



**HAL**  
open science

## Sonde bimodale TEP/IO : application en cancérologie

Laura Bourmeyster

► **To cite this version:**

Laura Bourmeyster. Sonde bimodale TEP/IO : application en cancérologie. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2021. Français. NNT : 2021BORD0383 . tel-03585647

**HAL Id: tel-03585647**

**<https://theses.hal.science/tel-03585647v1>**

Submitted on 23 Feb 2022

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

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

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

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES  
SPÉCIALITÉ  
CHIMIE ORGANIQUE

Par Laura BOURMEYSTER

**SONDE BIMODALE TEP/IO : APPLICATION EN  
CANCEROLOGIE**

Sous la direction de : Magali SZLOSEK

Soutenue le 17 décembre 2021

Membres du jury :

Mme BESTEL, Isabelle	Professeure, Université de Bordeaux	Présidente
M. MARTINEZ, Alexandre	Professeur, Université d'Aix Marseille	Rapporteur
M. CAILLY, Thomas	Maitre de conférences, Université de Caen	Rapporteur
Mme. SZLOSEK, Magali	Maitre de conférences, Université de Bordeaux	Directrice de thèse
Mme GOSSE, Isabelle	Professeure, Université de Bordeaux	Examinatrice
M. MAURY, Olivier	Directeur de recherches, ENS, Lyon	Examineur



## Remerciements

Ce manuscrit présente mes trois années de thèse, effectuées à l'Institut des Sciences Moléculaires de l'Université de Bordeaux, au sein de l'équipe Catalysis, Synthesis and Health. Ce travail a été rendu possible grâce au soutien et à l'aide apportée par mon entourage, je tiens donc à remercier tous les acteurs de ce projet.

Mes premiers remerciements vont à Magali, sans qui tout cela n'aurait pas été possible. Merci de m'avoir permis d'effectuer cette thèse, de m'avoir encadré et épaulé pendant ces trois années. Ça n'a pas toujours été facile mais on a tenu bon, et le résultat est enfin là. C'était une expérience incroyable et je suis très heureuse d'avoir pu la vivre avec toi comme directrice de thèse.

Merci à Isabelle, d'avoir relu et corrigé cette thèse. Merci également pour ton expertise en fluorescence et sur les CTVs.

Je tiens ensuite à remercier toute l'équipe CSH. Patrick, pour le temps qu'il m'a accordé chaque fois que j'en avais besoin et les barbecues piscines, Philippe H. pour son aide notamment sur la synthèse de BODIPYs, Frédéric, d'abord pour avoir éteint mon départ de feu, et pour avoir toujours un mot pour rire, Philippe P., pour avoir partagé son expérience avec nous dès qu'il le pouvait. Murielle, je te garde pour la fin car il n'y aura jamais assez de place dans ces remerciements pour te dire à quel point j'ai été contente de te rencontrer. Tu m'as permis de reprendre le cheval, de me sentir moins seule le matin au labo, de parler de tout et de rien... Merci de m'avoir sauvé quand ma voiture est tombée en panne, de m'avoir porté quand je me suis tordu la cheville au cheval, malgré les photos compromettantes... J'espère qu'on pourra un jour monter à cheval ensemble et que tout sera beau dans ta vie future !

Je remercie également les membres de mon jury, mes rapporteurs Alexandre Martinez, Professeur à l'Université d'Aix Marseille et Thomas Cailly, Maître de conférences à l'Université de Caen, ainsi qu'Isabelle Bestel, Professeure à l'Université de Bordeaux et Olivier Maury, Directeur de recherches à l'ENS de Lyon, pour avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie le LabEx TRAIL, qui a permis de financer cette thèse. Merci à Coralie Genevois et Franck Couillaud du laboratoire IMOTION pour les tests biologiques effectués sur mes molécules. Merci à Jürgen Schultz et son équipe de l'INCIA pour la radiosynthèse.

Merci aux stagiaires qui ont contribué à ce projet, Yann Bourdeau, Camille Losguardi et Benjamin Aramendi.

Merci au service informatique, qui m'a aidé pendant mes nombreuses pertes inexplicables d'internet, et pour imprimer ce manuscrit.

Un grand merci au service CESAMO, pour l'analyse de mes molécules. Un merci spécial à Yann et Claire, qui se sont acharnés pour trouver certaines masses...

Tu fais partie de CESAMO, mais Zidane, je tiens à te remercier à part. Merci pour toutes tes leçons de vie, nos longues discussions vont beaucoup me manquer. Merci d'avoir été un

prof d'échecs et de RMN aussi patient. J'espère pouvoir continuer à t'apprendre le piano pour au moins jouer du Yann Tiersen ! Sir Zizi, je viendrais te voir jouer au foot un jour, c'est promis.

Je passe ensuite aux remerciements des thésards et post-doc de l'équipe CSH. Rongyu, la dernière arrivée, tes confiseries chinoises sont toujours les bienvenues ! Le partage de notre « passion » pour les problèmes HPLC m'a aidé à me dire que ça ne venait pas que de moi... Merci aux anciens, Alexis et Charlotte pour leur humour et le partage de leur expérience chez CSH, Obinna, I really miss our discussions about France, Nigeria, marriage... We spent a lot of time in the lab together, listening to music ('74-'75, I always think of you when I'm listening to this one !) and talking... it was a really good time. Kalyan... you are an extraordinary person, always attentive when something went wrong, always funny when I needed it... I really miss you and the time we spend together, pranking Obi, talking about life and chemistry, laughing... Thifanie, ta passion contagieuse pour la Kpop mettait toujours l'ambiance dans ton labo, et par extension dans le bureau ! Merci de ton soutien pendant mes concours de cosplay en ligne et ton aide avec la chimie bizarre qu'est celle des BODIPYs. Julien et Charlène, les soirées à la Paix-Dieu à chanter et danser, ça me manque ! Et Julien désolée de t'avoir privé de Skyrock mais c'était pour ton bien... Nicolas, merci tout d'abord pour m'avoir formée aux CTVs en M1. Tu as été bien plus que ça pour moi par la suite, je ne te remercierais jamais assez de m'avoir autant aidée et soutenue pendant le début de ma thèse.

Mes compagnons de CSH viennent ensuite. Marine, malgré les hauts et les bas, je garde de très bons souvenirs des soirées et week-ends passés ensemble. Je me souviendrai de ton enthousiasme pour tout et de ta gentillesse, ne change rien ! Mes deux copains de bureau, je commence par Alexandre, mon ptit dernier, je me suis très vite attaché à toi ! Ça me déprime de me dire qu'on ne se verra plus tous les jours... Mais j'ai confiance, on refera plein de soirées à parler sur mon lit, danser, jouer comme des enfants, des escape games où tu résoudras les énigmes plus vite que tout le monde, et des moments de rage et de biching contre tout le monde. Je fini par le meilleur, je dis ça bien-sûr pour lui faire plaisir, Morgan. Après deux années, ok, je l'avoue tu es devenu un peu plus qu'un collègue. Entre les soirées Ghibli, les horoscopes, les ragots, ça va être dur de travailler sans toi... J'espère qu'on ira à d'autres conventions ensemble où tu pourras mieux explorer tes penchants pour Benjamin et les mangas de mon père, d'autres week-ends plage, ski et autre où on pourra profiter de la vie (et m'apprendre à skier comme une pro), et enfin faire cette sortie à Europa Park ! Vous allez tous les deux beaucoup me manquer, l'ambiance au bureau et au labo se faisait grâce à vous, mes Dumbledee et Dumbledum, avec les batailles de fluo, et tout le reste.

Je continue avec les gens d'en bas, les C<sub>2</sub>M, Axelle, pour les aprèms jeux, les ptits week-ends au bord de la piscine, et promis, je t'emmènerais danser ! Camille, j'aurais aimé qu'on puisse plus se connaître ! Et Guillaume, pour ma première partie main-cerveau aux échecs, qui même perdue, a été épique. Les gens de l'équipe Quideau, particulièrement Yoan et Emmanuel, les parlottes à la RMN ont toujours été très sympas !

Victor, le seul du 4<sup>ème</sup> étage, le maître du Ricard et surtout des pauses ! Les pauses cigarettes sans fumer c'est toujours sympa avec toi, merci de m'avoir aidé avec ma fluo, ça aurait été compliqué sans toi...

Viennent ensuite les gens du bout de couloir, ou « les Landais ». Damien, merci d'être venu nourrir mon chat, et pour tes memes qui me font toujours rire. J'espère que tu pourras avoir un chat à toi un jour. Margaux, ton énergie et ton naturel à tout épreuve m'ont beaucoup impressionné ! Marion, qui a toujours des petits potins à raconter et qui est toujours de bonne humeur malgré des stagiaires... particuliers ! Iman, je suis très fière d'avoir été ton premier slow ! J'espère qu'il y en aura d'autres... Et bien-sûr, Claire, je suis tellement contente de t'avoir connu. Tu resteras ma partenaire de pole dance ! Nos moments potins dans ton bureau me manquent beaucoup...

Jonathan, le poireau survivor de l'ISM... J'espère qu'on se fera encore plein de soirées à danser et chanter comme des fous. Ne sois pas trop triste quand on va partir, on reviendra te voir ! Je suis trop contente d'avoir pu vous connaître avec Lisa, les après-midis jeux/brunch faisaient partis de mes moments préférés. J'espère qu'on pourra enfin finir nos time stories et qu'on fera encore plein de soirées au bar à jeux.

Je remercie aussi les gens de NEO. Quentin, dit « Eusse », ton extraordinaire énergie et ta façon d'être continueront de me mettre de bonne humeur. J'espère qu'on regardera encore plein d'opéras ensemble, promis je ne m'endormirai plus... Natalie and James, so happy to had the occasion to meet you ! Borja... Best guy ever. I hope we will still have a lot of parties together ! Amaury, le pro de la piscine et des soirées réussies, merci de m'avoir briefé sur l'ADOC, et d'avoir rendu plein de soirées beaucoup trop drôles juste par ta présence. Axel, tellement triste qu'on ait attendu la première année de thèse pour découvrir qu'on s'entendait aussi bien ! Je suis contente qu'on ait pu partager les galères de la thèse ensemble et j'espère qu'on pourra se refaire des week-ends plage et enfin se faire un week-end ski un jour. Kevin, je ne savais pas trop si je te considérais comme un NEO, tellement la nouvelle m'a surprise, je n'y crois toujours pas... Mais ok, tu l'auras un jour ton Santosha ! Je vais arrêter de parier avec toi. Les mots fléchés, les longues discussions pour ne pas travailler et les sorties piscine, ça va bien me manquer... Reviens apprendre le piano quand tu veux !

Baptiste, on l'a fait ! Nos thèses sont enfin là... Je ne te remercierais jamais assez de ton soutien et de ton aide pendant ces 5 ans passés ensemble, autant sur le plan pro que perso. Un grand merci pour avoir corrigé ma thèse, les aléas de fin de thèse sont enfin terminés mais je suis contente d'avoir pu les partager avec toi. J'espère qu'on passera encore des soirées à chanter du Mulan avec Pierre, boire de la Sangria pendant que tu m'apprends à prononcer « correctement » des prénoms Espagnol.

Merci aux potes de Poitiers : Rémy, c'est bon, après 8 ans, on peut enfin se détendre on est Docteur... tellement de choses se sont passées, mais je suis très fière de nous. Notre soutien mutuel de loin m'a plus d'une fois permis de tenir le coup. Alexandre, j'espère qu'on se verra plus souvent maintenant que tout ça est terminé. Thomas, malgré ton parcours compliqué j'ai toujours pu compter sur toi pour les soirées à chanter comme des fous sur du Queen ou du Pink Floyd en buvant du Mont Bazillac ! Tu m'as permis de me changer les idées plus d'une fois pendant la thèse, merci pour ça.

Merci à mes potes non-thésards, Angèle, on s'est toujours connu et malgré le fait que la science ne soit vraiment pas ton truc, ta bonne humeur a toujours déteint sur moi et m'a

permis de sourire dans des moments difficiles. Louis-Baptiste, toujours partant pour que je t'emmène partout, ton extraordinaire gentillesse et dévouement m'ont permis de faire vivre certaines de mes passions à côté de la thèse beaucoup plus facilement. Mon parrain, BN, même si on ne se voit pas assez, nos longues discussions téléphoniques me font toujours extrêmement plaisir. Et pour finir Inès... Je ne vais pas te faire de déclaration car tu sais déjà tout ce que je pense, mais ces trois ans auraient été très difficile sans toi. On n'a pas eu les mêmes galères, mais on les partageait quand même. Continuer le cosplay à côté m'a permis de me changer les idées et m'a remonté le moral plus d'une fois. Sans toi, ça n'aurait pas été possible.

Merci à Maxime, mon compagnon de vie (vraiment très<sup>15</sup> gentil) qui m'a supporté avec brio pendant cette dernière année de thèse. J'ai eu la chance de te rencontrer ici, et de voir notre relation évoluer vers ce qu'elle est aujourd'hui. Je n'ai pas toujours été facile à vivre, mais tu as toujours été là pour moi. Merci d'avoir relu toutes mes lettres de motivations et mon CV, et de les avoir patiemment corrigés. Merci de m'avoir rassuré dans mes moments de doute et de m'avoir encouragé pendant cette année.

Un très grand merci à ma famille, mes parents, mes frères et mes belles-sœurs qui m'ont soutenu et aidé pendant ces trois années. Tout ça n'aurait pas été possible sans vous. Merci à mes grands-parents, Grand-Maman, Douka et Mamie-Fanchon, pour toujours croire en moi et me soutenir.

Bonne lecture !

## Table des matières

Introduction.....	1
Chapitre I - Bibliographie.....	7
Partie A - Imagerie médicale et bimodalité : généralités.....	9
I. L'imagerie médicale .....	9
1- L'imagerie de résonance magnétique nucléaire (IRM) .....	9
2- Tomodensitométrie (CT-scan).....	12
3- Imagerie à ultrasons (échographie) .....	14
4- Imagerie photoacoustique .....	15
5- Tomographie par émission de positrons (TEP) .....	16
a- Les radiotraceurs utilisés en routine .....	18
a) [ <sup>18</sup> F]-FDG .....	18
b) [ <sup>18</sup> F]-L-DOPA.....	18
c) [ <sup>18</sup> F]-FCH .....	19
d) [ <sup>18</sup> F]-NaF.....	20
e) [ <sup>18</sup> F]-FMISO .....	20
f) [ <sup>18</sup> F]-FLT .....	20
g) [ <sup>11</sup> C]-Met.....	21
b- Méthodes de radiomarquage de biomolécules .....	22
a) Fluoration indirecte .....	22
b) Fluoration directe .....	23
6- Imagerie optique .....	24
a- Dérivés de la fluorescéine et de la rhodamine.....	27
b- Dérivés de la coumarine .....	29
c- BODIPY .....	31
d- Quantum Dot .....	33
e- Benzothiadiazole (BTD).....	34
II. L'imagerie bimodale et multimodale .....	37
1- IRM – Imagerie Photoacoustique.....	39
2- IRM-IO .....	42
3- TEP/IO.....	44
Partie B - Cyclotrivratriylène .....	47
I. Les applications .....	48



1-	Hôte moléculaire .....	48
2-	Sonde fluorescente .....	52
3-	Autres applications.....	53
II.	Symétrie C <sub>1</sub> .....	55
1-	Modification d'un CTV de symétrie C <sub>3</sub> (CTV-C <sub>3</sub> ) .....	56
2-	Changement de la position apicale .....	59
3-	Avant la trimérisation.....	59
	Partie C : Conclusion.....	62
	Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept .....	63
I.	Voie 1 : Plateforme CTV iodé (CTV <sub>I</sub> ) .....	65
1-	Synthèse du CTV <sub>I</sub> <b>5</b> .....	66
2-	Les arylsilanes.....	67
3-	Le benzothiadiazole méthyle <b>19</b> (BTD <sub>Me</sub> ).....	68
a-	Synthèse.....	68
b-	Couplage du CTV <b>5</b> et du BTD <b>19</b> .....	69
a)	Trifonctionnalisation .....	69
b)	Mono fonctionnalisation du CTV <b>5</b> avec le BTD <b>19</b> .....	70
c-	Fonctionnalisation du CTV <b>54</b> .....	72
4-	BTD <sub>ester</sub> .....	73
II.	Voie deux : plateforme CTV alcyne (CTV <sub>a</sub> ) .....	75
1-	Synthèse du CTV <sub>a</sub> <b>14</b> .....	75
a-	Le CTV <sub>OH</sub> <b>9</b> .....	75
b-	Trifonctionnalisation sélective .....	77
2-	Préparation des différents synthons.....	81
a-	Synthèse de chaîne PEG N <sub>3</sub> .....	81
b-	Synthèse du BTD dialcyne <b>29</b> (BTD <sub>a</sub> ) .....	82
3-	Couplages par chimie « click » .....	83
a-	Couplage entre la chaîne PEG <b>46</b> et le BTD <b>29</b> et le CTV <b>64</b> .....	84
b-	Couplage de l'Aryl silane <b>43</b> avec le CTV <b>11</b> suivie de l'insertion des chaînes PEG, du BTD <b>29</b> et du cRGD.....	86
a)	Synthèse de la molécule <b>71</b> .....	86
b)	Insertion des chaînes PEG .....	89
c)	Synthèse du composé <b>73</b> .....	89
d)	Synthèse du composé <b>74</b> .....	90

e) Synthèse du composé <b>60</b> .....	90
4- Analyses de la molécule <b>60</b> .....	92
a- Caractérisation.....	92
b- Propriétés de fluorescence.....	94
c- Tests biologiques .....	95
5- Fluoration .....	97
I. Augmentation de la conjugaison et effet « push-pull ».....	101
II. Changement de fluorophore.....	103
1- Cyanine .....	103
2- BODIPY.....	104
a- BODIPY dialcyne.....	104
b- BODIPY phényle dialcyne.....	107
a) Synthèse .....	107
b) Couplage.....	107
c) Analyses de fluorescence .....	108
Partie expérimentale.....	115
I. Généralités .....	117
1- Solvants et réactifs .....	117
2- Chromatographies.....	117
3- HPLC.....	117
4- Analyses.....	117
5- Méthodes HPLC .....	119
6- Analyses biologiques .....	119
a- Culture cellulaire.....	119
b- Mesure de cytotoxicité .....	119
c- Immunofluorescence.....	120
II. Descriptions des produits synthétisés .....	120
Annexes .....	173
I. Molecule <b>29</b> .....	175
II. Molecule <b>74</b> .....	175
III. Molecule <b>60</b> .....	176
IV. Molecule <b>97</b> .....	176
V. Molecule <b>101</b> .....	177
VI. Molecule <b>109</b> .....	177



