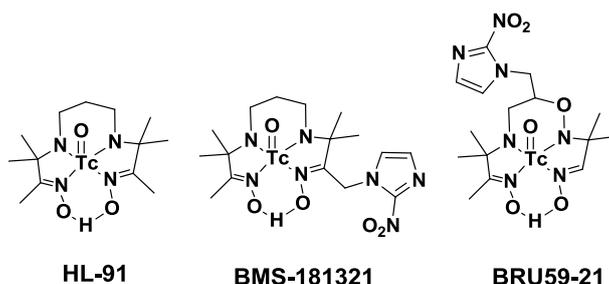


Figure 15 : Radiotraceurs technetiés TEMP de l'hypoxie.

- Les dérivés iodés

Le iodoazomycine arabinoside marqué à l'iode-123 ($[^{123}\text{I}]\text{IAZA}$) présente la particularité de posséder l'atome d'iode en position aliphatique. Sa synthèse, développée par Mannan en 1991 et décrite par Parliament en 1992, met en jeu une substitution nucléophile du groupement partant tosylate avec $[^{123}\text{I}]\text{NaI}$ (Figure 16). Plusieurs autres analogues iodés, marqués à l'iode-123, 124, 125 ou 131, tels que le **IAZGP** décrit par Suehiro en 2009, ont été synthétisés de la même manière que le **IAZA**.⁷² Les composés iodés radioactifs souffrent de déshalogénéation. Par ailleurs, la demi-vie de l'iode-123 de plus de 13 h augmente les délais d'acquisition et la dosimétrie des patients.^{73,74}

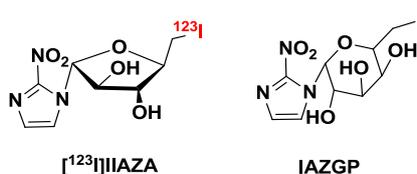


Figure 16 : Radiotraceurs iodés pour l'imagerie de l'hypoxie

3.6.b) Radiotraceurs TEP

⁷² G. Reischl, D. S. Dorow, A. Katsifis, P. Roselt, D. Binns, R. J. Hicks, *J Pharm Pharmaceut Sci* **2007**, 9

⁷³ M. Suehiro, P. Burgman, S. Carlin, S. Burke, G. Yang, O. Ouerfelli, C. Oehler-Janne, J. O'Donoghue, C. Ling, J. Humm, *Nucl. Med. Biol.* **2009**, 36, 477

⁷⁴ J. A. O'Donoghue, J. G. Guillem, H. Schöder, N. Y. Lee, C. R. Divgi, J. A. Ruby, J. L. Humm, S. A. Lee-Kong, E. M. Burnazi, S. Cai, S. D. Carlin, T. Leibold, P. B. Zanzonico, C. C. Ling, *EJNMMI Res.* **2013**, 3, 42

- Les dérivés du gallium-68

Le groupe de Hoigebazar a développé des dérivés 2-nitroimidazole marqués au gallium-68 possédant une structure chélatante de type NOTA/DOXA (composés **11**, **12**, **13**, **14** **Figure 17**). Ces composés ont montré une accumulation spécifique sur un modèle murin hypoxique après seulement 30-60 min post injection.^{75,76,77} Néanmoins les ratios tumeur/muscle restent faibles (1.6, 2.3) et les deux composés présentent une forte captation dans le foie et les reins.

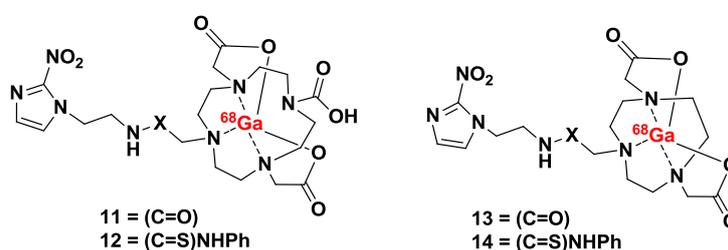


Figure 17 : Radiotraceurs 2-nitroimidazole marqués au gallium-68

- Les dérivés fluorés

Plus d'une trentaine de dérivés 2-nitroimidazoliques ont été marqués au fluor-18.⁷⁸ tels que le [¹⁸F]FMISO, le [¹⁸F]FAZA, le [¹⁸F]HX4, le [¹⁸F]FETNIM, le [¹⁸F]FRP170, le [¹⁸F]DIFA, l' [¹⁸F]EF1, l' [¹⁸F]EF5, le [¹⁸F]FAZAL, le [¹⁸F]2NIm, le [¹⁸F]FPN, le [¹⁸F]FON, le [¹⁸F]3-NTR, le [¹⁸F]NEFT, le [¹⁸F]NEFA, le [¹⁸F]TFMISO, le [¹⁸F]AMBF₃-Bu-NI, le [¹⁸F]NPFT et les molécules [¹⁸F]15,⁷⁹ [¹⁸F]16, [¹⁸F]17, [¹⁸F]18, [¹⁸F]19, [¹⁸F]20, [¹⁸F]21, [¹⁸F]22, [¹⁸F]23, [¹⁸F]24, [¹⁸F]25, [¹⁸F]26, [¹⁸F]27, [¹⁸F]28, [¹⁸F]29, [¹⁸F]30 et [¹⁸F]31. Ils se différencient par leur chaîne latérale plus ou moins hydrophile (**Figure 18**).

⁷⁵ L. Hoigebazar, J. M. Jeong, M. K. Hong, Y. J. Kim, J. Y. Lee, D. Shetty, Y.-S. Lee, D. S. Lee, J.-K. Chung, M. C. Lee, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2176

⁷⁶ L. Hoigebazar, J. M. Jeong, J.-Y. Lee, D. Shetty, B. Y. Yang, Y.-S. Lee, D. S. Lee, J.-K. Chung, M. C. Lee, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3155

⁷⁷ L. Hoigebazar, J. M. Jeong, S. Y. Choi, J. Y. Choi, D. Shetty, Y.-S. Lee, D. S. Lee, J.-K. Chung, M. C. Lee, Y. K. Chung, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6378

⁷⁸ D. Shetty, J.-M. Jeong, H. Shim, *Int. J. Mol. Imaging* **2012**, *23*

⁷⁹ F. Yamamoto, H. Oka, S. Antoku, Y. Ichiya, K. Masuda, M. Maeda, *Biol. Pharm. Bull.* **1999**, *22*, 590

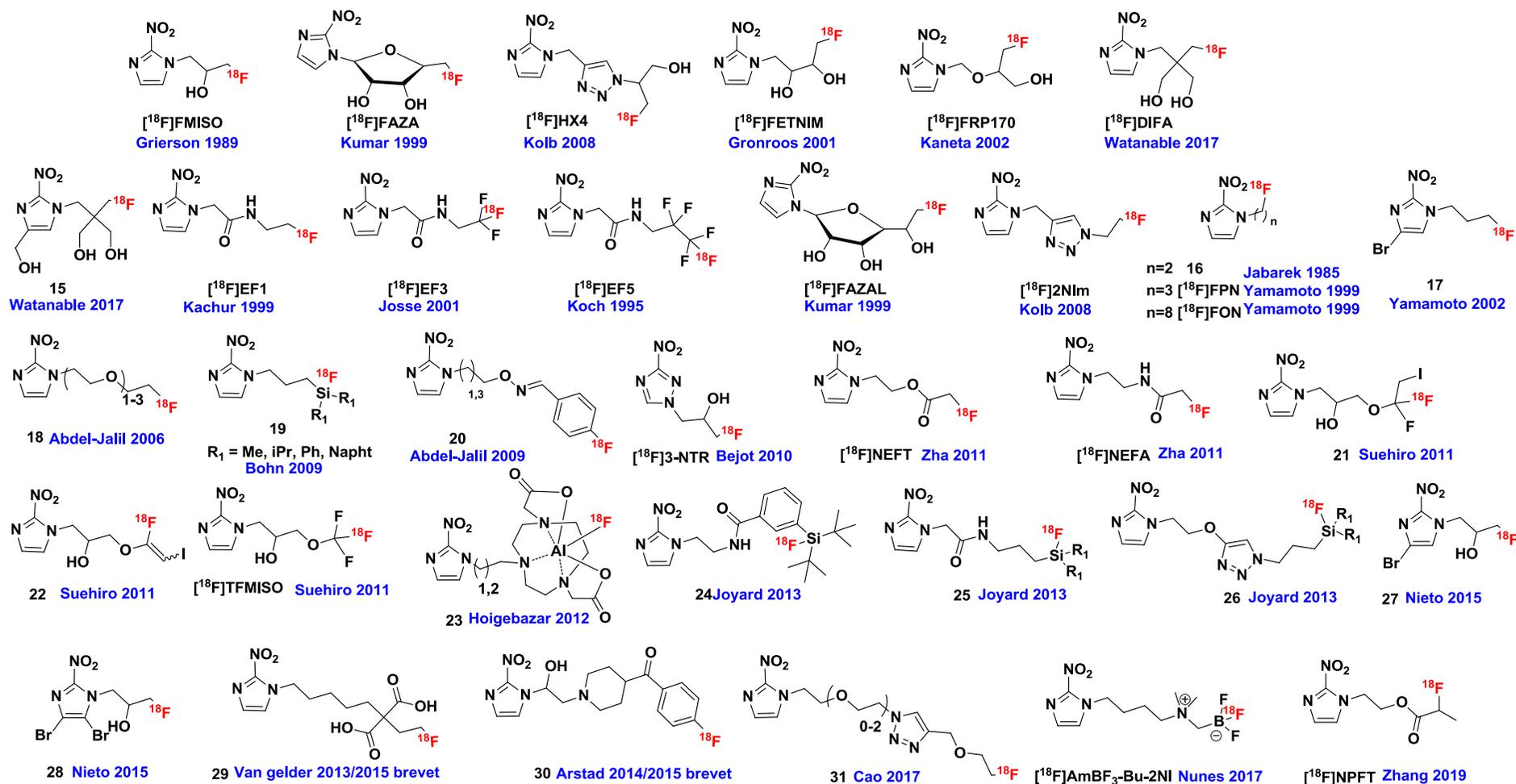
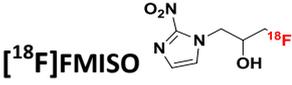


Figure 18 : Radiotraceurs 2-nitroimidazole marqués au fluor-18.

Les radiotraceurs les plus utilisés à ce jour ou identifiés comme les plus efficaces ou prometteurs sont le [^{18}F]FMISO, le [^{18}F]FAZA, le [^{18}F]HX4, le [^{18}F]FETNIM, le [^{18}F]FRP170 et le [^{18}F]DIFA développé dernièrement. La comparaison directe de ces différents radiotraceurs pour le diagnostic de l'hypoxie reste compliquée en raison des nombreux paramètres expérimentaux différents selon les protocoles tels que la nature de la tumeur étudiée, le protocole d'injection et d'anesthésie. Néanmoins le **Tableau 3** résume une partie des résultats des études cliniques ^{4,7,80} obtenus dans le cas des cancers du poumon, du cerveau et de la tête et cou.

Tableau 3 : Résumé des valeurs des ratio moyens Tumeur sur organe de référence pour les différents radiotraceurs hypoxie pour les études cliniques.

Radiotraceur	Cancer concerné	Ratio Tumeur sur organe de référence	Références bibliographiques
 [^{18}F]FMISO	Poumon	2.4±0.6	81,82
	Cerveau	2.0±0.8	83,84,85,86,87,88,89
	Tête et cou	1.5±0.3	90,91,92,93,94

⁸⁰ A. Challapalli, L. Carroll, E. O. Aboagye, *Clin. Transl. Imaging* **2017**, 5, 225

⁸¹ M. H. Cherk, S. S. Foo, A. M. T. Poon, S. R. Knight, C. Murone, A. T. Papenfuss, J. I. Sachinidis, T. H. C. Saunder, G. J. O'Keefe, A. M. Scott, *J. Nucl. Med.* **2006**, 47, 1921

⁸² B. Gagel, P. Reinartz, C. Demirel, H. J. Kaiser, M. Zimny, M. Piroth, M. Pinkawa, S. Stanzel, B. Asadpour, K. Hamacher, H. H. Coenen, U. Buell, M. J. Eble, *BMC Cancer* **2006**, 6, 51

⁸³ M. Bruehlmeier, U. Roelcke, P. A. Schubiger, S. M. Ametamey, **2004**, 10

⁸⁴ K. R. Swanson, G. Chakraborty, C. H. Wang, R. Rockne, H. L. P. Harpold, M. Muzi, T. C. H. Adamsen, K. A. Krohn, A. M. Spence, *J. Nucl. Med.* **2009**, 50, 36

⁸⁵ E. R. Gerstner, Z. Zhang, J. R. Fink, M. Muzi, L. Hanna, E. Greco, M. Prah, K. M. Schmainda, A. Mintz, L. Kostakoglu, E. A. Eikman, B. M. Ellingson, E.-M. Ratai, A. G. Sorensen, D. P. Barboriak, D. A. Mankoff, for the ACRIN 6684 Trial Group, *Clin. Cancer Res.* **2016**, 22, 5079

⁸⁶ L. Bekaert, S. Valable, E. Lechapt-Zalcman, K. Ponte, S. Collet, J.-M. Constans, G. Levallet, K. Bordji, E. Petit, P. Branger, E. Emery, A. Manrique, L. Barré, M. Bernaudin, J.-S. Guillaumo, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2017**, 44, 1383

⁸⁷ T. Toyonaga, S. Yamaguchi, K. Hirata, K. Kobayashi, O. Manabe, S. Watanabe, S. Terasaka, H. Kobayashi, N. Hattori, T. Shiga, Y. Kuge, S. Tanaka, Y. M. Ito, N. Tamaki, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2017**, 44, 611

⁸⁸ A. Chakhoyan, J.-S. Guillaumo, S. Collet, F. Kauffmann, N. Delcroix, E. Lechapt-Zalcman, J.-M. Constans, E. Petit, E. T. MacKenzie, L. Barré, M. Bernaudin, O. Touzani, S. Valable, *Sci. Rep.* **2017**, 7, 10210

⁸⁹ C. Preibisch, K. Shi, A. Kluge, M. Lukas, B. Wiestler, J. Göttler, J. Gempt, F. Ringel, M. A. Jaber, J. Schlegel, B. Meyer, C. Zimmer, T. Pyka, S. Förster, *NMR Biomed.* **2017**, 30, e3775

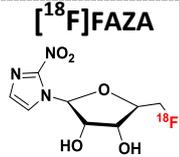
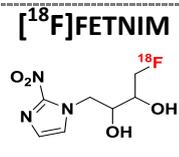
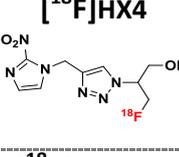
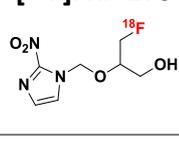
⁹⁰ B. Gagel, P. Reinartz, E. DiMartino, M. Zimny, M. Pinkawa, P. Maneschi, S. Stanzel, K. Hamacher, H. H. Coenen, M. Westhofen, U. Büll, M. J. Eble, *Strahlenther. Onkol.* **2004**, 180, 616

⁹¹ J. G. Rajendran, D. L. Schwartz, J. O'Sullivan, L. M. Peterson, P. Ng, J. Scharnhorst, J. R. Grierson, K. A. Krohn, *Clin. Cancer Res.* **2006**, 12, 5435

⁹² D. Thorwarth, S.-M. Eschmann, F. Holzner, F. Paulsen, M. Alber, *Radiother. Oncol.* **2006**, 80, 151

⁹³ M. Zimny, B. Gagel, E. DiMartino, K. Hamacher, H. H. Coenen, M. Westhofen, M. Eble, U. Buell, P. Reinartz, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2006**, 33, 1426.

⁹⁴ M. Grkovski, H. Schöder, N. Y. Lee, S. D. Carlin, B. J. Beattie, N. Riaz, J. E. Leeman, J. A. O'Donoghue, J. L. Humm, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2017**, 58, 1072

	Poumon	2.0±0.3	95,96,97
	Cerveau	4.2±0.2	96
	Tête et cou	1.8±0.5	96,98
	Poumon	2.0±0.2	99,100
	Cerveau	NA	NA
	Tête et cou	1.30.3	101,102,103
	Poumon	1.65±0.4	104
	Cerveau	NA	NA
	Tête et cou	1.9±0.3	104,105
	Poumon	1.8±0.5	106
	Cerveau	1.9±0.3	107, 108
	Tête et cou	NA	NA

Le **[¹⁸F]FMISO** (¹⁸F-fluoromisonidazole) reste le radiotracteur de référence. Il a été exploité dans plus de 80 essais cliniques impliquant la plupart des cancers hypoxiques. Que ce soit en imagerie clinique ou préclinique, le **[¹⁸F]FMISO** est caractérisé par une clairance très lente induisant des délais d'acquisition post-injection de 2 à 3 heures pour assurer la visibilité des

⁹⁵ A. Savi, E. Incerti, F. Fallanca, V. Bettinardi, F. Rossetti, C. Monterisi, A. Compierchio, G. Negri, P. Zannini, L. Gianolli, M. Picchio, *J. Nucl. Med.* **2017**, *58*, 1224

⁹⁶ E. J. Postema, A. J. B. McEwan, T. A. Riauka, P. Kumar, D. A. Richmond, D. N. Abrams, L. I. Wiebe, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2009**, *36*, 1565

⁹⁷ E. Incerti, P. Mapelli, M. Vuozzo, F. Fallanca, C. Monterisi, V. Bettinardi, R. M. Moresco, L. Gianolli, M. Picchio, *Clin. Transl. Imaging* **2017**, *5*, 427

⁹⁸ L. S. Mortensen, J. Johansen, J. Kallehauge, H. Primdahl, M. Busk, P. Lassen, J. Alsner, B. S. Sørensen, K. Toustrup, S. Jakobsen, J. Petersen, H. Petersen, J. Theil, M. Nordmark, J. Overgaard, *Radiother. Oncol. J. Eur. Soc. Ther. Radiol. Oncol.* **2012**, *105*, 14

⁹⁹ M. Hu, L. Xing, D. Mu, W. Yang, G. Yang, L. Kong, J. Yu, *Clin. Nucl. Med.* **2013**, *38*, 591

¹⁰⁰ L. Li, M. Hu, H. Zhu, W. Zhao, G. Yang, J. Yu, *Clin. Lung Cancer* **2010**, *11*, 335

¹⁰¹ K. Lehtiö, V. Oikonen, T. Grönroos, O. Eskola, K. Kalliokoski, J. Bergman, O. Solin, R. Grénman, P. Nuutila, H. Minn, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2001**, *42*, 1643

¹⁰² K. Lehtiö, O. Eskola, T. Viljanen, V. Oikonen, T. Grönroos, L. Sillanmäki, R. Grénman, H. Minn, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **2004**, *59*, 971

¹⁰³ T. J. Grönroos, K. Lehtiö, K.-O. Söderström, P. Kronqvist, J. Laine, O. Eskola, T. Viljanen, R. Grénman, O. Solin, H. Minn, *BMC Cancer* **2014**, *14*, 876

¹⁰⁴ C. M. L. Zegers, W. van Elmpt, R. Wierts, B. Reymen, H. Sharifi, M. C. Öllers, F. Hoebbers, E. G. C. Troost, R. Wanders, A. van Baardwijk, B. Brans, J. Eriksson, B. Windhorst, F. M. Mottaghy, D. De Ruyscher, P. Lambin, *Radiother. Oncol. J. Eur. Soc. Ther. Radiol. Oncol.* **2013**, *109*, 58

¹⁰⁵ L. Chen, Z. Zhang, H. C. Kolb, J. C. Walsh, J. Zhang, Y. Guan, *Nucl. Med. Commun.* **2012**, *33*, 1096

¹⁰⁶ T. Kaneta, Y. Takai, R. Iwata, T. Hakamatsuka, H. Yasuda, K. Nakayama, Y. Ishikawa, S. Watanuki, S. Furumoto, Y. Funaki, E. Nakata, K. Jingu, M. Tsujitani, M. Ito, H. Fukuda, S. Takahashi, S. Yamada, *Ann. Nucl. Med.* **2007**, *21*, 101

¹⁰⁷ I. Shibahara, T. Kumabe, M. Kanamori, R. Saito, Y. Sonoda, M. Watanabe, R. Iwata, S. Higano, K. Takanami, Y. Takai, T. Tominaga, *J. Neurosurg.* **2010**, *113*, 358

¹⁰⁸ T. Beppu, K. Terasaki, T. Sasaki, S. Fujiwara, H. Matsuura, K. Ogasawara, K. Sera, N. Yamada, N. Uesugi, T. Sugai, K. Kudo, M. Sasaki, S. Ehara, R. Iwata, Y. Takai, *Mol. Imaging Biol.* **2014**, *16*, 127

zones hypoxiques Ce temps d'attente est un sérieux défaut pour une prise en charge confortable du patient et de sa dosimétrie. La relative lipophilie du [^{18}F]FMISO (estimée par la valeur du logP de l'ordre de 0.6), avancée comme un avantage pour la pénétration des membranes, en fait aussi sa limitation car elle contribue à la clairance lente dans les tissus sains et de surcroît à la faible spécificité pour les zones hypoxiques. Par ailleurs, le [^{18}F]FMISO présente un taux de métabolisation de l'ordre de 25 % chez l'homme et présente une élimination hépatobiliaire importante.

Les radiotraceurs développés par la suite ([^{18}F]FAZA, [^{18}F]HX4, [^{18}F]FETNIM, [^{18}F]FRP170 et [^{18}F]DIFA) sont caractérisés par une plus grande hydrophilie (logP/logD compris entre 0.17 et -0.69). Ils s'éliminent prioritairement par voie rénale, un atout pour la dosimétrie du patient en diminuant la charge radiologique.^{109,110,111} Dans tous les cas, les résultats d'imagerie in vivo sont quasiment similaires à ceux du [^{18}F]FMISO.

Différentes publications comparant différents radiotraceurs en études préclinique et clinique ont été publiées.^{7,112,113} En 2015, Peeters *et al.* comparent le [^{18}F]FMISO, le [^{18}F]FAZA et le [^{18}F]HX4 sur un modèle murin de rhabdomyosarcome. Dans tous les cas les ratios tumeur/muscle maximum ont été obtenus 3 h pi et sont compris entre 2 à 3 (Figure 19). Le [^{18}F]HX4, le composé le plus hydrophile, conduit au meilleur ratio, laissant penser que l'hydrophilie peut jouer un rôle sur l'imagerie (valeurs des contrastes).

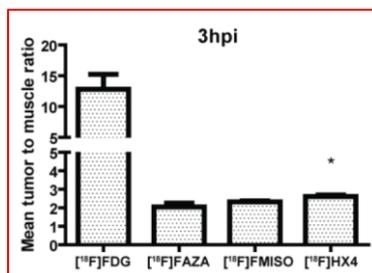


Figure 19 : comparaison des ratios tumeur sur muscle du [^{18}F]FDG, [^{18}F]FAZA, [^{18}F]FMISO et [^{18}F]HX4 (Peeters *et al.* 2015)¹¹²

¹⁰⁹ D. Sorger, M. Patt, P. Kumar, L. I. Wiebe, H. Barthel, A. Seese, C. Dannenberg, A. Tannapfel, R. K. Osama Sabri, *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30*, 317

¹¹⁰ L. L. Lin, A. Silvonemi, J. B. Stubbs, R. Rengan, S. Suilamo, O. Solin, C. Divgi, O. Eskola, J. M. Sorger, M. G. Stabin, A. Kachur, S. M. Hahn, T. J. Grönroos, S. Forsback, S. M. Evans, C. J. Koch, H. Minn, *Cancer Biother. Radiopharm.* **2012**, *27*, 412

¹¹¹ M. Piert, H.-J. Machulla, M. Picchio, G. Reischl, S. Ziegler, P. Kumar, H.-J. Wester, R. Beck, A. J. B. McEwan, L. I. Wiebe, M. Schwaiger, *J. Nucl. Med.* **2005**, *46*, 106

¹¹² S. G. J. A. Peeters, C. M. L. Zegers, N. G. Lieuwes, W. van Elmpt, J. Eriksson, G. A. M. S. van Dongen, L. Dubois, P. Lambin, **2015**, *91*, 351

¹¹³ L. J. Wack, D. Mönnich, W. van Elmpt, C. M. L. Zegers, E. G. C. Troost, D. Zips, D. Thorwarth, *Acta Oncol.* **2015**, *54*, 1370

4) Les marqueurs d'hypoxie non nitroimidazole

4.1. Cuivre ATSM pour la PET

Le [^{64}Cu]-ATSM (Cu-diacétyl-bis(N-méthylthiosemicarbazone), a été développé par le groupe de Fujibayashi en 1999.¹¹⁴ Sa spécificité envers l'hypoxie dépend de son potentiel d'oxydo-réduction et de la réaction de réduction intracellulaire de Cu (II) en Cu (I). Néanmoins, ce mécanisme d'action reste encore incertain.¹¹⁵ La lipophilie ($\log P$: 1.48) du [^{64}Cu]-ATSM, ainsi que son faible poids moléculaire et sa planéarité lui permettraient de passer les membranes facilement. Son action très rapide, permet une imagerie 1 h pi, avec de bons contrastes et permet une utilisation pour des études cliniques.¹¹⁶ Ce radiotracer pour le diagnostic de l'hypoxie offre une facilité d'utilisation (absence de radiosynthèse). Cependant sa disponibilité reste limitée en raison du faible nombre de sites de production du cuivre-64. Des analogues, moins efficaces, ont également été développés faisant varier les substituants des amines ou la position R (**Figure 20**).¹¹⁷

Le [^{64}Cu]-ATSM a notamment été comparé au [^{18}F]FMISO,¹¹⁸ les deux radiotraceurs ont montré une efficacité certaine pour l'imagerie TEP de l'hypoxie. Le ^{64}Cu -ATSM, est apparu meilleur en terme d'imagerie et surpasse le [^{18}F]FMISO qui a une trop lente accumulation associée à de faible contrastes.

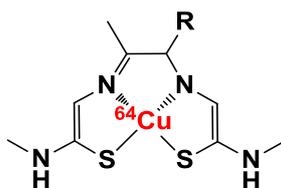


Figure 20 : Structure du Cuivre 64 chélaté par : R = Me [^{64}Cu]ATSM ; R = H [^{64}Cu]PTSM.

4.2. Marquage de l'anhydrase carbonique CAIX

¹¹⁴ Y. Fujibayashi, H. Taniuchi, Y. Yonekura, H. Ohtani, J. Konishi, A. Yokoyama, *J. Nucl. Med.* **1997**, *38*, 1155

¹¹⁵ A. L. Vavere, *Dalton Trans.*, **2007**, 4893

¹¹⁶ K. A. Wood, W. L. Wong, M. I. Saunders, *Nucl. Med. Biol.* **2008**, *35*, 393

¹¹⁷ J. L. J. Dearling, P. J. Blower, *ChemComm.* **1998**, 2531

¹¹⁸ M. Bourgeois, H. Rajerison, F. Guerard, M. Mougin-Degraef, J. Barbet, N. Michel, M. Cherel, A. Faivre-Chauvet, *Nucl. Med. Rev.* **2011**, *14*, 90

Identifiée en 1992 par Pasterokova, le CAIX (carbonic anhydrase) est une enzyme activée par HIF.¹¹⁹ Le CA-IX contribue à la survie des cellules hypoxiques en maintenant l'acidification du milieu extracellulaire par catalyse du dioxyde de carbone en acide carbonique. Le marquage du CA-IX se différencie des autres radiotraceurs de l'hypoxie car il mesure une valeur indirecte de l'hypoxie. Son marquage a son intérêt en immunohistologie, avec l'utilisation d'un anticorps spécifique du CAIX (fluorescent ou non) permettant sa visualisation.

Des inhibiteurs de CAIX ont prouvé leur efficacité dans le retard de la croissance tumorale. Les antigènes G250 and M75 sont également devenus une cible pour l'imagerie TEP. Ainsi des radiotraceurs contenant les fonctions sulfonamides connues pour cibler le CAIX ont été synthétisés tel que l'**AMBF₃(ABS)₃**, le **VMA-037** ou la molécule **32**.¹²⁰

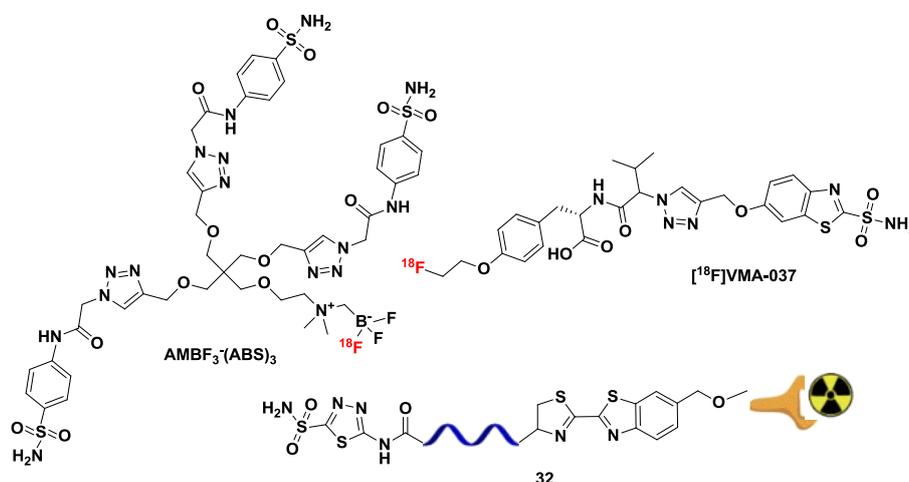


Figure 21 : Radiotraceurs pour le marquage du CAIX.

¹¹⁹ K. Iwasaki, H. Yabushita, T. Ueno, A. Wakatsuki, *Onc. Lett.*, **2015**, *10*, 1970

¹²⁰ K.-T. Chen, K. Nguyen, C. Ieritano, F. Gao, Y. Seimbille, *Molecules*, **2018**, *24*

5) Radiosynthèses de dérivés 2-nitroimidazoles radiofluorés

5.1. Rappel de la chimie de fluor-18

La production du fluor-18 est principalement réalisée par irradiation d'une cible d'eau enrichie en oxygène-18 par un faisceau de protons de 18 MeV selon la réaction nucléaire $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$. Il est alors obtenu sous forme d'anion $[^{18}\text{F}]\text{fluorure}$ avec une haute radioactivité spécifique (74-370 Gbq/ μmole) et une pureté radiochimique supérieure à 98%. En solution aqueuse, l'anion $[^{18}\text{F}]\text{fluorure}$ est solvaté, diminuant son pouvoir nucléophile. Pour le rendre chimiquement efficace, il est nécessaire de le déshydrater. Le protocole usuel consiste à fixer les ions $[^{18}\text{F}]\text{fluorures}$ sur une résine échangeuse d'anions puis à éluer avec une solution contenant généralement une base alcaline (K_2CO_3 , Cs_2CO_3) ou le bicarbonate de tétrabutylammonium (TBAHCO_3). Enfin une étape de séchage est réalisée par distillation azéotropique dans un mélange d'eau et d'acétonitrile sous flux d'azote. Le $[^{18}\text{F}]\text{fluorure}$ anhydre est mis en réaction avec le précurseur de marquage dans un solvant aprotique (DMF, ACN ou DMSO).

Les cations volumineux tels que Cs^+ et $(t\text{Bu})_4\text{N}^+$ permettent d'activer les ions $[^{18}\text{F}]\text{fluorures}$ par leur encombrement stérique. Afin d'améliorer la solubilité des fluorures dans les milieux aprotiques et d'augmenter leur nucléophilie des agents cryptants sont ajoutés au milieu. Ces cryptants sont des complexants qui vont chélater le contre ion (K^+) et augmenter la réactivité de l'ion fluorure « nu ». Les complexants les plus utilisés sont le 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosane appelé Kryptofix ou K_{222} et l'éther couronne 18-Crown-6 ou 18c6.

5.1.a) Formation de liaison C- ^{18}F en série aliphatique

Le marquage au fluor-18 en série aliphatique s'effectue généralement par réaction de substitution nucléophile entre le ^{18}F -fluorure et un substrat portant un groupe nucléofuge tel qu'un halogène (I, Br ou Cl) ou un ester sulfonique (tosylate, nosylate, triflate, mésylate) (**Figure 22**).^{121,122} Cette méthodologie a permis le radiomarquage de « petites » molécules comme : le $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ (2-désoxy-2- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-D-glucose}$ (**Figure 22 A**)), le « gold » standard

¹²¹ M. M. Alauddin, *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2011**, 2, 55

¹²² J. Ermert, *BioMed Research International*, **2014**, e812973

décrit partie 2.1) synthétisé à partir d'un précurseur triflate **33**,¹²³ la [¹⁸F]FLT (3-désoxy-3-[¹⁸F]fluorothymidine (**Figure 22 B**)), un marqueur de la prolifération cellulaire),¹²⁴ obtenu à partir d'un précurseur nosylate **34** et le [¹⁸F]FMISO (([¹⁸F]fluoromisonidazole (**Figure 22 C**)) un marqueur de l'hypoxie),¹²⁵ préparé à partir du précurseur tosylate NITTP. De plus, une étape de déprotection par hydrolyse acide ou basique peut suivre la radiofluoration pour obtenir le radiopharmaceutique final. L'exemple du [¹⁸F]FCH est également présenté ([¹⁸F]fluorométhylcholine (**Figure 22 D**)) marquage de la synthèse des phospholipides)^{126,127} obtenu à partir du dibromométhane **35**. Des variantes ont été développées comme des approches multi-étapes où la fluoration de sulfonates, sulfamides pour la synthèse de composés hydroxy ou α -aminofluorés.

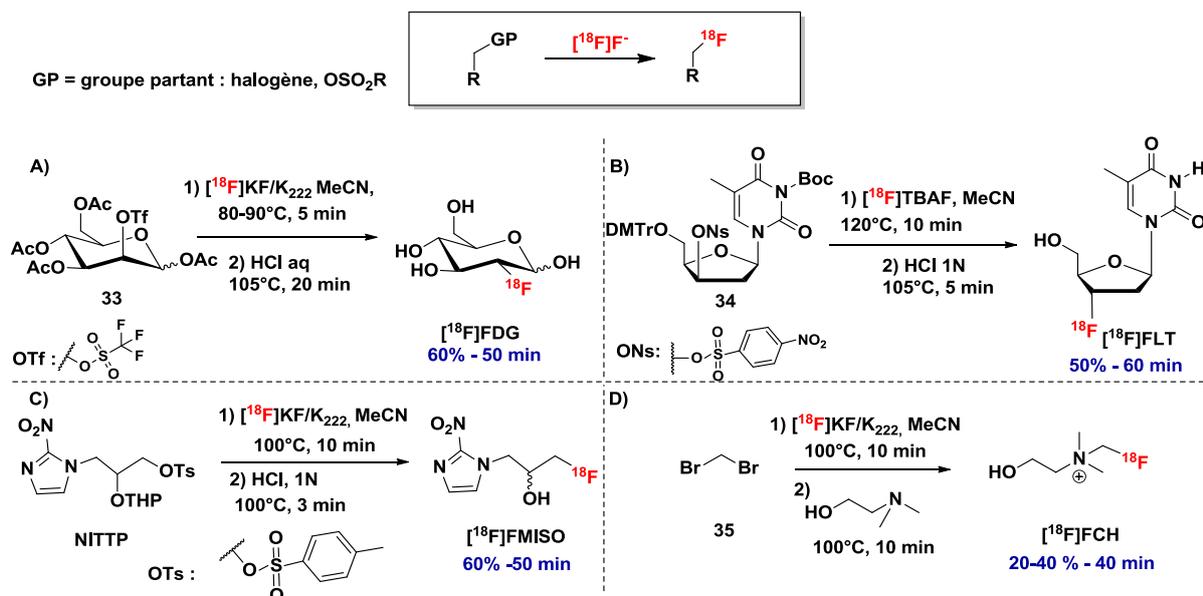


Figure 22 : Radiosynthèse du A) [¹⁸F]FDG¹²³ B) [¹⁸F]FLT¹²⁴ C) [¹⁸F]FCH choline¹²⁷ D) [¹⁸F]FMISO¹²⁵

¹²³ K. Hamacher, H. H. Coenen, G. Stöcklin, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1986**, 27, 235

¹²⁴ S. J. Martin, J. A. Eisenbarth, U. Wagner-Utermann, W. Mier, M. Henze, H. Pritzkow, U. Haberkorn, M. Eisenhut, *Nucl. Med. Biol.* **2002**, 29, 263

¹²⁵ E.-L. Kämäräinen, T. Kyllönen, O. Nihtilä, H. Björk, O. Solin, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2004**, 47, 37

¹²⁶ E.-L. Kämäräinen, *Report Series in Radiochemistry*, **2007**.

¹²⁷ 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

5.1.a) Formation de liaison C-¹⁸F en série aromatique

La radiofluoruration par substitution nucléophile aromatique est en général efficace à partir des substrats benzéniques possédant une fonction nitro (NO₂) ou triméthylammonium (⁺NMe₃) comme groupe partant (GP), et également, en position para du nucléofuge préférentiellement, un groupement électroattracteur permettant de désactiver le cycle aromatique pour faciliter la S_NAr (**Figure 23**). La [¹⁸F]FDOPA (dans le cadre de la maladie de parkinson) fait partie des radiotraceurs aromatiques marqués au fluor-18 obtenus par S_NAr. Ces dernières années, la chimie organométallique (catalyse au cuivre, palladium, nickel), principalement développée par les groupes de Gouverneur,¹²⁸ Scott & Sanford,¹²⁹ et de Ritter^{130,131} a permis l'introduction du fluor-18 sur des substrats aromatiques (boroniques ou halogénés) non désactivés. Une des applications a été la radiosynthèse de la [¹⁸F]FDOPA, qui reste un véritable enjeu de recherche (**Figure 23**).

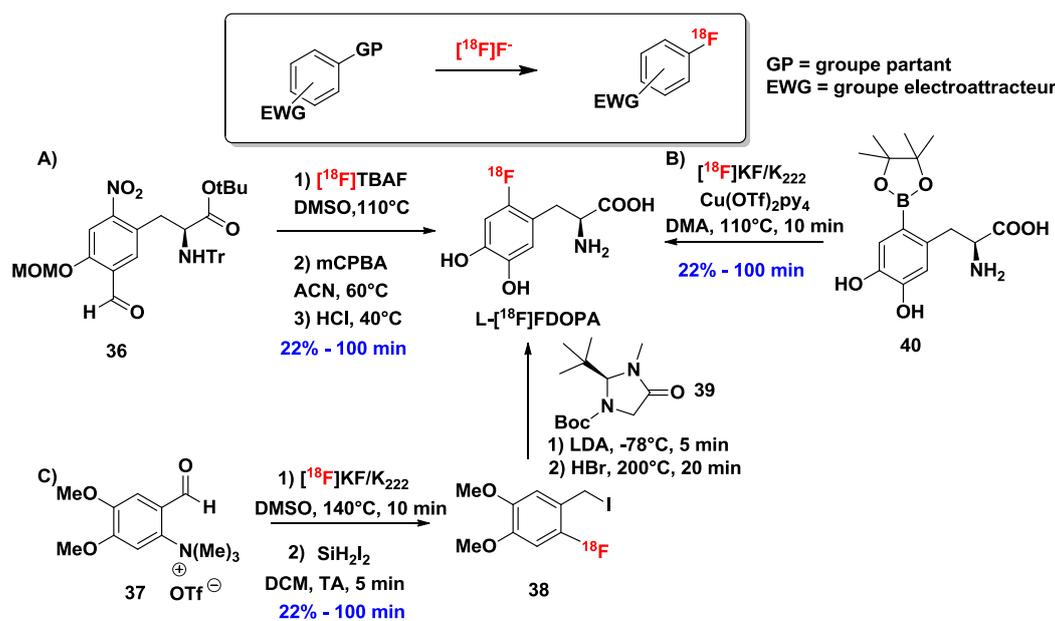


Figure 23 : Radiosynthèse de la [¹⁸F]-L-FDOPA par substitution S_NAr d'un groupement A) nitro B) Ester boronique par catalyse au cuivre.¹²⁸ C) Triméthyl ammonium

¹²⁸ S. Preshlock, S. Calderwood, S. Verhoog, M. Tredwell, M. Huiban, A. Hienzsch, S. Gruber, T. C. Wilson, N. J. Taylor, T. Cailly, M. Schedler, T. L. Collier, J. Passchier, R. Smits, J. Mollitor, A. Hoepfing, M. Mueller, C. Genicot, J. Mercier, V. Gouverneur, *Chem. Commun.* **2016**, 52, 836

¹²⁹ A. V. Mossine, *et al. Org. Lett.* **2015**, 17, 5780

¹³⁰ A. S. Kamlet, C. *et al., PlosOne*, **2013**, 8, e59187

¹³¹ E. Lee, A. S. Kamlet, D. C. Powers, C. N. Neumann, G. B. Boursalian, T. Furuya, D. C. Choi, J. M. Hooker, T. Ritter, *Science*, **2011**, 334, 639

En plus de ces réactions de fluoration par formation de liaison carbone-fluor-18, il existe depuis quelques années des réactions de fluoration par formation de liaison hétéroatome (aluminium, bore, silicium) -fluor-18. Ces approches, moins courantes pour le marquage de « petites » molécules, seront discutées dans le chapitre 2.

5.2. Radiosynthèse des principaux radiotraceurs de l'hypoxie

Les radiotraceurs 2-nitroimidazoles marqués au fluor-18 les plus utilisés tels que le [^{18}F]FMISO, le [^{18}F]FAZA, le [^{18}F]HX4, le [^{18}F]FETNIM, le [^{18}F]FRP170 et le [^{18}F]DIFA, ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs groupements alcools. Leur radiosynthèse est assez similaire et s'effectue par une méthodologie en deux étapes. La première étape est la substitution nucléophile d'un groupe partant (tosylate ou nosylate) par l'ion ^{18}F -fluorure. La deuxième étape est la déprotection de l'alcool en milieu acide ou basique pour enlever le(s) groupe(s) protecteur(s) (tetrahydropyranyl/ acetyl / acétonide...). Leur radiosynthèse et la synthèse de leur précurseur sont détaillées.

• [^{18}F]FMISO

Pour le [^{18}F]FMISO, plusieurs méthodes de radiosynthèse ont été décrites (**Figure 24**). Historiquement, le [^{18}F]FMISO a été préparé à partir du (R)-glycidyl tosylate **GOTS** pour former le [^{18}F]EPI-F puis est ensuite ouvert par addition du cycle 2-nitroimidazole **6**. La **méthode 1**, est relativement longue (140 min), et peu efficace en raison de la volatilité de l'intermédiaire [^{18}F]EPI-F.^{132,133,134} La **méthode 1** permet de synthétiser le [^{18}F]FMISO avec un rendement radiochimique de 40% après un temps de synthèse de 180 min et une activité spécifique de 1 Ci/ μmol . La **méthode 2** utilise comme réactif de départ le **NITTP** ([3-(2-nitroimidazol-1-yl)-2-(oxan-2-yloxy)propyl] 4-methylbenzenesulfonate) qui par SN_2 du ^{18}F sur le tosylate forme le [^{18}F]41. Le [^{18}F]41 est déprotégé en milieu acide pour obtenir le

¹³² T. J. McCarthy, C. S. Dence, M. J. Welch, *Appl. Radiat. Isot.* **1993**, *44*, 1129

¹³³ M. Tada, R. Iwata, H. Sugiyama, K. Sato, K. Kubota, R. Kubota, H. Takahashi, H. Fukuda, T. Ido, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1996**, *38*, 771

¹³⁴ J. R. Grierson, J. M. Link, C. A. Mathis, J. S. Rasey, K. A. Krohn, *J. Nucl. Med.* **1989**, *30*, 343

$[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ de manière plus efficace, reproductible et adaptable à l'automatisation et notamment à une purification sur cartouches.¹²⁵ Le $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ pour la **méthode 2** est obtenu avec un rendement radiochimique de 60% un temps de synthèse de 50 min et une activité spécifique de 1 Ci/ μmol .

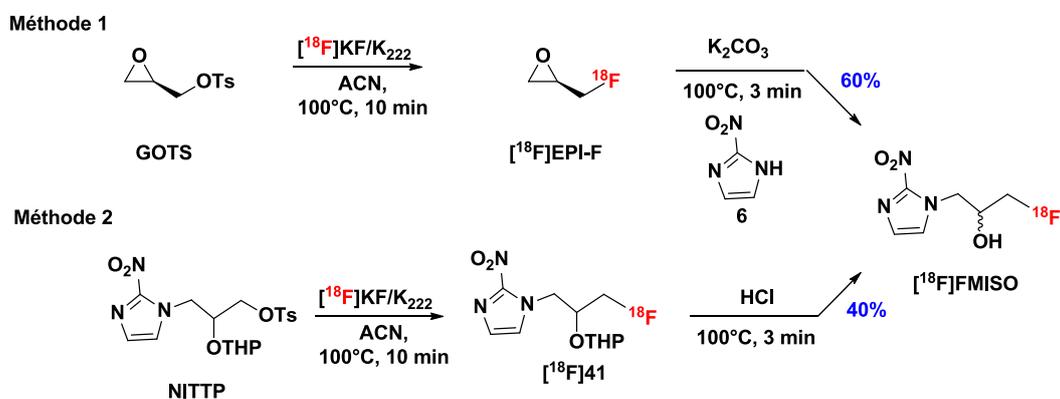
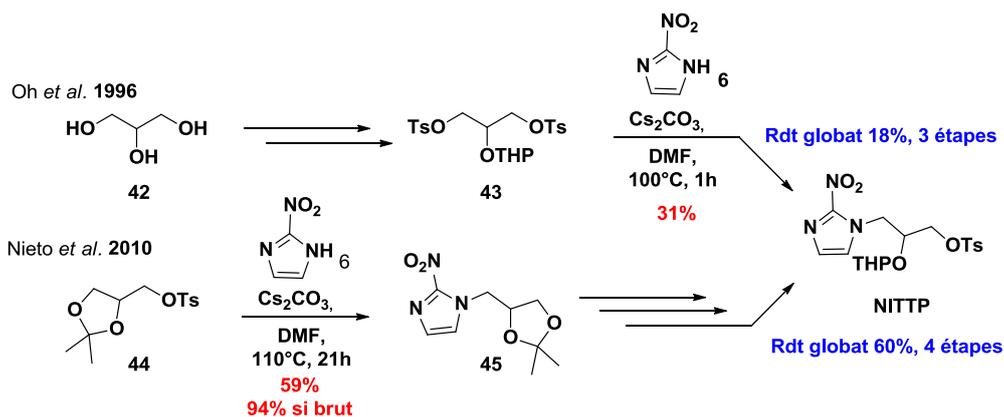


Figure 24 : Radiosyntheses du $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$

Lors de la mise en place d'un nouveau radiotracteur, la disponibilité et la facilité de synthèse du précurseur sont des critères importants. Le $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ est synthétisé à partir du **NITTP**, qui peut être préparé par différentes méthodes (**Figure 25**). La première a été décrite par Oh *et al.* à partir du glycérol **42** monoprotégé sélectivement par un groupement THP puis les groupements alcools libres ont été transformés en groupements tosylates pour obtenir la molécule **43**. L'étape limitante a été la substitution nucléophile du tosylate **43** par le 2-nitroimidazole **6** avec un rendement modéré de 30%. Le **NITTP** a été préparé en 3 étapes avec un rendement global de 18%.¹³⁵ Une autre méthode a été décrite par l'équipe de Nieto, en 2010, utilisant comme précurseur le α,β -Isopropylidenglycérol- γ -tosylate **44** qui permet d'alkyler le 2-nitroimidazole **6**. L'intermédiaire **45** obtenu avec un rendement de 59%, a ensuite été déprotégé, l'un des groupements alcools a été protégé par un groupement THP et l'autre transformé en tosylate. Cette autre voie permet de préparer le **NITTP** en 4 étapes avec un rendement global satisfaisant de 60%.¹³⁶

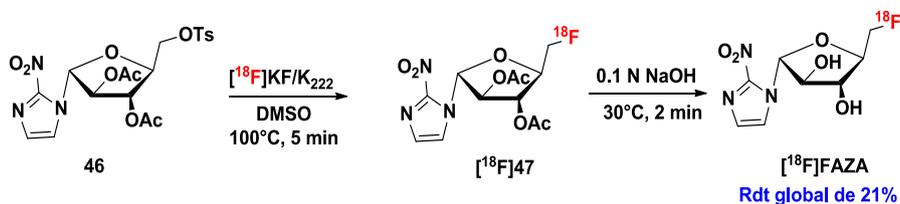
¹³⁵ S. J. Oh, D. Y. Chi, C. Mosdzianowski, J. Y. Kim, H. S. Gil, S. H. Kang, J. S. Ryu, D. H. Moon, *Nucl. Med. Biol.* **2005**, *32*, 899

¹³⁶ E. Nieto, R. Alajarín, J. Álvarez-Builla, I. Larrañaga, E. Gorospe, M. Pozo, *Synthesis* **2010**, *2010*, 3700

Figure 25 : Différentes synthèses pour la préparation du NITTP, précurseur du [^{18}F]FMISO

- [^{18}F]FAZA

Le [^{18}F]FAZA est synthétisé par substitution nucléophile du précurseur 1-(2,3-di-O-acétyl-5-O-tosyl- α -D-arabinofuranosyl) 2-nitroimidazole **46** par l'ion ^{18}F fluorure. L'hydroxyde de sodium est ajouté pour enlever les groupements « acétyles » des alcools de la molécule marquée [^{18}F]**47** (Figure 26). Le [^{18}F]FAZA est obtenu avec un rendement radiochimique de 21% et une activité spécifique de 8 Ci/ μmol après 50 min.¹³⁷

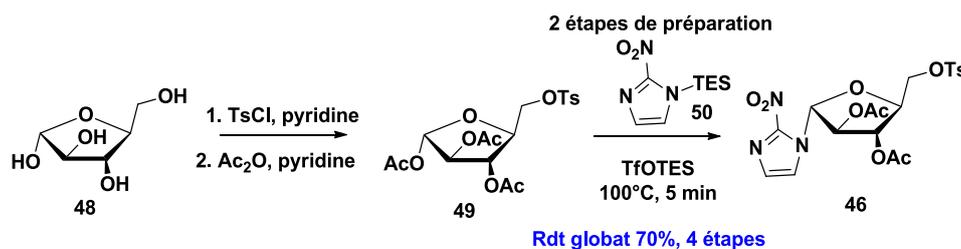
Figure 26 : Radiosynthèse du [^{18}F]FAZA

Le précurseur du [^{18}F]FAZA (Figure 27) a été préparé à partir du D-arabinose **48**. Un des groupements alcools a été sélectivement transformé en tosylate, et les autres groupes alcools ont été protégés afin d'obtenir l'intermédiaire **49**. L'intermédiaire **49** a permis d'alkyler le dérivé 2-nitroimidazole silylé **50** préalablement préparé. Le précurseur du [^{18}F]FAZA **46** a été obtenu en 4 étapes avec un rendement global de 70%.^{138,139}

¹³⁷ P. Kumar, D. Stypinski, H. Xia, A. J. B. McEwan, H.-J. Machulla, L. I. Wiebe, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1999**, *42*, 3

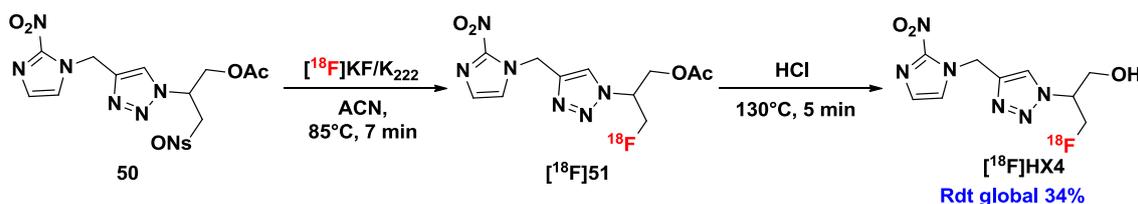
¹³⁸ P. Kumar, L. I. Wiebe, M. Asikoglu, M. Tandon, A. J. B. McEwan, *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57*, 697

¹³⁹ P. Kumar, L. I. Wiebe, E. Atrazheva, M. Tandon, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2077

Figure 27 : Synthèse du précurseur du [¹⁸F]FAZA

- [¹⁸F]HX4

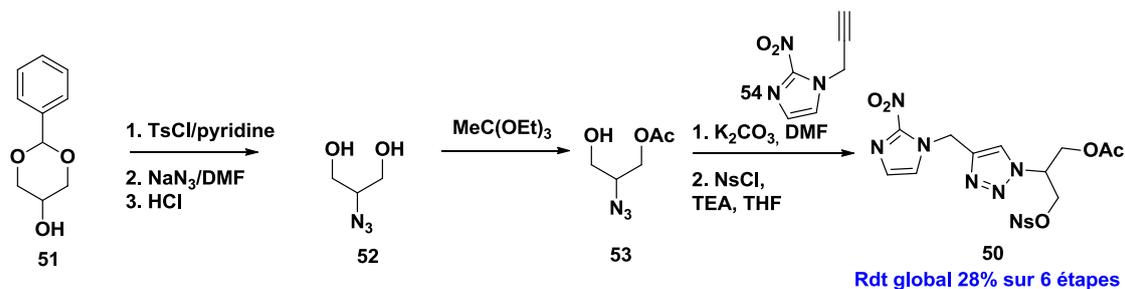
Le [¹⁸F]HX4 a été obtenu par substitution nucléophile d'un nosylate **50** par un [¹⁸F]fluorure conduisant au produit fluoré **51**. Le groupement acétyle de ce dernier a été hydrolysé en milieu acide (Figure 28). Le [¹⁸F]HX4 a été obtenu avec un rendement radiochimique de 34%, après un temps de synthèse de 55 min et une activité spécifique de 66 Ci/μmol.¹⁴⁰

Figure 28 : Radiosynthèse du [¹⁸F]HX4.

La synthèse du précurseur **50** a été effectuée à partir du glycérol protégé **51**, dont le groupement alcool libre a été transformé en tosylate, puis en azoture. Le groupement protecteur a été hydrolysé en milieu acide pour obtenir l'intermédiaire **52**, qui a ensuite été sélectivement protégé conduisant à l'azoture **53**. L'azoture **53** a été engagé dans une réaction de CuAAC avec le 2-nitroimidazole propargylique **54** préalablement préparé en présence de K₂CO₃ dans le DMF avec un bon rendement de 85%. Enfin, le groupement alcool a été transformé en nosylate **50**. Le précurseur **50** du [¹⁸F]HX4 a été synthétisé en 6 étapes avec un rendement correct de 28 %.¹⁴¹

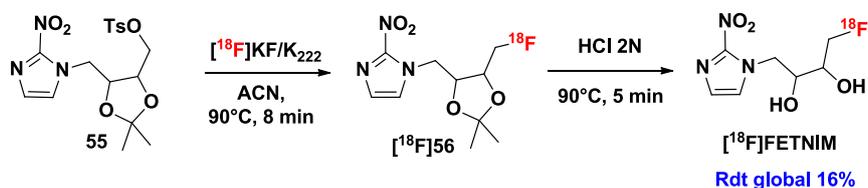
¹⁴⁰ D. R. Turton, H. M. Betts, D. Dutton, A. C. Perkins, *Nucl. Med. Biol.* **2015**, *42*, 494

¹⁴¹ H. Kolb, J. C. Walsh, **2008**, CA2683433C - Nitro-imidazole hypoxia imaging agents 76

Figure 29 : Synthèse du précurseur du [^{18}F]HX4

- **[^{18}F]FETNIM**

Le [^{18}F]FETNIM a été obtenu par substitution nucléophile d'un tosylate **55** par un [^{18}F]fluorure suivi de l'hydrolyse de l'acétonide **56** en milieu acide. Le [^{18}F]FETNIM a été obtenu en deux étapes avec un rendement radiochimique de 16% après 50 min de radiosynthèse et une activité spécifique de 8.9 Ci/ μmol .¹⁴²

Figure 30 : Radiosynthèse du [^{18}F]FETNIM

Le précurseur du [^{18}F]FETNIM **55** a été synthétisé à partir du diol **57** 2,3-O-Isopropylidène-L-threitol, transformé en ditosylate **58**. Le ditosylate **58** a permis d'alkyler le 2-nitroimidazole **6** pour obtenir le tosylate **55** avec un rendement de 70%

¹⁴² T. Gronroos, O. Eskola, K. Lehtio, H. Minn, P. Marjamaki, J. Bergman, M. Haaparanta, S. Forsback, O. Solin, *J. Nucl. Med.* **2001**, 42, 1397

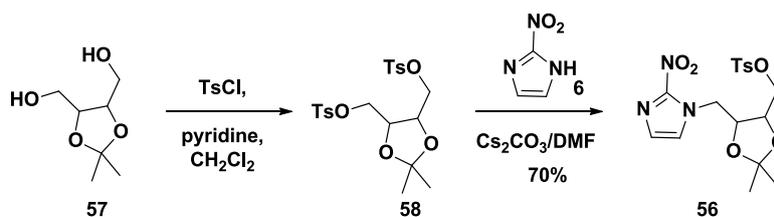
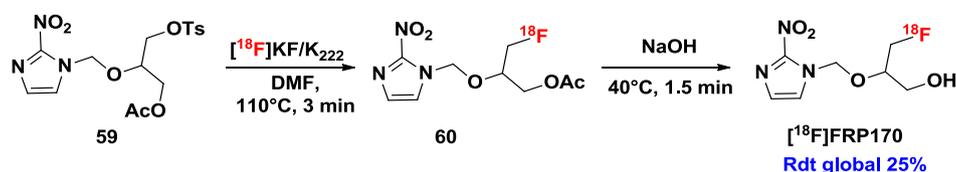


Figure 31 : Synthèse du précurseur du FETNIM

• $[^{18}\text{F}]\text{FRP170}$

Le $[^{18}\text{F}]\text{FRP170}$ a été obtenu par substitution nucléophile du tosylate **59** par le $[^{18}\text{F}]$ fluorure, puis le groupement acétyle **60** a été hydrolysé en milieu basique. Le $[^{18}\text{F}]\text{FRP170}$ a été préparé avec un rendement radiochimique de 25% et un temps de synthèse de 60 min.^{143a}

Figure 32 : Radiosynthèse du $[^{18}\text{F}]\text{FRP170}$

Le précurseur **59** du $[^{18}\text{F}]\text{FRP170}$ a été synthétisé en 5 étapes avec un rendement global de 13%.

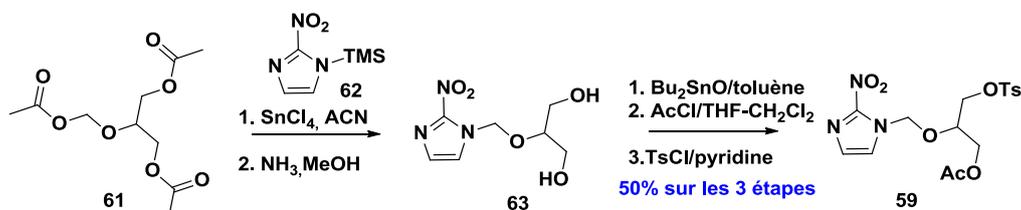


Figure 33 : Synthèse du précurseur du FRP170

• $[^{18}\text{F}]\text{DIFA}$

La radiosynthèse de $[^{18}\text{F}]\text{DIFA}$ et d'analogues ont été publiées en 2014 par le groupe de Nakata.^{143b} Le $[^{18}\text{F}]\text{DIFA}$ a été obtenu par substitution nucléophile du tosylate **64** par un

^{143a} T. Kaneta, Y. Takai, Y. Kagaya, Y. Yamane, H. Wada, M. Yuki, R. Iwata, M. Tsujitani, S. Takahashi, S. Yamada, *JNM*, **2002**, *43*, 109. Y. Ishikawa, R. Iwata, S. Furumoto, Y. Takai, *Applied Radiation and Isotopes* **2005**, *62*, 705–710.

^{143b} H. Yasui, S. Zhao, K. Higashikawa, N. Ukon, Y. Shimizu, H. Matsumoto, N. Tamaki, Y. Kuge, *J. Nucl. Med.* **2017**, *58*, 1027

[¹⁸F]fluorure, suivi de l'hydrolyse de l'acétone 65 en milieu acide avec un rendement radiochimique de 37%.

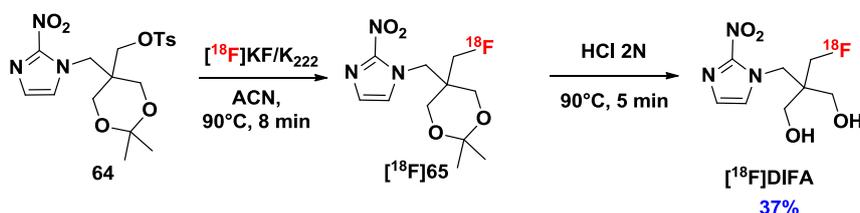


Figure 34 : Radiosynthèse de DIFA

Le précurseur **64** du [¹⁸F]DIFA a été synthétisé à partir du triol **66** dont les groupements alcools ont été sélectivement protégés pour conduire à l'intermédiaire **67** qui a permis l'alkylation du 2-nitroimidazole **6** avec un rendement de 57%. L'alcool **68** a été transformé en tosylate pour conduire au précurseur **64** avec un rendement global correct de 27% sur 5 étapes.

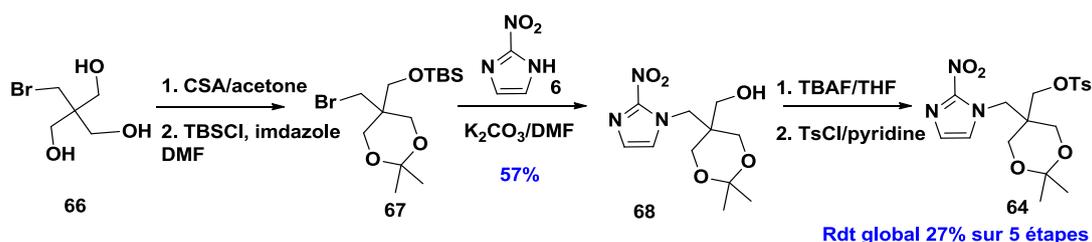


Figure 35 : Synthèse du précurseur du DIFA

Les rendements radiochimiques des différents radiotraceurs 2-nitroimidazoles marqués au fluor-18, leur temps de synthèse et leur activité spécifique sont résumés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Caractéristiques des radiotraceurs fluorées 2-nitroimidazole les plus connus

¹⁸ F-Radiotraceurs	logP	Rendement radiochimique (%)	Temps de synthèse (min)	RAS (Ci/μmol)
[¹⁸ F]FMISO	0.40	60	50	1
[¹⁸ F]FAZA	-0.4	21	50	8
[¹⁸ F]HX4	-0.69	34	55	66
[¹⁸ F]FETNIM	0.17	16	50	8.9
[¹⁸ F]FRP170	0.09	25	60	0.7
[¹⁸ F]DIFA	NR	40	69	NR

NR : non renseigné

6) Conclusions

Il n'existe pas actuellement de radiopharmaceutique « idéal » pour l'imagerie TEP de l'hypoxie. L'ensemble des radiotraceurs de la famille des 2-nitroimidazoles sont caractérisés par une clairance relativement lente et nécessitant une imagerie au-delà de 2 h post-injection.^{7,112,144} Il semblerait que le caractère hydrophile soit un facteur important en imagerie. Les principaux radiotraceurs fluorés TEP de l'hypoxie sont représentés **Figure 36** et classés selon leur *logP* reflétant leur caractère hydrophile. Les radiotraceurs 2-nitroimidazole restent toujours un sujet de recherche actuel, de nombreux analogues sont toujours développés.

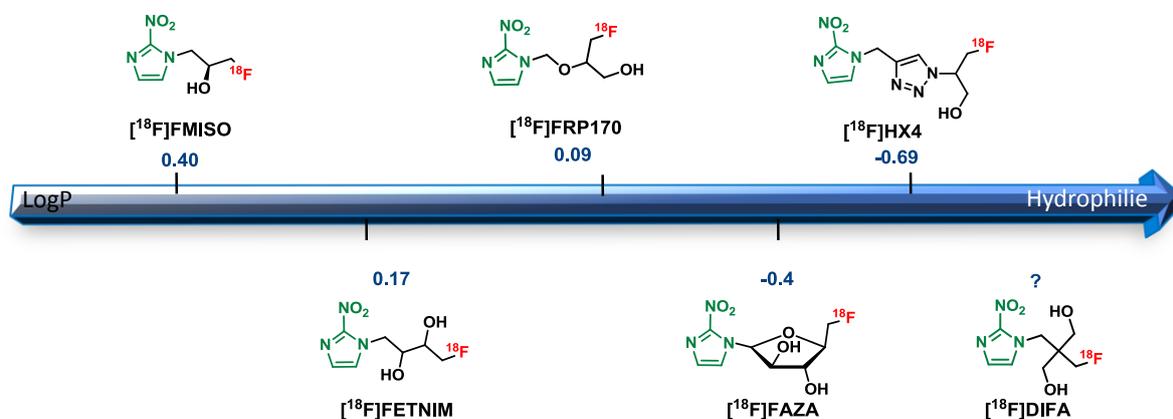


Figure 36 : Répartition de *logP* des différents radiotraceurs 2-nitroimidazole marqués au fluor-18

¹⁴⁴ S. Carlin, H. Zhang, M. Reese, N. N. Ramos, Q. Chen, S.-A. Ricketts, *JNM*, **2014**, 55, 515

II. Travaux envisagés

Comme les rappels ci-avant l'ont mis en lumière, il n'existe pas encore à l'heure actuelle de radiotraceurs performants pour l'imagerie de l'hypoxie et la recherche d'une sonde efficace est toujours d'actualité.¹⁴⁵ Le [¹⁸F]FMISO reste le radiotraceur de référence. Cependant, les résultats récents obtenus avec le [¹⁸F]HX4 ou encore ceux annoncés avec le [¹⁸F]DiFA semblent montrer que le caractère hydrophile serait un atout majeur en favorisant une clairance rapide et en permettant une meilleure spécificité.¹⁴⁶ Nous avons alors envisagé de développer de nouveaux dérivés 2-nitroimidazoliques dotés d'une hydrophilie encore supérieure à celle du [¹⁸F]HX4 (radiotraceur le plus hydrophile décrit à ce jour) dans un double objectif : d'une part mettre au point une imagerie de l'hypoxie précise et sensible, d'autre part évaluer véritablement l'impact de l'hydrophilie du radiotraceur sur la performance de l'imagerie. Nous avons conçu de nouveaux radiotraceurs (molécules **FLUSONIM, 69, 70, 71, 72, 73, 74**) sur la base de la structure du [¹⁸F]HX4, avec la présence de l'entité 2-nitroimidazole **6**, de l'atome de fluor-18, du motif 1,2,3-triazole et du groupe sulfonate en remplacement du groupe hydroxyle (**Figure 37**). Les différents analogues envisagés se différencient par les chaînons reliant ces éléments structuraux principaux, et correspondant à des chaînes alkylènes perfluorées ou non, ou à un noyau phényle. La justification des éléments structuraux choisis (hormis celle du fluor-18, radioisotope de choix pour l'imagerie nucléaire, et du motif 2-nitroimidazole indispensable pour l'hypoxie) est discutée ci-après.

¹⁴⁵ S. Apte, F. T. C. and E. E. Graves, *Curr. Org. Synth.* **2011**

¹⁴⁶ S. Watanabe, S. Okamoto, K. Hirata, T. Shiga, T. Toyonaga, K. Kobayashi, O. Manabe, Y. Uchiyama, J. Katahata, Y. Munakata, K. Magota, K. Nishijima, Y. Kuge, N. Tamaki, *J. Nucl. Med.* **2017**, *58*, 839

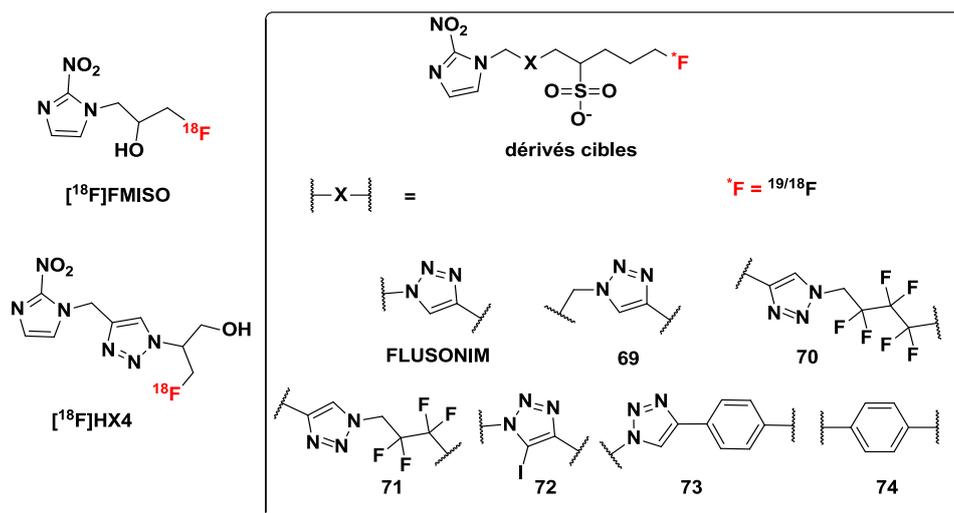


Figure 37 : Dérivés fluorés 2-nitroimidazoliques ciblés

1) Justification des choix structuraux

1.1. Le motif 1,2,3-triazole

Le motif 1,2,3-triazole est un hétérocycle à cinq chaînons comportant deux atomes de carbone et trois atomes d'azote contigus, connu pour être un bioisostère du groupe amide.¹⁴⁷ Il permet la formation de liaisons hydrogènes contribuant à améliorer la solubilité du composé le comportant. D'un point de vue synthèse, il résulte de la cycloaddition de Huisgen ou de la CuAAC (Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition), réactions de chimie click largement utilisées en chimie médicinale.^{148,149}

Le terme de « chimie click » est introduit en 2001 par Sharpless et employé pour des réactions rapides, stéréospécifiques et avec de bons rendements et sans production de produits parallèles.^{150,151} La CuAAC appartient à ce groupe de réactions à côté des additions de thio-Michaël, de la ligation de Staudinger, la IEDDA (cycloaddition de Diels-Alder à demande inverse en électrons) et la SPAAC¹⁵² (Strain-Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition), ces dernières ayant la propriété d'être bioorthogonales. C'est Huisgen qui décrit en 1963 la

¹⁴⁷ A. Massarotti, S. Aprile, V. Mercalli, E. Del Grosso, G. Grosa, G. Sorba, G. C. Tron, *ChemMedChem* **2014**, 9, 2497

¹⁴⁸ S. G. Agalave, S. R. Maujan, V. S. Pore, *Chem. – Asian J.* **2011**, 6, 2696

¹⁴⁹ K. Bozorov, J. Zhao, H. A. Aisa, *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, 27, 3511

¹⁵⁰ H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew Chem Int Ed* **2001**, 18

¹⁵¹ Mt. V. Gil, M. J. Arévalo, Ó. López, *Synthesis*, **2007**, 32

¹⁵² D. W. Kim, *J. Fluor. Chem.* **2015**, 174, 142

formation du 1,2,3-triazoles par réaction de cycloaddition 1,2 dipolaire entre un alcyne et un azoture.^{153,154} Cette réaction activée thermiquement conduit à un 1,2,3 triazole substitué en position 4 ou 5. Kolb *et al.*¹⁵⁰ en 2001 ont reconsidéré cette réaction avec l'introduction de cuivre en quantité catalytique pour rendre la réaction régiosélective en position 4. Dans ces conditions, cette réaction est dénommée CuAAC.¹⁵⁵ Le cuivre pris comme catalyseur est utilisé sous forme de sels de cuivre de degré d'oxydation I (iodure, bromure ou acétate de cuivre). Ces derniers pouvant facilement être oxydés par l'air sont souvent associés pour les réactions de click à des agents réducteurs tels que l'acide ascorbique ou des bases (TEA, DIEA).¹⁵⁶ L'utilisation de cuivre-63 a permis de montrer que le mécanisme de la réaction met en jeu deux atomes de cuivre.¹⁵⁷

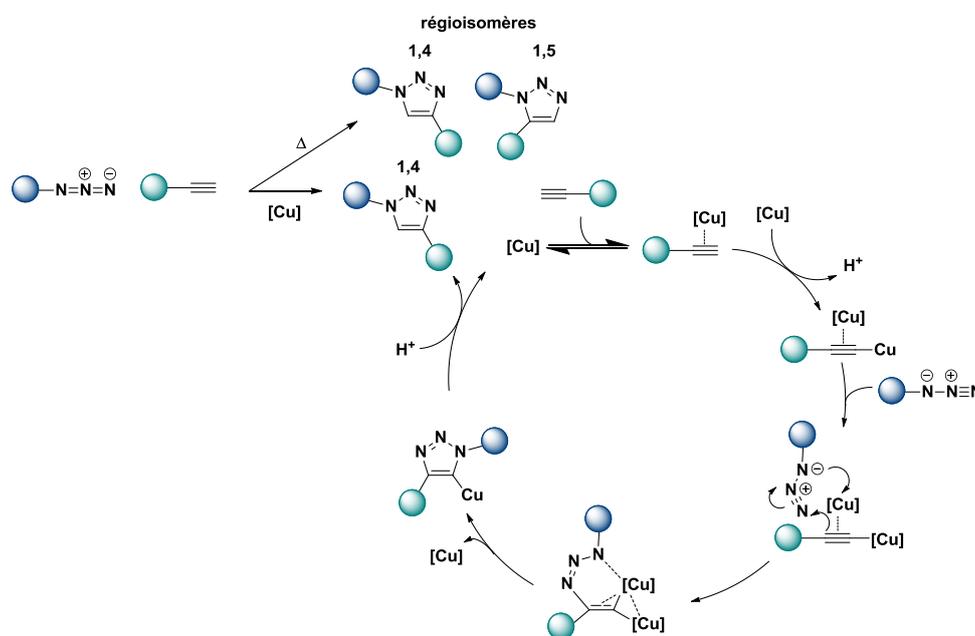


Schéma 1 : Produits de réaction de la CuAAC et Mécanisme d'une réaction de CuAAC entre un alcyne et un azoture.

1.2. Les chainons alkylidènes, phénylènes et perfluorés

¹⁵³ R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, 2, 565

¹⁵⁴ V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596

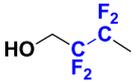
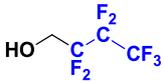
¹⁵⁵ C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057

¹⁵⁶ F. Fazio, M. C. Bryan, O. Blixt, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 14397

¹⁵⁷ B. T. Worrell, J. A. Malik, V. V. Fokin, *Science* **2013**, 340, 457

Afin d'établir des relations de structure-activité, nous avons souhaité effectuer des modifications structurales tels que l'ajout d'alkyle, d'aryle, d'alkylpolyfluoré. Les effets électroniques ou l'encombrement stérique jouent un rôle dans l'activité de la molécule.¹⁵⁸ Par exemple l'ajout d'un groupement phényle peut figer la libre rotation des liaisons, augmenter la lipophilie de la molécule. Néanmoins ce groupement apolaire n'offre pas la possibilité de former des liaisons hydrogènes de par l'absence d'hétéroatome, ou modification du pKa ou la surface polaire. Augmentation de l'hydrophilie avec des groupements CH₂ ou triazole.¹⁵⁹ Jeffries a montré que l'ajout de groupements difluorométhane ou trifluorométhane sur des chaînes alcools influençait leur lipophilie (logP) (**Tableau 5**).^{160,161}

Tableau 5 : Valeur de logP, pKa et PSA des groupements fonctionnels choisis

Entrée	Nom	Structure	LogP	pKa/b	TPSA
1	Méthylène	-CH ₂ -	-1.02 ^a	-	-
2	1,2,3-Triazole		-0.63 ^b	1,2 et 8.7	41.57
3	2,2,3,3-tetrafluorobutan-1-ol		0.87 ^c	13.3	20.23
4	Butan-1-ol		0.88 ^c	16.1	20.23
5	4,4,4-trifluorobutan-1-ol		0.91 ^c	15.4	20.23
6	2,2,3,3,4,4,4-heptafluorobutan-1-ol		1.98 ^c	11.4/12.53	20.23
7	Benzène		2.18 ^b	-	-

^a cLogP ^b reporté par Smith¹⁵⁹ ^c LogP expérimental¹⁶⁰

¹⁵⁸ R. M. Zavod, J. J. Knittel, *Principles of Discovery*, **2002**

¹⁵⁹ D. A. Smith, *ADMET* RSC, **2010**

¹⁶⁰ B. Jeffries, Z. Wang, J. Graton, S. D. Holland, T. Brind, R. D. R. Greenwood, J.-Y. Le Questel, J. S. Scott, E. Chiarparin, B. Linclau, *J. Med. Chem.* **2018**

¹⁶¹ Drug Design: Structure - Activity Relationships. *PharmaFactz* **2014**

1.3. Le groupe sulfonate

Le groupe sulfonate (SO_3^-) est très présent dans les molécules naturelles et médicaments.¹⁶² On peut citer la taurine (acide 2-aminoéthanesulfonique), présent dans le tissu nerveux, les muscles et le cœur. L'homotaurine, analogue de la taurine et de l'acide γ -aminobutyrique (GABA), un neurotransmetteur majeur du système nerveux central, fait l'objet d'une étude clinique en phase III pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.^{163,164} L'acamprosate, vendu sous le nom de marque Campral, est un médicament utilisé pour traiter la dépendance à l'alcool. Par ailleurs, il est bien connu que la présence du groupe sulfonate procure de l'hydrophilie à une structure organique. L'introduction d'un groupe sulfonate est largement exploitée dans la synthèse de fluorophores organiques hydrophiles tels que **75**, **76** et **77** utilisables en imagerie *in vitro* ou *in vivo* et caractérisés par une structure polyaromatique comme les dérivés présentés **Figure 38**.