## Abréviations

Ach : acétylcholine	DPPA : Azoture de diphénylphosphoryle
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché	DCM : dichlorométhane
Arg : Arginine	ECD : dichroïsme circulaire électronique
Asp : Acide Aspartique	Eq : équivalent
APTS : acide <i>para</i> -toluènesulfonique	ESI : électro spray ionisation
BBC : couplage au bore de Barluenga	FDG : fluorodeoxyglucose
BODIPY : bore-dipyrrrométhène	FLT : desoxy-3'-fluorothymidine
BPO : peroxyde de benzoyle	FLT-MP : FLT-monophosphate
BTD : benzothiazole	FMISO : fluoromisonidazole
CAN : nitrate de cérium et d'ammonium	Fmoc : Fluorénylméthoxycarbone
CCM : chromatographie sur couche mince	GABA : acide gamma-aminobutyrique
Ch : choline	Gly : glycine
CPG : chromatographie phase gaz	GNRs : nanoparticules d'or (gold nanorods)
cRGD : peptide cyclique Arg-Gly-Asp	GP : groupement protecteur
CT-Scan : tomographie	HEPES : acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
CTV : cyclotriviérylène	HER2 : récepteur de croissance de type 2 de l'épiderme humain
CuAAC : cycloaddition de Huisgen	HFIP : hexafluoroisopropanol
Cy : cyanine	HOMO : highest occupied molecular orbital
Cyclo : cyclohexane	HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance
DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène	HRMS : Spectrométrie de masse haute résolution
DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone	IBX : acide 2-iodoxybenzoïque
DHP : dihydropyrane	IO : imagerie optique
DIAD : Diisopropyl azodicarboxylate	IPA : imagerie photoacoustique
Dibal-H : Hydrure de diisobutylaluminium	IRM : imagerie de résonance magnétique nucléaire
DIPEA : diisopropyléthylamine	LUMO : lowest unoccupied molecular orbital
DMF : diméthylformamide	Lys : lysine
DMSO : diméthylsulfoxyde	M : masse molaire
DOPA : Dihydroxyphénylalanine	MALDI : Désorption-ionisation laser assistée par matrice
DOTA : acide dodécane Tetra acétique	MAOs : monoamine oxydases

m-THPC : m-Tetra (hydroxyphenyl)chlorine	SE <sub>ar</sub> : substitution électrophile aromatique
NBS : N-bromosuccinimide	SN <sub>2</sub> : substitution nucléophile de type 2
NIS : N-Iodosuccinimide	SPIO : nanoparticules supramagnétiques d'oxyde de fer
OctαGlc : n-octyl-α-D-Glucopyranoside	SUV : valeur d'absorbance spécifique
OctβGlc : n-octyl-β-D-Glucopyranoside	Ta : température ambiante
OctαMan : n-octyl-α-D-Mannopyranoside	TATE : octreotate
OctβMan : n-octyl-β-D-Mannopyranoside	TBAF : Fluorure de tétra-n-butylammonium
PCC : chlorochromate de pyridinium	TBAI : Tetra-n-butylammonium iodide
PEG : polyéthylène glycole	tBu : <i>tert</i> -butyl
Phe : phénylalanine	TDM : tomodensitométrie
PpIX : Protoporphyrin IX	TEMPO : (2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-1-yl)oxy
Ppm : partie par million	TEP : tomographie par émission de positons
Ptds : phosphatidylsérine	TES : triéthylsilyle
QD : quantum Dot	TFA : acide trifluoroacétique
Quant. : quantitatif	THF : tétrahydrofurane
RAS : radio activité spécifique	TIPS : triisopropylsilyle
Rf : rapport frontal	TMS : triméthylsilane
RMN : résonance magnétique nucléaire	TMSA : triméthylsilyl acétylène
RT : room temperature	UV : ultraviolet

# Introduction



Le diagnostic, le traitement et le suivi thérapeutique des cancers font partie des principaux axes de développement de la science moderne. De nombreuses technologies et techniques ont été mises en place afin d'enrichir les connaissances sur ces maladies qui touchent plus de 17 millions de personnes chaque année dans le monde. Il est aujourd'hui possible, dans un certain nombre de cas, de contrer ces maladies, idéalement dans les stades précoces. Mais, dans le but d'optimiser encore et de systématiser cette prise en charge, il est essentiel de mettre au point de nouvelles techniques d'imagerie pouvant mettre en évidence le développement d'un cancer chez les patients avant d'atteindre un stade critique.

Le cancer est le résultat d'un dysfonctionnement de certaines cellules de l'organisme. Ces dernières vont se multiplier de manière anarchique pour former une tumeur. Celle-ci peut être éliminée de plusieurs manières possibles. La première, l'une des plus répandues, est la chimiothérapie : une substance chimique administrée au patient s'attaque aux cellules en forte multiplication. Des cellules saines à division rapide sont également touchées dans le processus ce qui engendre de nombreux effets secondaires. L'immunothérapie est une version plus ciblée de la chimiothérapie. Elle consiste à stimuler le système immunitaire du patient pour l'inciter à se débarrasser de la tumeur. Ce traitement cible des antigènes spécifiques aux cellules tumorales. C'est une méthode permettant d'éliminer jusqu'à la dernière cellule cancéreuse et pouvant conduire à une guérison définitive. La seconde est la radiothérapie. La tumeur est irradiée à l'aide d'une source radioactive ou d'un accélérateur linéaire de particules. Dans ce cas, des tissus sains sont également traversés par ces rayonnements, ce qui peut occasionner des lésions indésirables. Enfin, la technique la plus utilisée (lorsqu'elle est possible) est la chirurgie. Il en existe différents types, qui peuvent être utilisés dans différents cas selon la partie du corps touchée, la quantité de tissu à enlever et parfois selon les préférences du patient. Ces méthodes peuvent être minimalistes dans le cas où le chirurgien ne fait qu'une petite incision et vient insérer un tube surmonté d'une caméra permettant d'effectuer l'opération en étant vidéo-guidé. Le malade peut également subir une opération plus importante lors d'une chirurgie ouverte au niveau du tissu touché. Cette technique manque de précision. En effet, bien souvent la tumeur n'est pas retirée seule. Pour éviter de laisser des cellules cancéreuses, des tissus sains entourant le cancer sont réséqués, ou même parfois l'organe ou la partie du corps sont entièrement enlevés (notamment pour le cancer du sein ou de la prostate). Dans certains cas, il n'est pas possible d'enlever totalement l'organe ou les cellules non touchées entourant la tumeur. Le chirurgien n'enlève qu'une partie de la tumeur et il est alors indispensable de faire appel à l'une des méthodes citées précédemment.

L'imagerie médicale peut être un puissant outil pour amoindrir les désavantages de la chirurgie. En effet, en aidant à visualiser seulement les cellules cancéreuses, le chirurgien pourrait être capable de les différencier parfaitement des tissus sains et pourrait ainsi gagner en précision lors des tumorectomies. La fluorescence est ici une technique de choix. En injectant une molécule fluorescente, spécifique d'une cible biologique localisée sur les cellules cancéreuses, la délimitation de la tumeur serait alors plus précise et en temps réel.

Afin de réaliser un diagnostic le plus précoce possible, il est nécessaire d'accéder à des données au niveau moléculaire des phénomènes biologiques, *in vivo* et en temps réel. La



## Introduction

Tomographie par Emission de Positrons (TEP) répond parfaitement aux demandes des praticiens et a connu un fort développement au cours de ces dernières années, d'autant qu'il s'agit d'un outil d'une grande sensibilité.

La combinaison de ces deux techniques (TEP et imagerie optique - IO) *via* l'injection d'une seule et même sonde permettrait ainsi non seulement un diagnostic précoce du cancer, mais pourrait également augmenter significativement la précision lors de l'intervention ce qui diminuerait le volume d'ablation chez les patients touchés par la maladie. Un suivi post-opératoire serait également possible afin de vérifier l'absence de récurrence ou de métastases. Cette molécule combinerait donc la possibilité de faire le diagnostic et le traitement du patient.

Le sujet développé au cours de cette thèse vise à mettre au point la synthèse et à caractériser des sondes bimodale TEP/IO ; la TEP, pour permettre l'identification, la localisation de la tumeur ainsi que le suivi post-opératoire, et la fluorescence pour guider lors de la tumorectomie. Ces « briques » seraient organisées autour d'une plate-forme : le cyclotrivératrylène. Cette molécule, présentant trois « bras » permettra de porter à la fois un fluorophore (par exemple un benzothiadiazole), un arylsilane permettant le marquage au  $^{18}\text{F}$  ainsi qu'une molécule responsable de la reconnaissance spécifique. Dans le cadre de cette thèse, seul un cRGD a été utilisé visant à cibler les intégrines  $\alpha_v\beta_3$ , surexprimées dans certains cancers (Figure 1). La stratégie envisagée étant basée sur l'assemblage des différentes parties, comme les pièces d'un puzzle, elle pourrait donner accès à une grande diversité d'applications médicales en termes de cibles biologiques visées et éventuellement pour diverses techniques d'imagerie.

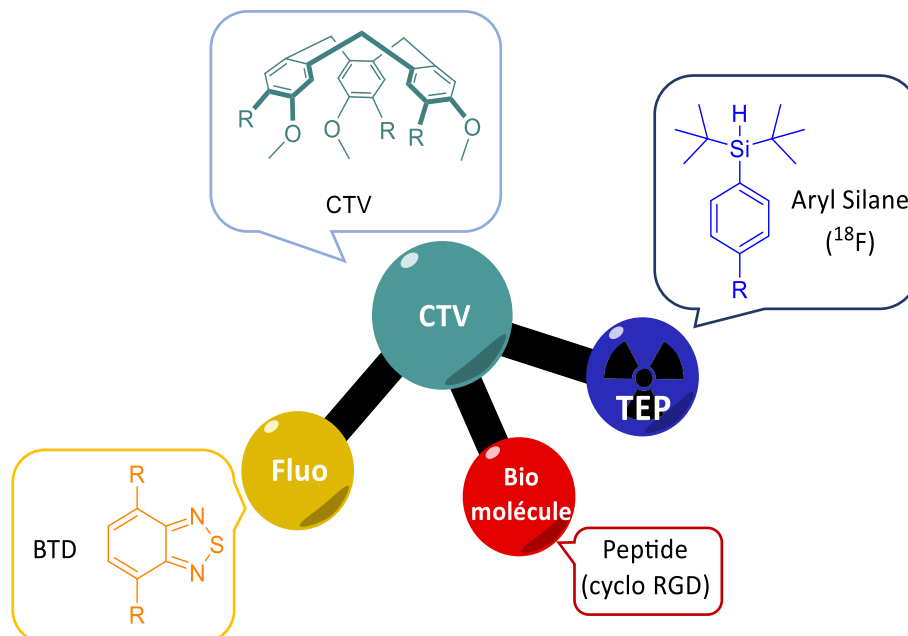


Figure 1 : Représentation schématique de la première sonde bimodale envisagée

Dans la première partie de cette thèse, une brève présentation de l'imagerie médicale et en particulier de l'imagerie bimodale ainsi que de la plateforme CTV sera faite. La synthèse et l'étude de la molécule de première génération seront explicitées en deuxième partie. Pour finir, des voies d'optimisation de cette molécule seront exposées, suivi d'une conclusion.



# Chapitre I - Bibliographie



### Partie A - Imagerie médicale et bimodalité : généralités

#### I. L'imagerie médicale

L'imagerie médicale débute en 1895 par l'utilisation des rayons X par le physicien allemand Röntgen pour obtenir pour la première fois une image du squelette humain. Depuis lors, de nombreuses techniques ont vu le jour. Certaines de ces découvertes ont permis à leurs auteurs de remporter le prix Nobel, notamment en 1979 lorsque ce dernier a été attribué à McCormack et Hounsfield pour le premier appareillage de scanner à rayon X ou bien en 2003, où leur travail sur l'imagerie par résonance magnétique nucléaire a permis à Lauterbur et Mansfield de remporter le prix.

Il existe ainsi de nombreux types d'imagerie médicale, permettant de mieux comprendre et observer le corps humain mais aussi d'identifier et aider le traitement de certaines maladies. La plupart de ces méthodes s'appuient sur la visualisation de mécanismes biologiques. En effet, lorsque le corps est affecté par une maladie, des événements anormaux se déroulent dont la détection va permettre d'affirmer la présence de celle-ci, de la localiser ou de comprendre son fonctionnement.

L'imagerie médicale est ainsi basée sur l'étude des contrastes existants au sein des tissus. Ce contraste peut être naturel pour certains types d'imagerie médicale et lié à la différence de constitution de certaines parties du corps. Les tissus osseux, avec leur différence de densité marquée, ou bien les structures aériques possèdent un contraste naturel élevé. Il sera donc possible d'obtenir des résultats assez nets et exploitables pour un diagnostic avec certaines imageries médicales (en radiologie par exemple). D'autres tissus, notamment les tissus mous, n'ont pas une différence de densité assez marquée. Il est alors nécessaire d'introduire un agent de contraste, qui va créer un contraste supplémentaire et/ou artificiel.<sup>[1]</sup>

Ces dernières années, afin d'acheminer ces agents de contraste dans le tissu visé, les chimistes ont cherché à développer des sondes portant un élément de reconnaissance capable de se fixer spécifiquement sur une cible biologique pertinente pour le diagnostic de la pathologie étudiée.

Dans la suite de cette partie, différents types d'imagerie médicale seront présentés accompagnés d'exemples de sondes, notamment pour la TEP et l'IO.

##### 1- L'imagerie de résonance magnétique nucléaire (IRM)

L'IRM est une méthode d'imagerie donnant accès à des images anatomiques en 2 ou 3D du corps. Cette méthode est basée sur le même principe que la RMN (Résonance Magnétique Nucléaire). Les protons de l'eau des différentes parties du corps entrent en résonance avec le champ magnétique créé par un aimant, permettant de renvoyer un signal

## Chapitre I - Bibliographie

de fréquence radio capté par un détecteur. Ce dernier traduit le signal en image, d'après les différences de signaux observées. L'obtention d'une image est un processus particulièrement long. Il est possible d'acquérir des images grâce aux contrastes naturels du corps ou d'introduire un agent de contraste afin d'augmenter la qualité des images. Les praticiens pourront acquérir des données essentiellement sur les organes ou de la graisse, soit les tissus mous, avec une sensibilité moyenne de  $10^{-3}$  à  $10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup> mais avec une très bonne résolution spatiale.<sup>[2]</sup> Il est possible d'utiliser cette méthode avec des sondes qui permettront de cibler des organes *via* l'introduction d'un traceur visant des biomolécules et ainsi détecter des pathologies.

Le Dotarem (acide Gadotérique) est l'agent de contraste utilisé en routine. Il est surtout utilisé en cancérologie et pour identifier et visualiser des phénomènes anormaux touchant la barrière hémato-encéphalique ou des problèmes de circulation sanguine dans le cerveau, la colonne vertébrale et les tissus associés. Il est formé d'un macrocycle portant un gadolinium chélaté en son centre (Figure 2). Son moment magnétique obtenu une fois placé dans un champ magnétique améliore le taux de relaxation des protons de l'eau aux alentours. Le contraste de ces tissus se retrouve alors amélioré.<sup>[3]</sup>



Figure 2 : Structure de l'acide gadotérique – IRM axiale d'un cerveau comportant une tumeur dans le mésencéphale A) avant injection du DOTAREM et B) après l'injection.<sup>[4]</sup>

De nombreuses sondes ont été développées utilisant le gadolinium, permettant d'être plus spécifique de certains phénomènes. L'équipe de Angelovski *et. al.* a par exemple développé une sonde à détection rapide et en temps réel de l'ischémie cérébrale. Les fluctuations des ions calcium, impliqués dans la maladie, sont ici visées. En utilisant un complexe chélaté avec un gadolinium (III) paramagnétique, le contraste se retrouve modifié lorsque le composé entre en contact avec les ions calcium. Les images obtenues permettent d'identifier et de localiser la maladie dans un stade encore réversible (Figure 3).<sup>[5]</sup>

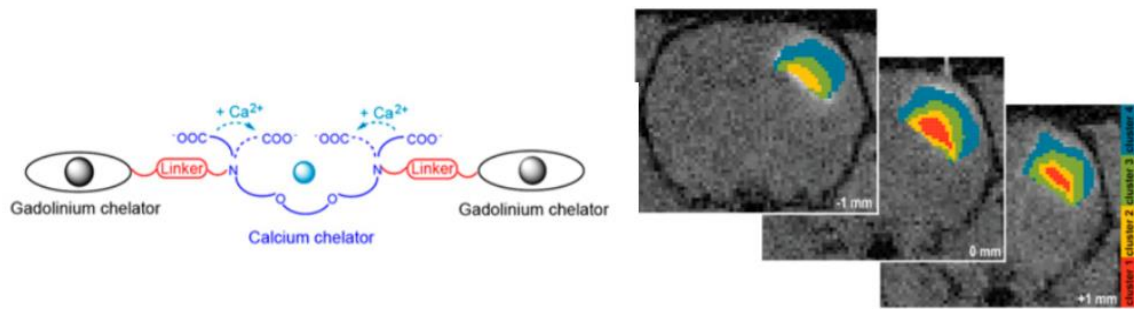


Figure 3 : Mécanisme du complexe de Gadolinium en présence d'ions calcium et images du cortex somatosensoriel d'un rat atteint d'ischémie en présence de la sonde au gadolinium.

D'autres agents de contrastes ont vu le jour peu après le développement des complexes au gadolinium. Il s'agit des nanoparticules supramagnétiques d'oxyde de fer (SPIO). En les comparant à l'utilisation du gadolinium, elles présentent des avantages :

- Le temps de relaxation  $T_2$  permettant d'obtenir le contraste est drastiquement raccourci ce qui permet d'augmenter la qualité des images et de contrer le manque de stabilité d'autres agents de contraste de l'IRM.
- Le fer étant biodégradable et biocompatible, il n'y a pas de problème de toxicité.
- Leur surface est généralement composée de dextrane, un polymère ramifié de dextrose et formant des liaisons directes avec des groupements fonctionnels et des ligands.<sup>[6]</sup>

Leur utilisation est très variée, allant de la détection d'inflammation induite,<sup>[7]</sup> d'infarctus du myocarde,<sup>[8]</sup> ou de carcinomes<sup>[9]</sup> à des applications en cancérologie. L'équipe de Brindle a par exemple développer des SPIO permettant de détecter l'apoptose de cellule dans des stades précoces.<sup>[10]</sup> Les nanoparticules ont été liées à des protéines Ptds (phosphatidylsérine), redistribuées de l'intérieur vers l'extérieur de la membrane plasmique au début de l'apoptose. Des expériences *in vitro* ont été menées sur des lymphomes (EL4) de souris. Ces souris ont été traitées avec une combinaison de cyclophosphamide et d'etoposide pour augmenter le niveau d'apoptose dans la tumeur. Une perte progressive du signal a été observée dans une zone bien définie autour de la tumeur, témoignant du phénomène (Figure 4).

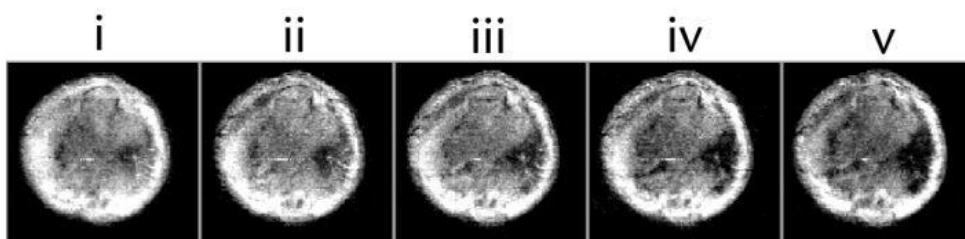


Figure 4 : image RM d'une tumeur i) avant l'injection de l'agent de contraste SPIO ii-v) puis à respectivement 11, 47, 77 et 107 min après l'injection



## Chapitre I - Bibliographie

### 2- Tomodensitométrie (CT-scan)

La tomodensitométrie, aussi appelée scannographie ou CT-scan repose sur l'utilisation des rayons X. Le patient est soumis à des rayons X, plus ou moins absorbés par les différentes parties du corps. Le contraste naturel est utilisé, mais il est également possible d'injecter des agents de contrastes polyiodés ou à base de baryum afin d'obtenir de meilleures images (Figure 5).

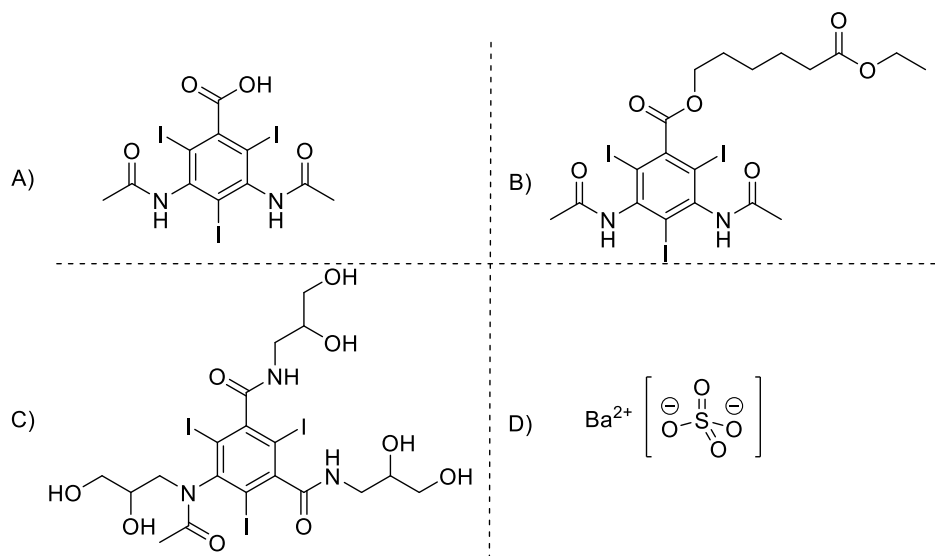


Figure 5 : Exemples d'agents de contraste pour le CT-scan - A) Diatrizoate (Hypaque) - B) N1177 - C) Iohexol (Omnipaque) - D) Baryum sulfate

L'appareillage émet des rayons qui traversent les différentes couches du matériel biologique. L'émetteur tourne autour du patient et du détecteur afin d'obtenir des images de coupes du corps.<sup>[11]</sup> Une reconstruction en 2D ou 3D est ensuite obtenue grâce à la tomographie par ordinateur, qui consiste à reconstruire le volume d'un objet d'après des mesures effectuées depuis l'extérieur de l'objet.<sup>[12]</sup> Le CT-scan est utilisé dans plusieurs cas :

- Lors du diagnostic : pour les os, les organes internes, des problèmes de flux sanguins, les infarctus ou en cancérologie.
- Lors du suivi du patient, pour suivre l'évolution par exemple d'une tumeur avant et après traitement.

Cette technique possède une bonne résolution (50  $\mu\text{m}$ ) mais l'utilisation de rayons X peut être à l'origine de cancers radio-induits. De bonnes images des poumons et des os peuvent être obtenues, mais cette technique possède une très mauvaise résolution dans les tissus mous et présente une sensibilité moyenne de  $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$  (Figure 6).

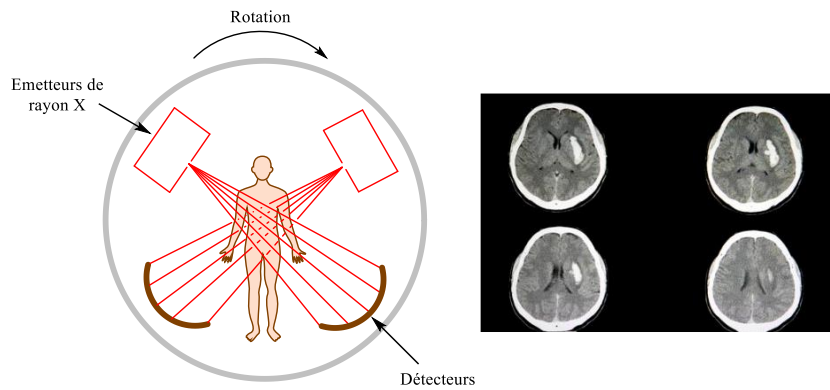


Figure 6 : Fonctionnement du scanner et image obtenue d'une lésion au cerveau

C'est une technique qui manque également de spécificité. Il n'est en effet pas possible de viser précisément un tissu en particulier. Les agents de contraste ajoutés peuvent éventuellement pallier ce problème, en augmentant le contraste d'une cible, elle sera détectée plus facilement par le CT scan qui donnera des images plus nettes ; une certaine spécificité sera mise en place. Ce problème est particulièrement présent pour l'angiographie. Des agents de contraste sont systématiquement employés pour visualiser les flux sanguins. Doerfler *et. al.* a étudié cette méthode pour le diagnostic d'anévrisme cérébraux.<sup>[13]</sup> Grâce à l'administration intraveineuse d'un agent de contraste (Imeron 400), les images mettent en valeur la présence d'une thrombose qui disparaît suite au traitement (Figure 7).

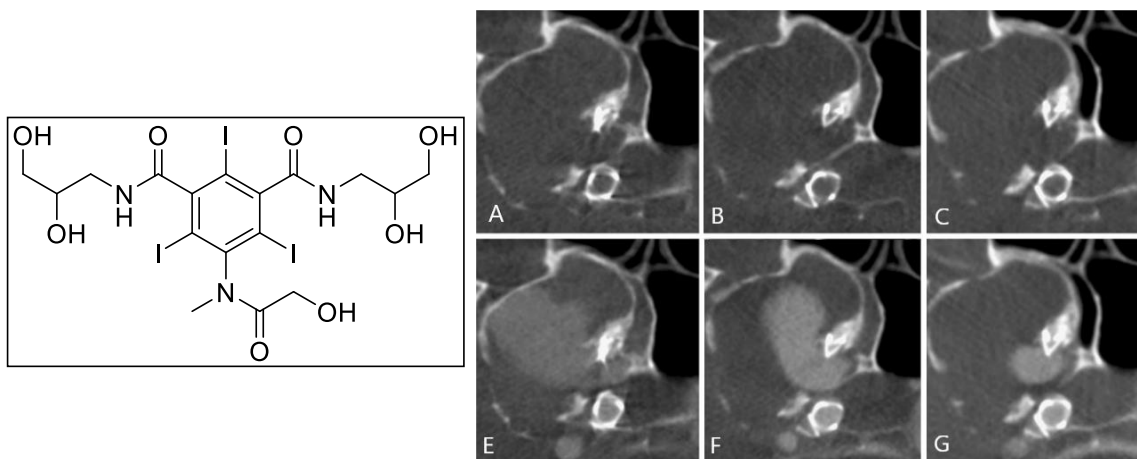


Figure 7 : Agent de contraste Imeron et images d'un anévrisme traité avec un dispositif de déviation Silk flow - A-C) avant injection de l'agent de contraste - B-G) après injection de l'agent de contraste, sur un suivi avant le traitement (A et E), puis après trois mois (B et F) et après neuf mois (C et G).

### 3- Imagerie à ultrasons (échographie)

Des ondes soniques avec une fréquence supérieure à 20 000 Hz sont envoyées à la surface du corps. L'écho de ces ondes est capté pour former une image contrastée de l'anatomie. C'est ainsi que fonctionne l'imagerie à ultrason, qui permet d'observer des phénomènes vasculaires, des muscles, tendons, ou des organes internes. Les mesures sont effectuées à partir d'un appareil portable et en temps réel avec une résolution de 50  $\mu\text{m}$  et une sensibilité plutôt bonne de  $10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ . La différence d'impédance des tissus est utilisée comme contraste. Les images obtenues peuvent donc être plus ou moins exploitables selon le praticien, le positionnement de la sonde étant manuel. Le physique du patient entre également en compte pour la netteté des images : tout le corps n'est pas accessible, les ondes ne traversant qu'avec difficulté les os ou la graisse (Figure 8).<sup>[12]</sup>

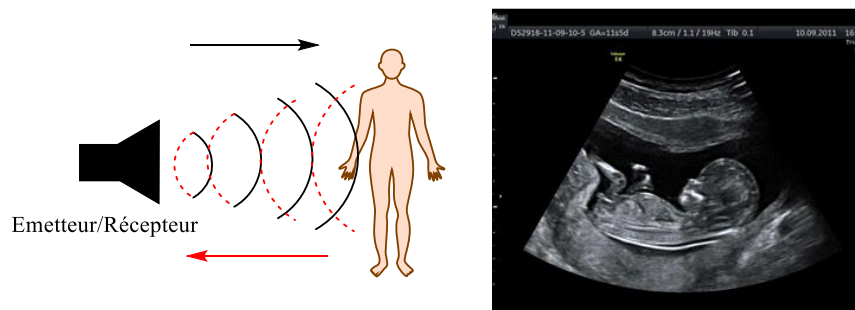


Figure 8 : Principe de l'échographie et image du fœtus

Cette technique est particulièrement utilisée en gynécologie : la différence de résistance des tissus du fœtus face aux ondes forme un contraste parfait avec les tissus l'entourant, ce qui permet le suivi de la grossesse.

Pour améliorer le contraste lors des examens, des agents de contraste peuvent être utilisés. Il existe par exemple des microbulles, des particules constituées d'un cœur en gaz (par exemple  $\text{C}_4\text{F}_{10}/\text{N}_2$ ) entouré d'une monocouche lipidique (Figure 9). L'injection de bulles de gaz permet la diffusion de l'onde dans le milieu, et augmente le contraste. Ces agents peuvent être conjugués à un vecteur (comme la streptavidine) pour viser des tissus en particulier ou non vectorisés, pour visualiser le flux sanguin.<sup>[14]</sup>

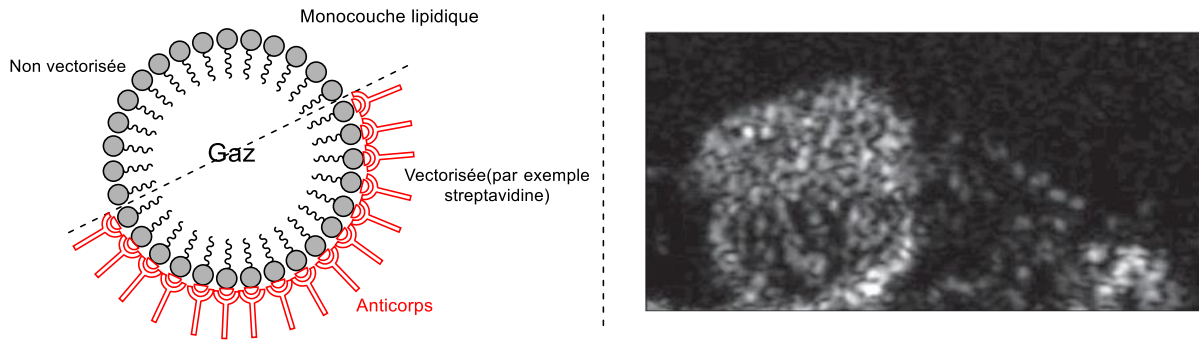


Figure 9 : Schéma d'une microbulle non vectorisée ou vectorisée par de la streptavidine et image d'une tumeur (adénocarcinome d'une souris) par imagerie d'ultrason via l'utilisation de microbulles vectorisées pour atteindre les récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire

#### 4- Imagerie photoacoustique

En combinant la spectroscopie et l'échographie, il a été possible de développer une nouvelle méthode d'imagerie médicale, la photoacoustique. Un laser émet des pulsations dans un corps. L'énergie apportée va être absorbée par les tissus et convertie en chaleur, menant à l'émission d'ondes ultrasoniques. Ces dernières sont captées et transformées en image (Figure 10).<sup>[15]</sup> Ce type d'imagerie peut également donner des images en 3D d'un microenvironnement cellulaire. Les informations obtenues peuvent ainsi être fonctionnelles et structurales.<sup>[16]</sup> Cette technique permet de détecter notamment des lésions cérébrales et d'établir des diagnostics en cancérologie, avec un compromis acceptable entre une bonne résolution (50  $\mu\text{m}$ ) et une sensibilité correcte ( $10^{-12}$  mol.L<sup>-1</sup>). Les applications sont très prometteuses. Il s'agit d'une imagerie hybride, entre l'optique et les ultrasons, mais sa capacité à obtenir des images avec une bonne résolution à plusieurs centimètres de profondeur la rend plus attrayante que l'imagerie optique seule. Son principe repose sur l'absorption optique de chromophore présents dans les tissus (hémoglobine, lipide, mélanine...). Si le contraste endogène n'est pas exploitable, par exemple lorsqu'un chromophore doit être quantifié mais qu'un autre émet dans le même spectre d'absorption, il est alors possible d'utiliser des agents de contrastes.<sup>[17]</sup> Ces derniers peuvent être des molécules très simples, comme l'indocyanine verte, l'ICG<sup>[18]</sup> ou le bleu de méthylène ou bien plus compliquées, sous forme de sondes ou de nanoparticules à base de métaux nobles.<sup>[19]</sup>

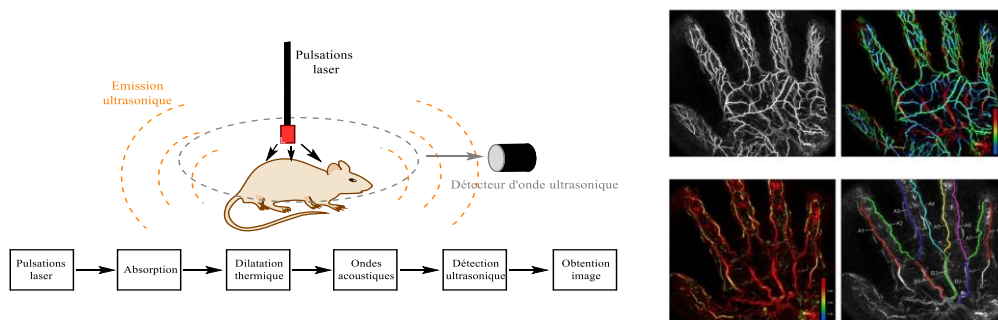


Figure 10 : Principe de l'imagerie photoacoustique et images des vaisseaux sanguins de la main

## Chapitre I - Bibliographie

L'imagerie photoacoustique n'est en revanche encore qu'au stade de la recherche, son utilisation en routine n'est pas encore possible.

### 5- Tomographie par émission de positrons (TEP)

La Tomographie par Emission de Positons (TEP) est un examen isotopique utilisant des éléments émetteurs de particules  $\beta^+$ . Un radiotracer contenant l'atome radioactif est injecté au patient qui est ensuite placé sous une couronne de détecteur. En se désintégrant, l'atome radioactif émet un positon  $\beta^+$ , qui va rencontrer un électron en parcourant très brièvement la matière (quelques millimètres), provoquant son annihilation. Deux rayonnements  $\gamma$  sont alors émis à  $180^\circ$  l'un de l'autre, captés par les détecteurs placés tout autour du corps permettant ainsi de déterminer la position exacte du radiotracer et après un traitement informatique, de reconstruire des images de la zone concernée (Figure 11).

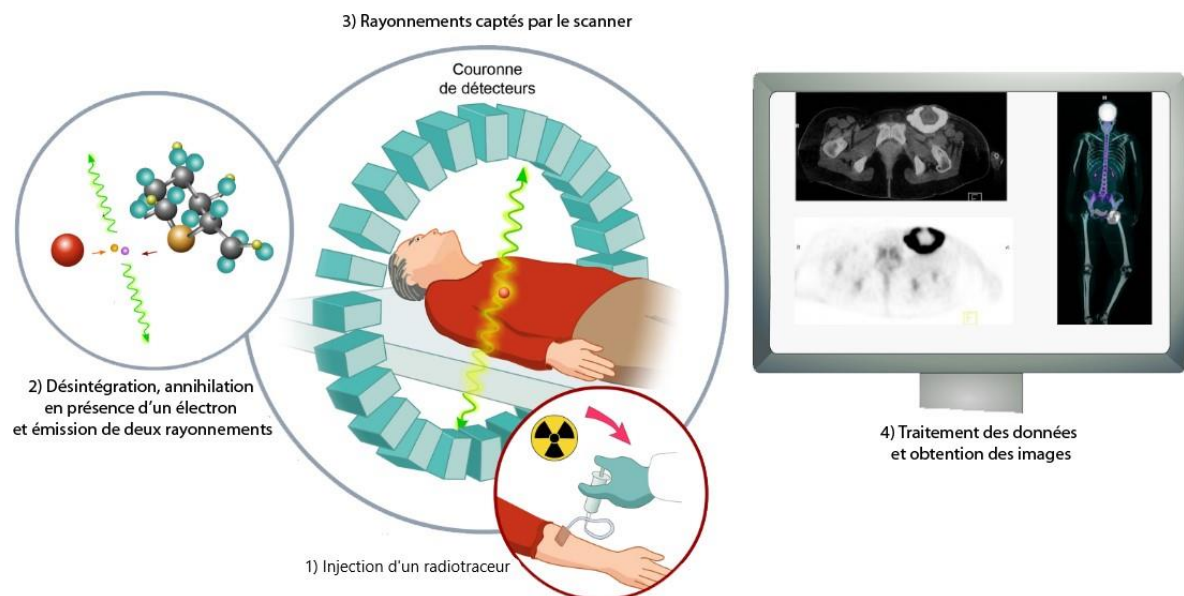


Figure 11 : Principe de la TEP

La TEP présente une bonne résolution de 1 à 2 mm et une grande sensibilité de  $10^{-15}$  mol.L<sup>-1</sup>. Cette caractéristique permet d'injecter une faible quantité du radiotracer et ainsi ne pas dépasser les doses de radioactivités tolérées par le corps (0,1 à 1 GBq.mol<sup>-1</sup> pour l'homme et 20 à 200 MBq.μmol<sup>-1</sup> pour le petit animal). De plus, il est possible de visualiser des cibles en faible concentration, contrairement à l'IRM où la concentration élevée du traceur injecté ne permet pas de visualiser de petites cibles. Un diagnostic plus précoce est ainsi réalisable.

Il existe différents isotopes émetteurs  $\beta^+$  (<sup>15</sup>O, <sup>13</sup>N, <sup>89</sup>Zr ou <sup>82</sup>Rb) mais les plus fréquemment utilisés sont le <sup>18</sup>F, <sup>11</sup>C, <sup>68</sup>Ga et le <sup>64</sup>Cu (Tableau 1). Le <sup>18</sup>F est particulièrement intéressant en TEP, son temps de demi-vie est en effet plus long que celui de la plupart des isotopes (jusqu'à 110 minutes) tout en ayant une RAS (Radio Activité Spécifique) acceptable.