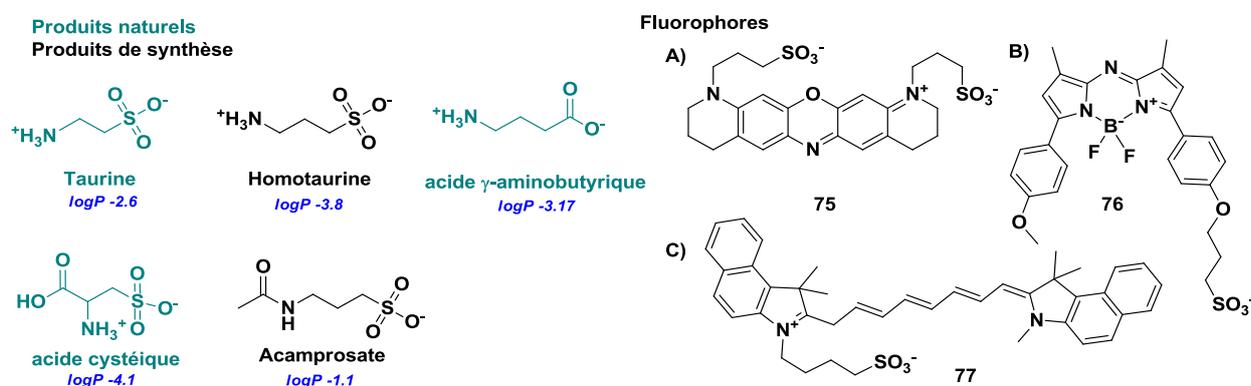


Figure 38 : Molécules naturelles ou artificielles contenant un groupement sulfonate molécule dont pour la spectroscopie NIR A) ¹⁶⁵B) ¹⁶⁶C) ¹⁶⁷

¹⁶² A. Kalir, H. H. Kalir, Biological Activity of Sulfonic Acid Derivatives **2006**

¹⁶³ M. C. Chung, P. B. Malatesta, P. L. Bosquesi, P. R. Yamasaki, J. L. D. Santos, E. de O. Vizioli, In *Pharmaceuticals*; **2012**

¹⁶⁴ J. D. Madura, J. B. Lombardini, J. M. Briggs, D. L. Minor, A. Wierzbicki, *Amino Acids* **1997**, *13*, 131

¹⁶⁵ S. M. Pauff, S. C. Miller, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 711

¹⁶⁶ D. Wu, D. F. O'Shea, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3392

¹⁶⁷ D. M. Mizrahi, O. Ziv-Polat, B. Perlstein, E. Gluz, S. Margel, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5175

Les groupes sulfonates peuvent être synthétisés par ouverture de sultones.¹⁶⁸ Les sultones sont des esters sulfoniques cycliques, et considérées comme les analogues soufrés des lactones. Erdmann en 1888, propose le terme sultone provenant de la contraction de sulfone et lactone.¹⁶⁹ Les sultones décrites jusqu'à présent contiennent de 4 à 15 chaînons. Plusieurs nomenclatures sont utilisées pour les numéroter (**Figure 39**) : avec les chiffres arabes ou lettres grecs de la chaîne carbonée la plus longue dont l'origine est le carbone en α du soufre et ajout du suffixe sultone. La dénomination des hétérocycles en utilisant les préfixes des hétéroatomes (oxa pour l'oxygène, thia pour le soufre...) et les suffixes éthane, olane, ane, ou épiane pour les taille du cycle 4, 5, 6 ou 7 chaînons est également utilisée. Pour la suite du manuscrit les termes de propane sultone **79** et butane sultone **80** seront employés.

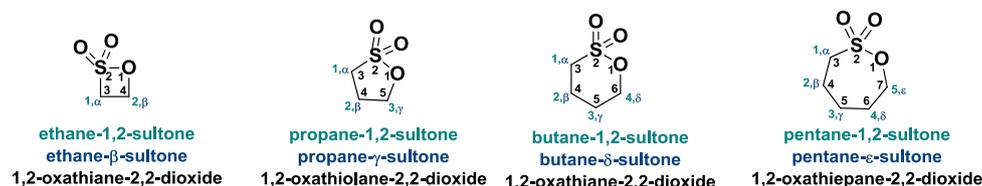


Figure 39 : Nomenclature des sultones les plus rencontrées

L'ouverture des sultones par de nombreux nucléophiles comme les amines ou alcoolates, est largement décrite dans la littérature. Cette réaction permet la synthèse de liquides ioniques comme $[(\text{HSO}_3)_4\text{C}_4\text{C}_1\text{im}][\text{HSO}_4]$ et **81**,^{170,171,172,173} de détergents ou de fluorophores hydrophiles tel que le BODIPY **82**.¹⁷⁴

¹⁶⁸ W. Harnying, D. Enders, **2004**

¹⁶⁹ H. Erdmann, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1888**, 247, 306

¹⁷⁰ N. Paape, W. Wei, A. Bösmann, C. Kolbeck, F. Maier, H.-P. Steinrück, P. Wasserscheid, P. Steffen Schulz, *Chem. Commun.* **2008**, 0, 3867

¹⁷¹ Y. Kohno, T. Makino, M. Kanakubo, *React. Chem. Eng.* **2019**, 4, 627

¹⁷² A. S. Amarasekara, *Chem. Rev.* **2016**, 116, 6133

¹⁷³ I. Niedermaier, C. Kolbeck, N. Taccardi, P. S. Schulz, J. Li, T. Drewello, P. Wasserscheid, H.-P. Steinrück, F. Maier, *ChemPhysChem* **2012**, 13, 1725

¹⁷⁴ H. C. Daly, G. Sampedro, C. Bon, D. Wu, G. Ismail, R. A. Cahill, D. F. O'Shea, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 135, 392

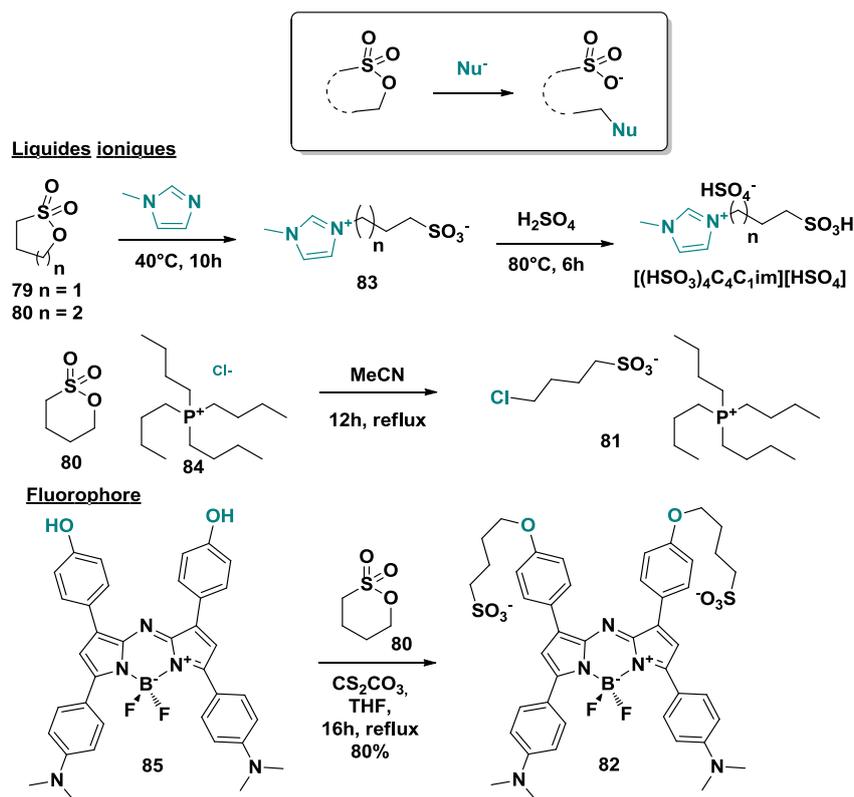
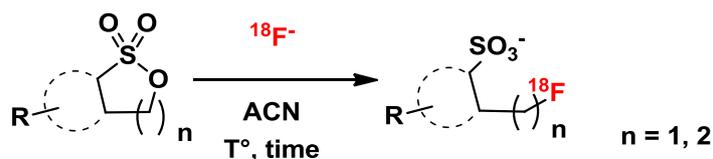


Figure 40 : Exemples d'ouverture de sultones par des nucléophiles

Aucun exemple d'ouverture de sultone avec les ions fluorures n'avait été décrit. La laboratoire a introduit pour la première fois au laboratoire la synthèse de [^{18/19}F]fluorosulfonate par réaction d'ouverture d'un cycle sultone par les ions [^{18/19}F]fluorures.¹⁷⁵ Nos travaux préliminaires à partir des sultones modèles (**Tableau 6**) ont montré que la réaction de fluoration était quantitative en utilisant du TBAF non radioactif. Les radiofluorations ont été réalisées avec le complexe K[¹⁸F]F/K₂₂₂ à TA, 50°C ou 110°C. Leurs rendements dépendent de la nature du substrat. Les résultats montrent que le cycle propane sultone s'ouvre plus facilement que le cycle butane sultone. La benzoyle sultone (**Tableau 6 entrée 5**) s'est avérée moins réactive avec seulement 15% de rendement, cette faible conversion s'explique par la déprotonation du proton acide en α du carbonyle par l'anion fluorure.

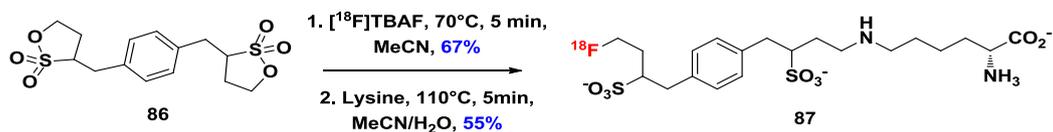
¹⁷⁵ S. Schmitt, C. Bouteiller, L. Barré, C. Perrio, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 11465

Tableau 6 : Dérivé sulfonate issu de l'ouverture du cycle sultone. Schmit 2011¹⁷⁵

Entrée	Précurseur Sultone	[¹⁸ F]Fluorosulfonate	T (°C)	Temps (min)	RCC (%)
1			RT	10	80
2			110	5	65
3			50	2	42
4			110	5	60
5			110	15	15
6			TA	5	85

RCC : rendement radiochimique corrigé

Ces résultats intéressants ont été exploités par le marquage en deux étapes de la lysine en partant de la bissultone **86**. La radiofluoruration a été effectuée avec le [¹⁸F]TBAF à 75°C pendant 15 min dans l'acétonitrile avec un rendement de 67%. L'intermédiaire issu de cette première étape a été traité avec la NH₂-lysine pour obtenir le dérivé **87** avec un rendement radiochimique global correct de 37%.¹⁷⁵

Schéma 2 : Radiofluoruration de la lysine *via* la bissultone.

Cette approche a été reprise par Priem *et al.* en 2012 pour le marquage du dodécapeptide EP43 en deux étapes avec la phényl biscarbonylsultone **88**.¹⁷⁶ Sa radiofluoration a été effectuée dans l'acétonitrile avec le complexe $[^{18}\text{F}]\text{KF}/\text{K}_{222}$ à 110°C pendant 20 min (rendement 25%). L'intermédiaire fluoré est impliqué dans la conjugaison au peptide en présence de DIPEA dans un mélange ACN/DMF à 80°C pendant 30 min avec une conversion de 55% pour le peptide radiomarqué **89**.

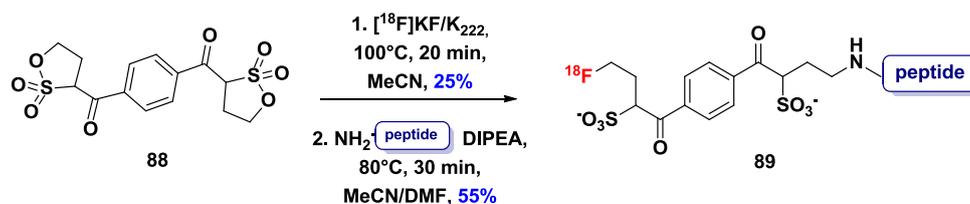


Schéma 3 : Marquage au fluor-18 du dodécapeptide grâce à la sultone **88**.

1.4. Stratégie et sultones clés

En raison des avantages de la réaction d'ouverture du cycle sultone par l'anion fluorure rappelés précédemment, nous avons basé la stratégie générale de radiosynthèse des nouveaux dérivés sur une seule étape de radiofluoration d'une sultone précurseur appropriée. Cette sultone précurseur serait conçue par réaction CuAAC pour former le cycle 1,2,3-triazole à partir des dérivés azotures correspondants et de la sultone propargylique **90** synthétisée à partir de la sultone **80** et du bromure propargylique **91**.

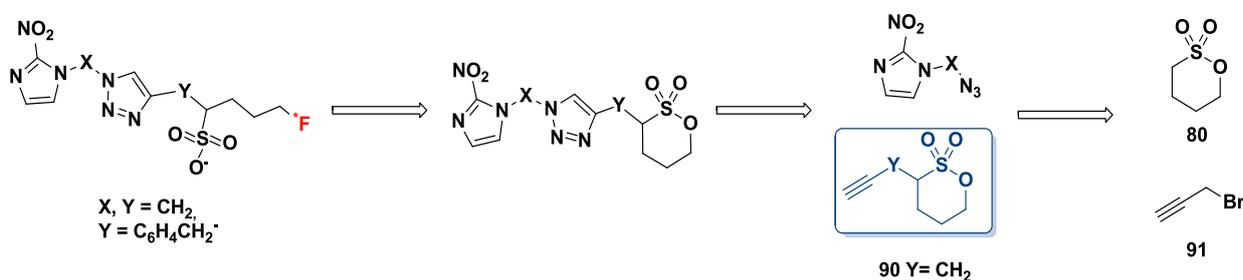
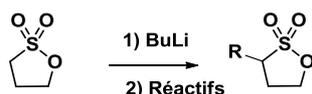


Figure 41 : Dérivé cible obtenu à partir de la sultone propargylique clé **90**

¹⁷⁶ T. Priem, C. Bouteiller, D. Camporese, A. Romieu, P.-Y. Renard, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 1068

La synthèse des sultones fait appel à une chimie qui reste relativement difficile. Il existe deux grandes voies, soit par construction du cycle sultone impliquant la préparation multi-étapes des réactifs de départ^{177,178,179} soit par fonctionnalisation d'une sultone disponible commercialement. Cette dernière approche, plus immédiate, exploite le caractère acide du proton en α du soufre pour introduire des électrophiles après déprotonation. Elle a été exploitée pour la première fois par Durst en 1969 dans le cas de la fonctionnalisation des propane et butane sultones **79** et **80** avec différents réactifs carbonylés (acétone, benzophénone, benzaldéhyde...) ou halogénés (bromure de benzyle, iodure de méthyle...) après déprotonation avec le butyllithium (**Tableau 7**).¹⁸⁰ Chang en 2015, a repris cette approche pour synthétiser la propane sultone propargylique silylée **92** obtenue avec un rendement de 39% (**entrée 6 Tableau 7**).¹⁸¹ Plus précisément, le mode opératoire consiste en l'ajout du *n*-butyllithium (1 équiv) au goutte à goutte sur la propane sultone **79** (1.1 équiv.) dans le THF à -78°C (1.0 équiv.), puis après 15 min l'addition du bromure de propargyle triméthylsilylé **93** (1 équiv).

Tableau 7 : Synthèses décrites de sultones



Entrée	Réactif	Produit	Rendement	Référence
--------	---------	---------	-----------	-----------

¹⁷⁷ W. E. Truce, D. N. Burdge, R. J. Steltenkamp, *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 3913

¹⁷⁸ F. G. Bordwell, R. D. Chapman, C. E. Osborne, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 2002

¹⁷⁹ T. Durst, K.-C. Tin, *Can. J. Chem.* **1970**, 48, 845

¹⁸⁰ T. Durst, J. du Manoir, *Can. J. Chem.* **1969**, 47, 1230

¹⁸¹ C.-C. Chang, R. Letteri, R. C. Hayward, T. Emrick, *Macromolecules* **2015**, 48, 7843

1			R = <i>i</i> Pr 19% R = C ₆ H ₅ R = (C ₆ H ₅) ₂	68% 49%	Smith 1981 ¹⁸²
2				19%	Margelefsky 2007 ¹⁸³
3				30%	Schmitt 2011 ¹⁷⁵
4				90%	Schmitt 2011 ¹⁷⁵
5				51%	Priem 2012 ¹⁷⁶
6				39%	Chang 2015 ¹⁸¹

Dans le cadre de travaux préliminaires antérieurs à cette thèse, l'étude de la réaction pour la synthèse des sultones **90** et **94** a été entreprise au laboratoire¹⁸⁴ et a été comparée à celle du **92** utilisant le bromure de propargyle silylé **93**. Les résultats ont montré que l'obtention de la sultone propargylique **90** et originale était plus efficace en une seule étape avec un rendement de 40% et 20-35% en partant du bromure de propargyle non silylé **91**. Cette méthode permet de s'affranchir de l'étape délicate de déprotection des sultones **92** et **95** réalisée avec des rendements de 86% et 41%.

¹⁸² M. B. Smith, J. Wolinsky, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 101

¹⁸³ E. L. Margelefsky, R. K. Zeidan, V. Dufaud, M. E. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13691

¹⁸⁴ A.-E. Lafargue, Synthèse et réactivité de sultones pour le développement de biopharmaceutiques destinés à l'imagerie par tomographie par émission de positons. thèse, Caen, 2016

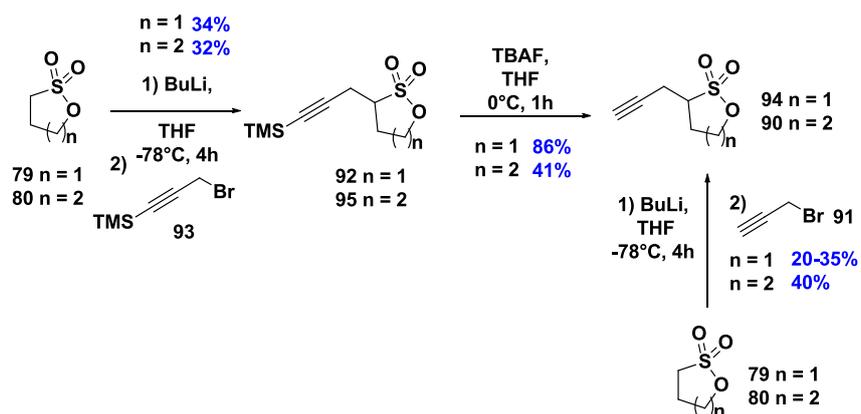


Schéma 4 : Synthèse de la propane ou butane sultone propargylique.

La littérature a montré que la propane sultone **79** est plus réactive et s'ouvre plus facilement que la butane sultone **80**. Néanmoins sa synthèse pose des problèmes de reproductibilité de par des rendements très variables. La butane sultone propargylique **90** est donc un bon compromis pour obtenir, après ouverture du cycle par un fluorure, un fluorosulfonate.

III. Résultats

La présentation des résultats est organisée en deux parties. La première est dédiée à la synthèse, la radiosynthèse et l'évaluation en imagerie TEP du [^{18}F]FLUSONIM, le premier dérivé développé dont la structure est la plus proche du [^{18}F]HX4. La seconde partie est consacrée au développement des autres analogues **69**, **70**, **71**, **72**, **73**, **74**, **96** et **97** (Figure 42) et aux résultats préliminaires d'évaluation *in vivo*.

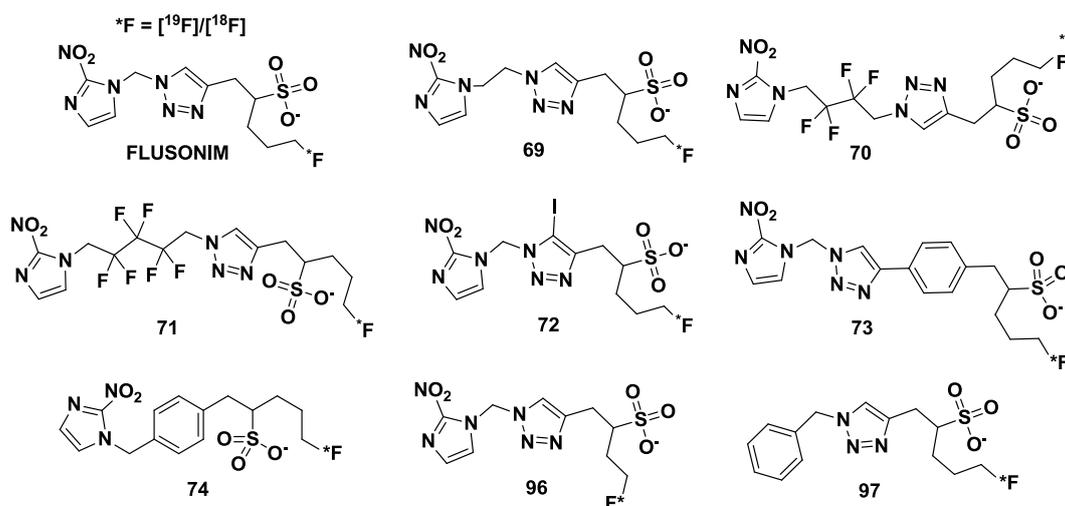


Figure 42 : Molécules cibles **69**, **70**, **71**, **72**, **73**, **74**, **96** et **97**

2) Le FLUSONIM

Le développement du [^{18}F]FLUSONIM a été initié dans le cadre de la thèse de A.E. Lafargue en 2016¹⁸⁵ et correspond à la structure la plus simple comportant le cycle 2-nitroimidazole **6** relié par l'atome d'azote en position 1 *via* le chaînon méthylène au cycle triazole, lui-même substitué par la chaîne alkyle comportant l'atome de fluor et le groupe sulfonate. Son précurseur pour la fluoration est la sultone **98** issu de la réaction de click entre l'azoture **99** et la sultone propargylique **90**. Nous avons entrepris de reprendre et d'optimiser à la fois sa synthèse, sa radiosynthèse et sa production sur automate pour effectuer son évaluation

¹⁸⁵ A.-E. Lafargue, C. Perrio, Composés utiles comme agents d'imagerie 47

dans différents modèles animaux (sarcome et glioblastomes) afin de le valider comme radiotracer pour l'imagerie TEP de l'hypoxie.

Le [^{18}F]FLUSONIM contient un groupe sulfonate issu de l'ouverture de la sultone **98** par un ion fluorure. Le précurseur du [^{18}F]FLUSONIM **98** est issu de la réaction de chimie click entre la sultone propargylique **90** et le composé azoture **99**.

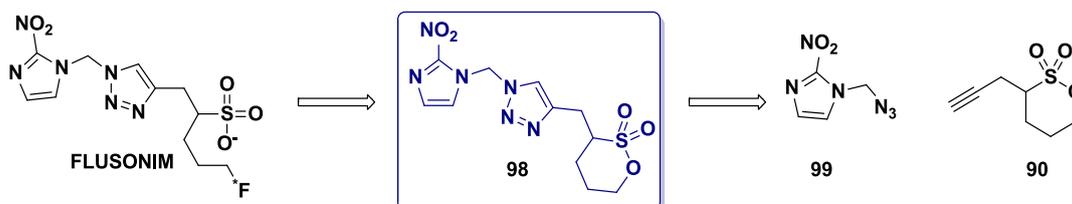


Figure 43 : Rétrosynthèse du [^{18}F]FLUSONIM

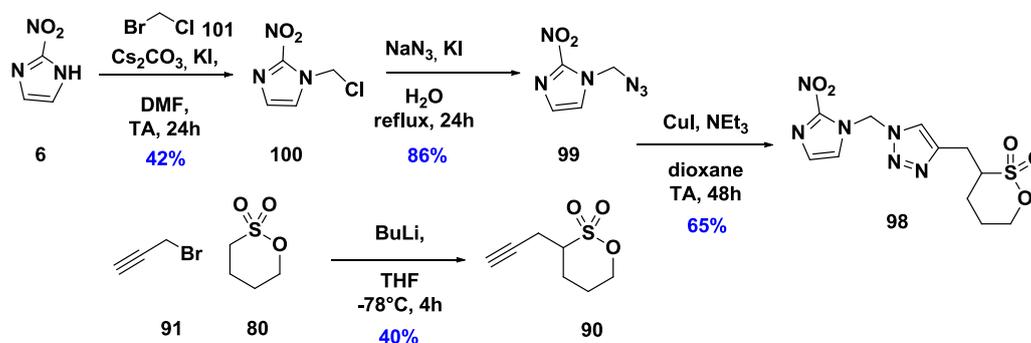
2.1. Synthèse du précurseur du [^{18}F]FLUSONIM

2.1.a) Approche utilisant le bromochlorométhane

La synthèse de la sultone **98** a été réalisée par chimie click entre la sultone propargylique **90** et l'azoture **99** préparé à partir de 2-nitroimidazole **6**. Le 2-nitroimidazole **6** a été converti en chlorométhyle 2-nitroimidazole **100** avec un rendement de 42% comme décrit dans la littérature¹⁸⁶ par réaction avec le bromochlorométhane **101** (20 équiv.) en présence de carbonate de césium (2 équiv.) dans le DMF à température ambiante pendant 24 h. Le rendement modeste obtenu s'explique par la faible nucléophilie du 2-nitro-1H-imidazole **6** rendant son alkylation difficile. Le prolongement du temps de réaction ou l'augmentation de température de réaction jusqu'à 100 °C n'a pas permis de rendre l'alkylation plus efficace. La réaction de l'intermédiaire chloré **100** avec l'azoture de sodium (3 équiv.) en présence d'iodure de potassium (0.5 équiv.) dans l'eau a conduit à l'azoture **99** avec un rendement de 85%. La sultone propargylique **90** a été préparée selon la méthode citée précédemment par alkylation avec le bromure de propargyle **91** de la butane sultone **80** déprotonée avec le n-butyllithium dans le THF à -78 °C avec un rendement modeste de 40%. La cycloaddition de CuAAC entre l'azoture **99** et la sultone propargylique **90** a été réalisée en présence de iodure

¹⁸⁶ M. Bonnet, C. R. Hong, Y. Gu, R. F. Anderson, W. R. Wilson, F. B. Pruijn, J. Wang, K. O. Hicks, M. P. Hay, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, 22, 2123

de cuivre (0.1 équivalent) et de NEt_3 (0.1 équivalent) dans le dioxane à température ambiante pendant 12 h. La sultone précurseur **98** a été obtenue avec un rendement de 85%. En bilan, la synthèse totale de la sultone précurseur **98** a nécessité 4 étapes et a conduit à un rendement global de 15%.

Schéma 5 : Synthèse du précurseur du [^{18}F]FLUSONIM **98**

Depuis 2017, le produit commercial chlorobromométhane **101** utilisé pour la synthèse de l'intermédiaire chloré **100** est soumis à la réglementation de l'EPA (Environmental Protection Agency) car il fait partie des substances appauvrissant la couche d'ozone. Celui-ci n'étant plus disponible, il nous a été nécessaire de chercher une autre voie de synthèse pour synthétiser la sultone précurseur **98**.

2.1.b) Approches alternatives

Nous avons envisagé deux rétro-synthèses distinctes (**Figure 44**) :

- La première met en jeu soit l'intermédiaire chloré **100** impliqué dans la synthèse précédente, mais celui-ci serait obtenu selon une méthode originale, soit un analogue possédant à la place de l'atome de chlore un groupe partant **Z** de type halogène ou tosylate. Dans les deux cas, la synthèse se poursuit par la substitution nucléophile du groupe partant avec l'azoture pour conduire à l'azoture **99**.
- La seconde approche permettrait d'obtenir la sultone **98** à partir de l'alkylation d'un triazole portant un groupe partant **Z**. Ce triazole serait obtenu par la réaction de chimie click entre la sultone propargylique **90** et un azoture, portant un groupe partant **Z**.

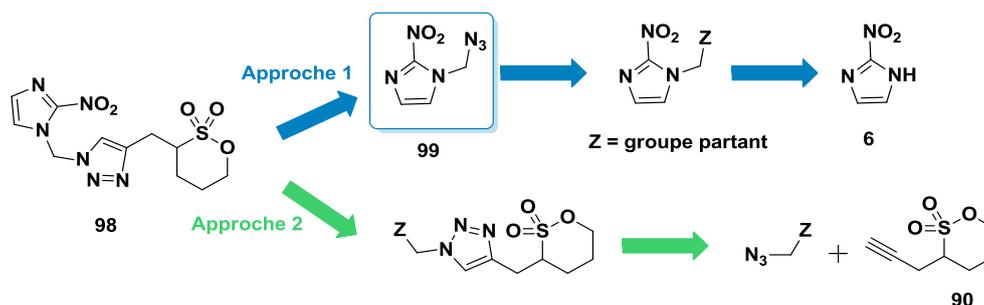
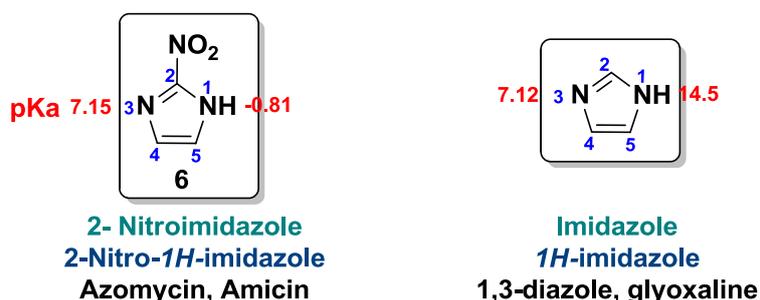


Figure 44 : Approches rétrosynthétiques

Dans tous les cas se pose la question de la réactivité du 2-nitroimidazole **6** dans la réaction d'alkylation. Le 2-nitroimidazole **6** est difficilement soluble dans les solvants organiques. D'autre part, la fonction nitro induit un effet inductif et mésomère attracteur, qui a pour conséquence d'appauvrir électroniquement le noyau aromatique et de diminuer la densité électronique sur l'atome d'azote. Les valeurs de pKa montrent que le 2-nitroimidazole **6** est une base beaucoup plus faible que l'imidazole non substitué.¹⁸⁷

Figure 45 : Structures du 2-nitroimidazole et de l'imidazole.¹⁸⁷

- Approche rétrosynthétique 1 : nouvelles synthèses de l'intermédiaire chloré **100** et de ses analogues

Les nouvelles synthèses envisagées de l'intermédiaire chloré **100** ou de ses analogues halogénés **102**, **103**, ou tosylés **104** consiste en l'alkylation directe du 2-nitroimidazole **6** avec un dihalogénométhane **105**, **106**, **107** ou un équivalent ditosylate **108** (voie 1) ou de son sel correspondant **109**, **110** ou **111** (voie 2, **Schéma 6**). La troisième voie met en jeu la synthèse

¹⁸⁷ C. E. Müller, In *Imaging of Hypoxia: Tracer Developments*; Machulla, H.-J., Ed.; Developments in Nuclear Medicine; Springer Netherlands: Dordrecht, 1999; pp. 47–59

des 2-nitroimidazoles fonctionnalisés puis leur conversion en dérivé halogéné **105**, **106**, **107** ou tosylé **108** (voie 3).

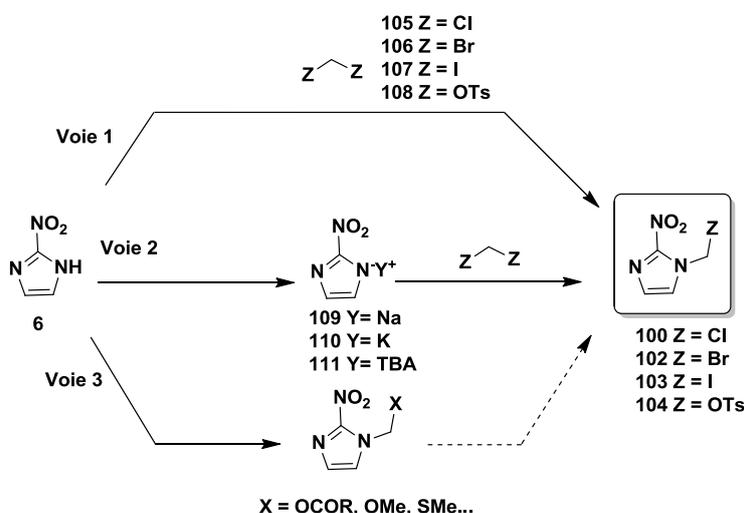


Schéma 6 : Différentes voies pour l'approche 1

Voie 1 :

Le 2-nitroimidazole **6** a tout d'abord été mis en réaction à température ambiante dans le DMF avec le dichlorométhane **105**, le dibromométhane **106** ou le diiodométhane **107** en présence de base Cs_2CO_3 , K_2CO_3 , NEt_3 (2 équivalents). Malgré de nombreux essais résumés dans le **Tableau 8** pour lesquels ont été changés le nombre d'équivalents du réactif dihalogéné, l'ordre et la vitesse d'ajout des réactifs, le temps de réaction, l'ajout de KI, la formation des composés souhaités n'a jamais été observée. Le 2-nitroimidazole **6** de départ a été récupéré intact la plupart du temps. Dans certains cas, nous avons pu constater la présence du produit bis-nitroimidazolique **112** confirmé par analyses RMN et HRMS.

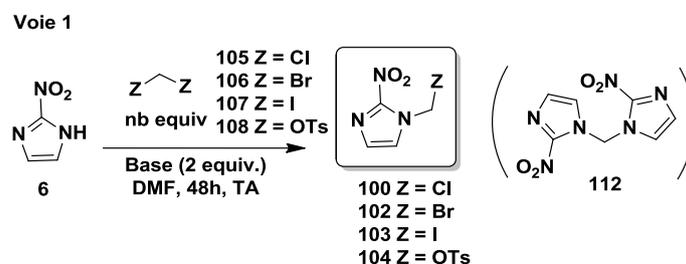


Figure 46 : Voie de synthèse n°1

Tableau 8 : Différents essais réalisés pour l'alkylation du 2-nitroimidazole avec un méthylène dihalogéné.

Entrée	X =	Equiv.	Base	Temps	Produit récupéré	Rdt (%)
--------	-----	--------	------	-------	------------------	---------

		(h)				
1	Br	20	Cs ₂ CO ₃	24	112	75%
2		30		24	112	75%
3		20	NEt ₃	16	NI	x
4		20	K ₂ CO ₃ /ACN	4 ^a	NI	x
5	Cl	30	Cs ₂ CO ₃	24	6	20
6		30	NEt ₃	24	NI	x
7		20	K ₂ CO ₃ /ACN	4 ^a	6	10
8	I	20	Cs ₂ CO ₃	48	NI	x
9		30		24	NI	x

NI = non identifié ^a80°C

En 2017, Cao a décrit l'alkylation du 2-nitroimidazole **6** avec l'éthylène bistosylate en présence de triéthylamine dans le DMF pendant 48 h avec un rendement de 43%.¹⁸⁸ Nous avons adapté cette réaction pour l'obtention du 2-nitroimidazolyméthyltosylate **104** en utilisant le méthylène bistosylate **108** précédemment décrit dans la littérature par Rodnick *et al.*¹⁸⁹ Le ditosylate **108** a été synthétisé par double substitution nucléophile du diiodométhane **107** avec le tosylate d'argent **113** dans l'acétonitrile à 80 °C pendant 20 h avec un rendement isolé de 60%, bien inférieur à celui de la littérature (80-90%). Nous avons envisagé une purification par simple filtration sur célite® (A) à la place de la purification par chromatographie sur gel de silice (B). L'alkylation du 2-nitroimidazole **6** a ensuite été réalisée dans le DMF avec le méthylèneditosylate **108** (1.1 équivalent). Nous avons fait varier certains paramètres tels que : la température, la nature et le nombre d'équivalents de la base (**Tableau 9**). A 50 °C, nous avons observé la dégradation du méthylèneditosylate **108**. L'utilisation des bases K₂CO₃, NaH ou *n*BuLi à la place de la Et₃N n'a pas été utile. La méthode de purification du méthylène ditosylate **108** (A ou B) semble avoir eu de l'influence sur la réaction (**entrée 1 et 2**). Malgré de nombreux essais nous n'avons pas pu obtenir un rendement supérieur à 28% pour le tosylate **104** obtenu avec 1.5 equiv de Et₃N à température ambiante. Ce faible rendement peut s'expliquer par la faible stabilité du méthylène ditosylate **108**.

¹⁸⁸ J. Cao, Y. Liu, L. Zhang, F. Du, Y. Ci, Y. Zhang, H. Xiao, X. Yao, S. Shi, L. Zhu, H. F. Kung, J. Qiao, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2017**, 312, 263

¹⁸⁹ M. E. Rodnick, A. F. Brooks, B. G. Hockley, B. D. Henderson, P. J. H. Scott, *Appl. Radiat. Isot.* **2013**, 78, 26

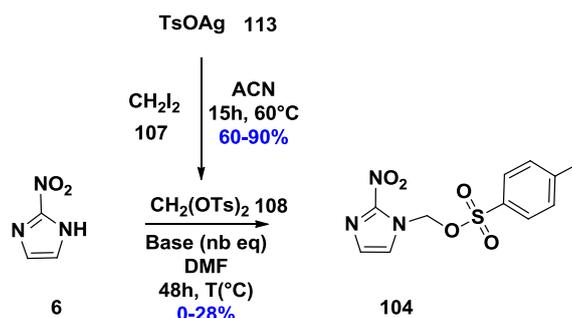


Schéma 7 : Synthèse du méthylèneditosylate 2-nitroimidazole.

Tableau 9 : Différentes conditions pour l'alkylation du 2-nitroimidazole avec le ditosylate.

Entrée	Purification de 108	Base	Base (nb eq)	Température (°C)	Rdt (%)
1	A	NEt ₃	1.5	25	15
2	B	NEt ₃	1.5	25	28
3	B	NEt ₃	1.5	50	7
4	B	NEt ₃	3	25	17
5	A	K ₂ CO ₃	3	25	7
6	B	NaH	1.5	25	15
7	B	n-BuLi ^a	1.5	25	12

A filtration sur célite® **B** chromatographie sur gel de silice. (a) Temps de réaction : 3 h

Afin d'améliorer le rendement de l'alkylation du 2-nitroimidazole **6**, le ditosylate **107** a été mis en réaction avec le NaI dans l'acétone pour former le dérivé iodé **114** décrit dans la littérature selon le groupe de Zheng en 2014.¹⁹⁰ Le iodométhyl tosylate **114** est formé avec un bon rendement de 85%. L'alkylation du 2-nitroimidazole **6** a ensuite été réalisée avec le iodométhyl tosylate **114** (5 équivalents) en présence de 2 équivalents de carbonate de césium dans le DMF à température ambiante pendant 24 h. Deux produits différents ont été identifiés et engagés sans purification intermédiaire dans la réaction d'azidation qui s'est avérée peu efficace avec un rendement de 20%.

¹⁹⁰ B. Zheng, R. J. Fox, M. Sugiyama, A. Fritz, M. D. Eastgate, *Org. Process Res. Dev.* **2014**, *18*, 636

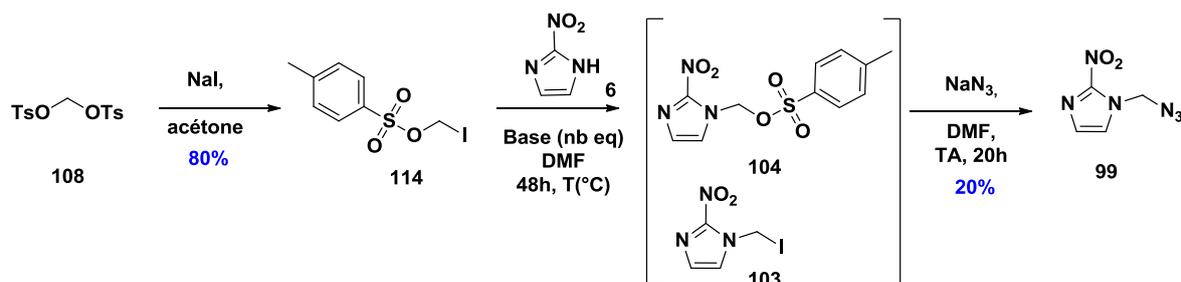


Figure 47 : Synthèse de l'azoture 99 à partir du ditosylate 108.

Voie 2 :

Nous nous sommes inspirés des travaux de Searcey en 1989 et de Long en 1991 qui décrivent l'alkylation avec le dibromoéthane d'un sel de 2-nitroimidazole ayant comme contre ion le tétrabutylammonium, le sodium, le potassium ou le lithium.^{191,192} Nous avons synthétisé le sel potassique **110** par réaction du 2-nitroimidazole **6** avec de l'hydroxyde de potassium dans l'eau. Le sel est séché sous vide et obtenu avec un rendement quantitatif. Le sel de tétrabutylammonium **111** a été isolé avec un rendement de 90% après agitation, à température ambiante pendant 3 h, d'un mélange biphasique eau/dichlorométhane avec le bromure de tétrabutylammonium (TBAB) et l'hydroxyde de sodium. La formation des sels **110** et **111** a été vérifiée par analyse RMN ¹H montrant la disparition du signal à 14,3 ppm correspondant au proton de la fonction amine et l'apparition de 4 signaux RMN (0.96, 1.51, 1.85, et 3.17) pour le contre ion TBA. Les sels **110** et **111** ont été mis en réaction avec les réactifs d'alkylation dihalogénés **105**, **106**, et ditosylate **108** utilisés précédemment. Avec le dibromométhane, seul le produit de double alkylation **112** a été isolé avec un rendement de 75%. Avec le dichlorométhane, nous n'avons pas observé de produit formé. Avec le ditosylate **108**, le produit attendu **104** a été obtenu avec un rendement de 15% (inférieur à celui de la voie 1).

¹⁹¹ M. Searcey, P. L. Pye, J. B. Lee, *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 1309

¹⁹² A. Long, J. Parrick, R. J. Hodgkiss, *Synthesis* **1991**, *1991*, 709

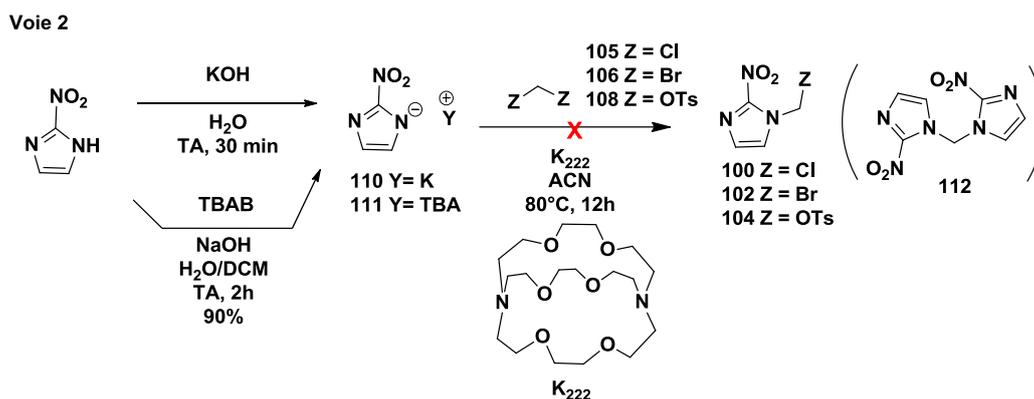


Schéma 8 : Formation des sels de 2-nitroimidazole.

Tableau 10 : Essais pour l'alkylation du 2-nitroimidazole sous forme de sel.

Entrée	X =	eq	Y =	Temps (h)	Pdt récupéré	Rdt (%)
1	Br	20	TBA	24	112	75%
2		20		120	NI	NI
3		30	K	24	112	70%
4	Cl	30	TBA	24	6	x
5		30	K	24	x	x
6	OTs		TBA	120	104	15%

NI = Non identifié

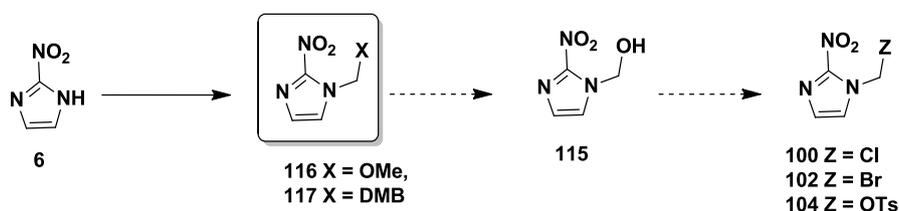
Voie 3 :La voie 3 met en jeu la formation du 2-nitroimidazole méthanol **115**.

Figure 48 : Formation de l'intermédiaire 115

Une méthode classique pour introduire un groupe hydroxyméthyle sur un cycle imidazole est la réaction de formylation. Celle-ci a été décrite par Deberardinis en 2010 à partir de l'imidazole non substitué avec un bon rendement de 82%.¹⁹³ Nous avons appliqué cette méthodologie au 2-nitroimidazole en utilisant le paraformaldéhyde dans le dioxane ou le formaldéhyde dans l'eau mais sans succès pour l'obtention de l'alcool **115** (Schéma 9).

¹⁹³ A. M. DeBerardinis, M. Turlington, J. Ko, L. Sole, L. Pu, *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 2836

Nous nous sommes alors tournés vers la synthèse des dérivés méthoxyméthyle **116**, diméthoxybenzyloxyméthyle **117**, et éthoxycarbonyle **118** pouvant conduire par déprotection, hydrolyse ou réduction au dérivé 2-nitroimidazole méthanol **115** (**Schéma 9**).

Le 2-nitromidazole **116** a été synthétisé à partir du 2-nitroimidazole en présence de Cs_2CO_3 (2 équivalents) et du chlorométhyl méthyléther (3 équivalents) dans le DMF à température ambiante avec un rendement de 80%. Le 2-nitroimidazole **116** a ensuite été chauffé en milieu acide ou en présence de tribromure de bore mais le composé **115** n'a pas été identifié (**Schéma 9**).

Le 2-nitromidazole **117** a été synthétisé avec un rendement de 85% à partir du 2-nitroimidazole **6** en présence de Cs_2CO_3 (2 équivalents) et du réactif chloré **119** (chlorométhyl-3,4-diméthoxybenzyl éther) dont la préparation est détaillée ci-après. La déprotection du composé DMB-2-nitroimidazole **117** a été effectuée dans un mélange DCM/ H_2O avec 1,1 équivalent de 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ). L'alcool **115** n'a pas pu être isolé (**Schéma 9**).

Le 2-nitromidazole **118** a été synthétisé à partir du 2-nitroimidazole **6** en présence de Cs_2CO_3 (2 équivalents) et du chloroformiate d'éthyle (1 équivalent) dans le DMF à température ambiante avec un rendement de 50%. La réduction du composé **118** a été envisagée avec différents hydrures dans le THF à 0°C ou température ambiante mais s'est avérée dans tous les cas inefficace (**Schéma 9**).

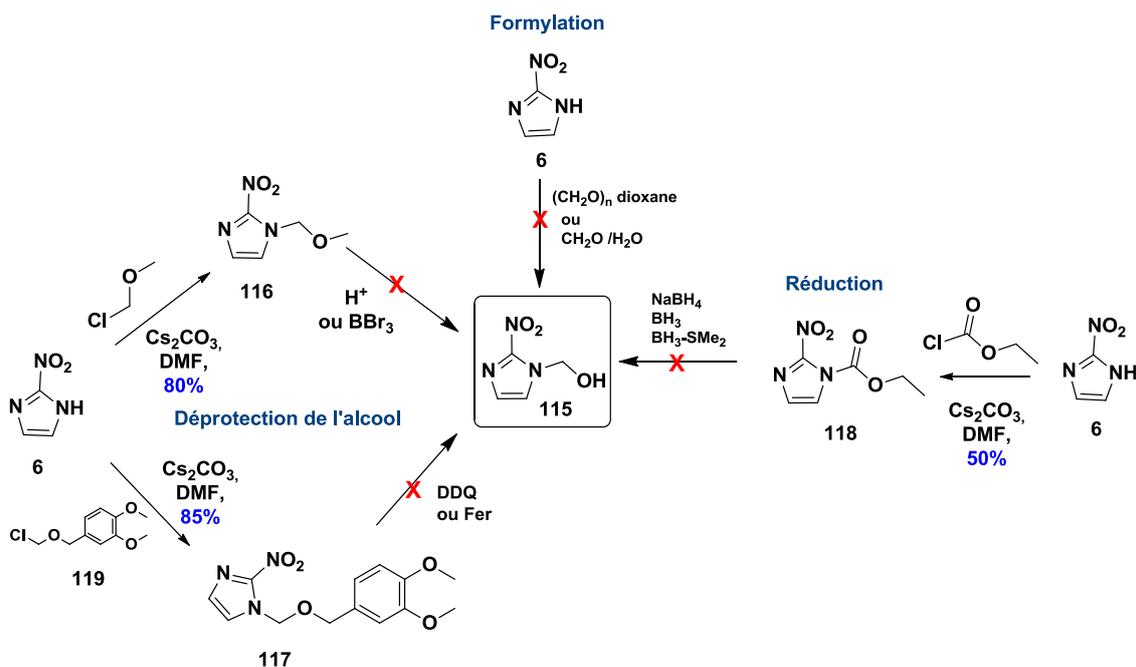


Schéma 9 : Essais pour synthétiser le 2-nitroimidazol méthanol

Nous nous sommes ensuite tournés vers de nouvelles approches de synthèse pour la formation des dérivés chloro ou bromométhyle **100** et **102**. La première consiste en la réaction d'halogénéation d'un dérivé tributylcarbonyloxyméthyle **120**.^{194,195} Le dérivé pivalate **120** est préparé à partir du 2-nitroimidazole **6** en présence de Cs₂CO₃ (2 équivalents) et du chlorométhyl pivalate (1.5 équivalent) dans le DMF à température ambiante avec un rendement de 61% avec le chlorure ou le bromure de triméthylsilyle. Après réaction dans le dichlorométhane à 0 °C pendant 2 h, nous n'avons pas observé la formation des produits halogénés souhaités mais observé la formation de l'hypothétique imidazole silylé **121** caractérisé par analyse RMN.

La seconde met en jeu le dérivé soufré **122** obtenu avec un rendement de 82% par alkylation du 2-nitroimidazole **6** avec le chlorométhyl méthylthioéther en présence de Cs₂CO₃ (2 équivalents) dans le DMF à température ambiante pendant 48 h. La chloration de **122** avec le chlorure de sulfuryle dans le dichlorométhane à température ambiante pendant 1 h n'a cependant pas permis d'obtenir le dérivé chloré **100**.

¹⁹⁴ S. Ren, D. Hesk, P. McNamara, D. Koharski, S. Borges, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2014**, 57, 632

¹⁹⁵ J. Court, T. A. Lessen, D. J. Hlasta, *ChemInform* **1995**, 26

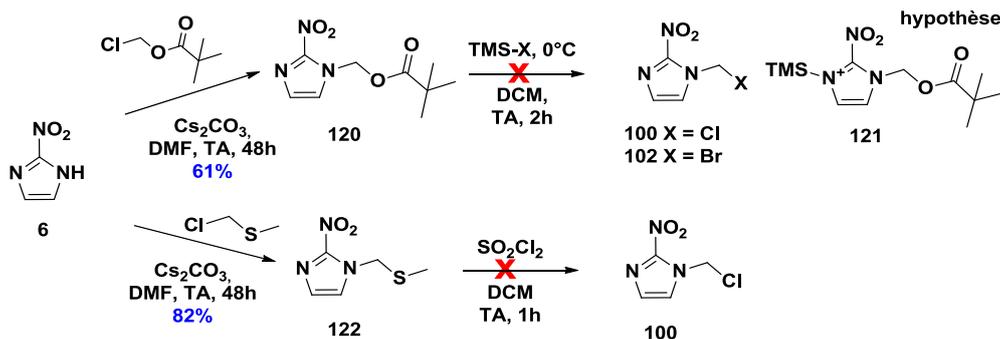


Schéma 10 : Essais pour la synthèse des dérivés chloré 100 ou bromé 102

En bilan aucune des voies 1, 2 et 3 ne s'est avérée efficace.

- 2^e approche rétrosynthétique

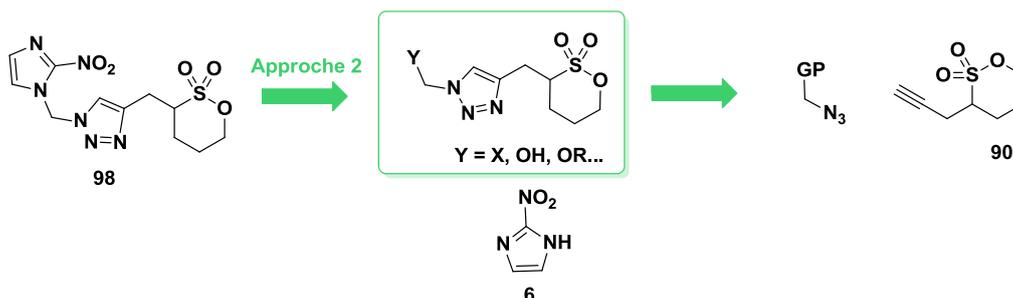


Figure 49 : Approche synthétique 2.

Nous avons abordé l'étude de la seconde approche rétrosynthétique en envisageant la synthèse de la sultone **98** à partir de la 2-nitroimidazole **6** et d'un halogéné ou sulfonaté. Ces derniers seraient obtenus selon une séquence « one-pot » en 2 étapes : formation in situ de l'intermédiaire azidométhanol **123** par réaction entre le formaldéhyde protoné et l'azoture de sodium puis réaction de chimie click avec la sultone propargylique **90** adapté de Kalisiak¹⁹⁶ et Moon.¹⁹⁷ Cependant, cette réaction a conduit au mélange des deux triazoles isomères **124** et **125** avec un rendement global de 2% seulement, car l'isomère non souhaité **125** est majoritaire. Le mélange d'isomères **124** et **125** non séparés a été directement

¹⁹⁶ J. Kalisiak, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3171

¹⁹⁷ B. S. Moon, B. S. Kim, C. Park, J. H. Jung, Y. W. Lee, H.-Y. Lee, D. Y. Chi, B. C. Lee, S. E. Kim, *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25*, 442

engagé dans la réaction de chloration avec le chlorure de thionyle dans le DCM. Puis le produit chloré **126** après purification, a été engagé dans une réaction de substitution nucléophile dans le DMF en présence du 2-nitroimidazole **6** (1 équivalent) et de 2 équivalents de Cs_2CO_3 à température ambiante pendant 48 h, afin d'obtenir la sultone **98** avec un rendement de 65%. Le rendement global de 2% est très faible à cause de l'isomérisation de l'intermédiaire **124**.

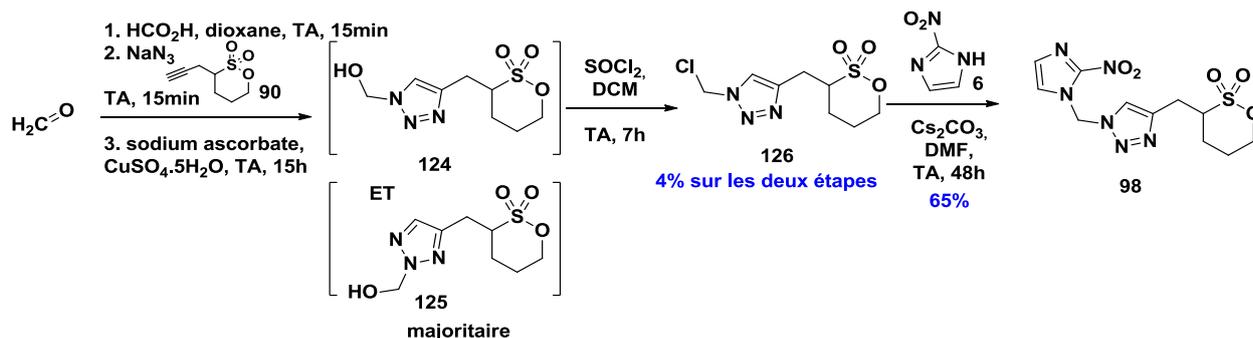


Figure 50 : Voie de synthèse 1, click effectuée sans protection de l'alcool.

Pour pallier le manque de sélectivité lors de la cycloaddition, nous avons entrepris de développer l'azidodiméthoxybenzyloxyméthane **127** un précurseur original. Le DMB (diméthoxybenzyl) a été utilisé comme groupement protecteur de l'hydroxyle. La déprotection du DMB peut s'effectuer avec le DDQ qui serait a priori chimiosélectif et inerte vis-à-vis des cycles sultone et triazole.

La synthèse de l'azidodiméthoxybenzyloxyméthane **127** a été réalisée en 3 étapes : 1) formation de l'intermédiaire **128** par réaction de Williamson entre l'alcool diméthoxybenzylique DMB-OH et le chlorométhyl méthyl thioéther. Le rendement obtenu de 61% est similaire à celui décrit dans la littérature (60%).¹⁹⁸ La deuxième étape est la chloration avec le SO_2Cl_2 du composé soufré **128** pour conduire à l'intermédiaire chloré **129**. Le composé **129** trop sensible pour être isolé a été mis en réaction avec de l'azoture de sodium (3 équivalents) dans le DMF à température ambiante pendant 12 h. L'azoture **127** attendu a ensuite été engagé dans la cycloaddition de Huisgen catalysée au cuivre avec la

¹⁹⁸ I. Hayakawa, K. Saito, S. Matsumoto, S. Kobayashi, A. Taniguchi, K. Kobayashi, Y. Fujii, T. Kaneko, H. Kigoshi, *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 124

sultone propargylique **90** pour former le triazole **131**. Après déprotection avec le DDQ, l'alcool **124** n'a pas pu être identifié. Nous n'avons pas poursuivi les investigations.

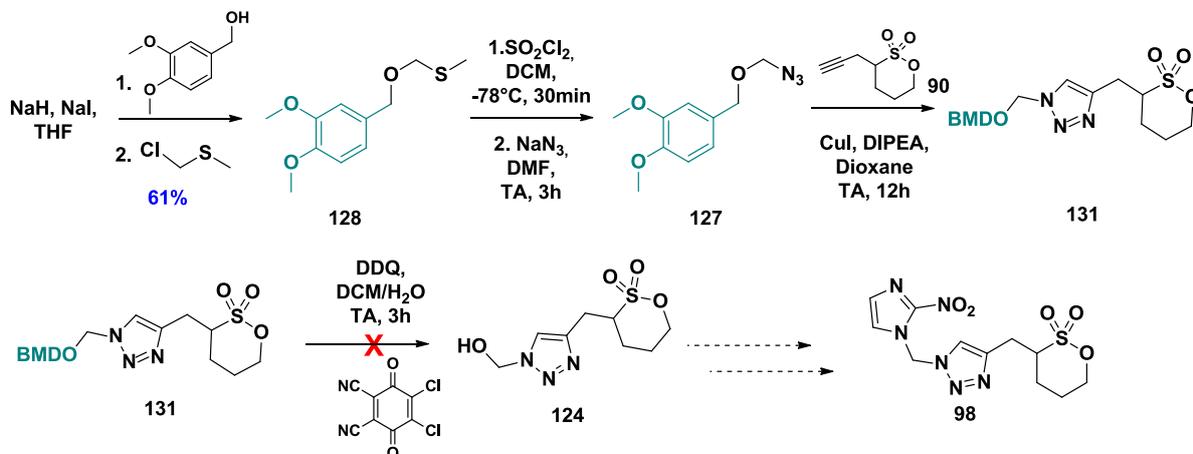


Figure 51 : Voie de synthèse 2 pour la synthèse du précurseur du [^{18}F]FLUSONIM.

Malgré les nombreux essais aucune des voies de synthèse étudiées n'a donné de satisfaction pour synthétiser la sultone **98** avec un bon rendement.

2.2. Fluoration et radiofluoration du [^{18}F]FLUSONIM

La sultone **98** a été traitée avec 1.1 équivalent de TBAF dans l'acétonitrile à température ambiante pendant 24 h (**Tableau 11, entrée 1**). Cependant la conversion n'étant que de 26%, la fluoration a ensuite été réalisée à 90°C afin d'obtenir une conversion quantitative. Après 1 h, la conversion de 82% a été atteinte (**Tableau 11, entrée 2**), elle est de 95% après 3 h (**Tableau 11, entrée 3**) et quantitative après 24 h (**Tableau 11, entrée 4**).

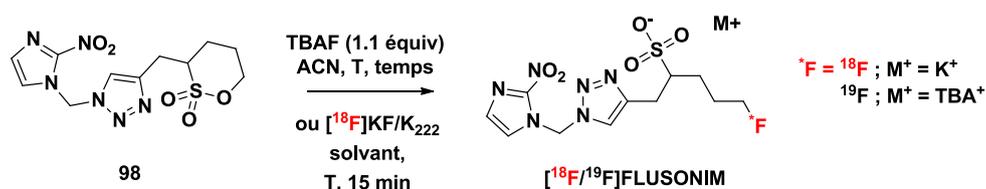


Figure 52 : Fluoration au fluor-19 et au fluor-18 du précurseur sultone **98** pour la synthèse du [$^{18/19}\text{F}$]FLUSONIM

Tableau 11 : Essais de fluoration avec le TBAF en chimie non radioactive.

Entrée	T (°C)	Temps (h)	Conversion ^a (%)
1	TA	24	26
2	90	1	81
3		3	95
4		24	100

^a déterminées par LCMS

Cette réaction a été transposée en radiochimie en utilisant le [¹⁸F]fluorure issu de la réaction nucléaire $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ au sein du cyclotron IBA Cyclone[®] 18/9 de Cycleron. Les ions [¹⁸F]fluorures, après production par irradiation d'une cible d'eau enrichie en ^{18}O par un faisceau de protons de 18 MeV, ont été retenus sur une cartouche échangeuse d'anions (QMA-CO₃ ABX) puis élués avec une solution de K₂CO₃ et K₂₂₂ (5 mg/20 mg) dans un mélange eau/acétonitrile (350/400 µL). Après séchage par distillation azéotropique sous courant d'azote à 110 °C, la sultone **98** en solution dans l'acétonitrile est ajoutée. La radiofluoration a été réalisée par chauffage à 110° ou 130°C pendant 15 min. Le [¹⁸F]FLUSONIM a été identifié par analyse HPLC qui révèle comme seul autre produit radioactif le [¹⁸F]fluorure qui n'a pas réagi. Une conversion maximale de 92% (déterminée par analyse HPLC du milieu réactionnel) est observée avec l'utilisation de 10 mg de sultone dans 1 mL ACN à 110°C (**Tableau 12**).

Tableau 12 : Tests en chimie faiblement radioactive pour la radiofluoration du [¹⁸F]FLUSONIM

Entrée	Masse précurseur 98	Solvant	Volume solvant (mL)	T (°C)	Conversion (%)
1	5	ACN	0.5	110	2
2	5	DMF	0.5	130	0
3	10	ACN	1	110	92
4	15	ACN	0.5	110	78

2.2.a) Purification par cartouches

Afin de faciliter le procédé de production, une purification du [^{18}F]FLUSONIM par SPE (Solid Phase Extraction) a été envisagée (Figure 53). Pour chaque test, les cartouches ont été préalablement conditionnées avec 10 mL EtOH puis 10 mL H₂O. Après radiofluoration, le mélange réactionnel brut a été concentré puis dilué dans l'eau et ensuite déposé sur la cartouche pour être élué, avec H₂O ou des mélanges H₂O et EtOH ou MeOH. L'éluât est analysé en HPLC et radioCCM. L'exemple illustré est celui de la cartouche C18.

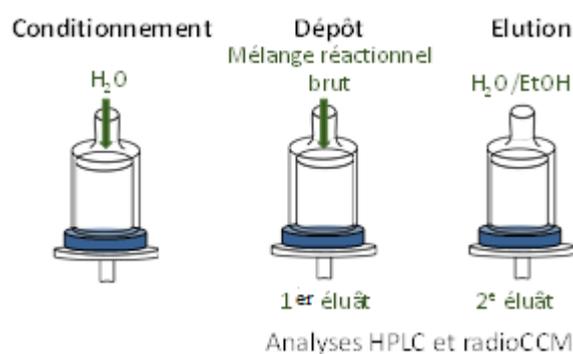


Figure 53 : Exemple pour le conditionnement et l'élué des cartouches

Une séparation efficace entre le [^{18}F]FLUSONIM et les [^{18}F]fluorures a été obtenue. En utilisant les cartouches C18 et tC18 (Waters), le [^{18}F]FLUSONIM (80-90%) a été retenu sélectivement sur la cartouche lors du dépôt. Le premier éluât est majoritairement composé de [^{18}F]fluorures (Figure 54 B)). Le [^{18}F]FLUSONIM a pu être ensuite décroché des cartouches par élution avec quelques pourcents (2-5%) d'EtOH (Figure 54 C).

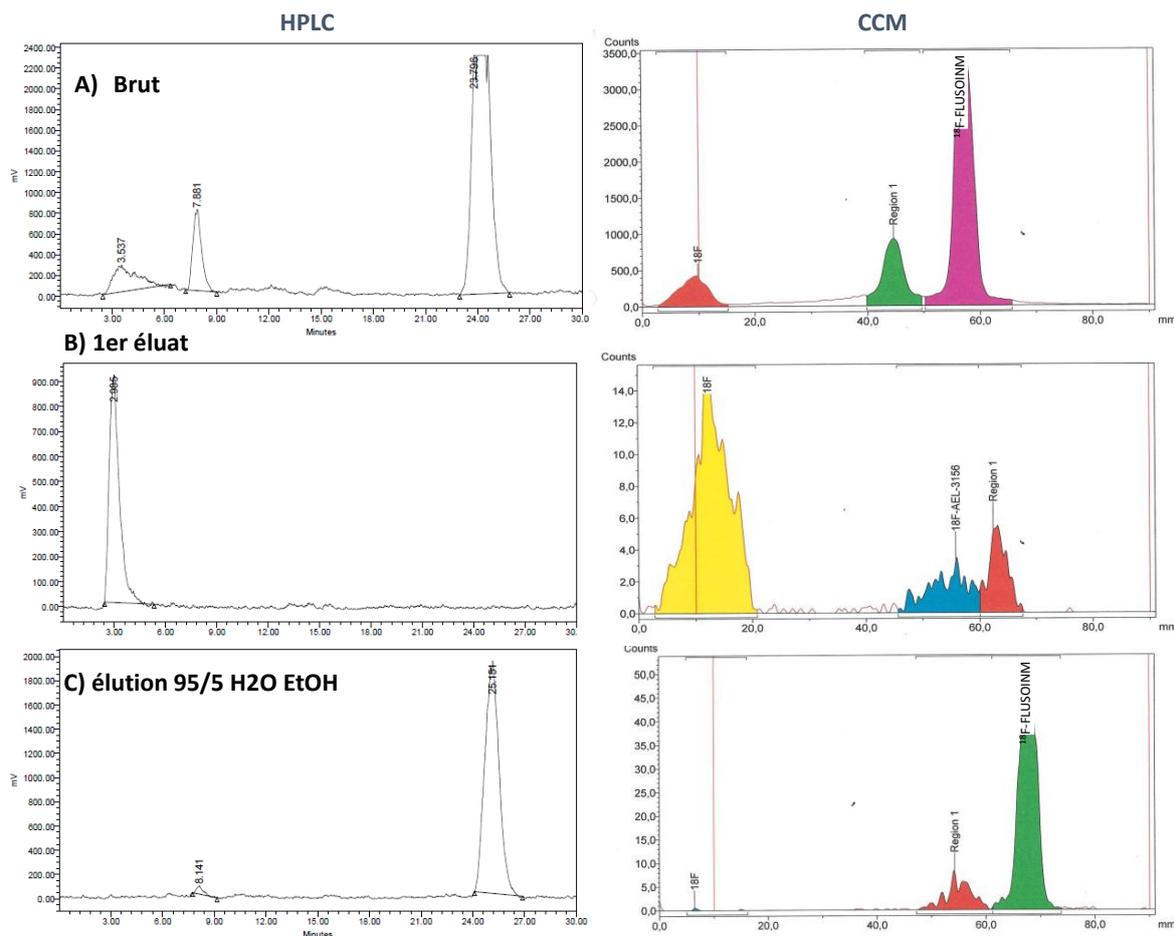


Figure 54 : Exemple de purification du $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM sur cartouche C18 chromatogrammes du détecteur radioactif de l'HPLC et radioCCM A) brut réactionnel B) de la première élution C) du décrochage du $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM avec 5% d'EtOH.

La cartouche Ag^+ , reconnue pour retenir les halogénures, a permis le piégeage exclusif des ions $[^{18}\text{F}]$ fluorures, le $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM n'étant pas retenu. Les cartouches silice, alumine, HR-XAW[®] et Oasis[®] retiennent quantitativement à la fois le $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM et les ions $[^{18}\text{F}]$ fluorures. L'élution ultérieure du $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM n'a pas été possible ou quantitative avec EtOH, MeOH seul ou en mélange avec NH_4OH . Les cartouches C18, tC18 et Ag^+ ont été sélectionnées pour la suite dans les travaux d'automatisation du procédé.

2.2.b) Automatisation de la radiosynthèse du $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM

La radiosynthèse du $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM a été transposée et optimisée sur l'automate de production GE TRACERlab FXFN afin de réaliser les études précliniques. Cette transposition a été facilitée par le fait que la radiosynthèse ne met en jeu qu'une seule étape : la radiofluoruration. La solution aqueuse de $[^{18}\text{F}]$ fluorures produite par le cyclotron est

transférée dans le “vial de départ” où l’activité initiale est mesurée. Ils sont ensuite transférés sous flux d’hélium pour être piégés sur la cartouche QMA Sep-Pak® Light. Après élution avec une solution de K_2CO_3 /Kryptofix 2.2.2 (1.76 mg/10.5 mg) dans le mélange eau/acétonitrile (350 μ L/450 μ L, vial 1), le complexe $K[^{18}F]F/K_{222}$ est récupéré dans le réacteur 1. Le réacteur 1 est chauffé à 90°C pendant 10 min puis l’acétonitrile (500 μ L, vial 2) est ajouté. Le chauffage à 90°C est poursuivi pendant 5 min sous pression réduite. Le réacteur est refroidi à 40°C puis le précurseur sultone dans l’acétonitrile (1.2 mL, vial 3) est ajouté. Le réacteur 1 (fermé) est chauffé à 110°C pendant 15 min puis refroidi à 40°C. Après évaporation du solvant, l’eau (2 x 2 mL, vials 5 et 6) est ajoutée en deux fois dans le réacteur 1. La solution finale est injectée en une seule fois en HPLC équipée d’une colonne semi préparative en phase inverse. Le $[^{18}F]$ FLUSONIM est collecté à 24 min dans le vial de produit (Figure 55).

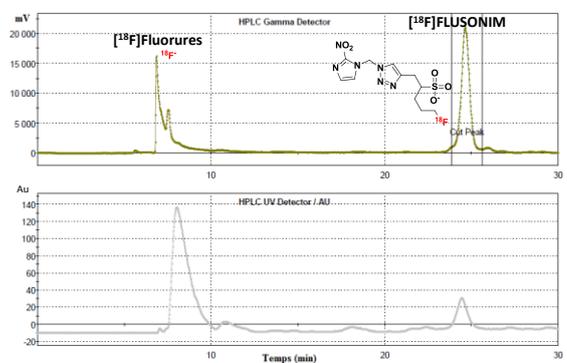
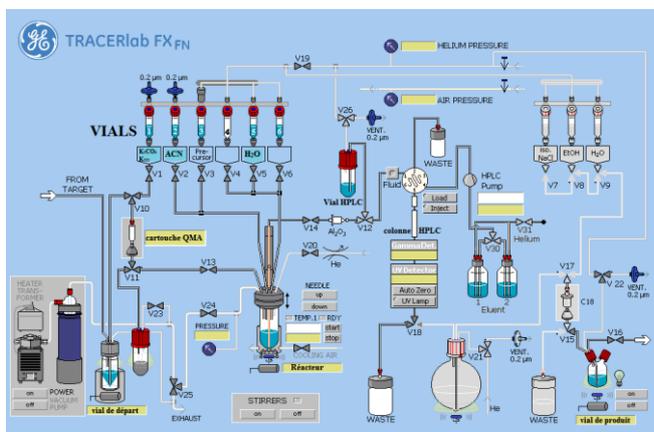


Figure 55 : A) Photo de l’automate FXFN. B) Schéma du logiciel TRACERlab pour l’automate FXFN C) chromatogrammes HPLC semi préparative détecteur UV et radioactif.

Dans le but d'obtenir une production la plus efficace possible, nous avons étudié l'influence des quantités de réactifs (K_2CO_3 , K_{222} , précurseur sultone **98**). En utilisant 5 mg de K_2CO_3 , 20 mg de K_{222} et 15 mg de sultone **98** (**Tableau 13 entrée 1**), le rendement final en [^{18}F]FLUSONIM a été de 26% corrigé de la décroissance, la conversion pour la réaction de radiofluoration étant évaluée à 65%. Avec des quantités plus faibles de K_2CO_3 , K_{222} et sultone **98**, respectivement 1.8, 10 et 5.2 mg, la conversion et le rendement global en [^{18}F]FLUSONIM ont été améliorés et ont atteint respectivement 73 et 44% (**entrée 2**). Enfin avec seulement 1 mg de précurseur sultone **98**, les quantités de K_2CO_3 (2.1 mg) et de K_{222} (6.8 mg) restant dans le même ordre de grandeur, le rendement radiochimique chute drastiquement à 14% seulement, la conversion étant de l'ordre de 50% (**entrée 3**). Ainsi, la quantité de sultone **98** est un facteur important pour l'efficacité de la radiosynthèse. La valeur de 5 mg environ a été estimée comme la plus adéquate. Il est à noter que la quantité de K_{222} et K_2CO_3 n'a pas eu d'impact sur la rétention puis l'élution des fluorures au niveau de la QMA, qui ont été dans tous les cas optimales, au-delà de 90%. Les différences observées entre les conversions et les rendements isolés s'expliquent par les pertes lors des transferts entre les différentes composantes du module. Celles-ci ont été évaluées à 8-9% (corrigées de la décroissance) par rapport à la quantité de radioactivité de départ. Les pertes principales (représentant en moyenne 70% de la totalité) se situent lors du transfert du mélange réactionnel après radiofluoration vers l'HPLC.

Tableau 13 : Essais de radiofluoration sur automate FXFN en faisant varier les quantités de réactifs.

Entrée	Quantité (mg)			Conversion (%)	Rdt (%)
	K_2CO_3	K_{222}	Sultone 98		
1 conditions initiales	5	20	15	65	26
2	1.8	10	5.2	73	44
3	2.1	6.8	1	50	14

En conclusion, les quantités de réactifs et solvants retenues pour les productions sont présentées dans le **Tableau 14**. En utilisant ces conditions, tous les essais de purification automatisée du [^{18}F]FLUSONIM sur cartouches comme testé en chimie faiblement radioactive, ont été infructueux, la pureté chimique et radiochimique se sont avérées

insuffisantes. Le [^{18}F]FLUSONIM n'a jamais pu être isolé avec une pureté radiochimie et chimique suffisante. La purification du [^{18}F]FLUSONIM a donc été réalisée par HPLC semi-préparative. Les conditions d'élution, ont été optimisées pour éviter une étape de formulation (gain de temps et de surcroît de quantité produite). Ainsi, l'utilisation d'un mélange EtOH/H₂O avec un tampon NaH₂PO₄ aqueux (10 mM injectable) (10/90) a permis de récupérer directement le [^{18}F]FLUSONIM en solution prête pour l'injection sans reformulation.

Tableau 14 : Préparation des vials de FXFN pour la préparation du [^{18}F]FLUSONIM.

Vial	Contenant	Quantité
1	K ₂ CO ₃ /K ₂₂₂ /H ₂ O/CH ₃ CN	1.76mg/10.5mg/350μL/400μL
2	Acétonitrile	500 μL
3	Précurseur /acétonitrile	5.2 mg / 1.2mL
4	Vide	x
5	H ₂ O	2 mL
6	H ₂ O	2 mL

Dans ces conditions, la radiosynthèse totale du [^{18}F]FLUSONIM à partir du [^{18}F]fluorure (25.9 GBq, 700 mCi) a été réalisée en 60 min avec un rendement radiochimique corrigé de la décroissance de 44%. Le contrôle qualité par HPLC analytique et radioCCM révèle des puretés chimique de 95% et radiochimique de plus de 98% du [^{18}F]FLUSONIM.

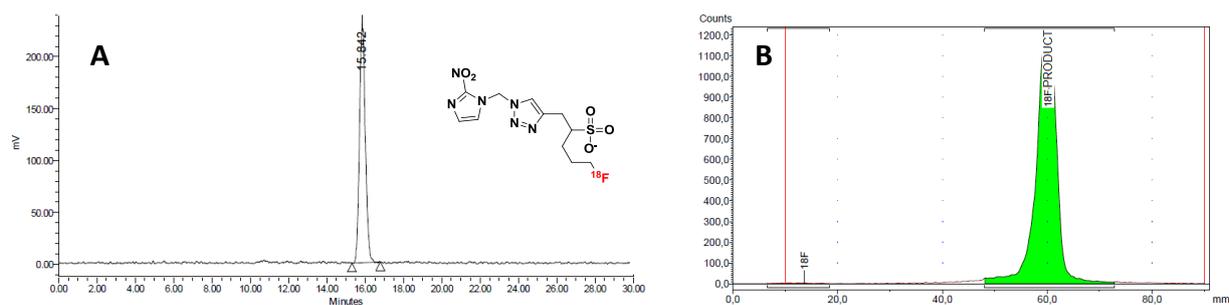


Figure 56 : Contrôle qualité. A = HPLC analytique ; B = radioCCM

2.3. Vers une synthèse GMP du [^{18}F]FLUSONIM pour des applications cliniques

Dans l'objectif d'une évaluation clinique, un transfert de la radiosynthèse du [^{18}F]FLUSONIM a été entrepris sur deux automates (GE MX et Allinone de TRASIS) présents dans les locaux de la salle blanche sur le site de Cyceron. Ces deux modules de production utilisent des cassettes stériles, indispensables pour la production de radiopharmaceutiques destinés à être injectés chez l'homme. Des modifications spécifiques pour la radiosynthèse du [^{18}F]FLUSONIM ont été effectuées sur ces deux modules et leurs cassettes associées, en particulier sur le module MX conçu au départ pour la radiosynthèse du [^{18}F]FDG purifié uniquement sur cartouche SepPak sans purification HPLC (Travaux réalisés par Stéphane Guillouet).

La mise au point des radiosynthèses sur ces deux automates a conduit à des productions de [^{18}F]FLUSONIM avec un rendement global de l'ordre de 38% (corrigé de la décroissance, n = 3) pour le module MX en 66 min et de 66% (corrigé de la décroissance, n = 3) pour le module Allinone en 53 min. Ainsi, 10 GBq/270 mCi de [^{18}F]FLUSONIM ont pu être isolé à partir de 18.5 GBq/500 mCi de [^{18}F]fluorure.

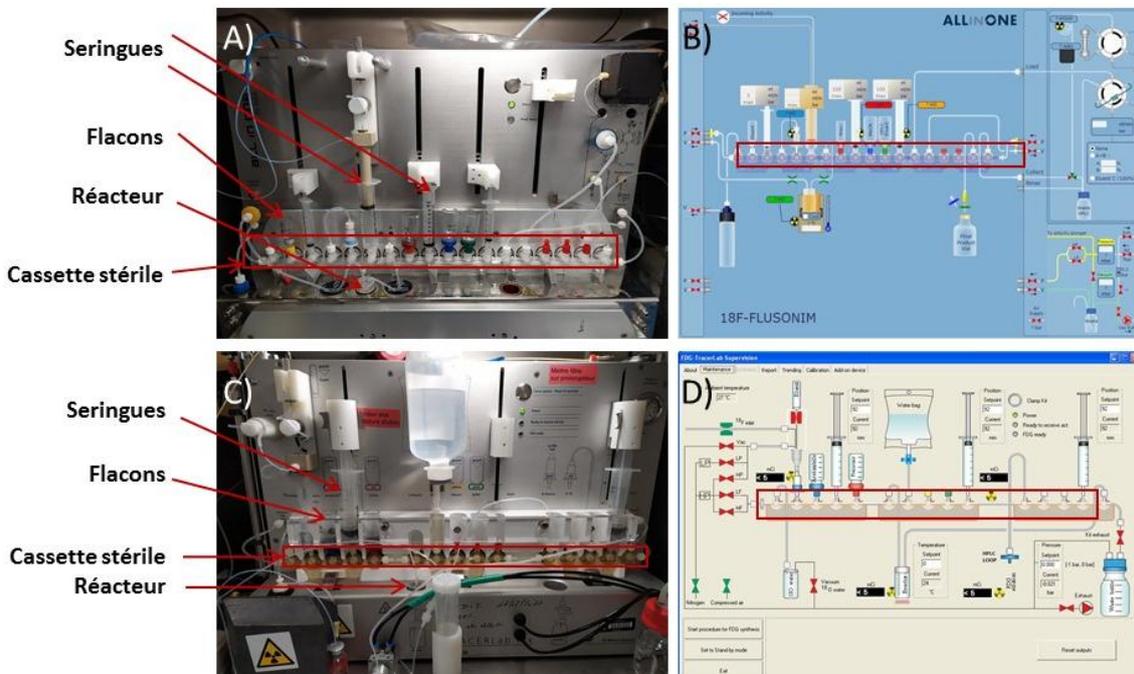


Figure 57 : A) Photo du module Allinone de Trasis B) Interface graphique C) photo du module TRACERlab MX B) Interface informatique

L'ensemble des mesures physico-chimiques exigées par les bonnes pratiques de fabrication selon la pharmacopée européenne pour le contrôle qualité avant l'injection à l'homme ont

été réalisées et trouvées conformes (**Tableau 15**). Néanmoins il reste à évaluer les traces de solvants par CPG, la stérilité des filtres et la mesures des endotoxines.