Tableau 1 : Caractéristiques des principaux radioéléments émetteurs  $\beta^+$

Radioélément	Période (min)	RAS théorique (GBq/mol)	Parcours maximal eau (mm)	Mode de décroissance (%)	Produit de désintégration
$^{18}\text{F}$	109,8	$6,33 \cdot 10^{10}$	2,4	$\beta^+$ (96,9)	$^{18}\text{O}$
$^{11}\text{C}$	20,4	$3,41 \cdot 10^{11}$	4,1	$\beta^+$ (99,8)	$^{11}\text{B}$
$^{13}\text{N}$	9,96	$6,98 \cdot 10^{11}$	5,4	$\beta^+$ (100)	$^{13}\text{C}$
$^{15}\text{O}$	2,08	$3,36 \cdot 10^{12}$	8,2	$\beta^+$ (99,9)	$^{15}\text{N}$
$^{68}\text{Ga}$	68,1	$1,02 \cdot 10^{11}$	3,1	$\beta^+$ (89)	$^{68}\text{Ge}$
$^{64}\text{Cu}$	762	$9,13 \cdot 10^9$	1,4	$\beta^+$ (59)	$^{64}\text{Ni}$

Le design d'un radiotraceur doit prendre en compte un certain nombre de paramètres. Le radioélément doit être choisi selon les applications prévues. L'oxygène-15, qui possède une demi-vie très courte (2 min) sera par exemple utilisé pour étudier des processus biologiques rapide alors que le  $^{18}\text{F}$  ou le  $^{11}\text{C}$  peuvent être appliqués à des suivis plus longs. Le schéma de synthèse est également contraint à quelques particularités. Le court temps de radiation oblige à insérer l'isotope le plus tard possible sur la molécule. Son emplacement au sein de la sonde est donc très important. L'idéal est de pouvoir l'introduire en toute dernière étape. Lorsqu'une molécule est radiomarquée, les méthodes d'analyses spectroscopiques classiques comme la RMN ou l'IR ne sont pas envisageables. Il faut utiliser d'autres techniques comme l'HPLC, la CPG ou les CCM. Il est important que le radiotraceur soit chimiquement et radiochimiquement pur afin d'éviter des effets indésirables lors de son injection dans l'organisme. Sa fixation ne doit également pas modifier les propriétés biologiques de la cible.<sup>[20]</sup>

Les radioisotopes émetteurs  $\beta^+$  se divisent en deux classes : les isotopes métalliques ( $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ) et les non métalliques ( $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ). Les éléments métalliques sont introduits sur les molécules par coordination. Cette stratégie nécessite l'introduction d'un groupement chélatant pour complexer le métal.<sup>[21,22]</sup>

Le marquage par liaison covalente permet d'introduire les isotopes non métalliques. Le couplage doit être relativement rapide, au vu des courts temps de demi-vie. Le marquage de biomolécules au carbone-11 est très attractif. En effet, le carbone est très présent dans les composés naturels ou les principes actifs. En revanche, la diversité des fonctions présentes sur les macromolécules oblige une synthèse longue, le couplage direct d'un précurseur marqué au carbone-11 est donc impossible. Quelques exemple de marquage de macromolécules existent tout de même, utilisant des précurseurs réagissant de manière spécifique avec certains sites de biomolécule.<sup>[23-26]</sup> Le fluor-18 est très intéressant pour pallier à ces problèmes, son temps de demi-vie et sa RAS représentant un meilleur compromis.

## Chapitre I - Bibliographie

La TEP trouve actuellement ses applications en cancérologie, neurologie ou cardiologie. Ainsi, il est possible par exemple de déterminer si un cancer est présent chez un patient, de le localiser, de l'identifier et également de procéder à un suivi post-traitement pour éviter les récives.<sup>[27]</sup> De plus, les radioéléments utilisés sont biocompatibles, les isotopes  $^{11}\text{C}$ ,  $^{15}\text{O}$  ou  $^{13}\text{N}$  étant par exemple des constituants majeurs de la matière organique.

Il n'existe à ce jour que quatre radiopharmaceutiques possédant l'AMM utilisés en cancérologie, utilisant essentiellement le fluor-18 avec un seul exemple avec le carbone-11 : le 2-désoxy-2- $^{18}\text{F}$ fluoro-D-glucose ( $^{18}\text{F}$ -FDG), la 6- $^{18}\text{F}$ fluoro-L-DOPA ( $^{18}\text{F}$ -L-DOPA), la  $^{18}\text{F}$ fluorocholine ( $^{18}\text{F}$ -FCH) et le  $^{18}\text{F}$ fluorure de sodium ( $^{18}\text{F}$ -NaF). Quelques traceurs sont également utilisés en routine pour le diagnostic sans AMM, comme le  $^{18}\text{F}$ -fluoroisonidazole ( $^{18}\text{F}$ -FMISO), la  $^{11}\text{C}$ -méthionine ( $^{11}\text{C}$ -Met) ou la 3'-désoxy-3'- $^{18}\text{F}$ fluorothymidine ( $^{18}\text{F}$ -FLT).

### a- Les radiotraceurs utilisés en routine

#### a) $^{18}\text{F}$ -FDG

Le  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglucose est le radiotraceur utilisé en routine pour le diagnostic du cancer (Figure 12).

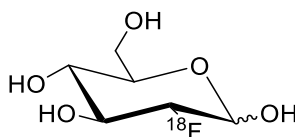


Figure 12 :  $^{18}\text{F}$ -FDG

Il s'agit d'un biomarqueur des métabolites du glucose. Une fois injectée, la molécule pourra entrer facilement au sein des cellules *via* des transporteurs au glucose. La consommation de glucose étant particulièrement élevée dans les cellules cancéreuses, une accumulation du FDG se produit dans les cellules ciblées. Il est alors possible d'identifier la nature cancéreuse d'un tissu, puis par la suite de contrôler les récives et les réponses à un traitement. Ce radiopharmaceutique n'est en revanche pas assez spécifique. Le taux de glucose peut également être anormalement élevé dans de nombreux autres cas comme lors d'infection ou d'inflammation, ou plus généralement dans les organes qui en consomment une grande quantité comme le cerveau. De plus, certaines tumeurs, dites hypométaboliques, ne surconsomment pas de glucose, comme les carcinomes rénaux, elles seront donc indétectables par le FDG.<sup>[28]</sup>

#### b) $^{18}\text{F}$ -L-DOPA

La dopamine est un neurotransmetteur du système nerveux central (Figure 13). Les dysfonctionnements du système dopaminergique sont impliqués dans plusieurs maladies neurologiques, comme la maladie de Parkinson ou la schizophrénie. Les neurones du

système nerveux périphérique produisent également cette molécule. Des tumeurs peuvent apparaître dans cette région, qui peuvent parfois fabriquer de la dopamine en quantité anormalement élevée.<sup>[29]</sup>

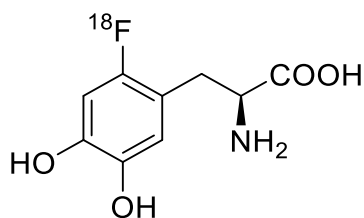


Figure 13 : [<sup>18</sup>F]-L-DOPA

La [<sup>18</sup>F]-L-DOPA est ainsi un bon marqueur permettant d'étudier l'activité dopaminergique des neurones ainsi que de détecter de potentielles tumeurs neuroendocriniennes.

En revanche, sa métabolisation est identique à celle de la L-DOPA. La formation d'un intermédiaire 3-méthoxy-<sup>[18</sup>F]fluorodopamine est ainsi observée. Cette molécule pénètre dans le cerveau et provoque une augmentation du bruit de fond ainsi qu'une diminution du contraste ; l'analyse des images obtenues est donc compliquée.<sup>[30]</sup>

### c) [<sup>18</sup>F]-FCH

La choline est une molécule simple jouant un rôle essentiel dans la biosynthèse des phospholipides, constituants fondamentaux des membranes cellulaires (Figure 14). Lors de ce processus, la choline kinase transforme la choline en phosphatidylcholine, un premier métabolite. Le développement de tumeurs malignes s'accompagne d'une augmentation de l'activité de la choline kinase, la prolifération cellulaire étant accrue. Le marquage d'un dérivé de la choline peut donc s'avérer très utile pour suivre la multiplication cellulaire anormale.<sup>[31]</sup>

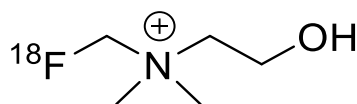


Figure 14 : [<sup>18</sup>F]-FCH

Ainsi, la [<sup>18</sup>F]-FCH permet le diagnostic des cancers de la prostate et des métastases osseuses. Ce radiopharmaceutique s'avère dans ces cas plus spécifique que le [<sup>18</sup>F]-FDG, car ce type de cellules cancéreuses contient plus de métabolites de la choline que les cellules normales.<sup>[32,33]</sup>



## Chapitre I - Bibliographie

---

### d) [<sup>18</sup>F]-NaF

Le [<sup>18</sup>F]fluorure de sodium est le premier radiopharmaceutique. Il fut utilisé par l'équipe de Bender en 1962 comme radiotraceur osseux.<sup>[34]</sup> Une fois dans le sang, le fluorure de sodium se dissocie en ions fluorures. Lorsque ces derniers sont radioactifs (<sup>18</sup>F), il est alors possible de suivre le métabolisme osseux, les échanges osmotiques ou la formation de fluorapatite. Le [<sup>18</sup>F]-NaF permet donc le diagnostic de métastases osseuses, et de troubles dorsolombaires. En revanche, les images obtenues n'apportent rien de plus que celles données par l'IRM. La TEP ne sert dans ce cas qu'à confirmer le diagnostic.<sup>[35]</sup>

### e) [<sup>18</sup>F]-FMISO

Le [<sup>18</sup>F]fluoromisonidazole a été développé en 1981 par l'équipe de Sharplin afin de visualiser l'hypoxie tumorale *in vivo* (Figure 15).<sup>[36]</sup> Il est aujourd'hui, bien qu'il ne possède pas l'AMM, l'un des radiotraceurs les plus utilisés notamment pour le diagnostic de cancers pulmonaires, de tumeurs aérodigestives et des glioblastomes.<sup>[37]</sup>

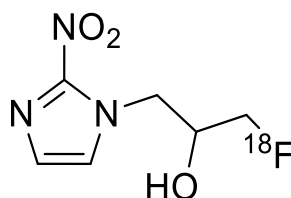


Figure 15 : Structure du [<sup>18</sup>F]-FMISO

Une fois dans les cellules, ce radiotraceur est métabolisé et réduit par la nitroreductase intracellulaire. Il pourra ensuite se lier sélectivement aux macromolécules dans les cellules hypoxiques. Le [<sup>18</sup>F]-FMISO diffuse malgré tout dans les cellules saines. Les temps d'analyse des données métaboliques pour différencier les tissus sains des tissus malades sont donc très longs.<sup>[38]</sup>

### f) [<sup>18</sup>F]-FLT

Plus récemment, la <sup>18</sup>F-desoxy-3'-fluorothymidine a été synthétisée (Schéma 1). La FLT est initialement utilisée comme agent antiviral.<sup>[39]</sup> Ce radiotraceur est spécifique de la prolifération cellulaire et de l'apoptose, phénomènes anormaux dans les cellules tumorales.

L'équipe de Togashi a évalué la capacité de ce radiotraceur à détecter des tumeurs du cerveau.<sup>[40]</sup>

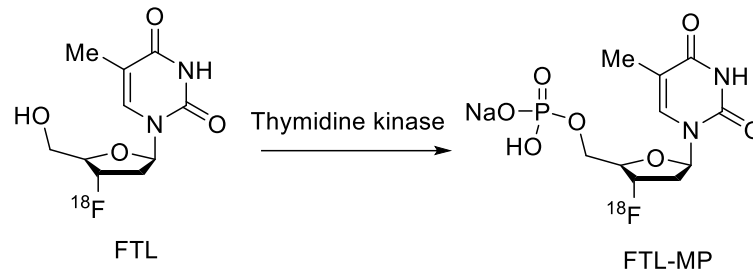


Schéma 1 :  $[^{18}\text{F}]$ -FLT et phosphorylation

Dans la cellule, cette molécule est phosphorylée par la thymidine kinase en FLT-monophosphate (FLT-MP). Sous cette forme, le radiotracer pourrait rester bloqué dans la cellule. Cette kinase est très présente dans les cellules en prolifération. Ce phénomène étant exacerbé dans les tumeurs, il est possible de déterminer leur présence et leur emplacement par imagerie TEP en localisant les endroits où s'accumule le radiotracer.<sup>[41]</sup> Ils ont ainsi pu observer plusieurs types de tumeurs, comme un gangliogliome du cervelet (Figure 16-A) ou un astrocytome pilocytaire (Figure 16-B).

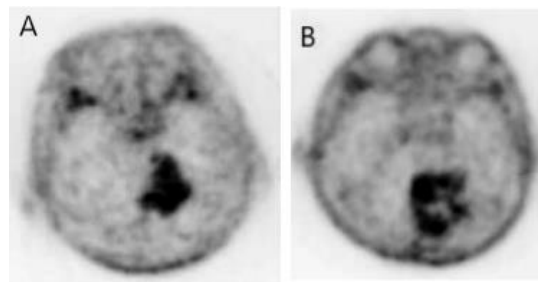


Figure 16 : Imagerie TEP avec la sonde  $[^{18}\text{F}]$ -FLT : A- gangliogliome du cervelet B- astrocytome pilocytaire

En revanche, les auteurs ont constaté que la sonde pouvait également présenter des faux-positifs. En effet, des lésions non tumorales ou des granulomes ont entraîné une accumulation de la sonde. Ces maladies entraînent des perturbations de la barrière hémato-encéphalique. La molécule peut ainsi la traverser conduisant à un faux positif. Certains traitements provoquent également ces perturbations comme la chirurgie ou les thérapies radiatives. Cette sonde présente donc des limitations et son utilisation est restreinte lors de la présence de lésions cérébrales bénignes ou lorsqu'un traitement particulier a été appliqué au patient.

La  $[^{18}\text{F}]$ -FLT affiche effectivement un manque de sélectivité comparé au  $[^{18}\text{F}]$ -FDG.<sup>[42]</sup> Elle reste néanmoins spécifique de certains cancers, notamment celui du sein.

#### g) $[^{11}\text{C}]$ -Met

Le carbone-11 possède une courte demi-vie de 20,4 min. Les contraintes techniques et économiques que cela engendre font qu'aucun radiotracer marqué au carbone-11 n'a

## Chapitre I - Bibliographie

obtenu l'AMM. Les conditions d'introduction d'un carbone-11 sur une molécule sont pourtant largement étudiées, et des recherches ont abouti au développement de traceurs utilisés pour le diagnostic oncologique, comme l' $[^{11}\text{C}]$ acétate, la  $[^{11}\text{C}]$ choline ou bien la  $[^{11}\text{C}]$ méthionine.<sup>[43]</sup>

La méthionine est un acide aminé impliqué dans la synthèse protéique et la fabrication de dérivés de la cystéine (Figure 17). Dans les cellules tumorales, le taux de méthionine augmente. La  $[^{11}\text{C}]$ -Met peut alors être utilisée, notamment pour le diagnostic de tumeurs cérébrales, l'hyperparathyroïdie ou le cancer du poumon.<sup>[44]</sup>

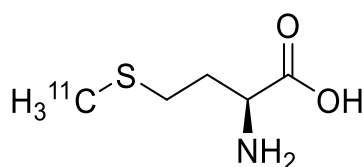


Figure 17 : Structure de la  $[^{11}\text{C}]$ -Met

Les radiotraceurs présentés ici ne sont utilisables que sur de petites molécules, dû à leur manque de spécificité. Sur des molécules plus imposantes, la variété de groupements fonctionnels rend le radiomarquage compliqué. Il a ainsi été essentiel de développer de nouveaux radiotraceurs permettant de tracer des macromolécules.

### b- Méthodes de radiomarquage de biomolécules

Comme dit précédemment, le meilleur compromis est l'utilisation du fluor-18 dans le cadre en particulier du marquage de biomolécule. Le fluor-18 peut être obtenu en sortie de cyclotron soit sous forme de  $\text{F}_2$  (électrophile) soit sous forme de  $\text{KF}$  (nucléophile). Son introduction sur des biomolécules peut être réalisée *via* deux voies : indirecte et directe.

#### a) Fluoration indirecte

La  $\text{S}_{\text{N}}2$  est la méthode la plus utilisée pour l'introduction de fluor-18, et fonctionne très bien pour de petites molécules malgré des conditions dures (température, pH). Sur des biomolécules, cette synthèse est plus compliquée. L'utilisation de groupements prosthétiques est ainsi une bonne solution pour pallier ce problème de synthèse. Ces groupements sont en général des synthons simples bifonctionnels, avec un premier site réactif permettant l'introduction du fluor et le second permettant l'étape de bioconjugaison (Schéma 2).

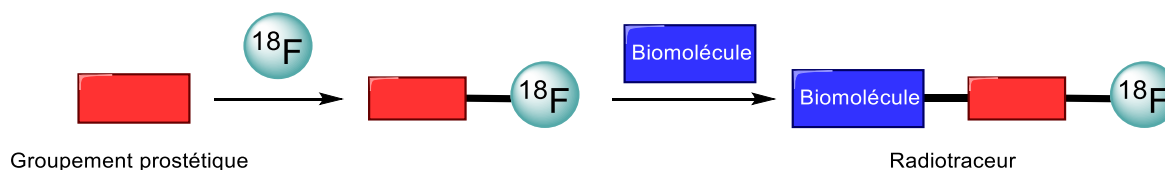


Schéma 2 : Synthèse de radiotraceurs via la fluoration indirecte

### b) Fluoration directe

La fluoration directe d'une molécule peut être effectuée en insérant un fluor-18 directement au sein d'un composé *via* une liaison carbone-fluor.<sup>[49-51]</sup> Mais les nombreux groupements fonctionnels des biomolécules ne permettent pas une fluoration sélective dans le cas de ce genre de liaison. Les liaisons avec un élément non carboné, plus sélectives, seront donc plus utilisées pour le marquage de biomolécule, notamment des liaisons avec le bore,<sup>[52]</sup> l'aluminium,<sup>[53]</sup> ou le silicium.

La formation de la liaison silicium-<sup>[18F]</sup>fluor pour le marquage est la voie radiochimique la plus aboutie pour le marquage en dernière étape de synthèse. C'est en 1958 que cette liaison a été étudiée pour la première fois, afin de mieux comprendre les échanges isotopiques ayant lieu entre des métaux fluorés et le tétrafluorure de silicium.<sup>[54]</sup> La liaison Si-F est légèrement plus énergétique que la liaison Si-C, mais sa résistance contre l'hydrolyse est très faible, du fait de sa forte polarisation. De nombreuses études de stabilité *in vivo* ont mené au développement de dérivés portant des groupements plus volumineux, notamment le groupement *tert*-butyl (Figure 18).<sup>[52,55,56]</sup>

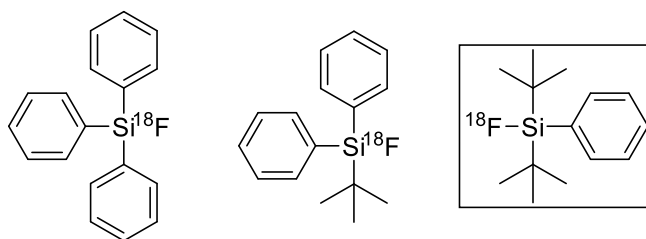


Figure 18 : Structure des différents <sup>[18F]</sup>fluorosilanes évalués *in vivo*

Ces molécules ne sont que très peu hydrolysées en conditions physiologiques et présentent une forte lipophilie conduisant à une métabolisation massive dans le foie. Le composé <sup>[18F]</sup>di-*tert*-butylphénylsilane révèle une meilleure stabilité *in vivo* par rapport aux autres dérivés. Le précurseur de cette molécule est l'arylsilane, où un hydrogène servira de groupement partant pour former la liaison silicium-fluor.