Tableau 15 : Contrôle qualité à effectuer avant l'injection chez l'homme

Contrôle	Méthode	Norme de conformité	Résultats
Apparence	Inspection visuelle	Limpide et incolore	☑
pH	Bandelette pH	4,5 < pH < 8,5	☑
Radioactivité volumique	Mesure Capintec	0,1 - 0,4 GBq/mL	☑
Identification et pureté chimique	HPLC analytique	à définir	☑
Identification et Pureté radiochimique	HPLC analytique et radio-CCM	[¹⁸ F]product > 95% [¹⁸ F]fluorure < 5%	☑
Identification radionucléidique	Calcul de la période	105 < T < 115 min	☑
Pureté radionucléidique	Spectre γ	511 keV	☑
Kryptofix résiduel	Test colorimétrique de mock 1997	[K _{2.2.2}] < 0,22 mg/mL	☑
Traces de solvants	CPG	[CH ₃ CN] < 0,41 mg/mL	NR
Intégrité du filtre	Test du point de bulle ^a	> 3,45 bar	NR

^aCe test correspond au point bulle¹⁹⁹ NR : non réalisé

2.4. Evaluation du [¹⁸F]FLUSONIM

Le [¹⁸F]FLUSONIM a tout d'abord été évalué chez le rat sain pour l'étude de sa biodistribution, de son élimination, et de sa stabilité *in vivo*. Le [¹⁸F]FLUSONIM a ensuite été étudié sur des modèles pathologiques de rhabdomyosarcome (modèle de référence utilisé en préclinique) de glioblastomes (GBM) avec différentes lignées cellulaires (hypoxiques, non hypoxiques, d'origine murine ou humaine) et de mélanome. Enfin la métabolisation de [¹⁸F]FLUSONIM a été étudiée sur un modèle de mélanome. L'imagerie TEP a été complétée par des études histologiques.

2.4.a) Pharmacocinétique chez l'animal sain

La pharmacocinétique de distribution, d'élimination et de métabolisation chez le rat sain (WISTAR) sont les premières études à réaliser pour le développement d'un nouveau radiotraceur. Le [¹⁸F]FLUSONIM a été injecté chez le rat sous la caméra TEP et la biodistribution a été suivie jusqu'à 60 min. Après une distribution rapide, le [¹⁸F]FLUSONIM

¹⁹⁹ S. Vallabhajosula, *Molecular imaging: radiopharmaceuticals for PET and SPECT*; Springer: Dordrecht, 2009

montre une rétention faible dans les tissus sains avec une élimination principalement rénale (**Figure 58**). Ceci représente un réel avantage reflétant une non fixation ou clairance rapide du [^{18}F]FLUSONIM des organes sains.

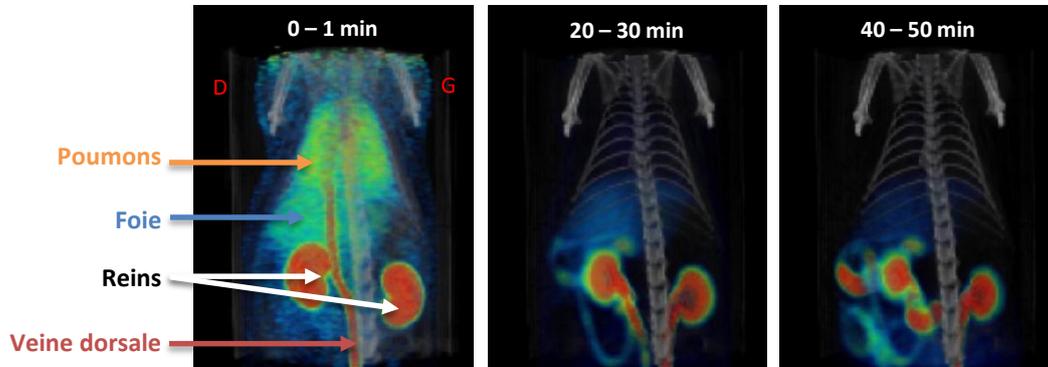
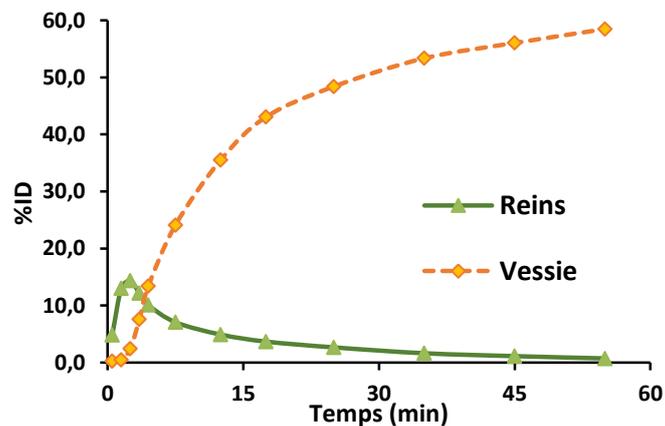


Figure 58 : Exemples d'images de fusion CT/TEP (vue dorsale) de la biodistribution du [^{18}F]FLUSONIM

Après 60 min, l'élimination du [^{18}F]FLUSONIM par la vessie représente 60% de la dose initiale injectée (%DI)(**Graphique 2**). Par ailleurs nous n'avons pas observé à 60 min une rétention significative du [^{18}F]FLUSONIM dans les reins, ceci présageant d'une absence de toxicité rénale.



Graphique 2 : Cinétique d'élimination urinaire pour le [^{18}F]FLUSONIM

L'imagerie TEP a été complétée par des études de dissection sur différents organes à 15, 30, 60 et 150 min (**Figure 59**). De manière générale la quantité de radioactivité diminue dans chaque organe avec le temps (de 0 à 150 min), excepté pour les reins. Par ailleurs, le taux de passage du [^{18}F]FLUSONIM à travers la BHE est particulièrement faible (%DI inférieur à

0.01% dans le cerveau), comme attendu par son hydrophilie ($\log D$: -3.23). Le [^{18}F]FLUSONIM a une élimination hépatobiliaire faible, un avantage pour de futures études, où aucune activité résiduelle parasite ne sera détectée dans l'abdomen durant l'imagerie.

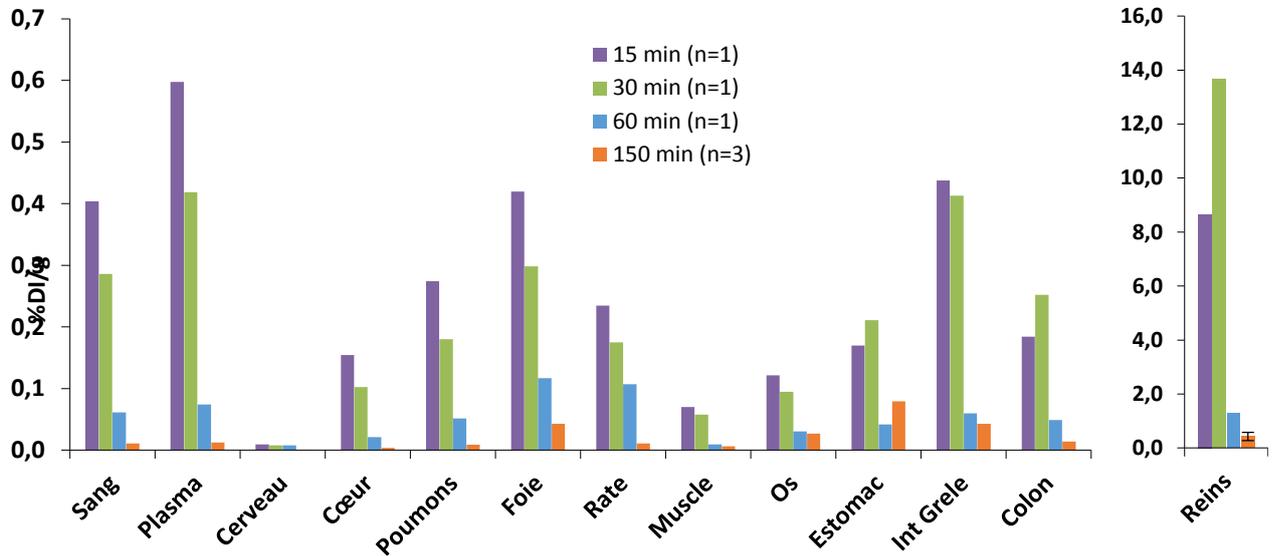


Figure 59 : Résultats de dissection et répartition du [^{18}F]FLUSONIM dans les différents organes à 15, 30, 60 et 150min ; les reins placés à part comprennent le maximum de radioactivité.

Nous nous sommes également intéressés à la stabilité du [^{18}F]FLUSONIM *in vivo*. Les études de biodistribution ont été complétées avec des prélèvements sanguins à 15, 30, 60 et 150 min ensuite analysés en HPLC. Le [^{18}F]FLUSONIM est stable *in vivo* jusqu'à 150 min et n'a présenté aucune métabolisation sanguine chez les animaux sains.

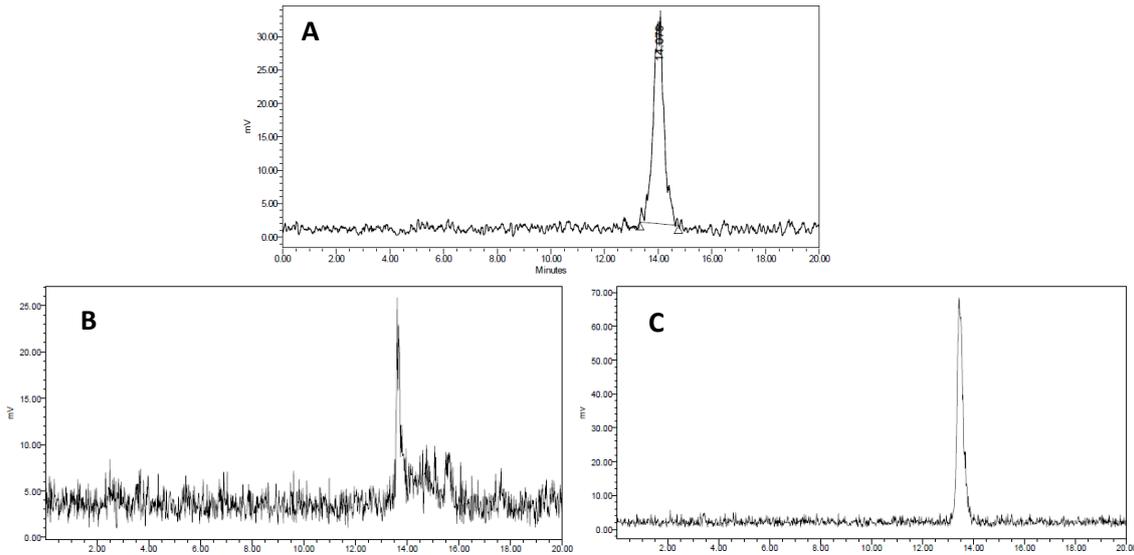


Figure 60 : Radiochromatogrammes A) contrôle qualité du FLUSONIM. Echantillons sanguins à B) 60 min et C) 150 min.

Ces premières études laissent penser que le $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ a de bonnes propriétés pharmacocinétiques. Cela est prometteur pour son développement en tant que radiopharmaceutique pour les cancers hypoxiques. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'évaluation du $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ sur des modèles animaux porteurs de tumeurs.

2.4.b) Evaluation dans le modèle de rhabdomyosarcome

Le rhabdomyosarcome (RMS) est une tumeur maligne agressive fréquente chez l'enfant se développant à partir des cellules musculaires squelettiques. Ce modèle animal est considéré comme une référence en imagerie de l'hypoxie et a déjà permis de comparer de nombreux radiotraceurs (Peeters *et al.* en 2015).¹¹² Le modèle nous a été fourni dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de Bénédicte Jordan (Université Catholique de Louvain). Après l'implantation des tumeurs, les animaux ont été imagés en TEP avec le $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ et le $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ pour comparaison.

Afin de comparer directement le $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ et le $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$, les niveaux de radioactivité sont normalisés par un organe de référence, nous avons choisi le muscle. Les

courbes de temps-activité du [^{18}F]FLUSONIM et du [^{18}F]FMISO sont exprimées en ratios tumeur/muscle (T/M) (Figure 61 A). Le [^{18}F]FLUSONIM permet d'obtenir des ratios T/M de l'ordre de 3.3 dès 30 min alors qu'ils sont de 2.5 pour le [^{18}F]FMISO. La différence est significativement supérieure entre 10 et 60 min pi (encadré en pointillé). Dans la littérature, Peeters *et al.* décrivent des ratios similaires pour le [^{18}F]FMISO à ceux mesurés. Dans ce même article, le [^{18}F]HX4 est également comparé : le ratio maximum T/M est de 3 atteint à 3 h pi. Les images TEP des coupes axiales fusionnées au CT de 40 à 60 min pour le [^{18}F]FLUSONIM et de 160 à 180 min pour le [^{18}F]FMISO sont présentées (Figure 61 C D). Les régions hypoxiques sont nettement identifiées et localisées dans le centre et la périphérie extérieure de la tumeur.

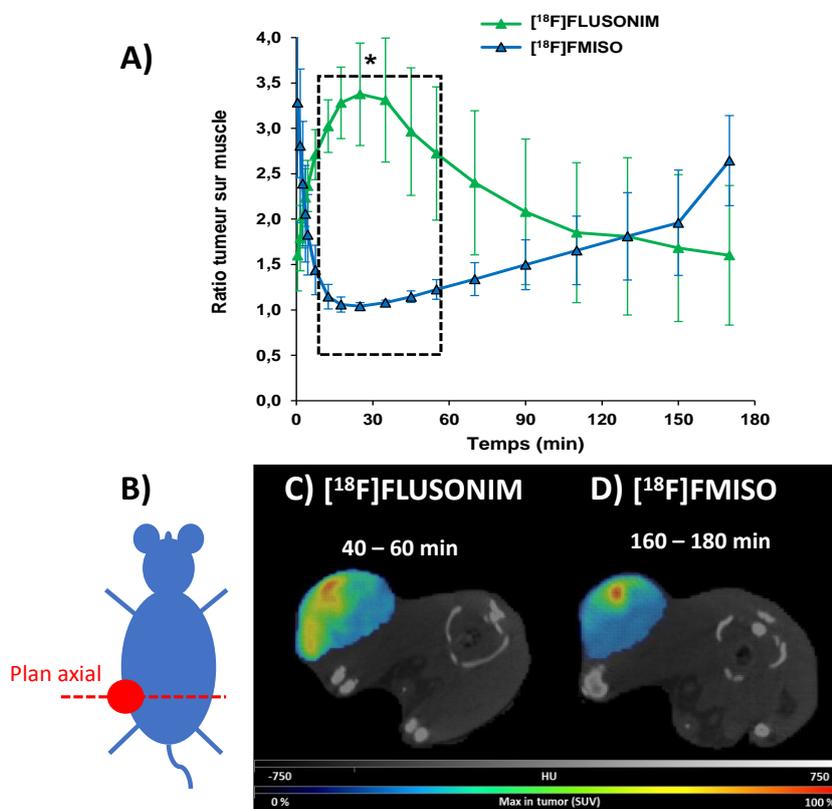
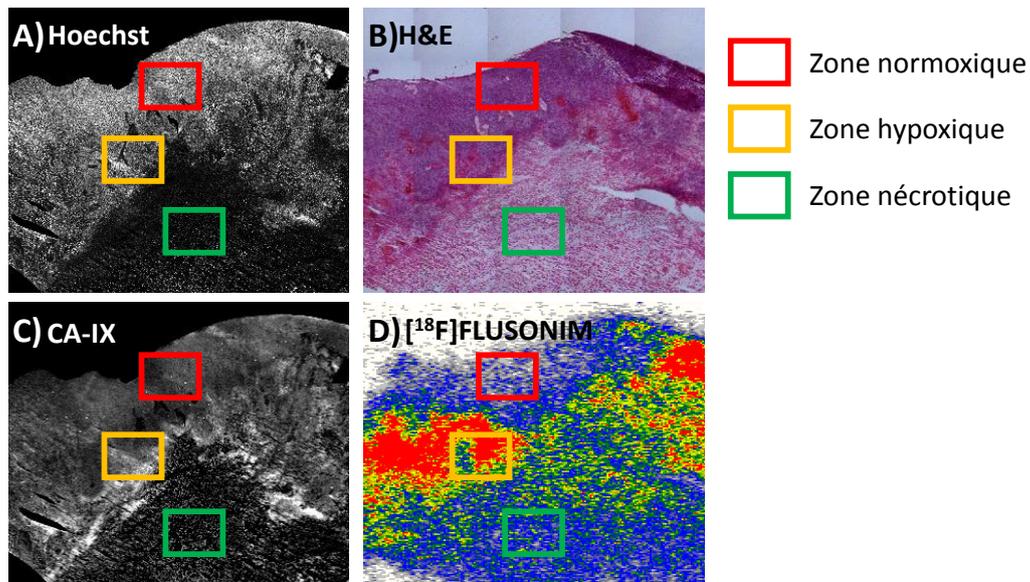


Figure 61 : A) Courbe de temps-activité en bleu le [^{18}F]FMISO et en vert le [^{18}F]FLUSONIM B) plan représentatif de l'animal portant la tumeur. Images représentatives en CT/TEP d'un même animal porteur de RMS. C) [^{18}F]FLUSONIM de 40 à 60 min D) [^{18}F]FMISO de 160 à 180 min

L'imagerie TEP a été complétée par des études histologiques afin de corréliser les zones hypoxiques identifiées avec le [^{18}F]FLUSONIM et un marquage spécifique du CAIX. Une autoradiographie du [^{18}F]FLUSONIM a été réalisée à 60 min pi. Les mêmes coupes ont été

colorées par l’H&E (densité cellulaire). Des coupes voisines ont été marquées au Hoescht (densité cellulaire) et par un anticorps spécifique du CAIX.

Trois régions d’intérêt ont pu être délimitées : une zone normoxique, hypoxique et nécrotique (Figure 62). La zone normoxique (en rouge) présente un fort marquage au Hoechst qui traduit une densité de cellules élevée. Elle a été corrélée à une faible coloration du CAIX. La zone hypoxique (en jaune) présente une forte coloration du CAIX (région blanche) et est corrélée à l’autoradiographie du [¹⁸F]FLUSONIM (pixels rouges). Les zones nécrotiques (en vert) présentent un faible marquage au Hoescht. Pour la quantification du [¹⁸F]FLUSONIM, on observe un niveau de radioactivité plus élevé dans les régions hypoxiques que normoxiques ou nécrotiques. Ainsi, ces études confirment que le [¹⁸F]FLUSONIM est un radiotraceur spécifique de l’hypoxie.



Zones	Densité cellulaire	Fraction hypoxique	[¹⁸ F]FLUSONIM Autoradiographie (60 min)
	<i>Hoechst (surface marquée %)</i>	<i>CA-IX (Surface marquée %)</i>	Niveau de Radioactivité (DLU/mm ²)
Normoxique	92.6 ± 1.6 %	8.2 ± 3.1 %	31 986.1 ± 2318.7
Hypoxique	59.4 ± 2.7 %	20.5 ± 1.3 %	75 384.2 ± 5005.4
Nécrotique	30.2 ± 2.2 %	pas Applicable	37877.5 ± 3856.5

Figure 62 : Images microscopiques de coupes adjacentes tumorales. A) Hoechst qui permet de colorer par fluorescence l’ADN B) H&E qui colore en bleu les noyaux des cellules et le cytoplasme en rose. C) anticorps qui révèle le CA IX. D) Autoradiographie du [¹⁸F]FLUSONIM à 60 min.

2.4.c) Modèles de tumeurs cérébrales

Les glioblastomes font partie des tumeurs primaires du cerveau les plus répandues, les plus agressives avec un faible pronostic de survie (médiane à 15 mois).⁸⁸ Une collaboration avec Mme Bernaudin (unité ISTCT à Caen), a permis de travailler sur trois modèles animaux : deux dont les souches de cellules de glioblastome sont d'origine murine : le modèle C6 connu pour son hypoxie et le modèle 9L faiblement hypoxique et un dont les cellules sont d'origine humaine, le modèle U251.

- Tumeurs C6 et 9L

Les tumeurs C6 présentent une augmentation du degré d'hypoxie avec l'augmentation de leur taille. Valable *et al.* ont montré par IRM que le volume hypoxique des tumeurs C6 est beaucoup plus important au 23^e jour qu'au 17^e après l'implantation des cellules chez l'animal (**Figure 63**).²⁰⁰

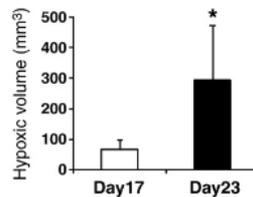


Figure 63 : Volumes hypoxiques 17 et 23 jours après implantation des cellules tumorales (Valable *et al.* 2011).

En accord avec les caractéristiques du modèle, les imageries TEP du [¹⁸F]FLUSONIM ont été réalisées sur deux semaines consécutives à un temps précoce (J15) et un temps tardif (J21). Une étude préliminaire du [¹⁸F]FLUSONIM sur le modèle C6, a été effectuée sur des acquisitions de 0 à 150 min (**Figure 64**). Comme pour le modèle de RMS, le [¹⁸F]FLUSONIM permet de réaliser une imagerie TEP plus précoce. Nous nous sommes focalisés sur des temps d'imagerie de 0 à 90 min pi et avons réalisé 13 acquisitions.

²⁰⁰ S. Valable, E. Petit, S. Roussel, L. Marteau, J. Toutain, D. Divoux, F. Sobrio, J. Delamare, L. Barré, M. Bernaudin, *Nucl. Med. Biol.* **2011**, S0969805111000382

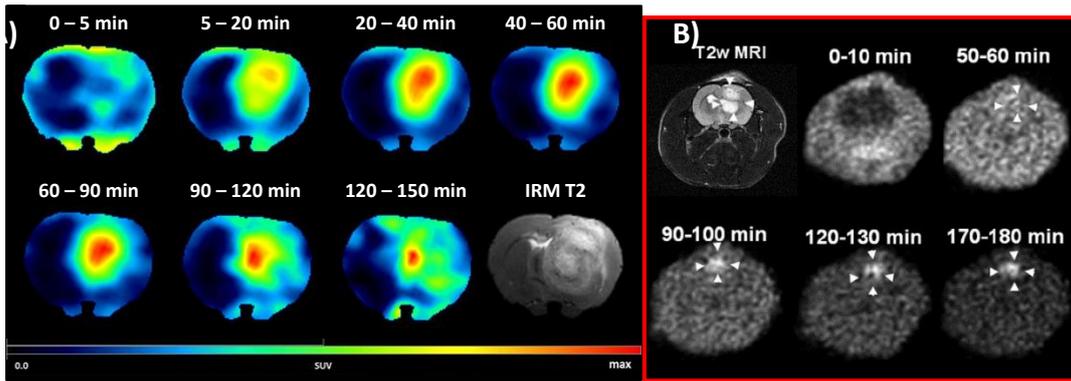


Figure 64 : Coupes axiales de l'imagerie TEP et IRM du A) $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM de 0-150 min à J-22 B) $[^{18}\text{F}]$ FMISO de 0-180 min images de Valable 2011, à J20 après implantation des cellules tumorales.

Pour la quantification, les ratios tumeur sur organe de référence sont considérés à partir des volumes tumoraux mesurés en TEP. Nous avons pris en compte deux tissus de référence pour le calcul des ratios, le muscle (où le ratio = T/M) ou le cerveau control latéral (T/CL). Les ratios T/CL ont atteint une valeur de 8 à partir de 45 min. Dans le cas où le muscle est pris comme référence, le ratio T/M atteint un maximum de 5 à partir de 50 min (Figure 65 A)). Valable *et al.* ont montré que l'imagerie du modèle C6 avec le $[^{18}\text{F}]$ FMISO doit être effectuée à 120 min pi afin d'obtenir un contraste maximum T/CL de 2,5 (Figure 65 B)). On rappelle que l'accumulation du $[^{18}\text{F}]$ FMISO au sein des cellules hypoxiques est lente (temps d'acquisition 3 h pi) quelle que soit le cancer concerné.^[120,113] De plus, le $[^{18}\text{F}]$ FMISO montre des ratios tumeur sur organes de référence faibles, cela étant expliqué par son excrétion lente des tissus sains (50%DI sont toujours présents dans le sang 2 h pi).^[121,122] L'imagerie du $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM sur le modèle C6 a montré une accumulation rapide dans la tumeur (dès 60 min) avec de hauts ratios T/M de 5 et T/CL de 8.

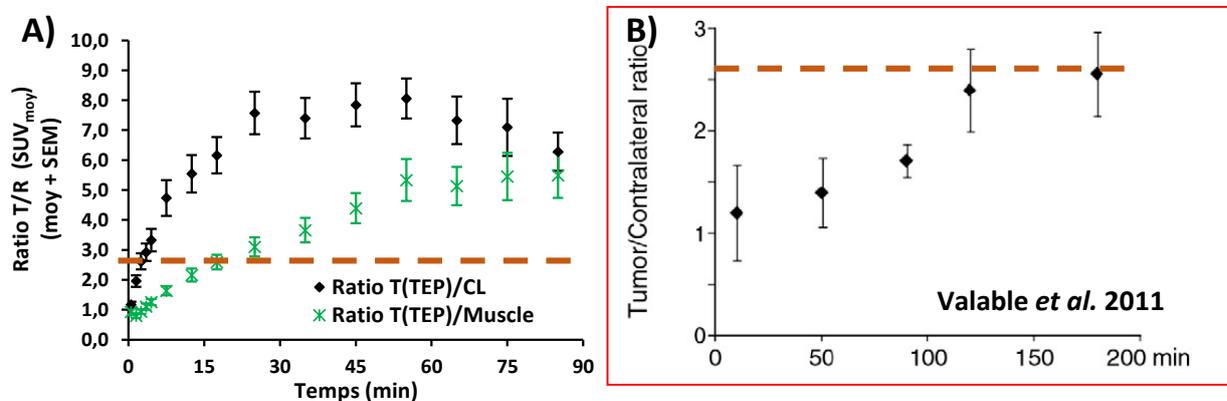


Figure 65 : Courbes de temps-activité A) $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM B) $[^{18}\text{F}]$ FMISO (Valable 2011)

Les calculs de SUV moyen dans la tumeur ont été réalisés pour le [^{18}F]FLUSONIM sur le modèle C6 à J15 et J22. Sur le modèle C6, le [^{18}F]FLUSONIM est détecté en plus grande quantité à J22 qu'à J15. Ces résultats sont corrélés avec la mesure des volumes tumoraux en IRM. Pour rappel le modèle C6 est connu pour l'augmentation du degré d'hypoxie avec la taille de la tumeur (Valable 2011). Ainsi la captation du [^{18}F]FLUSONIM est corrélée au degré d'hypoxie de la tumeur.

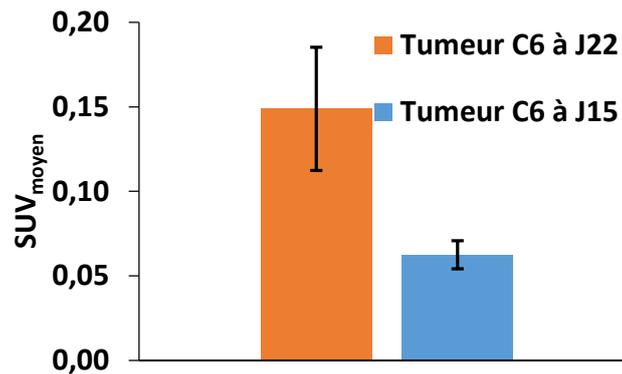


Figure 66 : SUV_{moyen} du [^{18}F]FLUSONIM dans la tumeur C6 à J15 et J22.

Les images TEP (de 60 à 80 min) et IRM du [^{18}F]FLUSONIM sur le modèle C6 sont présentées **Figure 67 A**). Le niveau maximum de radioactivité chez l'animal est observé dans la tumeur cérébrale, tous les autres organes présents sont dépourvus de radioactivité.

Le [^{18}F]FLUSONIM a été injecté sur le modèle 9L (non hypoxique) et l'imagerie TEP et IRM ont été réalisées (**Figure 67 B**). L'accumulation du [^{18}F]FLUSONIM dans le modèle 9L est significativement plus faible malgré la présence importante de la tumeur (pointillé rouge) confirmée par l'IRM du cerveau.

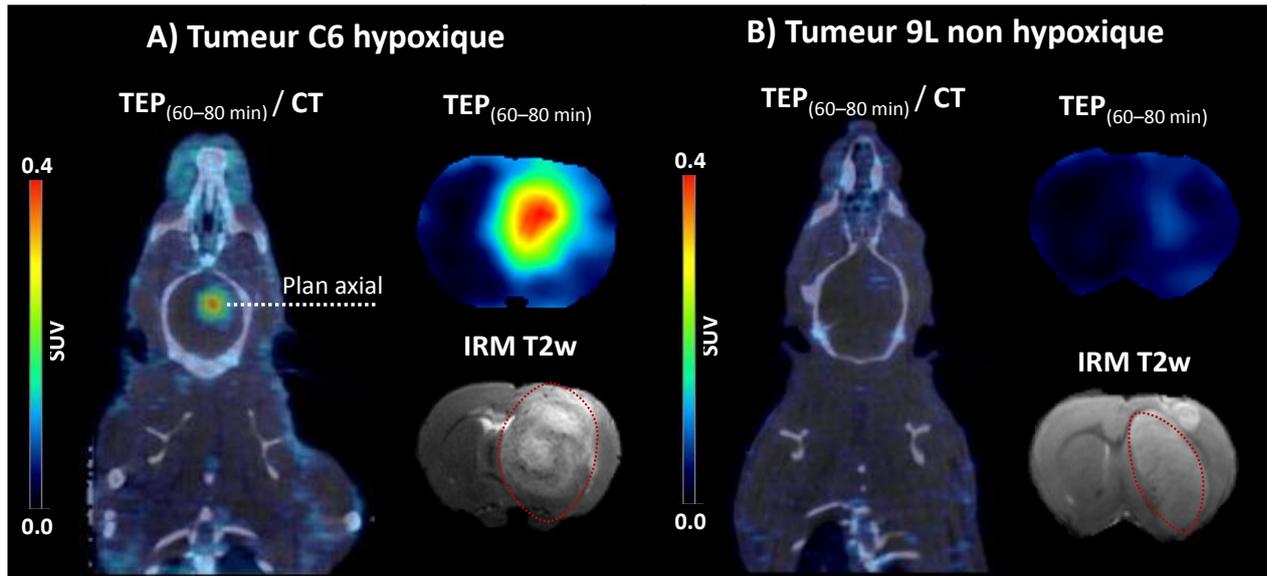


Figure 67 : Images TEP/CT de l'animal entier et coupe axiale TEP et IRM du $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM à 60-80 min sur A) le modèle C6 hypoxique ; B) le modèle non hypoxique 9L.

- Modèle de glioblastome U251 :

Le modèle de glioblastome U251 comprend des cellules d'origine humaine greffées de manière intracérébrale sur des rats immunodéficients. Le modèle U251 est un modèle beaucoup plus complexe connu pour générer de petites tumeurs, souvent problématique pour la mesure en TEP. L'imagerie du $[^{18}\text{F}]$ FMISO a déjà été effectuée sur le modèle U251 (Corroyer-Dulmont 2013).²⁰¹ L'objectif a été de comparer les performances du $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM et du $[^{18}\text{F}]$ FMISO sur ce modèle. Les volumes tumoraux mesurés par IRM sont plus bas que ceux des autres modèles C6 et 9L, et très hétérogènes (de 7 à 73.8 mm³). Toutes les tumeurs présentent un œdème péri-tumoral 2.5 fois plus gros que la tumeur.

Le $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM et le $[^{18}\text{F}]$ FMISO ont été injectés aux animaux anesthésiés sous la caméra TEP. Pour le $[^{18}\text{F}]$ FLUSONIM les ratios T/M et T/CL atteignent respectivement un maximum de 2.5 et de 6 à partir de 60 min. Pour le $[^{18}\text{F}]$ FMISO, les ratios T/M et T/CL atteignent un maximum de 1.7 à 120 min en accord avec ceux décrits (Corroyer-Dulmont 2013) (Figure 68).

²⁰¹ A. Corroyer-Dulmont, E. A. Pérès, E. Petit, L. Durand, L. Marteau, J. Toutain, D. Divoux, S. Roussel, E. T. MacKenzie, L. Barré, M. Bernaudin, S. Valable, *Biol. Chem.* **2013**, 394

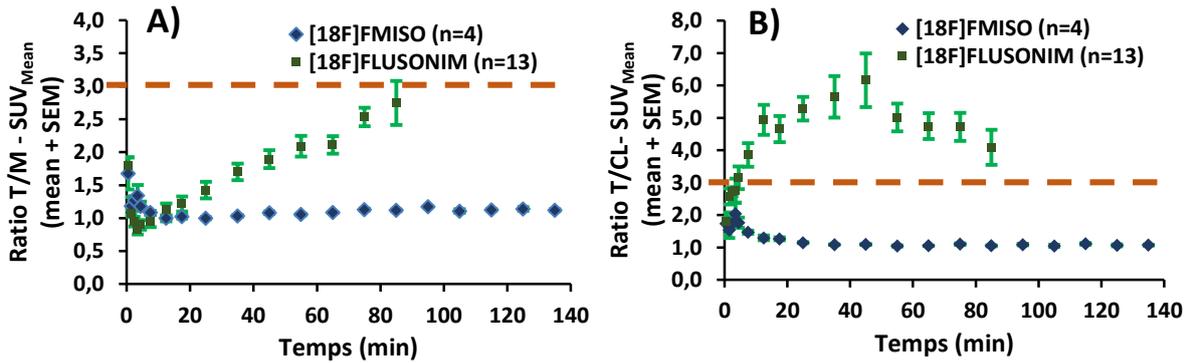


Figure 68 : Courbe temps-activité du $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ et du $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ en fonction de l'organe de référence A) Tumeur sur muscle B) Tumeur sur control latéral

Les images TEP du $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ (40 à 60 min pi) et du $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ (120 à 140 min pi) ainsi que l'IRM sur le modèle U251 sont présentées **Figure 69 A**). Le $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ est accumulé de manière évidente dans la tumeur laissant les tissus sains du cerveau exempt de toute radioactivité. L'imagerie du $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ montre une quasi-absence de rétention spécifique dans la tumeur. On observe difficilement la tumeur même après 140 min pi dans le cas où l'animal est anesthésié (**Figure 69 B**)). Les conditions d'anesthésie sont connues pour influencer le comportement de beaucoup de radiotracer.²⁰² Un second groupe d'animaux a été testé avec un réveil après injection puis anesthésié à nouveau lors de l'imagerie entre 120 et 140 min. Cette fois la tumeur est nettement visible et nous retrouvons les niveaux de radioactivité précédemment décrits (**Figure 69 C**)). Cependant les ratios (1.7 à 120 min pi) restent bien inférieurs à ceux du $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ (2.5 à 60 min pi). La sensibilité du $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ est mise à l'épreuve sur le modèle U251. La présence de petites tumeurs et l'anesthésie des animaux, difficilement évitable dans les protocoles précliniques, influencent très largement l'accumulation du $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ en ralentissant son élimination des tissus sains (déjà très lente). Le $[^{18}\text{F}]\text{FLUSONIM}$ affiche de hautes performances même sous anesthésie.

²⁰² V. Kersemans, B. Cornelissen, R. Hueting, M. Tredwell, K. Hussien, P. D. Allen, N. Falzone, S. A. Hill, J. R. Dilworth, V. Gouverneur, R. J. Muschel, S. C. Smart, *PLoS ONE* **2011**, 6, e25911

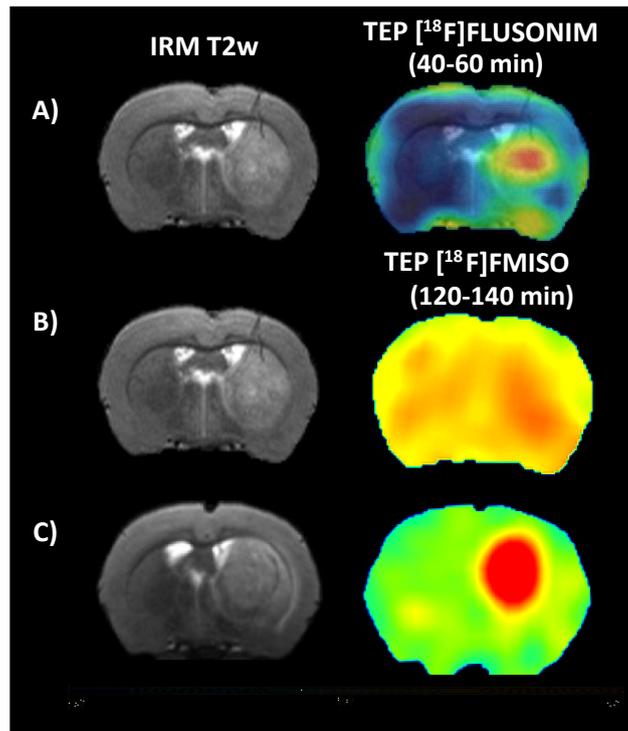


Figure 69 : Images TEP et IRM du A) [^{18}F]FLUSONIM 40-60 min avec anesthésie. B) [^{18}F]FMISO temps 120-140 min avec anesthésie. C) [^{18}F]FMISO temps 120-140 min avec réveil.

L'imagerie TEP a été complétée par des études histologiques sur les coupes de tumeurs cérébrales C6, 9L et U251. Le colorant Hoechst et un anticorps pour le marquage du CAIX ont été utilisés de nouveau. Le pimonidazole a également été utilisé, il permet de révéler les régions hypoxiques et doit être injecté au préalable sur l'animal vivant (voir partie 3.4)). L'objectif a été de corréliser la densité cellulaire à la présence de régions hypoxiques pour cartographier les tumeurs cérébrales.

La densité cellulaire révélée au Hoescht, est élevée pour tous les modèles. La présence de régions hypoxiques révélées par le marquage du pimonidazole et du CAIX est confirmée pour les modèles C6 et U251 (**Figure 70 A) et C)**). Des régions nécrotiques sont avérées seulement pour le modèle C6. Le modèle 9L montre une absence totale de régions hypoxiques (**Figure 70 B)**).

L'imagerie TEP du [^{18}F]FLUSONIM s'est avéré efficace pour diagnostiquer l'hypoxie présente dans les modèles C6 et U251.

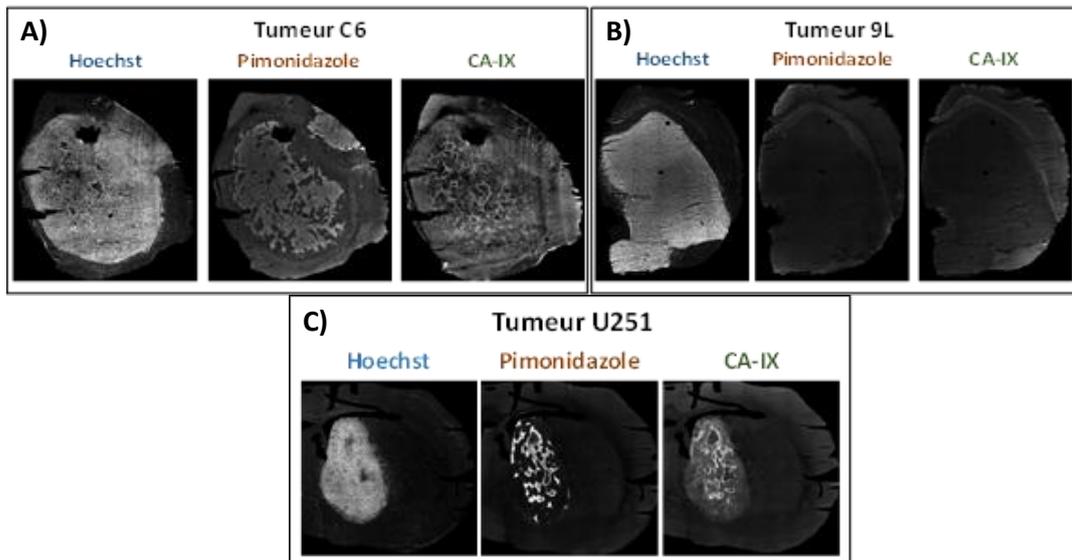


Figure 70 : Coupes de tumeurs révélées avec différents colorants pour les modèles A) C6 B) 9L C) U251

2.4.a) Evaluation sur un modèle de mélanome murin

Une collaboration avec l'équipe de S. Dedieu (laboratoire MEDYc UMR CNRS 7369, Reims) a permis d'évaluer le [^{18}F]FLUSONIM sur un modèle murin de mélanome. L'imagerie n'ayant pas encore été analysée, nous nous intéressons à la distribution et la métabolisation du [^{18}F]FLUSONIM chez ces animaux porteurs de tumeur. L'objectif est d'attester de la transformation du [^{18}F]FLUSONIM dans les tissus hypoxiques. Des prélèvements de tissus (muscle, tumeur, sang) ont été effectués à 1 h pi chez l'animal porteur de mélanome. Les niveaux de radioactivité ont été mesurés dans ces tissus (**Figure 71 A**) montrant la tumeur comme ayant le niveau de radioactivité le plus élevé. Les échantillons de tumeur et de sang sont ensuite traités pour extraire la radioactivité (broyage, déprotéination à l'acétonitrile, centrifugation). Cela nous permet de récupérer le surnageant, appelé «fraction libre» qui est la radioactivité non liée aux protéines. Le culot, quant à lui contient la radioactivité «liée aux macromolécules» (**Figure 71 B**). La fraction libre pour le plasma et la tumeur analysées en HPLC (**Figure 71 C**) montrent la présence de radiométabolites et du [^{18}F]FLUSONIM. L'étude montre que les mêmes métabolites sont présents dans le plasma et la tumeur en même quantité soit 27% des échantillons injectés (**Figure 71 D**). La métabolisation du [^{18}F]FLUSONIM représente 18% du sang prélevé, ce qui n'avait jamais été observé chez les animaux sains, et 17% de la tumeur confirmant l'hypothèse que les métabolites peuvent ressortir de la cellule et être circulant.²⁰³ De plus, 35% de la radioactivité est retenue dans le culot de protéines sanguines et 44% pour l'échantillon de la tumeur. Des analyses complémentaires sont encore nécessaires, néanmoins la métabolisation du [^{18}F]FLUSONIM a été observée dans ce modèle de tumeur hypoxique.

²⁰³ Y. Masaki, Y. Shimizu, T. Yoshioka, K. Nishijima, S. Zhao, K. Higashino, Y. Numata, N. Tamaki, Y. Kuge, *Ann. Nucl. Med.* **2017**, *31*, 596

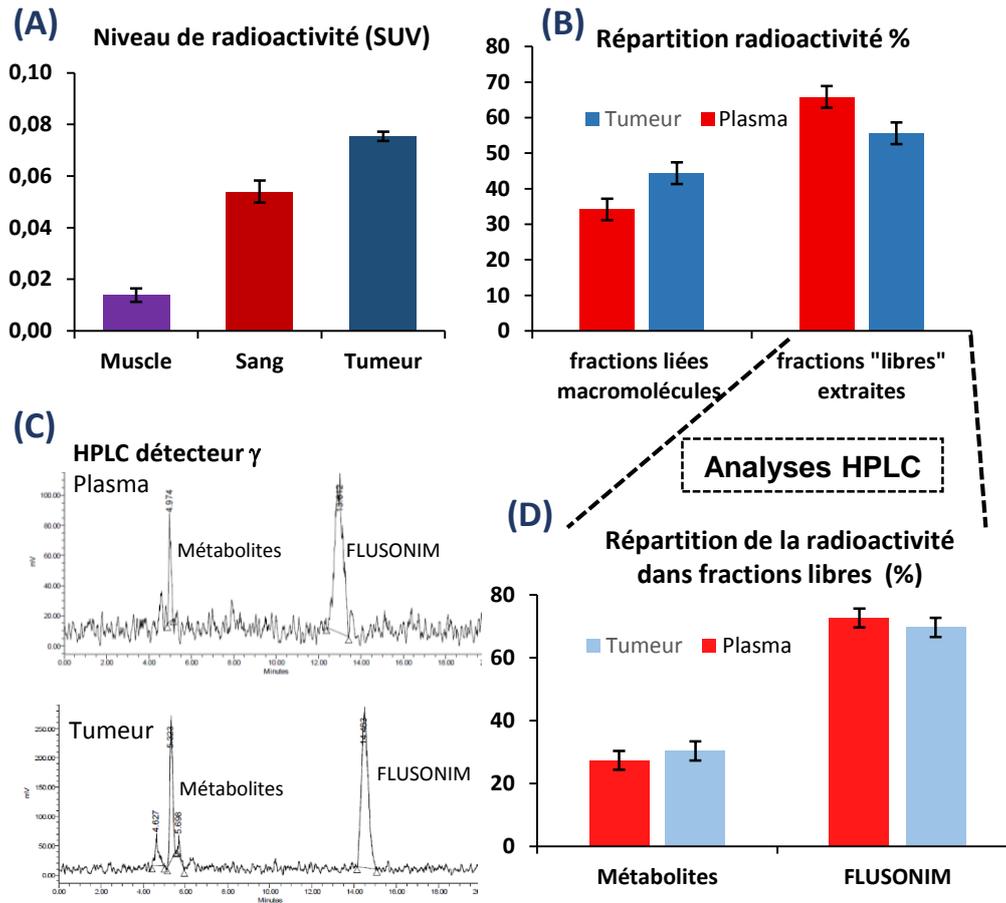
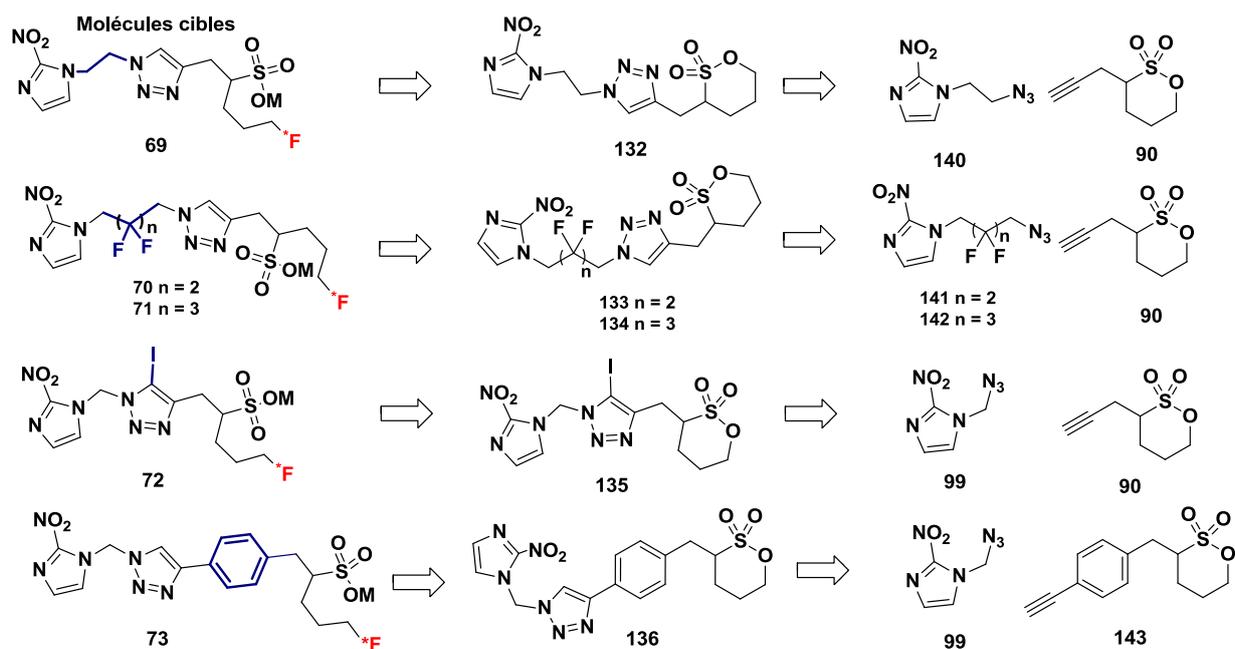


Figure 71 : Etudes radiométriques. (A) niveaux de radioactivité sur les différents tissus prélevés. (B) Répartition de la radioactivité sur les tissus prélevés. (C) Analyses de la fraction libre par HPLC pour la tumeur et le plasma. (D) Répartition de la radioactivité sur la fraction extraite.

3) Développement d'analogues du FLUSONIM

3.1. Présentation

Afin d'évaluer l'impact du caractère hydrophile du radiotracer sur la qualité de l'imagerie de l'hypoxie, nous avons entrepris une étude de relation « structure-activité » sur la pharmacomodulation du [^{18}F]FLUSONIM. Dans ce cadre nous avons envisagé la synthèse, la radiosynthèse et l'évaluation *in vivo* des 8 analogues **69**, **70**, **71**, **72**, **73**, **74**, **96** et **97**. Comme pour le [^{18}F]FLUSONIM, les précurseurs de radiomarquage de analogues **69**, **70**, **71**, **72**, **73**, **74**, **96** et **97** sont de structure sultone respectivement **132**, **133**, **134**, **135**, **136**, **138**, **137** et **139** (Figure 72). Nous avons opté pour une méthodologie de synthèse globale et commune basée sur la cycloaddition de Huisgen entre les azotures **99**, **140**, **141** et **142** possédant le cycle 2-nitroimidazole **6** et les alcynes **90**, **94** et **143** comportant le motif sultone. Ce schéma implique au préalable les deux étapes clés d'alkylation du 2-nitroimidazole **6** et de la butane ou propane sultone **79** et **80** pour l'introduction des groupes azoture et alcyne respectivement. Pour le cas de la sultone **139**, les produits de départ sont l'azoture **144** composé d'un cycle benzénique et la sultone propargylique **90**. Quant à la sultone **138**, elle a été obtenue par alkylation de la 2-nitroimidazole **6** par la sultone **145**.



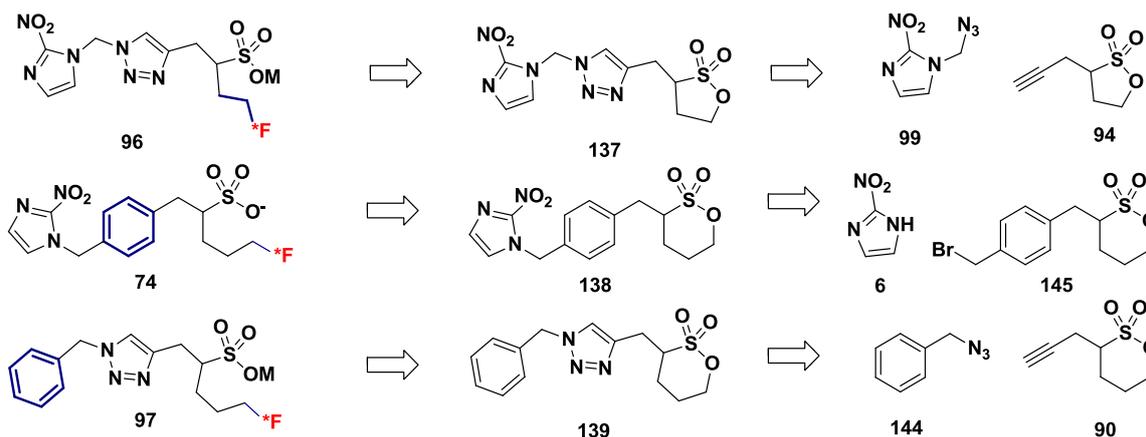


Figure 72 : Rétrosynthèse des molécules cibles et leurs précurseurs

3.2. Synthèse des précurseurs sultones

3.2.a) Sultone **132**

L'alkylation du 2-nitroimidazole (1 équivalent) avec l'éthylèneditosylate **146** (1.5 équivalent) dans le DMF en présence de NEt_3 (1.5 équivalent) à TA pendant 48 h, ou avec le dibromoéthane dans le DMF en présence de Cs_2CO_3 (2 équivalents) à TA pendant 24 h a conduit respectivement aux composés **147** et **148** avec des rendements de 35 et 57% proches de ceux décrits dans la littérature (**Schéma 11**).¹⁸⁸ Ces deux composés ont été convertis en azoture **140** décrit dans la littérature¹⁸⁸ par réaction avec l'azoture de sodium en présence de KI dans l'acétone à reflux pendant 24 h avec des rendements comparables de 75 et 80%. La réaction de CuAAC de l'azoture **140** (1 équivalent) avec l'alcyne **90** (1 équivalent), précédemment synthétisé, en présence de DIPEA (0.1 équivalent) et de CuI (0.1 équivalent) dans le dioxane pendant 20 h à TA, a conduit à la sultone **132** avec un rendement de 79% (rendement global de 14.4 % sur 4 étapes).

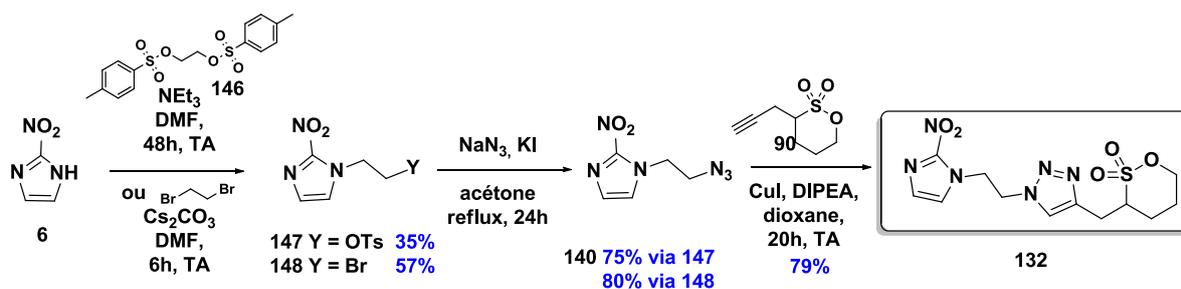


Schéma 11 : Préparation de la sultone 132

3.2.b) Sultones **133** et **134**

La synthèse des sultones polyfluorées **133** et **134** débute par la monoalkylation du 2-nitroimidazole **6** avec les alkyldèneditriplate polyfluorés **149** et **150** obtenus à partir des alcools polyfluorés **151** et **152** avec l'anhydride triflique dans le DCM en présence de pyridine pendant 6 h à TA. Les triflates **153** et **154** ont été obtenus par alkylation de la 2-nitroimidazole **6** par les composés **149** et **150** dans le DMF en présence de Cs_2CO_3 pendant 24 h à TA avec des rendements de 84 et 91%. L'analogue ditosylé a également été réalisé avec un bon rendement de 94% mais l'alkylation sur le 2-nitroimidazole **6** a été inefficace. La synthèse a été poursuivie par le traitement des deux triflates **153** et **154** avec l'azoture de sodium (rendements de 97 et 100%) pour former les azotures **141** et **142**. La réaction de CuAAC est effectuée avec les azotures **141** et **142** (1 équivalent) et avec l'alcyne **90** (1 équivalent) en présence de DIPEA (0.1 équivalent) et de CuI (0.1 équivalent) dans le dioxane pendant 20 h à TA et a conduit aux sultones polyfluorées **133** et **134** avec des rendements de 62% et 66% et à des rendements globaux de 17% en 5 étapes à partir du 2-nitroimidazole **6** (Schéma 12).

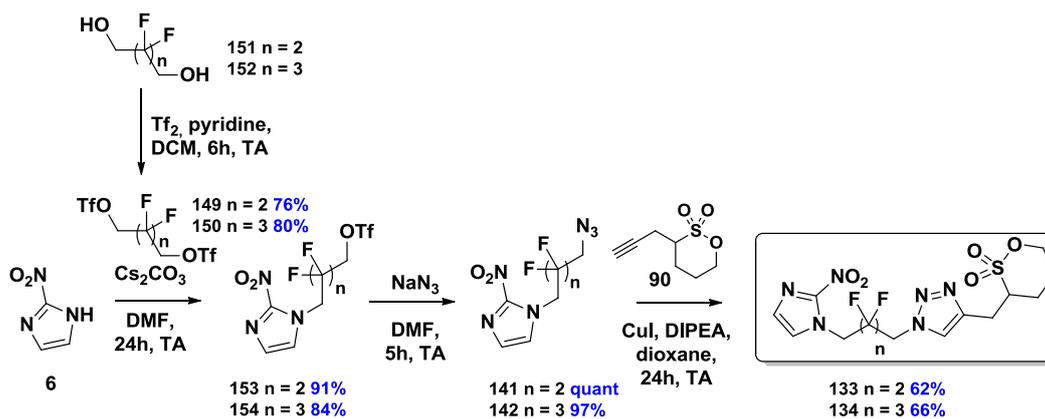


Schéma 12 : Synthèse des sultones 133 et 134.

3.2.c) Sultone **137**

La synthèse de la sultone **137** débute par l'alkylation de la propane sultone **79** (1 équivalent) avec le bromure propargylique **91** (1 équivalent) en présence de butyllithium (1.3 équivalent) dans le THF à -78°C. La sultone propargylique **94** (1 équivalent) est engagée dans une réaction de CuAAC avec l'azoture **99** (1 équivalent), en présence de NEt₃ (0.1 équivalent) et de CuI (0.1 équivalent) dans le dioxane pendant 20 h à TA a conduit à la sultone **137** avec un rendement de 51% et un rendement global de 6% sur 4 étapes (Schéma 13).

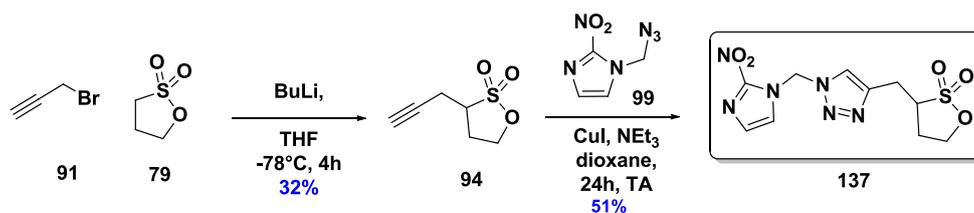


Schéma 13 : Préparation de la sultone 139

3.2.d) Sultone **135**

La sultone **135** a été synthétisée à partir des précurseurs sultone **90** et alcyne **99** précédemment synthétisés en présence de NIS (1 équivalent), de NEt₃ (0.5 équivalent) et de

CuI (0.5 équivalent) dans le dioxane (inspiré de Yan *et al.*).²⁰⁴ La réaction a conduit à la sultone **135** avec un rendement de 50% et un rendement global de 7% pour 4 étapes (**Schéma 14**).

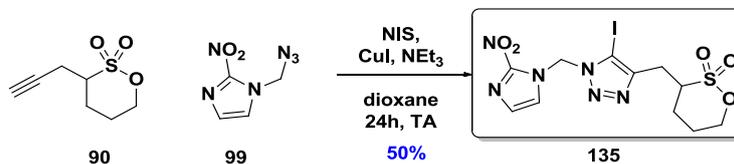


Schéma 14 : Synthèse de la sultone 135.

3.2.e) Sultone **136**

La synthèse de la sultone **136**, reprise du brevet de Lafargue et Perrio,¹⁸⁵ utilise comme produit de départ l'acide p-iodobenzoïque **155** qui est réduit avec le borane avec un rendement de 93% comme décrit par Elie *et al.* Le couplage de Sonogashira entre le composé iodé **156** et l'éthynyltriméthylsilane en présence de palladium, d'iodure de cuivre et de triéthylamine (10 équivalents) conduit à l'alcool triméthylsilylé **157** avec un rendement de 87%. La bromation de l'alcool **157** a été réalisée avec le tétrabromométhane en présence de triphénylphosphine (1.2 équivalents) dans l'éther diéthylique à température ambiante pendant 12 h pour conduire au composé bromé **158** avec un rendement de 85% comme décrit par Aucagne *et al.* La butane sultone **80** a été alkylée avec le dérivé bromé **158** en présence de *n*-butyllithium (1.3 équivalent) dans le THF à -78°C pour obtenir la sultone **159** avec un rendement de 35%. L'alcyne **159** a ensuite été déprotégé en présence de TBAF (0.5 équivalent) dans le DCM à 0°C avec un faible rendement de 23%. La sultone **143** (1 équivalent) est engagée dans une réaction de CuAAC avec l'azoture **99** (1 équivalent) précédemment synthétisé, en présence de NEt₃ (0.1 équivalent) et de CuI (0.1 équivalent) dans le dioxane pendant 20 h à TA, pour conduire à la sultone **136** avec un rendement de 53% (rendement global de 1.2 % sur 8 étapes, **Schéma 15**).

²⁰⁴ R. Yan, K. Sander, E. Galante, V. Rajkumar, A. Badar, E. El-Emir, M. F. Lythgoe, R. B. Pedley, E. Årstad, 55

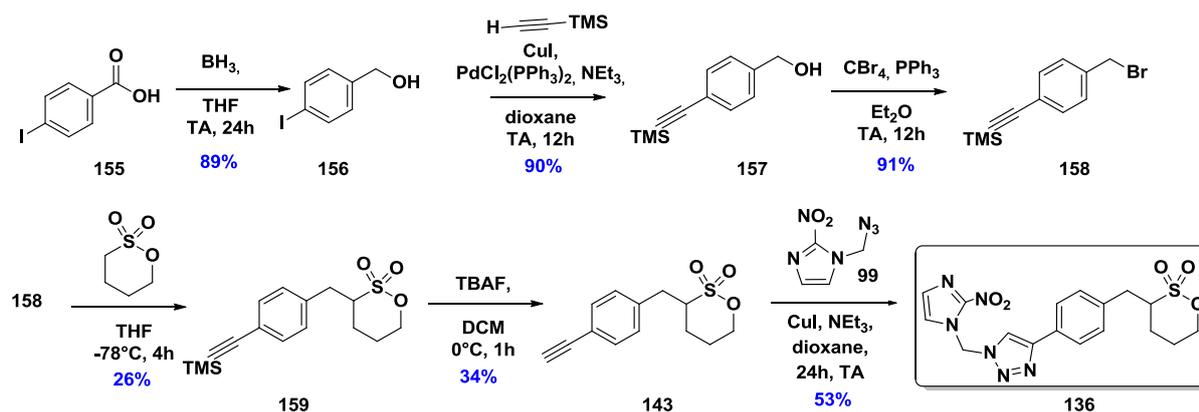


Schéma 15 : Synthèse de la sultone 136

3.2.f) Sultone **138**

La synthèse de la sultone **138** débute par l'alkylation de la butane sultone **80** (1 équivalent) avec le bromure de 4-méthylbenzyle **160** (1 équivalent) après déprotonation avec le butyllithium (1.3 équivalent) dans le THF à -78°C avec un rendement de 47%. La sultone **161** a ensuite été bromée avec le *n*-bromosuccinimide (1.1 équivalent) en présence de peroxyde de benzoyle dans le tétrachlorure de carbone à 60°C pendant 2 h pour conduire à la sultone **145** avec un rendement médiocre de 27%. L'alkylation du 2-nitroimidazole **6** (1.1 équivalent) a été réalisée avec la sultone **145** en présence de Cs_2CO_3 (2 équivalents) dans le DMF avec un rendement de 73%. La sultone **138** a été obtenue en trois étapes avec un rendement global de 9%. (Schéma 16)

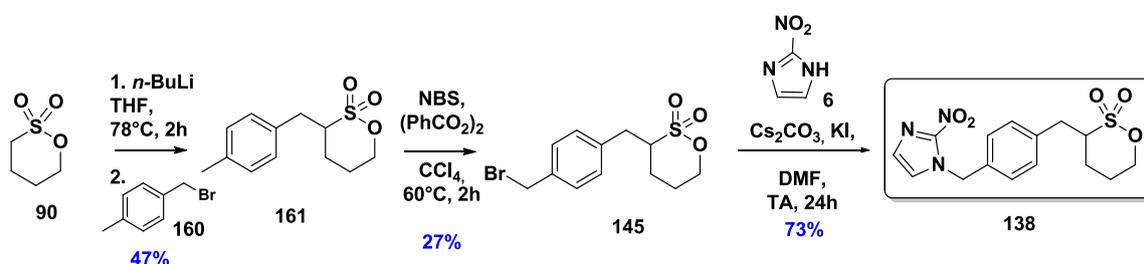


Schéma 16 : Préparation du précurseur sultone 138

3.2.g) Sultone **139**

Le bromure de benzyle **162** a été converti en azoture **144** comme décrit par Loughlin *et al.*²⁰⁵ avec un rendement quantitatif. La réaction de CuAAC entre l'azoture **144** (1 équivalent) et la sultone propargylique **90** (1 équivalent) en présence de DIPEA (0.1 équivalent) et de CuI (0.1 équivalent) dans le dioxane pendant 20 h à TA a conduit à la sultone **139** avec un rendement de 37% (rendement global de 14.8% sur trois étapes, **Schéma 17**).

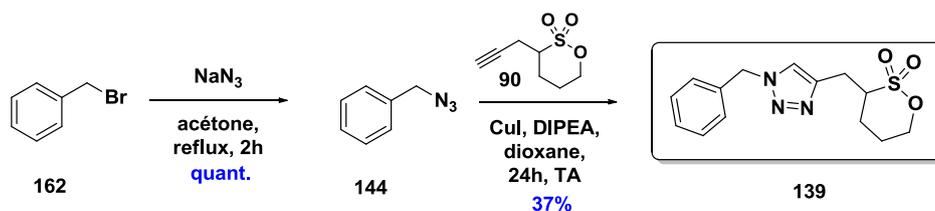


Schéma 17 : Préparation du précurseur sultone **139** sans 2-nitroimidazole.

Les huit précurseurs sultones **132**, **133**, **134**, **135**, **136**, **137**, **138** et **139** ont été obtenus en quantité suffisante pour la suite des études.

3.3. Fluoration

Les sultones **132**, **133**, **134**, **135**, **136**, **137**, **138** et **139** ont été traitées avec 1.1 équivalent de TBAF dans l'acétonitrile à 90°C pendant 4 h. Des conversions quantitatives ont été obtenues pour les fluorosulfonates **69**, **73**, **74**, **96** et **97**. La préparation des fluorosulfonates **70**, **71** et **72**, n'a pas abouti dans les conditions habituelles de fluoration.

²⁰⁵ W. A. Loughlin, I. D. Jenkins, N. D. Karis, P. C. Healy, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 341

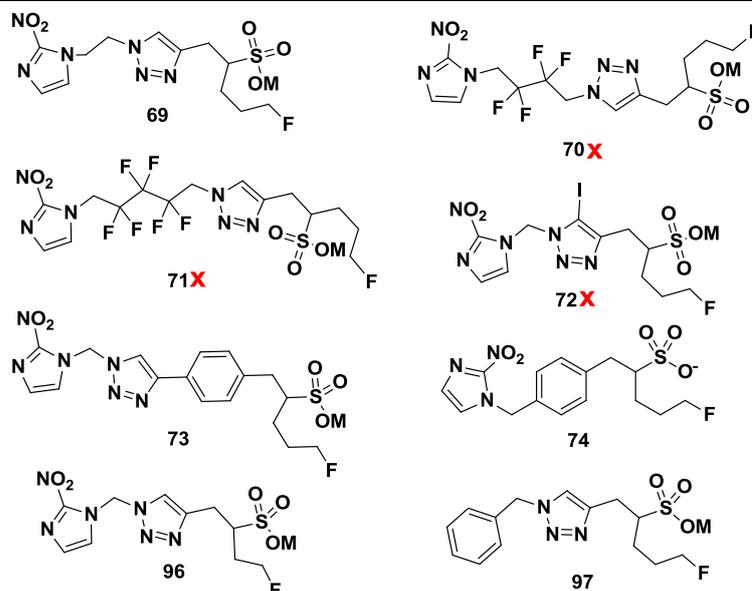
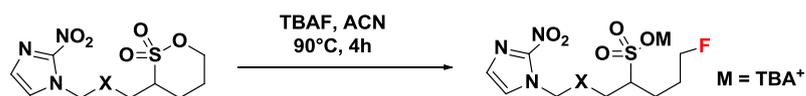


Figure 73 : Synthèse des fluorosulfonates 69, 70, 71, 72, 73, 74, 96 et 97.

Nous avons entrepris la synthèse du fluorosulfonate **71** en deux étapes par fluoruration de la sultone propargylique **90** avec une conversion quantitative, puis la réaction de CuAAC avec le sulfonate **163** formé et l'azoture **142**. Néanmoins cette réaction n'a pas permis d'obtenir le fluorosulfonate **71**.

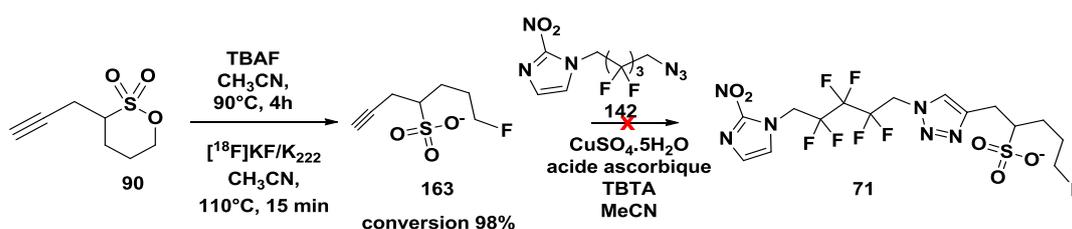


Figure 74 : Fluoruration du composé 90 pour l'obtention du sulfonate 71 en deux étapes

3.4. Radiofluoruration

Les dérivés fluorés [¹⁸F]**69**, [¹⁸F]**73**, [¹⁸F]**74**, [¹⁸F]**96** et [¹⁸F]**97** ont pu être obtenus en chimie hautement radioactive en utilisant l'automate de synthèse GE TRACERlab FXFN. Les

radiofluorations ont été effectuées avec le complexe $K[^{18}\text{F}]\text{F}/\text{K}_{222}$ dans l'acétonitrile à 110 °C pendant 15 min. Le procédé s'est avéré adapté pour toutes les sultones. Les conversions ont été calculées à partir de l'analyse radioCCM et les rendements radiochimiques à partir de la quantité de $[^{18}\text{F}]$ fluorosulfonate isolé, après purification sur colonne semi-préparative en comparaison avec la quantité de $[^{18}\text{F}]$ fluorures engagés, corrigé de la décroissance radioactive.

Les conversions des sultones plutôt bonnes, sont comprises entre 70 et 90 % exceptée pour la formation du $[^{18}\text{F}]$ fluorosulfonate **73** (Tableau 16 entrée 4). Les rendements corrigés de la décroissance sont compris entre 19 et 65% pour des temps de synthèse allant de 56 à 97 min. L'optimisation des conditions HPLC n'a pas été effectuée pour les $[^{18}\text{F}]$ fluorosulfonate **73** et **74** expliquant les temps de synthèse plus longs (94 et 97 min Tableau 16 entrées 4 et 6).

Tableau 16 : Radiofluoration des sultones 132, 136, 137, 138 et 139 en chimie hautement radioactive

$[^{18}\text{F}]\text{KF}/\text{K}_{222}$
 CH_3CN ,
 110°C , 15 min

Entrée	Sultone	Fluorosulfonate	Conversion (%)	Rdt radiochimique (%)	Temps de synthèse (min)
1			90 ^a	65	56
2			70 ^b	34	57
3			70 ^c	39	60
4			55 ^a	19	97
5			80 ^a	48	55

6

73^a

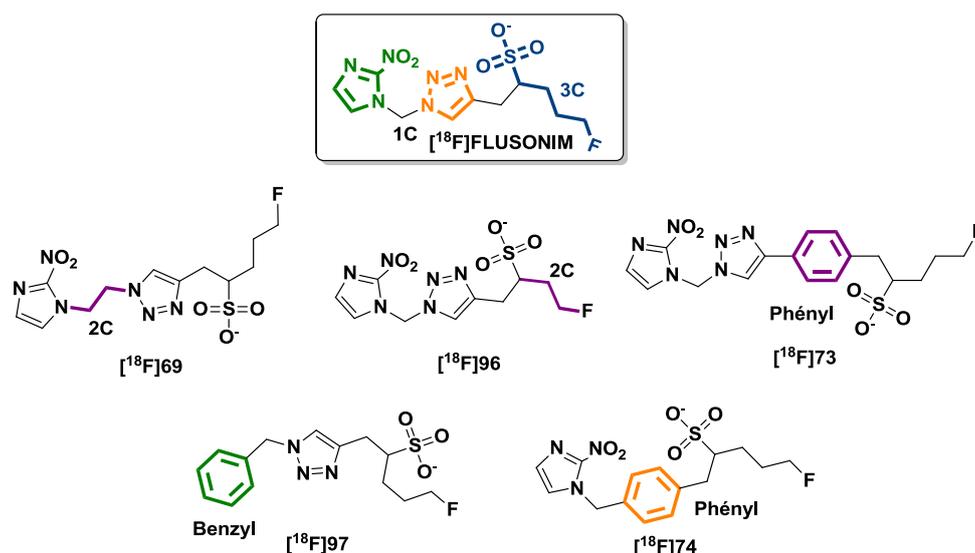
53

94

^a n = 3 ; ^b n = 1 ; ^c n = 15 avec n le nombre d'essais en chimie hautement radioactive

3.5. Evaluation des radiotraceurs

La production des fluorosulfonates [^{18}F]**69**, [^{18}F]**73**, [^{18}F]**74**, [^{18}F]**96** et [^{18}F]**97** a permis la mesure de leur log P/D (**Figure 75**), l'étude de leur stabilité, et leur évaluation *in vivo*, chez le rat sain et des souris porteuses de tumeurs mélanomes.



Nom	LogP ^a	LogD ^a	TPSA ^b
[^{18}F] 69	-3.40±0.04	-3.56±0.02	152
[^{18}F] 96	-3.31±0.17	-3.55±0.07	152
[^{18}F] FLUSONIM	-3.00±0.03	-3.23±0.05	152
[^{18}F] 73	-1.62±0.04	-1.87±0.01	152
[^{18}F] 97	-1.72±0.02	-1.85±0.01	85
[^{18}F] 74	-1.21±0.02	-1.74±0.01	121

^amesurés ^b calculés

Figure 75 : Valeurs des logP/D, et de la surface polaire théorique du [^{18}F]**FLUSONIM** des fluorosulfonates [^{18}F]**69**, [^{18}F]**73**, [^{18}F]**74**, [^{18}F]**96** et [^{18}F]**97**

Les composés [^{18}F]**69** et [^{18}F]**96** ont été trouvés plus hydrophiles que le [^{18}F]**FLUSONIM**. Ils conservent la structure de base du [^{18}F]**FLUSONIM** avec un atome de carbone en plus (entre le triazole et le 2-nitroimidazole) pour le composé [^{18}F]**69** ou avec un atome de carbone en

moins (sur la chaîne du fluorosulfonate) pour le composé $[^{18}\text{F}]\mathbf{96}$. Les composés $[^{18}\text{F}]\mathbf{73}$, $[^{18}\text{F}]\mathbf{97}$ et $[^{18}\text{F}]\mathbf{74}$ tous composés d'un noyau phényle, se sont avérés plus lipophiles que le $[^{18}\text{F}]\mathbf{FLUSONIM}$. Les composés $[^{18}\text{F}]\mathbf{97}$ et $[^{18}\text{F}]\mathbf{74}$ ont aussi une TPSA plus faible.

3.5.a) Chez l'animal sain

Le $[^{18}\text{F}]\mathbf{FLUSONIM}$ et les dérivés $[^{18}\text{F}]\mathbf{69}$, $[^{18}\text{F}]\mathbf{73}$, $[^{18}\text{F}]\mathbf{74}$ et $[^{18}\text{F}]\mathbf{97}$ ainsi que le $[^{18}\text{F}]\mathbf{FMISO}$ ont été injectés chez le rat sain et suivi par imagerie TEP (0 à 60 min) afin d'étudier la cinétique de biodistribution et d'élimination. La distribution et l'élimination de tous les radiotraceurs fluorosulfonates est rapide, ils montrent une rétention faible dans les tissus sains contrairement au $[^{18}\text{F}]\mathbf{FMISO}$ (Figure 76).

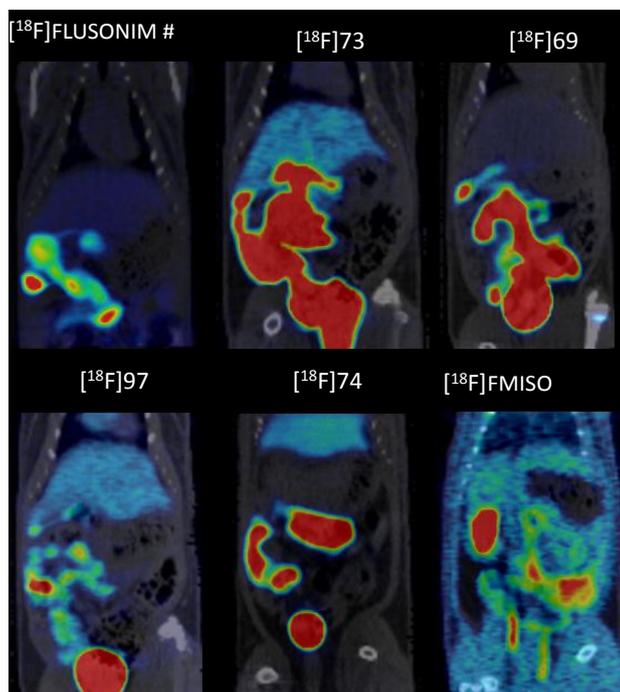


Figure 76 : Images TEP/CT à 60 min du $[^{18}\text{F}]\mathbf{FLUSONIM}$ et du $[^{18}\text{F}]\mathbf{FMISO}$ et des dérivés $[^{18}\text{F}]\mathbf{69}$, $[^{18}\text{F}]\mathbf{73}$, $[^{18}\text{F}]\mathbf{74}$ et $[^{18}\text{F}]\mathbf{97}$ à 60 min (images normalisées en SUV)

La quantification des images TEP permettent de montrer que l'élimination à 60 min pi de tous les radiotraceurs sulfonates est supérieure à 50%. Les fluorosulfonates pourtant tous très hydrophiles (valeurs de LogP négatives) montrent des profils d'élimination différents. Comme le $[^{18}\text{F}]\mathbf{FLUSONIM}$ et les dérivés $[^{18}\text{F}]\mathbf{69}$ et $[^{18}\text{F}]\mathbf{97}$ montrent une forte élimination rénale. A l'inverse le composés $[^{18}\text{F}]\mathbf{73}$ présente une forte élimination hépatobiliaire.

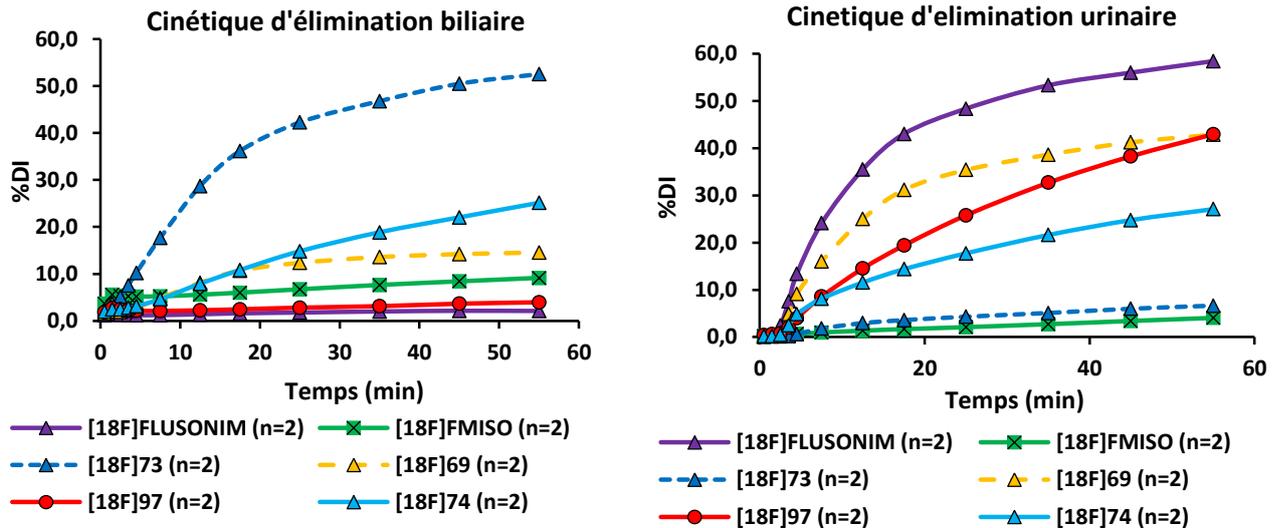
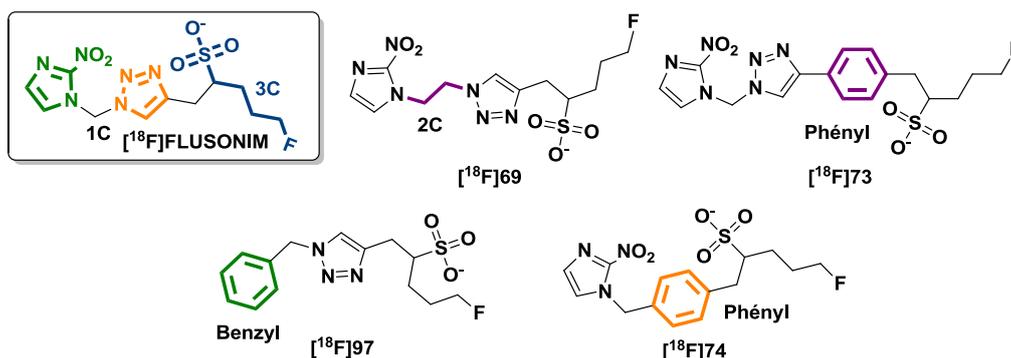


Figure 77 : Cinétiques d'élimination A) de la vessie et B) du foie pour les dérivés $[^{18}\text{F}]69$, $[^{18}\text{F}]73$, $[^{18}\text{F}]74$ et $[^{18}\text{F}]97$, le $[^{18}\text{F}]FLUSONIM$ et $[^{18}\text{F}]FMISO$ chez l'animal sain.

Le taux d'élimination ainsi que la voie d'élimination des dérivés $[^{18}\text{F}]FLUSONIM$, $[^{18}\text{F}]69$, $[^{18}\text{F}]73$, $[^{18}\text{F}]74$, $[^{18}\text{F}]97$ et $[^{18}\text{F}]FMISO$ sont présentés (**Tableau 17**). Le $[^{18}\text{F}]FLUSONIM$ présente la plus forte élimination rénale. Aucune corrélation évidente n'a été trouvée entre le pourcentage d'élimination du radiotracer, sa voie d'élimination et son hydrophilie ($\log P$). L'analogue $[^{18}\text{F}]73$ qui présente le $\log P$ le plus « élevé » par conséquent la plus faible hydrophilie, s'élimine tout aussi bien que le $[^{18}\text{F}]FLUSONIM$ et présente une élimination quasiment autant rénale que hépatobiliaire. La seule corrélation potentielle est entre le coefficient P et la $\frac{1}{2}$ vie d'élimination. L'hydrophilie ne semble pas influencer la voie d'élimination du radiotracer. Le $[^{18}\text{F}]FLUSONIM$ reste le plus attractif avec son élimination exclusivement rénale (**Figure 77**).

Tableau 17: $\frac{1}{2}$ vie de distribution, d'élimination, voie d'élimination et valeurs de $\log P$ des dérivés [^{18}F]69, [^{18}F]73, [^{18}F]74 et [^{18}F]97, le [^{18}F]FLUSONIM et [^{18}F]FMISO

N°	$\frac{1}{2}$ vie distribution sanguine	$\frac{1}{2}$ vie élimination sanguine	Taux d'élimination à 60 min (%DI)	%Type d'élimination		$\log P$
				Rénale	Biliaire	
[^{18}F]74	1.73±0.14	15.52±2.70	52	52	48	-1.2
[^{18}F]97	0.90±0.23	43.66±20.6	47	92	8	-1.7
[^{18}F]73	1.88±0.08	20.69±1.92	59	11	89	-1.6
[^{18}F]FLUSONIM	1.82±0.17	19.54±4.29	60	97	3	-3.0
[^{18}F]69	1.60±0.44	24.28±2.86	57	75	25	-3.4
[^{18}F]FMISO	1.58±0.01	188.19±49.78	13	31	69	0.6

DI dose injectée

Les études de biodistribution ont été complétées (sauf pour le dérivé [^{18}F]97 dépourvu de cycle 2-nitroimidazole) par l'étude du comportement sanguin avec des prélèvements de sang à 60 min et la mesure de la cinétique sanguine (cœur) à partir des images TEP. Ces dernières ont permis de calculer les demi-vies de distribution et d'élimination sanguines. Les niveaux de radioactivité ont été mesurés pour l'échantillon initial de sang et du plasma obtenu par extraction et centrifugation du sang. Les niveaux de radioactivité à 60 min dans le sang de l'animal sain est faible, pour le [^{18}F]FLUSONIM et les analogues [^{18}F]73 et [^{18}F]74, et très basse pour le dérivé [^{18}F]69, comparé à celui du

[¹⁸F]FMISO. Pour le [¹⁸F]FMISO le ratio plasma/sang est proche de 1 ce qui signifie qu'une plus grande proportion de radioactivité est piégée dans les cellules circulantes. Tous les dérivés [¹⁸F]FLUSONIM, [¹⁸F]69, [¹⁸F]73, [¹⁸F]74, présentent une demi vie de distribution et d'élimination sanguine beaucoup plus rapides que le [¹⁸F]FMISO (**Tableau 18**).

Tableau 18 : Valeurs des niveaux de radioactivité des prélèvements sanguins.

Niveau de radioactivité (SUV) à 60 min	[¹⁸ F]FMISO	[¹⁸ F]FLUSONIM	[¹⁸ F]73	[¹⁸ F]69	[¹⁸ F]74
Sang	0.68	0.21	0.13	0.07	0.15
Plasma	0.71	0.25	0.23	0.10	0.26
Ratio plasma/sang	1.05	1.21	1.74	1.38	1.74

Le plasma a été injectée en HPLC afin de vérifier la stabilité du [¹⁸F]FLUSONIM, [¹⁸F]69, [¹⁸F]73, et [¹⁸F]74. Les faibles niveaux de radioactivité présents dans le sang à 60 min ont rendu les analyses HPLC compliquées (bruit de fond élevé). L'analyse de la fraction plasmatique est comparée au contrôle qualité du radiotracteur. Aucun métabolite n'a été observé dans le plasma confirmant la stabilité nos dérivés chez l'animal sain après 1 h pi. Néanmoins l'absence de métabolite dans la partie plasmatique ne signifie pas qu'il n'y a aucune métabolisation du radiotracteur.

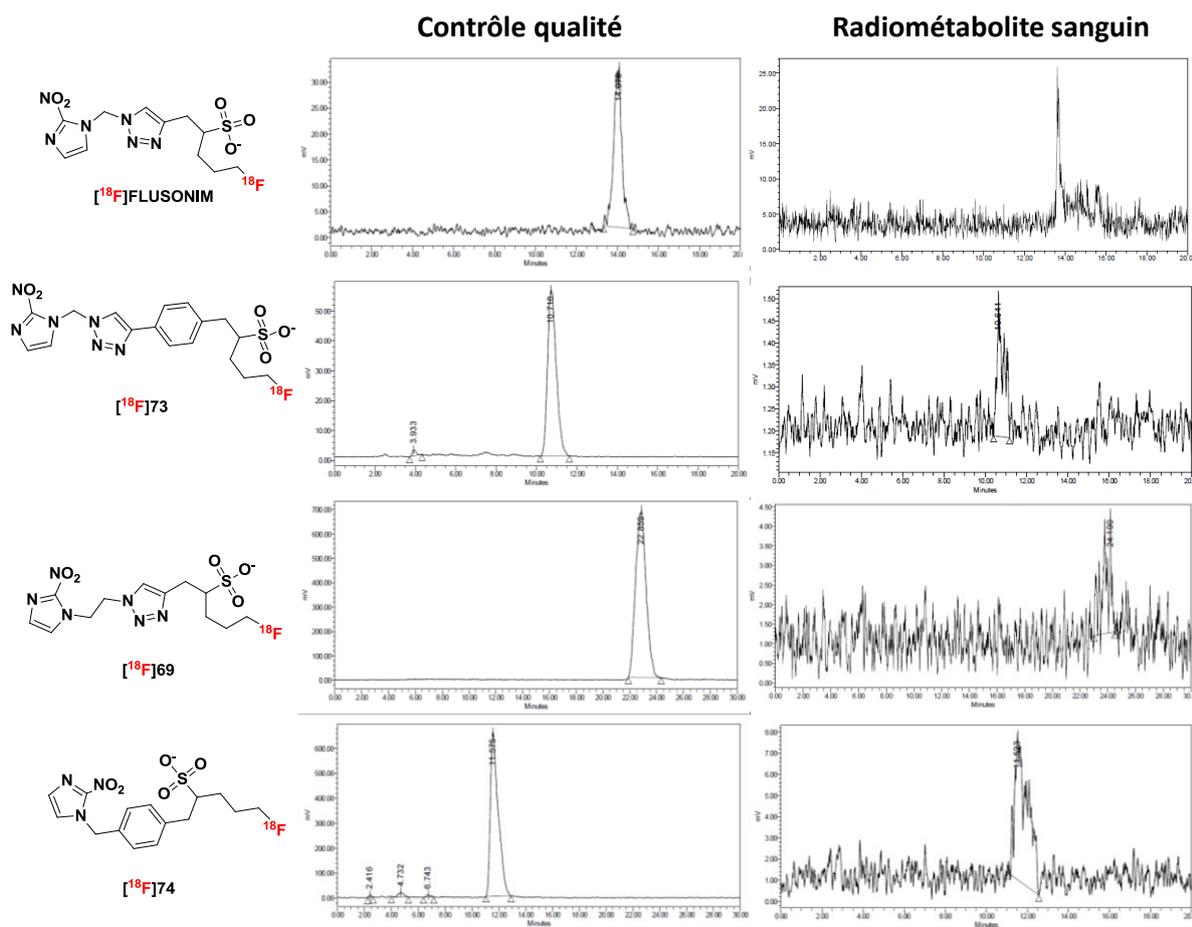


Figure 78 : Contrôle qualité et analyse plasmatique des dérivés [¹⁸F]FLUSONIM, [¹⁸F]69, [¹⁸F]73, [¹⁸F]74 à 1 h pi.

3.5.b) Evaluation sur un modèle de mélanome murin

Le [¹⁸F]FLUSONIM et les dérivés [¹⁸F]69, [¹⁸F]73, et [¹⁸F]74, ont été évalués sur un modèle murin de mélanome grâce à une collaboration avec l'équipe de S. Dedieu (MEDYc UMR CNRS 7369 à Reims). Ces résultats sont toujours en cours de traitement.

En conclusion, 5 analogues hydrophiles du [¹⁸F]FLUSONIM ont été synthétisés. Trois de ces dérivés ont été évalués *in vivo* chez l'animal sain montrant des distributions rapides et une stabilité jusqu'à 60 min. Leur spécificité vis-à-vis de l'hypoxie ainsi que leur performance en imagerie TEP restent à déterminer par l'analyse des résultats sur le modèle de mélanome.

IV. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ces travaux de thèse ont permis de développer le [^{18}F]FLUSONIM un radiotraceur hydrophile. Sa radiosynthèse s'effectue en une seule étape de radiofluoration. La radiosynthèse automatisée du [^{18}F]FLUSONIM est efficace et s'effectue en 53 min avec un rendement de 66%, elle a été adaptée sur le module de synthèse à cassette « AllinOne » pour amorcer une synthèse GMP. L'ensemble des évaluations biologiques du [^{18}F]FLUSONIM chez les animaux sains et porteurs de tumeurs hypoxiques, ainsi que la démonstration de sa stabilité et son absence de métabolisation (sauf tumeur), ont permis de montrer que le [^{18}F]FLUSONIM est légitime comme radiotraceur TEP de l'hypoxie. De plus, les performances du [^{18}F]FLUSONIM comparées à celles du [^{18}F]FMISO, l'actuel radiotraceur de référence pour l'imagerie TEP de l'hypoxie, se sont avérées bien supérieures pour les modèles utilisés. Le [^{18}F]FLUSONIM en cours de transfert pour des études cliniques, sera utilisé sur un modèle tumoral de poumon (Centre F. Baclesse, Caen).

La synthèse d'analogues du [^{18}F]FLUSONIM a également été réalisée. Ces dérivés se sont avérés plus ou moins hydrophiles en fonction avec des carbones ou groupement phényle supplémentaire. La biodistribution de ces dérivés a été effectuées chez des animaux sains montrant une distribution, élimination et clairance rapide vis-à-vis des tissus sains. Les résultats de leur évaluation dans un modèle de mélanome sont en attente. Ils permettront de confronter l'hydrophilie de ses dérivés à leur efficacité et leur performance en tant que radiotraceur TEP de l'hypoxie.

Par ailleurs, certains de ces analogues pourront être valorisés par un marquage avec des radiométaux ou un marquage à l'astate-211 permettant l'irradiation des cellules hypoxiques résistantes à la radiothérapie.

**Chapitre 2 : Synthèse d'une plateforme boratrane
pour la capture de l'ion [^{19/18}F]Fluorure**

I. Introduction : Marquage au fluor-18 des macromolécules

Le concept de « macromolécule » est introduit en 1920 par Staudinger pour les molécules ayant une masse molaire supérieure à 1000 Da.²⁰⁶ Les macromolécules regroupent les peptides (selon leur poids moléculaire), les protéines, les carbohydrates, les lipides et les anticorps et sont dénommées « biomédicaments » (« biologics » en anglais pour « biologic drugs») pour celles fabriquées à partir du vivant.^{207,208} Les « biomédicaments » et peptides étant très affins et spécifiques d'une cible moléculaire, sont devenus des substrats d'intérêt pour le développement de sondes radioactives en imagerie et radiothérapie.^{209,210,211}

L'octréotide, a été l'un des premiers peptides radiomarqués à l'iode-123 (**[¹²³I-Tyr³]Octreotide**)(**Figure 79A**)), décrit par Krenning en 1989 pour imager en SPECT les récepteurs de la somatostatine.²¹² Le **⁶⁸Ga-DOTATATE**^{213,214} et le **¹⁷⁷Lu-DOTATATE (LUTATHERA®)**²¹⁵ ont été les premiers radiopharmaceutiques peptidiques approuvés respectivement en 2016 et 2018 par la FDA (Food and Drugs Administration) pour l'imagerie TEP et la radiothérapie des tumeurs neuroendocrines de l'intestin (**Figure 79 B**)).

Actuellement, les dérivés « PSMA » (prostate-specific membrane antigen) représentent une nouvelle classe de peptides très importants pour l'imagerie et le traitement du cancer de la prostate²¹⁶ comme le **⁶⁸Ga-PSMA-11** (**Figure 79 C**).^{217,218}

²⁰⁶ J. C. Reubi, *Endocr. Rev.* **2003**, *24*, 389

²⁰⁷ C. for B. E. and Research, *FDA* **2019**

²⁰⁸ P. December 22, 2017, Opportunities and Challenges in Biologic Drug Delivery

²⁰⁹ S. Richter, F. Wuest, *Molecules* **2014**, *19*, 20536

²¹⁰ K. P. Koopmans, A. W. J. M. Glaudemans, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2012**, *39*, 4

²¹¹ R. A. Davis, S. H. Hausner, J. L. Sutcliffe, In *Radiopharmaceutical Chemistry*; Lewis, J. S.; Windhorst, A. D.; Zeglis, B. M., Eds.; Springer International Publishing: Cham, 2019; pp. 137–162

²¹² E. P. Krenning, W. A. P. Breeman, P. P. M. Kooij, J. S. Lameris, W. H. Bakker, J. W. Koper, L. Ausema, J. C. Reubi, S. W. J. Lamberts, *The Lancet* **1989**, *333*, 242

²¹³ FDA approves first gallium ⁶⁸Ga-Dotatate radiopharmaceutical tracer for PET imaging of neuroendocrine tumors

²¹⁴ O. of the Commissioner, FDA approves new diagnostic imaging agent to detect rare neuroendocrine tumors. *FDA* **2019**

²¹⁵ C. for D. E. and Research, *FDA* **2019**

²¹⁶ A. Ghosh, W. D. W. Heston, *J. Cell. Biochem.* **2004**, *91*, 528

²¹⁷ F. Sterzing, C. Kratochwil, H. Fiedler, S. Katayama, G. Habl, K. Kopka, A. Afshar-Oromieh, J. Debus, U. Haberkorn, F. L. Giesel, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2016**, *43*, 34

²¹⁸ A.-C. Baranski, M. Schäfer, U. Bauder-Wüst, A. Wacker, J. Schmidt, C. Liolios, W. Mier, U. Haberkorn, M. Eisenhut, K. Kopka, M. Eder, *Bioconjug. Chem.* **2017**, *28*, 2485

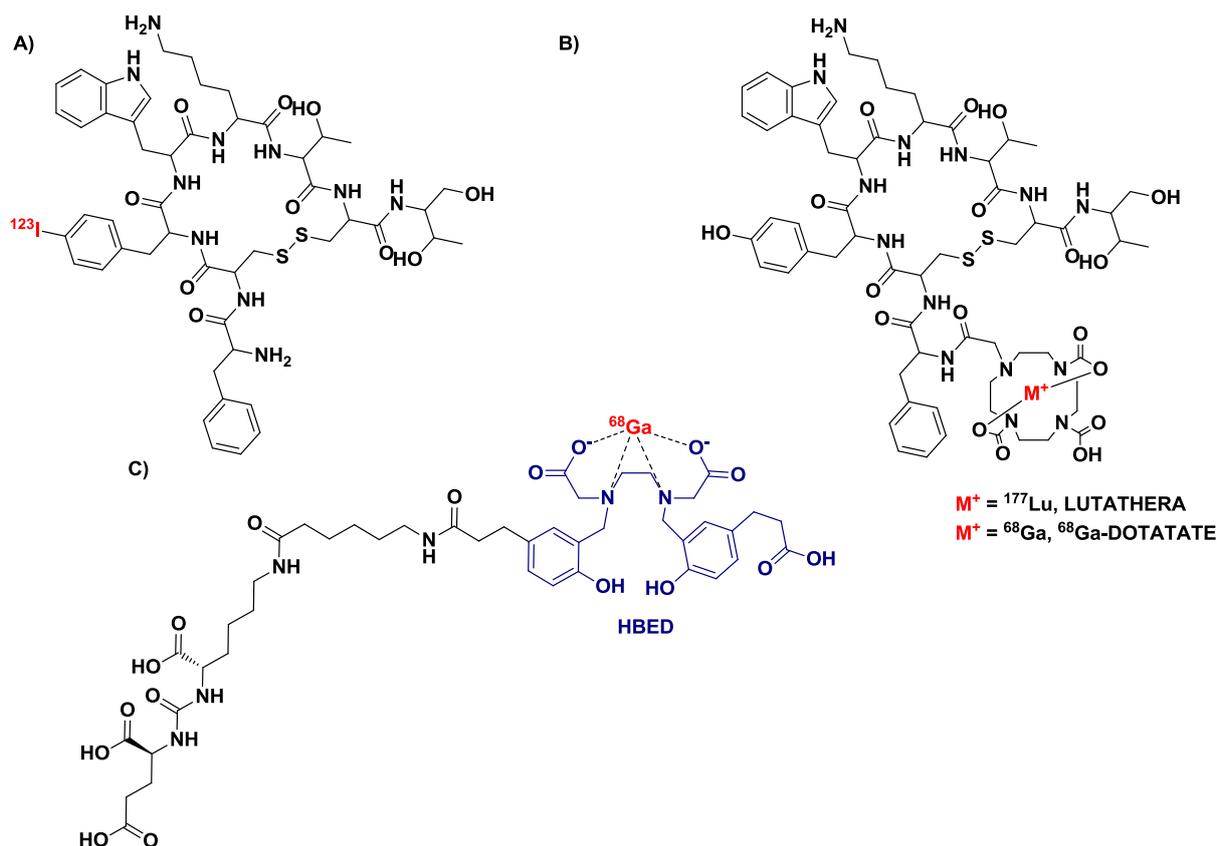


Figure 79 : A) Stomatostatine marquée à l'iode B) ^{68}Ga -DOTATATE et le ^{177}Lu -DOTATATE (LUTATHERA[®])

C) ^{68}Ga -PSMA-11

Le radiomarquage des macromolécules est le plus souvent réalisé à l'aide de radiométaux tels que le cuivre-64, le lutécium-177, le gallium-68, le zirconium-89. La radiochimie associée est simple, basée sur la complexation du radiométal par une structure chélatante (NOTA, DOTA, HBED). Cette méthodologie est souvent compatible avec la polyfonctionnalité des macromolécules, réalisable en milieu tamponné (pour note, les macromolécules sont insolubles et se dénaturent dans les solvants organiques usuels) et facile de mise en œuvre.

En raison de ses propriétés avantageuses pour l'imagerie TEP, le fluor-18 reste un radioisotope de choix pour le développement de radiopharmaceutiques y compris macromoléculaires. Cependant, le radiomarquage au fluor-18 des peptides et macromolécules représente un défi en raison des difficultés liées à l'utilisation de l'anion [^{18}F]fluorure (principale source de fluor-18). La recherche de méthodes de radiofluorination

directes, efficaces, rapides et respectant l'intégrité des substrats macromoléculaires ou polyfonctionnalisés demeure ainsi toujours pertinente.^{211,219}

1) Formation de liaison C-¹⁸F

1.1. Marquage direct par formation de liaison C-¹⁸F

A notre connaissance il n'existe que deux méthodes décrites à ce jour de radiofluoration directe de biomolécules par formation de liaison C-¹⁸F. La première concerne l'ouverture d'un cycle aziridine et conduit à la formation d'un groupe aliphatique CH₂¹⁸F.²²⁰ Cette méthode a été validée pour le radiomarquage de petits peptides avec des rendements de 7 à 16% (Schéma 18).

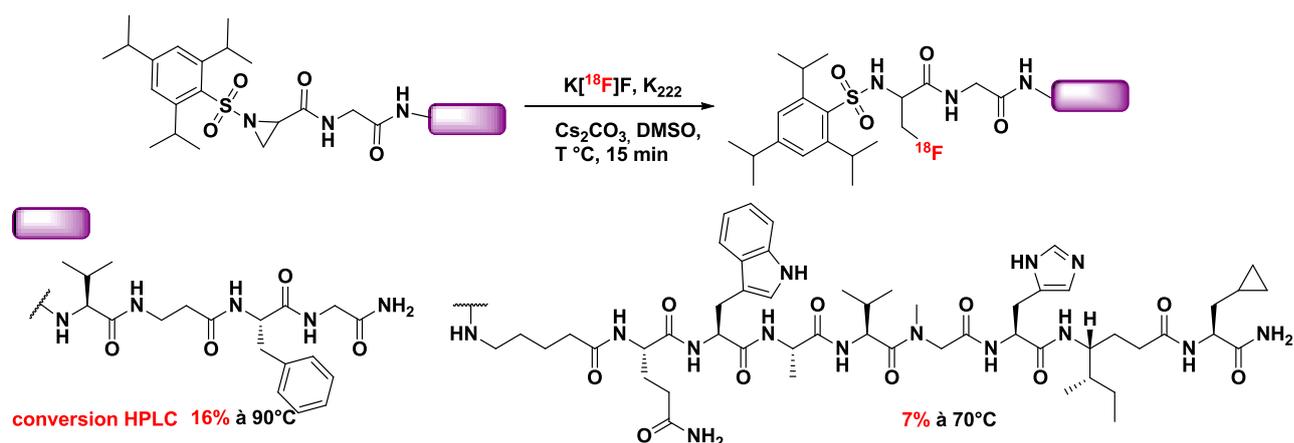


Schéma 18 : Fluoration directe par ouverture d'aziridine.

La seconde méthode utilise la réaction de S_NAr à partir d'un précurseur phényltriméthylammonium désactivé par la présence d'un groupe cyano en ortho. Becaud *et al.* ont utilisé cette méthode pour marquer un analogue de la bombésine.²²¹ C'est un peptide qui montre une haute affinité et un fort potentiel inhibiteur pour les récepteurs des peptides

²¹⁹ H. S. Krishnan, L. Ma, N. Vasdev, S. H. Liang, *Chem. - Eur. J.* **2017**

²²⁰ U. Roehn, J. Becaud, L. Mu, A. Srinivasan, T. Stellfeld, A. Fitzner, K. Graham, L. Dinkelborg, A. P. Schubiger, S. M. Ametamey, *J. Fluor. Chem.* **2009**, *130*, 902

²²¹ J. Becaud, L. Mu, M. Karamkam, P. A. Schubiger, S. M. Ametamey, K. Graham, T. Stellfeld, L. Lehmann, S. Borkowski, D. Berndorff, L. Dinkelborg, A. Srinivasan, R. Smits, B. Kokschi, *Bioconjugate Chem* **2009**, *20*, 2254

libérant de la gastrine (GRP Gastrin releasing peptide), exprimés dans les cancers du sein, de la prostate ou du poumon.^{206,222} La bombésine est radiomarquée par réaction avec l'ion [¹⁸F]fluorure en présence de carbonate de césium et de K₂₂₂ à 70 °C pendant 15 min (**Schéma 19**). Malgré une conversion plutôt bonne de 70%, le rendement reste faible (20%).

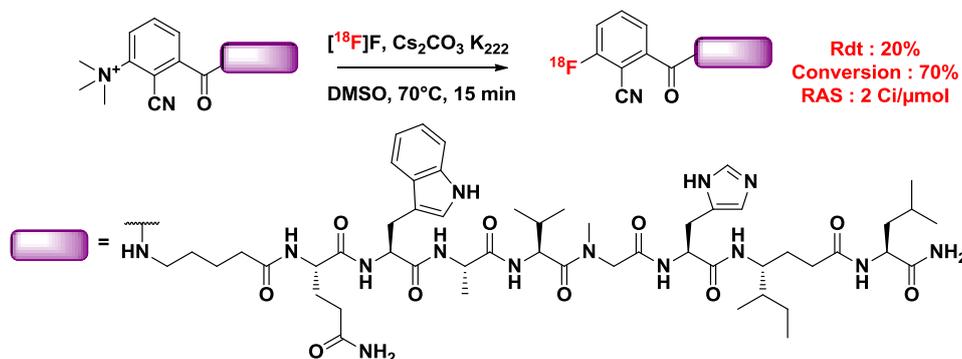
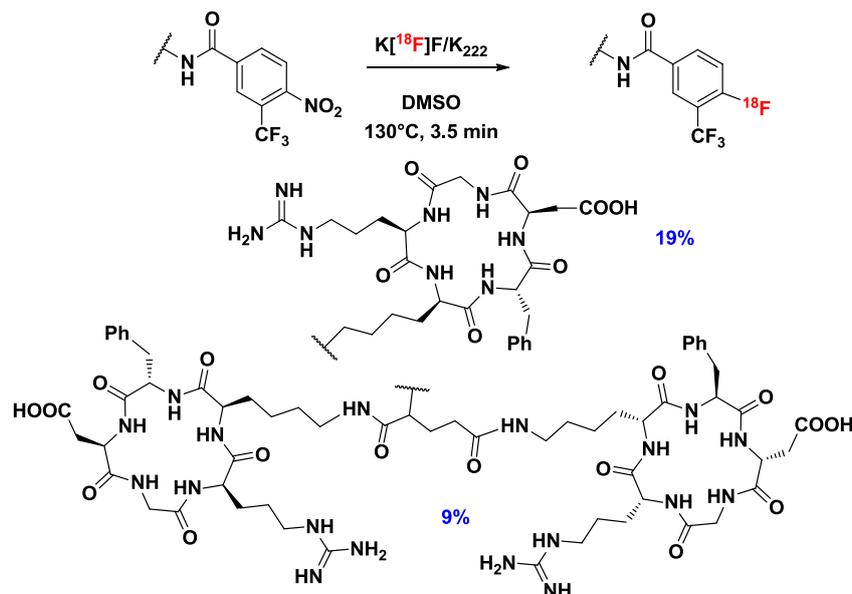


Schéma 19 : Marquage d'un peptide par SNAr

Jacobson a repris cette méthode en 2011 pour le marquage du cRGD sous activation microonde (**Schéma 20**). Le peptide cRGD radiofluoré a été obtenu avec un rendement de 19% et une RAS de l'ordre de 2 Ci/μmol (79 GBq/μmol).²²³ L'activation microonde a l'avantage de réduire le temps de réaction (seulement 3 min) mais induit une température de réaction élevée (130°C) incompatible avec des macromolécules thermosensibles.

²²² D. B. Cornelio, R. Roesler, G. Schwartzmann, *Ann. Oncol.* **2007**, *18*, 1457

²²³ O. Jacobson, L. Zhu, Y. Ma, I. D. Weiss, X. Sun, G. Niu, D. O. Kiesewetter, X. Chen, *Bioconjug. Chem.* **2011**, *22*, 422

Schéma 20 : Radiofluoration directe du cRGD et cRGD dimérique par SN_{Ar} d'un groupe NO₂.

1.2. Marquage indirect par formation de liaison C-¹⁸F

Les réactions de substitution nucléophile, permettant la création de liaison C-¹⁸F exigent des conditions anhydres et aprotique pour obtenir les meilleurs résultats. En effet, en milieu aqueux ou protique, la réactivité de l'anion [¹⁸F]fluorure est diminuée en raison d'une forte solvation. Il est alors nécessaire de protéger les fonctions protiques (amines primaires et secondaires et amides, alcools, thiols, acides carboxyliques). Comme rappelé précédemment, ces approches sont difficilement compatibles avec un radiomarquage direct des macromolécules.²⁰⁹ Elles ont été cependant largement développées dans des approches multi-étapes, impliquant une étape de radiofluoration d'un substrat bi-fonctionnel (en condition classique) puis son couplage à la macromolécule. Ces approches sont chronophages et induisent des procédés lourds et difficiles à automatiser. Les approches prosthétiques nécessitent que la réaction de couplage soit efficace dans des délais très courts (compte-tenu de la période de 109 min du fluor-18) et dans des conditions douces (températures modérées, milieu tamponné).²²⁴

²²⁴ R. Schirmacher, B. Wängler, J. Bailey, V. Bernard-Gauthier, E. Schirmacher, C. Wängler, *Semin. Nucl. Med.* **2017**, 47, 474

En 2001, Sharpless introduit le terme de « Chimie click » permettant la conjugaison rapide de différents fragments. Cette approche a été largement développée à la chimie bioorthogonale.²²⁵ Nous nous intéresseront dans un premier temps aux fonctions natives de la macrobiomolécule telles que les amines, les thiols et les acides carboxyliques.

1.3. Conjugaison aux fonctions natives des peptides

Les fonctions amines terminales très largement présentes sur les protéines (AA lysine), sont couplées le plus souvent avec des groupes prosthétiques contenant des acides libres ou activés. Il existe plus d'une dizaine de groupements prosthétiques, les plus connus sont l'acide 4-[¹⁸F]fluorobenzoïque [¹⁸F]FBA, le 4-nitrophenyl-2-¹⁸F-fluoropropionate ([¹⁸F]NFP) et le N-succinimidyl-4-fluorobenzoate ([¹⁸F]SFB). Ce dernier, le plus utilisé, est usuellement obtenu en trois étapes à partir du trifluorométhanesulfonate d'éthyl 4-(N,N,N-triméthylammonium) benzoate **164**. Sa radiosynthèse génère comme intermédiaire du [¹⁸F]FBA activé par la suite avec un succinimide pour former le [¹⁸F]SFB. Il est facilement purifié sur cartouche SPE et obtenu avec un rendement radiochimique de 44-50%.²²⁶

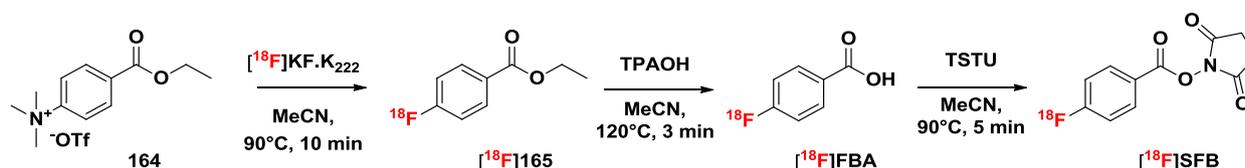


Schéma 21 : Synthèse du [¹⁸F]SFB.

La fonction thiol est également une fonction d'intérêt lors du marquage des protéines. Les thiols sont de bons nucléophiles et réagissent facilement et sélectivement avec les maléimides. Les groupes prosthétiques connus, comprenant un motif maléimide sont le N-[6-(4-[¹⁸F]fluoro-benzylidène)aminoxyhexyl] ([¹⁸F]FBAM) et N-[2-(4-[¹⁸F]fluorobenzamido)ethyl] ([¹⁸F]FBEM). Plus récemment, le groupe de Wu a développé la vinyle sulfone

²²⁵ D. van der Born, A. Pees, A. J. Poot, R. V. A. Orru, A. D. Windhorst, D. J. Vugts, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 4709

²²⁶ G. Vaidyanathan, M. R. Zalutsky, *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 1655

radiofluorée **166** qui offre de nouvelles stratégies de synthèse avec la préparation du groupe prosthétique en une seule étape.²²⁷

La fonction cystéine en position *N*-terminale peut permettre, la formation sélective de thiazoline à partir d'un précurseur 1,2-aminoéthanethiol et nitrile. Deux groupes prosthétiques présentent une fonction 2-cyanobenzothiazole (CBT), le 6-[¹⁸F]fluoroéthyl-2-cyanobenzothiazole²²⁸ **167** et le 6-(2-[¹⁸F]fluoro-3-éthoxyéthoxypyridinyl)2-cyanobenzothiazole ([¹⁸F]FPyPEGCBT).²²⁹ Ces deux groupements ont été utilisés pour le marquage de dérivés du cRGD₂.

Les principaux groupements prosthétiques sont regroupés dans le **Tableau 19** pour les fonctions natives d'un peptide.²³⁰

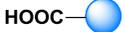
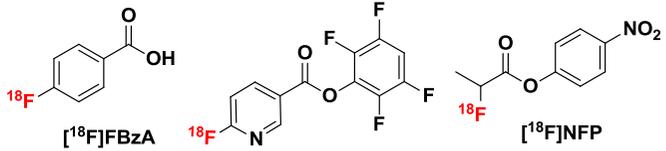
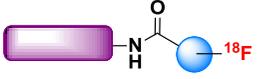
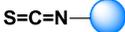
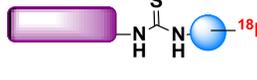
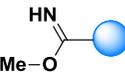
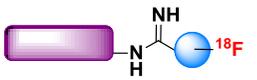
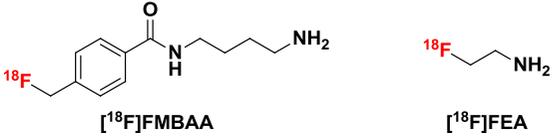
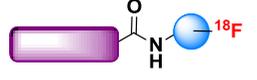
²²⁷ Z. Wu, L. Li, S. Liu, F. Yakushijin, K. Yakushijin, D. Horne, P. S. Conti, Z. Li, F. Kandeel, J. E. Shively, *J. Nucl. Med.* **2014**, *55*, 1178

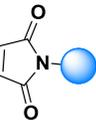
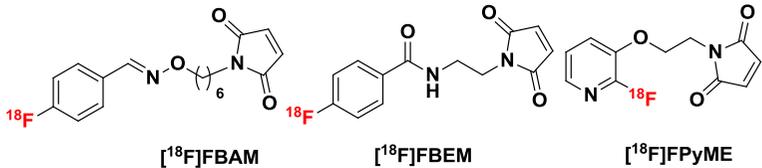
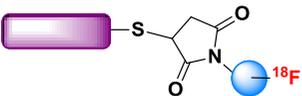
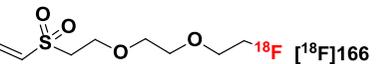
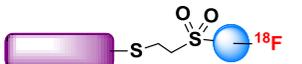
²²⁸ J. Jeon, B. Shen, L. Xiong, Z. Miao, K. H. Lee, J. Rao, F. T. Chin, *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23*, 1902

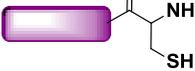
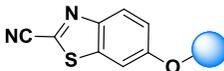
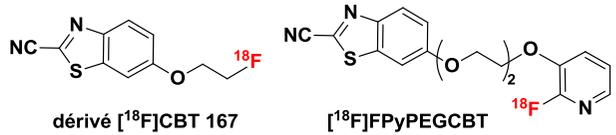
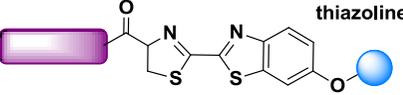
²²⁹ J. A. H. Inkster, S. Zhang, V. Akurathi, A. Belanger, S. Dubey, S. T. Treves, A. B. Packard, **2017**, *8*, 1891

²³⁰ J. S. Lewis, A. D. Windhorst, B. M. Zeglis, *Radiopharmaceutical Chemistry*; Springer, **2018**

Tableau 19 : Principaux groupes prosthétiques pour le marquage de peptides contenant une fonction A) Amine B) Acide carboxylique C) thiol D) 1,2aminothiols

Macromolécule	Groupe prosthétique	Exemples groupes prosthétiques	Liaison formée	
A) 			 Amide	
			 Thiourée	
			 Amidine	
	B) 			 Amide

	C) 			 thioéther
			 thioéther	

D) 			 thiazoline	

1.4. Groupements prosthétiques pour les peptides modifiés

L'évolution des techniques de synthèse et de modification de peptides ont permis l'essor de nouveaux groupements prosthétiques avec l'ajout de nouvelles fonctions sur les macromolécules. Ainsi des réactions de chimie click ont vu leur émergence ces dernières années. Parmi elles, la cycloaddition 1,3 de Huisgen modifiée, CuAAC (The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition), est actuellement très utilisée pour le marquage de macromolécules. Le triazole formé est obtenu par la réaction entre un alcyne et un azoture catalysée par le cuivre. La biomolécule radiomarquée doit être modifiée au préalable pour incorporer une des deux fonctions chimiques qui n'est pas présente de manière originelle sur le peptide. De nombreux dérivés d'alkyle ($[^{18}\text{F}]\text{FEA}$, $[^{18}\text{F}]\text{FAIkCC}$), PEG ($[^{18}\text{F}]\text{FPEHN}_3$, $[^{18}\text{F}]\text{FPEGCC}$), d'aryls ($[^{18}\text{F}]\text{FBMeN}_3$, $[^{18}\text{F}]\text{FMBCC}$) ou encore de sucres ($[^{18}\text{F}]\text{Ac}_3\text{-FGlcN}_3$, $[^{18}\text{F}]\text{Ac}_3\text{-FGlcMeCC}$) ont été modifiés pour introduire une fonction azoture (**Figure 80 A**) ou alcyne (**Figure 80 B**), permettant ainsi la réaction de chimie click pour le marquage de peptides.^{155,231}

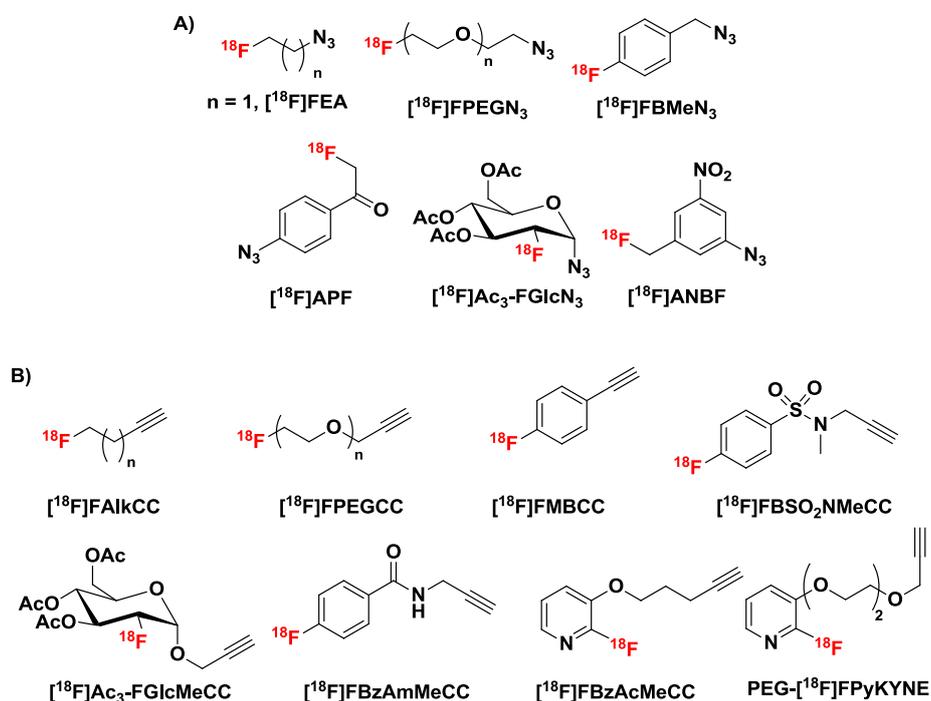


Figure 80 : Groupements prosthétiques pour la réaction de chimie click A) de type azoture B) de type alcyne.

BCN ou le **COMBO**, contenant un groupement cyclopropane ou benzène opposés à l'alcyne, ont permis les réactions dans l'eau. En 2004, le groupe de Bertozzi applique pour la première fois cette méthodologie *in vivo* à la biotine.²⁴³ Les inconvénients majeurs des **OCT** restent leur réactivité avec les thiols en milieu biologique et leur difficulté de synthèse.²⁴⁴

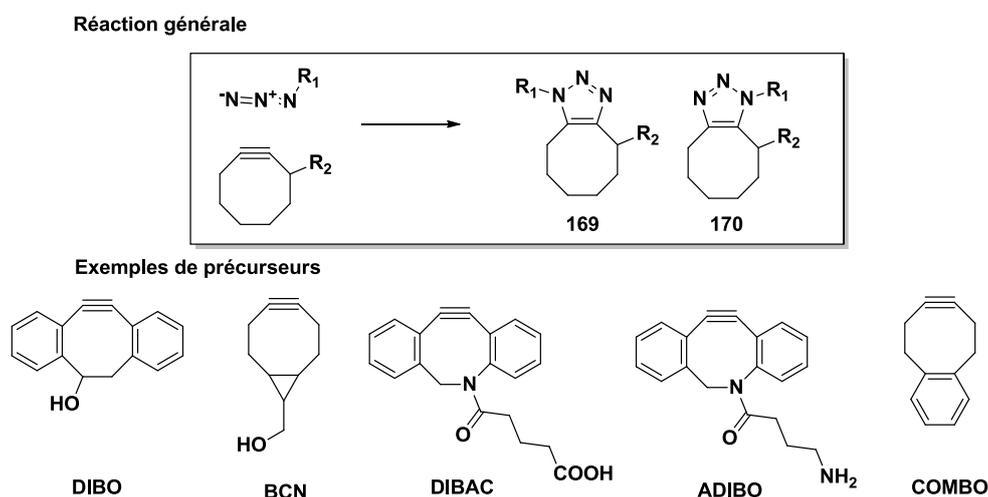


Figure 82 : Réaction de SPAAC avec obtention de deux régioisomères. Exemples de cyclooctynes.

En 2008, le groupe de Fox développe la réaction de chimie click entre le *trans*-cyclootène (TCO) et la tétrazine, issue de la réaction de Diels-Alder à demande inverse en électrons (IEDDA).²⁴⁵ L'IEDDA forme une pyridazine avec une constante de vitesse 2000 fois supérieure à celle de la SPAAC (**Figure 83**). Les tétrazines ont vu leur stabilité renforcée avec l'ajout de groupements aryles. Les TCO réagissent également avec l'eau, provoquant leur isomérisation en *cis* et conduisant à un composé moins réactif.

²⁴³ N. J. Agard, J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15046

²⁴⁴ S. Wallace, J. W. Chin, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 1742

²⁴⁵ M. L. Blackman, M. Royzen, J. M. Fox, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13518

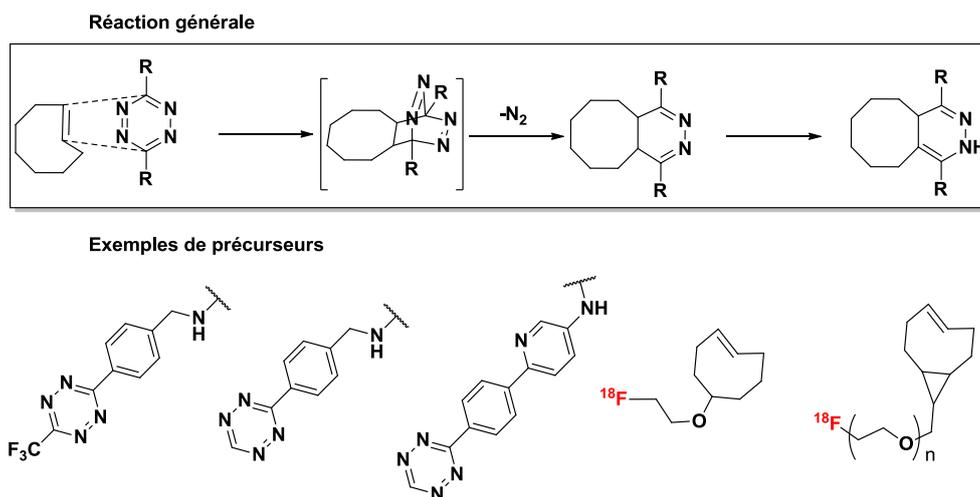


Figure 83 : Réaction de Diels Alder à demande inverse en électron

L'imagerie des macromolécules tels que les anticorps, ayant une pharmacodistribution lente, s'avère compliquée. La pharmacocinétique des anticorps s'étend de 24 à 48 h pour atteindre la cible et se fixer. La période de 2 h du fluor-18 est souvent peu compatible avec cette pharmacocinétique. Outre l'utilisation d'isotopes à plus longue demi-vie comme le cuivre-64²⁴⁶ (12,6 h) ou le zirconium-89²⁴⁷ (3,2 jours), la stratégie de pré-ciblage peut être utilisée. Elle consiste dans un premier temps, en l'injection d'un anticorps fonctionnalisé avec une entité chimique spécifique, puis dans un deuxième temps, un « effecteur » contenant le radionucléide est injecté, réagissant sélectivement avec l'anticorps injecté.

En 2016, l'équipe de Meyer a appliqué la méthode de pré-ciblage avec des précurseurs TCO/tétrazine, avec un effecteur marqué au fluor-18, par stratégie AI-¹⁸F. L'imagerie permet de visualiser l'anticorps 5B1 modifié avec un motif TCO, ciblant le marqueur d'adénocarcinome pancréatique. La tumeur a pu être imagée 1 h pi grâce à la tétrazine **171** (Figure 84) avec des doses efficaces plus élevées que le marquage au zirconium-89 effectué précédemment.²⁴⁸

²⁴⁶ A. Kumar, G. Hao, L. Liu, S. Ramezani, J.-T. Hsieh, O. K. Öz, X. Sun, *Bioconjug. Chem.* **2015**, 26, 782

²⁴⁷ F. C. J. van de Watering, M. Rijpkema, L. Perk, U. Brinkmann, W. J. G. Oyen, O. C. Boerman, Zirconium-89 Labeled Antibodies: A New Tool for Molecular Imaging in Cancer Patients. *BioMed Res. Int.* **2014**

²⁴⁸ J.-P. Meyer, J. L. Houghton, P. Kozlowski, D. Abdel-Atti, T. Reiner, N. V. K. Pillarsetty, W. W. Scholz, B. M. Zeglis, J. S. Lewis, *Bioconjug. Chem.* **2016**, 27, 298

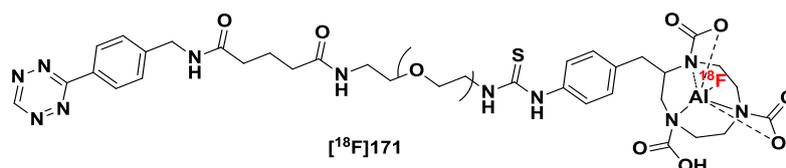


Figure 84 : TzPEG₁₁-Al[¹⁸F]-NOTA marquée précurseur de réaction d'IEDDA avec le 5B1-TCO *in vivo*

Cet exemple illustre les possibilités et avantages des méthodes de radiofluorations pour la création de liaisons fluor-18-hétéroéléments.²⁴⁹

2) Formation de liaison Hétéroatome-Fluor

Depuis plusieurs décennies, les liaisons hétéroatome-fluor ont vu leur intérêt croître. Parmi elles, les liaisons B-F, Si-F, Al-F présentent l'avantage d'être plus énergétiques et donc plus stables que la liaison que C-F (**Tableau 20**). Les hétéroatomes B, Al, Si dits oxophiles et fluorophiles, sont décrits comme des « accepteurs » ou « capteurs » de fluorure permettent la radiofluoration d'un peptide en une seule étape.^{250,251}

Tableau 20 : Energie de liaison de différentes liaisons avec le fluor

Liaison	Energie de liaison (kJ/mol)	Longueur de liaison (Å)
P-F	439	1.54
C-F	485	1.35
Si-F	565	1.60
B-F	613	1.30
Al-F	664	1.63

2.1. Liaison Silicium-Fluor

La liaison Si-F est fortement polarisée ($\Delta\chi > 2$) et son énergie de liaison est de 565 kJ/mol. Le caractère « fluorophile » du silicium a été mis en évidence pour la première fois par Gens en 1958 dans la préparation d'un tétrafluorosilane, à haute température et pression à partir du tétrafluorure de silicium (**Figure 85 A**). En 1976, Poole et Winfield utilisent le [¹⁸F]fluorure pour la formation du [¹⁸F]fluorotriméthylsilane à partir du chlorotriméthylsilane (**Figure 85 B**). En 1985, Rosenthal démontre que la liaison Si-F, s'avère facilement hydrolysable en

²⁴⁹ G. E. Smith, H. L. Sladen, S. C. G. Biagini, P. J. Blower, *Dalton Trans.* **2011**, 40, 6196

²⁵⁰ K. Chansaenpak, B. Vabre, François. P. Gabbai, *Chem Soc Rev* **2016**, 45, 954

²⁵¹ K.-S. Lin, F. Benard, D. M. Perrin, In *Fluorine in Life Sciences: Pharmaceuticals, Medicinal Diagnostics, and Agrochemicals*; **2019**;519

raison de sa forte polarisation. Longtemps considérées instables, les liaisons Si-F ne pouvaient être utilisées *in vivo* sous peine de défluorination et d'accumulation dans les os.²⁵²



Figure 85 : Premiers exemples de formation de liaison Si-fluor-18.²⁵³

Ce sont les groupes de Schirmacher, Wängler,²⁵⁴ et Jurkschat qui ont montrés en 2006 l'importance des groupes vicinaux sur la stabilité de la liaison silicium fluor.²⁵⁵ La présence de groupements avec un fort encombrement stérique (*tert*-Bu, *i*-Pr) sur l'atome de silicium est nécessaire pour permettre une stabilisation et une utilisation *in vivo*. Le concept de SiFA (en anglais Silicon fluoride acceptors) est alors développé (Figure 86).²⁵³

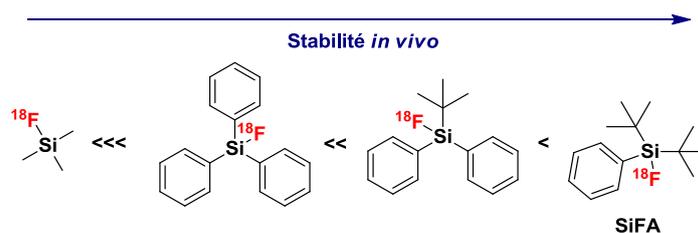


Figure 86 : Stabilité des différentes structures SiFA (repris de Schirmacher 2019)

Les premières études *in vivo* du SiFA ont montré une haute lipophilicité de ce groupement pouvant être problématique lors d'injection *in vivo* : lente accumulation du radiotracer et métabolisation hépatobiliaire élevée. Pour améliorer la pharmacocinétique, différents groupements hydrophiles ont été ajoutés tels que des ammoniums (SiFAlin)²⁵⁶ ou des chaînes peptidiques²⁵⁷ (Figure 87).

²⁵² P. Bohn, A. Deyine, R. Azzouz, L. Bailly, C. Fiol-Petit, L. Bischoff, C. Fruit, F. Marsais, P. Vera, *Nucl. Med. Biol.* **2009**, *36*, 895

²⁵³ R. Schirmacher, V, *et al.* In *Fluorine in Life Sciences*: **2019**; pp. 551–574

²⁵⁴ C. Wängler, A. Kostikov, J. Zhu, J. Chin, B. Wängler, R. Schirmacher, *Appl. Sci.* **2012**, *2*, 277

²⁵⁵ R. Schirmacher, C. Wangler, E. Schirmacher, *Mini-Rev. Org. Chem.* **2007**, *4*, 317

²⁵⁶ S. Niedermoser, J. Chin, C. Wängler, A. Kostikov, V. Bernard-Gauthier, N. Vogler, J.-P. Soucy, A. J. McEwan, R. Schirmacher, B. Wängler, *J. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 1100

²⁵⁷ S. Lindner, C. Michler, S. Leidner, C. Rensch, C. Wängler, R. Schirmacher, P. Bartenstein, B. Wängler, *Bioconj. Chem.* **2014**, *25*, 738

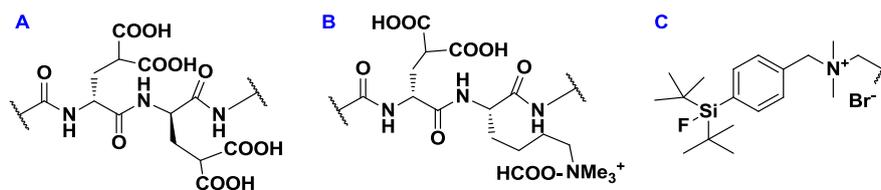


Figure 87 : LysMe3-g-carboxy-D-Glu ; B = g-carboxy-D-Glu ; C = SiFAlin

La liaison Si- ^{18}F peut se former selon deux voies :

- à partir d'un silane contenant des groupements partants comme alkyltréthoxysilane ou monosilanol
- par échange isotopique fluor-19/fluor-18 d'un précurseur trifluoroborate

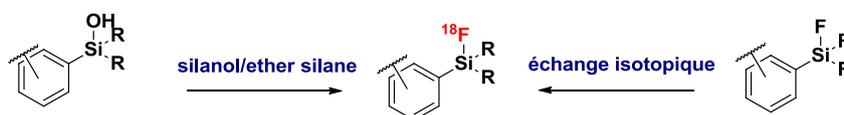


Figure 88 : Méthode de radiofluoration pour la formation de liaison Si-F.

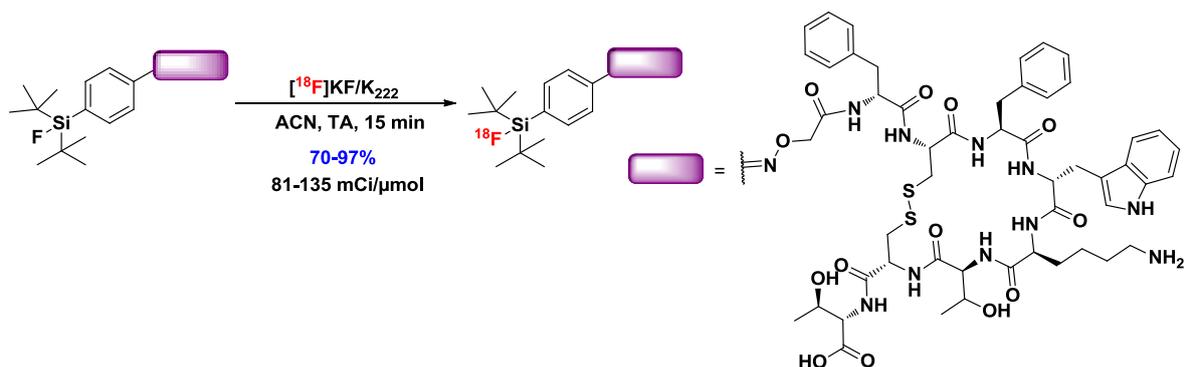
a) Marquage des silanes ou éthers silanes

Un des premiers exemples d'utilisation de l'atome de silicium pour la radiofluoration a été publié par le groupe de Perrin. Ils ont décrit la radiofluoration de la biotine en présence de KF/KHF_2 directement dans l'eau enrichie provenant du cyclotron (**Schéma 22**).²⁵⁸ Le rendement quantitatif est dû aux bons groupements partants (éthoxyl). Cependant la biotine formée est modérément stable en milieu aqueux.

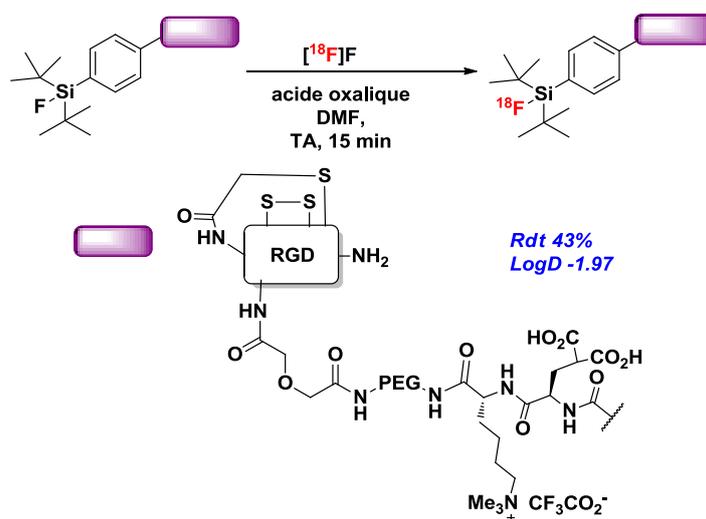


Schéma 22 : Marquage au fluor-18 du triéthoxysilane

²⁵⁸ R. Ting, M. J. Adam, T. J. Ruth, D. M. Perrin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13094

Schéma 24 : Radiomarquage de l'octroétide *via* la formation de liaison Si-F

En 2014, Lindner qui s'intéresse aux récepteurs GRPi (Gastrin-releasing-peptide) surexprimés dans certains types de cancers (prostate, sein, poumon...), synthétise des dérivés de la bombésine et du cRGD modifiés avec des espaceurs PEG (polyéthylène glycol). Une quinzaine de dérivés sont radiofluorés par échange isotopique avec de bons rendements isolés compris entre 43 et 62%.²⁶⁰ Le dérivé radiofluoré présentant la meilleure affinité GPR *in vitro* (Schéma 25) a été évalué *in vivo* sur des souris porteuses de tumeur. La clairance qui s'établit après 180 min grâce à l'hydrophilie de composé (logD -1.97) ainsi que la forte accumulation du dérivé dans la tumeur laissent place à de bons contrastes pour l'imagerie TEP (T/M (tumeur/muscle) = 7 après 90 min pi ; T/M = 9 après 180 min pi).

Schéma 25 : Marquage d'un peptide modifié *via* un fluorosilicane par échange isotopique.

²⁶⁰ S. Lindner, C. Michler, S. Leidner, C. Rensch, C. Wängler, R. Schirmacher, P. Bartenstein, B. Wängler, *Bioconjugate Chem* **2014**, 25, 738

Afin de conjuguer facilement le motif [^{18}F]SiFa aux peptides d'intérêts, des groupements prosthétiques portant des liaisons Si-F fonctionnalisées pour des réactions de chimie click ont vu le jour. Parmi eux on trouve le [^{18}F]SiFB,²⁶¹ le [^{18}F]SiFA-isothiocyanate²⁶² ou encore le [^{18}F]SiFA-aldehyde (SiFA-A) (Figure 89) synthétisés à partir d'une faible quantité de précurseur (≈ 4 nmol) à température ambiante avec un rendement de 97%.²⁵⁵

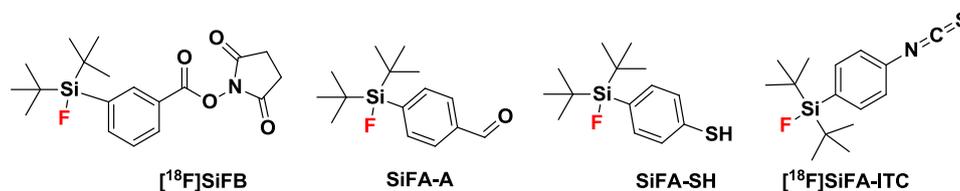


Figure 89 : Groupements prosthétiques pour la formation de liaisons Si- ^{18}F

La méthode de radiofluoration par formation de liaison Si- ^{18}F permet des synthèses rapides avec de hauts rendements. Néanmoins, l'utilisation de groupements silylés stabilisés par des groupements encombrants, entraîne l'augmentation de la lipophilie du peptide.

2.2. Liaison Aluminium-Fluor

L'énergie de dissociation de la liaison aluminium-fluor est la plus élevée parmi celles des liaisons hétéroatomes avec le fluor, reflétant ainsi sa stabilité. La formation de liaison Al- ^{18}F , est introduite par McBride en 2009, qui utilise l'espèce $(\text{Al}^{18}\text{F})^{2+}$ préparée par fluoration du trichlorure d'aluminium en chauffant à 100°C pendant 15 min.²⁶³ Cette espèce est ensuite complexée sur une structure chélatante telle que le triazacyclononane ou tétraazacyclododécane modifiés avec des acides carboxyliques appelés NOTA ou DOTA (Figure 90 A) B)). Ces complexes ont été utilisés par l'équipe de McBride pour radiomarquer les biomolécules thermostables (bombésine, octréotide, cRGD...)^{264,265}

²⁶¹ A. P. Kostikov, J. Chin, K. Orchowski, S. Niedermoser, M. M. Kovacevic, A. Aliaga, K. Jurkschat, B. Wängler, C. Wängler, H.-J. Wester, R. Schirmacher, *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23*, 106

²⁶² P. Rosa-Neto, B. Wängler, L. Iovkova, G. Boening, A. Reader, K. Jurkschat, E. Schirmacher, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 1321

²⁶³ W. J. McBride, C. A. D'Souza, R. M. Sharkey, H. Karacay, E. A. Rossi, C.-H. Chang, D. M. Goldenberg, *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21*, 1331

²⁶⁴ W. J. McBride, C. A. D'Souza, R. M. Sharkey, H. Karacay, E. A. Rossi, C.-H. Chang, D. M. Goldenberg, *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21*, 1331

²⁶⁵ C. A. D'Souza, W. J. McBride, R. M. Sharkey, L. J. Todaro, D. M. Goldenberg, *Bioconjug. Chem.* **2011**, *22*, 1793

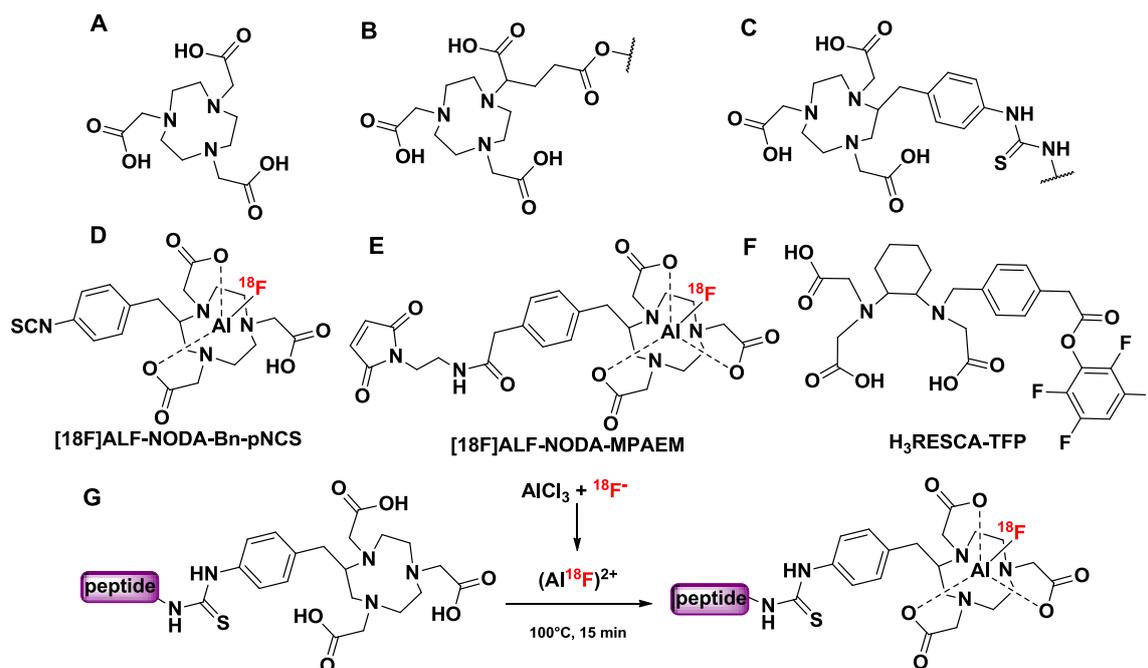


Figure 90 : A) NOTA, B) Dérivé du NOTA ; C) p-SCN-Bz-NOTA G) stratégie de radiomarquage directe d'un peptide par liaison Al-¹⁸F

Un analogue de la bombésine [¹⁸F]172, a été radiofluoré en 45 min avec un rendement compris entre 50-90% et une RAS moyenne de 10 GBq/μmol (Figure 91 A)).

L' [¹⁸F]Alfatide, marqué par stratégie Al-F, est obtenu en 20 minutes avec un rendement radiochimique corrigé de la décroissance de 42% et une activité spécifique de 1Ci/μmol.²⁶⁶ Son étude *in-vivo* a démontré sa grande stabilité et son efficacité pour prédire la réponse à la chimiothérapie (Figure 91 B)).

Actuellement utilisé en étude préclinique, un dérivé du PSMA [¹⁸F]173 (voir introduction analogue ⁶⁸Ga et ²⁷⁷Lu) a été radiofluoré par cette méthodologie à 35 °C en 15 minutes, incluant la purification sur SPE (Figure 91 C)).²⁶⁷

²⁶⁶ W. Wan, N. Guo, D. Pan, C. Yu, Y. Weng, S. Luo, H. Ding, Y. Xu, L. Wang, L. Lang, Q. Xie, M. Yang, X. Chen, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2013**, 54, 691

²⁶⁷ S. Lütje, G. M. Franssen, K. Herrmann, O. C. Boerman, M. Rijpkema, M. Gotthardt, S. Heskamp, *J. Nucl. Med.* **2019**, jnumed.118.218941

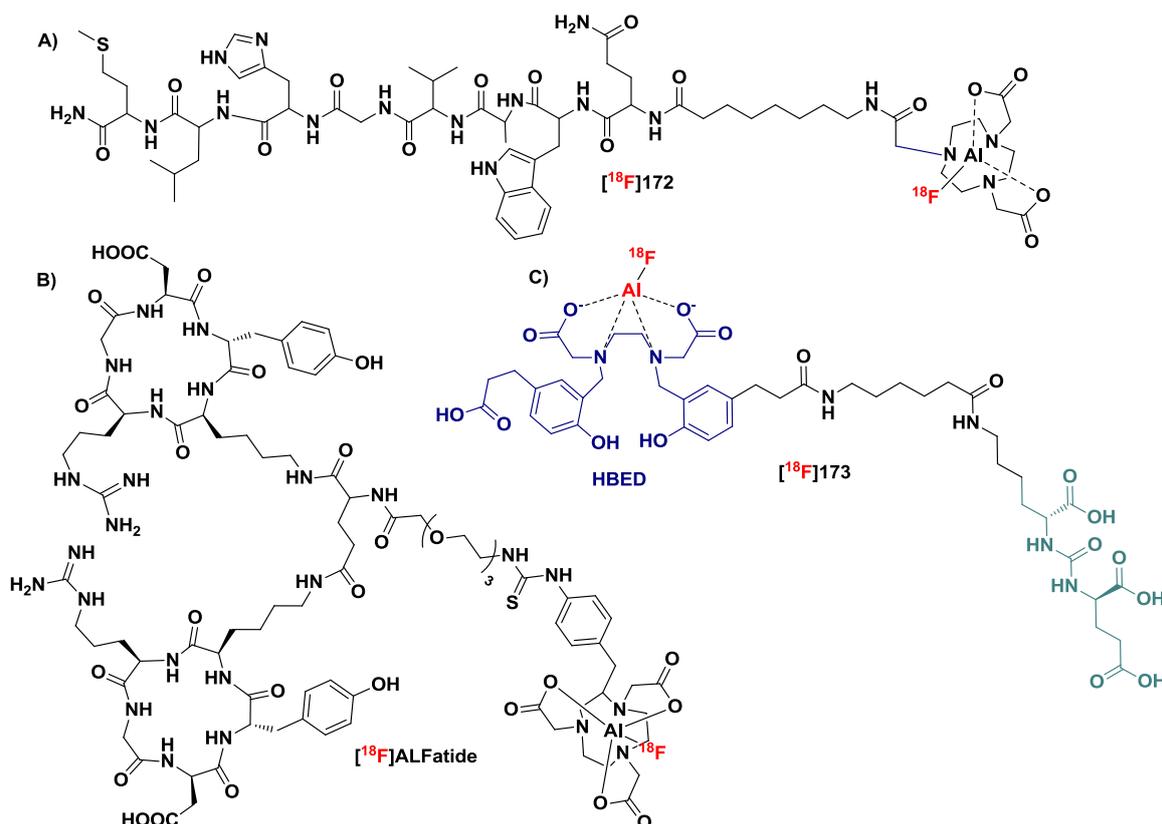


Figure 91 : Marquage de peptides *via* la formation de liaison Al-¹⁸F. A) un analogue de la bombésine B) -[¹⁸F]ALfatide C) [¹⁸F]173 dérivé du [¹⁸F]PSMA-11

Le marquage par formation de liaison Al-¹⁸F offre des avantages de radiosynthèse. La mise en place de la radiochimie sous forme de « kit », avec purification simple et rapide sur cartouche, permet un gain de temps et une facilité de mise en œuvre.²⁶⁸ Néanmoins l'introduction d'une structure chélatante pour complexer aluminium entraîne une importante modification de la macromolécule initiale, pouvant entraîner une perte de reconnaissance vis-à-vis de la cible biologique. La formation du complexe Al-F demande souvent de hautes températures, empêchant l'utilisation de substrats thermosensibles.

2.3. Liaison bore-fluor

La liaison bore-fluor, connue pour sa forte énergie de dissociation, a été exploitée dès les années 60 pour la préparation de sels trifluoro(organo)borates. Les trifluoroborates sont les précurseurs de la réaction de couplage de Suzuki-Miyaura pour la formation de liaison Ar-

²⁶⁸ W. J. McBride, C. A. D'Souza, H. Karacay, R. M. Sharkey, D. M. Goldenberg, *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23*, 538

Ar.²⁶⁹ Plus récemment, les trifluoroborates ont vu leur intérêt grandir comme plateforme pour l'imagerie TEP.

2.3.a) Trifluoroborates

Les organotrifluoroborates, qui présentent des facilités de synthèse et purification, sont synthétisés à partir d'organostannanes mis en présence de trifluorure de bore gazeux. Le dihaloorganoborane généré, hautement instable, réagit avec le fluorure de potassium en milieu aqueux pour former le sel de trifluoroborate attendu. En 1995, Vedejs décrit une méthode plus aisée de mise en œuvre, à partir d'esters ou d'acides boroniques en présence de bifluorure de potassium (KHF₂) pour former un trifluoroborate (Figure 92).²⁷⁰ La synthèse de trifluoroborates a été étendue aux dérivés alcyniques grâce aux travaux de Darses et Genet^{271,272,273} et du groupe de Molander.^{274,275}

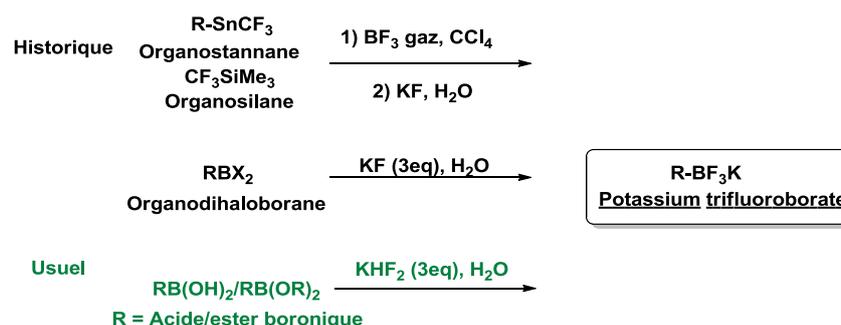


Figure 92 : Différentes synthèses de potassium organotrifluoroborates

En 2013, Li et Schaffer démontrent que la formation d'un trifluoroborate se fait sous forme de plusieurs équilibres par échange de groupements hydroxyles et fluors (Schéma 26).²⁷⁶ Ces équilibres vont vers la formation de l'aryltrifluoroborate quand le pH est acide (pH < 3-4).²⁷⁷

²⁶⁹ M. Chambers, Triethanolamine borate - Similar structures search, synonyms, formulas

²⁷⁰ E. Vedejs, R. W. Chapman, S. C. Fields, S. Lin, M. R. Schrimpf, **1995**, *60*, 3020

²⁷¹ S. Darses, G. Michaud, J.-P. Genêt, **1999**, *1999*, 187

²⁷² S. Darses, J.-P. Genet, **2003**, *2003*, 4313

²⁷³ S. Darses, J.-P. Genet, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 288

²⁷⁴ G. A. Molander, B. P. Hoag, *Organometallics* **2003**, *22*, 3313

²⁷⁵ G. A. Molander, D. L. Sandrock, **2009**, *12*, 811

²⁷⁶ Y. Li, Z. Liu, C. W. Harwig, M. Pourghiasian, J. Lau, K.-S. Lin, P. Schaffer, F. Benard, D. M. Perrin, *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2013**, *3*, 57

²⁷⁷ R. Ting, C. W. Harwig, J. Lo, Y. Li, M. J. Adam, T. J. Ruth, D. M. Perrin, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4662

Quand le pH est supérieur à 4 la solvolysse des trifluoroborates est effective, confirmée par RMN ^{19}F .^{278,279}

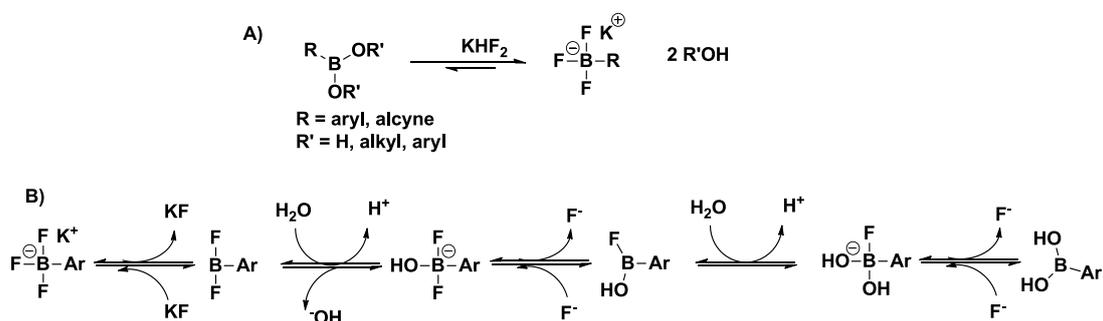


Schéma 26 : A) Synthèse usuelle d'un trifluoroborate B) Hydrolyse d'un aryltrifluoroborate.

La stabilité et la facilité de formation des liaisons bore-fluor ont permis d'utiliser le trifluoroborate pour des applications en radiochimie au fluor-18, notamment pour la préparation de radiotraceurs pour l'imagerie TEP.^{280,281}

Les trifluoroborates radiomarqués au fluor-18 peuvent être obtenus de deux façons (**Figure 93**) :

- par clivage d'un ester boronique aromatique ou d'un arylborimidine avec du bifluorure de potassium.
- par échange isotopique ^{19}F - ^{18}F à partir d'un trifluoroborate.