L'introduction d'arylsilanes sur des biomolécules a permis de réaliser des marquages en dernière étape sur des biomolécules totalement déprotégées. Wängler *et. al.* a par exemple pu développer des arylsilanes portant un peptide TATE.<sup>[57]</sup> Un dérivé a été injecté à une souris portant une tumeur. La molécule s'est fixée sur les récepteurs somatostatines, et révèle une très grande spécificité ainsi qu'une valeur d'absorption spécifique (SUV) élevée dans la tumeur (Figure 19).

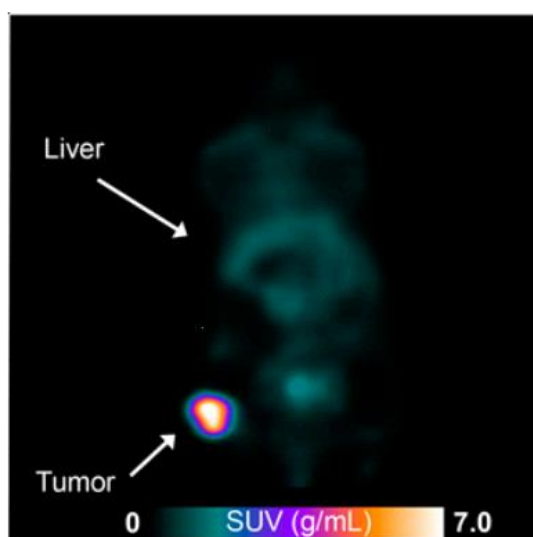
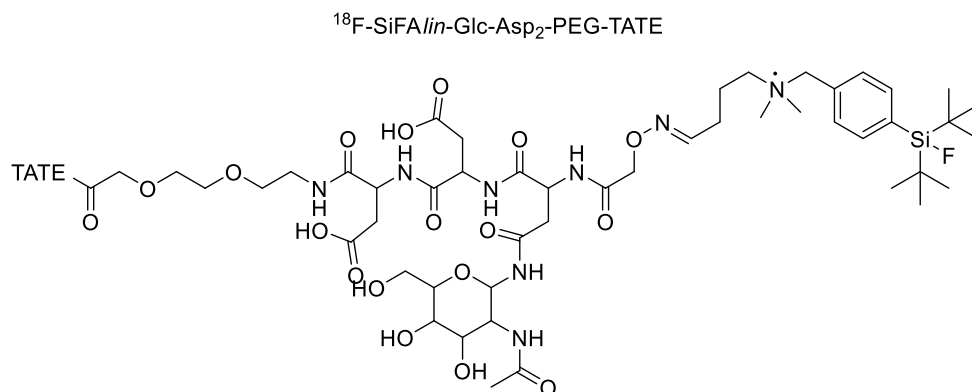


Figure 19 : Image TEP d'un dérivé de l'arylsilane fluoré dans une souris AR42J

### 6- Imagerie optique

La fluorescence est un phénomène par lequel un atome (ou une molécule) se retrouve dans un état excité après avoir absorbé de l'énergie (souvent sous forme lumineuse). Lors de sa relaxation, il va émettre de la lumière (Figure 20). En raison d'une perte d'énergie lors de la relaxation dans l'état excité, la longueur d'onde d'émission sera toujours supérieure à la longueur d'onde d'excitation. Le passage entre des états de multiplicité différentes (d'un état singulet vers un état triplet) est normalement interdit. Mais le couplage spin-orbite (couplage entre le moment magnétique orbitalaire et le moment magnétique de spin) peut être suffisamment grand pour permettre le passage d'un électron. Après le changement de multiplicité, l'électron va se désexciter soit de manière non radiative (favorisée à température ambiante et en solution) ou bien radiative : il s'agit de la phosphorescence.<sup>[58]</sup>

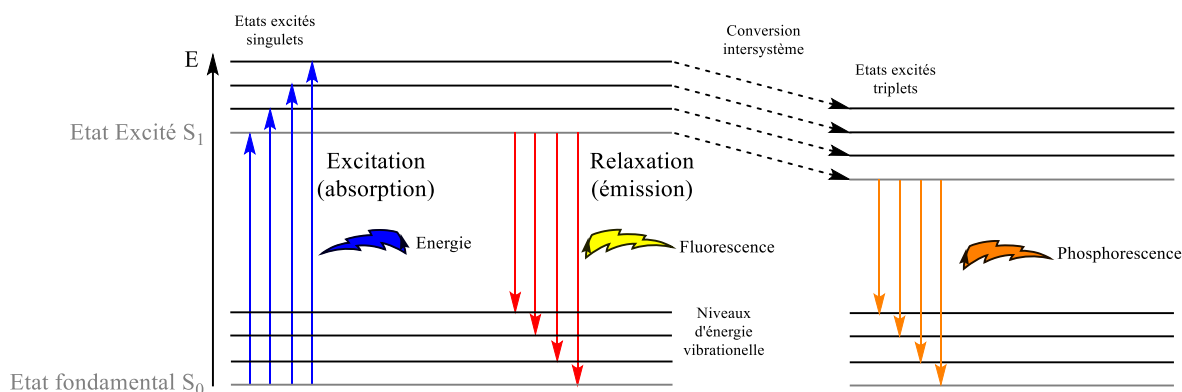


Figure 20 : Diagramme de Jablonski Perrin simplifié

La fluorescence est devenue un outil d'étude de systèmes très utilisé grâce à la haute sensibilité des techniques de mesures, à la possibilité d'apporter facilement des modifications aux caractéristiques fluorescentes d'une molécule *via* son environnement et sa capacité à fournir des informations spatiales et temporelles du système étudié.

La qualité de fluorescence d'une molécule dépend de sa capacité à absorber et émettre des photons, et à répéter ce cycle d'excitation/émission. Le ratio entre le nombre total de photons émis et ceux absorbés correspond au rendement quantique de fluorescence ( $\Phi_f$ ). Il traduit l'efficacité de la fluorescence et représente la fraction de molécule émettant un photon en revenant à l'état fondamental après excitation.

Pour être utilisable en imagerie, un fluorophore nécessite également un bon déplacement de Stokes. Il s'agit de la distance séparant la longueur d'onde d'absorption maximale de la longueur d'onde d'émission maximale. Au niveau énergétique, c'est l'écart entre le maximum de la première bande d'absorption et le maximum de fluorescence atteint. Une valeur élevée permet d'avoir un meilleur isolement du signal et donc moins d'interférences. <sup>[59]</sup>

La plupart des composés fluorescents sont aromatiques. En effet, et de façon plus générale, une extension du système d'électrons  $\pi$ , présente dans les cycles aromatiques, permet une émission de fluorescence vers des longueurs d'ondes plus élevées et un meilleur rendement quantique de fluorescence. Lorsque plusieurs formes mésomères sont possibles, les électrons sont délocalisés sur les orbitales p, leur énergie est donc diminuée ce qui augmente la stabilité du système et favorise les transitions permettant la fluorescence. Plus il y a de liaisons conjuguées, plus les photons absorbés peuvent être de haute longueur d'onde (plus basse en énergie), et plus l'émission se fait vers l'infrarouge. Pour être conjugué, le système doit être coplanaire. Par exemple, le cyclooctatétraène ne présente pas de conjugaison du fait de sa conformation « bateau ». Les orbitales p de la molécule ne peuvent pas s'aligner, il n'y a donc pas d'échange d'électrons entre les atomes. Grâce à ce principe, il est possible de jouer sur la fluorescence d'une molécule en changeant sa conformation. <sup>[60]</sup>

## Chapitre I - Bibliographie

---

La conjugaison n'est pas le seul effet permettant de modifier les caractéristiques d'un fluorophore. En changeant l'environnement ou la structure de la molécule, sa fluorescence peut complètement changer. Voici quelques exemples :

- Les atomes lourds, comme le brome ou l'iode, inhibent la fluorescence. L'efficacité du couplage spin-orbite de ce genre d'atome est plus importante, ce qui entraîne une augmentation de la probabilité du passage intersystème (inversion de spin d'un électron lors de son excitation, passage d'un état singulet vers un état triplet). Ce phénomène est non radiatif et entre en compétition avec la fluorescence.<sup>[61]</sup>
- Les substituants électrodonneurs (-OH, -NH<sub>2</sub>,...) provoquent un déplacement bathochrome des spectres d'absorption.
- Pour les substituants électroattracteurs, les propriétés fluorescentes peuvent être très variables. Pour certains aldéhydes ou cétones aromatiques, le solvant influe beaucoup. Un composé avec un groupement NO<sub>2</sub> aura plus tendance à être phosphorescent et non fluorescent, car le passage intersystème se fera plus facilement. De plus, de nombreux composés aromatiques nitrés subissent une photodégradation.<sup>[62]</sup>
- Lorsque les cycles aromatiques comportent des hétéroatomes, les transitions les plus basses en énergie ne sont plus de type  $\pi \rightarrow \pi^*$ , mais de type  $n \rightarrow \pi^*$ . Le temps de radiation de ces transitions est beaucoup plus long. Ce processus lent est donc moins fréquent qu'avec les états  $\pi \rightarrow \pi^*$ , et entre en compétition avec les transitions non radiatives, plus courtes. La fluorescence et le rendement quantique de fluorescence des composés aromatiques hétéroatomiques se retrouvent donc diminués. En revanche, il n'est pas possible de généraliser cette théorie, qui dépend des autres éléments composant ou entourant la molécule (substituants, solvant, pH,...).<sup>[63]</sup>
- L'effet « push-pull » est un système où un groupement donneur et un groupement attracteur sont présents à des extrémités d'une molécule, et vont respectivement augmenter l'énergie de l'HOMO et diminuer l'énergie de la LUMO. En diminuant la différence d'énergie entre l'orbitale de plus haute énergie et celle de plus basse énergie, la quantité d'énergie demandée pour les transitions énergétiques est moindre, et les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission subissent un effet bathochrome.<sup>[64]</sup>
- Des facteurs extérieurs, comme le pH ou le solvant peuvent influencer sur ces caractéristiques mais aussi des phénomènes intermoléculaires, comme des transferts d'électrons ou de protons photoinduits, la formation d'excimères, des transferts d'énergie... Mais ces événements ne seront pas explicités ici.

La fluorescence est un phénomène qui, en théorie, peut être répété indéfiniment. Mais la structure instable des fluorophores à l'état excité provoque des dégradations. Par exemple, une exposition prolongée à une illumination intense peut changer la structure du

fluorophore (dû à un passage d'un état singulet à un état triplet), qui ne pourra alors plus fluorescer. Ce phénomène est appelé le photoblanchiment.

L'imagerie optique se divise en deux modalités. La première consiste en l'observation directe des rayons traversant ou émis par un corps. En effet, les tissus ont tous des propriétés optiques bien spécifiques. On parle alors de fluorescence primaire ou autofluorescence.<sup>[65]</sup>

Il est également possible d'administrer des agents de contraste fluorescents. Les sondes introduites portent un ligand, fluorophore ou linker qui se fixe sur un organe, une zone du corps ou plus spécifiquement une molécule que le praticien souhaite observer. En excitant l'agent, la cible est mise en valeur spécifiquement.<sup>[66]</sup> Cette méthode présente plusieurs avantages. Elle est tout d'abord non invasive et donne également des images en temps réel, en utilisant du matériel simple. Un des inconvénients est son manque de profondeur, de quelques centimètres seulement. La résolution est assez limitée (1-3 mm) mais on retrouve une bonne sensibilité de  $10^{-12}$  mol.L<sup>-1</sup>. Ce type d'imagerie a d'abord été largement développé en *in vitro* pour le traçage et l'identification de protéines et autres molécules, dans le but de comprendre le fonctionnement d'une maladie, effectuer des diagnostics mais aussi aider au traitement. L'utilisation de la fluorescence pour le guidage optique remonte à 1949. Moore *et al.* emploie du sodium de fluorescéine pour visualiser les tissus tumoraux de 46 patients.<sup>[67]</sup> Murray confirme en 1982 que l'utilisation de ce composé pourrait être révolutionnaire pour la chirurgie guidée.<sup>[68]</sup> Vers la fin du XXe siècle, de nouvelles recherches menées par Stummer démocratisent l'utilisation de la fluorescence, notamment en neurochirurgie.<sup>[69-71]</sup> De nombreux agents fluorescents ont suivi l'utilisation de la fluorescéine, comme l'indocyanine verte, le m-THPC, le photofrin ou le PpIX.<sup>[72-74]</sup>

Il existe ainsi de nombreux types de fluorophores. La plupart de ceux utilisés dans le domaine de l'imagerie s'inspirent de molécules présentes dans la nature. Il est possible de les synthétiser sous formes d'analogues, portant des groupements chimiques variés dans le but de réaliser des réactions de couplage sur diverses cibles biologiques ou d'améliorer le rendement quantique de fluorescence ou l'hydrophilie de la sonde.

### a- Dérivés de la fluorescéine et de la rhodamine

Les dérivés de la fluorescéine et de la rhodamine forment une catégorie de traceurs fluorescents très utilisés en *in vitro*, et quelques exemples existent en *in vivo*. Leur fluorescence est due à leur structure plane formée de plusieurs cycles aromatiques, sur la base du xanthène (Figure 21). Leur différenciation se fait au niveau de leur substitution : la fluorescéine porte deux oxygènes en équilibre cétoénolique sur les cycles extérieurs tandis que la rhodamine a deux fonctions amines. Les deux structures sont fonctionnalisables *via* la partie supérieure du xanthène ou le benzène inférieur, permettant de rendre ces sondes spécifiques de certaines molécules. La fluorescéine a une longueur d'onde d'excitation entre 488 et 495 nm et peut émettre de 518 à 525 nm. Elle présente un bon rendement quantique de fluorescence de 75%. En revanche, l'intensité de sa fluorescence diminue lorsque la sonde qui la porte est dissoute en solution aqueuse ou exposée à la lumière un certain temps et il ne faut également pas la stocker trop longtemps. Conjuguée avec une protéine, la



## Chapitre I - Bibliographie

fluorescéine peut voir sa fluorescence diminuer de 50%. La rhodamine absorbe et émet dans des gammes légèrement plus élevées (respectivement vers 550 nm et jusqu'à plus de 600 nm). La diminution de fluorescence est plus lente que pour la fluorescéine dans les conditions précédemment citées. [59]

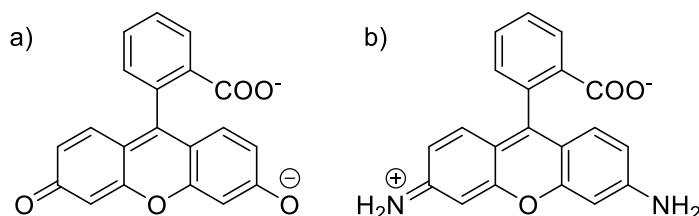


Figure 21 : a) Fluorescéine - b) Rhodamine

La fluorescéine, la rhodamine et leurs analogues sont particulièrement intéressants comme fluorophores grâce à leur structure spiro lactatone. Elles possèdent la faculté de passer d'une forme ouverte à une forme fermée *via* un stimulus extérieur. L'équipe de D. Yang a ainsi développé en 2015 une sonde pour détecter de l' $O_2^{\cdot-}$  (anion superoxyde), basée sur la structure de la fluorescéine. [75] Cette sonde peut quantifier, caractériser et localiser spécifiquement des espèces réactives de l'oxygène intervenant dans divers processus physiologiques et pathologiques. La molécule porte un groupement phénol, d'abord protégé sous forme d'un trifluorométhylsulfonate. Le dérivé de la fluorescéine est alors sous la forme de lactone non fluorescente. En présence de l' $O_2^{\cdot-}$  dans le milieu, le phénol est déprotégé ce qui provoque l'ouverture du cycle et déclenche la fluorescence (Schéma 3).

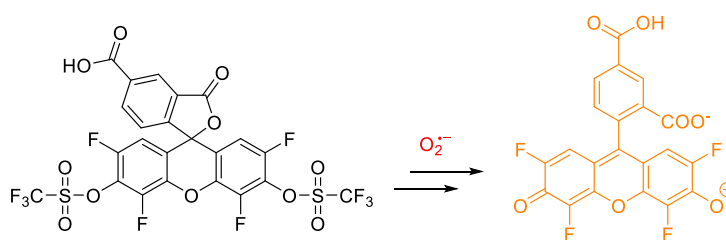


Schéma 3 : Activation de la fluorescence de la sonde en présence de l'anion radical superoxyde

Pour évaluer son efficacité, la sonde a été mise en milieu cellulaire, avec un inhibiteur de la chaîne de transfert d'électrons de la mitochondrie (l'antimycine A), qui va provoquer un stress oxydatif et donc la production de l'anion radical superoxyde. Des images sont ainsi obtenues où plus la quantité d'antimycine ajoutée est grande, plus l'intensité de fluorescence est importante (Figure 22). [75]

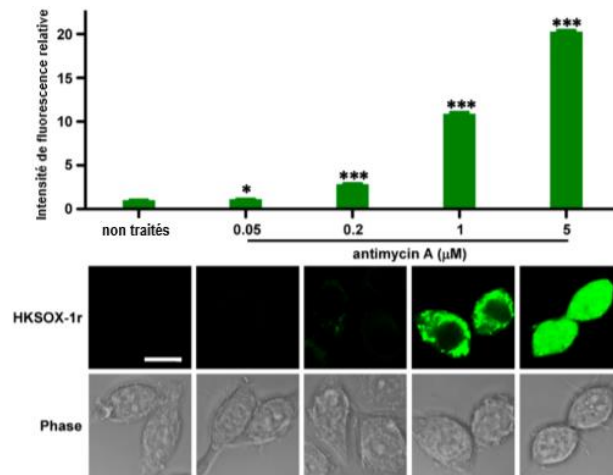


Figure 22 : Image représentative de cellules RAW267.7 co-incubées avec la sonde dérivée de la fluoescéine HXSOX-1r, avec un ajout graduel d'antimycine A pendant 30 min. Echelle = 10 μm

Il existe également des exemples d'étude *in vivo* de la fluoescéine. L'équipe d'Erion a synthétisé une sonde dérivée de la fluoescéine spécifique de la somatostatine.<sup>[76]</sup> Des images d'une tumeur dans un rat ont pu être obtenues (Figure 23).

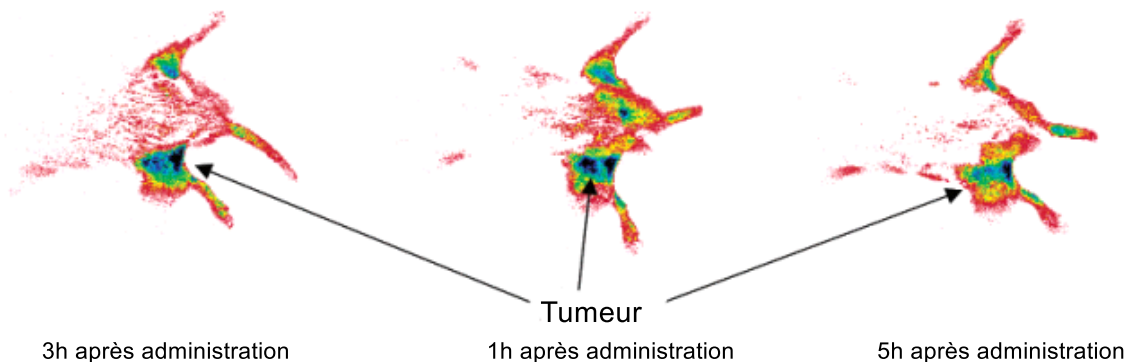


Figure 23 : Image optique de la sonde dérivée de la fluoescéine sur un rat porteur d'une tumeur CA20948

#### b- Dérivés de la coumarine

La coumarine est une substance naturelle trouvée dans de nombreuses plantes. Ses dérivés peuvent être hautement fluorescents et permettent le traçage de biomolécules.

La structure de la coumarine est basée sur un système de double cycle, un groupement phényle et une pyrone. La double liaison est fixée en conformation *cis*, pour garder l'ensemble de la molécule dans le plan et ainsi obtenir une forte fluorescence et une bonne photostabilité. La fonctionnalisation se fait *via* les positions 3, 4, 6 et 7 (Schéma 4). Dans la nature, la plupart des coumarines portent un oxygène en position 7, alors que les coumarines avec une forte fluorescence ont plus tendance à avoir des groupements amino ou hydroxyle à cet emplacement. La fluorescence est due à un fort effet push-pull au sein de la molécule lors de substitutions et sa bonne conjugaison naturelle. Ces fluorophores

## Chapitre I - Bibliographie

absorbent vers 350 nm et émettent généralement de 450 à 600 nm, avec souvent de très bons rendements quantiques de fluorescence. [77]

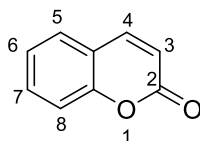


Schéma 4 : Structure de base de la coumarine

Les coumarines sont particulièrement utilisées pour faire le suivi ou la détection d'espèces biologiques. Par exemple, Li *et. al.* a développé une coumarine conjuguée à un malononitrile. Cette sonde reconnaît les ions  $\text{CN}^-$  avec une forte sensibilité et sélectivité. Sans la présence de  $\text{CN}^-$ , la sonde injectée dans les cellules HeLa émet vers 590 nm (rouge). Lors de l'ajout de l'ion, la structure se modifie et la conjugaison est raccourcie. La longueur d'onde d'émission diminue alors vers 520 nm, pour donner une couleur verte (Figure 24). [78]

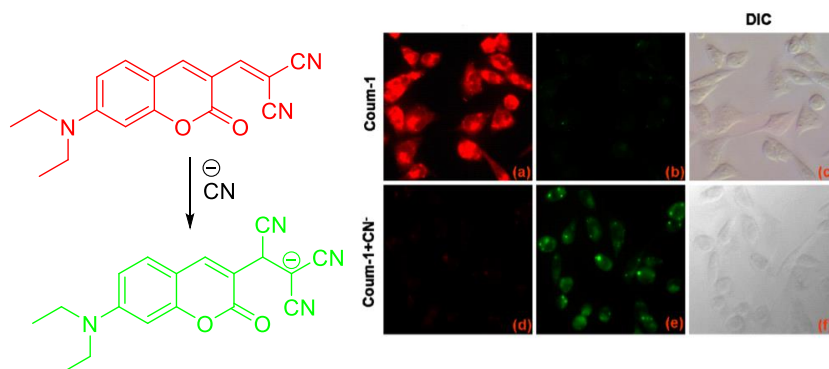


Figure 24 : Images du scanner microscopique de cellules HeLa incubées avec la sonde Coum-1 avant et après traitement au  $\text{CN}^-$

La variété de structures possibles pour la coumarine permet de modifier facilement sa longueur d'onde d'émission. De plus, cette molécule peut franchir la barrière hématoencéphalique et atteindre le cerveau. Il s'agit donc d'un très bon fluorophore pour des applications *in vivo*, notamment comme agent pour la détection de biomarqueurs de maladie comme Alzheimer. La suppression ou la surrégulation de l'activité des monoamines oxydases (MAOs), enzymes clés responsables de la régulation au niveau intracellulaire de neurotransmetteurs comme la dopamine, l'adrénaline et la sérotonine, est un des symptômes de potentiels cancers ou maladies neurodégénératives. Ahn *et. al.* a développé une sonde fluorescente capable de suivre l'activité des MAOs : en présence de cet enzyme, la partie aminopropyle est clivée suivi par une cyclisation intramoléculaire conduisant à la formation d'une iminobenzo[g]coumarine (Schéma 5).

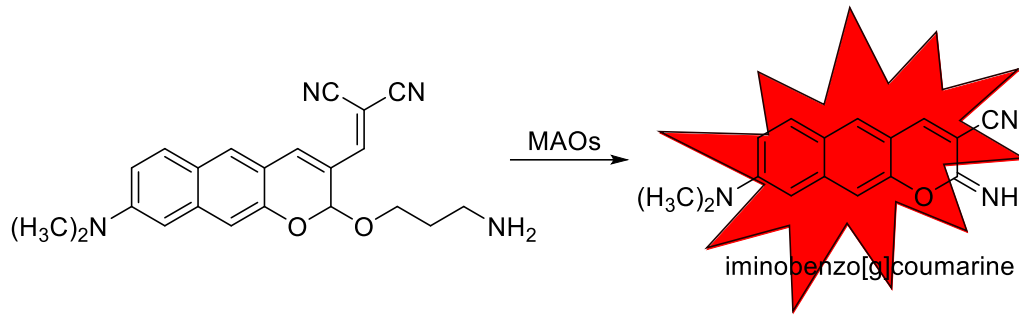


Schéma 5 : Sonde fluorescente coumarine détectant les MAOs

La progression de la maladie d'Alzheimer a été étudiée chez la souris grâce à cette sonde. L'intensité de fluorescence augmente chez les souris plus âgées, traduisant l'augmentation du nombre et de la taille des plaques A $\beta$ , phénomène entre autres responsable de la maladie (Figure 25).

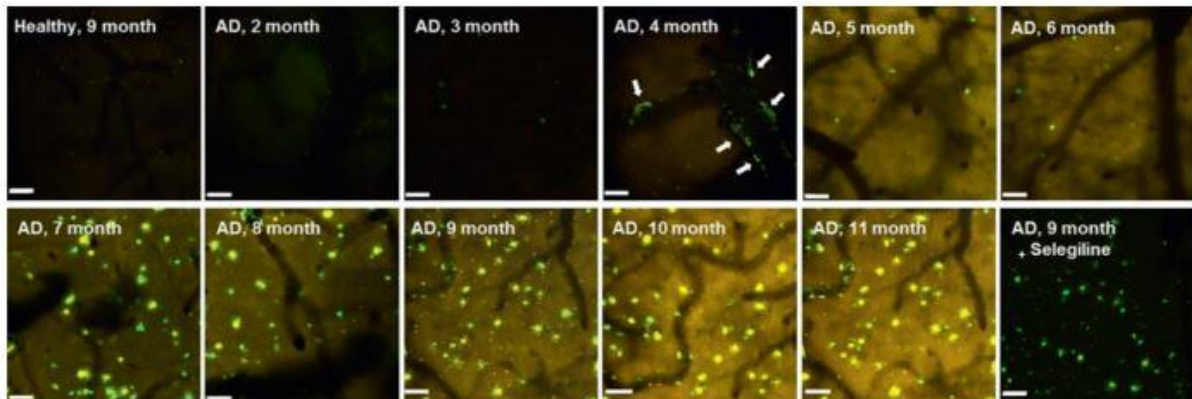


Figure 25 : images *in vivo* du cortex frontal d'une souris saine après injection de la sonde (échelle=6  $\mu$ m)

### c- BODIPY

Le bore-dipyrrrométhène, ou BODIPY, est un colorant largement utilisé en tant que fluorophore grâce à ses très bonnes propriétés de fluorescence. La structure de base, constituée de trois cycles, contenant deux complexes pyrrométhène reliés par un bore substitué par deux fluors, a une longueur d'onde d'absorption de 527 nm et une d'émission de 550 nm avec un rendement quantique de fluorescence parfois supérieur à 80%. Cette molécule est très peu sensible à la polarité et au pH de son environnement, ce qui lui procure une grande stabilité spectrale. En revanche, ce genre de composé présente un déplacement de Stokes très bas, empêchant l'excitation à une longueur d'onde optimale. Il est nécessaire d'irradier à une longueur d'onde légèrement inférieure pour éviter les interférences. En insérant différents groupements, il est possible de modifier les caractéristiques de fluorescence assez efficacement pour produire de nombreux fluorophores émettant à des longueurs d'onde variées.<sup>[78]</sup>

## Chapitre I - Bibliographie

Le squelette BODIPY possède beaucoup de dérivés très utilisés en imagerie optique, comme cette molécule développée par l'équipe de H. Kobayashi (Schéma 6).<sup>[79]</sup> Il s'agit d'une sonde fluorescente activée au contact de cellules cancéreuses, permettant ainsi de limiter le bruit de fond de fluorescence pour mettre en valeur uniquement les cellules malades.

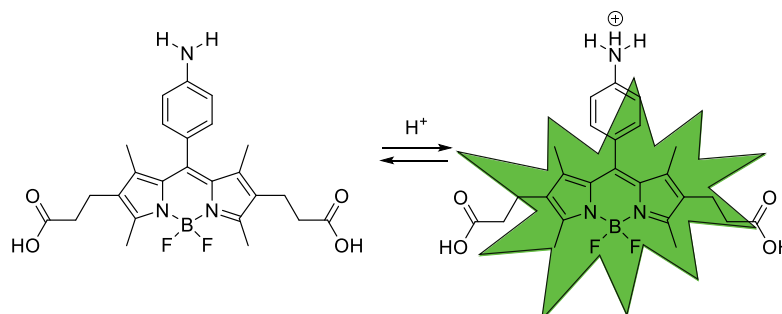


Schéma 6 : Sonde avec fluorescence activable en milieu acide

En effet, les récepteurs de croissance de type 2 de l'épiderme humain (HER2) sont ici visés, à l'aide d'un anticorps monoclonal, le trastuzumab. Cette partie du tissu se distingue grâce à son pH relativement bas (5-6). La sonde peut ainsi s'activer *via* un changement de pH. Deux sondes ont été injectées à des souris présentant des poumons porteurs de tumeurs fibroblastiques, surexprimant les récepteurs HER2. La première sonde porte une fluorescence toujours active. Les images montrent que la fluorescence est présente sur la tumeur mais également sur les tissus sains alentours. La deuxième sonde est celle développée par Kobayashi *et. al.* et ne s'active que dans un milieu acide. Seule la tumeur est ici visible, toute fluorescence parasite a été éliminée (Figure 26).

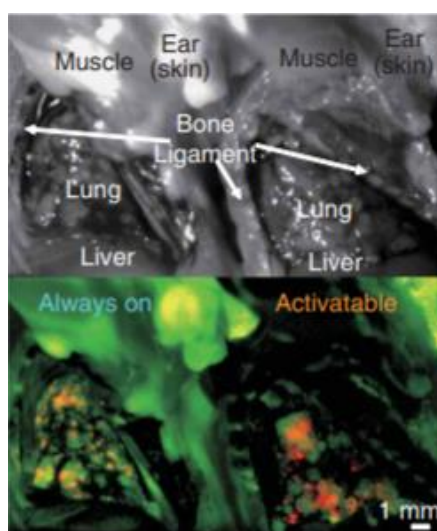


Figure 26 : Images obtenues après injection d'une sonde dans des poumons métastasés, à gauche une sonde avec une fluorescence toujours active et à droite la sonde activable au contact des cellules cancéreuses

### d- Quantum Dot

Les quantum dots (QDs) sont des nanoparticules formées d'un alliage de métaux semi-conducteurs, organisées sphériquement et entourées d'une coquille constituée également de métaux. Irradiés à une certaine longueur d'onde, ces composés peuvent absorber un photon qui va exciter un électron au sein du noyau de la nanoparticule. Cet électron se retrouve capturé dans la structure, ce qui mène à un confinement quantique, empêchant l'électron de sortir. En se désexcitant, il va émettre un photon de lumière dont la longueur d'onde dépend de la composition de l'alliage et de la taille de la particule.

Les QDs sont résistants à la perte de fluorescence dans le temps. Il est donc possible d'obtenir des images longtemps après avoir injecté la particule. Leur capacité à changer facilement leur longueur d'onde en fonction de leurs caractéristiques leur donne l'avantage d'émettre à des longueurs d'onde allant du bleu jusqu'à des régions du proche IR avec de plutôt bons rendements quantiques de fluorescence (de 65% à 95% pour certains) (Figure 27).<sup>[59]</sup>

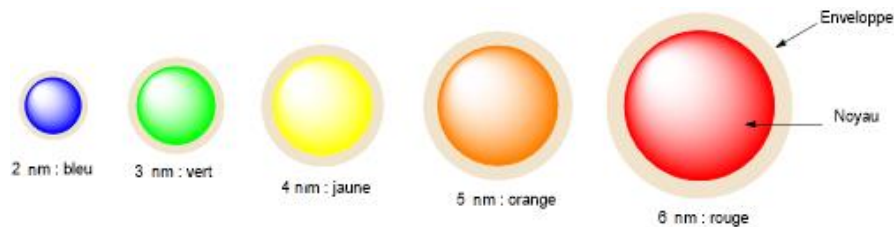


Figure 27 : Longueur d'onde d'émission du QD en fonction de son diamètre

Des études portant sur l'observation d'interactions entre des cellules, la différenciation cellulaire ou leur traçage *via* l'utilisation de QDs ont été publiées dans la littérature. Ceci est également rendu possible grâce au fait qu'ils peuvent être internalisés par les cellules *via* un processus d'endocytose médié par des récepteurs spécifiques ou non.

Ainsi, par exemple, Maysinger *et. al.* a utilisé des QDs CdSe et CdTe pour mesurer leur fluorescence une heure, trois jours puis sept jours après une injection intracorticale en utilisant de l'imagerie *in vivo* (Figure 28).<sup>[80]</sup>

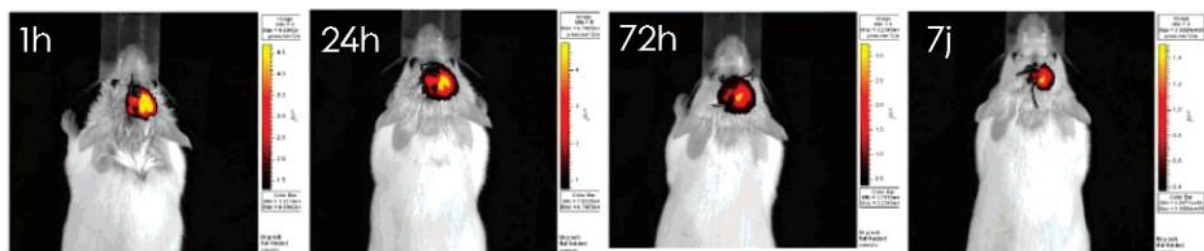


Figure 28 : images de fluorescence *in vivo* obtenues après injection d'un QD 705 dans le cortex droit d'une souris GFAP-luc

## Chapitre I - Bibliographie

En combinant plusieurs QDs émettant à différentes longueurs d'onde et portant des propriétés de surface variées, il est possible de créer un système permettant le dosage de cellules dans un milieu. C'est ainsi que l'équipe de Mattheakis a développé une méthode générique délivrant des QDs multicolores dans des cellules de mammifères.<sup>[81]</sup> Chaque nanoparticule a un mode particulier pour rentrer dans une cellule, en fonction des groupements constituant son enveloppe (translocation peptidique, lipides cationiques ou micelles polymériques). Trois types de cellules exprimant chacune des récepteurs différents (muscarinique M1, sérotonine 2A et sérotonine 2B) ont été encodées avec des QDs émettant à 608, 582 et 680 nm. Ces derniers sont fonctionnalisés de manière à reconnaître sélectivement chacun des récepteurs. Cela permet de différencier chaque type de cellules par fluorescence après l'injection des QDs dans le milieu cellulaire mixte (Figure 29).

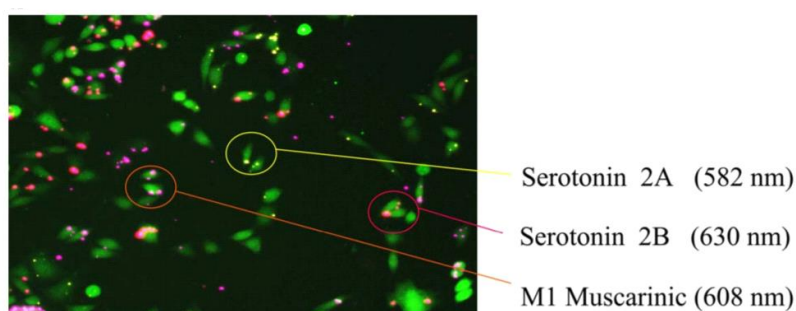


Figure 29 : Cellule CHO exprimant les récepteurs sérotonines 2A, 2B et muscariniques, comportant des QDs spécifiques à chacune et émettant à différentes longueurs d'onde

### e- Benzothiadiazole (BTD)

Les fluorophores cités précédemment sont tous largement utilisés sur des sondes pour l'imagerie médicale. Ils présentent en revanche des points négatifs qui peuvent limiter leur utilisation dans certains cas. Les coumarines par exemple se dégradent facilement *in vivo*, ce qui limite leur potentiel d'utilisation en biologie et dans le domaine médical en anatomie pathologique. Les BODIPYs possèdent un fort caractère lipophile qui oblige à les diluer dans des solvants toxiques pour le vivant. La fluorescéine, malgré sa grande capacité à fluorescer, photo blanchit très facilement. C'est également une molécule très sensible au pH environnant, et les sondes utilisant ce fluorophore sont souvent conjuguées à des anticorps, obligeant un stockage plus compliqué à -20°C. La rhodamine est particulièrement hydrophobe et provoque donc des agrégats en milieu aqueux. Cette accumulation provoque des interactions entre les sondes qui portent la molécule fluorescente et entraîne un auto-quenching de la fluorescence.<sup>[82,83]</sup>

Un autre fluorophore, pouvant dépasser ces limitations, a fait l'objet de nombreuses études ces dix dernières années. Il s'agit du benzothiadiazole (BTD). C'est une petite molécule formée de deux cycles, un groupement phényle et un hétérocycle. Ce type de structure possède un système  $\pi$ -conjugué très fort, qui peut être étendu facilement *via* les positions 3 et 6. Le caractère attracteur d'électrons de l'hétérocycle donne à la molécule

la capacité de construire une sonde avec un fort effet push-pull, améliorant efficacement la fluorescence (Schéma 7).