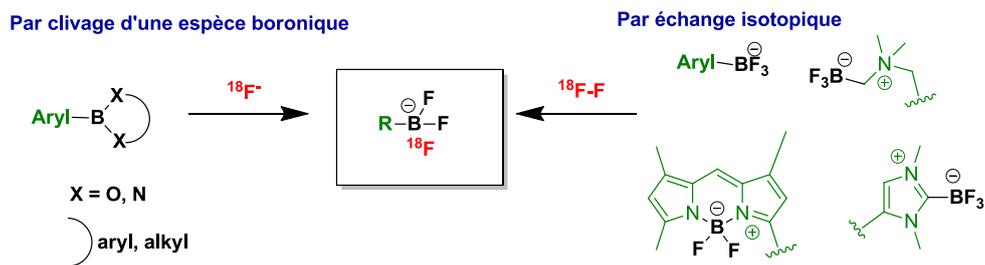


Figure 93: Formation d'un trifluoroborate marqué au fluor-18

²⁷⁸ Z. Liu, Y. Li, R. Ting, D. M. Perrin, *J. Phys. Org. Chem.* **2015**, *28*, 210

²⁷⁹ Z. Liu, D. Chao, Y. Li, R. Ting, J. Oh, D. M. Perrin, *Chem. – Eur. J.* **2015**, *21*, 3924

²⁸⁰ D. Perrin, R. Ting, C. Overall, Substituted aryl-fluoroborates as imaging agents **2017**

²⁸¹ D. Perrin, Z. LIU, Substituted organofluoroborates as imaging agents **2014**

- Clivage d'aryle boronique

En 2005, Ting réalise pour la première fois le marquage au fluor-18 d'un atome de bore à partir d'un ester boronique. Le trifluoroborate formé est conjugué à la biotine permettant une potentielle utilisation en imagerie TEP pour l'étude des interactions spécifiques de l'Avidine (**Schéma 27**).²⁵⁸ Néanmoins la biotine radiofluorée est instable.

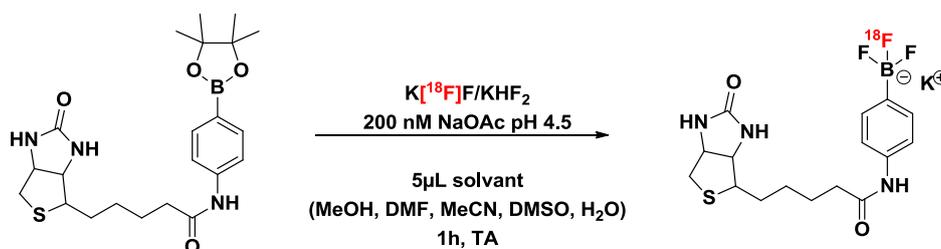


Schéma 27 : Radiosynthèse du biotinylated [¹⁸F]-p-aminophényltrifluoroborate.

L'hydrolyse de l'ester arylboronique peut être retardée par la présence de groupes électroattracteurs sur le phényle (en *ortho* et *meta* du cycle) augmentant la déficience électronique du noyau aromatique. La stabilité du fluoroborate formé est accrue pour un solvant peu polaire et en milieu légèrement acide. L'utilisation des arytrifluoroborates s'est accrue après optimisation de leur stabilité par le groupe de Perrin (**Figure 94**).^{277,282}

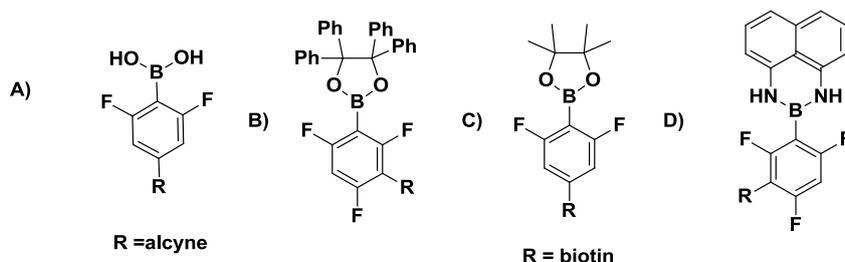


Figure 94 : Différents précurseurs pour la formation de liaison B-¹⁸F A) alcyne²⁸³ B) précurseur alcyne^{284,285} C) précurseur alcyne²⁸⁶ D) précurseur alcyne^{250,282}

²⁸² B. P. Burke, G. S. Clemente, S. J. Archibald, *Contrast Media Mol. Imaging* **2015**, *10*, 96

²⁸³ Y. Li, P. Schaffer, D. M. Perrin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6313

²⁸⁴ Y. Li, J. Guo, S. Tang, L. Lang, X. Chen, D. M. Perrin, *Am J Nucl Med Mol Imaging* **2013**, *3*, 44

²⁸⁵ R. Ting, T. A. Aguilera, J. L. Crisp, D. J. Hall, W. C. Eckelman, D. R. Vera, R. Y. Tsien, *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21*, 1811

²⁸⁶ T. A. D. Smith, M. Simpson, R. Cheyne, L. Trembleau, *Appl. Radiat. Isot.* **2011**, *69*, 1395

Le groupe de Keller en 2010, a réalisé la radiofluoration du marimastate à partir d'un ester boronique dans l'eau à pH acide.²⁸⁷ Le marimastate est un peptide qui d'inhibe l'angiogénèse et la formation de métastases. Ce peptide a été radiomarqué à température ambiante, en milieu aqueux contenant du bisfluorure de potassium en présence d'acide ascorbique, de formiate d'ammonium et d'acide chlorhydrique pour atteindre un pH \approx 1-2. Le marimastate radiofluoré est obtenu après une heure avec un rendement corrigé de 15-30% et une faible RAS de 3.7 GBq/ μ mol.

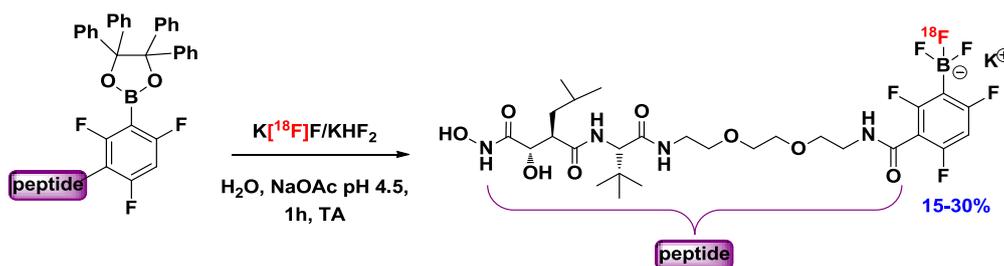


Schéma 28 : Radiofluoration d'un dérivé du marimastate

- Echange isotopique

Les groupes de F. Gabbaï et D. Perrin ont publié récemment sur la formation de liaison bore-fluor-18 par échange isotopique $^{18}F/^{19}F$. La réaction d'échange isotopique ne présente pas de force motrice mais s'avère très simple de mise en œuvre. Le précurseur après radiofluoration reste identique. Pour favoriser l'échange isotopique et diminuer la dilution isotopique, l'utilisation de petites quantités de substrat et de petits volumes (quelques μ L) sont nécessaires. Les trifluoroborates préparés, permettant le marquage des protéines en une étape. Les trifluoroborates ont pour avantage d'être solubles, hydrophiles permettant une meilleure clairance et un meilleur contraste lors de l'imagerie.

Les trifluoroborates, jusqu'à présent limités aux motifs aromatiques, ont vu leur structure modifiée grâce à une nouvelle série utilisant comme groupe stabilisant un atome cationique (phosphore et azote). Les complexes zwitterioniques formés sont stabilisés (**Figure 95**).

²⁸⁷ U. Keller, C. L. Bellac, Y. Li, Y. Lou, P. F. Lange, R. Ting, C. Harwig, R. Kappelhoff, S. Dedhar, M. J. Adam, T. J. Ruth, F. Bénard, D. M. Perrin, C. M. Overall, *Cancer Res.* **2010**, *70*, 7562

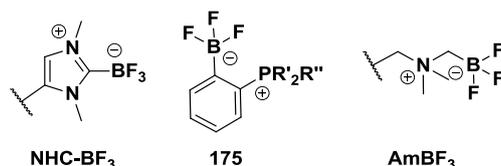


Figure 95 : Précurseurs trifluoroborates pour la formation de liaison B-¹⁸F par échange isotopique. Phosphoré 175²⁸⁸
l'AMBF₃²⁸⁹

En 2014, Perrin a développé un trifluoroborate aliphatique stabilisé par un ammonium. L'ammoniométhyltrifluoroborate (**AMBF₃**) est facilement préparé à partir de la N,N-diméthylpropargylamine et du iodoboronyl pinacolate en présence de bisfluorure de potassium.²⁷⁹ L'ammonium borane, afin d'être utilisé par réaction de chimie click, est doté d'une fonction alcyne. L'^[18F]AMBF₃, stable *in vivo*, a prouvé son efficacité pour le marquage de peptides tels que l'octréotate (**Figure 96 A**)^{251,290} ou la bombésine (**Figure 96 B**) pour des études précliniques en imagerie TEP.²⁹⁰

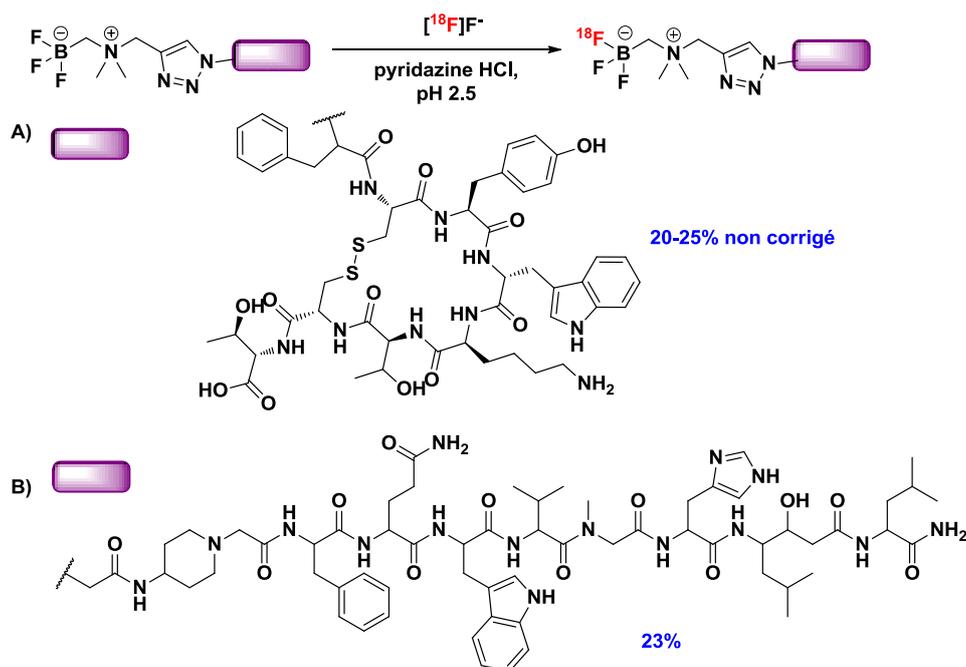


Figure 96 : Marquage direct grâce au AMBF₃ de A) Ocréotate TATE B) dérivé de la bombésine²⁹¹

²⁸⁸ Z. Li, K. Chansaenpak, S. Liu, C. R. Wade, P. S. Conti, F. P. Gabbaï, **2012**, 3, 1305

²⁸⁹ Z. Liu, M. Pourghiasian, M. A. Radtke, J. Lau, J. Pan, G. M. Dias, D. Yapp, K.-S. Lin, F. Bénard, D. M. Perrin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 11876

²⁹⁰ Z. Liu, G. Amouroux, Z. Zhang, J. Pan, N. Hundal-Jabal, N. Colpo, J. Lau, D. M. Perrin, F. Bénard, K.-S. Lin, *Mol. Pharm.* **2015**, 12, 974

²⁹¹ Z. Liu, M. Pourghiasian, M. A. Radtke, J. Lau, J. Pan, G. M. Dias, D. Yapp, K.-S. Lin, F. Bénard, D. M. Perrin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 11876

Le groupe de Gabbaï, s'est intéressé à la stabilisation du trifluoroborate par un atome de phosphore ou d'azote, synthétisant un phosphonium borane et un carbène N-hétérocyclique. En 2016, le phosphonium borane a été utilisé pour marquer l'indométhacine, un agent de fluorescence. Sa radiofluoration effectuée directement dans l'eau enrichie, présente une bonne conversion de 95% (Figure 97 A).²⁹²

Le motif NHC-BF₃²⁹³ (t_{1/2} > 10 000 min) a été couplé à un motif maléimide pour une conjugaison facile à des peptides par addition de thiol-Michael. Le [¹⁸F]NHC-BF₃ a pu être utilisé *in vivo* pour le marquage d'un peptide neurotensine (NT) et du glutamate-urée-Lysine un analogue du PSMA (Figure 97 B).²⁹⁴

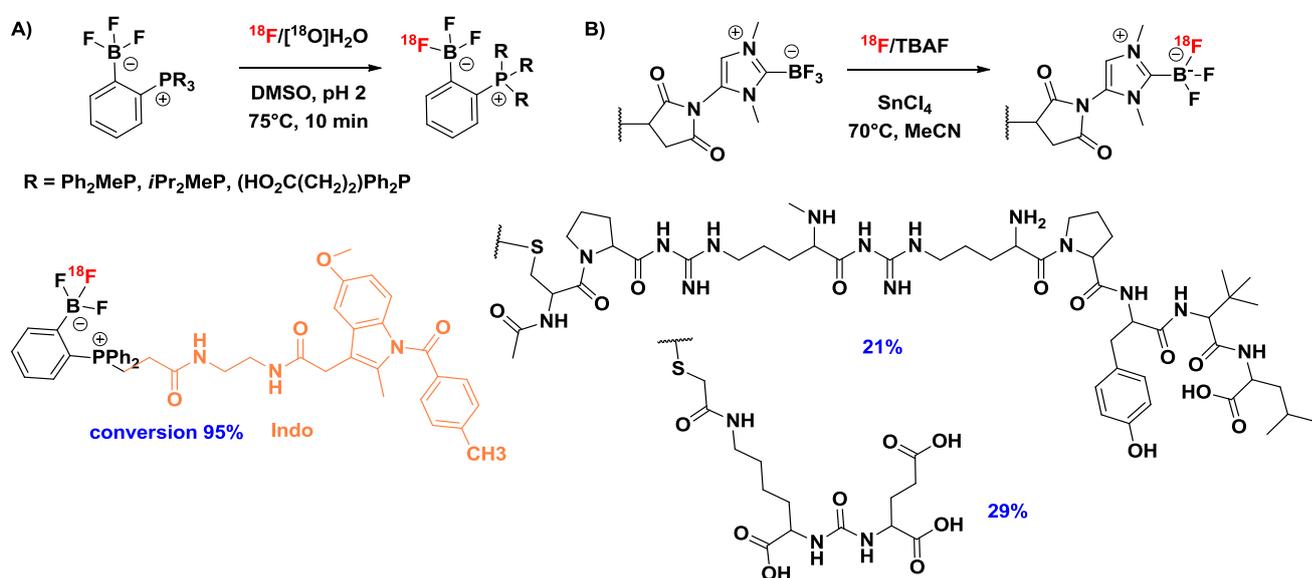


Figure 97 : Echange isotopique ¹⁸F-¹⁹F à partir A) d'un phosphonium borane pour le marquage de l'indométhacine B) carbène N-hétérocyclique-BF₃ (NHC-BF₃) pour le marquage peptide neurotensine (NT) et du glutamate-urée-Lysine

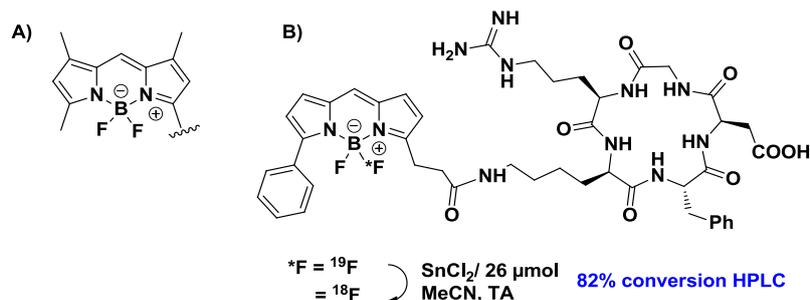
La formation de liaison bore-fluor a également été exploitée pour la synthèse d'agents bimodaux tels que le colorant dipyrrométhène boré (BODIPY) pour une utilisation en imagerie fluorescente et TEP. Sa stabilité lui octroie une possible utilisation *in vivo* pour du marquage de peptides tels que l'anticorps trastuzumab²⁹⁵ ou le cRGD²⁹⁶ (Figure 98).

²⁹² K. Chansaenpak, M. Wang, S. Liu, Z. Wu, H. Yuan, P. S. Conti, Z. Li, F. P. Gabbaï, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 23126

²⁹³ K. Chansaenpak, M. Wang, Z. Wu, R. Zaman, Z. Li, F. P. Gabbaï, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 12439

²⁹⁴ K. Chansaenpak, M. Wang, H. Wang, B. C. Giglio, F. P. Gabbaï, Z. Wu, Z. Li, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 17748

²⁹⁵ J. A. Hendricks, E. J. Keliher, D. Wan, S. A. Hilderbrand, R. Weissleder, R. Mazitschek, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4603

Figure 98 : A) Formule générale BODIPY et B) Marquage direct du cRGD²⁹⁷

Les techniques de radiomarquage par formation de liaison hétéroatome fluor impliquent l'introduction de motifs ou structures supplémentaires. Afin de faciliter le couplage de ces entités aux peptides, la synthèse de nouveaux « building blocks » a vu naturellement son émergence. Des fonctions associées à des réactions de chimie ont été greffées au voisinage des précurseurs contenant des hétéroatomes²⁹⁸ (Figure 99).

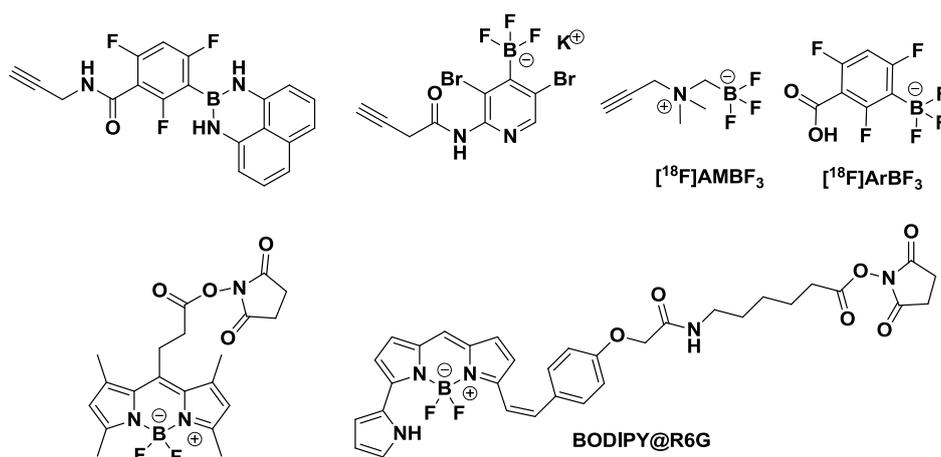


Figure 99 : Principaux groupements prosthétiques pour le marquage au fluor-18 contenant un atome de bore

2.3.b) Les composés monofluoroborates

La synthèse de monofluoroborates, plus rare dans la littérature, a été décrite pour la première fois en 1940 par Fowler et Krauss.²⁹⁹ Le triphénylfluoroborate tétraalkylammonium

²⁹⁶ S. Liu, T.-P. Lin, D. Li, L. Leamer, H. Shan, Z. Li, F. P. Gabbaï, P. S. Conti, *Theranostics*, **2013**, 3, 181

²⁹⁷ S. Liu, D. Li, Z. Zhang, G. K. S. Prakash, P. S. Conti, Z. Li, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 7371

²⁹⁸ J.-L. Zeng, J. Wang, J.-A. Ma, *Bioconj. Chem.* **2015**, 26, 1000

²⁹⁹ D. L. Fowler, C. A. Kraus, *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62, 1143

est synthétisé à partir d'un complexe ammoniac borane et d'un fluorure de tétraalkylammonium (**Figure 100**).

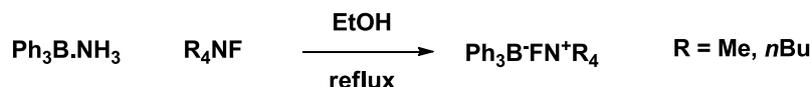


Figure 100 : Préparation du triphénylfluoroborate tétraalkylammonium.

Dans un brevet de 2009, Armand décrit la formation de composés tricycliques constitués d'un atome de bore ou aluminium (**Schéma 29**).³⁰⁰ Ces sels sont destinés à la solubilisation des composés ioniques en complexant les cations associés. Ils ont le même usage que les éthers-couronne ou les cryptands souvent coûteux. Ces composés monofluoroborés sont préparés à partir de triméthylalkyle complexés dans l'éthanol avec de l'acide borique puis fluorés avec du fluorure de potassium.

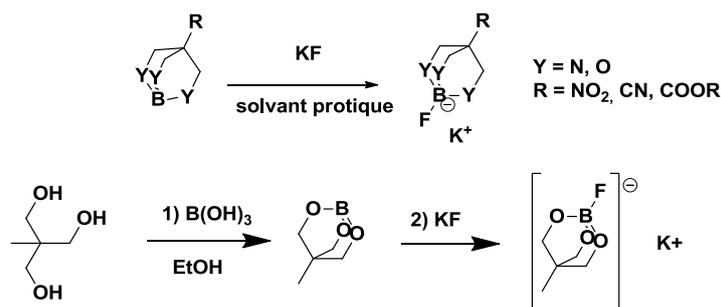


Schéma 29 : Fluoration générale des complexes de bore. Exemple du complexe triméthylalcool borate

En 2006, Gabbai envisage des agents de dépollution de l'eau en utilisant des composés borés pour capter de manière sélective les ions fluorures.^{301,302,303} L'affinité du bore pour le fluor est exploitée pour former des espèces tétracoordinées en milieu aqueux, surpassant la solvatation des ions fluorures avec l'eau. Ces entités borées, utilisées comme acides de Lewis, sont stabilisées par des atomes cationiques tels que l'ammonium, le phosphonium, le sulfonium (**Schéma 30**).³⁰⁴

³⁰⁰ M. Armand, J. Tarascon, N. Recham, Complexes de bore ou d'aluminium

³⁰¹ C.-W. Chiu, F. P. Gabbai, **2006**, *128*, 14248

³⁰² T. W. Hudnall, Y.-M. Kim, M. W. P. Bebbington, D. Bourissou, F. P. Gabbai, **2008**, *130*, 10890

³⁰³ M. H. Lee, F. P. Gabbai, **2007**, *46*, 8132

³⁰⁴ T. S. De Vries, A. Prokofjevs, E. Vedejs, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4246

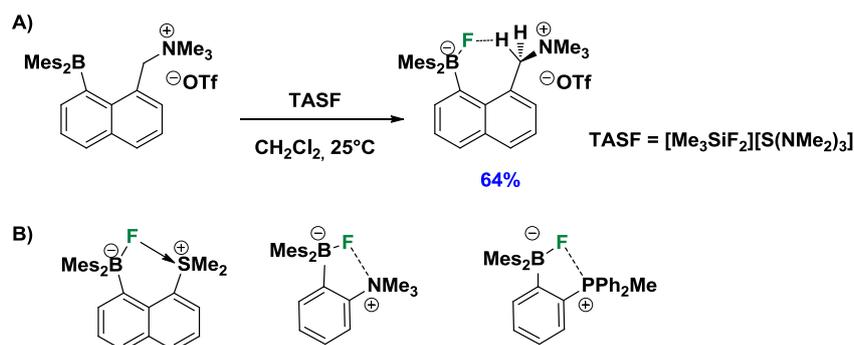


Schéma 30 : A) Fluoruration de l'ammonium borate B) différents monofluoroborates stabilisés par un cation.

En 2013, Zhao exploite le monofluoroborate sulfonium comme source de fluor pour la fluoruration de composés aromatiques (**Schéma 31**).^{305,306}

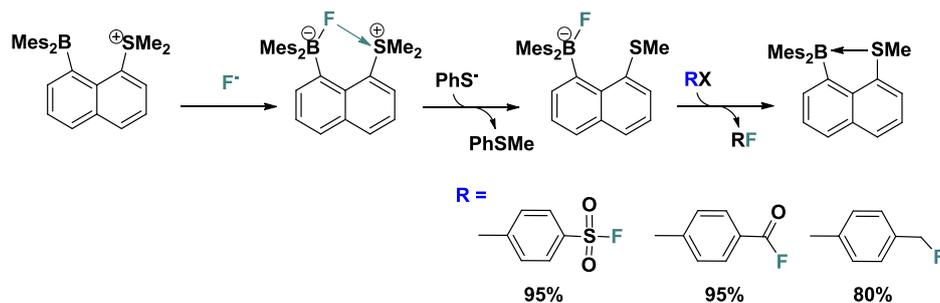


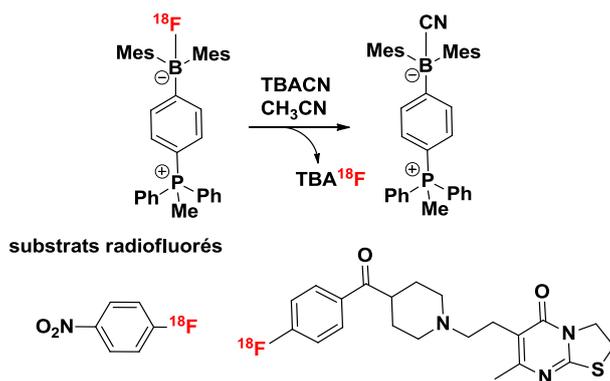
Schéma 31 : Fluoruration de composés aromatiques par relargage du fluorure d'un monofluoroborate sulfonium.

Cette méthodologie est appliquée au fluor-18 par Perrio *et al.*³⁰⁷ qui utilisent le monofluoroborate phosphonium de Gabbai comme agent de radiofluoration. Le relargage du fluorure par l'espèce phosphonium permet une préparation rapide du TBAF sur cartouche (**Schéma 32**).

³⁰⁵ H. Zhao, L. A. Leamer, F. P. Gabbai, *Dalton Trans.* **2013**, 42, 8164

³⁰⁶ M. H. Lee, T. Agou, J. Kobayashi, T. Kawashima, F. P. Gabbai, *Chem. Commun.* **2007**, 1133

³⁰⁷ C. Perrio, S. Schmitt, D. Pla, F. P. Gabbai, K. Chansaenpak, B. Mestre-Voegtle, E. Gras, *Chem. Commun.* **2017**, 53, 340

Schéma 32 : Radiofluoration de substrat *via* phosphonium borane

L'émergence des méthodes de marquage de molécules au fluor-18 *via* des hétéroatomes a permis de développer l'utilisation de nombreux peptides en imagerie TEP. La méthode de radiofluoration par échange isotopique présente l'avantage d'obtenir de bons rendements radiochimiques et d'effectuer la radiofluoration dans l'eau à température ambiante en utilisant directement le fluorure-18 provenant du cyclotron, évitant la longue procédure de « séchage des fluorures ». Néanmoins la création de liaison B-¹⁸F par échange isotopique pose certains problèmes, notamment d'activités spécifiques faibles. Celles-ci peuvent être améliorées avec l'utilisation de faibles quantités de précurseurs et des milieux concentrés en fluor-18 (petits volumes) ; mais il en résulte une difficulté de mise en œuvre et des manipulations peu reproductibles.

II. Objectifs

1) Les boratranes

Les atranes sont des molécules tricycliques composés en tête de pont d'un atome d'azote qui permet une liaison intramoléculaire avec l'atome M (M = Si, B, P) (**Figure 101**).

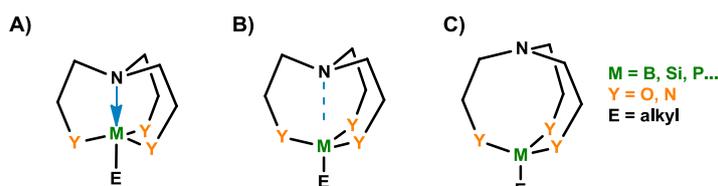


Figure 101: A) Atrane B) quasi-atrane C) pro-atrane

Les atomes Y sont considérés par défaut comme des oxygènes car les premiers atranes ont été préparés à partir de la triéthanolamine. Quand les atomes Y sont des azotes, on parle d'azaboratrane, si l'atome Y est un atome de carbone on parle de carbaboratrane et si Y un atome de soufre de thioboratrane.^{308,309} Quand les atomes Y sont des oxygènes, on parle de boratrane, boroxazolidines ou triéthanolamine borate.

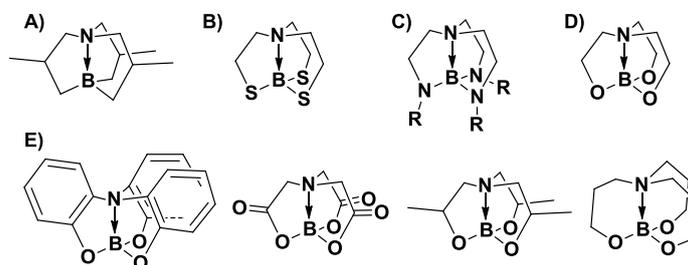


Figure 102: Structures du A) carbaboratrane B) thiaboratrane C) azaboratrane D) Boratrane. E) Exemples de boratranes.

La première préparation des boroxazolidines a été rapportée dans un brevet allemand datant de 1933.³¹⁰ Les boratranes ont ensuite été investigués plus en détail par Brown and Fletcher en 1951,³¹¹ qui avancent l'hypothèse de l'existence d'une liaison dative entre le bore et l'azote stabilisant le composé quand il prend une forme « triptych » (**Figure 101 A**)). Le boratrane peut être préparé par estérification entre la triéthanolamine et l'acide borique, ou par transestérification de trialkylborates. En 1952, Hein and Burkhardt proposent une

³⁰⁸ J. G. Verkade, *Coord. Chem. Rev.* **1994**, 137, 233

³⁰⁹ M. G. Voronkov, V. P. Baryshok, *J. Organomet. Chem.* **1982**, 239, 199

³¹⁰ C. A. Rojahn, *Chem Abstr* **1933**, 27, 5153

³¹¹ H. C. Brown, E. A. Fletcher, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 2808

méthode de synthèse améliorée par procédé azéotropique.³¹² Différentes études se sont succédées autour des boratranes détaillant leur stabilité,³¹³ la pouvoir basique,³¹⁴ l'effet des substituants.^{315,316} La synthèse de nombreux dérivés boratranes a été décrite par le groupe de Schleppnik and Gutsche^{317,318} et plus récemment par Kim *et al.*^{319,320,321,322,323} L'analyse RX a été publiée en 2014 par Koylyukov.^{324,325}

2) Travaux réalisés

Notre objectif était de synthétiser une plateforme borée pour permettre l'incorporation du fluor-18 en milieu aqueux sur des peptides. La fluoration de la plateforme boratrane permettra la formation d'une espèce zwitterionique différente du précurseur et facilement séparable de celui-ci pour permettre sa purification. La fluoration du boratrane formera un monofluoroborate permettant de s'affranchir des problèmes liés à la dilution isotopique.

Dans un premier temps, nous avons étudié la fluoration en chimie non radioactive d'un boratrane simple (**Schéma 33**, R = H) afin d'établir la preuve de concept (POC) que la molécule borée peut accepter un fluorure. Dans un second temps, un boratrane substitué avec des fonctions d'intérêt sera synthétisé tels que un groupement UV-visible pour un suivi HPLC ou un peptide de choix.

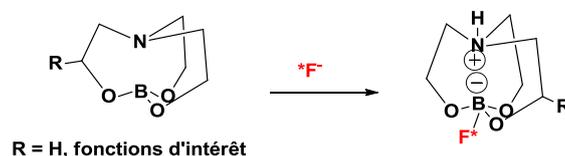


Schéma 33 : Fluoruration du boratrane.

³¹² Fr. Hein, R. Burkhardt, *Z. Für Anorg. Allg. Chem.* **1952**, 268, 159

³¹³ H. Weidmann, H. Jr K. Z Immerman, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1958**, 619, 28

³¹⁴ C. A. Lucchesi, D. D. DeFord, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1960**, 14, 290

³¹⁵ H. K. Zimmerman, In *Boron-Nitrogen Chemistry*; Nierenzu, K., **1964**; 42, 23–34

³¹⁶ H. K. Zimmerman, D. A. Jones, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1964**, 83, 123

³¹⁷ A. A. Schleppnik, C. D. GUTSCHE, *J. Org. Chem.* **1960**, 25, 1378

³¹⁸ A. A. Schleppnik, C. D. Gutsche, *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 3684

³¹⁹ Y. I. Bolgova, G. A. Kuznetsova, O. M. Trofimova, M. G. Voronkov, *Chem. Heterocycl. Compd.* **2013**, 49, 1246

³²⁰ R. A. Franich, B. K. Nicholson, H. W. Kroese, S. S. Gallagher, R. Meder, J. R. Lane, B. D. Kelly, *Polyhedron* **2011**, 30, 2884

³²¹ M. Grassi, G. Di Silvestro, M. Farina, *Tetrahedron* **1985**, 41, 177

³²² D. J. Kim, S. Mun, S. Yoon, C. H. Oh, H.-R. Park, T.-S. You, J. Lee, Y. Kim, *Polyhedron* **2011**, 30, 1076

³²³ D. J. Kim, Y. Hong, S. H. Kim, K. M. Lee, S. Mun, S. Yoon, J. Lee, Y. Do, Y. Kim, *Inorganica Chim. Acta* **2011**, 378, 311

³²⁴ R. Franich, G. Billett, D. O'Callahan, S. Gallagher, B. Kelly, H. Kroese, K. Torr, J. van der Waals, **2005**, 121

³²⁵ A. A. Korlyukov, K. A. Lyssenko, M. Yu. Antipin, V. N. Kirin, E. A. Chernyshev, S. P. Knyazev, *Inorg. Chem.* **2002**, 41, 5043

III. Résultats

1) Calculs théoriques

En parallèle des travaux de chimie et radiochimie, des calculs théoriques ont été réalisés pour comparer le boratrane simple **175**, le boratrane substitué **176** et l'AMBF₃ (collaboration Nicolas Galland, laboratoire CEISAM UMR CNRS 6230). La distance B-N pour le boratrane simple **175** est décrite pour une valeur de 1.677Å.³²⁶ Les calculs montrent la longueur de liaison B-N de 1,82 Å. La protonation de l'atome d'azote nécessaire pour la fluoruration de l'atome de bore, éloigne les atomes de bore et d'azote. Cet éloignement dû aux interactions électrostatiques répulsives du B⁻ et N⁺ établit l'éloignement des atomes B-N à 3.24 Å pour le monofluoroborate **177** (Figure 103 A) et B)). La distance B-N est sensiblement la même (3.22 Å) pour un monofluoroborate substitué **178** par CH₂N(Me)₂ et plus courte pour le composé AMBF₃ (2.72 Å).

Les teintes de couleur (Figure 103 C)) correspondent à une valeur numérique permettant de quantifier le caractère nucléophile d'un site. A part l'atome de fluor, riche en électrons, chacun des trois oxygènes apparaît comme un site d'attaque potentielle par des électrophiles.

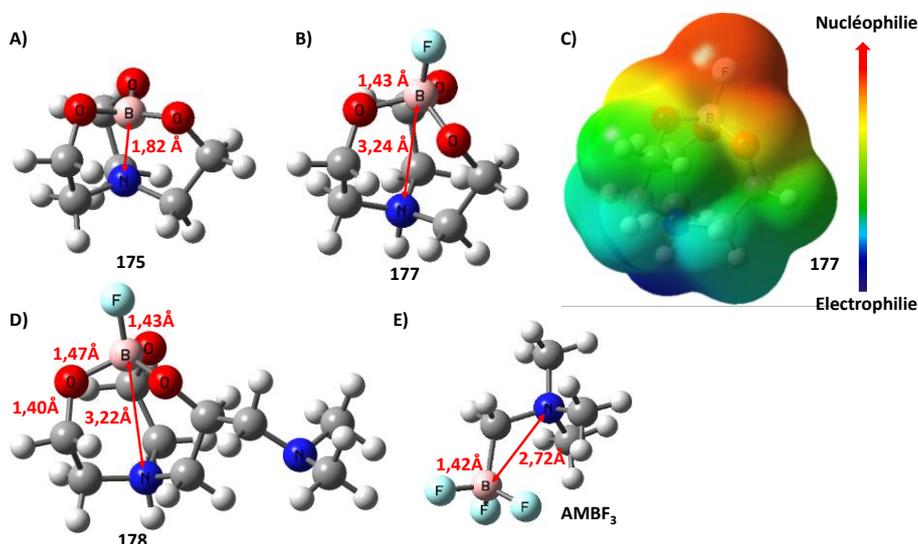


Figure 103 : A) Boratrane 175 B) Boratrane fluoré 177 C) Richesse électronique du boratrane fluoré 177 D) Boratrane fluoré 178 E) AMBF₃

³²⁶ R. Mattes, D. Fenske, K.-F. Tebbe, *Chem. Ber.* **1972**, *105*, 2089

Afin d'évaluer la stabilité des monofluoroborates **177** et **178**, l'attaque de l'eau sur un des trois oxygènes constituant chacun un site nucléophile fort, a été simulée. On considère l'attaque d'un proton présent dans le milieu acide c'est-à-dire la réaction de protonation du composé boratrane **177** (Figure 104). La liaison B-O est rompue avec une distance de 1,70 Å (liaison B-O = 1,47 Å pour le composé **178** non-protoné, et de 1,37 Å pour B(OH)₃). Pour le composé substitué **178**, le mécanisme est le même, l'énergie de réaction pour la protonation est favorable (-0,4 kcal/mol).

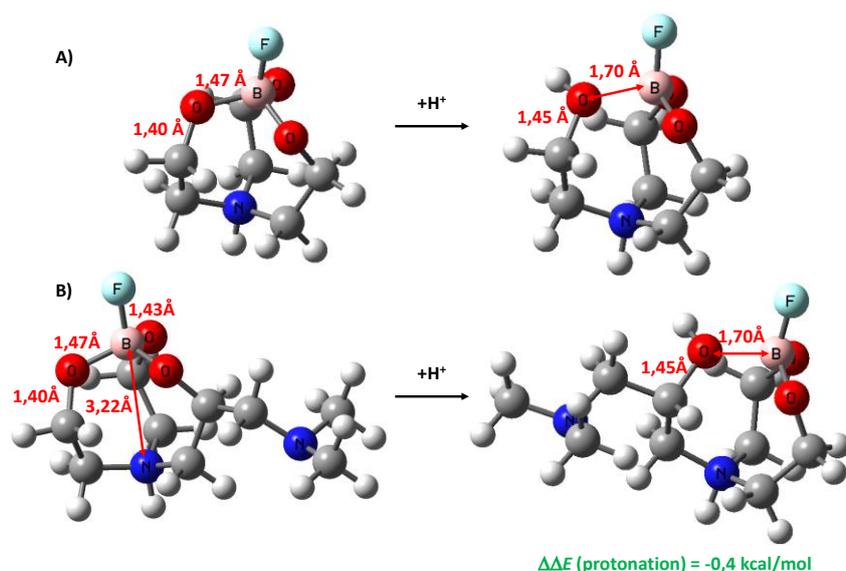


Figure 104 : Protonation théorique des monofluoroborates **177** et **178**

2) Synthèse

2.1. Boratrane simple modèle **175**

Afin d'apporter la preuve de concept que le boratrane peut se fluorer facilement en milieu aqueux, nous nous intéressons dans un premier temps au boratrane le plus simple **175** comme composé modèle. Le boratrane **175** a été formé à partir de triéthanolamine **179** et d'acide borique dans l'éthanol à température ambiante pendant 24 h. La synthèse du boratrane **175** réalisée avec du B(OMe)₃ donne le même résultat (Schéma 34).

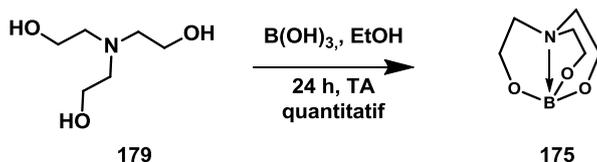
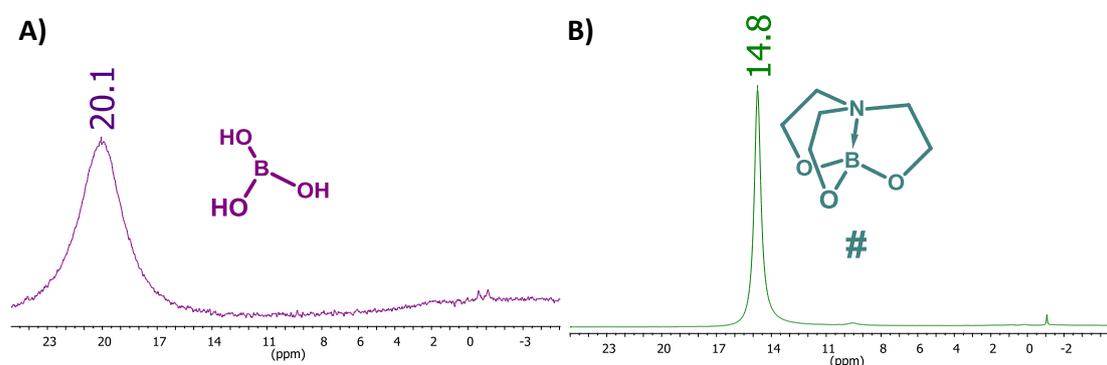


Schéma 34 : Synthèse du boratrane simple 175.

La formation du produit **175** est connue et a été confirmée par RMN ^{11}B avec un pic à 14 ppm (**Figure 105 A**).^{319,327,328}

Figure 105 : a) RMN ^{11}B de l'acide borique (DMSO) 20.1 ppm b) RMN ^{11}B (DMSO) du boratrane 175 à 14.5 ppm

Le composé modèle non substitué a permis d'avoir des références en RMN du bore-11. Afin d'être couplé à des molécules d'intérêt et d'établir un suivi HPLC, le boratrane modèle a été substitué par des groupements UV visibles.

2.2. Boratrane substitué

Deux rétrosynthèses ont été envisagées pour la fonctionnalisation du boratrane. (**Figure 106**). Deux sites d'alkylation sont possibles soit en α ou en β vis-à-vis de l'atome d'azote. La

³²⁷ A. A. Korlyukov, K. A. Lyssenko, M. Yu. Antipin, V. N. Kirin, E. A. Chernyshev, S. P. Knyazev, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 5043

³²⁸ R. A. Franich, B. K. Nicholson, H. W. Kroese, S. S. Gallagher, R. Meder, J. R. Lane, B. D. Kelly, *Polyhedron* **2011**, *30*, 2884

fonctionnalisation sur le carbone en α implique comme précurseur le sérinol **180** et celle en β utilise la diéthanolamine **181** comme substrat de départ.

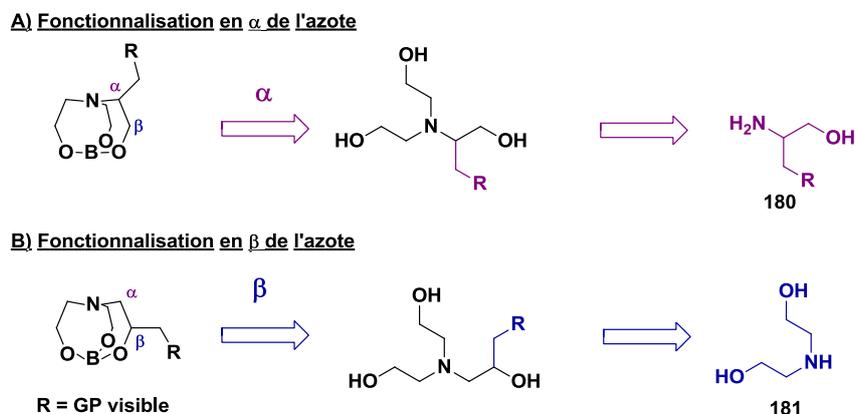


Figure 106 : Rétrosynthèse pour la substitution du boratrane envisagée sur le carbone en α et en β

2.2.a) Alkylation en α

La première étape est la protection de l'amine du sérinol **180** par un groupement Boc avec un bon rendement de 88%. Le composé diol **182** formé est ensuite monoestérifié par le chlorure d'hydrocinnamoyl en présence de TMEDA et de méthylimidazole pour former l'ester **183** avec un rendement moyen de 48%.

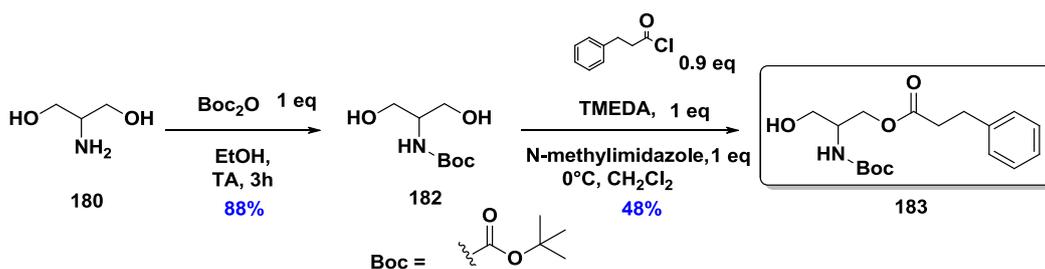


Schéma 35 : Synthèse de l'ester **183**

L'amine **183** est ensuite déprotégée en présence d'acide. Cette étape a été délicate car le composé **184** s'est avéré peu stable. Il a été engagé directement dans une réaction de N'-alkylation avec le bromoéthanol sous pression dans le dioxane. Cette étape a permis de

détecter le composé attendu **185** seulement en petite quantité et majoritairement le dérivé mono-alkylé **186** (ratio 1/6).

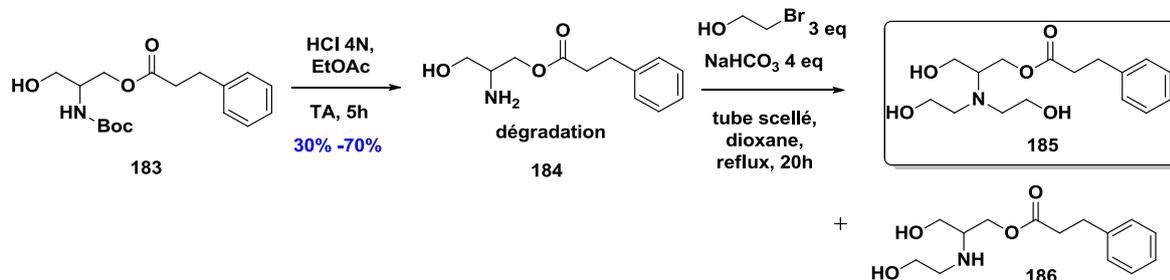


Schéma 36 : Synthèse du triol 185

Les difficultés rencontrées pour la déprotection de l'amine (hydrolyse du groupement Boc) ainsi que la *N*-alkylation de l'azote qui s'avère compliquée, nous ont fait reconsidérer cette voie de synthèse. Néanmoins la *N*-alkylation de l'amine aurait pu être améliorée avec la mise en réaction avec de l'oxirane.

2.2.b) Alkylation en β

Le triol **187** est préparé à partir de la diéthanolamine dissoute dans le chloroforme, auquel l'épichlorhydrine est ajoutée gouttes à gouttes comme dans la littérature.^{317,329} La benzylamine est dans un premier temps additionnée au triol chloré **187** pour former le triol **188** contenant un cycle aromatique. Après de nombreux essais, aucun ne s'est avéré fructueux et nous avons traité le triol chloré **187** avec de l'ammoniaque à reflux pour synthétiser le triol amine **189** comme décrit dans la littérature.³¹⁷

³²⁹ K. Satoh, D. Ito, M. Kamigaito, In *Controlled Radical Polymerization: Materials*; Matyjaszewski, K.; Sumerlin, B. S.; Tsarevsky, N. V.; Chiefari, J., Washington, DC, **2015**; 1188, 1–14

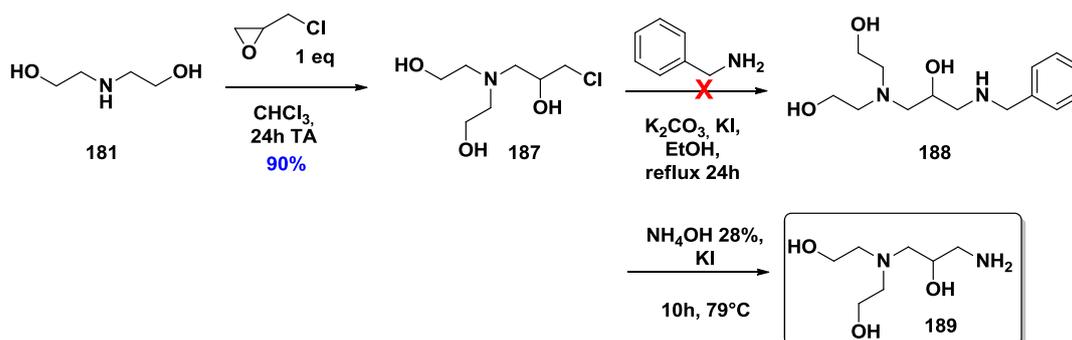


Schéma 37 : Préparation du triol 189

La purification des composés polaires, compliquée sur colonne de silice, a dû être optimisée pour le triol chloré **187**. Le mélange brut réactionnel a été au départ purifié avec un éluant contenant du NH_4OH pour permettre son élution. L'ammoniaque reforme l'époxyle qui réagit avec le produit de départ résiduel pour former le composé **190**, confirmé par spectroscopie RMN et HRMS (Schéma 38). Le triol chloré **187** a finalement été utilisé sans purification pour la suite des étapes. Le rendement a été calculé par RMN ^1H en considérant le proton A nouvellement formé. Le composé triol amine **189** a pu être purifié sur silice.

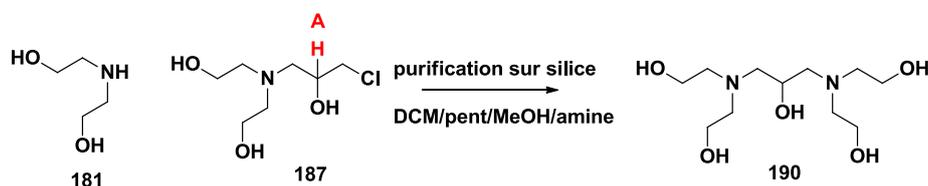


Schéma 38 : Purification du composé 187

L'amine **189** est alkylée avec deux équivalents de chlorure de benzyle dans l'éthanol pour former le triol **191**. La dernière étape est la complexation du triol **191** dans l'éthanol avec l'acide borique pour la formation du boratrane **192** confirmée par RMN ^{11}B . La synthèse de la plateforme boratrane **192** a été effectuée en quatre étapes avec un rendement global de 40% (Schéma 39).

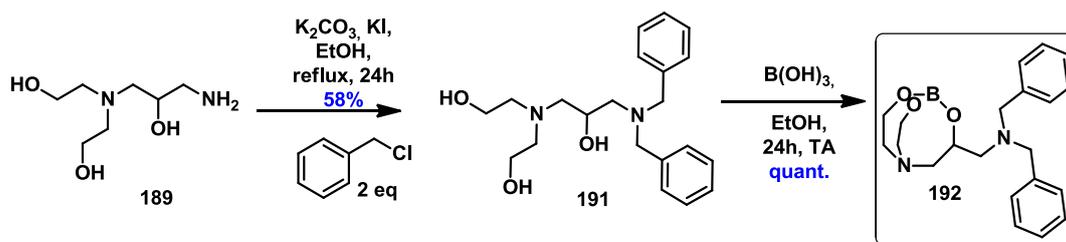
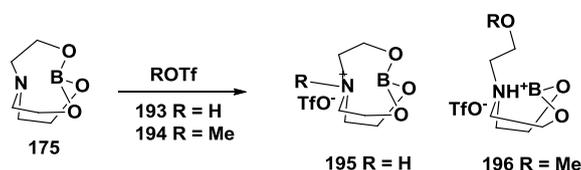


Schéma 39 : Préparation du boratrane 192

2.3. Protonation et stabilité des boratranes 175 et 192

La protonation et la méthylation avec de l'acide triflique **193** ou du méthyl triflate **194** du boratrane **175** ont déjà été décrites dans la littérature (Schéma 40).³³⁰ La méthylation de l'azote reste compliquée et mène au dérivé **196**. La protonation du boratrane, qui dépend de la force de l'acide utilisé, engendre une modification de la liaison bore-azote et de la structure (calculs théoriques sur la longueur de liaison B-N modifiée après protonation).

Schéma 40 : Protonation et méthylation du boratrane simple 175 décrit dans la littérature.³³⁰

L'ajout d'acide est nécessaire afin d'effectuer la fluoration du boratrane. Nous avons étudié la protonation du boratrane **192** avec différents acides en milieu aqueux (HCl, TFA et $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ Figure 107). L'apparition du pic à 20 ppm représente l'acide borique et par conséquent la décomplexation du boratrane **192** en dérivé hypothétique **197**. Le boratrane **192** est stable en milieu acide aqueux à température ambiante seulement pour une faible quantité d'acide triflique. La protonation du boratrane a été testée en milieu organique (acétonitrile). Celui-ci s'avère stable même après quelques heures.

³³⁰ R. W. Alder, Z. Jin, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1996**, 583

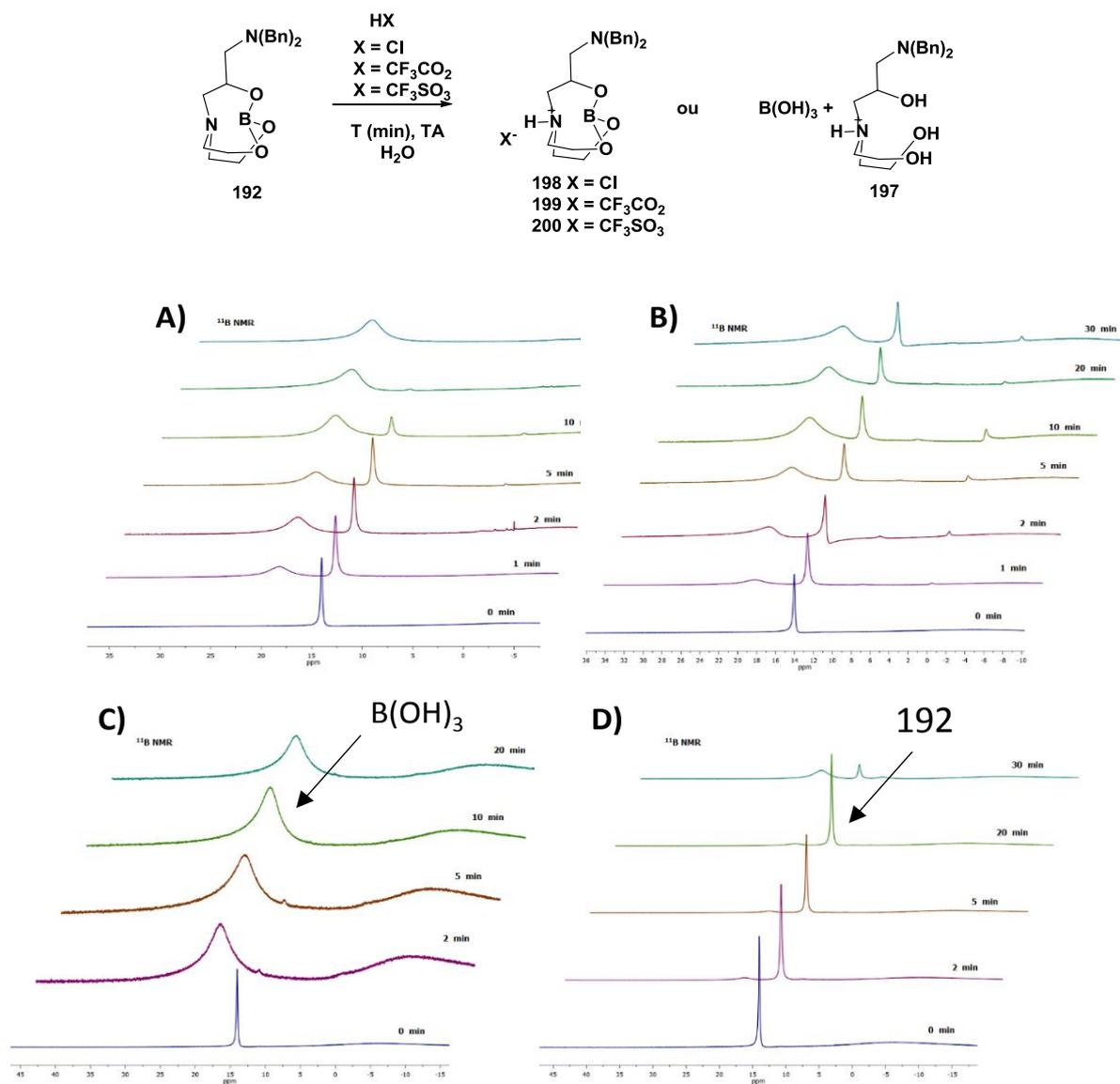


Figure 107 : Protonation du boratrane 192. Suivis RMN du ¹¹B dans A) HCl B) TFA C) CF₃SO₃H 32mM D) CF₃SO₃H 1equiv.

3) Fluoruration non radioactive

La fluoruration des boratranses **175** et **192** a été effectuée dans l'eau acidifiée avec du fluorure de potassium. L'acide est nécessaire pour protoner l'azote et casser la liaison intramoléculaire bore-azote. Des conversions quantitatives pour les monofluoroborates **201** et **202** ont été trouvées pour des réactions réalisées à un pH de l'ordre de 2 à température ambiante pendant 2 h. En condition de chauffage ou excès d'acide, la fluoruration est peu efficace, et le produit d'hydrolyse apparaît (bosse à 20 ppm en RMN ¹¹B). Un shift en RMN

^{11}B est observé avec un pic ayant un déplacement chimique de -1 ppm, et un pic en fluor-19 à -148 ppm (**Figure 108**). Il est à noter que la chloration du composé a également été testé mais n'a pas fonctionné et $\text{B}(\text{OH})_3$ a été obtenu. L'halogénéation du boratrane est spécifique de la fluoration.

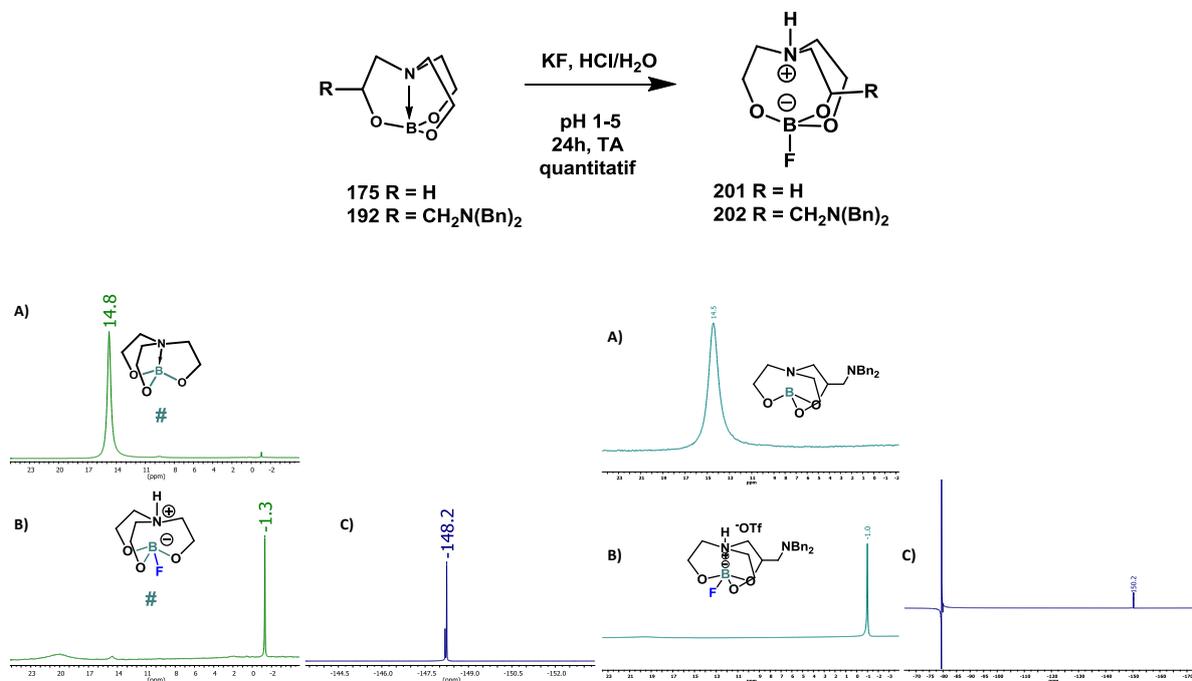


Figure 108 : Fluoration des boratrans 175 et 192 RMN ^{11}B et ^{19}F des boratrans fluorés 201 et 202.

La stabilité des monofluoroborates **201** et **202** a été étudiée en milieu aqueux dans différentes conditions (variation de la température, du pH, de la nature et quantité de l'acide HCl, TFA et $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$). Après 2 h, à température ambiante et à pH 2 en milieu aqueux et en milieu organique, le monofluoroborate **202** reste inchangé.

4) Radiofluoration faiblement radioactive

Le boratrane **192** a ensuite été radiofluoré en chimie faiblement radioactive en utilisant le ^{18}F fluorure issu de la réaction nucléaire $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ au sein du cyclotron IBA Cyclone® 18/9 de Cyceron (**Schéma 41**). Les ions ^{18}F fluorures, ont été retenus sur une cartouche échangeuse d'anions (QMA- CO_3 ABX) puis élués avec une solution de K_2CO_3 et K_{222} (0.7 mg/5

mg) dans un mélange eau/acétonitrile (350/400 μL). L'acide triflique (100 mM) et le précurseur boratrane **192** a été ajouté au mélange réactionnel. La radiofluoration a été réalisée à température ambiante jusqu'à 60 min afin de suivre l'évolution de la réaction.

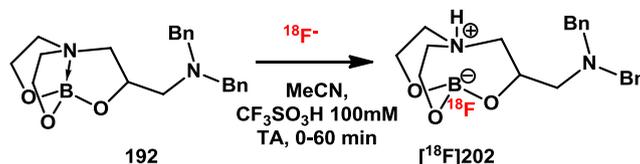


Schéma 41 : Radiofluoration du boratrane 192

Les analyses en HPLC et radioCCM révèlent la formation d'un nouveau produit radiofluoré dès les premières minutes (**Figure 109**). Néanmoins nous n'avons pas pu identifier ce produit radiomarqué comme produit souhaité par co-élution avec le produit de référence **202**. La décomplexation du boratrane **192** sur HPLC est fortement envisagée.

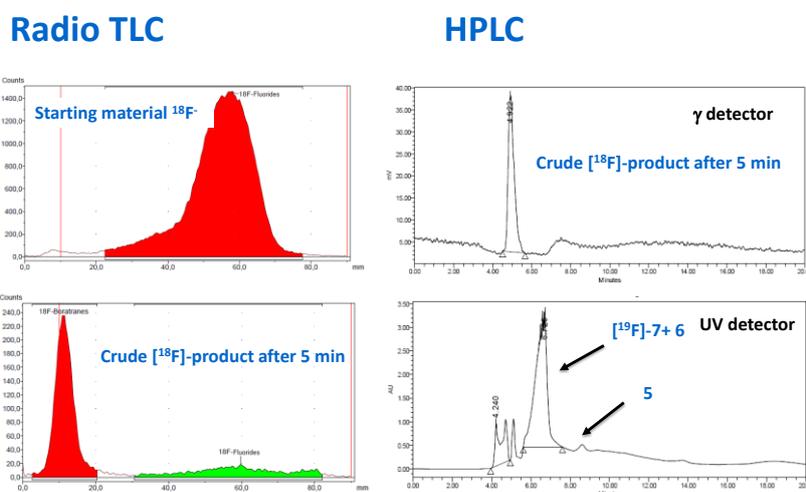


Figure 109 : Analyses radioCCM (éluant : TFA 15mM/ACN (95/5)) et HPLC de la réaction de radiofluoration du boratrane **192**.

IV. Conclusions et perspectives

Ces travaux de thèse ont permis de synthétiser deux plate-formes boratranes **175** et **192** qui ont été fluorées en milieu aqueux. La fluoration du boratrane **192** a également été effectuée au fluor-18, laissant penser que le monofluoroborate formé **202** se décomplexe sur colonne HPLC en milieu aqueux. Ainsi la structure du boratrane pourrait être optimisée afin de renforcer sa stabilité. Les positions sensibles en α de l'oxygène pourraient être alkylées par des groupements méthyl pour ralentir l'hydrolyse du monofluoroborate. Une modification plus importante inclurait le remplacement des atomes oxygènes par des atomes d'azote ou de carbone.

Experimental Part

Sommaire

1-(Chloromethyl)-2-nitro-1H-imidazole (100)	181
1-(Azidomethyl)-2-nitro-1H-imidazole (99)	181
3-Prop-2-ynyl-[1,2]oxathiane 2,2 dioxide (90).....	182
3-((1-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (98).....	183
5-Fluoro-[1-(1-((2-nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)]pent-2-sulfonic acid (FLUSONIM)	184
Methylene ditosylate (108)	185
1-(Tosylmethyl)-2-nitro-1H-imidazole (104).....	185
Potassium 2-nitro-1H-imidazole (110).....	186
2-Nitro-1H-imidazole tetrabutylammomium (111).....	187
Ethyl 2-nitro-1H-imidazole-1-carboxylate (118).....	187
1-(Methoxymethyl)-2-nitro-1H-imidazole (116).....	188
1-(((3,4-Dimethoxybenzyl)oxy)methyl)-2-nitro-1H-imidazole (117)	188
1-[(Methylthio)methyl]-2-nitro-1H-imidazole (122).....	189
(2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl pivalate (120)	190
(((3,4-Dimethoxybenzyl)oxy)methyl)(methyl)sulfane (128)	190
4-((Chloromethoxy)methyl)-1,2-dimethoxybenzene (129)	191
3-((1-(Chloromethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-oxathiane 2,2-dioxide (126).....	192
4-((azidomethoxy)methyl)-1,2-dimethoxybenzene (130)	193
3-((1-(((3,4-Dimethoxybenzyl)oxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (131).....	193
3-Prop-2-ynyl-[1,2]oxathiolane 2,2 dioxide (94).....	194
3-((1-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiolane 2,2-dioxide (137).....	195
4-Fluoro-[1-(1-((2-nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)]butan-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (96)	196
Azidomethylbenzène (144).....	197
3-(1-((Benzyl)-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiolane 2,2-dioxide (139).....	197
3-(1-((Benzyl)-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)butan-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (97).....	198
4-Iodophenylmethanol (156).....	199
4-((Trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)methanol (157)	200

((4-Bromomethyl)phenyl)ethynyl)trimethylsilane (158)	201
[4-(2,2-Dioxo-[1,2]oxathian-3-ylmethyl)-phenylethynyl]-trimethyl-silane (159)	201
3-(4-Ethynyl-benzyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (143).....	202
3-((1-((2-Nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methylphenyl)-[1,2] oxathiolane 2,2-dioxide (136).....	203
3-((1-((2-Nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl phenyl)butan-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (73)	204
1-(2-Bromoethyl)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazole (148)	204
Ethyleneditosylate (146).....	205
1-(Tosylateethyl)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazole (147).....	206
1-(Azidoethyl)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazole (140)	206
3-((1-((2-Nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)ethyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2] oxathiane 2,2-dioxide (132).....	207
5-Fluoro-[1-(1-((2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)ethyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)] pent-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (69)	208
3-((1-((2-Nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)methyl)-1 <i>H</i> -iodo-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiane-2,2-dioxide (135)	208
3-(4-Methyl-benzyl)-[1,2]-oxathiane 2,2-dioxide (161).....	209
3-(4-(Bromomethyl)benzyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (145)	210
3-(4-((2-Nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)methyl)benzyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (138)	211
5-Fluoro-[1-(4-((2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)phenyl)]pent-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (74).....	211
Trifluoromethanesulfonic acid 2,2,3,3,4,4-hexafluoro-1,4-pentanediy ester (150).....	212
2,2,3,3,4,4-Hexafluoro-5-(2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)pentyl trifluoromethanesulfonate (154).....	213
2,2,3,3,4,4-Hexafluoro-5-(2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)pentylazide (142)	213
3-((1-(2,2,3,3,4,4-Hexafluoro-5-(2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)pentyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-oxathiane 2,2-dioxide (134).....	214
Trifluoromethanesulfonic acid 2,2,3,3-tetrafluoro-1,5-butanediyl ester (151)	215
2,2,3,3-Tetrafluoro-4-(2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)butyl trifluoromethanesulfonate (154)	215
1-(3-Azido-2,2,3,3-tetrafluorobutyl)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazole (141).....	216
3-((1-(2,2,3,3-Tetrafluoro-4-(2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-yl)butyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-oxathiane 2,2-dioxide (133).....	216
7-Fluorohept-1-yne-4-sulfonate tetrabutylammonium (163)	217
4,6,11-Trioxa-1-aza-5-borabicyclo[3.3.3]undecane (175)	218
4,6,11-Trioxa-1-aza-5-fluoroborabicyclo[3.3.3]undecane (201)	218
Tert-butyl <i>N</i> -[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]carbamate (182).....	219

2-((Tert-butoxycarbonyl)amino)-3-hydroxypropyl 3-phenylpropanoate (183).....	219
1-[Bis(2-hydroxyethyl)amino]-3-chloro-2-propanol (187).....	220
1-[Bis(2-hydroxyethyl)amino]-3-amino-2-propanol (189).....	221
1-[Bis(2-hydroxyethyl)amino]-3-(bis-benzyl)amino-2-propanol (191)	221
3-Methylenbisbenzylamine-4,6,11-trioxa-1-aza-5-borabicyclo-[3.3.3]undecane (192)	222
3-Methylenbisbenzylamine-4,6,11-trioxa-1-aza-5-fluoroborabicyclo-[3.3.3]undecane (202).....	223

Reagents and solvents

All commercially reagents were purchased from Sigma Aldrich or Apollo scientific and were used as received without purification. Anhydrous THF, diethyl ether and CH₂Cl₂ were obtained from a Mbraun SPS solvents delivery system. Other anhydrous solvents (MeCN, dioxane) were purchased from Sigma Aldrich. Deuterated solvents were purchased from Eurisotop.

NMR spectroscopy

¹H (500 MHz), ¹³C (126 MHz), ¹⁹F (471 MHz) and ¹¹B (160 MHz) NMR spectra were recorded on a Brüker advance III spectrometer in the appropriated solvents. Chemical shifts δ are reported in parts per million (ppm). Coupling patterns are abbreviated as follows: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet), dd (doublet of doublet), dt (doublet of triplet)... Coupling constants (*J*) are given in Hertz (Hz). Signals were attributed when possible, only for ¹H NMR.

Mass spectroscopy

High resolution mass spectroscopy spectra (HRMS) were obtained on a Xevo G2-XS QToF Waters apparatus by electrospray ionization (ESI).

LCMS analysis were performed on a LC apparatus Waters Acquity UPLC equipped with a reverse phase Acquity UPLC BEH C18 column (2.1 x 75 mm x 1.7 μ m) (A : MeOH-0.1% formic acid; B: H₂O-0.1% acid formic ; at 0.6 mL/min), using the method: linear gradient from 10% A to 50% A 0-9 min ; isocratic 50% A 9-12 min ; linear gradient from 50% A to 10% A for 12-14.5 min ; isocratic 50% A 14.5-15 min. The LC apparatus was linked to electrospray MS waters Q-TOF micro-spectrometer. The source of MS was set at 300 °C and analyses were performed in the appropriate electron ionization (ES⁺ or ES⁻) in the mass range 100 to 1500 Da.

Meting point

Melting points were determined on a Barnstead Electrothermal IA 9100 melting point apparatus.

Chromatography

Column chromatographies were carried out on silica gel (Merck Kieselgel 60 F₂₅₄, 40-63 μm). Thin-layer chromatographies (TLC) were performed on Merck aluminium-backed plates pre-coated of silica gel 60F₂₅₄. Spots were revealed by UV lamp at 254 nm (with KMnO_4 for sultone visualization or PPh_3 and ninhydrin for azide revelation). Radioactive TLC were measured on a ELYSIA Raytest apparatus.

High performance chromatography (HPLC) were performed on an apparatus Waters alliance e2695 separation module, coupled to a Waters 2998 photodiode arrays detector (190-800 nm) and a Berthold Herm LB 500 radioactive detector.

Analytical HPLC column Macherey Nagel NUCLEODUR[®] C18 Pyramid 5 μm , 4.6 mm x 250 mm. 0.7 ml/min $\lambda = 316$ nm (by default unless specified)

Semi preparative HPLC column WATERS Xterra RP18 Shield 10 μm , 10 x 250 mm. flow : 1 ml/min 0-3 min ; then 3 ml/min ; $\lambda = 280$ nm (by default unless specified)

Only for FLUSONIM analysis: column Macherey Nagel NUCLEODUR[®] C18 Pyramid 10 μm , 10 x 250 mm 3 ml/min, $\lambda = 280$ nm

Determination of partition and distribution coefficient.

The logP and logD values were measured using a standard shake flask method Fujita *et al.*³³¹ Approximately 4 μCi of radiotracer in solution (concentration ≈ 400 $\mu\text{Ci} / \text{mL}$) were added into hemolyse tube containing mixture of 1 mL water or phosphate buffer (pH 7.4) and 1 mL of 1-octanol. Hemolyse tubes were shaken for 40 min then centrifugated at 4000 g for 5 min. Three aliquots of 100 μL were withdrawn for each layer. Collected aliquots were gamma-counted. The experiment was carried out in triplicate.

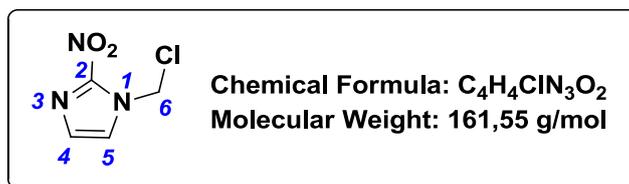
Biological evaluations

In vivo stability. Stability of the radiotracer in blood was checked at 15, 30, 60 and 150 min post-injection (n=1 per time). Blood (\approx 2.5 mL) samples was harvested by intracardiac puncture, treated with heparine and centrifuged (4024 g, 5 min at 4 °C). The plasma was collected, mixed with an equivalent volume of acetonitrile and centrifuged again (4024 g, 10 min at 4 °C). The supernatant was filtered (0.45 μ m PVDF), concentrated under nitrogen flow at 40 °C, then injected into analytical HPLC. Co-injection of the non-radioactive reference compound was used to validate the radio-HPLC chromatogram. The radioactivity of weighted samples was measured at different stages (Cobra 2 Gamma counter, PerkinElmer) to control processes efficiency (acetonitrile extraction yields > 85% and filtration yields > 95%).

PET-CT Imaging. Inveon μ PET/CT scanner (Siemens Healthcare Molecular Imaging) was used as previously described (Hovhannisyan *et al.* 2015).³³² Scans were performed with emphasis on the abdomen. Respiratory rate was monitored during imaging sessions to insure a stable and reproducible anesthesia from one animal to another and between successive acquisitions. Simultaneous injection of radiotracer and initiation of PET acquisition were performed, data were acquired in list-mode and PET images were reconstructed using iterative OSEM3D/MAP algorithm. Dead-time, random, scatter as well as attenuation correction (based on CT) were applied. Images analysis was performed with P-Mod 3.7 software (P-MOD Technologies). Briefly, PET and CT images were co-registered and volume of interests (VOIs) were semi-automatically delimitedated on following organs: heart, lung, liver, muscle, bone, kidney, bladder and tumor, if available. Time activity curves (TAC) were extracted from PET images and normalized as Standardized Uptake Value (SUV). Data were expressed as SUV_{Max} and SUV_{Mean} and Tumor-to-Muscle (T/M) ratios were calculated using either maximal or mean values for both VOIs.

1-(Chloromethyl)-2-nitro-1H-imidazole (100)

CAS registry number 1569296-82-7.



Bromochloromethane (5.9 mL, 88 mmol, 20 equiv.) was added to a suspension of 2-nitro-1H-imidazole **6** (500 mg, 4.4 mmol, 1 equiv.) and Cs_2CO_3 (2.87 g, 8.8 mmol, 2 equiv.) in anhydrous DMF (20 mL), and the reaction was stirred at room temperature for 24 h. The reaction mixture was partitioned between EtOAc (200 mL) and H_2O (50 mL). The organic phase was separated and washed with H_2O (350 mL), then brine (50 mL), dried over $MgSO_4$ and concentrated under reduced pressure. The crude product was suspended in EtOAc (3 mL) and the precipitate solid was filtered off. The filtrate was concentrated to give **100** (298 mg, 42% yield) as a yellow oil, which was used without further purification.

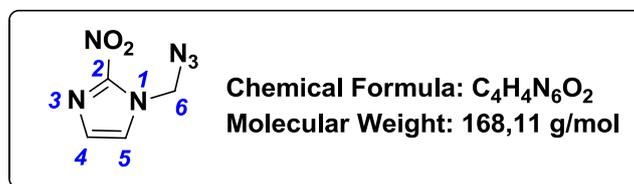
Rf : 0.37 (pentane/EtOAc : 1/3)

1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 7.89 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H_5), 7.28 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H_4), 6.28 (s, 2H, H_6)

^{13}C NMR (126 MHz, $DMSO-d_6$) δ 143.7, 128.3, 127.4, 54.7

Spectroscopic data in accordance with *Bonnet et al.*¹⁸⁶

HRMS: calcd for $C_4H_5N_3O_2^{35}Cl$: 162.0070 $[M+H]^+$; found 162.0076

1-(Azidomethyl)-2-nitro-1H-imidazole (99)

Sodium azide (366 mg, 5.6 mmol, 3 equiv.) and potassium iodide (31 mg, 0.2 mmol, 0.1 equiv.) were added to a solution of 1-(chloromethyl)-2-nitro-1H-imidazole **100** (304 mg, 1.9 mmol, 1 equiv.) in acetone (20 mL). The solution was stirred for 48 h at reflux then concentrated under reduced pressure. The compound **99** (371 g, 86% yield) was obtained as a yellow solid, which was used without further purification.

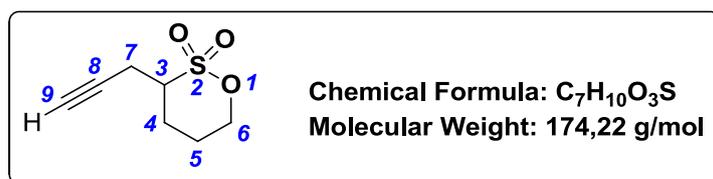
Rf: 0.29 (CH₂Cl₂)

Mp : 52-54 °C

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.83 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H₅), 7.26 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H₄), 5.83 (s, 2H, H₆)

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 144.1, 128.1, 127.3, 62.1

3-Prop-2-ynyl-[1,2]oxathiane 2,2 dioxide (90)



n-Butyllithium (9.4 mL, 2.5 M in hexane, 23.5 mmol, 1.2 equiv.) was added dropwise at -78 °C, under argon stream, to a solution of butane sultone **80** (2 mL, 19.6 mmol, 1 equiv.) in anhydrous THF (80 mL). The mixture was stirred at -78 °C for 15 min and propargyl bromide **91** (2.1 mL, 80% in toluene, 19.6 mmol, 1 equiv) was added dropwise. The mixture was stirred at -78 °C for 2 h and then at -40 °C for 2 h. The crude mixture was partitioned between EtOAc (80 mL) and H₂O (50 mL). After extraction with EtOAc (2 x 80 mL), the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with pentane/ethyl acetate (7/3) as eluent to afford the title compound **90** (1.36 g, 40% yield) as a yellow solid.