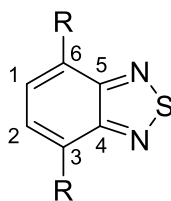


Schéma 7 : Structure du BTD

Ce composé peut être utilisé comme herbicide, fongicide, antibactérien, conducteur organique ou fluorophore. Son caractère  $\pi$ -conjugué et sa capacité à attirer les électrons font que cette molécule est souvent utilisée pour la synthèse de polymères semi-conducteurs employés pour la production d'énergie solaire.

L'utilisation de ce composé en tant que fluorophore est très intéressante au vu de ses nombreuses propriétés :

- Sa fluorescence est stable et efficace, sa longueur d'onde d'émission pouvant aller de 350 à 800 nm et des rendements quantiques de fluorescence relativement bons peuvent être obtenus.
- L'hétérocycle a une forte capacité à attirer les électrons, ce qui facilite le transfert de charge intramoléculaire et ainsi stabilise la fluorescence.
- Ses propriétés de polarité sont élevées, des interactions intermoléculaires sont donc possibles comme des liaisons  $\pi$ - $\pi$ , donnant une structure cristalline bien ordonnée.
- Le déplacement de Stokes de cette molécule est large, empêchant les interférences dans la fluorescence.
- Sa fluorescence ne faiblit pas lorsque le composé subit de longues périodes d'irradiation.
- La plupart des sondes développées portant ce fluorophore sont capables de traverser les membranes cellulaires.
- Il peut être stocké très longtemps à température ambiante sans signe de dégradation, ce qui permet d'éviter les cycles de congélation/décongélation qui diminuent la fluorescence.
- Le BTD peut être excité à des longueurs d'onde du visible et permet d'utiliser une intensité lumineuse à un niveau minimum afin d'éviter d'irradier à des températures élevées qui pourraient provoquer une altération de la structure chimique ou induire du stress oxydatif *in vivo*.



## Chapitre I - Bibliographie

- En jouant sur sa fonctionnalisation, il est possible de placer sa longueur d'onde d'émission dans la fenêtre du vivant, les signaux d'auto-fluorescence des cellules sont évités et le fluorophore donne donc accès à des images de qualité. [82,84,85]

L'étude du BTD comme fluorophore au sein de sondes pour l'imagerie médicale est encore récente. Q. Jiang *et. al.* se sont servis de cette molécule pour la détection précoce de cellules cancéreuses.<sup>[86]</sup> Afin de distinguer les cellules saines de celles transformées, ils se sont appuyés sur le phénomène d'hypoxie associé au développement de la tumeur. Tracer et mesurer la fraction de cellules hypoxiques avant et pendant une thérapie peut en effet aider au traitement d'un patient. Un BTD (le BTTD-NO<sub>2</sub>) a été synthétisé. Des études préliminaires ont prouvé qu'en réduisant le NO<sub>2</sub> en NH<sub>2</sub>, la fluorescence est déclenchée lorsque la molécule est excitée à 480 nm, avec une longueur d'onde d'émission de 600 nm (Schéma 8).

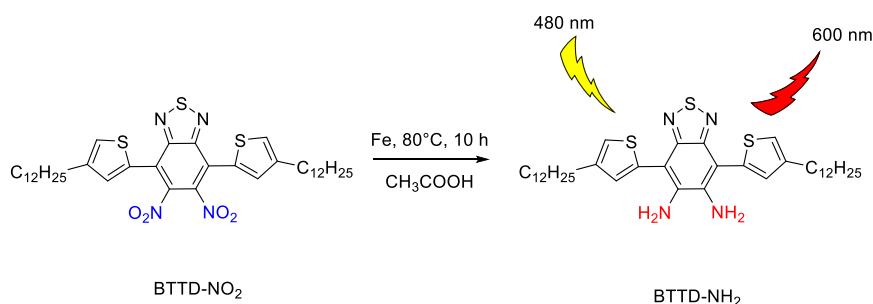


Schéma 8 : Réduction du BTTD-NO<sub>2</sub> et déclenchement de sa fluorescence

En condition hypoxique, le BTD devrait donc se trouver sous forme réduite et donc être fluorescent. La molécule est mise dans un milieu cellulaire sous deux conditions différentes : hypoxique et normoxique. La figure 30 montre qu'en manque d'oxygène, la fluorescence est bien déclenchée alors qu'elle n'est pas visible dans les cellules normales.

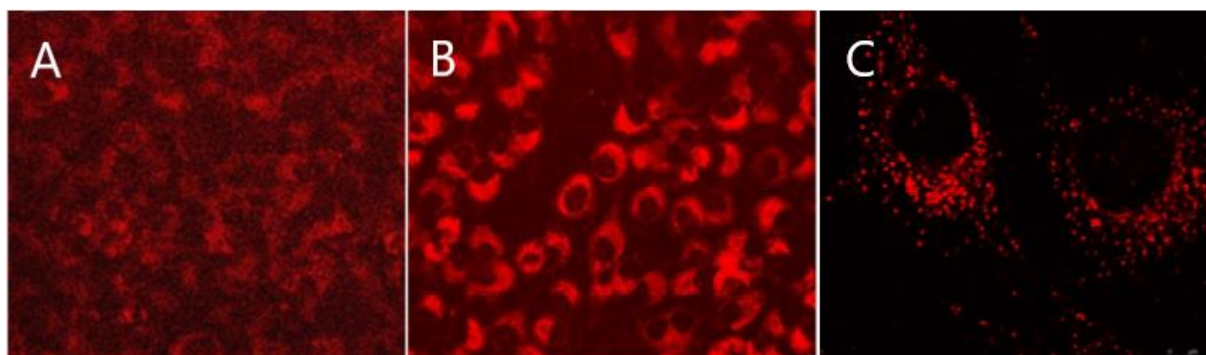


Figure 30 : Micrographie de fluorescence de cellules MG63 incubées avec le BTTD-NO<sub>2</sub> pendant 24 h dans des conditions normoxyques (A) et hypoxiques (B et C)

Ce fluorophore a ainsi fait l'objet de nombreuses études *in vitro*, mais son utilisation récente en tant que sonde fluorescente pour l'imagerie médicale rend les études *in vivo* encore inexistantes.

Chacune de ces techniques d'imagerie présentent ses propres caractéristiques, avantages et inconvénients, domaines d'application, et apparaissent complémentaires. L'idée est donc de pouvoir les associer pour aller encore plus loin dans la prise en charge des patients.

### II. L'imagerie bimodale et multimodale

Chaque technique d'imagerie médicale présente en effet des limitations lorsqu'elles sont utilisées individuellement (Tableau 2). L'association de plusieurs types d'imagerie doit permettre de lever ces limitations.

Tableau 2 : Caractéristiques des différentes techniques d'imagerie bimodale

Technique	Résolution	Sensibilité (mol.L <sup>-1</sup> )	Avantages/ Contraintes	Utilisations courantes
IRM	10-100 µm	10 <sup>-9</sup> -10 <sup>-6</sup>	Très bonne résolution / Lent	Imagerie structurale pour les tissus mous
TDM	50 µm	10 <sup>-6</sup>	Image du corps entier / Mauvaise résolution dans les tissus mous	Imagerie des poumons et des os
Optique	1-3 mm	10 <sup>-12</sup>	En temps réel / Limite de profondeur	Identification et traçage de protéines et molécules
TEP	1-2 mm	10 <sup>-15</sup>	Image du corps entier et quantification du signal / Radiations	Imagerie du métabolisme en général (dépend du traceur)
TEMP	1-2 mm	10 <sup>-14</sup>	Image du corps entier et quantification du signal / Radiations	Grosses biomolécules (anticorps, peptides, protéines)
Imagerie photoacoustique	50 µm	10 <sup>-12</sup>	Bon compromis résolution-sensibilité / Pas optimisé	Détection des lésions cérébrales et diagnostic cancéreux
Ultrasons	50 µm	10 <sup>-8</sup>	En temps réel / Pas tout le corps	Phénomènes vasculaires

## Chapitre I - Bibliographie

---

La sonde bimodale développée devra porter des éléments spécifiques des deux techniques d'imagerie, compliquant souvent la synthèse. L'utilisation de la sonde pourra se faire de deux manières différentes : soit *via* deux injections successives, spécifiques d'une technique d'imagerie à la fois, soit en une seule injection d'une molécule avec l'utilisation simultanée des deux techniques d'imagerie, permettant dans ce cas, l'acquisition des images anatomiques et fonctionnelles en même temps. Ainsi, l'IRM, la TDM ou les ultrasons pourront fournir des informations anatomiques alors que la TEMP, la TEP ou l'imagerie optique apporteront des données fonctionnelles.

Le choix de la nature de la sonde sera dépendant également des différences de sensibilité des techniques envisagées. Ainsi, il sera plus facile d'associer des techniques de sensibilité proche, permettant, pour une concentration donnée, d'obtenir la même qualité d'image quelle que soit la technique et également d'éviter les dangers de surdosage.

L'IRM, malgré sa grande résolution, possède une sensibilité très limitée. La TEP quant à elle se caractérise par de très grandes spécificité et sensibilité mais sa résolution spatiale faible de 1 à 3 mm ainsi que son incapacité à fournir une corrélation morphologique limite son utilisation. L'exemple d'un couplage entre ces deux techniques permettrait le développement d'une sonde avec une haute résolution anatomique et une localisation précise de la molécule, quelques sondes sont d'ailleurs déjà utilisées.<sup>[87-89]</sup> En routine, il existe un scanner capable d'obtenir simultanément les informations de ces deux techniques d'imagerie.<sup>[90]</sup> Ne plus avoir à bouger le patient est une grande avancée dans l'acquisition d'images cohérentes. La sensibilité très différente de ces deux types d'imagerie rend en revanche compliqué la synthèse de sondes bimodales.

De la même manière, en routine, la TEP et la TEMP sont presque systématiquement couplées au CT-scan.<sup>[91-93]</sup> En effet, en comparant les données obtenues par les deux techniques individuelles puis combinées, l'équipe d'Allen-Auerbach a pu détecter 25 lésions extra-ganglionnaires contre 16 pour la CT et 9 pour la TEP seules (Figure 31).<sup>[94]</sup>

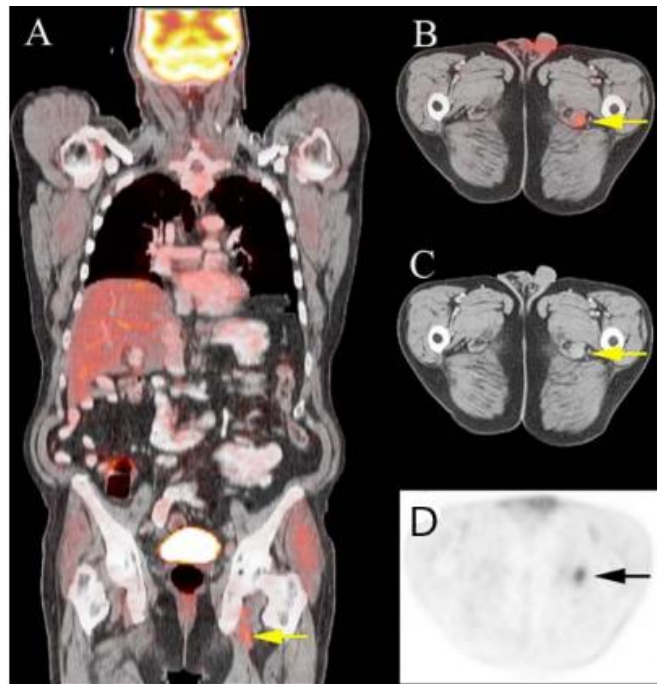


Figure 31 : Patient de 62 ans atteint de lymphomes à cellules du manteau. A) image du corps entier en TEP/CT - B) coupe du ganglion en TEP/CT, C) en CT seule puis D) en TEP seule.

Toutes sortes de combinaisons des différents types d'imagerie ont déjà été réalisées. Dans la suite de cette partie, des exemples de sondes bimodales seront présentés. Le problème des différences de sensibilité sera également illustré.

### 1- IRM – Imagerie Photoacoustique

L'IRM est l'une des techniques d'imagerie médicales la plus utilisée pour faciliter le diagnostic en médecine. Sa résolution élevée et son caractère non invasif lui permettent d'être employée seule pour détecter de nombreuses maladies. Mais cette technique présente une sensibilité très limitée. Très souvent, il est nécessaire d'utiliser un agent de contraste (la plupart du temps un chélate de gadolinium (III)). Une alternative est la combinaison de l'IRM avec un type d'imagerie possédant une sensibilité plus élevée : l'Imagerie Photoacoustique (IPA). C'est une technique également non invasive, avec une pénétration de 4 cm compatible avec l'imagerie *in vivo*. Sa basse résolution peut être compensée par celle de l'IRM et sa haute sensibilité pourra corriger celle de l'IRM. L'IPA est surtout utilisée pour imager des tissus à l'échelle microscopique. Pour obtenir des images moléculaires, il faut injecter un agent de contraste optique comme des nanoparticules d'or (GNRs pour gold nanorods) ou des indocyanines. L'IRM peut ainsi localiser rapidement de potentielles lésions et l'IPA donne une structure morphologique et des informations quantitatives.

L'équipe de D. Xing a développé une sonde avec des propriétés de magnétisation et d'absorption de la lumière qui peut être utilisée comme agent de contraste pour une

## Chapitre I - Bibliographie

combinaison IRM/IPA.<sup>[95]</sup> La sonde Gd<sup>III</sup>-GNRs a donc été synthétisée pour détecter les cas d'athéroscléroses (Schéma 9).

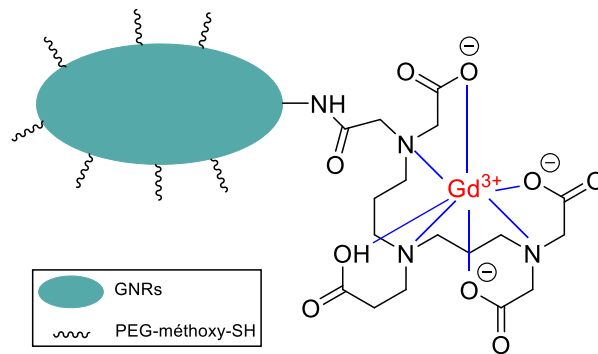


Schéma 9 : Structure de la sonde Gd<sup>III</sup>-GNRs

Pour cela, ils suivent l'infiltration des macrophages, des cellules inflammatoires très présentes chez les patients atteints de cette maladie. Ces derniers produisent l'enzyme lytique responsable de l'affaiblissement de la calotte fibreuse et de la rupture ultérieure des plaques athérosclérotiques. En traçant ces cellules, la sonde s'accumule au niveau de la zone touchée où les macrophages sont très présents. L'IRM permet alors de déterminer la localisation de la lésion (Figure 33 - Bi) et l'IPA intravasculaire donne des informations sur la maladie, avec la visualisation de la zone d'infiltration des macrophages et la profondeur dans la paroi artérielle (Figure 32 – Bii et Biii).

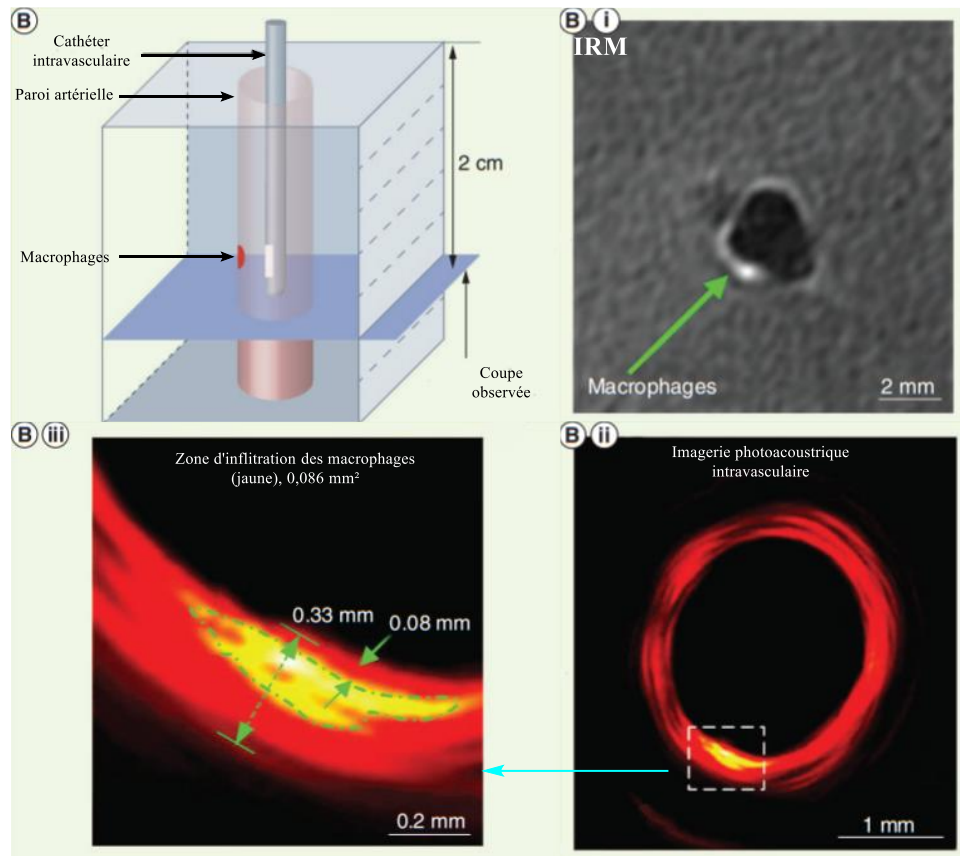


Figure 32 : Localisation et quantification de l'infiltration des macrophages au sein d'une plaque athérosclérotique. B - Schématisation de la mise en place pour l'observation par imagerie. B.i - Coupe de la plaque observée par IRM. B.ii - Image intravasculaire par IPA de la section prise à 750 nm. B.iii - Image élargie de la section vue par IPA.

La plupart des sondes bimodales IRM/IPA impliquent des nanoparticules. L'équipe de Chen a par exemple développé en 2014 une nanoparticule constituée d'un cœur  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  entouré d'une couche de polydopamine.<sup>[96]</sup> La polydopamine est le produit de polymérisation de la dopamine et possède la capacité de reconnaître un ARN messager particulier, permettant la détection de certaines maladies. La nanoparticule  $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PDA}$  NCs a donc été mise dans une solution aqueuse avec différentes concentrations de la nanoparticule, puis incubée avec des cellules MCF-7 afin d'obtenir des images IRM et IPA. L'intensité du signal  $T_2$  diminue drastiquement en IRM avec l'augmentation de la concentration, particulièrement en présence des cellules. Il en est de même pour les images obtenues en IPA : la concentration en nanoparticule modifie drastiquement le signal. Les données obtenues par les deux imageries corroborent (Figure 33).