Rf : 0.375 (pentane/EtOAc 3/2)

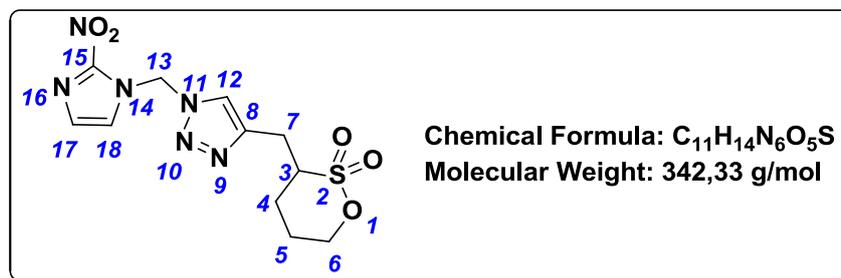
Mp : 66 °C

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.63 – 4.37 (m, 2H, H₆), 3.22 (tt, *J* = 10.5, 4.1 Hz, 1H, H₃), 2.94 (ddd, *J* = 17.0, 4.2, 2.7 Hz, 1H, H₇), 2.53 (ddd, *J* = 17.0, 10.5, 2.7 Hz, 1H, H_{7'}), 2.48 – 2.42 (m, 1H, H₅), 2.11 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, H₅), 2.09 – 1.98 (m, 1H, H₉), 1.96 – 1.84 (m, 2H, H₄)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 78.3, 74.5, 72.3, 57.8, 27.9, 23.9, 18.8

HRMS: calcd 175.0429 for C₇H₁₁O₃S [M+H]⁺: found: 175.0430

3-((1-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (98)



Azide **99** (203 mg, 1.21 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of propargylic sultone **90** (210 mg, 121 mmol, 1 equiv.), NEt_3 (17 μ L, 0.12 mmol, 0.1 equiv.) and CuI (23 mg, 0.12 mmol, 0.1 equiv.) in dioxane (4 mL). The mixture was stirred at room temperature for 48 h then diluted with EtOAc (5 mL) and H_2O (2 mL). After extraction with ethyl acetate and the combined organic layers were washed with brine, dried over $MgSO_4$ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with $CH_2Cl_2/MeOH$ 100:1 as eluent to afford the compound **98** (269 mg, 65% yield) as white fluffy solid.

Rf: 0.43 ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

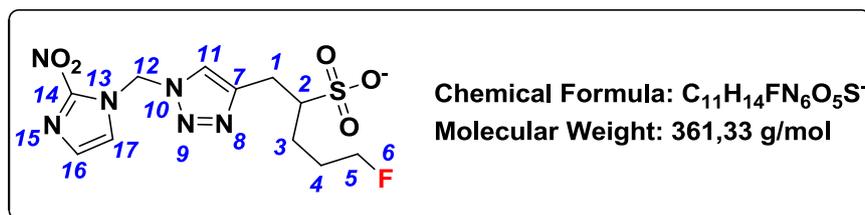
Mp : don't melt (decomposition > 210°C)

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.91 (s, 1H, H_{12}), 7.44 (s, 1H, H_{18}), 7.22 (s, 1H, H_{17}), 6.85 (q, J = 14.1 Hz, 2H, H_{13}), 4.56 (td, J = 11.1, 3.0 Hz, 1H, H_6), 4.52 – 4.44 (m, 1H, $H_{6'}$), 3.58 – 3.47 (m, 1H, H_3), 3.43 (dd, J = 15.2, 5.9 Hz, 1H), 3.03 (dd, J = 15.2, 7.8 Hz, 1H), 2.31 – 2.19 (m, 1H), 2.02 (ddd, J = 14.3, 10.9, 5.5 Hz, 1H, H_5), 1.98 – 1.81 (m, 2H, H_4)

^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 143.9, 130.8, 129.6, 126.2, 123.6, 74.1, 59.5, 58.9, 28.7, 25.1, 24.0

HRMS: calcd for $C_{11}H_{15}N_6O_5S$: 343.0825 $[M+H]^+$; found: 343.0832

5-Fluoro-[1-(1-((2-nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)]pent-2-sulfonic acid
(FLUSONIM)



Potassium fluoride (2.6 mg, 17 μ mol, 1.1 equiv.) and K_{222} (6.2 mg, 16 μ mol, 1.1 equiv.) were added to a solution of sultone **98** (5.1 mg, 15 μ mol) in MeCN (1.2 mL). The mixture was stirred at 90 °C for 1 h then concentrated under reduced pressure. The residue was purified on C18 silica flash with ACN/H₂O as eluent to afford the title compound (4.7 mg, 87% yield) as a colorless oil.

Rf : 0.56 (MeCN/TFA (15 mM in H₂O) 75/25)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.13 (s, 1H, H₁₁), 7.72 (s, 1H, H₁₇, H₄), 7.12 (s, 1H, H₁₆), 6.94 (s, 2H, H₁₂), 4.26-4.38 (m, 2H, H₅), 3.27-3.31 (m, 3H, H_{1,2}) ; 1.75-1.80 (m, 4H, H_{3,4})

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 147.1, 129.4, 126.8, 123.9, 84.2 (d, ¹J_{CF} = 161.0 Hz), 75.4, 60.2

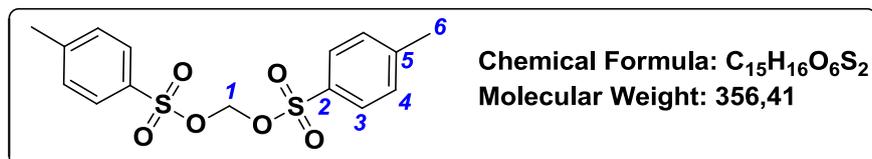
¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ (-218.8)-(-218.5)(m, 1F)

HRMS: calcd for C₁₁H₁₄N₆O₅FS: 361.0730 [M-H]⁻ ; found: 361.0742

Analytical HPLC (MeCN/NH₄OAc (10 mM in H₂O) 10/90) t_R = 12.5 min

Semi preparative HPLC column Macherey Nagel NUCLEODUR® C18 Pyramid 10 μ m, 10 x 250 mm (EtOH/ NaH₂PO₄ (9.2 mM in H₂O) 10/90) t_R = 22 min.

Semi preparative HPLC column WATERS Xterra RP18 10 μ m, 10 x 250 mm. t_R = 10 min, (H₂O /EtOH 90/10)

Methylene ditosylate (108)

Diiodomethane (204 μ L, 2.53 mmol, 1 equiv.) was added to a mixture of silver 4-methylbenzenesulfonate (1.76 g, 6.32 mmol, 2.5 equiv.) in acetonitrile (50 mL). The mixture was stirred at reflux for 20 h and a yellow precipitate appeared. After cooling to room temperature, the solution was filtered on pad of celite[®] and the filtrate was concentrated under vacuum. The crude residue was purified by silica flash chromatography using Pentane/EtOAc 4/1 as eluent to obtain the title compound (**108**) as a white solid (436 mg, 66% yield).

R_f: 0.5 (Pentane/EtOAc 4/1)

Mp: 82.3 °C

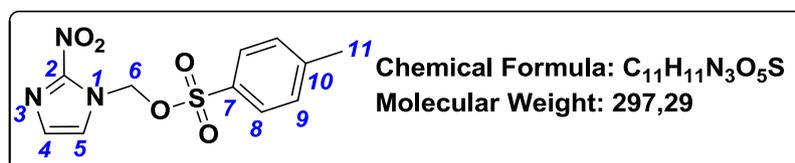
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.59 (d, J = 8.3 Hz, 4H, H₃), 7.25 (d, J = 8.4 Hz, 4H, H₄), 5.81 (s, 2H, H₁), 2.45 (s, 6H, H₆)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 145.5, 133.4, 129.9, 128.1, 88.1, 21.87

IR (cm⁻¹): 1515 ν (C=C) ; 1375 δ (CH₂-H)

LCMS : t_R = 12.72 min;

Spectroscopic data in accordance with Rodnick *et al.*¹⁸⁹

1-(Tosylmethyl)-2-nitro-1H-imidazole (104)

A solution of 2-nitro-1H-imidazole **6** (1.13 g, 10 mmol, 1 equiv.) and triethylamine (2 mL, 15 mmol, 1.5 equiv.) in anhydrous DMF (25 mL) was added to a solution of methyleneditosylate **108** (3.92 g, 11 mmol, 1.1 equiv.) in anhydrous DMF (5 mL). After stirring for 4 days at room temperature, the solution was diluted in ethyl acetate (25 mL)/H₂O (10 mL) and the organic

layer was dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under vacuum to afford a crude product. The residue was purified by silica flash chromatography using $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 100/1 as eluent to give the compound **104** (832 mg, 28% yield) as a white solid.

R_f : 0.36 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 100/1)

Mp = 118.1-119.3°C.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.59 (d, J = 8.4 Hz, 2H, $\text{H}_6, \text{H}_{10}$), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H_9, H_7), 7.27 (d, J = 1.2 Hz, 1H, H_3), 7.27 (d, J = 1.2 Hz, 1H, H_2), 6.28 (s, 2H, H_4), 2.44 (s, 3H, H_{11})

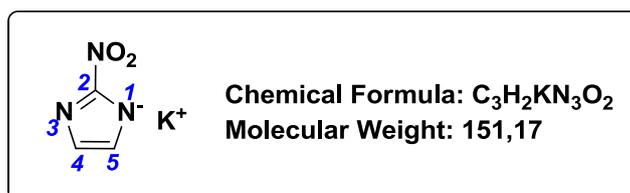
$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 162.6, 145.5, 135.7, 131.8, 128.2, 128.0, 88.1, 21.9

$\text{IR (cm}^{-1}\text{)}$: 1538 $\nu(\text{NO}_2)$, 1355 $\nu(\text{C-N}_{\text{ter}})$, 1205 $\nu(\text{C-O})$, 817 $\delta(=\text{C-H})$, 740 $\delta(\text{CH}_2)$

LCMS : t_R = 9.31 min ; $\text{MS (ES}^+\text{)}$ 298.05 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Potassium 2-nitro-1H-imidazole (110)

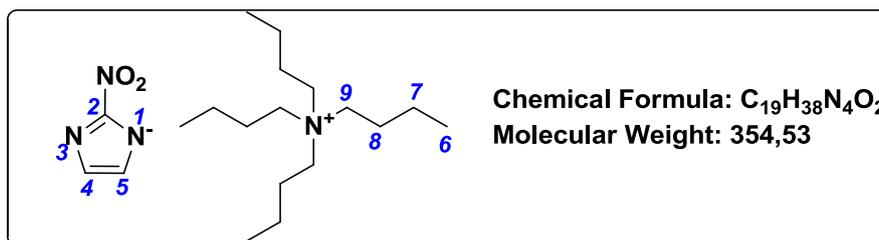
Ramogida *et al.* **2015**, *Inorg. Chem.* 54(10), p4953-4965³³³



Potassium hydroxide (8.0 g, 200 mmol, 15 equiv.) was added to a solution of 2-nitro-1H-imidazole **6** (1.49 g, 13.2 mmol, 1 equiv.) in H_2O (20 mL). The mixture was stirred at reflux for 2 h. The mixture was concentrated under vacuum. The residue was dried to afford the title compound **110** as a yellow solid (2.0 g, 99% yield).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.89 (s, 2H, $\text{H}_{4,5}$)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 157.2, 131.3

2-Nitro-1*H*-imidazole tetrabutylammomium (111)

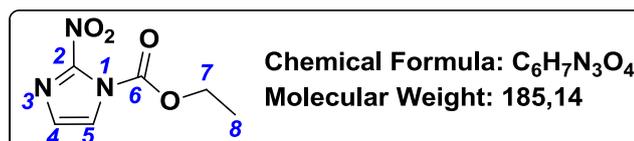
To a solution of tetrabutylammonium bromide (4,25 g, 13.2 mmol, 1 equiv.) in H₂O (20 mL) were added sodium hydroxide (7.9 g, 200 mmol, 15 equiv.) and a solution of 2-nitro-1*H*-imidazole (1,49 g, 13.20 mmol, 1 equiv.) in CH₂Cl₂ (25 mL). The mixture was stirred vigorously at room temperature for 2 h. The organic layer was separated, dried over MgSO₄ and concentrated under vacuum. The crude residue was precipitated with diethylether (50 mL) and the title compound (**111**) was obtained as a yellow solid (4.07 g, 87% yield).

Mp: 55.0 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.12 (s, H₁₋₂), 3.17 (m, 8H, H₃), 1.51(m, 8H, H₄), 1.85 (t, *J* = 7.2 Hz, 8H, H₅), 0.96 (t, *J* = 7.2 Hz, 12H, H₆)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 157.2, 131.9, 58.5, 23.8, 19.6, 58.5

IR (cm⁻¹): 2957 ν(CH₃) ; 2673 ν(CH₂), 1340 ν(C-NO₂), 1168 ν(C-N), 1137 ν(C-N)

Ethyl 2-nitro-1*H*-imidazole-1-carboxylate (118)

Ethyl chloroformate (160 μL, 1.69 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of tetrabutylammomium 2-nitro-1*H*-imidazole **111** (598 mg, 1.69 mmol, 1 equiv.) in DMF (6 mL). The mixture was stirred at room temperature for 4 days then poured into iced-water solution (50 mL). The white solid was filtered and recrystallized from water to give the title compound (**118**) (156 mg, 50% yield) as orange solid.

R_f: 0.60 (CH₂Cl₂/MeOH 9/1)

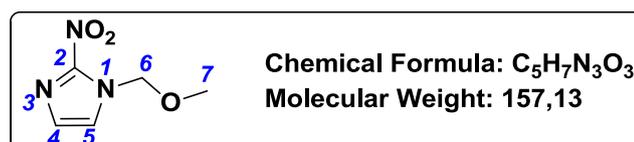
Mp: 236.7-238-5 °C

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, H_4), 6.92 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, H_5), 4.47 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, H_7), 0.98 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, H_8)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) $\delta = 168.5, 129.79, 128.7, 120.7, 63.9, 59.0$

$\text{IR (cm}^{-1}\text{)}$: $\nu(\text{NO}_2) = 1519$; $\nu(\text{C-N}_{\text{ter}}) = 1359$; $\nu(\text{C-O}) = 1121$; $\delta(\text{=C-H}) = 817$

1-(Methoxymethyl)-2-nitro-1H-imidazole (116)



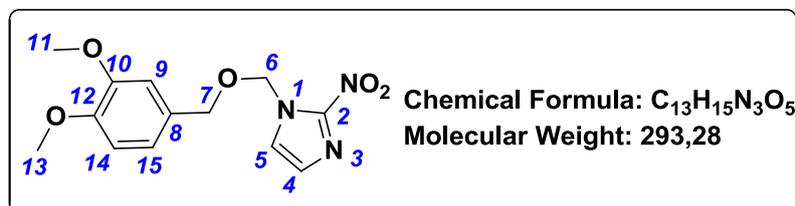
Chloromethyl methyl ether (1.2 mL, 14.4 mmol, 3 equiv.) was added to a solution of 2-nitro-1H-imidazole **6** (540 mg, 4.8 mmol, 1 equiv.) and caesium carbonate (3.1 g, 9.6 mmol, 2 equiv.) in DMF (10 mL). The mixture was stirred for 24 h at room temperature then diluted with EtOAc (10 mL) and H_2O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure to give the title compound (**116**) (606 mg, 80% yield) as a yellow oil which was used without further purification.

R_f : 0.87 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 91/9)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.29 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H, H_5), 7.14 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H, H_4), 5.70 (s, 2H, H_6), 3.39 (s, 3H, H_7)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 129.9, 129.2, 73.5, 53.6

1-(((3,4-Dimethoxybenzyl)oxy)methyl)-2-nitro-1H-imidazole (117)



Chlorinated Compound **129** (104 mg, 0.482 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of 2-nitro-1H-imidazole **6** (108 mg, 0.96 mmol, 2 equiv.) and caesium carbonate (313 mg, 0.96 mmol, 2 equiv.) in DMF (3 mL). The residue was purified by silica flash chromatography with

CH₂Cl₂/MeOH (9/1) as eluent to afford the title compound **117** (120 mg, 85% yield) as yellow oil.

Rf: CH₂Cl₂/MeOH

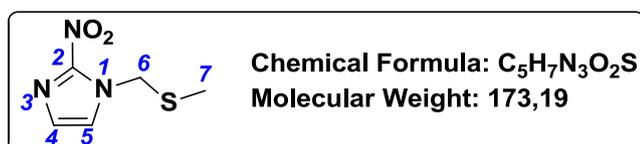
Mp : 94.4-96.5 °C

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.25 (s, 1H, H₄), 7.16 (s, 1H, H₅), 6.83 – 6.78 (m, 3H, H_{9,14,15}), 5.80 (s, 3H, H₆), 4.54 (s, 2H, H₇), 3.87 (s, 3H, H_{11,13}), 3.87 (s, 3H, H_{11,13})

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 149.5, 149.4, 128.7, 128.0, 124.8, 120.9, 111.1, 111.0, 77.8, 72.1, 56.1, 56.0

HRMS : calcd for C₁₃H₁₅N₃O₅ [M-H]⁻ 293.1011 ; found 293.1012

1-[(Methylthio)methyl]-2-nitro-1H-imidazole (122)



Chloromethyl methyl thioether (445 μL, 5.31 mmol, 3 equiv.) was added to a solution of 2-nitro-1H-imidazole **6** (200 mg, 1.77 mmol, 1 equiv.) and caesium carbonate (1.1 g, 3.54 mmol, 2 equiv.) in DMF (6 mL). The mixture was stirred for 24 h at room temperature then diluted with EtOAc (10 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to give title compound **122** as a orange oil (251 mg, 82% yield) without further purification.

Rf: 0.345 (CH₂Cl₂/MeOH 9/1)

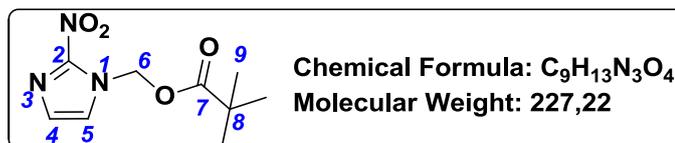
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.31 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H₅), 7.16 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H₄), 5.44 (s, 2H, H₆), 2.15 (s, 3H, H₇)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 162.2, 127.6, 52.2, 13.6

HRMS: calcd for C₅H₇N₃O₂SNa [M+Na] 196.0156 ; found 196.0157

(2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl pivalate (120)

CAS Registry Number: 2196015-09-3



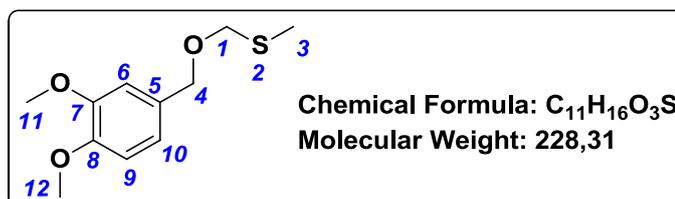
Chloromethyl pivalate (778 μ L, 5.4 mmol, 1.5 equiv.) was added to a solution of 2-nitro-1H-imidazole **6** (403 mg, 3.6 mmol, 1 equiv.) and caesium carbonate (2.3 g, 7.2 mmol, 2 equiv.) in DMF (10 mL). The mixture was stirred for 24 h at room temperature then diluted with EtOAc (10 mL) and H₂O (5 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography using CH₂Cl₂/pentane/MeOH (68/18/14) as eluent to afford **120** (499 mg, 61% yield) as a yellow oil.

R_f: 0.818 CH₂Cl₂/pentane/MeOH (68/18/14)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.80 (s, 1H, H₄), 7.23 (s, 1H, H₅), 6.23 (s, 2H, H₆), 1.12 (s, 9H, H₉)

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 127.8, 127.7, 126.7, 79.0, 70.0, 26.4.

HMRS : calcd for C₉H₁₃N₃O₄Na [M+Na].250.0806 Mass 250.0804 calculated for

(((3,4-Dimethoxybenzyl)oxy)methyl)(methyl)sulfane (128)Trost *et al.* 2005, *J. Am. Chem. Soc.* 127(11), p3666-3667³³⁴

NaI (1.03 g, 6.88 mmol, 1 equiv.) was added under argon atmosphere to a solution of NaH (370 mg, 13.76 mmol, 2 equiv.) in THF (27 mL). The mixture was stirred for 15 min at 0 °C, then DMB-OH (1.00 mL, 6.88 mmol, 1 equiv.) was added dropwise. The mixture was stirred at to room temperature for 1 h then chloromethyl methyl sulfide (434 μ L, 6.88 mmol, 1 equiv.) was added at 0 °C. The mixture was stirred for 12 h at room temperature then quenched with H₂O (10 mL). After extraction with EtOAc the combined organic layers were

washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated under vacuum. The residue was purified by silica flash chromatography using pentane/EtOAc (8/2) as eluent to afford **128** (957 mg, 61% yield) as a colorless oil.

Rf: 0.543 (pentane/EtOAc 8/2)

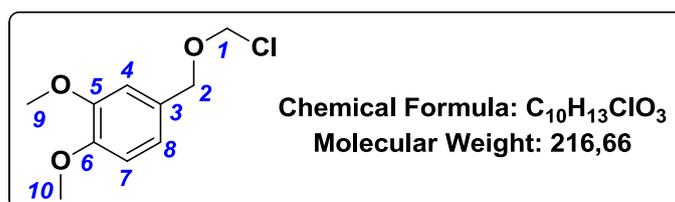
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.94-6.87 (m, 2H, $\text{H}_{9,10}$), 6.83 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H_6), 4.66 (s, 2H, H_1), 4.55 (s, 2H, H_2), 3.89 (s, 2H, $\text{H}_{11,12}$), 3.87 (s, 3H, $\text{H}_{11,12}$), 2.18 (s, 3H, H_3)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 149.1, 148.8, 130.5, 120.9, 111.5, 111.0, 74.2, 69.4, 56.0, 55.9, 14.0

IR (cm^{-1}): 1610, 1582, 1510 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1461, 1439, 1379, 1299, 1246, 1172 $\nu(\text{C}-\text{O aro})$, 1108, 1059, 1035, 957, 909, 818 δ (C-H aro)

4-((Chloromethyl)methyl)-1,2-dimethoxybenzene (129)

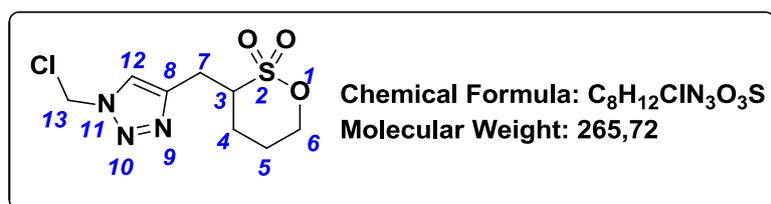
Hayakawa, *et al.* **2017**, *Org. Biorg. Chem.* 15(1), p124-131¹⁹⁸



SO_2Cl_2 (2.01 mL, 25.7 mmol, 1.1 equiv.) was added dropwise to a solution of sulfide **128** (5.34 g, 23.4 mmol, 1 equiv.) in CH_2Cl_2 (20 mL) at -78 °C. The mixture was stirred and warmed to room temperature over 20 min, then concentrated under vacuum. The residue was immediately used without further purification.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.89-6.83 (m, 3H, $\text{H}_{6,9,10}$), 4.66 (s, 2H, H_1), 4.55 (s, 2H, H_2), 3.88 (s, 3H, $\text{H}_{9,10}$), 3.87 (s, 3H, $\text{H}_{9,10}$)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 207.1, 149.1, 148.8, 130.0, 121.2, 120.9, 111.7, 111.5, 111.0, 88.2, 74.2, 69.4, 68.3, 56.0, 55.9, 31.0, 14.0, 13.5

3-((1-(Chloromethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-oxathiane 2,2-dioxide (126)

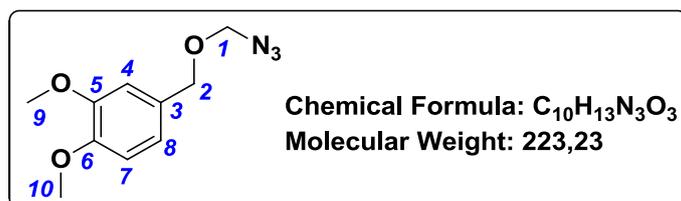
A mixture of formaldehyde (37% in H_2O , 2.5 mL, 65 mmol, 10 equiv.), glacial acetic acid (0.6 mL, 9.8 mmol, 1.5 equiv.), in 1,4-dioxane (10 mL) was stirred for 15 min at room temperature and was treated with sodium azide (640 mg 9.8 mmol, 1.5 equiv.) and propargylic sultone **90** (1.13 g, 6.5 mmol, 1 equiv.). The resulting mixture was stirred for 10 min at room temperature and treated with sodium ascorbate (57 mg, 0.33 mmol, 0.05 equiv.) and a solution of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (82 mg, 0.33 mmol, 0.05 equiv.) in water (2 mL). The mixture was stirred for 18 h at room temperature and filtered through a pad of Celite®. The filtrate was and extracted with CH_2Cl_2 (3 × 20 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over $MgSO_4$ and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in CH_2Cl_2 (3 mL) and $SOCl_2$ (5 mL, 70 mmol, 11 equiv.) was added dropwise at 0°C. The reaction mixture was stirred at room temperature for overnight then concentrated under reduced pressure, and residue was purified with flash chromatography with $CH_2Cl_2/MeOH$ (98/2) as eluent to afford the compound **126** (69 mg, 4% yield) as colorless oil.

Rf: 0.654 ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9/1)

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.61 (s, 1H, H_{12}), 6.05 (s, 2H, H_{13}), 4.63 – 4.54 (m, 2H, H_6), 3.53 – 3.41 (m, 1H, H_3), 3.22 – 3.12 (m, 1H, H_7), 3.07 – 2.96 (m, 1H, H_7), 2.32 – 2.19 (m, 2H, H_4), 2.08 – 1.78 (m, 2H, H_5)

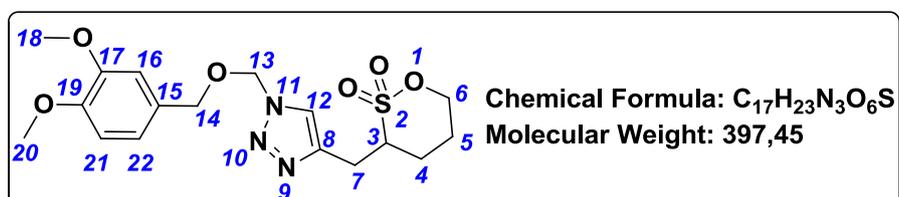
^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 145.9, 136.6, 74.1, 59.2, 58.5, 28.2, 24.8, 23.8, 23.7

LCMS: t_R = 3.75 min ; MS : (ES^+) 266,20 [$M+H$]⁺

4-((azidomethoxy)methyl)-1,2-dimethoxybenzene (130)

Sodium azide (312 mg, 4.8 mmol, 3 equiv.) was added to a solution of chlorinated intermediate compound **128** (346 mg, 1.6 mmol, 1 equiv.) in DMF. The mixture was stirred for 10 h at room temperature then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was immediately used without further purification.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.88 (s, 1H, H₄), 6.84 (s, 1H, H₇), 6.81 (s, 1H, H₈), 4.69 (s, 2H, H₃), 4.61 (s, 2H, H₁), 3.89 (s, 3H, H_{9 ou10}), 3.87 (s, 3H, H_{9 ou10})

3-(((1-(((3,4-Dimethoxybenzyl)oxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (131)

Azide compound **130** (223 mg, 0.47 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of propargylic sultone **90** (98 mg, 0.56 mmol, 1.2 equiv.), CuI (10 mg, 0.05 mmol, 0.1 equiv.) and NEt₃ (7 μL, 0.05 mmol, 0.1 equiv.) in dioxane (3 mL). The mixture was stirred for 24 h at room temperature then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with CH₂Cl₂/MeOH (98/2) as eluent to afford the compound **131** (136 mg, 73% yield) as colorless oil.

Rf: 0.41 (CH₂Cl₂/MeOH 98/2)

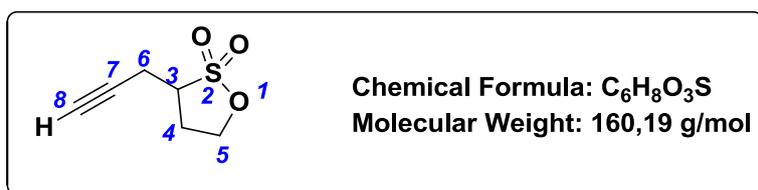
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ = 7.65 (s, 1H, H₁₂), 6.89 – 6.82 (m, 3H, H_{16,21,22}), 5.68 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H, H₁₄), 4.46 (s, 2H, H₁₃), 3.88 (s, 3H, H_{18,20}), 3.88 (s, 3H, H_{18,20}), 3.55 – 3.48 (m, 1H, H₆),

3.45 (dd, $J = 15.1, 5.7$ Hz, 1H, H₆), 3.07 (dd, $J = 15.1, 7.9$ Hz, 1H, H₃), 2.08 – 2.00 (m, 2H, H₇), 1.98 – 1.90 (m, 2H, H₄), 1.90 – 1.84 (m, 2H, H₅)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 148.9, 143.1, 128.3, 122.7, 121.1, 111.5, 110.9, 77.3, 73.9, 71.0, 58.9, 55.8, 55.8, 28.3, 24.8, 23.7.

LCMS: $t_R = 7.60$ min ; MS (ES⁻) 398.41 [M-H]⁻

3-Prop-2-ynyl-[1,2]oxathiolane 2,2 dioxide (94)



n-Butyllithium (12 mL, 2.5 M in hexane, 29.7 mmol, 1.3 equiv.) was added dropwise at -78 °C, under argon stream, to a solution of propane sultone **79** (2 mL, 22.8 mmol, 1 equiv.) in anhydrous THF (80 mL). The mixture was stirred at -78 °C for 15 min and propargyl bromide (2.5 mL, 80% in toluene, 22.8 mmol, 1 equiv.) was added dropwise. The mixture was stirred at -78 °C for 2 h and then at -40 °C for 2 h. The crude mixture was partitioned between EtOAc (80 mL) and H₂O (50 mL). After extraction with EtOAc, the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with pentane/ethyl acetate (7/3) as eluent to afford the compound **94** (1.17 g, 32% yield) as yellow oil.

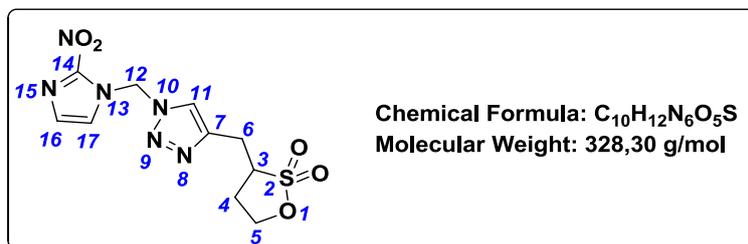
Rf: 0.31 (Pentane/EtOAc: 1/1)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.59 – 4.33 (m, 2H, H₅), 3.47 (qd, $J = 8.1, 5.8$ Hz, 1H, H₈), 2.87 (ddd, $J = 17.2, 5.7, 2.7$ Hz, 1H, H₃), 2.79 (dtd, $J = 12.3, 7.7, 4.7$ Hz, 1H, H₆), 2.61 (ddd, $J = 17.2, 9.1, 2.7$ Hz, 1H, H₆), 2.47 (dq, $J = 13.5, 7.9$ Hz, 1H, H₄), 2.14 (t, $J = 2.7$ Hz, 1H, H₄)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 78.0, 72.0, 66.9, 53.7, 29.1, 19.3

HRMS(ESI+): calcd for C₆H₉O₃S: 161.0275 [M+H]⁺ ; found: 161.0272

3-((1-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiolane 2,2-dioxide (137)



Azide compound **99** (109 mg, 0.65 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of sultone **94** (113 mg, 0.65 mmol, 1 equiv.), CuI (13 mg, 0.07 mmol, 0.1 equiv.) and NEt₃ (10 μL, 0.07 mmol, 0.1 equiv.) in dioxane (3 mL). The mixture was stirred for 24 h at room temperature then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with CH₂Cl₂/MeOH (100/1) as eluent to afford the compound **137** (106 mg, 51% yield) as white solid.

Rf: 0.05 (CH₂Cl₂/MeOH: 98/2)

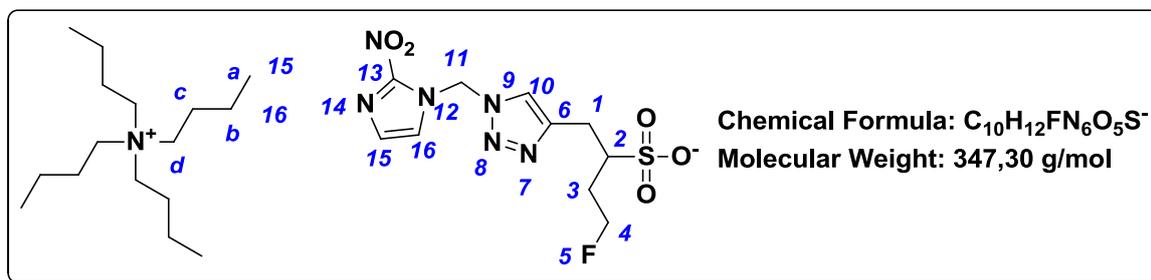
Mp: 197.5-198.9°C

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.96 (s, 1H, H₁₁), 7.44 (s, 1H, H₁₇), 7.23 (s, 1H, H₁₆), 6.85 (dd, *J* = 38.2, 14.0 Hz, 2H, H₁₂), 4.48 – 4.30 (m, 2H, H₅), 3.80 – 3.59 (m, 1H, H₃), 3.34 (dd, *J* = 15.4, 7.4 Hz, 1H, H₆), 3.19 (dd, *J* = 15.3, 6.9 Hz, 1H, H₆), 2.75 (dtd, *J* = 11.6, 7.4, 3.8 Hz, 1H, H₄), 2.46 (dq, *J* = 13.7, 8.4 Hz, 1H, H₄)

³C NMR (126 MHz, CDCl₃) 144.2, 131.2, 130.6, 126.1, 123.6, 74.1, 59.4, 58.9, 25.1, 24.0

HRMS(ESI+): calcd for C₆H₉O₂S: 329.0317 [M+H]⁺ ; found: 329.0318

4-Fluoro-[1-(1-((2-nitro-1*H*-imidazol-1-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)]butan-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (96)



TBAF (80 μ L, 1M in THF solution, 1.05 equiv.) was added to a solution of sultone **137** (25 mg, 76 μ mol, 1 equiv.) in MeCN (1 mL). The mixture was heated at 90°C for 4 h then concentrated. The residue was used without further purification to afford compound **96** (25 mg, 95% yield).

Rf: 0.59 (MeCN/TFA (15 mM in H₂O) 75/25)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.13 (s, 1H, H₁₀), 7.72 (s, 1H, H₁₆), 7.12 (s, 1H, H₁₅), 6.94 (s, 2H, H₁₁), 4.26-4.38 (m, 2H, H₄), 3.78 (t, J = 6.4 Hz, 8H, Hd), 3.27-3.31 (m, 3H, H_{1,2}); 1.75-1.80 (m, 2H, H₃) 1.77 – 1.66 (m, 8H; Hc), 1.49 (dd, J = 14.8, 7.4 Hz, 8H, Hb), 1.10 (t, J = 7.4 Hz, 12H, Ha)

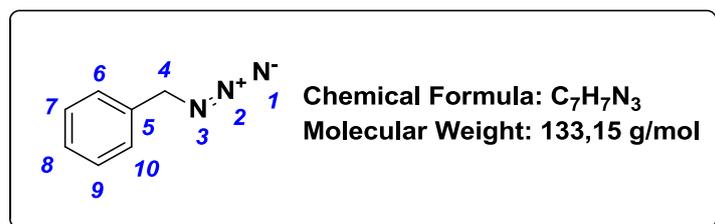
¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 147.4, 129.4, 128.8, 126.5, 123.9, 84.2, 75.4, 60.2, 58.8, 28.6, 27.1, 23.9 19.9, 13.5

¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ (-218.8)-(-218.5)(m, 1F)

HRMS(ESI+): calcd for 347.0574 C₁₀H₁₂N₆O₅FS, found 347.0579

Analytical HPLC: t_R = 14.5 min (MeCN/NH₄OAc (10 mM in H₂O) 10/90)

Semi preparative HPLC: t_R = 10.5 min (H₂O/EtOH 90/10)

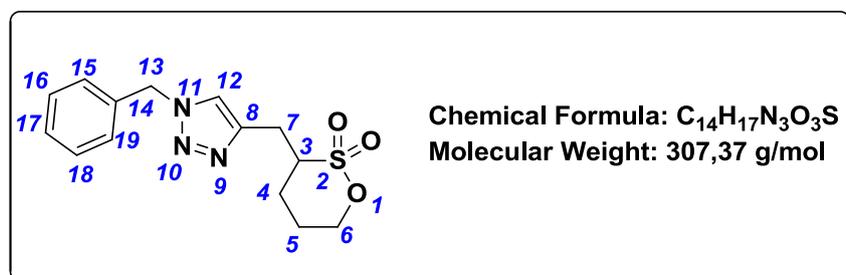
Azidomethylbenzène (144)

Sodium azide (821 mg, 16.8 mmol, 2 equiv.) was added to a solution of compound benzyl bromide **162** (1 mL, 8.42 mmol, 1 equiv.) in acetone. The mixture was stirred for 10 h at room temperature then diluted with EtOAc (10 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was used without further purification to afford compound **144** (1.1 g, quant).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.53 – 7.28 (m, 5H, H₆₋₁₀), 4.36 (s, 2H, H₄)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 135.5, 128.9, 128.4, 128.3, 54.9

Spectroscopic data in accordance with Loughlin *et al.*²⁰⁵

3-(1-((Benzyl)-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiolane 2,2-dioxide (139)

Azide compound **144** (700 mg, 5.26 mmol, 1.2 equiv.) was added to a solution of sultone **90** (740 mg, 4.25 mmol, 1 equiv.), CuI (99 mg, 0.52 mmol, 0.1 equiv.) and DIPEA (82 μL, 0.52 mmol, 0.1 equiv.) in dioxane (3 mL). The mixture was stirred for 24 h at room temperature then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with CH₂Cl₂/MeOH (99/1) as eluent to afford the compound **139** as a white solid (482 mg, 37% yield).

Rf: 0.431 (CH₂Cl₂/MeOH 99/1)

Mp: decomposition > 250°C

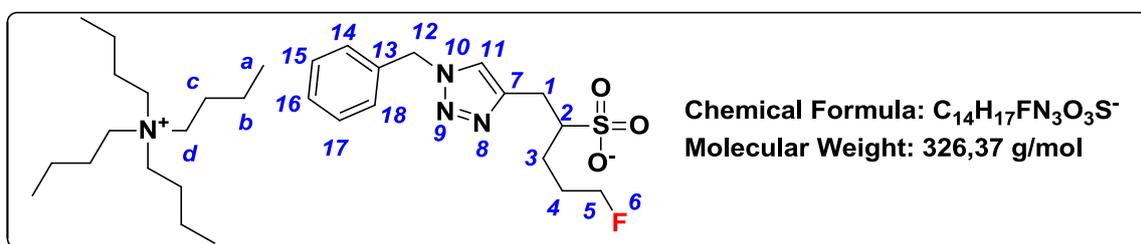
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.06 (s, 1H, H₁₂), 7.33 (ddd, *J* = 23.6, 15.5, 7.1 Hz, 5H, H₁₅₋₁₉), 5.58 (s, 2H, H₁₃), 4.57 – 4.35 (m, 2H, H₆), 3.67 – 3.53 (m, 1H), 3.35 (s, 1H), 3.24 (dd, *J* = 14.8, 4.8 Hz, 1H), 2.89 (dd, *J* = 14.8, 9.4 Hz, 1H), 2.14 – 1.98 (m, 1H), 1.87 – 1.73 (m, 2H)

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 136.1, 128.7, 128.1, 127.8, 123.7, 74.4, 58.2, 52.7, 27.7, 24.2, 22.8.

HRMS(ESI+): calcd for C₁₄H₁₈N₃O₃S: 308.1069 [M+H]⁺; found: 308.1082

LCMS: t_R = 8.48 min; MS (ES⁺) 308.54 [M+H]⁺

3-(1-((Benzyl)-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)butan-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (97)



TBAF (36 μL, 1M in THF solution, 1.05 equiv.) was added to a solution of sultone **139** (34 mg, 0.11 mmol, 1 equiv.) in MeCN (1 mL). The mixture was heated at 90°C for 4 h then concentrated. The residue was used without further purification to afford compound **97** (35 mg, 97% yield).

Rf: 0.66 (MeCN/TFA (15 mM in H₂O) 75/25)

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN) δ 7.80 (s, *J* = 5.2 Hz, 1H, H₁₁), 7.53 – 7.43 (m, 3H, H_{14,18,16}), 7.40 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, H_{15,17}), 5.63 (s, 2H, H₁₂), 4.45 (dt, *J* = 47.7, 5.9 Hz, 2H, H₅), 3.78 (t, *J* = 6.4 Hz, 8H, Hd), 3.41 (dd, *J* = 14.4, 3.5 Hz, 2H, H₁), 3.27 – 3.19 (m, 1H, H₂), 2.08 (dt, *J* = 4.9, 2.4 Hz, 2H, H₄), 1.80 – 1.68 (m, 8H; Hc), 1.66 (ddd, *J* = 10.4, 8.3, 5.3 Hz, 2H, H₃), 1.49 (dd, *J* = 14.8, 7.4 Hz, 8H, Hb), 1.10 (t, *J* = 7.4 Hz, 12H, Ha)

¹³C NMR (126 MHz, CD₃CN) δ 147.5, 137.4, 129.8, 129.1, 128.7, 123.8, 86.0, 84.7, 68.3, 59.8, 59.3(C_d), 54.2, 29.2, 29.1, 28.2, 26.7, 26.6, 26.3, 24.3, 20.4, 20.3, 13.8

¹⁹F NMR (471 MHz, CD₃CN) δ -218.16 – -218.98 (tt, 1F, *J* = 2,5 Hz)

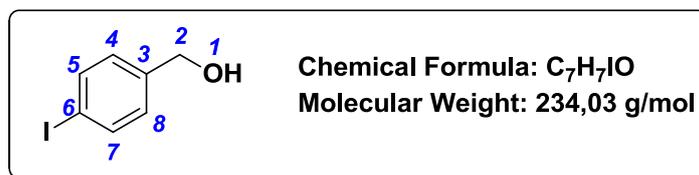
LCMS: t_R = 5.12 min; MS (ES⁻) 326.20 [M-H]⁻

Analytical HPLC: 9.6 min, (MeCN/NH₄OAc (10 mM in H₂O)) 20/80)

Semi preparative HPLC: t_R = 15.5 min, (H₂O /EtOH 90/10)

4-Iodophenylmethanol (156)

CAS registry number: 18282-51-4.



Borane (23.1 mL, 1M in THF, 242 mmol, 20 equiv.) was added dropwise to a solution of 4-iodobenzoic acid **155** (3.00 g, 12,1 mmol, 1 equiv.) in THF (20 mL). The mixture was stirred at room temperature for 24 h. The mixture was quenched with HCl (10 mL, 2N). After extraction with CH₂Cl₂, the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with pentane/EtOAc 8:2 as eluent to afford the compound **156** (2.52 g, 89% yield) as white solid.

Rf: 0.15 (Pentane/EtOAc: 9/1)

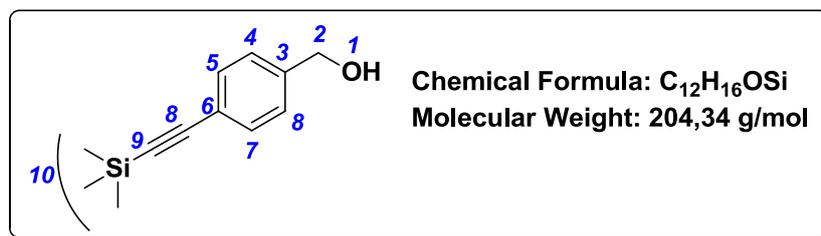
Mp: 69-71 °C (litt 71-73 °C)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ = 7.67 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H_{5,7}), 7.08 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H_{4,8}), 4.60 (s, 2H, H₂)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 140.5, 137.7, 128.9, 93.1, 64.7

HRMS: calcd for C₇H₇OI 233.9542(M⁺), found: 233.9547

Spectroscopic data in accordance with Tran-Van *et al.*³³⁵

(4-((Trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)methanol (157)J. Am. Chem. Soc. **2015**, 137(45), 14319-14328;

Acetyltrimethylsilane (0.5 mL, 3.6 mmol, 1.2 equiv.) was added to a solution of alcohol **156** (0.7 g, 3 mmol, 1 equiv.), NEt_3 (50 mL, 35.9 mmol, 12 equiv.), CuI (57 mg, 0.30 mmol, 0.1 equiv.) palladium(II) bis(triphenylphosphine) dichloride (105 mg, 0.15 mmol, 0.05 equiv.) in dioxane (10 mL). The mixture was stirred at room temperature for 12 h then filtrated over Celite®. After extraction with CH_2Cl_2 the combined organic layers were washed with brine, dried over $MgSO_4$ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with pentane/EtOAc (9:1) as eluent to afford the compound **157** (550 mg, 90% yield) as orange solid.

Rf: 0.76 (Pentane/AtOAc: 8/2)**Mp:** 69 °C (litt 66 °C)

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.45 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, $H_{5,7}$), 7.29 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, $H_{4,8}$), 4.68 (s, 2H, H_2), 0.25 (s, 9H, H_{10})

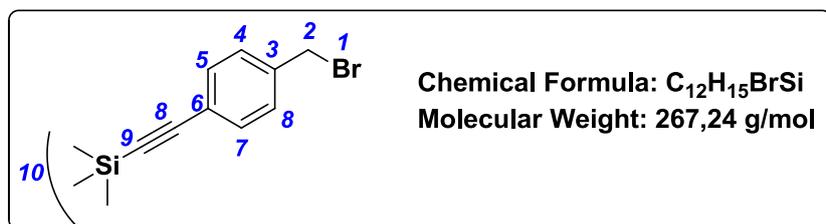
^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 141.3, 132.3, 126.8, 122.5, 105.0, 94.3, 65.1, 0.1

HRMS (ASAP): calcd for $C_{12}H_{17}OSi$: 205.1049 $[M+H]^+$; found: 205.1048

Spectroscopic data in accordance with Osorio *et al.*³³⁶

((4-Bromomethyl)phenyl)ethynyl)trimethylsilane (158)

CAS registry number: 686275-89-8



Tetrabromomethane (4.65 g, 14.1 mmol, 1.25 equiv.) and PPh_3 (3.70 g, 14.1 mmol, 1.25 equiv.) were added to a solution of alcohol **157** (2.30 g, 11.3 mmol, 1 equiv.) in Et_2O (10 mL). The mixture was stirred at room temperature for 12 h then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with pentane/ $EtOAc$ (8:2) as eluent to afford the compound **158** (2.74 g, 91% yield) as a orange oil.

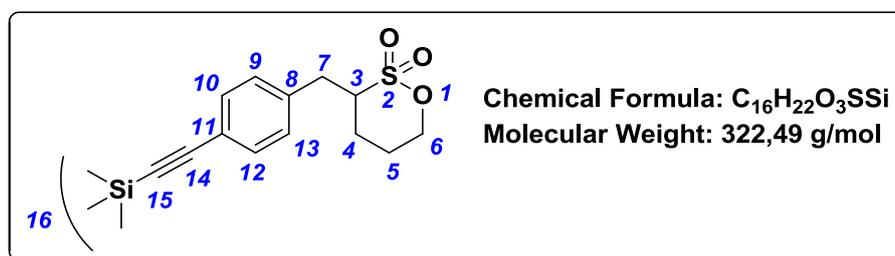
Rf: 0.76 (Pentane/ $EtOAc$: 8/2)

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.43 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, $H_{5,7}$), 7.32 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, $H_{4,8}$), 4.46 (s, 2H, H_2), 0.25 (s, 9H, H_{10})

^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 138.1, 132.4, 129.1, 123.4, 104.6, 95.4, 33.1, 0.1

HRMS: calc for $C_{12}H_{15}Si$ 187.0943 $[M-Br]^+$; found 187.0948

Spectroscopic data in accordance with Osorio *et al.*³³⁷

[4-(2,2-Dioxo-[1,2]oxathian-3-ylmethyl)-phenylethynyl]-trimethyl-silane (159)

n-Butyllithium (5 mL, 2.5 M in hexane, 12.7 mmol, 1.3 equiv.) was added dropwise at -78 °C, under argon stream, to a solution of butane sultone **80** (1 mL, 9.8 mmol, 1 equiv.) in anhydrous THF (80 mL). The mixture was stirred at -78 °C for 15 min and bromide **158** (2.6 g, 9.8 mmol, 1 equiv.) was added dropwise. The mixture was stirred at -78 °C for 2 h and

then at -40 °C for 2 h. The crude mixture was partitioned between EtOAc (80 mL) and H₂O (50 mL). After extraction with EtOAc (2x80mL), the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with pentane/EtOAc (7/3) as eluent to afford the compound **159** (820 mg, 26% yield) as white solid.

Rf: 0.54 (pentane/ EtOAc 1/1)

Mp: 115-118 °C

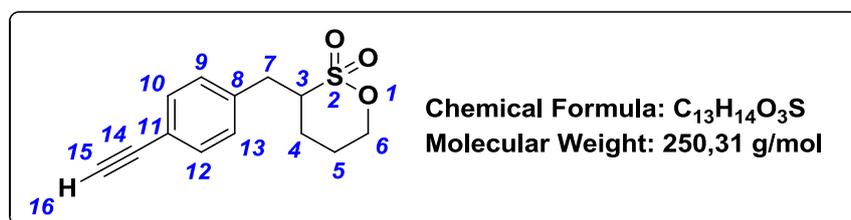
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.13 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 4.61 – 4.53 (m, 1H), 4.47 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 3.49 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 3.29 – 3.18 (m, 1H), 2.81 – 2.71 (m, 1H), 1.96 (s, 1H), 1.95 – 1.84 (m, 1H), 1.80 (s, 2H), 1.25 (s, 1H), 0.24 (s, 9H, H₁₆)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 136.8, 132.7, 129.4, 121.3, 83.2, 77.7, 73.9, 60.5, 34.1, 27.6, 24.1

HRMS: calcd for C₁₂H₁₇OSi: 205.1049 [M-135]⁺ fragmentation sultone; found: 205.1048

LCMS: t_R = 13.94 min ; MS (ES⁺) 323.08 [M+H]⁺

3-(4-Ethynyl-benzyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (143)



TBAF (680 μL, 1M in THF solution, 0.68 mmol, 0.5 equiv.) was added dropwise at 0 °C to a solution of sultone **159** (340 mg, 1.36 mmol, 1 equiv.) in anhydrous THF (4 mL). The mixture was stirred at 0 °C for 1 h, then concentrated under reduced pressure. The compound **143** was purified by silica flash chromatography with pentane/EtOAc (7/3) as eluent and recrystallized at room temperature in diethyl ether to afford the title compound **143** as a white solid (115 mg, 34% yield).

Mp: 118-120°C

Rf: 0.237 (pentane/EtOAc 1/1)

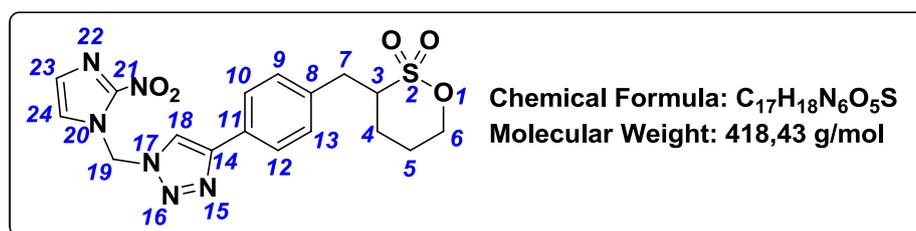
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H_{10,12}), 7.16 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H_{9,13}), 4.61 – 4.54 (m, 1H, H₆), 4.51 – 4.44 (m, 1H, H₆), 3.50 (dd, *J* = 13.8, 3.9 Hz, 1H, H₇), 3.25 (tt, *J* = 10.9,

3.9, 1H, H₃), 3.08 (s, 1H, H₁₆), 2.77 (dd, $J = 13.8, 10.9$ Hz, 1H, H₇), 2.04 – 1.97 (m, 1H, H₄), 1.95 – 1.86 (m, 1H, H₄), 1.82 (tt, $J = 7.3, 3.7$ Hz, 2H, H₅)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 136.8, 132.7, 129.4, 121.3, 83.2, 77.7, 73.9, 60.5, 34.1, 27.6, 24.1

LCMS: $t_R = 9.61$ min ; MS (ES⁺) 251.11 [M+H]⁺

3-((1-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methylphenyl)-[1,2]oxathiolane 2,2-dioxide (136).



Azide compound **99** (35 mg, 0.21 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of sultone **143** (53 mg, 0.21 mmol, 1 equiv.), CuI (4 mg, 0.02 mmol, 0.1 equiv.) and NEt₃ (2 μ L, 0.02 mmol, 0.1 equiv.) in dioxane (3 mL). The mixture was stirred for 24 h at room temperature then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography using CH₂Cl₂/MeOH (99.5:0.5) as eluent to afford **136** as a beige solid (46 mg, 53% yield).

Rf: 0.121 (CH₂Cl₂/MeOH 99.5/0.5)

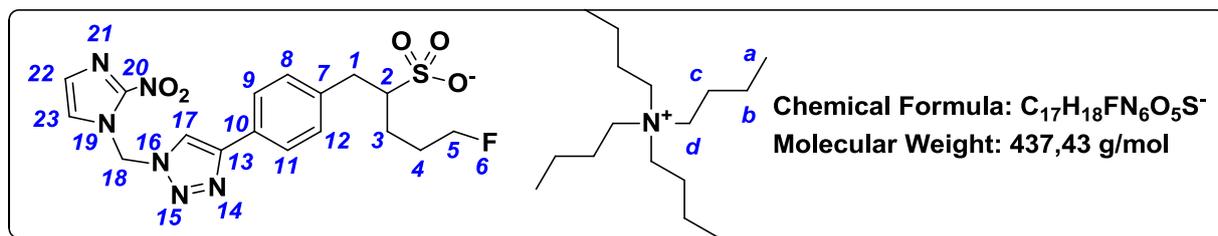
Mp: 186°C-187°C

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.17 (s, 1H, H₁₈), 7.79 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H_{10,12}), 7.52 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H₂₃), 7.28 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H_{9,13}), 7.24 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H₂₄), 6.93 (s, 2H, H₁₉), 4.62 – 4.53 (m, 2H, H₆), 4.51 – 4.43 (m, 1H, H₃), 3.53 (dd, $J = 13.8$ Hz, 3.9, 1H, H₇), 3.29 (tt, $J = 10.8$ Hz, 3.9 Hz, 1H, H₇), 2.81 (dd, $J = 13.8$ Hz, 10.8 Hz, 1H, H₄), 1.99 – 1.86 (m, 1H, H₄), 1.82 (ddt, $J = 11.8$ Hz, 7.8 Hz, 4.0 Hz, 2H, H₅).

¹³C NMR: (126 MHz, CDCl₃) δ 148.7, 136.7, 130.0, 129.7, 128.7, 126.6, 126.4, 120.2, 73.9, 60.6, 59.5, 34.0, 27.7, 24.1 (C16 missing=

HRMS: calcd for C₁₇H₁₉N₆O₅S 419.1136 [M+H]⁺ ; found 419.1138

3-((1-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl phenyl)butan-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (73)



TBAF (65 μ L, 1M in THF solution, 1.05 equiv.) was added to a solution of sultone **136** (26 mg, 0.06 mmol, 1 equiv.) in MeCN (1 mL). The mixture was heated at 90°C for 4 h then concentrated. The residue was used without further purification to afford compound **73** (40 mg, 80% yield).

Rf: 0.74 (MeCN/ TFA (15 mM in H₂O) 75/25)

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN) δ 8.43 (s, 1H, H₁₇), 7.70 (d, J = 7.0 Hz, 2H, H_{9,11}), 7.29 (d, J = 1.2 Hz, 1H, H₂₂), 7.28 (d, J = 8.2 Hz, 2H, H_{8,12}), 7.12 (d, J = 1.2 Hz, 1H, H₂₃), 6.90 (s, 2H, H₁₈), 4.43 (m, 2H, H₅), 4.29- 4.20 (m, 2H, H₂), 3.06 (t, J = 6.4 Hz, 8H, Hd), 2.78- 2.61 (m, 2H, H₁), 2.58-2.50 (m, 2H, H₄), 1.92-1.88 (m, 2H, H₃), 1.57-1.45 (m, 8H; Hc), 1.32 (dd, J = 14.8, 7.4 Hz, 8H, Hb), 0.93. (t, J = 7.4 Hz, 12H, Ha)

¹³C NMR (126 MHz, CD₃CN) δ 148.5, 142.6, 137.7, 130.9, 130.7, 130.4, 130.2, 129.4, 129.0, 128.0, 126.8, 126.5, 122.3, 86.0, 84.7, 75.4, 61.4, 61.1, 60.7, 59.3, 38.1, 34.8, 29.4, 29.2, 28.6, 26.6, 24.3, 20.3, 13.8

¹⁹F NMR (471 MHz, CD₃CN) δ -218.24 – -219.02 (m, F₅)

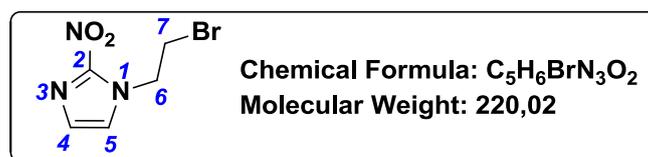
HRMS: cald for C₁₇H₁₉N₆O₆S. 435.1089 [M-H]⁻ ; found 435.1087

LCMS: t_R = 4.46 min ; MS (ES⁻) 435.18 [M-H]⁻

Analytical HPLC: t_R = 11.4 min (MeCN/NH₄OAc (10 mM in H₂O) 20/80)

Semi preparative HPLC: t_R = 30.2 min, (H₂O /EtOH 90/10)

1-(2-Bromoethyl)-2-nitro-1H-imidazole (148)



1,2-Dibromoethane (610 μL , 7.0 mmol, 3 equiv.) in DMF (0.2 mL) was added dropwise to a mixture of 2-nitro-1*H*-imidazole **1** (265 mg, 2.35 mmol, 1 equiv.) and K_2CO_3 (31 mg, 0.22 mmol, 2 equiv.) in DMF (0.5 mL). The mixture was stirred at room temperature overnight then partitioned between EtOAc (80 mL) and H_2O (5 mL). After extraction with EtOAc, the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography using pentane/EtOAc (9:1) as eluent, to afford compound **148** as a yellow oil (434 mg, 84% yield).

Rf: 0.6 (pentane/EtOAc 6/4)

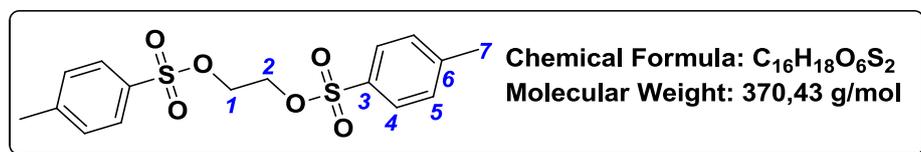
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.72 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H_5), 7.22 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H_4), 4.81 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, H_6), 3.91 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, H_7)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 144.6, 128.2, 127.6, 50.2, 31.6

Spectroscopic data in accordance with Hoigebazar *et al.*⁷⁶

HRMS: calcd for $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$ ⁷⁹Br. 219.9722 $[\text{M}+\text{H}]^+$; found 219.9723

Ethyleneditosylate (146)



Et_3N (6.9 mL, mmol, 2 equiv.) was added to 0 °C to a solution of ethylene glycol (3.840 g, 20.0 mmol, 1 equiv.) in dry CH_2Cl_2 , then 4-toluene sulfonyl chloride (3.840 g, 20.0 mmol, 2 equiv.) was added. The mixture was stirred in ultrasonic bath at room temperature for 1 h. The precipitate was filtered. The filtrate was successively washed with hydrochloric acid (5%), NaHCO_3aq and NaCl_{aq} , and then dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated under vacuum. The residue was purified by gel silica flash chromatography using pentane/EtOAc (1/1) as eluent to afford compound **146** as a white solid (3.7 g, 0.39 mmol, 84% yield).

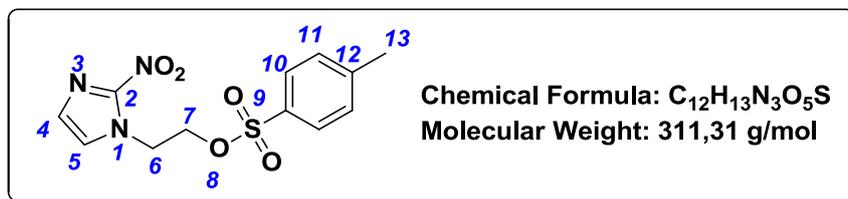
Rf: pentane/EtOAc 1/1)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.73 (d, $J = 8.3$ Hz, 4H, H_4), 7.34 (d, $J = 8.1$ Hz, 4H, H_5), 4.18 (s, 4H, $\text{H}_{1,2}$), 2.46 (s, 6H, H_7)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 145.4, 132.4, 130.1, 128.1, 66.8, 21.8

Spectroscopic data in accordance with Danjou *et al.*³³⁸

1-(Tosylateethyl)-2-nitro-1H-imidazole (147)



To a solution of ethyleneditosylate **146** (1.85 g, 5.0 mmol, 1.1 equiv.) in anhydrous DMF (5 mL) was added 2-nitro-1H-imidazole **1** (508 mg, 4.5 mmol, 1 equiv.) in anhydrous DMF (25 mL) and triethylamine (948 μ L, 6.8 mmol, 1.5 equiv.) at room temperature. After the reaction mixture was stirred for 4 days, the solution was diluted with ethyl acetate and the organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography using CH₂Cl₂/MeOH (100/1), as eluent, to afford compound **147** (392 mg, 28% yield) as a yellow solid.

Rf: 0.675 (CH₂Cl₂/MeOH (100/1))

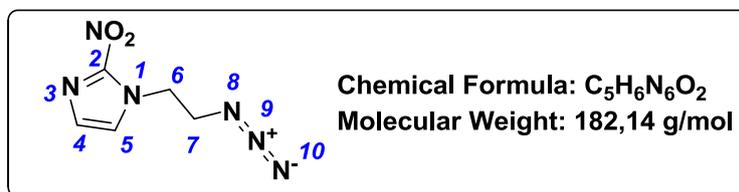
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) : 7.61 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, H₁₀), 7.30 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, H₁₁), 7.16 (s, 1H, H₅), 7.13 (s, 1H, H₄), 4.67 (t, 2H, *J* = 4.8 Hz, H₆), 4.39 (t, 2H, *J* = 4.8 Hz, H₇), 2.45 (s, 3H, H₁₃).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 145.7, 144.2, 131.7, 130.1, 128.5, 127.6, 127.3, 67.2, 49.0, 21.6

LCMS: t_R = 9.20 min ; MS (ES⁻) 312.29 [M+H]⁺

Spectroscopic data in accordance with Cao *et al.*¹⁸⁸

1-(Azidoethyl)-2-nitro-1H-imidazole (140)



Sodium azide (63 mg, 0.94 mmol, 3 equiv.) was added to a solution of compound **148** (101 mg, 0.32 mmol, 1 equiv.) and in DMF. The mixture was stirred for 10 h at room temperature then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed

with brine, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue **140** (56 mg, 96% yield) was obtained as orange oil which was used without further purification.

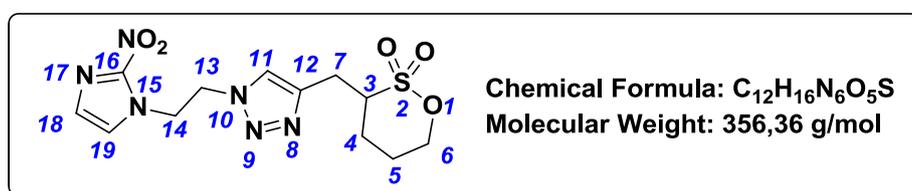
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.69 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, H_5), 7.21 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, H_4), 4.58 (t, 2H, $J = 5.3$ Hz, H_6), 3.82 (t, 2H, $J = 5.3$ Hz, H_7)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 144.7, 128.2, 127.8, 50.1, 48.5

HRMS (infusion): calcd for $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_6\text{O}_2$ 183.0629 $[\text{M}+\text{H}]^+$; found 183.0630

Spectroscopic data in accordance with Cao *et al.*¹⁸⁸

3-((1-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2] oxathiane 2,2-dioxide (132)



Azide **140** (85 mg, 0.47 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of propargylic sultone **90** (81 mg, 0.47 mmol, 1 equiv.), DIPEA (8 μL , 0.05 mmol, 0.1 equiv.) and CuI (10 mg, 0.05 mmol, 0.1 equiv.) in dioxane (2 mL). The mixture was stirred at room temperature for 48 h then diluted with EtOAc (5 mL) and H_2O (2 mL). After extraction with ethyl acetate and the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified on silica flash chromatography using $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99/1) as eluent to afford the title compound **132** as a fluffly white solid (130 mg, 78% yield).

Rf: 0.05 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99.5/0.5)

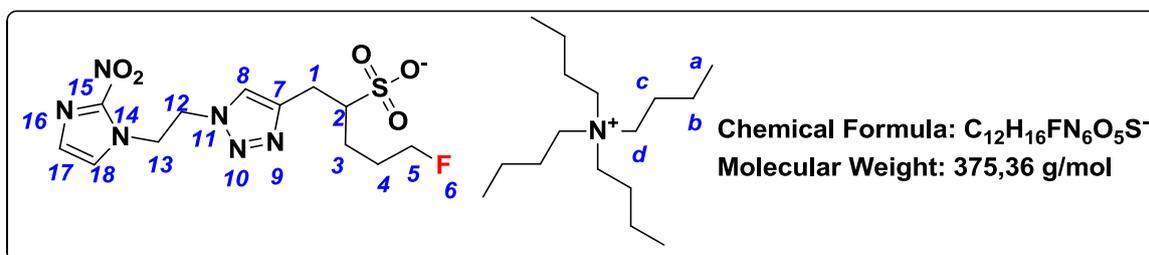
Mp: 275-277°C

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.39 (s, 1H, H_{11}), 7.05 (s, 1H, H_{19}), 6.72 (s, 1H, H_{18}), 4.95 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H, H_{14}), 4.83 (m, 2H, H_{13}), 4.53 (td, $J = 11.0, 2.7$ Hz, 1H, H_6), 4.41 – 4.34 (m, 1H, H_6), 3.56 – 3.46 (m, 1H), 3.33 (dd, $J = 15.3, 6.9$ Hz, 1H), 3.02 (dd, $J = 15.3, 6.8$ Hz, 1H), 2.39 – 2.26 (m, 1H), 1.96 (ddd, $J = 43.0, 24.3, 4.8$ Hz, 2H), 1.76 (s, 1H)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 143.3, 128.9, 127.2, 123.8, 74.1, 59.3, 49.9, 49.8, 28.8, 25.4, 24.0

HRMS: calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$: 357.0982 $[\text{M}+\text{H}]^+$; found 357.0981

5-Fluoro-[1-(1-((2-nitro-1H-imidazol-1-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)] pent-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (69)



TBAF (103 μ L, 1M in THF solution, 1.05 equiv.) was added to a solution of sultone **132** (35 mg, 0.1 mmol, 1 equiv.) in MeCN (1 mL). The mixture was heated at 90°C for 4 h then concentrated.

The residue was purified on C18 silica cartridge to afford compound **69** (44 mg, 95% yield).

Rf: 0.725 (MeCN/TFA (15 mM in H₂O) 75/25)

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN) δ 7.61 (s, 1H, H₈), 6.95 (s, 1H, H₁₈), 6.87 (s, 1H, H₁₇), 4.89 – 4.70 (m, 6H, H_{12,13}), 4.34 (dt, $J = 11.1, 5.8$ Hz, 2H, H₅), 3.12 – 3.03 (m, 8H, H_d), 2.87 (dd, $J = 14.8, 9.4$ Hz, 1H, H₁), 2.77 (dd, $J = 14.6, 8.8$ Hz, 1H, H₁), 1.97 – 1.86 (m, 1H, H₃), 1.57 (m, 8H, H_c), 1.32 (tq, $J = 7.3$ Hz, 7.0 Hz, 8H, H_b), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 12H, H_a)

¹³C NMR (126 MHz, CD₃CN) 147.3, 143.5, 128.8 (dt, $J = 28.6, 10.3$ Hz), 124.9, 124.4, 86.1, 84.7, 75.5, 59.5, 50.42 (ddd, $J = 33.3, 26.9, 3.3$ Hz), 29.2, 28.8, 26.6, 24.4, 20.3, 13.8

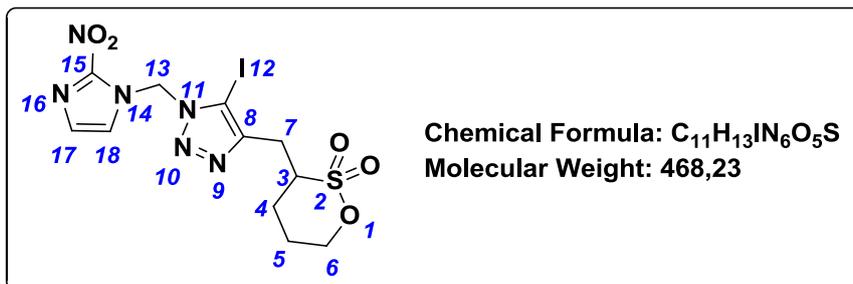
¹⁹F NMR (471 MHz, CD₃CN) δ -218.20 – -218.74 (m)

LCMS: $t_R = 2.32$ min ; MS (ES⁻) 375.43 [M-H]⁻

Analytical HPLC: $t_R = 16.8$ min (MeCN/NH₄OAc (10 mM in H₂O) 10/90)

Semi-preparative HPLC: $t_R = 14.5$ min (H₂O /EtOH 90/10)

3-((1-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1H-iodo-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-[1,2]oxathiane-2,2-dioxide (135)



Azide compound **99** (mg, mmol, 1 equiv.) in dioxane (1 mL) was added to a solution of propargylic sulfone compound **90** (mg, mmol, 1 equiv.), NIS (mg, mmol, 0.1 equiv.), CuI (mg, mmol, 0.1 equiv.), NEt₃ (mg, mmol, 0.1 equiv.), in dioxane (3 mL). The mixture was stirred at room temperature for 48 h then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). After extraction with ethyl acetate and the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with CH₂Cl₂/MeOH (99.5/0.5) as eluent to afford the compound **135** (0.55 g, 50% yield) as white solid.

Rf: 0.212 (CH₂Cl₂/MeOH 99.5/0.5)

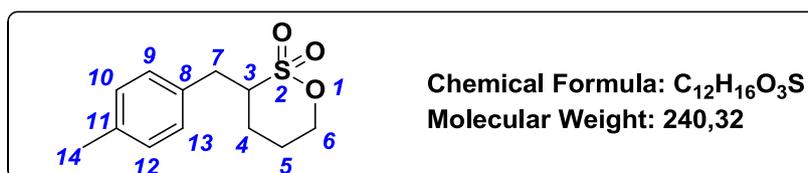
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.19 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, H₁₈), 7.07 (s, 1H, H₁₇), 6.98 (s, 2H, H₁₃), 4.61 – 4.44 (m, 4H, H₆), 3.65 – 3.55 (m, 1H; H₃), 3.38 (dd, *J* = 15.2, 5.7 Hz, 1H; H₇), 3.20 – 3.11 (m, 1H, H₇), 2.05 – 1.94 (m, 2H; H₄), 1.93 – 1.78 (m, 2H; H₅)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 148.8, 129.7, 124.4, 80.9, 74.1, 74.1, 60.2, 58.6, 28.5, 25.5, 23.7

HRMS: calcd for C₁₁H₁₄N₆O₅SI [M-H]⁻ 468.9793 ; found 468.9791.

LCMS : t_R = 6.03 ; MS (ES⁺) 469.26 (M+1)

3-(4-Methyl-benzyl)-[1,2]-oxathiane 2,2-dioxide (161)



Butyllithium (14 mL, 2.5 M in hexane, 35 mmol, 1.3 equiv.) was added dropwise at -78 °C, under argon stream, to a solution of butane sulfone **80** (2.75 mL, 26.9 mmol, 1 equiv.) in

anhydrous THF (80 mL). The mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 min and α -bromo-p xylene **160** (4.98 g, 19.6 mmol, 1 equiv.) was added dropwise. The mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 2 h and then at $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 2 h. The crude mixture was partitioned between EtOAc (80 mL) and H_2O . After extraction with EtOAc, the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with pentane/EtOAc (7/3) as eluent to afford the compound **161** (3.03 g, 47% yield) as white solid.

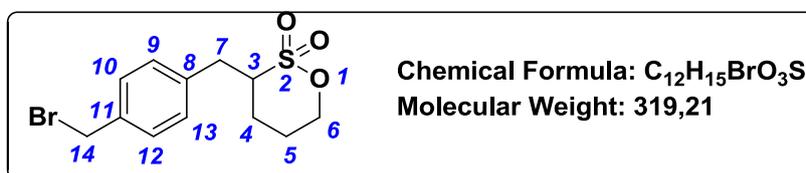
Rf: 0.237 (pentane/EtOAc 7/3)

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ = 7.13 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{H}_{10,12}$), 7.07 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{H}_{9,13}$), 4.59 – 4.53 (m, 1H, H_6), 4.45 (dtd, J = 11.4 Hz, 3.9, 2.1, 1H H_6), 3.47 (dd, J = 13.7, 3.7 Hz, 1H, H_3), 3.23 (tt, J = 11.0, 3.8 Hz, 1H, H_7), 2.71 (dd, J = 13.7, 11.1 Hz, 1H, H_7), 2.32 (s, 3H, H_{14}), 2.02 (dddd, J = 8.8, 8.0, 4.0, 2.2 Hz, 1H, H_5), 1.93 – 1.84 (m, 1H, H_5), 1.82 – 1.76 (m, 2H, H_4).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 137.1, 132.8, 129.7, 129.3, 73.8, 60.9, 33.7, 27.5, 24.1, 21.2.

HRMS: calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{S}$ 241.0898 $[\text{M}+\text{H}]^+$; found 241.0901

3-(4-(Bromomethyl)benzyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (145)



NBS (417 mg, 2.3 mmol, 1.1 equiv.) and benzoyl peroxide (9 mg, 2.6 mmol, 0.02 equiv.) were added to a solution of sultone **161** (500 mg, 2.08 mmol, 1 equiv.) in CCl_4 . The mixture was stirred at $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 16 h. After extraction with CH_2Cl_2 , the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with pentane/EtOAc (1/1) as eluent to afford the compound **145** (179 mg, 27% yield) as a yellow oil.

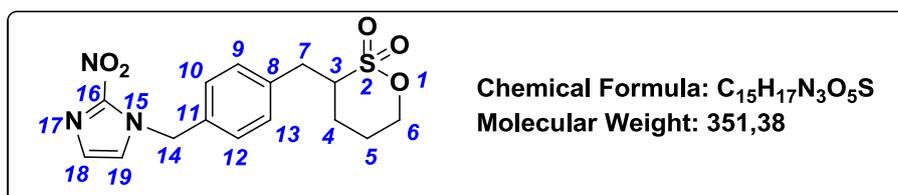
Rf: 0.765 pentane/EtOAc (6/4)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (d, J = 8.1 Hz, 2H, $\text{H}_{10,12}$), 7.18 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{H}_{9,13}$), 4.61 – 4.54 (m, 1H), 4.48 (s, J = 3.2 Hz, 3H), 4.12 (q, J = 7.1 Hz, 1H), 3.49 (dd, J = 13.7 Hz, 3.8 Hz, 1H), 3.26 (tt, J = 10.9, 3.9 Hz, 1H), 2.77 (dd, J = 13.7, 10.9 Hz, 1H), 2.17 (s, 1H), 2.06 – 1.99 (m, 1H), 1.97 – 1.85 (m, 1H), 1.82 (tt, J = 7.5, 3.8 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 137.0, 129.8, 129.7, 73.9, 60.6, 33.9, 33.1, 33.0, 27.6, 24.1.

HRMS: calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{S}$ 241.0901 [M-Br] fragmentation ; found 241.0898

3-(4-((2-Nitro-1H-imidazol-1-yl)methyl)benzyl)-[1,2]oxathiane 2,2-dioxide (138)



2-Nitro-1H-imidazole **6** (175 mg, 1.55 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of bromide **145** (492 mg, 1.55 mmol, 1 equiv.) and Cs_2CO_3 (1 g, 3.09 mmol, 2 equiv.) in DMF (5 mL). The mixture was stirred at room temperature for 24 h then quenched with water and EtOAc. After extraction with ethyl acetate, the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99.5/0.5) as eluent to afford the compound **138** (397 mg, 73% yield) as a yellow oil.

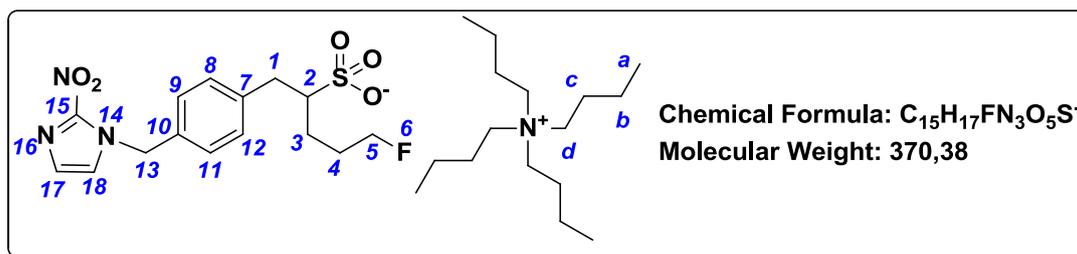
Rf: 0.347 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 100/1)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.21 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, $\text{H}_{10,12}$), 7.19 (s, 1H H_{19}), 7.17 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, $\text{H}_{13,9}$), 7.11 (s, 1H, H_{18}), 5.58 (s, 2H, H_{14}), 4.60 – 4.43 (m, 2H, H_6), 3.47 (dd, $J = 13.8, 4.1$ Hz, 1H, H_7), 3.25 (tt, $J = 10.6, 4.0$ Hz, 1H, H_3), 2.77 (dd, $J = 13.8, 10.5$ Hz, 1H, H_7), 2.03 – 1.96 (m, 1H, H_4), 1.95 – 1.86 (m, 1H, H_4), 1.86 – 1.78 (m, 2H, H_5).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 136.9, 133.5, 130.2, 128.7, 128.3, 126.1, 73.9, 60.6, 53.2, 34.0, 27.7, 24.1. C_{16} missing

HRMS: calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ 352.0964 [M+H] $^+$; found 352.0967

5-Fluoro-[1-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-yl)phenyl)pent-2-sulfonic acid tetrabutylammonium (74)



TBAF (1M in THF, 320 μ L, 0.28 mmol, 1.1 equiv.) was added to solution of sultone **138** (50 mg, 0.31 mmol, 1 equiv.) in anhydrous MeCN (1 mL). The mixture was stirred at 90°C for 5 h then concentrated under reduced pressure to afford the title compound as colorless oil (113 mg, 90% yield).

Rf: 0.896 (MeCN/TFA (15 mM in H₂O) 75/25)

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN) δ 7.35 (s, 1H, H₁₈), 7.35 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, H_{9,11}), 7.16 (s, 1H, H₁₇), 5.53 (s, 2H, H₁₃), 3.64 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 3.19 – 3.00 (m, 8H, Hd), 1.95 – 1.93 (m, 1H), 1.84 – 1.77 (m, 1H), 1.66 – 1.54 (m, 8H, Hc), 1.40 – 1.30 (m, 8H, Hb), 0.94 (t, $J = 7.3$ Hz, 12H, Ha)

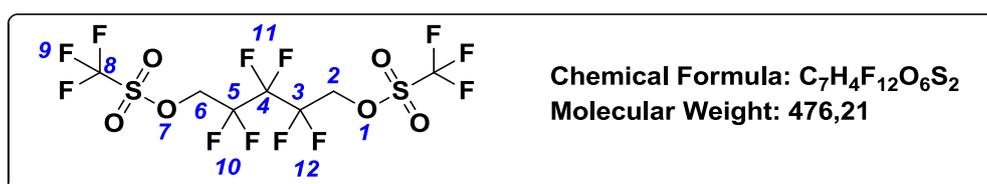
¹³C NMR (126 MHz, CD₃CN) δ 142.5, 137.7, 135.4, 130.7, 129.0, 128.2, 128.1, 128.0, 68.3, 59.3, 28.7, 26.2, 24.3, 20.3, 13.8

¹⁹F NMR (471 MHz, CD₃CN) δ -218.46 – -218.97 (m)

Analytical HPLC: $t_R = 16.3$ min (MeCN/NH₄OAc (10 mM in H₂O) 20/80)

Semi-preparative HPLC: $t_R = 54.3$ min (H₂O /EtOH 90/10)

Trifluoromethanesulfonic acid 2,2,3,3,4,4-hexafluoro-1,4-pentenediyl ester (150)



Pyridine (480 μ L, 5.94 mmol, 5 equiv.) was added to a solution of 2,2,3,3,4,4-hexafluoro-1,5-pentenediol **152** (252 mg, 1.2 mmol, 1 equiv.) in CH₂Cl₂ (2 mL). The mixture was stirred at room temperature under a nitrogen atmosphere. After 20 min, trifluoromethanesulfonic anhydride (2.7 mL, 1M in CH₂Cl₂, 2.73 mmol, 2.3 equiv.) was slowly added over 1 h. The mixture was stirred for 24 h, then successively washed with water, NaHCO_{3(aq)}, dried over MgSO₄ and concentrated under vacuum to give the title compound (457 mg, 80% yield) as a colorless oil without further purification.

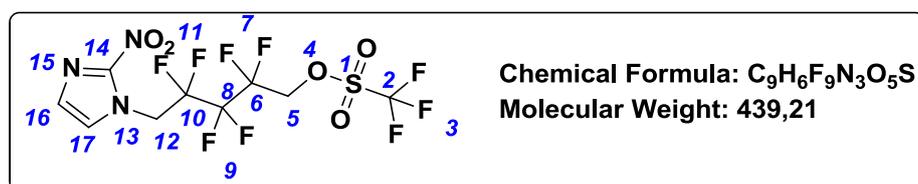
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ = 4.82 (t, $^3J_{\text{HF}} = 12.7$, 4H, $\text{H}_{2,6}$)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 122.4, 119.8, 117.3, 68.25 (t, $J_{\text{HF}} = 28.7$ Hz)

$^{19}\text{F NMR}$ (471 MHz, CDCl_3) δ -73.9 (s, F_9), -119.6 (s, $\text{F}_{10,12}$), -124.4 (s, F_{11}).

Spectroscopic data in accordance with Zeng, *et al.*³³⁹

2,2,3,3,4,4-Hexafluoro-5-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)pentyl trifluoromethanesulfonate (154)



2-Nitro-1H-imidazole **1** (18.7 mg, 0.16 mmol, 1 equiv.) was added to a solution of triflate compound (236 mg, 0.49 mmol, 3 equiv.) and Cs_2CO_3 (107 mg, 0.33 mmol, 2 equiv.) in DMF (2 mL). The mixture was stirred at room temperature for 24 h then diluted with EtOAc and H_2O . After extraction with ethyl acetate, the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9/1) as eluent to afford the compound **154** (70 mg, 84% yield) as a yellow oil.

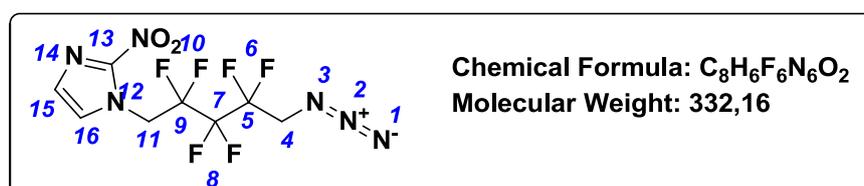
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (d, $J = 1.2$, 1H, H_{17}), 7.18 (d, $J = 1.0$, 1H, H_{16}), 5.27 (t, $^3J_{\text{HF}11} = 15.1$, 2H, H_{12}), 4.83 (t, $^3J_{\text{HF}7} = 12.6$, 2H, H_{15})

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 129.0, 126.8, 50.1, 48.1.

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 122.4, 119.8, 117.3, 114.8 t, 113.0 t, 110.1 t, 68.25 t, 31.0

$^{19}\text{F NMR}$ (471 MHz, CDCl_3) δ -73.9 (s, CF_3), -116.85 (p, $^3J_{\text{F}9\text{H}5} = 12.5$ Hz, F_7), -119.3 (p, $^3J_{\text{F}9\text{H}12} = 11.7$ Hz, F_{11}), -124.9 (s, F_9)

2,2,3,3,4,4-Hexafluoro-5-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)pentylazide (142)



Sodium azide (60 mg, 0.93 mmol, 3 equiv.) was added to a solution of triflate compound **154** (136 mg, 0.31 mmol, 1 equiv.) in DMF. The mixture was stirred for 10 h at room temperature then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was used without more purification. (99 mg, 97% yield)

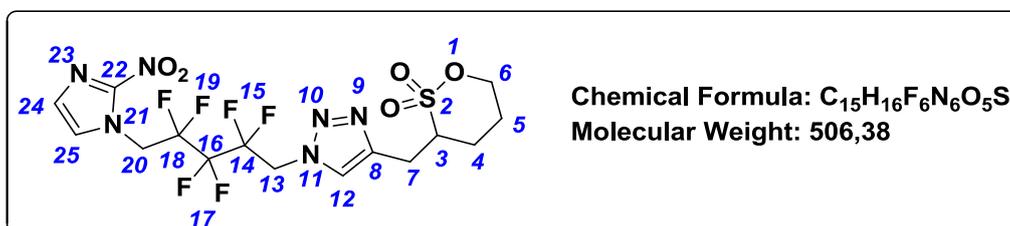
Rf: 0.76 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.24 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H₁₆), 7.19 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, H₁₅), 5.25 (t, ³*J*_{HF10} = 15.2 Hz, 2H, H₁₁), 3.79 (t, ³*J*_{HF6} = 14.9 Hz, 2H, H₄)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 162.7, 129.0, 126.8, 50.05 (t, *J* = 19.1 Hz), 48.11 (t, *J* = 22.4 Hz), 36.6, 31.6

¹⁹F NMR (471 MHz, CDCl₃) δ -116.95(s, F_{10,6}), -125.27 (s, F₈)

3-((1-(2,2,3,3,4,4-Hexafluoro-5-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)pentyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-oxathiane 2,2-dioxide (134)



Azide compound **142** (30 mg, 0.09 mmol, 1 equiv.) in dioxane (1 mL) was added to a solution of propargylic sultone compound **90** (16 mg, 0.09 mmol, 1 equiv.), CuI (2 mg, 0.01 mmol, 0.1 equiv.), DIPEA (2 μL, 0.01 mmol, 0.1 equiv.), in dioxane (1 mL). The mixture was stirred at room temperature for 48 h then diluted with EtOAc (5 mL) and H₂O (2 mL). After extraction with ethyl acetate and the combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica flash chromatography with CH₂Cl₂/MeOH (99.5/0.5) as eluent to afford the compound **134** (46 mg, 66% yield) as a fluffly white solid.

Rf: 0.82 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ = 7.67 (s, 1H, H₁₂), 7.24 (d, *J* = 1.2, 1H, H₂₅), 7.16 (d, 1H, *J* = 1.2, H₂₄), 5.27 (t, ³*J*_{HF15} = 15.1, 2H, H₂₀), 5.05 (td, *J* = 15.1, 4.3 Hz, 2H, H₁₃), 4.57 (td, *J* = 11.1, 3.0

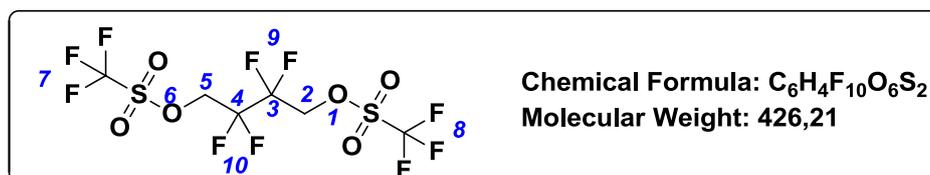
Hz, 1H, H₆), 4.52 – 4.46 (m, 1H, H₆), 3.56 – 3.48 (m, 1H, H₃), 3.45 (dd, $J = 15.2, 5.9$ Hz, 1H, H₇), 3.07 (dd, $J = 15.1, 7.5$ Hz, 1H, H₇), 2.28 (dd, $J = 14.1, 2.9$ Hz, 1H), 2.09 – 1.99 (m, 1H, H₅), 1.98 – 1.83 (m, 1H, H₅), 1.60 (s, 2H, H₄)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 143.7, 129.1, 126.9, 124.4, 74.1, 59.0, 49.5 (m), 48.0 t, 31.1, 28.7, 25.1, 24.0

¹⁹F NMR (471 MHz, CDCl₃) δ -116.2 (2F) -116.6, (2F), -125.0 (2F)

HRMS: calcd for C₁₅H₁₇N₆O₅SF₆: 507.0885 [M+H]⁺; found 507.0890 [M+H]⁺

Trifluoromethanesulfonic acid 2,2,3,3-tetrafluoro-1,5-butanediyl ester (151)



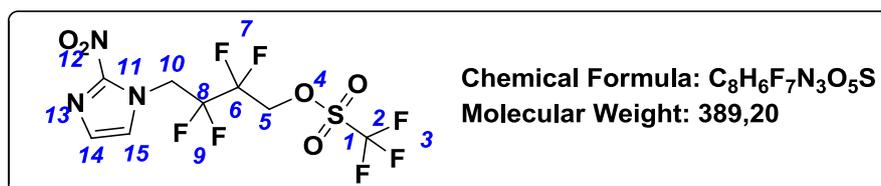
Compound **151** was synthesized from the same procedure as **150** to afford compound **151** (1.1 g, 76% yield).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.64 (ddd, $^4J_{HF} = 13.6, ^3J_{HF} = 8.5, ^2J_{HH} = 4.9$ Hz, 4H, H_{2,5})

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 122.4, 117.3, 67.8 (m)

¹⁹F NMR (471 MHz, CDCl₃) δ -74.0 (s, F_{7,8}), -120.5 (s, F_{9,10})

2,2,3,3-Tetrafluoro-4-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)butyl trifluoromethanesulfonate (154)



Compound **154** was synthesized from the same procedure as **153** to afford **154** (364 mg, 91% yield) as a yellow oil.

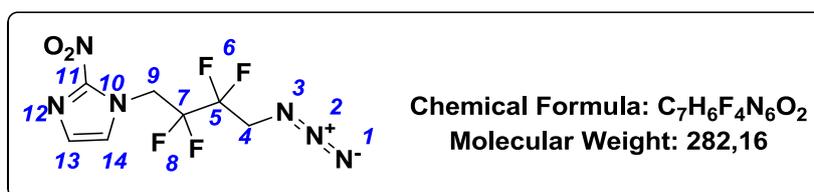
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.26 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, H₁₅), 7.17 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, H₁₄), 5.27 (t, $^3J_{HF9} = 15.1$ Hz, 2H, H₁₀), 4.84 (t, $^3J_{HF7} = 12.6$ Hz, 2H, H₅)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 207.2, 121.7, 119.6, 117.5, 115.4, 113.3, 67.8, 31.1, 31.1

¹⁹F NMR (471 MHz, CDCl₃) δ -73.89 (s, F₃), -117.29, -120.50

HRMS: calcd for $C_8H_7N_3O_5SF_7$ 389.9995 $[M+H]^+$; found 389.9997

1-(3-Azido-2,2,3,3-tetrafluorobutyl)-2-nitro-1H-imidazole (141)



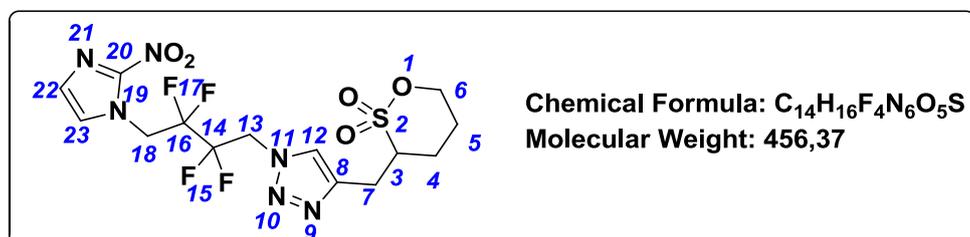
Compound **141** was synthesized from the same procedure as **142** to afford compound **141** (99 % yield).

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.22 (d, J = 1.2 Hz, 1H, H_{13}), 7.18 (d, J = 0.9 Hz, 1H, H_{14}), 5.24 (t, $^3J_{HF8}$ = 15.1 Hz, 2H, H_9), 3.79 (t, $^3J_{HF6}$ = 14.6 Hz, 2H, H_4)

^{13}C NMR (126 MHz, CD_3CN) δ 141.5; 129.4, 126.8, 112.5-112.3 (m), 58.7-58.1 (m), 50.2-49.6 (m)

^{19}F NMR (471 MHz, $CDCl_3$) δ -117.29, -120.50

3-((1-(2,2,3,3-Tetrafluoro-4-(2-nitro-1H-imidazol-1-yl)butyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-oxathiane 2,2-dioxide (133)



Compound **133** was synthesized from the same procedure as **134** to afford compound **133** (62 % yield).

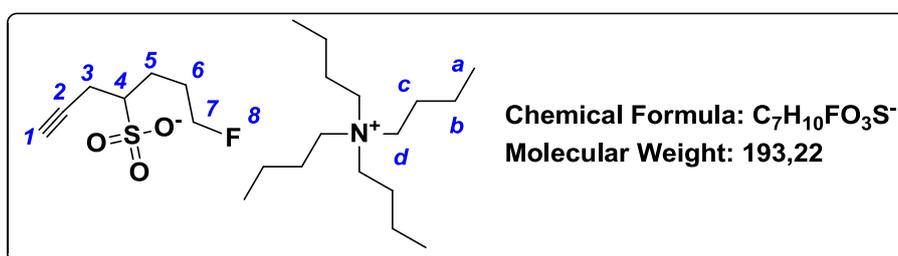
1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.65 (s, 1H), 7.24 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 5.21 (td, J = 15.1, 3.3 Hz, 2H), 5.04 (t, J = 14.6 Hz, 3H), 4.57 (td, J = 11.1, 3.0 Hz, 1H), 4.52 – 4.46 (m, 1H),

3.56 – 3.48 (m, 1H), 3.45 (dd, $J = 15.2, 5.9$ Hz, 1H), 3.07 (dd, $J = 15.1, 7.5$ Hz, 1H), 2.28 (dd, $J = 14.1, 2.9$ Hz, 1H), 2.09 – 1.99 (m, 1H), 1.98 – 1.83 (m, 3H), 1.60 (s, 2H), 1.24 (dd, $J = 9.2, 4.9$ Hz, 1H)

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 143.8, 129.0, 126.8, 124.4, 77.4, 74.1, 59.1, 48.57 (d, $J = 24.1$ Hz), 47.50 – 46.83 (m), 28.7, 25.2, 24.0.

^{19}F NMR (471 MHz, CDCl_3) δ -124.85 (t, $^3J_{\text{HF}} = 13.1$ Hz, $\text{F}_{15,17}$).

7-Fluorohept-1-yne-4-sulfonate tetrabutylammonium (163)



TBAF (1M in THF, 320 μL , 0.28 mmol, 1.1 equiv.) was added to solution of propargylic sulfone (50 mg, 0.31 mmol, 1 equiv.) in anhydrous MeCN (0.5 mL). The mixture was stirred at 90°C for 5 h then concentrated under reduced pressure to afford the title compound as colorless oil (113 mg, 90% yield).

^1H NMR (500 MHz, CD_3CN) δ 4.37-4.52 (m, 2H, H_7), 3.14-3.19 (m, 8H, H_d), 2.83 (dt, $J = 16.9, 3.0$ Hz, 2H, H_4), 2.51-2.60 (m, 2H, H_3), 2.24-2.34 (m, 3H, $\text{H}_{1,5}$), 1.85-1.94 (m, 2H, H_6), 1.58-1.66 (m, 8H, H_c), 1.32-1.42 (m, 8H, H_b), 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 12H, H_a)

.95 (t, $J = 5.7$ Hz 6H), 3.08 (t, $J = 5.7$ Hz, 6H)

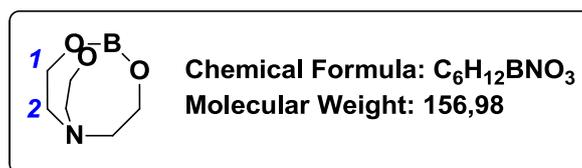
^{13}C NMR (126 MHz, CD_3CN) δ 85.0, 83.4, 75.4, 72.9, 59.4, 28.8, 28.3, 26.5, 24.1, 20.1, 13.6

^{19}F NMR (471 MHz, CD_3CN) δ -218.6 (tt, $J = 47, 5, 25.3$ Hz)

HRMS: calcd for $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_3\text{SF}_1$ 193.0335 $[\text{M}-\text{H}]^-$ found: 193.0342

Analytical HPLC : $t_R = 12.5$ min (MeCN/ NH_4OAc (10 mM in H_2O) 2/98)

LCMS : $t_R = 5.36$ min ; MS (ES^+) 242 $[\text{TBA}]^+$; (ES^-) 193.15 $[\text{M}-\text{H}]^-$

4,6,11-Trioxa-1-aza-5-borabicyclo[3.3.3]undecane (175)

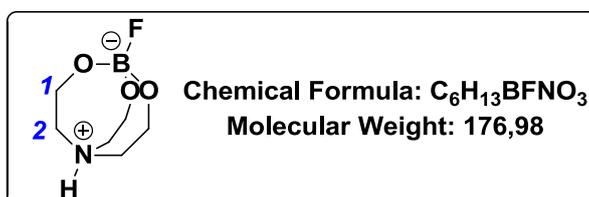
Boric acid (0.49 g, 7.9 mmol, 1.1 equiv.) was added to a solution of triethanolamine (TEA) (1.12 g, 7.53 mmol, 1 equiv.) in ethanol (30 mL). The mixture was stirred at rt for 20 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was crystallized in ethanol to afford white solid **175** (860 mg, 90% yield).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 3.95 (t, $^3J_{2-1} = 5.7$ Hz, 6H, H_1), 3.08 (t, $^3J_{2-1} = 5.7$ Hz, 6H, H_2)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 62.04, 59.3

$^{11}\text{B NMR}$ (160 MHz, CDCl_3) δ 14.9

Spectroscopic data in accordance with Taylor *et al.*³⁴⁰

4,6,11-Trioxa-1-aza-5-fluoroborabicyclo[3.3.3]undecane (201)

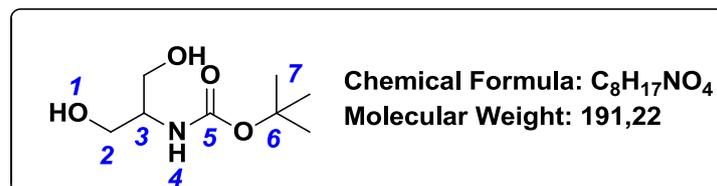
Potassium fluoride (37 mg, 0.7mmol, 1 equiv.) and chlorhydric acid (100 mM, 6 μL , 1 equiv.) were added to a solution of boratrane **175** (105 mg, 0.67 mmol, 1 equiv.) in H_2O (1 mL). The mixture was stirred at rt for 24 h. The solvent was removed by lyophilization to afford colorless crystals of title compound **201** (115 mg, 97% yield).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 3.77 (t, $^3J_{2-1} = 5.2$ Hz, 6H, H_1), 3.30 (dd, $^3J_{2-1} = 9.9$, 4.8 Hz, 6H, H_2)

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 55.3, 55.2

$^{11}\text{B NMR}$ (128 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ -1.31;

$^{19}\text{F NMR}$ (376 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ -148.2.

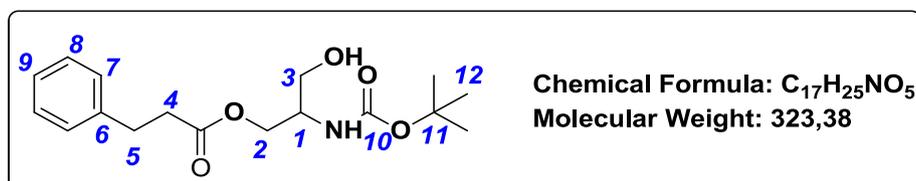
Tert-butyl N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]carbamate (182)Leblond, *et al.* **2007**, *Bioconjugate Chem.* 18(2), p484-493

Di-tert-butylcarbonate (680 mg, 2.3 mmol, 1.2 equiv.) was added to a solution of 2-aminopropane-1,3-diol **180** (375 mg, 1.9 mmol, 1 equiv.) in EtOH (150 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 10 h then concentrated under vacuum. The crude product was purified by recrystallization in heptane. The desired product (0.5 g, 40 % yield) was obtained as a white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 5.34 (d, 1H, *J* = 6.6 Hz, H₄), 3.67-3.83 (m, 5H, H_{2,3}), 1.45 (s, 9H, H₈)

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) 156.1, 80.0, 63.5, 53.3, 28.4

IR (cm⁻¹): 3192 (NH), 1680 (C=O).

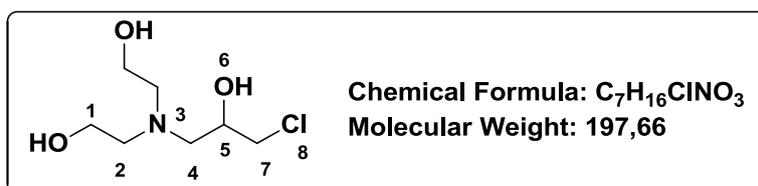
2-((Tert-butoxycarbonyl)amino)-3-hydroxypropyl 3-phenylpropanoate (183)

TMEDA (680 mg, 2.3 mmol, 1.0 equiv.) and *N*-methylimidazole were added to a solution of tert-butyl *N*-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]carbamate **182** (375 mg, 1.9 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (20 mL) was added. The mixture was stirred at 0 °C for 5 min followed by addition of hydroxymoyl chloride (660 mg, 2.5 mmol, 0.9 equiv.). The reaction mixture was stirred at 0 °C for 2 h then extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with brine dried over MgSO₄, and concentrated under vacuum. The crude product was purified by silica flash chromatography with pentane/EtOAc (7/3) as eluent. The title compound **183** (0.5 g, 40 % yield) was obtained as a white solid.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.40 – 7.18 (m, 5H, $\text{H}_{7,8,9}$), 4.95 (s, $J = 6.8$ Hz, 1H, OH), 4.23 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H, H_2), 3.88 (s, 1H, H_1), 3.65 – 3.48 (m, 2H, H_3), 3.01 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H_5), 2.81 – 2.63 (m, 2H, H_4), 1.50 (s, 9H, H_{12}).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 173.4, 155.9, 140.3, 79.9, 63.0, 61.8, 51.1, 35.8, 30.9, 28.5.

1-[Bis(2-hydroxyethyl)amino]-3-chloro-2-propanol (187)



Epichlorhydrin (2.56 mL, 26.78 mmol, 1.0 equiv.) was added to a cooled ($0\text{ }^\circ\text{C}$) solution of diethanolamine **181** (2.47 g, 26.8 mmol, 1.0 equiv.) in CHCl_3 (100 mL). The mixture was stirred at room temperature for 24 h then concentrated under vacuum. The desired product **187** (4.47 g, 84 % yield) was obtained as a colorless oil and was used without purification.

$R_f = 0.49$ (CH_2Cl_2 /pentane/MeOH 68/15/17)

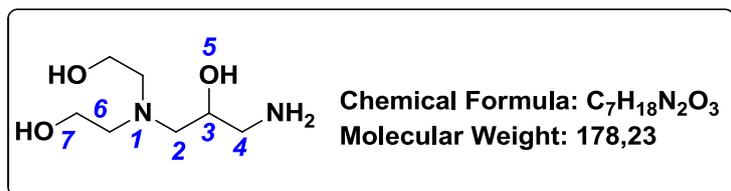
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 4.86 (s, 3H, H_{OH}), 3.90 (quint, 1H, H_5), 3.65 (ddd, $J = 11.7, 9.3, 2.5$ Hz, 2H, H_7), 3.50 (ddd, $J = 11.9, 7.9, 4.4$ Hz, 4H, H_5, H_1), 2.70 (ddd, $J = 12.9, 9.2, 3.4$ Hz, 2H, H_4), 2.57 (dd, $J = 13.3, 9.6$ Hz, 1H, H_4), 2.49 – 2.40 (m, 4H, H_2)

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 68.7, 59.6, 59.0, 57.4, 47.00

HRMS: calcd for $\text{C}_7\text{H}_{17}\text{NO}_3^{35}\text{Cl}$: 198.0901 $[\text{M}+\text{H}]^+$; found 198.0901

IR (cm^{-1}): 3330 $\nu(\text{OH})$, 700 $\nu(\text{C-Cl})$.

LCMS: $t_R = 0.50$ min; MS (ES^+) 198.30 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

1-[Bis(2-hydroxyethyl)amino]-3-amino-2-propanol (189)

The chlorinated compound **187** (2.60 g, 13.19 mmol, 1 equiv.) was dissolved in aqueous ammonia (28%, 125 mL, excess) and stirred at reflux 48 h. The mixture was then triturated with acetone, concentrated under vacuum and purified on gel chromatography using CH_2Cl_2 /pentane/MeOH/ NH_4OH (68/15/15/2) as eluent to afford **189** as a colorless oil (4.47 g, 84 % yield).

R_f = 0.69 (CH_2Cl_2 /pentane/MeOH/ NH_4OH 68:15:15:2)

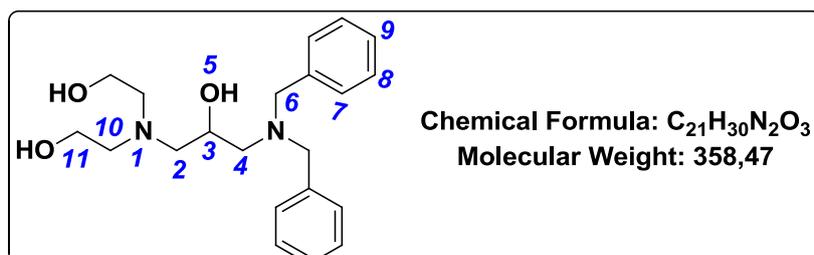
1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.78 (quint, 1H, H_3), 3.45 (t, 4H, H_7), 2.94 (dd, J = 12.6, 4.5 Hz, 1H, H_4), 2.71 (dd, J = 12.5, 7.1 Hz, 1H, H_4'), 2.56 (d, J = 5.4 Hz, 6H, $H_{2,6}$)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 69.9, 68.4, 64.5, 57.9, 44.0

HRMS: calcd $C_7H_{19}N_2O_3$ 179.1400 $[M+H]^+$; found 179.1396

LCMS: t_R = 0.50 min; MS (ES^+) 179.52 ($M+H^+$)

IR (cm^{-1}): 3331 $\nu(OH)$, 2883 $\nu(CH_2)$, 1025 $\nu(C-O)$

1-[Bis(2-hydroxyethyl)amino]-3-(bis-benzyl)amino-2-propanol (191)

Benzyl chloride (4.82 mL, 41.6 mmol, 2 equiv.) was added to a solution of **189** (3.7 g, 20.8 mmol, 1 equiv.) in EtOH (130 mL) and potassium carbonate (8.62 g, 62.4 mmol, 3 equiv.). The mixture was stirred at reflux for 24 h then filtrated and concentrated under vacuum. The residue was purified by silica flash chromatography with solid deposit (heptane/ CH_2Cl_2 /MeOH/ NH_4OH gradient from 0/1/0/0 up to:15/68/15/2). The compound **191** was obtained as a light yellow oil (4.3 g, 57% yield).

R_f : 0.41 (CH_2Cl_2 /pentan/MeOH/ NH_4OH 74:17:8:1).

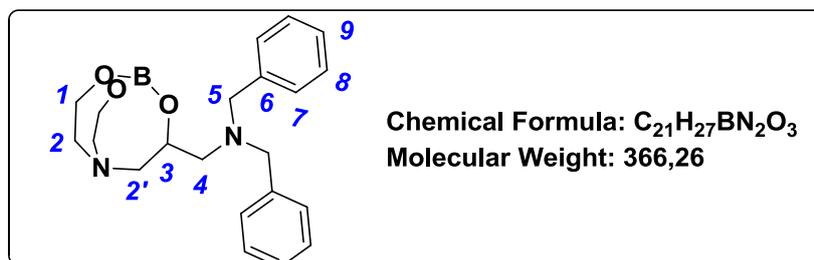
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.33 – 7.19 (m, 10H, $_{7,8,9}$), 3.80 (quint, 1H, H_3), 3.71 (d, $J = 13.5$ Hz, 4H, H_6), 3.56 (ddd, $J = 11.4, 8.2, 3.0$ Hz, 2H, H_4), 3.47 (t, $J = 3.4$ Hz, 2H, H_{11}), 3.45 (t, $J = 3.4$ Hz, 2H, H_{11}), 2.67 (m, 2H, H_2), 2.44 (m, 2H, H_{10}), 2.37 (dd, $J = 16.2, 6.9$ Hz, 2H, H_{10})

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 138.5, 129.2, 128.6, 127.5, 72.2, 59.5, 58.8, 57.7, 57.3

$\text{IR (cm}^{-1}\text{)}$: $\nu(\text{O-H}) = 3330$; 735 ; $\delta(\text{C-H}) = 697$

LCMS : $t_R = 3.89$ min; $\text{MS (ES}^+\text{)}$ 359.50 (M+H^+)

3-Methylenbisbenzylamine-4,6,11-trioxa-1-aza-5-borabicyclo-[3.3.3]undecane (192)



Compound **192** was synthesized as the same procedure for **175** and to afford **192** as a beige solid. (98% yield)

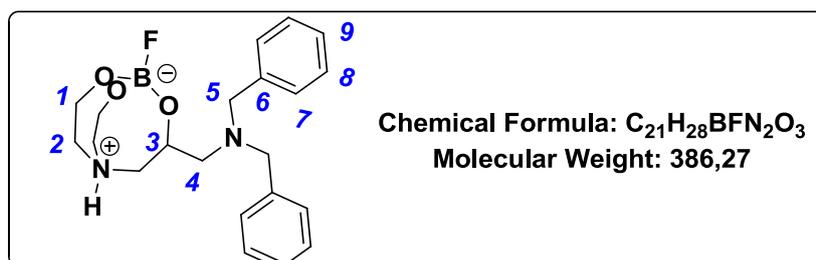
Mp: 58.7 °C.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (s, 4H, H_7), 7.25 (s, 4H, H_8), 7.22 (s, 2H, H_8), 4.07 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H, H_5), 3.81 (m, 1H, H_3), 3.68 (d, $J = 13.7$ Hz, 2H, H_4), 3.46 (m, 4H, H_1), 2.65 (ddd, $J = 12.4, 7.2, 2.5$ Hz, 2H, H_2'), 2.45 (m, 2H, H_2), 2.34 (ddd, $J = 22.7, 13.2, 7.0$ Hz, H_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 139.8, 138.75, 129.1, 128.5, 128.4, 127.4, 127.1, 66.3, 60.0, 59.7, 59.6, 58.9, 57.6 57.4

$^{11}\text{B NMR}$ (160 MHz, CDCl_3) δ 14.51

$\text{IR (cm}^{-1}\text{)}$: 3330 $\nu(\text{O-H})$, 1072 $\nu(\text{C-O})$, 770 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$), 697 $\delta(\text{C-H})$

3-Methylenbisbenzylamine-4,6,11-trioxa-1-aza-5-fluoroborabicyclo-[3.3.3]undecane (202)

Potassium fluoride (35 g, 0.6 mmol, 1.1 equiv.) was added to a solution of **192** (195 mg, 0.55 mmol, 1 equiv.) in H_2O , then triflic acid (100 mM, 5 μ L, 0.55mmol) was added. The mixture was stirred at room temperature for 24 h then lyophilized under vacuum. The compound **202** was obtained as a white solid (211 mg, 98% Yield).

Rf: 0.12 (MeCN/TFA (15 mM in H_2O) 25/75)

Mp: 94.7 °C.

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.22 (m, 10H, $H_{6,7,8}$), 3.65 (td, $J = 13.7, 6.9$ Hz, 4H, H_4), 3.52 (dd, $J = 9.1, 3.7$ Hz, 2H, H_{11}), 3.45 (dd, $J = 15.8, 8.4$ Hz, 2H, H_{12}), 2.63 (ddd, $J = 12.4, 9.0, 3.8$ Hz, 2H, H_{11}), 2.45 (m, 2H, H_{26}), 2.38 (dt, $J = 7.9, 4.6$ Hz, 2H, H_8), 2.31 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, H_6).

^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 132.2, 130.7, 130.2, 123.2, 120.6, 61.9, 59.4, 57.1, 56.9, 55.8

^{11}B NMR (160 MHz, $CDCl_3$) δ -1.2.

^{19}F NMR (376.5 MHz, $CDCl_3$) δ -151.9.

IR (cm^{-1}): $\nu(C-N) = 1240$; $\nu(C-N) = 1170$; $\nu(C-O) = 1024$; $\delta(C-H) = 635$.

Radiochemistry

Radioisotope production

[¹⁸F]Fluoride was produced via the ¹⁸O(p,n)¹⁸F nuclear reaction by irradiation of a ¹⁸O-enriched water with a 18-MeV proton beam from an IBA Cyclone® 18/9 cyclotron. At the end of bombardment, [¹⁸F]fluoride was transferred to the target vial and the initial activity was measured. For small radioactivities, radiosyntheses were performed under fume hood equipped with 5 cm lead-shielded wall and lead-shielded glass screens. Starting radioactivity of [¹⁸F]fluoride was less than 10 mCi (370 MBq). For higher radioactivity, radiosynthesis were performed in hot cell using an automatic apparatus TRACERlab FXFN, starting radioactivity was up to 1 Ci (37 GBq).



Figure 110 : Photos of: (left) fumehood with lead-shielded wall (right) hot cell

Mesure of radioactivity

Radioactivity measurement was carried out with a Capintec R15C

Radiofluorination of sultone with small radioactivity

The [¹⁸F]fluoride was trapped on a Sep-Pak® Light QMA and eluted with a mixture of potassium carbonate/Kryptofix 222 (1.76 mg/10.5 mg) in water/acetonitrile (350 µL/600 µL). The water was removed azeotropically with MeCN (2 x 1 mL) under a steam of nitrogen

affording dried $[^{18}\text{F}]\text{KF}/\text{K}_{222}$ complex. Then a solution of starting sultone in MeCN (5 mg/ 1 mL) was added to the sealed reaction vial containing between 0.5 mCi (18.5 MBq) and 1 mCi (37 MBq) of $[^{18}\text{F}]\text{KF}/\text{K}_{222}$ complex. The mixture was heated at 110°C for 15 min then cooled for HPLC and radioTLC analysis.

Radiofluorination of sultone with high radioactivity

The fully automated synthesis on TRACERlab FXFN module for the preparation of $[^{18}\text{F}]$ radiotracer are depicted in Table 1. The $[^{18}\text{F}]$ fluoride was trapped on a Sep-Pak® Light QMA and eluted with a mixture of potassium carbonate/Kryptofix 2.2.2 (1.76 mg/10.5 mg) in water/acetonitrile (350 μL /450 μL , vial 1). The $[^{18}\text{F}]\text{KF}/\text{K}_{222}$ complex was collected into the reactor. The $[^{18}\text{F}]\text{KF}/\text{K}_{222}$ complex was dried at 90 °C for 5 min and acetonitrile (500 μL , vial 2) was added, was dried finally at 90 °C for 90 s under reduced pressure. The reactor was cooled down to 40°C and precursor sultone in acetonitrile (5.2 mg in 1.2 ml, vial 3) was added, then the fluorination reaction takes place at 110 °C in the closed reactor for 15 min. After cooling to 40 °C, water was added (2 mL, vial 5, 2 mL vial 6) and the mixture was injected into semi-preparative HPLC. The $[^{18}\text{F}]$ radiotracer was isolated by reverse phase semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC Waters Xterra RP18, 10 μm , 10 \times 250 mm; mobile phase: water/ethanol, 9:1; flow rate, 3 ml/min ; $\lambda=280$ nm).

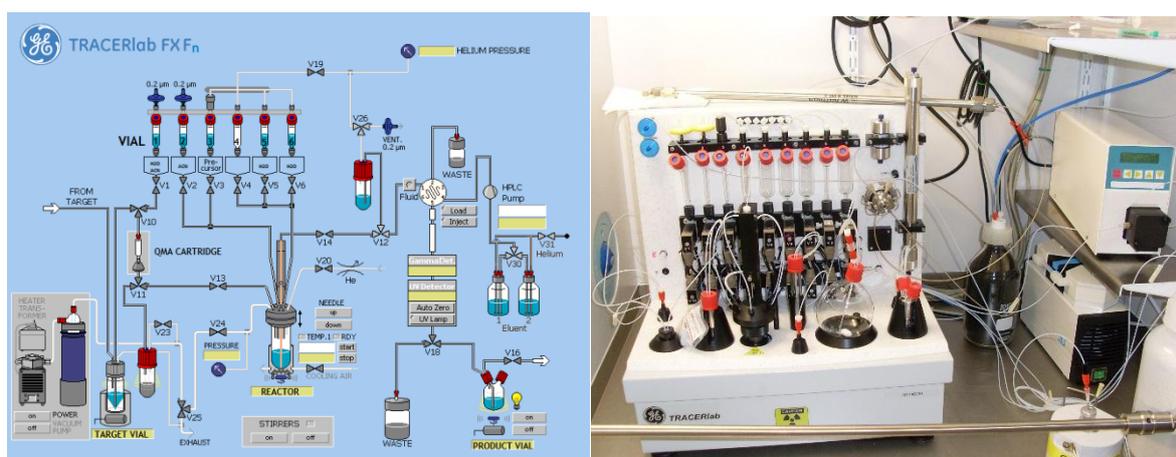


Table 1. Preparation of reagents and materials for the GE TRACERlab™ FX F-N synthesis module

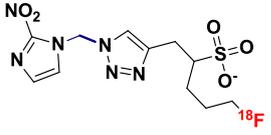
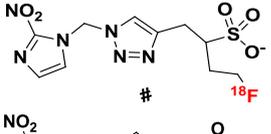
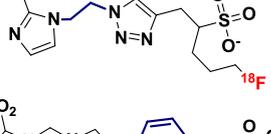
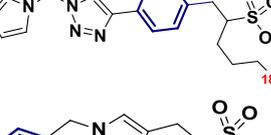
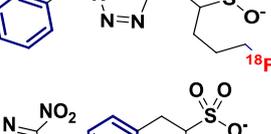
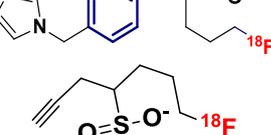
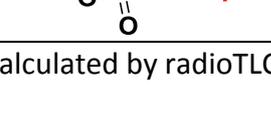
Vial	Contents	Quantities
1	$\text{K}_2\text{CO}_3/\text{K}_{222}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$	1.76mg/10.5mg/350 μL /400 μL
2	Acetonitrile	500 μL

3	Precursor in acetonitrile	5.2 mg / 1.2mL
4	Empty vial	x
5	H ₂ O	2 mL
6	H ₂ O	2 mL

Analytical HPLC

The isolated [¹⁸F]-radiotracer aliquot was injected onto analytical reverse phase HPLC Macherey Nagel NUCLEODUR® C18 Pyramid 5 µm, 4.6 mm x 250 mm. λ = 316 nm ; flow rate 0.7 mL/min. All radiotracers have demonstrated a radiochemical purity superior at 97.7%.

Table with HPLC analytical conditions

¹⁸ F]radiotracer	HPLC eluent (MeCN/NH ₄ OAc (10 mM in H ₂ O))	Retention time (min)	Conversion ^a (%)
	10/90	12.5	70
	10/90	14.5	70
	10/90	16.8	90
	20/80	11.4	55
	20/80	9.6	80
	20/80	16.3	73
	8/92	12.5	98

^acalculated by radioTLC

Références

- (1) Koh, M. Y.; Powis, G. Passing the Baton: The HIF Switch. *Trends Biochem. Sci.* **2012**, *37* (9), 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2012.06.004>.
- (2) Chitneni, S. K.; Palmer, G. M.; Zalutsky, M. R.; Dewhirst, M. W. Molecular Imaging of Hypoxia. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2011**, *52* (2), 165–168. <https://doi.org/10.2967/jnumed.110.075663>.
- (3) Vaupel, P.; Harrison, L. Tumor Hypoxia: Causative Factors, Compensatory Mechanisms, and Cellular Response. *The Oncologist* **2004**, *9* (Supplement 5), 4–9. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.9-90005-4>.
- (4) Bonnitcha, P.; Grieve, S.; Figtree, G. Clinical Imaging of Hypoxia: Current Status and Future Directions. *Free Radic. Biol. Med.* **2018**, *126*, 296–312. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.08.019>.
- (5) Maldaun, M. V. C.; Suki, D.; Lang, F. F.; Prabhu, S.; Shi, W.; Fuller, G. N.; Wildrick, D. M.; Sawaya, R. Cystic Glioblastoma Multiforme: Survival Outcomes in 22 Cases. *J. Neurosurg.* **2004**, *100* (1), 61–67. <https://doi.org/10.3171/jns.2004.100.1.0061>.
- (6) Jawhari, S.; Ratinaud, M.-H.; Verdier, M. Glioblastoma, Hypoxia and Autophagy: A Survival-Prone ‘ménage-à-Trois’.’ *Cell Death Dis.* **2016**, *7* (10), e2434. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.318>.
- (7) Fleming, I. N.; Manavaki, R.; Blower, P. J.; West, C.; Williams, K. J.; Harris, A. L.; Domarkas, J.; Lord, S.; Baldry, C.; Gilbert, F. J. Imaging Tumour Hypoxia with Positron Emission Tomography. *Br. J. Cancer* **2015**, *112* (2), 238–250. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.610>.
- (8) Simon, M. C. The Hypoxia Response Pathways — Hats Off! *N. Engl. J. Med.* **2016**, *375* (17), 1687–1689. <https://doi.org/10.1056/NEJMcibr1610065>.
- (9) Graham, K.; Unger, E. Overcoming tumor hypoxia as a barrier to radiotherapy, chemotherapy and immunotherapy in cancer treatment <https://www.dovepress.com/overcoming-tumor-hypoxia-as-a-barrier-to-radiotherapy-chemotherapy-and-peer-reviewed-fulltext-article-IJN> (accessed Jul 16, 2019). <https://doi.org/10.2147/IJN.S140462>.
- (10) Gérard, M.; Corroyer-Dulmont, A.; Lesueur, P.; Collet, S.; Chérel, M.; Bourgeois, M.; Stefan, D.; Limkin, E. J.; Perrio, C.; Guillamo, J.-S.; et al. Hypoxia Imaging and Adaptive Radiotherapy: A State-of-the-Art Approach in the Management of Glioma. *Front. Med.* **2019**, *6*, 117. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00117>.
- (11) Moon, E. J.; Brizel, D. M.; Chi, J. A.; Dewhirst, M. W. The Potential Role of Intrinsic Hypoxia Markers as Prognostic Variables in Cancer. *Antioxid. Redox Signal.* **2007**, *9* (8), 1237–1294. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1623>.
- (12) Gray, L. H.; Conger, A. D.; Ebert, M.; Hornsey, S.; Scott, O. C. A. The Concentration of Oxygen Dissolved in Tissues at the Time of Irradiation as a Factor in Radiotherapy. *Br. J. Radiol.* **1953**, *26* (312), 638–648. <https://doi.org/10.1259/0007-1285-26-312-638>.
- (13) Unruh, A.; Ressel, A.; Mohamed, H. G.; Johnson, R. S.; Nadrowitz, R.; Richter, E.; Katschinski, D. M.; Wenger, R. H. The Hypoxia-Inducible Factor-1 α Is a Negative Factor for Tumor Therapy. *Oncogene* **2003**, *22* (21), 3213. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206385>.

- (14) Vleugel, M. M.; Greijer, A. E.; Shvarts, A.; van der Groep, P.; van Berkel, M.; Aarbodem, Y.; van Tinteren, H.; Harris, A. L.; van Diest, P. J.; van der Wall, E. Differential Prognostic Impact of Hypoxia Induced and Diffuse HIF-1 α Expression in Invasive Breast Cancer. *J. Clin. Pathol.* **2005**, *58* (2), 172–177. <https://doi.org/10.1136/jcp.2004.019885>.
- (15) Vaupel, P.; Höckel, M.; Mayer, A. Detection and Characterization of Tumor Hypoxia Using PO₂ Histograms. *Antioxid. Redox Signal.* **2007**, *9* (8), 1221–1236. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1628>.
- (16) Chapman, J. D.; Urtasun, R. C.; Blakely, E. A.; Smith, K. C.; Tobias, C. A. Hypoxic Cell Sensitizers and Heavy Charged-Particle Radiations. *Br. J. Cancer. Suppl.* **1978**, *3*, 184–188.
- (17) Wilson, W. R.; Hay, M. P. Targeting Hypoxia in Cancer Therapy. *Nat. Rev. Cancer* **2011**, *11* (6), 393–410. <https://doi.org/10.1038/nrc3064>.
- (18) Hong, B.-J.; Kim, J.; Jeong, H.; Bok, S.; Kim, Y.-E.; Ahn, G.-O. Tumor Hypoxia and Reoxygenation: The Yin and Yang for Radiotherapy. *Radiat. Oncol. J.* **2016**, *34* (4), 239–249. <https://doi.org/10.3857/roj.2016.02012>.
- (19) Le Caër, S. Water Radiolysis: Influence of Oxide Surfaces on H₂ Production under Ionizing Radiation. *Water* **2011**, *3* (1), 235–253. <https://doi.org/10.3390/w3010235>.
- (20) Kovacic, P.; Osuna Jr., J. Mechanisms of Anti-Cancer Agents Emphasis on Oxidative Stress and Electron Transfer. *Curr. Pharm. Des.* **2000**, *6* (3), 277–309. <https://doi.org/10.2174/1381612003401046>.
- (21) Wang, H.; Mu, X.; He, H.; Zhang, X.-D. Cancer Radiosensitizers. *Trends Pharmacol. Sci.* **2018**, *39* (1), 24–48. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2017.11.003>.
- (22) Crabtree, H. G.; Cramer, W.; Murray, J. A. The Action of Radium on Cancer Cells. II.—Some Factors Determining the Susceptibility of Cancer Cells to Radium. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Contain. Pap. Biol. Character* **1933**, *113* (782), 238–250. <https://doi.org/10.1098/rspb.1933.0044>.
- (23) Bamatraf, M. M. M.; O'Neill, P.; Rao, B. S. M. Redox Dependence of the Rate of Interaction of Hydroxyl Radical Adducts of DNA Nucleobases with Oxidants: Consequences for DNA Strand Breakage. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (46), 11852–11857. <https://doi.org/10.1021/ja9823161>.
- (24) Wardman, P. Chemical Radiosensitizers for Use in Radiotherapy. *Clin. Oncol.* **2007**, *19* (6), 397–417. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2007.03.010>.
- (25) Walsh, J. C.; Lebedev, A.; Aten, E.; Madsen, K.; Marciano, L.; Kolb, H. C. The Clinical Importance of Assessing Tumor Hypoxia: Relationship of Tumor Hypoxia to Prognosis and Therapeutic Opportunities. **2014**, *21* (10), 1516–1554. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5378>.
- (26) Horsman, M. R.; Mortensen, L. S.; Petersen, J. B.; Busk, M.; Overgaard, J. Imaging Hypoxia to Improve Radiotherapy Outcome. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2012**, *9* (12), 674–687. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2012.171>.
- (27) Koch, C. J.; Evans, S. M. Optimizing Hypoxia Detection and Treatment Strategies. *Semin. Nucl. Med.* **2015**, *45* (2), 163–176. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2014.10.004>.
- (28) Rickard, A. G.; Palmer, G. M.; Dewhirst, M. W. Clinical and Pre-Clinical Methods for Quantifying Tumor Hypoxia. In *Hypoxia and Cancer Metastasis*; Gilkes, D. M., Ed.; Springer International Publishing: Cham, 2019; Vol. 1136, pp 19–41. https://doi.org/10.1007/978-3-030-12734-3_2.

- (29) Khalil, M. M.; Tremoleda, J. L.; Bayomy, T. B.; Gsell, W. Molecular SPECT Imaging: An Overview. *Int. J. Mol. Imaging* **2011**, *2011*, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2011/796025>.
- (30) Maublant, J.; Vuillez, J.-P.; Talbot, J.-N.; Lumbrosco, J.; Muratet, J.-P.; Herry, J.-Y.; Artus, J.-C. Tomographie Par Émission de Positons (TEP) et [F-18]-Fluorodésoxyglucose (FDG) En Cancérologie. *Bull. Cancer (Paris)* **1998**, *85* (11), 935–950.
- (31) Sanderson, M. J.; Smith, I.; Parker, I.; Bootman, M. D. Fluorescence Microscopy. *Cold Spring Harb. Protoc.* **2014**, *2014* (10), pdb.top071795. <https://doi.org/10.1101/pdb.top071795>.
- (32) Barbet, J.; Bardiès, M.; Bourgeois, M.; Chatal, J.-F.; Chérel, M.; Davodeau, F.; Faivre-Chauvet, A.; Gestin, J.-F.; Kraeber-Bodéré, F. Radiolabeled Antibodies for Cancer Imaging and Therapy. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* **2012**, *907*, 681–697. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-974-7_38.
- (33) Varghese, A. J.; Whitmore, G. F. Binding to Cellular Macromolecules as a Possible Mechanism for the Cytotoxicity of Misonidazole. *Cancer Res.* **1980**, *40* (7), 2165–2169.
- (34) Born, J. L.; Smith, B. R. The Synthesis of Tritium-Labeled Misonidazole. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1983**, *20* (3), 429–432. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2580200311>.
- (35) Smith, B. R.; Born, J. L. Metabolism and Excretion of [3H]Misonidazole by Hypoxic Rat Liver. *Int. J. Radiat. Oncol.* **1984**, *10* (8), 1365–1370. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(84\)90350-X](https://doi.org/10.1016/0360-3016(84)90350-X).
- (36) Chapman, J. D. Hypoxic Sensitizers — Implications for Radiation Therapy. *N. Engl. J. Med.* **1979**, *301* (26), 1429–1432. <https://doi.org/10.1056/NEJM197912273012606>.
- (37) Chapman, J. D.; Franko, A. J.; Sharplin, J. A Marker for Hypoxic Cells in Tumours with Potential Clinical Applicability. *Br. J. Cancer* **1981**, *43* (4), 546–550.
- (38) Chapman, J. D.; Engelhardt, E. L.; Stobbe, C. C.; Schneider, R. F.; Hanks, G. E. Measuring Hypoxia and Predicting Tumor Radioresistance with Nuclear Medicine Assays. *Radiother. Oncol.* **1998**, *46* (3), 229–237. [https://doi.org/10.1016/S0167-8140\(97\)00186-2](https://doi.org/10.1016/S0167-8140(97)00186-2).
- (39) Rasey, J. S.; Grunbaum, Z.; Magee, S.; Nelson, N. J.; Olive, P. L.; Durand, R. E.; Krohn, K. A. Characterization of Radiolabeled Fluoromisonidazole as a Probe for Hypoxic Cells. *Radiat. Res.* **1987**, *111* (2), 292. <https://doi.org/10.2307/3576986>.
- (40) Krohn, K. A.; Link, J. M.; Mason, R. P. Molecular Imaging of Hypoxia. *J. Nucl. Med.* **2008**, *49* (Suppl 2), 129S-148S. <https://doi.org/10.2967/jnumed.107.045914>.
- (41) Chapman, J. D.; Baer, K.; Lee, J. Characteristics of the Metabolism-Induced Binding of Misonidazole to Hypoxic Mammalian Cells. *Cancer Res.* **1983**, *43* (4), 1523–1528.
- (42) Franko, A. J. Misonidazole and Other Hypoxia Markers: Metabolism and Applications. *Int. J. Radiat. Oncol.* **1986**, *12* (7), 1195–1202. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(86\)90257-9](https://doi.org/10.1016/0360-3016(86)90257-9).
- (43) Franko, A. J.; Chapman, J. D. Binding of ¹⁴C-Misonidazole to Hypoxic Cells in V79 Spheroids. *Br. J. Cancer* **1982**, *45* (5), 694–699. <https://doi.org/10.1038/bjc.1982.110>.
- (44) Webb, P.; Threadgill, M. D. Labelled Compounds of Interest as Antitumour Agents. Part III (1). Synthesis of 2H and 3H Isotopomers of Etanidazole (SR 2508). *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1990**, *28* (3), 265–271. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2580280304>.

- (45) Overgaard, J.; Overgaard, M.; Timothy, A. R. Studies of the Pharmacokinetic Properties of Nimorazole. *Br. J. Cancer* **1983**, *48* (1), 27–34. <https://doi.org/10.1038/bjc.1983.153>.
- (46) Tran, L.-B.-A.; Bol, A.; Labar, D.; Cao-Pham, T.-T.; Jordan, B.; Grégoire, V.; Gallez, B. Predictive Value of ¹⁸F-FAZA PET Imaging for Guiding the Association of Radiotherapy with Nimorazole: A Preclinical Study. **2015**, *114* (2), 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2014.12.015>.
- (47) Pandeti, S.; Feketeová, L.; Reddy, T. J.; Abdoul-Carime, H.; Farizon, B.; Farizon, M.; Märk, T. D. Nitroimidazolic Radiosensitizers Investigated by Electrospray Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry and Density Functional Theory. *RSC Adv.* **2017**, *7* (71), 45211–45221. <https://doi.org/10.1039/C7RA08312B>.
- (48) Woods, W. G. An Introduction to Boron: History, Sources, Uses, and Chemistry. *Environ. Health Perspect.* **1994**, *102* (Suppl 7), 5–11.
- (49) Coderre, J. A.; Morris, G. M. The Radiation Biology of Boron Neutron Capture Therapy. *Radiat. Res.* **1999**, *151* (1), 1–18. <https://doi.org/10.2307/3579742>.
- (50) Wilbur, D. S.; Hamlin, D. K.; Livesey, J. C.; Srivastava, R. R.; Laramore, G. E.; Griffin, T. W. Synthesis and Radioiodination of a Nido-1,2-Carboranyl Derivative of 2-Nitroimidazole. *Nucl. Med. Biol.* **1994**, *21* (4), 601–611. [https://doi.org/10.1016/0969-8051\(94\)90025-6](https://doi.org/10.1016/0969-8051(94)90025-6).
- (51) Swenson, D. H.; Laster, B. H.; Metzger, R. L. Synthesis and Evaluation of a Boronated Nitroimidazole for Boron Neutron Capture Therapy. *J. Med. Chem.* **1996**, *39* (7), 1540–1544. <https://doi.org/10.1021/jm950689w>.
- (52) J. WOOD, M. SCOBIE and M. D. THREAD, P. Uptake and Retention of Nitroimidazole-Carboranes Designed for Boron Neutron Capture Therapy in Experimental Murine Tumours: ¹¹B Detection by B Magnetic Resonance Spectroscopy. *Int. J. Radiat. Biol.* **1996**, *70* (5), 587–592. <https://doi.org/10.1080/095530096144798>.
- (53) Masunaga, S.; Nagasawa, H.; Hiraoka, M.; Sakurai, Y.; Uto, Y.; Hori, H.; Nagata, K.; Suzuki, M.; Maruhashi, A.; Kinashi, Y.; et al. The Usefulness of 2-Nitroimidazole-Sodium Borocaptate-¹⁰B Conjugates as ¹⁰B-Carriers in Boron Neutron Capture Therapy. *Appl. Radiat. Isot.* **2004**, *61* (5), 953–958. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2004.05.018>.
- (54) Masunaga, S.-I.; Nagasawa, H.; Hiraoka, M.; Sakurai, Y.; Uto, Y.; Hori, H.; Nagata, K.; Suzuki, M.; Maruhashi, A.; Kinashi, Y.; et al. Applicability of the 2-Nitroimidazole-Sodium Borocaptate-¹⁰B Conjugate, TX-2060, as a ¹⁰B-Carrier in Boron Neutron Capture Therapy. *Anticancer Res.* **2004**, *24* (5A), 2975–2984.
- (55) Sun, J. D.; Liu, Q.; Ahluwalia, D.; Ferraro, D. J.; Wang, Y.; Jung, D.; Matteucci, M. D.; Hart, C. P. Comparison of Hypoxia-Activated Prodrug Evofosfamide (TH-302) and Ifosfamide in Preclinical Non-Small Cell Lung Cancer Models. *Cancer Biol. Ther.* **2016**, *17* (4), 371–380. <https://doi.org/10.1080/15384047.2016.1139268>.
- (56) Hong, C. R.; Dickson, B. D.; Jaiswal, J. K.; Pruijn, F. B.; Hunter, F. W.; Hay, M. P.; Hicks, K. O.; Wilson, W. R. Cellular Pharmacology of Evofosfamide (TH-302): A Critical Re-Evaluation of Its Bystander Effects. *Biochem. Pharmacol.* **2018**. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.08.027>.
- (57) Larue, R. T. H. M.; Van De Voorde, L.; Berbée, M.; van Elmpt, W. J. C.; Dubois, L. J.; Panth, K. M.; Peeters, S. G. J. A.; Claessens, A.; Schreurs, W. M. J.; Nap, M.; et al. A Phase 1 ‘Window-of-Opportunity’ Trial Testing Evofosfamide (TH-302), a Tumour-Selective Hypoxia-Activated Cytotoxic Prodrug, with Preoperative

- Chemoradiotherapy in Oesophageal Adenocarcinoma Patients. *BMC Cancer* **2016**, *16* (1), 644. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2709-z>.
- (58) Raleigh, J.; Miller, G.; Franko, A.; Koch, C.; Fuciarelli, A.; Kelly, D. Fluorescence Immunohistochemical Detection of Hypoxic Cells in Spheroids and Tumours. *Br. J. Cancer* **1987**, *56* (4), 395–400. <https://doi.org/10.1038/bjc.1987.213>.
- (59) Varia, M. A.; Calkins-Adams, D. P.; Rinker, L. H.; Kennedy, A. S.; Novotny, D. B.; Fowler, W. C.; Raleigh, J. A. Pimonidazole: A Novel Hypoxia Marker for Complementary Study of Tumor Hypoxia and Cell Proliferation in Cervical Carcinoma. *Gynecol. Oncol.* **1998**, *71* (2), 270–277. <https://doi.org/10.1006/gyno.1998.5163>.
- (60) Koch, C. J.; Evans, S. M.; Lord, E. M. Oxygen Dependence of Cellular Uptake of EF5 [2-(2-Nitro-1H-Imidazol-1-Yl)-N-(2,2,3,3,3-Pentafluoropropyl)acetamide] : Analysis of Drug Adducts by Fluorescent Antibodies vs Bound Radioactivity. *Br. J. Cancer* **1995**, *72* (4), 869–874.
- (61) History of Hypoxyprobe. 5.
- (62) Youssif, B. G. M.; Okuda, K.; Kadonosono, T.; Salem, O. I. A. R.; Hayallah, A. A. M.; Hussein, M. A.; Kizaka-Kondoh, S.; Nagasawa, H. Development of a Hypoxia-Selective Near-Infrared Fluorescent Probe for Non-Invasive Tumor Imaging. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2012**, *60* (3), 402–407. <https://doi.org/10.1248/cpb.60.402>.
- (63) Okuda, K.; Okabe, Y.; Kadonosono, T.; Ueno, T.; Youssif, B. G. M.; Kizaka-Kondoh, S.; Nagasawa, H. 2-Nitroimidazole-Tricarbocyanine Conjugate as a Near-Infrared Fluorescent Probe for *in Vivo* Imaging of Tumor Hypoxia. *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23* (3), 324–329. <https://doi.org/10.1021/bc2004704>.
- (64) Xu, K.; Wang, F.; Pan, X.; Liu, R.; Ma, J.; Kong, F.; Tang, B. High Selectivity Imaging of Nitroreductase Using a Near-Infrared Fluorescence Probe in Hypoxic Tumor. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (25), 2554. <https://doi.org/10.1039/c3cc38980d>.
- (65) Meng, X.; Zhang, J.; Sun, Z.; Zhou, L.; Deng, G.; Li, S.; Li, W.; Gong, P.; Cai, L. Hypoxia-Triggered Single Molecule Probe for High-Contrast NIR II/PA Tumor Imaging and Robust Photothermal Therapy. **2018**, *8* (21), 6025–6034. <https://doi.org/10.7150/thno.26607>.
- (66) Ballinger, J. R.; Kee, J. W. M.; Rauth, A. M. In Vitro and In Vivo Evaluation of a Technetium-99m-Labeled 2-Nitroimidazole (BMS181321) as a Marker of Tumor Hypoxia. **1996**, *37* (6), 1023–1031.
- (67) Ng Chin K.; Sinusas Albert J.; Zaret Barry L.; Soufer Robert. Kinetic Analysis of Technetium-99m-Labeled Nitroimidazole (BMS-181321) as a Tracer of Myocardial Hypoxia. **1995**, *92* (5), 1261–1268. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.92.5.1261>.
- (68) Melo, T.; Duncan, J.; Ballinger, J. R.; Rauth, A. M. BRU59-21, a Second-Generation 99mTc-Labeled 2-Nitroimidazole for Imaging Hypoxia in Tumors. *J. Nucl. Med.* **2000**, *41* (1), 169–176.
- (69) Cook, G. J. R.; Houston, S.; Barrington, S. F.; Fogelman, I.; Cook, G. J. R.; Houston, S.; Barrington, S. F.; Fogelman, I. *Technetium-99m-Labeled HL91 to Identify Tumor Hypoxia: Correlation with Fluorine-18-FDG*.
- (70) Li, L.; Yu, J.; Xing, L.; Ma, K.; Zhu, H.; Guo, H.; Sun, X.; Li, J.; Yang, G.; Li, W.; et al. Serial Hypoxia Imaging With 99mTc-HL91 SPECT to Predict Radiotherapy Response in Nonsmall Cell Lung Cancer: *Am. J. Clin. Oncol.* **2006**, *29* (6), 628–633. <https://doi.org/10.1097/01.coc.0000242345.71582.e0>.

- (71) Okada Robert D.; Johnson Gerald; Nguyen Kiem N.; Edwards Barbara; Archer Colin M.; Kelly James D. 99mTc-HL91. *Circulation* **1997**, *95* (7), 1892–1899. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.95.7.1892>.
- (72) Reischl, G.; Dorow, D. S.; Katsifis, A.; Roselt, P.; Binns, D.; Hicks, R. J. Imaging of Tumor Hypoxia with [124I]IAZA in Comparison with [18F]FMISO and [18F]FAZA – First Small Animal PET Results. **2007**, *9*.
- (73) Suehiro, M.; Burgman, P.; Carlin, S.; Burke, S.; Yang, G.; Ouerfelli, O.; Oehler-Janne, C.; O'Donoghue, J.; Ling, C.; Humm, J. Radiosynthesis of [131I]IAZGP via Nucleophilic Substitution and Its Biological Evaluation as a Hypoxia Marker — Is Specific Activity a Factor Influencing Hypoxia-Mapping Ability of a Hypoxia Marker? *Nucl. Med. Biol.* **2009**, *36* (5), 477–487. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2009.03.002>.
- (74) O'Donoghue, J. A.; Guillem, J. G.; Schöder, H.; Lee, N. Y.; Divgi, C. R.; Ruby, J. A.; Humm, J. L.; Lee-Kong, S. A.; Burnazi, E. M.; Cai, S.; et al. Pilot Study of PET Imaging of 124I-Iodoazomyacin Galactopyranoside (IAZGP), a Putative Hypoxia Imaging Agent, in Patients with Colorectal Cancer and Head and Neck Cancer. *EJNMMI Res.* **2013**, *3*, 42. <https://doi.org/10.1186/2191-219X-3-42>.
- (75) Hoigebazar, L.; Jeong, J. M.; Hong, M. K.; Kim, Y. J.; Lee, J. Y.; Shetty, D.; Lee, Y.-S.; Lee, D. S.; Chung, J.-K.; Lee, M. C. Synthesis of 68Ga-Labeled DOTA-Nitroimidazole Derivatives and Their Feasibilities as Hypoxia Imaging PET Tracers. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19* (7), 2176–2181. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.02.041>.
- (76) Hoigebazar, L.; Jeong, J. M.; Lee, J.-Y.; Shetty, D.; Yang, B. Y.; Lee, Y.-S.; Lee, D. S.; Chung, J.-K.; Lee, M. C. Syntheses of 2-Nitroimidazole Derivatives Conjugated with 1,4,7-Triazacyclononane- *N*, *N*'-Diacetic Acid Labeled with F-18 Using an Aluminum Complex Method for Hypoxia Imaging. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (7), 3155–3162. <https://doi.org/10.1021/jm201611a>.
- (77) Hoigebazar, L.; Jeong, J. M.; Choi, S. Y.; Choi, J. Y.; Shetty, D.; Lee, Y.-S.; Lee, D. S.; Chung, J.-K.; Lee, M. C.; Chung, Y. K. Synthesis and Characterization of Nitroimidazole Derivatives for ⁶⁸Ga-Labeling and Testing in Tumor Xenografted Mice. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (17), 6378–6385. <https://doi.org/10.1021/jm100545a>.
- (78) Shetty, D.; Jeong, J.-M.; Shim, H. Stroma Targeting Nuclear Imaging and Radiopharmaceuticals. *Int. J. Mol. Imaging* **2012**. <https://doi.org/10.1155/2012/817682>.
- (79) Yamamoto, F.; Oka, H.; Antoku, S.; Ichiya, Y.; Masuda, K.; Maeda, M. Synthesis and Characterization of Lipophilic 1-(18F)Fluoroalkyl-2-Nitroimidazoles for Imaging Hypoxia. *Biol. Pharm. Bull.* **1999**, *22* (6), 590–597. <https://doi.org/10.1248/bpb.22.590>.
- (80) Challapalli, A.; Carroll, L.; Aboagye, E. O. Molecular Mechanisms of Hypoxia in Cancer. *Clin. Transl. Imaging* **2017**, *5* (3), 225–253. <https://doi.org/10.1007/s40336-017-0231-1>.
- (81) Cherk, M. H.; Foo, S. S.; Poon, A. M. T.; Knight, S. R.; Murone, C.; Papenfuss, A. T.; Sachinidis, J. I.; Saunder, T. H. C.; O'Keefe, G. J.; Scott, A. M. Lack of Correlation of Hypoxic Cell Fraction and Angiogenesis with Glucose Metabolic Rate in Non-Small Cell Lung Cancer Assessed by 18F-Fluoromisonidazole and 18F-FDG PET. *J. Nucl. Med.* **2006**, *47* (12), 1921–1926.
- (82) Gagel, B.; Reinartz, P.; Demirel, C.; Kaiser, H. J.; Zimny, M.; Piroth, M.; Pinkawa, M.; Stanzel, S.; Asadpour, B.; Hamacher, K.; et al. [18F] Fluoromisonidazole and [18F] Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography in Response Evaluation after

- Chemo-/Radiotherapy of Non-Small-Cell Lung Cancer: A Feasibility Study. *BMC Cancer* **2006**, *6* (1), 51. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-6-51>.
- (83) Bruehlmeier, M.; Roelcke, U.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M. Assessment of Hypoxia and Perfusion in Human Brain Tumors Using PET with 18F-Fluoromisonidazole and 15O-H₂O. **2004**, *10*.
- (84) Swanson, K. R.; Chakraborty, G.; Wang, C. H.; Rockne, R.; Harpold, H. L. P.; Muzi, M.; Adamsen, T. C. H.; Krohn, K. A.; Spence, A. M. Complementary but Distinct Roles for MRI and 18F-Fluoromisonidazole PET in the Assessment of Human Glioblastomas. *J. Nucl. Med.* **2009**, *50* (1), 36–44. <https://doi.org/10.2967/jnumed.108.055467>.
- (85) Gerstner, E. R.; Zhang, Z.; Fink, J. R.; Muzi, M.; Hanna, L.; Greco, E.; Prah, M.; Schmainda, K. M.; Mintz, A.; Kostakoglu, L.; et al. ACRIN 6684: Assessment of Tumor Hypoxia in Newly Diagnosed Glioblastoma Using 18F-FMISO PET and MRI. *Clin. Cancer Res.* **2016**, *22* (20), 5079–5086. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2529>.
- (86) Bekaert, L.; Valable, S.; Lechapt-Zalcman, E.; Ponte, K.; Collet, S.; Constans, J.-M.; Levallet, G.; Bordji, K.; Petit, E.; Branger, P.; et al. [18F]-FMISO PET Study of Hypoxia in Gliomas before Surgery: Correlation with Molecular Markers of Hypoxia and Angiogenesis. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2017**, *44* (8), 1383–1392. <https://doi.org/10.1007/s00259-017-3677-5>.
- (87) Toyonaga, T.; Yamaguchi, S.; Hirata, K.; Kobayashi, K.; Manabe, O.; Watanabe, S.; Terasaka, S.; Kobayashi, H.; Hattori, N.; Shiga, T.; et al. Hypoxic Glucose Metabolism in Glioblastoma as a Potential Prognostic Factor. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2017**, *44* (4), 611–619. <https://doi.org/10.1007/s00259-016-3541-z>.
- (88) Chakhoyan, A.; Guillamo, J.-S.; Collet, S.; Kauffmann, F.; Delcroix, N.; Lechapt-Zalcman, E.; Constans, J.-M.; Petit, E.; MacKenzie, E. T.; Barré, L.; et al. FMISO-PET-Derived Brain Oxygen Tension Maps: Application to Glioblastoma and Less Aggressive Gliomas. *Sci. Rep.* **2017**, *7* (1), 10210. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08646-y>.
- (89) Preibisch, C.; Shi, K.; Kluge, A.; Lukas, M.; Wiestler, B.; Göttler, J.; Gempt, J.; Ringel, F.; Jaber, M. A.; Schlegel, J.; et al. Characterizing Hypoxia in Human Glioma: A Simultaneous Multimodal MRI and PET Study. *NMR Biomed.* **2017**, *30* (11), e3775. <https://doi.org/10.1002/nbm.3775>.
- (90) Gagel, B.; Reinartz, P.; DiMartino, E.; Zimny, M.; Pinkawa, M.; Maneschi, P.; Stanzel, S.; Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Westhofen, M.; et al. PO₂ Polarography Versus Positron Emission Tomography ([18F] Fluoromisonidazole, [18F]-2-Fluoro-2'-Deoxyglucose): An Appraisal of Radiotherapeutically Relevant Hypoxia. *Strahlenther. Onkol.* **2004**, *180* (10), 616–622. <https://doi.org/10.1007/s00066-004-1229-y>.
- (91) Rajendran, J. G.; Schwartz, D. L.; O'Sullivan, J.; Peterson, L. M.; Ng, P.; Scharnhorst, J.; Grierson, J. R.; Krohn, K. A. Tumor Hypoxia Imaging with [F-18] Fluoromisonidazole Positron Emission Tomography in Head and Neck Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12* (18), 5435–5441. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-1773>.
- (92) Thorwarth, D.; Eschmann, S.-M.; Holzner, F.; Paulsen, F.; Alber, M. Combined Uptake of [18F]FDG and [18F]FMISO Correlates with Radiation Therapy Outcome in Head-and-Neck Cancer Patients. *Radiother. Oncol.* **2006**, *80* (2), 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2006.07.033>.
- (93) Zimny, M.; Gagel, B.; DiMartino, E.; Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Westhofen, M.; Eble, M.; Buell, U.; Reinartz, P. FDG—a Marker of Tumour Hypoxia? A Comparison

- with [18F]Fluoromisonidazole and PO2-Polarography in Metastatic Head and Neck Cancer. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2006**, *33* (12), 1426–1431. <https://doi.org/10.1007/s00259-006-0175-6>.
- (94) Grkovski, M.; Schöder, H.; Lee, N. Y.; Carlin, S. D.; Beattie, B. J.; Riaz, N.; Leeman, J. E.; O'Donoghue, J. A.; Humm, J. L. Multiparametric Imaging of Tumor Hypoxia and Perfusion with 18F-Fluoromisonidazole Dynamic PET in Head and Neck Cancer. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2017**, *58* (7), 1072–1080. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.188649>.
- (95) Savi, A.; Incerti, E.; Fallanca, F.; Bettinardi, V.; Rossetti, F.; Monterisi, C.; Compierchio, A.; Negri, G.; Zannini, P.; Gianolli, L.; et al. First Evaluation of PET-Based Human Biodistribution and Dosimetry of ¹⁸F-FAZA, a Tracer for Imaging Tumor Hypoxia. *J. Nucl. Med.* **2017**, *58* (8), 1224–1229. <https://doi.org/10.2967/jnumed.113.122671>.
- (96) Postema, E. J.; McEwan, A. J. B.; Riauka, T. A.; Kumar, P.; Richmond, D. A.; Abrams, D. N.; Wiebe, L. I. Initial Results of Hypoxia Imaging Using 1-Alpha-D: -(5-Deoxy-5-[18F]-Fluoroarabinofuranosyl)-2-Nitroimidazole (18F-FAZA). *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2009**, *36* (10), 1565–1573. <https://doi.org/10.1007/s00259-009-1154-5>.
- (97) Incerti, E.; Mapelli, P.; Vuozzo, M.; Fallanca, F.; Monterisi, C.; Bettinardi, V.; Moresco, R. M.; Gianolli, L.; Picchio, M. Clinical PET Imaging of Tumour Hypoxia in Lung Cancer. *Clin. Transl. Imaging* **2017**, *5* (5), 427–445. <https://doi.org/10.1007/s40336-017-0243-x>.
- (98) Mortensen, L. S.; Johansen, J.; Kallehauge, J.; Primdahl, H.; Busk, M.; Lassen, P.; Alsner, J.; Sørensen, B. S.; Toustrup, K.; Jakobsen, S.; et al. FAZA PET/CT Hypoxia Imaging in Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck Treated with Radiotherapy: Results from the DAHANCA 24 Trial. *Radiother. Oncol. J. Eur. Soc. Ther. Radiol. Oncol.* **2012**, *105* (1), 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2012.09.015>.
- (99) Hu, M.; Xing, L.; Mu, D.; Yang, W.; Yang, G.; Kong, L.; Yu, J. Hypoxia Imaging with 18F-Fluoroerythronitroimidazole Integrated PET/CT and Immunohistochemical Studies in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin. Nucl. Med.* **2013**, *38* (8), 591–596. <https://doi.org/10.1097/RLU.0b013e318279fd3d>.
- (100) Li, L.; Hu, M.; Zhu, H.; Zhao, W.; Yang, G.; Yu, J. Comparison of 18F-Fluoroerythronitroimidazole and 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography and Prognostic Value in Locally Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin. Lung Cancer* **2010**, *11* (5), 335–340. <https://doi.org/10.3816/CLC.2010.n.042>.
- (101) Lehtiö, K.; Oikonen, V.; Grönroos, T.; Eskola, O.; Kalliokoski, K.; Bergman, J.; Solin, O.; Grénman, R.; Nuutila, P.; Minn, H. Imaging of Blood Flow and Hypoxia in Head and Neck Cancer: Initial Evaluation with [(15)O]H(2)O and [(18)F]Fluoroerythronitroimidazole PET. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2001**, *42* (11), 1643–1652.
- (102) Lehtiö, K.; Eskola, O.; Viljanen, T.; Oikonen, V.; Grönroos, T.; Sillanmäki, L.; Grénman, R.; Minn, H. Imaging Perfusion and Hypoxia with PET to Predict Radiotherapy Response in Head-and-Neck Cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **2004**, *59* (4), 971–982. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2003.12.014>.
- (103) Grönroos, T. J.; Lehtiö, K.; Söderström, K.-O.; Kronqvist, P.; Laine, J.; Eskola, O.; Viljanen, T.; Grénman, R.; Solin, O.; Minn, H. Hypoxia, Blood Flow and Metabolism in Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck: Correlations between Multiple

- Immunohistochemical Parameters and PET. *BMC Cancer* **2014**, *14*, 876. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-876>.
- (104) Zegers, C. M. L.; van Elmpt, W.; Wierds, R.; Reymen, B.; Sharifi, H.; Öllers, M. C.; Hoebbers, F.; Troost, E. G. C.; Wanders, R.; van Baardwijk, A.; et al. Hypoxia Imaging with [¹⁸F]HX4 PET in NSCLC Patients: Defining Optimal Imaging Parameters. *Radiother. Oncol. J. Eur. Soc. Ther. Radiol. Oncol.* **2013**, *109* (1), 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2013.08.031>.
- (105) Chen, L.; Zhang, Z.; Kolb, H. C.; Walsh, J. C.; Zhang, J.; Guan, Y. 18F-HX4 Hypoxia Imaging with PET/CT in Head and Neck Cancer: A Comparison with 18F-FMISO. *Nucl. Med. Commun.* **2012**, *33* (10), 1096–1102. <https://doi.org/10.1097/MNM.0b013e3283571016>.
- (106) Kaneta, T.; Takai, Y.; Iwata, R.; Hakamatsuka, T.; Yasuda, H.; Nakayama, K.; Ishikawa, Y.; Watanuki, S.; Furumoto, S.; Funaki, Y.; et al. Initial Evaluation of Dynamic Human Imaging Using 18F-FRP170 as a New PET Tracer for Imaging Hypoxia. *Ann. Nucl. Med.* **2007**, *21* (2), 101–107. <https://doi.org/10.1007/BF03033987>.
- (107) Shibahara, I.; Kumabe, T.; Kanamori, M.; Saito, R.; Sonoda, Y.; Watanabe, M.; Iwata, R.; Higano, S.; Takanami, K.; Takai, Y.; et al. Imaging of Hypoxic Lesions in Patients with Gliomas by Using Positron Emission Tomography with 1-(2-[¹⁸F] Fluoro-1-[Hydroxymethyl]Ethoxy)Methyl-2-Nitroimidazole, a New 18F-Labeled 2-Nitroimidazole Analog. *J. Neurosurg.* **2010**, *113* (2), 358–368. <https://doi.org/10.3171/2009.10.JNS09510>.
- (108) Beppu, T.; Terasaki, K.; Sasaki, T.; Fujiwara, S.; Matsuura, H.; Ogasawara, K.; Sera, K.; Yamada, N.; Uesugi, N.; Sugai, T.; et al. Standardized Uptake Value in High Uptake Area on Positron Emission Tomography with 18F-FRP170 as a Hypoxic Cell Tracer Correlates with Intratumoral Oxygen Pressure in Glioblastoma. *Mol. Imaging Biol.* **2014**, *16* (1), 127–135. <https://doi.org/10.1007/s11307-013-0670-7>.
- (109) Sorger, D.; Patt, M.; Kumar, P.; Wiebe, L. I.; Barthel, H.; Seese, A.; Dannenberg, C.; Tannapfel, A.; Osama Sabri, R. K. [¹⁸F]Fluoroazomycin arabinofuranoside (18FAZA) and [¹⁸F]Fluoromisonidazole (18FMISO): A Comparative Study of Their Selective Uptake in Hypoxic Cells and PET Imaging in Experimental Rat Tumors. *Nucl. Med. Biol.* **2003**, *30* (3), 317–326. [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(02\)00442-0](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(02)00442-0).
- (110) Lin, L. L.; Silvonemi, A.; Stubbs, J. B.; Rengan, R.; Suilamo, S.; Solin, O.; Divgi, C.; Eskola, O.; Sorger, J. M.; Stabin, M. G.; et al. Radiation Dosimetry and Biodistribution of the Hypoxia Tracer ¹⁸F-EF5 in Oncologic Patients. *Cancer Biother. Radiopharm.* **2012**, *27* (7), 412–419. <https://doi.org/10.1089/cbr.2011.1130>.
- (111) Piert, M.; Machulla, H.-J.; Picchio, M.; Reischl, G.; Ziegler, S.; Kumar, P.; Wester, H.-J.; Beck, R.; McEwan, A. J. B.; Wiebe, L. I.; et al. Hypoxia-Specific Tumor Imaging with 18F-Fluoroazomycin Arabinoside. *J. Nucl. Med.* **2005**, *46* (1), 106–113.
- (112) Peeters, S. G. J. A.; Zegers, C. M. L.; Lieuwes, N. G.; van Elmpt, W.; Eriksson, J.; van Dongen, G. A. M. S.; Dubois, L.; Lambin, P. A Comparative Study of the Hypoxia PET Tracers [¹⁸F]HX4, [¹⁸F]FAZA, and [¹⁸F]FMISO in a Preclinical Tumor Model. **2015**, *91* (2), 351–359. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2014.09.045>.
- (113) Wack, L. J.; Mönnich, D.; Elmpt, W. van; Zegers, C. M. L.; Troost, E. G. C.; Zips, D.; Thorwarth, D. Comparison of [¹⁸F]-FMISO, [¹⁸F]-FAZA and [¹⁸F]-HX4 for PET Imaging of Hypoxia – a Simulation Study. *Acta Oncol.* **2015**, *54* (9), 1370–1377. <https://doi.org/10.3109/0284186X.2015.1067721>.

- (114) Fujibayashi, Y.; Taniuchi, H.; Yonekura, Y.; Ohtani, H.; Konishi, J.; Yokoyama, A. Copper-62-ATSM: A New Hypoxia Imaging Agent with High Membrane Permeability and Low Redox Potential. *J. Nucl. Med.* **1997**, *38* (7), 1155–1160.
- (115) Vavere, A. L. Cu-ATSM: A Radiopharmaceutical for the PET Imaging of Hypoxia - Dalton Transactions (RSC Publishing). **2007**, No. 43, 4893–4902. <https://doi.org/10.1039/b705989b>.
- (116) Wood, K. A.; Wong, W. L.; Saunders, M. I. [64Cu]Diacetyl-Bis(N4-Methyl-Thiosemicarbazone) — a Radiotracer for Tumor Hypoxia. **2008**, *35* (4), 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2008.02.002>.
- (117) Dearling, J. L. J.; Blower, P. J. Redox-Active Metal Complexes for Imaging Hypoxic Tissues: Structure–Activity Relationships in Copper(II) Bis(Thiosemicarbazone) Complexes. **1998**, No. 22, 2531–2532. <https://doi.org/10.1039/a805957h>.
- (118) Bourgeois, M.; Rajerison, H.; Guerard, F.; Mouglin-Degraef, M.; Barbet, J.; Michel, N.; Cherel, M.; Faivre-Chauvet, A. Contribution of [64Cu]-ATSM PET in Molecular Imaging of Tumour Hypoxia Compared to Classical [18F]-MISO — a Selected Review. *Nucl. Med. Rev.* **2011**, *14* (2), 90–95.
- (119) IWASAKI, K.; YABUSHITA, H.; UENO, T.; WAKATSUKI, A. Role of Hypoxia-Inducible Factor-1 α , Carbonic Anhydrase-IX, Glucose Transporter-1 and Vascular Endothelial Growth Factor Associated with Lymph Node Metastasis and Recurrence in Patients with Locally Advanced Cervical Cancer. **2015**, *10* (4), 1970–1978. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3524>.
- (120) Chen, K.-T.; Nguyen, K.; Ieritano, C.; Gao, F.; Seimbille, Y. A Flexible Synthesis of 68Ga-Labeled Carbonic Anhydrase IX (CAIX)-Targeted Molecules via CBT/1,2-Aminothiols Click Reaction. *Molecules* **2018**, *24* (1). <https://doi.org/10.3390/molecules24010023>.
- (121) Alauddin, M. M. Positron Emission Tomography (PET) Imaging with 18F-Based Radiotracers. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2011**, *2* (1), 55–76.
- (122) Ermert, J. 18F-Labelled Intermediates for Radiosynthesis by Modular Build-Up Reactions: Newer Developments. **2014**, *2014*, e812973. <https://doi.org/10.1155/2014/812973>.
- (123) Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G. Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2-[18F]-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **1986**, *27* (2), 235–238.
- (124) Martin, S. J.; Eisenbarth, J. A.; Wagner-Utermann, U.; Mier, W.; Henze, M.; Pritzkow, H.; Haberkorn, U.; Eisenhut, M. A New Precursor for the Radiosynthesis of [18F]FLT. *Nucl. Med. Biol.* **2002**, *29* (2), 263–273. [https://doi.org/10.1016/s0969-8051\(01\)00289-x](https://doi.org/10.1016/s0969-8051(01)00289-x).
- (125) Kämäräinen, E.-L.; Kyllönen, T.; Nihtilä, O.; Björk, H.; Solin, O. Preparation of Fluorine-18-Labelled Fluoromisonidazole Using Two Different Synthesis Methods. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2004**, *47* (1), 37–45. <https://doi.org/10.1002/jlcr.795>.
- (126) DeGrado, T. R.; Coleman, R. E.; Wang, S.; Baldwin, S. W.; Orr, M. D.; Robertson, C. N.; Polascik, T. J.; Price, D. T. Synthesis and Evaluation of 18F-Labeled Choline as an Oncologic Tracer for Positron Emission Tomography: Initial Findings in Prostate Cancer. *Cancer Res.* **2001**, *61* (1), 110–117.

- (127) DeGrado, T. R.; Baldwin, S. W.; Wang, S.; Orr, M. D.; Liao, R. P.; Friedman, H. S.; Reiman, R.; Price, D. T.; Coleman, R. E. Synthesis and Evaluation of ¹⁸F-Labeled Choline Analogs as Oncologic PET Tracers. *J. Nucl. Med.* **2001**, *42* (12), 1805–1814.
- (128) Preshlock, S.; Calderwood, S.; Verhoog, S.; Tredwell, M.; Huiban, M.; Hienzsch, A.; Gruber, S.; Wilson, T. C.; Taylor, N. J.; Cailly, T.; et al. Enhanced Copper-Mediated ¹⁸F-Fluorination of Aryl Boronic Esters Provides Eight Radiotracers for PET Applications. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (54), 8361–8364. <https://doi.org/10.1039/C6CC03295H>.
- (129) Mossine, A. V.; Brooks, A. F.; Makaravage, K. J.; Miller, J. M.; Ichiishi, N.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Synthesis of [¹⁸F]Arenes via the Copper-Mediated [¹⁸F]Fluorination of Boronic Acids. *Org. Lett.* **2015**, *17* (23), 5780–5783. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b02875>.
- (130) Kamlet, A. S.; Neumann, C. N.; Lee, E.; Carlin, S. M.; Moseley, C. K.; Stephenson, N.; Hooker, J. M.; Ritter, T. Application of Palladium-Mediated ¹⁸F-Fluorination to PET Radiotracer Development: Overcoming Hurdles to Translation. **2013**, *8* (3), e59187. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059187>.
- (131) Lee, E.; Kamlet, A. S.; Powers, D. C.; Neumann, C. N.; Boursalian, G. B.; Furuya, T.; Choi, D. C.; Hooker, J. M.; Ritter, T. A Fluoride-Derived Electrophilic Late-Stage Fluorination Reagent for PET Imaging. **2011**, *334* (6056), 639–642. <https://doi.org/10.1126/science.1212625>.
- (132) McCarthy, T. J.; Dence, C. S.; Welch, M. J. Application of Microwave Heating to the Synthesis of [¹⁸F]Fluoromisonidazole. *Appl. Radiat. Isot.* **1993**, *44* (8), 1129–1132. [https://doi.org/10.1016/0969-8043\(93\)90118-T](https://doi.org/10.1016/0969-8043(93)90118-T).
- (133) Tada, M.; Iwata, R.; Sugiyama, H.; Sato, K.; Kubota, K.; Kubota, R.; Takahashi, H.; Fukuda, H.; Ido, T. A Concise One-Pot Synthesis of [¹⁸F]Fluoromisonidazole from (2R)-(-)-Glycidyl Tosylate. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1996**, *38* (8), 771–774. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1344\(199608\)38:8<771::AID-JLCR893>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1344(199608)38:8<771::AID-JLCR893>3.0.CO;2-A).
- (134) Grierson, J. R.; Link, J. M.; Mathis, C. A.; Rasey, J. S.; Krohn, K. A. A Radiosynthesis of Fluorine-18 Fluoromisonidazole. *J. Nucl. Med.* **1989**, *30* (3), 343–350.
- (135) Oh, S. J.; Chi, D. Y.; Mosdzianowski, C.; Kim, J. Y.; Gil, H. S.; Kang, S. H.; Ryu, J. S.; Moon, D. H. Fully Automated Synthesis of [¹⁸F]Fluoromisonidazole Using a Conventional [¹⁸F]FDG Module. *Nucl. Med. Biol.* **2005**, *32* (8), 899–905. <https://doi.org/10.1016/j.nuclmedbio.2005.06.003>.
- (136) Nieto, E.; Alajarín, R.; Álvarez-Builla, J.; Larrañaga, I.; Gorospe, E.; Pozo, M. A New and Improved Synthesis of the Precursor of the Hypoxia Marker [¹⁸F]-FMISO. *Synthesis* **2010**, *2010* (21), 3700–3704. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1258269>.
- (137) Kumar, P.; Stypinski, D.; Xia, H.; McEwan, A. J. B.; Machulla, H.-J.; Wiebe, L. I. Fluoroazomycin Arabinoside (FAZA): Synthesis, 2H and 3H-Labeling and Preliminary Biological Evaluation of a Novel 2-Nitroimidazole Marker of Tissue Hypoxia. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1999**, *42* (1), 3–16. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1344\(199901\)42:1<3::AID-JLCR160>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1344(199901)42:1<3::AID-JLCR160>3.0.CO;2-H).
- (138) Kumar, P.; Wiebe, L. I.; Asikoglu, M.; Tandon, M.; McEwan, A. J. B. Microwave-Assisted (Radio)Halogenation of Nitroimidazole-Based Hypoxia Markers. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, *57* (5), 697–703. [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(02\)00185-9](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(02)00185-9).

- (139) Kumar, P.; Wiebe, L. I.; Atrazheva, E.; Tandon, M. An Improved Synthesis of α -AZA, α -AZP and α -AZG, the Precursors to Clinical Markers of Tissue Hypoxia. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (11), 2077–2078. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)00099-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)00099-5).
- (140) Turton, D. R.; Betts, H. M.; Dutton, D.; Perkins, A. C. Automated Radiosynthesis of GMP Quality [¹⁸F]HX4 for PET Imaging of Hypoxia. *Nucl. Med. Biol.* **2015**, *42* (5), 494–498. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2014.12.015>.
- (141) Kolb, H.; Walsh, J. C. CA2683433C - Nitro-Imidazole Hypoxia Imaging Agents. WO 2008/124651 A3.
- (142) Gronroos, T.; Eskola, O.; Lehtio, K.; Minn, H.; Marjamaki, P.; Bergman, J.; Haaparanta, M.; Forsback, S.; Solin, O. Pharmacokinetics of [¹⁸F]FETNIM: A Potential Hypoxia Marker for PET. 9.
- (143) Yasui, H.; Zhao, S.; Higashikawa, K.; Ukon, N.; Shimizu, Y.; Matsumoto, H.; Tamaki, N.; Kuge, Y. Preclinical Evaluation of [¹⁸F]DiFA, a Novel PET Probe for Tumor Hypoxia, in Comparison with [¹⁸F]MISO. *J. Nucl. Med.* **2017**, *58* (supplement 1), 1027–1027.
- (144) Carlin, S.; Zhang, H.; Reese, M.; Ramos, N. N.; Chen, Q.; Ricketts, S.-A. A Comparison of the Imaging Characteristics and Microregional Distribution of 4 Hypoxia PET Tracers. **2014**, *55* (3), 515–521. <https://doi.org/10.2967/jnumed.113.126615>.
- (145) Apte, S.; Graves, F. T. C. and E. E. Molecular Imaging of Hypoxia: Strategies for Probe Design and Application. *Curr. Org. Synth.* **2011**.
- (146) Watanabe, S.; Okamoto, S.; Hirata, K.; Shiga, T.; Toyonaga, T.; Kobayashi, K.; Manabe, O.; Uchiyama, Y.; Katahata, J.; Munakata, Y.; et al. First-in-Human Study of [¹⁸F] DiFA, an Improved PET Probe for Tumor Hypoxia, in Six Healthy Volunteers. *J. Nucl. Med.* **2017**, *58* (supplement 1), 839–839.
- (147) Massarotti, A.; Aprile, S.; Mercalli, V.; Del Grosso, E.; Grosa, G.; Sorba, G.; Tron, G. C. Are 1,4- and 1,5-Disubstituted 1,2,3-Triazoles Good Pharmacophoric Groups? *ChemMedChem* **2014**, *9* (11), 2497–2508. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201402233>.
- (148) Agalave, S. G.; Maujan, S. R.; Pore, V. S. Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores. *Chem. – Asian J.* **2011**, *6* (10), 2696–2718. <https://doi.org/10.1002/asia.201100432>.
- (149) Bozorov, K.; Zhao, J.; Aisa, H. A. 1,2,3-Triazole-Containing Hybrids as Leads in Medicinal Chemistry: A Recent Overview. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27* (16), 3511–3531. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.07.005>.
- (150) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew Chem Int Ed* **2001**, *18*.
- (151) Gil, Mt. V.; Arévalo, M. J.; López, Ó. Click Chemistry – What’s in a Name? Triazole Synthesis and Beyond. *N. Y.* **2007**, No. 11, 32.
- (152) Kim, D. W. Bioorthogonal Click Chemistry for Fluorine-18 Labeling Protocols under Physiologically Friendly Reaction Condition. *J. Fluor. Chem.* **2015**, *174*, 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2014.11.009>.
- (153) Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2* (10), 565–598. <https://doi.org/10.1002/anie.196305651>.
- (154) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41* (14), 2596–2599. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4).

- (155) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (9), 3057–3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>.
- (156) Fazio, F.; Bryan, M. C.; Blixt, O.; Paulson, J. C.; Wong, C.-H. Synthesis of Sugar Arrays in Microtiter Plate. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (48), 14397–14402. <https://doi.org/10.1021/ja020887u>.
- (157) Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science* **2013**, *340* (6131), 457–460. <https://doi.org/10.1126/science.1229506>.
- (158) Zavod, R. M.; Knittel, J. J. ANSWERS TO CASE STUDIES Chapter 2 : Drug Design and Relationship of Functional Groups to Pharmacologic Activity; 2002.
- (159) Smith, D. A.; Britain, R. S. of C. (Great. *Metabolism, Pharmacokinetics, and Toxicity of Functional Groups: Impact of the Building Blocks of Medicinal Chemistry in ADMET*; Royal Society of Chemistry, 2010.
- (160) Jeffries, B.; Wang, Z.; Graton, J.; Holland, S. D.; Brind, T.; Greenwood, R. D. R.; Le Questel, J.-Y.; Scott, J. S.; Chiarparin, E.; Linclau, B. Reducing the Lipophilicity of Perfluoroalkyl Groups by CF₂-F/CF₂-Me or CF₃/CH₃ Exchange. *J. Med. Chem.* **2018**. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01222>.
- (161) Drug Design: Structure — Activity Relationships. *PharmaFactz*, 2014.
- (162) Kalir, A.; Kalir, H. H. Biological Activity of Sulfonic Acid Derivatives <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0470034394.ch18> (accessed Jul 12, 2019). <https://doi.org/10.1002/0470034394.ch18>.
- (163) Chung, M. C.; Malatesta, P. B.; Bosquesi, P. L.; Yamasaki, P. R.; Santos, J. L. D.; Vizioli, E. de O. Advances in Drug Design Based on the Amino Acid Approach: Taurine Analogues for the Treatment of CNS Diseases. In *Pharmaceuticals*; 2012. <https://doi.org/10.3390/ph5101128>.
- (164) Madura, J. D.; Lombardini, J. B.; Briggs, J. M.; Minor, D. L.; Wierzbicki, A. Physical and Structural Properties of Taurine and Taurine Analogues. *Amino Acids* **1997**, *13* (2), 131–139. <https://doi.org/10.1007/BF01373211>.
- (165) Pauff, S. M.; Miller, S. C. A Trifluoroacetic Acid-Labile Sulfonate Protecting Group and Its Use in the Synthesis of a Near-IR Fluorophore. *J. Org. Chem.* **2013**, *78* (2), 711–716. <https://doi.org/10.1021/jo302065u>.
- (166) Wu, D.; O’Shea, D. F. Synthesis and Properties of BF₂-3,3’-Dimethyldiarylazadipyrromethene Near-Infrared Fluorophores. *Org. Lett.* **2013**, *15* (13), 3392–3395. <https://doi.org/10.1021/ol401434c>.
- (167) Mizrahi, D. M.; Ziv-Polat, O.; Perlstein, B.; Gluz, E.; Margel, S. Synthesis, Fluorescence and Biodistribution of a Bone-Targeted near-Infrared Conjugate. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (10), 5175–5183. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.08.040>.
- (168) Harnying, W.; Enders, D. Asymmetric Synthesis of Sultones and Sulfonic Acid Derivatives; 2004.
- (169) Erdmann, H. Die Constitution Der Isomeren Naphtalinderivate. I. Die α - α -Disubstituirten Verbindungen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1888**, *247* (3), 306–366. <https://doi.org/10.1002/jlac.18882470305>.
- (170) Paape, N.; Wei, W.; Bösmann, A.; Kolbeck, C.; Maier, F.; Steinrück, H.-P.; Wasserscheid, P.; Steffen Schulz, P. Chloroalkylsulfonate Ionic Liquids by Ring

- Opening of Sultones with Organic Chloride Salts. *Chem. Commun.* **2008**, 0 (33), 3867–3869. <https://doi.org/10.1039/B805444D>.
- (171) Kohno, Y.; Makino, T.; Kanakubo, M. Control of Phase Separation Behaviour of Ionic Liquid Catalysts with Reactants/Products toward Synthesis of Long-Chain Wax Esters at Moderate Temperatures. *React. Chem. Eng.* **2019**, 4 (3), 627–633. <https://doi.org/10.1039/C8RE00253C>.
- (172) Amarasekara, A. S. Acidic Ionic Liquids. *Chem. Rev.* **2016**, 116 (10), 6133–6183. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00763>.
- (173) Niedermaier, I.; Kolbeck, C.; Taccardi, N.; Schulz, P. S.; Li, J.; Drewello, T.; Wasserscheid, P.; Steinrück, H.-P.; Maier, F. Organic Reactions in Ionic Liquids Studied by in Situ XPS. *ChemPhysChem* **2012**, 13 (7), 1725–1735. <https://doi.org/10.1002/cphc.201100965>.
- (174) Daly, H. C.; Sampedro, G.; Bon, C.; Wu, D.; Ismail, G.; Cahill, R. A.; O'Shea, D. F. BF₂ - Azadipyromethene NIR-Emissive Fluorophores with Research and Clinical Potential. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 135, 392–400. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.04.051>.
- (175) Schmitt, S.; Bouteiller, C.; Barré, L.; Perrio, C. Sultone Opening with [18F]Fluoride: An Efficient 18F-Labeling Strategy for PET Imaging. *Chem. Commun.* **2011**, 47 (41), 11465–11467. <https://doi.org/10.1039/C1CC14435A>.
- (176) Priem, T.; Bouteiller, C.; Camporese, D.; Romieu, A.; Renard, P.-Y. Synthesis and Reactivity of a Bis-Sultone Cross-Linker for Peptide Conjugation and [18F]-Radiolabelling via Unusual “Double Click” Approach. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10 (5), 1068–1078. <https://doi.org/10.1039/C1OB06600E>.
- (177) Truce, W. E.; Burdge, D. N.; Steltenkamp, R. J. The Chemistry of Sultones. III. Formation of Six- in Preference to Five-Membered Ring Sultones¹. *J. Org. Chem.* **1962**, 27 (11), 3913–3916. <https://doi.org/10.1021/jo01058a038>.
- (178) Bordwell, F. G.; Chapman, R. D.; Osborne, C. E. Sulfonation of Olefins. X. The Preparation of Tertiary 5- and 6-Membered Ring Sultones. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81 (8), 2002–2007. <https://doi.org/10.1021/ja01517a054>.
- (179) Durst, T.; Tin, K.-C. A New Route to 5- and 6-Membered Ring Sultones. *Can. J. Chem.* **1970**, 48 (5), 845–851. <https://doi.org/10.1139/v70-135>.
- (180) Durst, T.; Manoir, J. du. Metallation of 5- and 6-Membered Ring Sultones. *Can. J. Chem.* **1969**, 47 (7), 1230–1233. <https://doi.org/10.1139/v69-199>.
- (181) Chang, C.-C.; Letteri, R.; Hayward, R. C.; Emrick, T. Functional Sulfobetaine Polymers: Synthesis and Salt-Responsive Stabilization of Oil-in-Water Droplets. *Macromolecules* **2015**, 48 (21), 7843–7850. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b01861>.
- (182) Smith, M. B.; Wolinsky, J. Lithium Aluminum Hydride-Aluminum Hydride Reduction of Sultones. *J. Org. Chem.* **1981**, 46 (1), 101–106. <https://doi.org/10.1021/jo00314a022>.
- (183) Margelefsky, E. L.; Zeidan, R. K.; Dufaud, V.; Davis, M. E. Organized Surface Functional Groups: Cooperative Catalysis via Thiol/Sulfonic Acid Pairing. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129 (44), 13691–13697. <https://doi.org/10.1021/ja074761e>.
- (184) Lafargue, A.-E. Synthèse et Réactivité de Sultones Pour Le Développement de Diopharmaceutiques Destinés à l'imagerie Par Tomographie Par Émission de Positons. thesis, Caen, 2016.
- (185) Lafargue, A.-E.; Perrio, C. Composés Utiles Comme Agents d'imagerie.

- (186) Bonnet, M.; Hong, C. R.; Gu, Y.; Anderson, R. F.; Wilson, W. R.; Pruijn, F. B.; Wang, J.; Hicks, K. O.; Hay, M. P. Novel Nitroimidazole Alkylsulfonamides as Hypoxic Cell Radiosensitisers. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22* (7), 2123–2132. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.02.039>.
- (187) Müller, C. E. Basic Chemistry of 2-Nitroimidazoles (Azomycin Derivatives). In *Imaging of Hypoxia: Tracer Developments*; Machulla, H.-J., Ed.; Developments in Nuclear Medicine; Springer Netherlands: Dordrecht, 1999; pp 47–59. https://doi.org/10.1007/978-94-017-1828-8_3.
- (188) Cao, J.; Liu, Y.; Zhang, L.; Du, F.; Ci, Y.; Zhang, Y.; Xiao, H.; Yao, X.; Shi, S.; Zhu, L.; et al. Synthesis of Novel PEG-Modified Nitroimidazole Derivatives via “Hot-Click” Reaction and Their Biological Evaluation as Potential PET Imaging Agent for Tumors. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2017**, *312* (2), 263–276. <https://doi.org/10.1007/s10967-017-5210-5>.
- (189) Rodnick, M. E.; Brooks, A. F.; Hockley, B. G.; Henderson, B. D.; Scott, P. J. H. A Fully-Automated One-Pot Synthesis of [18F]Fluoromethylcholine with Reduced Dimethylaminoethanol Contamination via [18F]Fluoromethyl Tosylate. *Appl. Radiat. Isot.* **2013**, *78*, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2013.04.017>.
- (190) Zheng, B.; Fox, R. J.; Sugiyama, M.; Fritz, A.; Eastgate, M. D. Development of Efficient Processes for the Preparation of Di- *Tert* -Butyl Potassium Phosphate and Di- *Tert* -Butyl (Chloromethyl) Phosphate. *Org. Process Res. Dev.* **2014**, *18* (5), 636–642. <https://doi.org/10.1021/op500066f>.
- (191) Searcey, M.; Pye, P. L.; Lee, J. B. Improved Syntheses of *N*-Substituted Nitroimidazoles. *Synth. Commun.* **1989**, *19* (7–8), 1309–1315. <https://doi.org/10.1080/00397918908054539>.
- (192) Long, A.; Parrick, J.; Hodgkiss, R. J. An Efficient Procedure for the 1-Alkylation of 2-Nitroimidazoles and the Synthesis of a Probe for Hypoxia in Solid Tumours. *Synthesis* **1991**, *1991* (09), 709–713. <https://doi.org/10.1055/s-1991-26552>.
- (193) DeBerardinis, A. M.; Turlington, M.; Ko, J.; Sole, L.; Pu, L. Facile Synthesis of a Family of H₈ BINOL-Amine Compounds and Catalytic Asymmetric Arylzinc Addition to Aldehydes. *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (9), 2836–2850. <https://doi.org/10.1021/jo1000516>.
- (194) Ren, S.; Hesk, D.; McNamara, P.; Koharski, D.; Borges, S. Synthesis of [³H], [¹³C₃, ¹⁵N], and [¹⁴C]SCH 900567: An Inhibitor of TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha) Converting Enzyme (TACE): Synthesis of [³H], [¹³C₃, ¹⁵N], and [¹⁴C]SCH 900567. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2014**, *57* (11), 632–636. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3229>.
- (195) Court, J. J.; Lessen, T. A.; Hlasta, D. J. ChemInform Abstract: A Novel and Practical Method for the *N*-Bromomethylation of Imides and Isothiazolone 1,1-Dioxides. *ChemInform* **1995**, *26* (39). <https://doi.org/10.1002/chin.199539082>.
- (196) Kalisiak, J.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. Efficient Synthesis of 2-Substituted-1,2,3-Triazoles. *Org. Lett.* **2008**, *10* (15), 3171–3174. <https://doi.org/10.1021/ol8006748>.
- (197) Moon, B. S.; Kim, B. S.; Park, C.; Jung, J. H.; Lee, Y. W.; Lee, H.-Y.; Chi, D. Y.; Lee, B. C.; Kim, S. E. [¹⁸F]Fluoromethyl-PBR28 as a Potential Radiotracer for TSPO: Preclinical Comparison with [¹¹C]PBR28 in a Rat Model of Neuroinflammation. *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25* (2), 442–450. <https://doi.org/10.1021/bc400556h>.
- (198) Hayakawa, I.; Saito, K.; Matsumoto, S.; Kobayashi, S.; Taniguchi, A.; Kobayashi, K.; Fujii, Y.; Kaneko, T.; Kigoshi, H. Second-Generation Total Synthesis of Aplyronine A

- Featuring Ni/Cr-Mediated Coupling Reactions. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15* (1), 124–131. <https://doi.org/10.1039/C6OB02241C>.
- (199) Vallabhajosula, S. *Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT*; Springer: Dordrecht, 2009.
- (200) Valable, S.; Petit, E.; Roussel, S.; Marteau, L.; Toutain, J.; Divoux, D.; Sobrio, F.; Delamare, J.; Barré, L.; Bernaudin, M. Complementary Information from Magnetic Resonance Imaging and ¹⁸F-Fluoromisonidazole Positron Emission Tomography in the Assessment of the Response to an Antiangiogenic Treatment in a Rat Brain Tumor Model. *Nucl. Med. Biol.* **2011**, S0969805111000382. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2011.01.010>.
- (201) Corroyer-Dulmont, A.; Pérès, E. A.; Petit, E.; Durand, L.; Marteau, L.; Toutain, J.; Divoux, D.; Roussel, S.; MacKenzie, E. T.; Barré, L.; et al. Noninvasive Assessment of Hypoxia with 3-[¹⁸F]-Fluoro-1-(2-Nitro-1-Imidazolyl)-2-Propanol ([¹⁸F]-FMISO): A PET Study in Two Experimental Models of Human Glioma. *Biol. Chem.* **2013**, *394* (4). <https://doi.org/10.1515/hsz-2012-0318>.
- (202) Kersemans, V.; Cornelissen, B.; Hueting, R.; Tredwell, M.; Hussien, K.; Allen, P. D.; Falzone, N.; Hill, S. A.; Dilworth, J. R.; Gouverneur, V.; et al. Hypoxia Imaging Using PET and SPECT: The Effects of Anesthetic and Carrier Gas on [⁶⁴Cu]-ATSM, [^{99m}Tc]-HL91 and [¹⁸F]-FMISO Tumor Hypoxia Accumulation. *PLoS ONE* **2011**, *6* (11), e25911. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025911>.
- (203) Masaki, Y.; Shimizu, Y.; Yoshioka, T.; Nishijima, K.; Zhao, S.; Higashino, K.; Numata, Y.; Tamaki, N.; Kuge, Y. FMISO Accumulation in Tumor Is Dependent on Glutathione Conjugation Capacity in Addition to Hypoxic State. *Ann. Nucl. Med.* **2017**, *31* (8), 596–604. <https://doi.org/10.1007/s12149-017-1189-9>.
- (204) Yan, R.; Sander, K.; Galante, E.; Rajkumar, V.; Badar, A.; El-Emir, E.; Lythgoe, M. F.; Pedley, R. B.; Årstad, E. A One-Pot Three-Component Radiochemical Reaction for Rapid Assembly of ¹²⁵I-Labeled Molecular Probes. 55.
- (205) Loughlin, W. A.; Jenkins, I. D.; Karis, N. D.; Healy, P. C. Discovery of New Nanomolar Inhibitors of GPa: Extension of 2-Oxo-1,2-Dihydropyridinyl-3-Yl Amide-Based GPa Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 341–356. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.12.049>.
- (206) Reubi, J. C. Peptide Receptors as Molecular Targets for Cancer Diagnosis and Therapy. *Endocr. Rev.* **2003**, *24* (4), 389–427. <https://doi.org/10.1210/er.2002-0007>.
- (207) Research, C. for B. E. and. What Are “Biologics” Questions and Answers. *FDA* **2019**.
- (208) December 22, P.; 2017. Opportunities and Challenges in Biologic Drug Delivery <http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/345540-Opportunities-and-Challenges-in-Biologic-Drug-Delivery/> (accessed Sep 29, 2019).
- (209) Richter, S.; Wuest, F. ¹⁸F-Labeled Peptides: The Future Is Bright. *Molecules* **2014**, *19* (12), 20536–20556. <https://doi.org/10.3390/molecules191220536>.
- (210) Koopmans, K. P.; Glaudemans, A. W. J. M. Rationale for the Use of Radiolabelled Peptides in Diagnosis and Therapy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2012**, *39* (S1), 4–10. <https://doi.org/10.1007/s00259-011-2038-z>.
- (211) Davis, R. A.; Hausner, S. H.; Sutcliffe, J. L. Peptides as Radiopharmaceutical Vectors. In *Radiopharmaceutical Chemistry*; Lewis, J. S., Windhorst, A. D., Zeglis, B. M., Eds.; Springer International Publishing: Cham, 2019; pp 137–162. https://doi.org/10.1007/978-3-319-98947-1_8.

- (212) Krenning, E. P.; Breeman, W. A. P.; Kooij, P. P. M.; Lameris, J. S.; Bakker, W. H.; Koper, J. W.; Ausema, L.; Reubi, J. C.; Lamberts, S. W. J. LOCALISATION OF ENDOCRINE-RELATED TUMOURS WITH RADIOIODINATED ANALOGUE OF SOMATOSTATIN. *The Lancet* **1989**, 333 (8632), 242–244. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(89\)91258-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(89)91258-0).
- (213) FDA approves first gallium 68Ga-Dotatate radiopharmaceutical tracer for PET imaging of neuroendocrine tumors <https://appliedradiology.com/articles/fda-approves-first-gallium-68ga-dotatate-radiopharmaceutical-tracer-for-pet-imaging-of-neuroendocrine-tumors> (accessed Sep 29, 2019).
- (214) Commissioner, O. of the. FDA approves new diagnostic imaging agent to detect rare neuroendocrine tumors <http://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-diagnostic-imaging-agent-detect-rare-neuroendocrine-tumors> (accessed Sep 29, 2019).
- (215) Research, C. for D. E. and. FDA Approves Lutetium Lu 177 Dotatate for Treatment of GEP-NETS. *FDA* **2019**.
- (216) Ghosh, A.; Heston, W. D. W. Tumor Target Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) and Its Regulation in Prostate Cancer. *J. Cell. Biochem.* **2004**, 91 (3), 528–539. <https://doi.org/10.1002/jcb.10661>.
- (217) Sterzing, F.; Kratochwil, C.; Fiedler, H.; Katayama, S.; Habl, G.; Kopka, K.; Afshar-Oromieh, A.; Debus, J.; Haberkorn, U.; Giesel, F. L. 68Ga-PSMA-11 PET/CT: A New Technique with High Potential for the Radiotherapeutic Management of Prostate Cancer Patients. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2016**, 43 (1), 34–41. <https://doi.org/10.1007/s00259-015-3188-1>.
- (218) Baranski, A.-C.; Schäfer, M.; Bauder-Wüst, U.; Wacker, A.; Schmidt, J.; Liolios, C.; Mier, W.; Haberkorn, U.; Eisenhut, M.; Kopka, K.; et al. Improving the Imaging Contrast of ⁶⁸Ga-PSMA-11 by Targeted Linker Design: Charged Spacer Moieties Enhance the Pharmacokinetic Properties. *Bioconjug. Chem.* **2017**, 28 (9), 2485–2492. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00458>.
- (219) Krishnan, H. S.; Ma, L.; Vasdev, N.; Liang, S. H. ¹⁸F-Labeling of Sensitive Biomolecules for Positron Emission Tomography. *Chem. - Eur. J.* **2017**. <https://doi.org/10.1002/chem.201701581>.
- (220) Roehn, U.; Becaud, J.; Mu, L.; Srinivasan, A.; Stellfeld, T.; Fitzner, A.; Graham, K.; Dinkelborg, L.; Schubiger, A. P.; Ametamey, S. M. Nucleophilic Ring-Opening of Activated Aziridines: A One-Step Method for Labeling Biomolecules with Fluorine-18. *J. Fluor. Chem.* **2009**, 130 (10), 902–912. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2009.07.003>.
- (221) Becaud, J.; Mu, L.; Karramkam, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Lehmann, L.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; et al. Direct One-Step¹⁸F-Labeling of Peptides via Nucleophilic Aromatic Substitution. *Bioconjugate Chem* **2009**, 20 (12), 2254–2261. <https://doi.org/10.1021/bc900240z>.
- (222) Cornelio, D. B.; Roesler, R.; Schwartzmann, G. Gastrin-Releasing Peptide Receptor as a Molecular Target in Experimental Anticancer Therapy. *Ann. Oncol.* **2007**, 18 (9), 1457–1466. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdm058>.
- (223) Jacobson, O.; Zhu, L.; Ma, Y.; Weiss, I. D.; Sun, X.; Niu, G.; Kiesewetter, D. O.; Chen, X. Rapid and Simple One-Step F-18 Labeling of Peptides. *Bioconjug. Chem.* **2011**, 22 (3), 422–428. <https://doi.org/10.1021/bc100437q>.
- (224) Schirmacher, R.; Wängler, B.; Bailey, J.; Bernard-Gauthier, V.; Schirmacher, E.; Wängler, C. Small Prosthetic Groups in ¹⁸F-Radiochemistry: Useful Auxiliaries for the

- Design of ^{18}F -PET Tracers. *Semin. Nucl. Med.* **2017**, *47* (5), 474–492. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2017.07.001>.
- (225) Born, D. van der; Pees, A.; Poot, A. J.; Orru, R. V. A.; Windhorst, A. D.; Vugts, D. J. Fluorine-18 Labelled Building Blocks for PET Tracer Synthesis. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46* (15), 4709–4773. <https://doi.org/10.1039/C6CS00492J>.
- (226) Vaidyanathan, G.; Zalutsky, M. R. Synthesis of *N*-Succinimidyl 4-[^{18}F]Fluorobenzoate, an Agent for Labeling Proteins and Peptides with ^{18}F . *Nat. Protoc.* **2006**, *1* (4), 1655–1661. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.264>.
- (227) Wu, Z.; Li, L.; Liu, S.; Yakushijin, F.; Yakushijin, K.; Horne, D.; Conti, P. S.; Li, Z.; Kandeel, F.; Shively, J. E. Facile Preparation of a Thiol-Reactive ^{18}F -Labeling Agent and Synthesis of ^{18}F -DEG-VS-NT for PET Imaging of a Neurotensin Receptor-Positive Tumor. *J. Nucl. Med.* **2014**, *55* (7), 1178–1184. <https://doi.org/10.2967/jnumed.114.137489>.
- (228) Jeon, J.; Shen, B.; Xiong, L.; Miao, Z.; Lee, K. H.; Rao, J.; Chin, F. T. Efficient Method for Site-Specific ^{18}F -Labeling of Biomolecules Using the Rapid Condensation Reaction between 2-Cyanobenzothiazole and Cysteine. *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23* (9), 1902–1908. <https://doi.org/10.1021/bc300273m>.
- (229) Inkster, J. A. H.; Zhang, S.; Akurathi, V.; Belanger, A.; Dubey, S.; Treves, S. T.; Packard, A. B. New Chemical and Radiochemical Routes to [^{18}F]Rho6G-DEG-F, a Delocalized Lipophilic Cation for Myocardial Perfusion Imaging with PET. **2017**, *8* (10), 1891–1896. <https://doi.org/10.1039/C7MD00326A>.
- (230) Lewis, J. S.; Windhorst, A. D.; Zeglis, B. M. *Radiopharmaceutical Chemistry*; Springer, 2018.
- (231) Marik, J.; Sutcliffe, J. L. Click for PET: Rapid Preparation of [^{18}F]Fluoropeptides Using CuI Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloaddition. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (37), 6681–6684. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.06.176>.
- (232) Glaser, M.; Årstad, E. “Click Labeling” with 2-[^{18}F]Fluoroethylazide for Positron Emission Tomography. *Bioconjug. Chem.* **2007**, *18* (3), 989–993. <https://doi.org/10.1021/bc060301j>.
- (233) Glaser, M.; Solbakken, M.; Turton, D. R.; Pettitt, R.; Barnett, J.; Arukwe, J.; Karlsen, H.; Cuthbertson, A.; Luthra, S. K.; Arstad, E. Methods for ^{18}F -Labeling of RGD Peptides: Comparison of Aminooxy [^{18}F]Fluorobenzaldehyde Condensation with “click Labeling” Using 2-[^{18}F]Fluoroethylazide, and S-Alkylation with [^{18}F]Fluoropropanethiol. *Amino Acids* **2009**, *37* (4), 717–724. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0200-0>.
- (234) Glaser, M.; Årstad, E.; Gaeta, A.; Nairne, J.; Trigg, W.; Robins, E. G. Copper-Mediated Reduction of 2-[^{18}F]Fluoroethyl Azide to 2-[^{18}F]Fluoroethylamine. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2012**, *55* (9), 326–331. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2945>.
- (235) Carroll, L.; Boldon, S.; Bejot, R.; Moore, J. E.; Declerck, J.; Gouverneur, V. The Traceless Staudinger Ligation for Indirect ^{18}F -Radiolabelling. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *9* (1), 136–140. <https://doi.org/10.1039/C0OB00564A>.
- (236) Blomquist, A. T.; Liu, L. H. Many-Membered Carbon Rings. VII. Cycloöctyne. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75* (9), 2153–2154. <https://doi.org/10.1021/ja011105a039>.
- (237) Wittig, G.; Krebs, A. Zur Existenz niedergliedriger Cycloalkine, I. *Chem. Ber.* **1961**, *94* (12), 3260–3275. <https://doi.org/10.1002/cber.19610941213>.
- (238) Ning, X.; Guo, J.; Wolfert, M. A.; Boons, G.-J. Visualizing Metabolically Labeled Glycoconjugates of Living Cells by Copper-Free and Fast Huisgen Cycloadditions.

- Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47* (12), 2253–2255. <https://doi.org/10.1002/anie.200705456>.
- (239) Dommerholt, J.; Schmidt, S.; Temming, R.; Hendriks, L. J. A.; Rutjes, F. P. J. T.; van Hest, J. C. M.; Lefeber, D. J.; Friedl, P.; van Delft, F. L. Readily Accessible Bicyclononynes for Bioorthogonal Labeling and Three-Dimensional Imaging of Living Cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49* (49), 9422–9425. <https://doi.org/10.1002/anie.201003761>.
- (240) F. Debets, M.; Berkel, S. S. van; Schoffelen, S.; T. Rutjes, F. P. J.; Hest, J. C. M. van; Delft, F. L. van. Aza -Dibenzocyclooctynes for Fast and Efficient Enzyme PEGylation via Copper-Free (3+2) Cycloaddition. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (1), 97–99. <https://doi.org/10.1039/B917797C>.
- (241) Kuzmin, A.; Poloukhtine, A.; Wolfert, M. A.; Popik, V. V. Surface Functionalization Using Catalyst-Free Azide–Alkyne Cycloaddition. *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21* (11), 2076–2085. <https://doi.org/10.1021/bc100306u>.
- (242) Dommerholt, J.; Rutjes, F. P. J. T.; van Delft, F. L. Strain-Promoted 1,3-Dipolar Cycloaddition of Cycloalkynes and Organic Azides. *Top. Curr. Chem. Cham* **2016**, *374* (2). <https://doi.org/10.1007/s41061-016-0016-4>.
- (243) Agard, N. J.; Prescher, J. A.; Bertozzi, C. R. A Strain-Promoted [3 + 2] Azide–Alkyne Cycloaddition for Covalent Modification of Biomolecules in Living Systems. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (46), 15046–15047. <https://doi.org/10.1021/ja044996f>.
- (244) Wallace, S.; W. Chin, J. Strain-Promoted Sydnone Bicyclo-[6.1.0]-Nonyne Cycloaddition. *Chem. Sci.* **2014**, *5* (5), 1742–1744. <https://doi.org/10.1039/C3SC53332H>.
- (245) Blackman, M. L.; Royzen, M.; Fox, J. M. Tetrazine Ligation: Fast Bioconjugation Based on Inverse-Electron-Demand Diels–Alder Reactivity. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (41), 13518–13519. <https://doi.org/10.1021/ja8053805>.
- (246) Kumar, A.; Hao, G.; Liu, L.; Ramezani, S.; Hsieh, J.-T.; Öz, O. K.; Sun, X. Click-Chemistry Strategy for Labeling Antibodies with Copper-64 via a Cross-Bridged Tetraazamacrocyclic Chelator Scaffold. *Bioconjug. Chem.* **2015**, *26* (4), 782–789. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00102>.
- (247) van de Watering, F. C. J.; Rijpkema, M.; Perk, L.; Brinkmann, U.; Oyen, W. J. G.; Boerman, O. C. Zirconium-89 Labeled Antibodies: A New Tool for Molecular Imaging in Cancer Patients <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/203601/> (accessed Sep 29, 2019). <https://doi.org/10.1155/2014/203601>.
- (248) Meyer, J.-P.; Houghton, J. L.; Kozlowski, P.; Abdel-Atti, D.; Reiner, T.; Pillarsetty, N. V. K.; Scholz, W. W.; Zeglis, B. M.; Lewis, J. S. ¹⁸F-Based Pretargeted PET Imaging Based on Bioorthogonal Diels–Alder Click Chemistry. *Bioconjug. Chem.* **2016**, *27* (2), 298–301. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00504>.
- (249) Smith, G. E.; Sladen, H. L.; Biagini, S. C. G.; Blower, P. J. Inorganic Approaches for Radiolabelling Biomolecules with Fluorine-18 for Imaging with Positron Emission Tomography. *Dalton Trans.* **2011**, *40* (23), 6196–6205. <https://doi.org/10.1039/C0DT01594F>.
- (250) Chansaenpak, K.; Vabre, B.; Gabbai, François. P. [¹⁸F]-Group 13 Fluoride Derivatives as Radiotracers for Positron Emission Tomography. *Chem Soc Rev* **2016**, *45* (4), 954–971. <https://doi.org/10.1039/C5CS00687B>.
- (251) Lin, K.-S.; Benard, F.; Perrin, D. M. 14 - Organoboronates: Captors of ¹⁸F-Fluoride for One-Step Radiofluorination of Biomolecules. In *Fluorine in Life Sciences:*

- Pharmaceuticals, Medicinal Diagnostics, and Agrochemicals*; Haufe, G., Leroux, F. R., Eds.; Progress in Fluorine Science; Academic Press, 2019; pp 519–549. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812733-9.00014-3>.
- (252) Bohn, P.; Deyine, A.; Azzouz, R.; Bailly, L.; Fiol-Petit, C.; Bischoff, L.; Fruit, C.; Marsais, F.; Vera, P. Design of Silicon-Based Misonidazole Analogues and ¹⁸F-Radiolabelling. *Nucl. Med. Biol.* **2009**, *36* (8), 895–905. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2009.06.004>.
- (253) Schirmmayer, R.; Bernard-Gauthier, V.; Schirmmayer, E.; Bailey, J. J.; Jurkschat, K.; Wängler, C.; Wängler, B. Silicon-Based ¹⁸F-Radiopharmaceuticals. In *Fluorine in Life Sciences: Pharmaceuticals, Medicinal Diagnostics, and Agrochemicals*; Elsevier, 2019; pp 551–574. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812733-9.00015-5>.
- (254) Wängler, C.; Kostikov, A.; Zhu, J.; Chin, J.; Wängler, B.; Schirmmayer, R. Silicon-¹⁸F Fluorine Radiochemistry: Basics, Applications and Challenges. *Appl. Sci.* **2012**, *2* (2), 277–302. <https://doi.org/10.3390/app2020277>.
- (255) Schirmmayer, R.; Wangler, C.; Schirmmayer, E. Recent Developments and Trends in ¹⁸F-Radiochemistry: Syntheses and Applications. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2007**, *4* (4), 317–329.
- (256) Niedermoser, S.; Chin, J.; Wängler, C.; Kostikov, A.; Bernard-Gauthier, V.; Vogler, N.; Soucy, J.-P.; McEwan, A. J.; Schirmmayer, R.; Wängler, B. In Vivo Evaluation of ¹⁸F-SiFAlin-Modified TATE: A Potential Challenge for ⁶⁸Ga-DOTATATE, the Clinical Gold Standard for Somatostatin Receptor Imaging with PET. *J. Nucl. Med.* **2015**, *56* (7), 1100–1105. <https://doi.org/10.2967/jnumed.114.149583>.
- (257) Lindner, S.; Michler, C.; Leidner, S.; Rensch, C.; Wängler, C.; Schirmmayer, R.; Bartenstein, P.; Wängler, B. Synthesis and in Vitro and in Vivo Evaluation of SiFA-Tagged Bombesin and RGD Peptides as Tumor Imaging Probes for Positron Emission Tomography. *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25* (4), 738–749. <https://doi.org/10.1021/bc400588e>.
- (258) Ting, R.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. Arylfluoroborates and Alkylfluorosilicates as Potential PET Imaging Agents: High-Yielding Aqueous Biomolecular ¹⁸F-Labeling. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (38), 13094–13095. <https://doi.org/10.1021/ja053293a>.
- (259) Höhne, A.; Mu, L.; Honer, M.; Schubiger, P. A.; Ametamey, S. M.; Graham, K.; Stellfeld, T.; Borkowski, S.; Berndorff, D.; Klar, U.; et al. Synthesis, ¹⁸F-Labeling, and in Vitro and in Vivo Studies of Bombesin Peptides Modified with Silicon-Based Building Blocks. *Bioconjugate Chem* **2008**, *19* (9), 1871–1879. <https://doi.org/10.1021/bc800157h>.
- (260) Lindner, S.; Michler, C.; Leidner, S.; Rensch, C.; Wängler, C.; Schirmmayer, R.; Bartenstein, P.; Wängler, B. Synthesis and in Vitro and in Vivo Evaluation of SiFA-Tagged Bombesin and RGD Peptides as Tumor Imaging Probes for Positron Emission Tomography. *Bioconjugate Chem* **2014**, *25* (4), 738–749. <https://doi.org/10.1021/bc400588e>.
- (261) Kostikov, A. P.; Chin, J.; Orchowski, K.; Niedermoser, S.; Kovacevic, M. M.; Aliaga, A.; Jurkschat, K.; Wängler, B.; Wängler, C.; Wester, H.-J.; et al. Oxalic Acid Supported Si-¹⁸F-Radiofluorination: One-Step Radiosynthesis of *N*-Succinimidyl 3-(Di-Tert-Butyl[¹⁸F]Fluorosilyl)Benzoate ([¹⁸F]SiFB) for Protein Labeling. *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23* (1), 106–114. <https://doi.org/10.1021/bc200525x>.

- (262) Rosa-Neto, P.; Wängler, B.; Iovkova, L.; Boening, G.; Reader, A.; Jurkschat, K.; Schirrmacher, E. [18F]SiFA-Isothiocyanate: A New Highly Effective Radioactive Labeling Agent for Lysine-Containing Proteins. *ChemBioChem* **2009**, *10* (8), 1321–1324. <https://doi.org/10.1002/cbic.200900132>.
- (263) McBride, W. J.; D'Souza, C. A.; Sharkey, R. M.; Karacay, H.; Rossi, E. A.; Chang, C.-H.; Goldenberg, D. M. Improved ¹⁸F Labeling of Peptides with a Fluoride-Aluminum-Chelate Complex. *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21* (7), 1331–1340. <https://doi.org/10.1021/bc100137x>.
- (264) McBride, W. J.; D'Souza, C. A.; Sharkey, R. M.; Karacay, H.; Rossi, E. A.; Chang, C.-H.; Goldenberg, D. M. Improved ¹⁸F Labeling of Peptides with a Fluoride-Aluminum-Chelate Complex. *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21* (7), 1331–1340. <https://doi.org/10.1021/bc100137x>.
- (265) D'Souza, C. A.; McBride, W. J.; Sharkey, R. M.; Todaro, L. J.; Goldenberg, D. M. High-Yielding Aqueous 18F-Labeling of Peptides via Al18F Chelation. *Bioconjug. Chem.* **2011**, *22* (9), 1793–1803. <https://doi.org/10.1021/bc200175c>.
- (266) Wan, W.; Guo, N.; Pan, D.; Yu, C.; Weng, Y.; Luo, S.; Ding, H.; Xu, Y.; Wang, L.; Lang, L.; et al. First Experience of 18F-Alfatide in Lung Cancer Patients Using a New Lyophilized Kit for Rapid Radiofluorination. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2013**, *54* (5), 691–698. <https://doi.org/10.2967/jnumed.112.113563>.
- (267) Lütje, S.; Franssen, G. M.; Herrmann, K.; Boerman, O. C.; Rijpkema, M.; Gotthardt, M.; Heskamp, S. In Vitro and in Vivo Characterization of a 18F-AIF-Labeled PSMA Ligand for Imaging of PSMA-Expressing Xenografts. *J. Nucl. Med.* **2019**, *jnumed.118.218941*. <https://doi.org/10.2967/jnumed.118.218941>.
- (268) McBride, W. J.; D'Souza, C. A.; Karacay, H.; Sharkey, R. M.; Goldenberg, D. M. New Lyophilized Kit for Rapid Radiofluorination of Peptides. *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23* (3), 538–547. <https://doi.org/10.1021/bc200608e>.
- (269) Chambers, M. ChemIDplus - 283-56-7 - NPKKVNRBHXOADG-UHFFFAOYSA-N - Triethanolamine borate - Similar structures search, synonyms, formulas, resource links, and other chemical information. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/283-56-7> (accessed Dec 14, 2017).
- (270) Vedejs, E.; Chapman, R. W.; Fields, S. C.; Lin, S.; Schrimpf, M. R. Conversion of Arylboronic Acids into Potassium Aryltrifluoroborates: Convenient Precursors of Arylboron Difluoride Lewis Acids. **1995**, *60* (10), 3020–3027.
- (271) Darses, S.; Michaud, G.; Genêt, J.-P. Potassium Organotrifluoroborates: New Partners in Palladium-Catalysed Cross-Coupling Reactions. **1999**, *1999* (8), 1875–1883. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0690\(199908\)1999:8<1875::AID-EJOC1875>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0690(199908)1999:8<1875::AID-EJOC1875>3.0.CO;2-W).
- (272) Darses, S.; Genêt, J.-P. Potassium Trifluoro(Organo)Borates: New Perspectives in Organic Chemistry. **2003**, *2003* (22), 4313–4327. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200300294>.
- (273) Darses, S.; Genêt, J.-P. Potassium Organotrifluoroborates: New Perspectives in Organic Synthesis. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (1), 288–325. <https://doi.org/10.1021/cr0509758>.
- (274) Molander, G. A.; Hoag, B. P. Improved Synthesis of Potassium (Trifluoromethyl)Trifluoroborate [K(CF₃BF₃)]. *Organometallics* **2003**, *22* (16), 3313–3315. <https://doi.org/10.1021/om0302645>.

- (275) Molander, G. A.; Sandrock, D. L. Potassium Trifluoroborate Salts as Convenient, Stable Reagents for Difficult Alkyl Transfers. **2009**, *12* (6), 811–823.
- (276) Li, Y.; Liu, Z.; Harwig, C. W.; Pourghiasian, M.; Lau, J.; Lin, K.-S.; Schaffer, P.; Benard, F.; Perrin, D. M. 18F-Click Labeling of a Bombesin Antagonist with an Alkyne-18F-ArBF₃–: In Vivo PET Imaging of Tumors Expressing the GRP-Receptor. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2013**, *3* (1), 57.
- (277) Ting, R.; Harwig, C. W.; Lo, J.; Li, Y.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. Substituent Effects on Aryltrifluoroborate Solvolysis in Water: Implications for Suzuki–Miyaura Coupling and the Design of Stable 18F-Labeled Aryltrifluoroborates for Use in PET Imaging. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (12), 4662–4670. <https://doi.org/10.1021/jo800681d>.
- (278) Liu, Z.; Li, Y.; Ting, R.; Perrin, D. M. Designing Kinetically Stable Aryltrifluoroborates as 18F-Capture Agents for PET Imaging. *J. Phys. Org. Chem.* **2015**, *28* (3), 210–214. <https://doi.org/10.1002/poc.3403>.
- (279) Liu, Z.; Chao, D.; Li, Y.; Ting, R.; Oh, J.; Perrin, D. M. From Minutes to Years: Predicting Organotrifluoroborate Solvolysis Rates. *Chem. – Eur. J.* **2015**, *21* (10), 3924–3928. <https://doi.org/10.1002/chem.201405829>.
- (280) Perrin, D.; Ting, R.; Overall, C. Substituted Aryl-Fluoroborates as Imaging Agents. CA2731645C, May 23, 2017.
- (281) Perrin, D.; LIU, Z. Substituted Organofluoroborates as Imaging Agents. CA2903281A1, September 12, 2014.
- (282) Burke, B. P.; Clemente, G. S.; Archibald, S. J. Boron–18F Containing Positron Emission Tomography Radiotracers: Advances and Opportunities. *Contrast Media Mol. Imaging* **2015**, *10* (2), 96–110. <https://doi.org/10.1002/cmml.1615>.
- (283) Li, Y.; Schaffer, P.; Perrin, D. M. Dual Isotope Labeling: Conjugation of 32P-Oligonucleotides with 18F-Aryltrifluoroborate via Copper(I) Catalyzed Cycloaddition. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23* (23), 6313–6316 <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.09.064>.
- (284) Li, Y.; Guo, J.; Tang, S.; Lang, L.; Chen, X.; Perrin, D. M. One-Step and One-Pot-Two-Step Radiosynthesis of Cyclo-RGD-18F-Aryltrifluoroborate Conjugates for Functional Imaging. *Am J Nucl Med Mol Imaging* **2013**, *3* (1), 44–56.
- (285) Ting, R.; Aguilera, T. A.; Crisp, J. L.; Hall, D. J.; Eckelman, W. C.; Vera, D. R.; Tsien, R. Y. Fast 18F Labeling of a Near-Infrared Fluorophore Enables Positron Emission Tomography and Optical Imaging of Sentinel Lymph Nodes. *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21* (10), 1811–1819. <https://doi.org/10.1021/bc1001328>.
- (286) Smith, T. A. D.; Simpson, M.; Cheyne, R.; Trembleau, L. 18F-PEG-Biotin: Precursor (Boroaryl-PEG-Biotin) Synthesis, 18F-Labeling and an in-Vitro Assessment of Its Binding with NeutravidinTM–Trastuzumab Pre-Treated Cells. *Appl. Radiat. Isot.* **2011**, *69* (10), 1395–1400. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.05.005>.
- (287) Keller, U. auf dem; Bellac, C. L.; Li, Y.; Lou, Y.; Lange, P. F.; Ting, R.; Harwig, C.; Kappelhoff, R.; Dedhar, S.; Adam, M. J.; et al. Novel Matrix Metalloproteinase Inhibitor [18F]Marimastat-Aryltrifluoroborate as a Probe for In Vivo Positron Emission Tomography Imaging in Cancer. *Cancer Res.* **2010**, *70* (19), 7562–7569. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1584>.
- (288) Li, Z.; Chansaenpak, K.; Liu, S.; Wade, C. R.; Conti, P. S.; Gabbai, F. P. Harvesting 18F-Fluoride Ions in Water via Direct 18F–19F Isotopic Exchange: Radiofluorination of

- Zwitterionic Aryltrifluoroborates and in Vivo Stability Studies. **2012**, 3 (10), 1305–1308. <https://doi.org/10.1039/C2MD20105D>.
- (289) Liu, Z.; Pourghiasian, M.; Radtke, M. A.; Lau, J.; Pan, J.; Dias, G. M.; Yapp, D.; Lin, K.-S.; Bénard, F.; Perrin, D. M. An Organotrifluoroborate for Broadly Applicable One-Step ¹⁸F-Labeling. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53 (44), 11876–11880. <https://doi.org/10.1002/anie.201406258>.
- (290) Liu, Z.; Amouroux, G.; Zhang, Z.; Pan, J.; Hundal-Jabal, N.; Colpo, N.; Lau, J.; Perrin, D. M.; Bénard, F.; Lin, K.-S. ¹⁸F-Trifluoroborate Derivatives of [Des-Arg10]Kallidin for Imaging Bradykinin B1 Receptor Expression with Positron Emission Tomography. *Mol. Pharm.* **2015**, 12 (3), 974–982. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00003>.
- (291) Liu, Z.; Pourghiasian, M.; Radtke, M. A.; Lau, J.; Pan, J.; Dias, G. M.; Yapp, D.; Lin, K.-S.; Bénard, F.; Perrin, D. M. An Organotrifluoroborate for Broadly Applicable One-Step ¹⁸F-Labeling. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53 (44), 11876–11880. <https://doi.org/10.1002/anie.201406258>.
- (292) Chansaenpak, K.; Wang, M.; Liu, S.; Wu, Z.; Yuan, H.; Conti, P. S.; Li, Z.; Gabbai, F. P. Synthesis and in Vivo Stability Studies of [¹⁸F]-Zwitterionic Phosphonium Aryltrifluoroborate/Indomethacin Conjugates. *RSC Adv.* **2016**, 6 (28), 23126–23133. <https://doi.org/10.1039/C5RA26323A>.
- (293) Chansaenpak, K.; Wang, M.; Wu, Z.; Zaman, R.; Li, Z.; Gabbai, F. P. [¹⁸F]-NHC-BF₃ Adducts as Water Stable Radio-Prosthetic Groups for PET Imaging. *Chem. Commun.* **2015**, 51 (62), 12439–12442. <https://doi.org/10.1039/C5CC04545B>.
- (294) Chansaenpak, K.; Wang, M.; Wang, H.; Giglio, B. C.; Gabbai, F. P.; Wu, Z.; Li, Z. Preparation of [¹⁸F]-NHC-BF₃ Conjugates and Their Applications in PET Imaging. *RSC Adv.* **2017**, 7 (29), 17748–17751. <https://doi.org/10.1039/C6RA28806E>.
- (295) Hendricks, J. A.; Keliher, E. J.; Wan, D.; Hilderbrand, S. A.; Weissleder, R.; Mazitschek, R. Synthesis of [¹⁸F]BODIPY: Bifunctional Reporter for Hybrid Optical/Positron Emission Tomography Imaging. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51 (19), 4603–4606. <https://doi.org/10.1002/anie.201107957>.
- (296) Liu, S.; Lin, T.-P.; Li, D.; Leamer, L.; Shan, H.; Li, Z.; Gabbai, F. P.; Conti, P. S. Lewis Acid-Assisted Isotopic ¹⁸F-¹⁹F Exchange in BODIPY Dyes: Facile Generation of Positron Emission Tomography/Fluorescence Dual Modality Agents for Tumor Imaging. *Theranostics* **2013**, 3 (3), 181–189. <https://doi.org/10.7150/thno.5984>.
- (297) Liu, S.; Li, D.; Zhang, Z.; Prakash, G. K. S.; Conti, P. S.; Li, Z. Efficient Synthesis of Fluorescent-PET Probes Based on [¹⁸F]BODIPY Dye. *Chem. Commun.* **2014**, 50 (55), 7371–7373. <https://doi.org/10.1039/C4CC01411A>.
- (298) Zeng, J.-L.; Wang, J.; Ma, J.-A. New Strategies for Rapid ¹⁸F-Radiolabeling of Biomolecules for Radionuclide-Based In Vivo Imaging. *Bioconjug. Chem.* **2015**, 26 (6), 1000–1003. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00180>.
- (299) Fowler, D. L.; Kraus, C. A. Quaternary Ammonium Salts with Anions Containing Triphenylboron. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62 (5), 1143–1144. <https://doi.org/10.1021/ja01862a040>.
- (300) Armand, M.; Tarascon, J.; Recham, N. Complexes de Bore Ou d'aluminium.
- (301) Chiu, C.-W.; Gabbai, F. P. Fluoride Ion Capture from Water with a Cationic Borane. **2006**, 128 (44), 14248–14249. <https://doi.org/10.1021/ja0658463>.

- (302) Hudnall, T. W.; Kim, Y.-M.; Bebbington, M. W. P.; Bourissou, D.; Gabbai, F. P. Fluoride Ion Chelation By a Bidentate Phosphonium/Borane Lewis Acid. **2008**, *130* (33), 10890–10891. <https://doi.org/10.1021/ja804492y>.
- (303) Lee, M. H.; Gabbai, F. P. Synthesis and Properties of a Cationic Bidentate Lewis Acid. **2007**, *46* (20), 8132–8138. <https://doi.org/10.1021/ic700360a>.
- (304) De Vries, T. S.; Prokofjevs, A.; Vedejs, E. Cationic Tricoordinate Boron Intermediates: Borenium Chemistry from the Organic Perspective. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (7), 4246–4282. <https://doi.org/10.1021/cr200133c>.
- (305) Zhao, H.; Leamer, L. A.; Gabbai, F. P. Anion Capture and Sensing with Cationic Boranes: On the Synergy of Coulombic Effects and Onium Ion-Centred Lewis Acidity. *Dalton Trans.* **2013**, *42* (23), 8164. <https://doi.org/10.1039/c3dt50491c>.
- (306) Lee, M. H.; Agou, T.; Kobayashi, J.; Kawashima, T.; Gabbai, F. P. Fluoride Ion Complexation by a Cationic Borane in Aqueous Solution. *Chem. Commun.* **2007**, No. 11, 1133. <https://doi.org/10.1039/b616814k>.
- (307) Perrio, C.; Schmitt, S.; Pla, D.; Gabbai, F. P.; Chansaenpak, K.; Mestre-Voegtle, B.; Gras, E. [¹⁸F]-Fluoride Capture and Release: Azeotropic Drying Free Nucleophilic Aromatic Radiofluorination Assisted by a Phosphonium Borane. **2017**, *53* (2), 340–343. <https://doi.org/10.1039/C6CC05168E>.
- (308) Verkade, J. G. Main Group Atranes: Chemical and Structural Features. *Coord. Chem. Rev.* **1994**, *137*, 233–295. [https://doi.org/10.1016/0010-8545\(94\)03007-D](https://doi.org/10.1016/0010-8545(94)03007-D).
- (309) Voronkov, M. G.; Baryshok, V. P. Metallatranes. *J. Organomet. Chem.* **1982**, *239* (1), 199–249. [https://doi.org/10.1016/S0022-328X\(00\)94113-5](https://doi.org/10.1016/S0022-328X(00)94113-5).
- (310) Rojahn, C. A. *Chem Abstr* **1933**, *27*, 5153.
- (311) Brown, H. C.; Fletcher, E. A. Compounds with Boron at the Bridgehead—A Study of the Steric Consequences of Planar Boron. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73* (6), 2808–2813. <https://doi.org/10.1021/ja01150a112>.
- (312) Hein, Fr.; Burkhardt, R. Über Den Triäthanolaminborsäureester Und Sein Komplexchemisches Verhalten. *Z. Für Anorg. Allg. Chem.* **1952**, *268* (3), 159–168. <https://doi.org/10.1002/zaac.19522680305>.
- (313) Weidmann, H.; Jr K. Z Immerman, H. Borsäure-Ester von N-Substituierten Aminoalkoholen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1958**, *619* (1), 28–35. <https://doi.org/10.1002/jlac.19586190104>.
- (314) Lucchesi, C. A.; DeFord, D. D. Formation of Triethanolamine Borate in Aqueous Solution. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1960**, *14* (3), 290. [https://doi.org/10.1016/0022-1902\(60\)80274-6](https://doi.org/10.1016/0022-1902(60)80274-6).
- (315) Zimmerman, H. K. Relations between Structure and Coordination Stability in Boroxazolidines. In *Boron-Nitrogen Chemistry*; Niedenzu, K., Ed.; AMERICAN CHEMICAL SOCIETY: WASHINGTON, D.C., 1964; Vol. 42, pp 23–34. <https://doi.org/10.1021/ba-1964-0042.ch003>.
- (316) Zimmerman, H. K.; Jones, D. A. Polysubstituted Monocyclic Boroxazolidines. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1964**, *83* (2), 123–128. <https://doi.org/10.1002/recl.19640830204>.
- (317) SCHLEPPNIK, A. A.; GUTSCHE, C. D. Synthesis and Reactions of Monosubstituted Triptych-Boroxazolidines. *J. Org. Chem.* **1960**, *25* (8), 1378–1386. <https://doi.org/10.1021/jo01078a022>.

- (318) Schleppnik, A. A.; Gutsche, C. D. Synthesis of Polysubstituted Triptych-Boroxazolidines^{1,2}. *J. Org. Chem.* **1962**, *27* (10), 3684–3686. <https://doi.org/10.1021/jo01057a507>.
- (319) Bolgova, Y. I.; Kuznetsova, G. A.; Trofimova, O. M.; Voronkov, M. G. Convenient and Fast Synthesis of Boratrane in Water Medium. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2013**, *49* (8), 1246–1248.
- (320) Franich, R. A.; Nicholson, B. K.; Kroese, H. W.; Gallagher, S. S.; Meder, R.; Lane, J. R.; Kelly, B. D. Synthesis, Characterization and Crystal Structures of the Boratranes: 2,10,11-Trioxa-6-Aza-1-Boratricyclo[4.4.4.0^{1,6}] Tetradecane (Tri-n-Propanolamine Borate), and 3-(4-Methoxy)Phenoxyethyl-7,10-Dimethyl-2,8,9-Trioxa-5-Aza-1-Boratricyclo[3.3.3.0^{1,5}]-Undecane. *Polyhedron* **2011**, *30* (17), 2884–2889. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2011.08.020>.
- (321) Grassi, M.; Di Silvestro, G.; Farina, M. Synthesis of (+)-(3S, 7S, 10S)- and (+)-(3S, 7S, 10R)-3, 7, 10-Trimethylboratrane. Amplification of Enantiomeric Purity in the Reacti. *Tetrahedron* **1985**, *41* (1), 177–181.
- (322) Kim, D. J.; Mun, S.; Yoon, S.; Oh, C. H.; Park, H.-R.; You, T.-S.; Lee, J.; Kim, Y. Synthesis and Crystal Structures of Boratranes with Methyl Substituents on the Atrane Cage. *Polyhedron* **2011**, *30* (6), 1076–1079. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2011.01.016>.
- (323) Kim, D. J.; Hong, Y.; Kim, S. H.; Lee, K. M.; Mun, S.; Yoon, S.; Lee, J.; Do, Y.; Kim, Y. Boratranes with All Six-Membered Rings or with Two Different Ring Sizes: Synthesis, Characterization, and X-Ray Crystal Structures. *Inorganica Chim. Acta* **2011**, *378* (1), 311–314. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2011.08.027>.
- (324) Franich, R.; Billett, G.; O'Callahan, D.; Gallagher, S.; Kelly, B.; Kroese, H.; Torr, K.; van der Waals, J. Boratranes as Environmentally-Safe Biocides for Lignocellulosic Materials Protection. *59th Appita Annu. Conf. Exhib. Inc. 13th ISWFPC Int. Symp. Wood Fibre Pulping Chem. Auckl. N. Z. 16-19 May 2005 Proc.* **2005**, 121.
- (325) Korlyukov, A. A.; Lyssenko, K. A.; Antipin, M. Yu.; Kirin, V. N.; Chernyshev, E. A.; Knyazev, S. P. Experimental and Theoretical Study of the Transannular Intramolecular Interaction and Cage Effect in the Atrane Framework of Boratrane and 1-Methylsilatrane. *Inorg. Chem.* **2002**, *41* (20), 5043–5051. <https://doi.org/10.1021/ic010842e>.
- (326) Mattes, R.; Fenske, D.; Tebbe, K.-F. Die Kristall- Und Molekülstruktur von Triptych-Boroxazolidin. *Chem. Ber.* **1972**, *105* (6), 2089–2094. <https://doi.org/10.1002/cber.19721050634>.
- (327) Korlyukov, A. A.; Lyssenko, K. A.; Antipin, M. Yu.; Kirin, V. N.; Chernyshev, E. A.; Knyazev, S. P. Experimental and Theoretical Study of the Transannular Intramolecular Interaction and Cage Effect in the Atrane Framework of Boratrane and 1-Methylsilatrane. *Inorg. Chem.* **2002**, *41* (20), 5043–5051. <https://doi.org/10.1021/ic010842e>.
- (328) Franich, R. A.; Nicholson, B. K.; Kroese, H. W.; Gallagher, S. S.; Meder, R.; Lane, J. R.; Kelly, B. D. Synthesis, Characterization and Crystal Structures of the Boratranes: 2,10,11-Trioxa-6-Aza-1-Boratricyclo[4.4.4.0^{1,6}] Tetradecane (Tri-n-Propanolamine Borate), and 3-(4-Methoxy)Phenoxyethyl-7,10-Dimethyl-2,8,9-Trioxa-5-Aza-1-Boratricyclo[3.3.3.0^{1,5}]-Undecane. *Polyhedron* **2011**, *30* (17), 2884–2889. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2011.08.020>.
- (329) Satoh, K.; Ito, D.; Kamigaito, M. Periodic Introduction of Water-Tolerant Titanatrane Complex to Poly(NIPAM) Prepared by Simultaneous Step-Growth and Living Radical

- Polymerization. In *Controlled Radical Polymerization: Materials*; Matyjaszewski, K., Sumerlin, B. S., Tsarevsky, N. V., Chiefari, J., Eds.; American Chemical Society, Series Ed.; American Chemical Society: Washington, DC, 2015; Vol. 1188, pp 1–14. <https://doi.org/10.1021/bk-2015-1188.ch001>.
- (330) Alder, R. W.; Jin, Z. Methylation and Protonation of 1-Aza-5-Bora-4, 6, 11-Trioxabicyclo [3.3. 3] Undecane and 1-Aza-5-Borabicyclo [3.3. 3] Undecane. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1996**, No. 4, 583–585.
- (331) Fujita, Toshio.; Iwasa, Junkichi.; Hansch, Corwin. A New Substituent Constant, π , Derived from Partition Coefficients. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86* (23), 5175–5180. <https://doi.org/10.1021/ja01077a028>.
- (332) Hovhannisyan, N.; Chantepie, S. P.; Ibazizene, M.; Manrique, A.; Reman, O.; Barre, L.; Leporrier, M. [18 F]-Fludarabine Positron Emission Tomography in Chronic Lymphocytic Leukemia Patients: Results of a Phase I Study. *Blood* **2015**, *126* (23), 5267–5267.
- (333) Ramogida, C. F.; Pan, J.; Ferreira, C. L.; Patrick, B. O.; Rebullar, K.; Yapp, D. T. T.; Lin, K.-S.; Adam, M. J.; Orvig, C. Nitroimidazole-Containing H₂ Dedpa and H₂ CHX Dedpa Derivatives as Potential PET Imaging Agents of Hypoxia with ⁶⁸Ga. *Inorg. Chem.* **2015**, *54* (10), 4953–4965. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5b00554>.
- (334) Trost, B. M.; Frederiksen, M. U.; Papillon, J. P. N.; Harrington, P. E.; Shin, S.; Shireman, B. T. Dinuclear Asymmetric Zn Aldol Additions: Formal Asymmetric Synthesis of Fostriecin. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (11), 3666–3667. <https://doi.org/10.1021/ja042435i>.
- (335) Tran-Van, A.-F.; Götz, S.; Neuburger, M.; Wegner, H. A. A Strain Induced Change of Mechanism from a [2 + 2 + 2] to a [2 + 1 + 2 + 1] Cycloaddition Reaction. *Org. Lett.* **2014**, *16* (9), 2410–2413. <https://doi.org/10.1021/ol5007604>.
- (336) Osorio, H. M.; Catarelli, S.; Cea, P.; Gluyas, J. B. G.; Hartl, F.; Higgins, S. J.; Leary, E.; Low, P. J.; Martín, S.; Nichols, R. J.; et al. Electrochemical Single-Molecule Transistors with Optimized Gate Coupling. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (45), 14319–14328. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b08431>.
- (337) Yamaji, M.; Horimoto, A.; Marciniak, B. Laser Photolysis Studies of ω -Bond Dissociation in Aromatic Carbonyls with a C–C Triple Bond Stimulated by Triplet Sensitization. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2017**, *19* (26), 17028–17035 <https://doi.org/10.1039/C7CP02758C>.
- (338) Danjou, P.-E.; Wallyn, D.; Cazier-Dennin, F.; Delattre, F. Ultrasound-Promoted Tosylation of Oligo(Ethylene Glycols). *Ultrason. Sonochem.* **2012**, *19* (6), 1201–1204. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.04.010>.
- (339) Zeng, Z.; Shreeve, J. M. Synthesis of 2,2,6,6-Tetrafluoro-4-Phenylmethylmorpholin-3-Ones: A Simple Approach from Fluorinated Triethylene Glycol. *J. Fluor. Chem.* **2009**, *130* (8), 727–732. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2009.05.014>.
- (340) Taylor, M. J.; Grigg, J. A.; Laban, I. H. Triol Borates and Aminoalcohol Derivatives of Boric Acid: Their Formation and Hydrolysis. *Polyhedron* **1996**, *15* (19), 3261–3270.

Résumé

Les travaux de thèse ont porté sur le développement de deux plateformes de radiomarquage polyvalentes pour faciliter l'incorporation du fluor-18, un isotope de choix pour l'imagerie TEP (Tomographie par Emission de Positons). La première plateforme comporte une structure sultone conduisant à un [¹⁸F]fluorosulfonate par ouverture du cycle avec le [¹⁸F]fluorure. Celle-ci a été valorisée par le couplage avec des ligands 2-nitroimidazoliques pour former un agent d'imagerie TEP spécifique de l'hypoxie. Une série de dérivés caractérisés par des propriétés d'hydrophilie différentes a été synthétisée afin de comparer leur efficacité en imagerie. Parmi ces dérivés, le [¹⁸F]FLUSONIM a révélé dans différents modèles précliniques tumoraux (rhabdomyosarcome, tumeurs cérébrales et mélanome) des ratios tumeur sur bruit de fond inégalés jusqu'à présent, et ce à des temps très précoces post-injection. La deuxième plateforme est de nature boratrane. Celle-ci est capable de réagir avec le [¹⁸F]fluorure en milieu physiologique pour former un [¹⁸F]monofluoroborate zwitterionique facile à séparer du précurseur boratrane.

Mots clés : fluor-18, Tomographie par émission de positons, imagerie médicale, radiochimie, radiofluoration, sultone, fluorosulfonate, [¹⁸F]FMISO, boratrane, hypoxie

Abstract

This work focused on the development of versatile platforms for fluorine-18 labelling. The first platform contained a sultone moiety which was converted to [¹⁸F]fluorosulfonate by ring opening with [¹⁸F]fluoride. The sultone was coupled to 2-nitroimidazolyl ligands to obtain radiotracers for hypoxia PET imaging. A series of compounds were synthesized in order to compare their performance in PET imaging. Among them, [¹⁸F]FLUSONIM displayed high tumor/background ratios after a short delay post-injection on different animal models (rhabdomyosarcoma, glioblastoma and melanoma). The second platform was based on a boratrane structure, that was able to capture [¹⁸F]fluoride in aqueous medium to form zwitterionic [¹⁸F]monofluoroborate.

Key words: fluorine-18, Positron Emission Tomography, radiochemistry, radiofluorination, sultone, fluorosulfonate, [¹⁸F]FMISO, boratrane, hypoxia