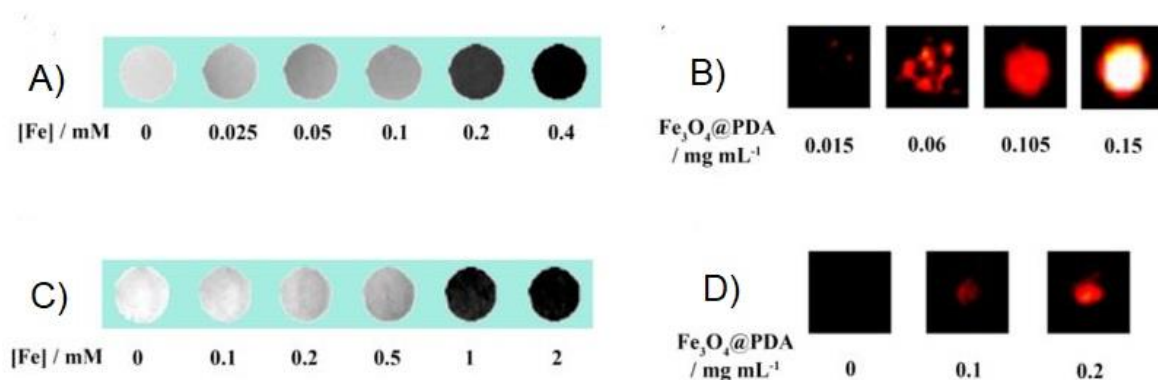


Figure 33 : Images IRM (A) et PA (B) de la nanoparticule en solution aqueuse à différentes concentrations de Fe, puis incubée avec des cellules MCF-7 également à différentes concentrations de Fe, en IRM (C) et PA (D)

Quelques exemples existent *in vivo*, mais il s'agit toujours de multimodalité : d'autres types d'imagerie sont également impliquées, comme la TEP,<sup>[97]</sup> ou de la spectroscopie Raman exaltée de surface.<sup>[98]</sup>

Mais la différence de sensibilité de ces deux techniques ne permet pas un ratio 1 :1 entre les deux modalités. Il faudra acquérir les images d'une technique après l'autre et non simultanément. De plus, les exemples de cette combinaison comprennent presque toujours le Gd<sup>III</sup> comme agent de contraste qui, comme expliqué auparavant, peut être toxique. Il est néanmoins injecté en moins grande quantité que lorsque l'IRM est utilisée seule. La synthèse de ce genre de sonde bimodale peut être compliquée : un équilibre assez précis doit être atteint notamment par la taille de l'espaceur afin de ne pas augmenter la densité de l'unité chélatée et ainsi diminuer le nombre de molécules d'eau pouvant s'y insérer et donc réduire l'efficacité de l'agent de contraste de l'IRM.<sup>[99,100]</sup>

## 2- IRM - IO

Pour compenser la faible sensibilité de l'IRM, l'IO se trouve être également une bonne candidate. L'imagerie optique permet d'obtenir des images du corps entier avec une grande sensibilité et des temps d'acquisition très courts. Sa faible pénétration est compensée par celle de l'IRM. De nombreux exemples sont reportés, utilisant pour la majorité le Gd<sup>III</sup> ou des nanoparticules d'oxyde de fer associés à des QD.<sup>[101-103]</sup>

Afin d'éviter l'utilisation du Gd<sup>III</sup>, d'autres lanthanides peuvent également être utilisés comme agent de contraste. Leur configuration électronique unique leur confère des propriétés magnétiques exceptionnelles. De plus, ils peuvent servir de fluorophore. Leur fluorescence est dû à leur configuration [Xe]4f<sup>n</sup>.<sup>[104]</sup> Dans cette configuration, il existe beaucoup de niveaux électroniques bien définis en raison du blindage de l'orbitale 4f par les 5s et 5p. Les transitions 4f-4f permettent d'atteindre à la fois des longueurs d'onde du visible et du proche IR.<sup>[105]</sup> Ils sont également résistants au photoblanchiment et leur état excité a

une longue durée de vie, ce qui permet à la fluorescence naturelle du corps, de courte durée, de se disperser avant que l'émission des lanthanides ne se produise. En revanche, l'excitation directe de ces composés est compliquée dû à la transition f-f interdite essentielle à leur fluorescence. Il est donc nécessaire de se servir de l'effet d'antenne en excitant indirectement *via* un chromophore. La synthèse de ces sondes est un grand défi. Faire entrer des molécules d'eau dans le complexe est indispensable pour l'IRM mais leur présence à proximité des lanthanides quenche leur fluorescence. L'équipe de Tòth a tout de même réussi à synthétiser une sonde portant une pyridine et un Nd<sup>3+</sup> chélaté (Schéma 10).<sup>[106]</sup>

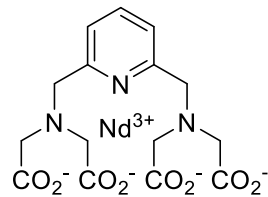


Schéma 10 : Sonde bimodale IRM/IO développée par l'équipe de Tòth

Ils ont ici réussi à pallier les problèmes de blanchiment grâce à l'excellent effet d'antenne entre la pyridine et le lanthanide. Deux molécules d'eau sont alors suffisantes pour l'IRM sans empêcher la fluorescence.

La combinaison de ces deux méthodes d'imagerie permet de diagnostiquer certaines maladies<sup>[101,102,107]</sup> mais également d'observer des phénomènes biologiques, en traçant par exemple certaines cellules. Modo *et. al.* se sont servis de ces techniques pour suivre des cellules souches transplantées dans le cerveau dans le cas de lésions cérébrales.<sup>[108]</sup> Ils étudient le trajet de ces cellules afin de comprendre comment ces dernières engendrent le rétablissement fonctionnel et anatomique du cerveau. L'IRM seule ne peut pas suivre l'évolution de la transplantation car les cellules migrent et s'intègrent très bien dans le parenchyme, il est donc compliqué de les différencier des hôtes. L'imagerie optique vient donc compléter l'IRM en marquant uniquement les cellules greffées. Leur sonde, appelée GRID, porte un gadolinium pour l'IRM ainsi qu'une rhodamine pour l'IO. Leurs études histologiques sur des coupes de cerveaux de rats montrent l'évolution de ces cellules souches (Figure 34).

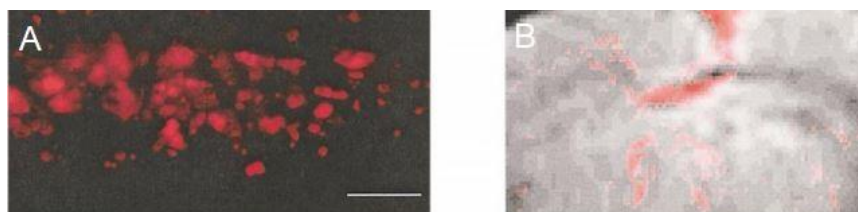


Figure 34 : A- Migration des cellules le long du corps calleux après une transplantation marquée avec la sonde GRID (50  $\mu$ m). B- Superposition des images d'IRM et d'IO du site d'injection vers le corps calleux.



## Chapitre I - Bibliographie

---

Cette sonde apporte une nouvelle approche vers la compréhension du mécanisme de récupération médié par les cellules souches.

### 3- TEP - IO

La TEP est une technique d'imagerie avec une très grande sensibilité. En revanche, son manque de contraste ne permet pas de différencier parfaitement les tissus, ni de procéder à une corrélation morphologique de l'accumulation du traceur dans certaines parties du corps. La grande majorité des sondes pour la TEP sont couplées à d'autres types d'imagerie médicale. Le CT-scan est, par exemple, systématiquement utilisé en routine. L'utilisation combinée de ces deux méthodes permet d'obtenir des images anatomiques ainsi que fonctionnelles du corps, ce qui est essentiel pour localiser et identifier une potentielle maladie.

La TEP et l'imagerie optique est une bonne combinaison : cette association peut avoir un autre usage que du pur diagnostic. Ainsi, dans un premier temps, une telle sonde bimodale peut localiser et identifier la tumeur grâce à la TEP. L'IO intervient ensuite de manière peropératoire : lors d'une tumorectomie, la tumeur devient fluorescente et les tissus malades sont parfaitement différenciables des tissus sains.

L'utilisation de deux sondes différentes, l'une pour la TEP et l'autre pour l'IO est possible, mais ces deux marqueurs ont une biodistribution et des propriétés pharmacocinétiques différentes. Une sonde bimodale est donc privilégiée pour obtenir des résultats transposables entre les deux injections. De plus, l'IO n'est pas totalement quantifiable. Les images obtenues sont donc difficilement corrélables avec celles de la TEP. En ayant les deux types d'imagerie sur la même molécule, ce n'est alors plus un problème.<sup>[109]</sup>

Par ailleurs, les éléments radioactifs utilisés pour la TEP ont une courte durée de vie. Procéder à une tumorectomie à la suite de l'observation de la tumeur reviendrait à injecter deux fois la molécule radioactive. Lorsque l'étape chirurgicale est réalisée seule la fluorescence de la molécule injectée est utilisée, celle-ci n'est pas radioactive, permettant une intervention en toute sécurité pour le patient et le médecin.

Au vu de l'intérêt croissant pour la combinaison de ces deux types d'imagerie, de nombreuses sondes ont été développées avec différentes applications. Azhdarinia *et. al.* ont par exemple synthétisé en 2013 une sonde portant un motif DOTA (DO2A-IRDye 800CW-sulfo NHS ester) radiomarqué par un <sup>64</sup>Cu, couplé avec un anticorps anti-EpCAM.<sup>[110]</sup> Le fluorophore utilisé est ici inspiré d'une cyanine. La molécule a été testée sur des souris PC-3 xénogreffées (Figure 35). Seuls les résultats de fluorescence ont été menés à bien. Le complexe <sup>64</sup>Cu-DO2A n'étant probablement pas assez stable, le radionucléide s'accumule de manière excessive dans le foie et le sang, rendant les résultats de TEP inexploitable.

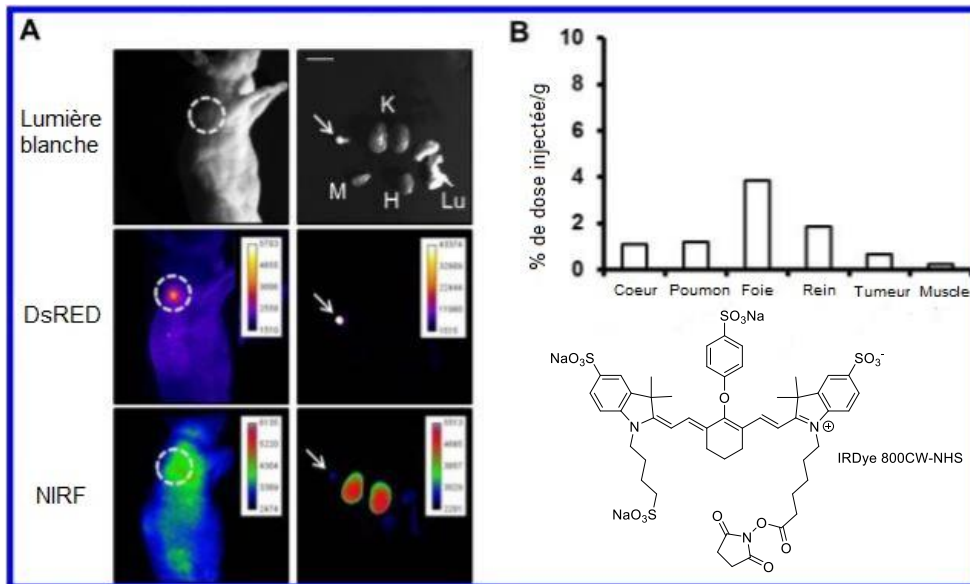


Figure 35 : A- Images à la lumière blanche, DSrED et proche IR 40h après l'injection de la sonde. B- Quantification de la sonde dans différents tissus. La flèche montre la tumeur excisée. K=rein, Lu=poumon, H=cœur et M=muscle. Echelle=1.6 cm

L'équipe de S. Lui a, quant à elle, développé une cage sarcophagine, appelée BaAn(Boc)Sar, constituée d'un dimère c-RGD et d'une Cy5.5.<sup>[111]</sup> La cage peut chélater un <sup>64</sup>Cu pour la TEP et le peptide vient reconnaître les cellules cancéreuses *via* l'interaction avec les intégrines  $\alpha_v\beta_3$ . Les images *in vivo* obtenues sur des souris portant des tumeurs U87MG montrent de très bons résultats, avec un ratio tumeur/bruit de fond très haut (7) 20h après l'injection. Ils ont également pu procéder à une tumorectomie, suivie par images digitales et guidée par fluorescence (Figure 36). Ces résultats montrent bien l'intérêt de coupler la fluorescence à la TEP.

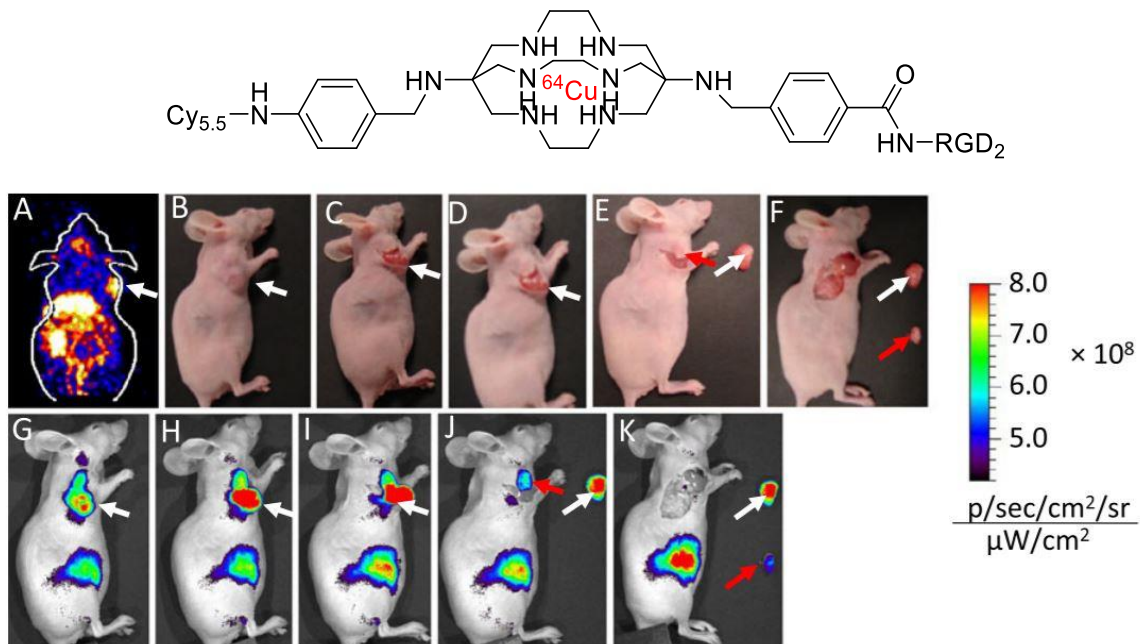


Figure 36 : Structure de la sonde BaAn(Boc)Sar et A) Image microTEP déterminant l'emplacement de la tumeur. B-F) Images digitales prises durant la tumorectomie. G-K) Images de fluorescence permettant le guidage lors de la chirurgie. La flèche blanche indique la tumeur et la rouge la seconde tumeur.

## Chapitre I - Bibliographie

Les sondes développées jusqu'ici ont donc des résultats assez variables. Mais le grand potentiel de cette bimodalité est tout de même démontré. Pour synthétiser la sonde idéale, il existe de nombreuses approches. Le problème principal reste tout de même la stratégie de synthèse. Concevoir ce genre de molécules requiert de prendre en compte un certain nombre de contraintes : (1) le fluorophore doit être choisi de manière à ce que les propriétés fluorescentes soient exploitables *in vivo*, (2) le synthon portant le radioélément ne doit pas perturber la capacité de reconnaissance et doit être stable lorsqu'il porte l'isotope, (3) la partie de reconnaissance (vecteur), choisie selon l'application souhaitée de la sonde, (4) l'utilisation de petites molécules de manière à ne pas influencer les propriétés des différents synthons, (5) l'introduction de l'élément radioactif doit pouvoir se faire rapidement et de préférence en fin de synthèse.

Trois voies de synthèse principales ont été mises au point au cours des différentes études.<sup>[112]</sup> La première consiste à coupler le fluorophore et le radioisotope sur le vecteur. Cette voie est majoritairement utilisée pour imager des anticorps monoclonaux,<sup>[53]</sup> ou de larges molécules avec des sites de conjugaison multiples. La seconde voie met au centre le radioisotope, sur lequel viennent se fixer le fluorophore et le traceur. Cette approche met en avant l'utilisation d'un groupement portant le radioisotope ou le chélatant. Elle sera notamment employée pour des peptides. Pour la troisième voie, c'est le fluorophore qui sert de lien entre le radioisotope et le vecteur. L'élément fluorescent est donc ici fonctionnalisé pour accueillir les deux autres synthons. Il faut ainsi faire attention à ce que ces modifications n'altèrent pas les propriétés fluorescentes (Figure 37).

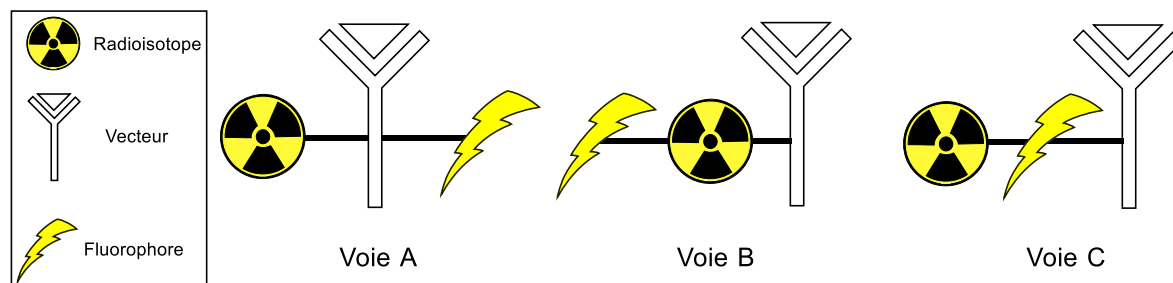


Figure 37 : Les différentes voies de synthèse de sonde bimodale TEP-IO

Une voie de synthèse, beaucoup moins répandue, consiste à coupler les différents éléments à une plateforme centrale. Le choix de l'une de ces voies est ainsi totalement dépendant de l'utilisation prévue de la sonde et des éléments qui vont la constituer.

## Partie B - Cyclotrivratriylène

Le produit de condensation du vératrole avec le formaldéhyde en présence d'un acide a été obtenu pour la première fois en 1915 par l'équipe de Robinson.<sup>[113]</sup> Ils le décrivent alors comme étant le 2,3,6,7-tétraméthoxy-9,10-dihydroanthracène (n=2, deux aromatiques) (Schéma 11).

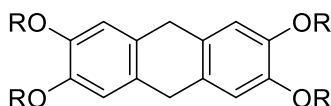


Schéma 11 : 2,3,6,7-tétraméthoxy-9,10-dihydroanthracène

Oliverio *et. al.* réfute cette affirmation en 1952 en prouvant que le produit en question, synthétisé par une autre voie, présente des propriétés différentes à celui de la condensation.<sup>[114]</sup> La molécule n'a également pas la structure du dihydroanthracène, ils en concluent donc qu'il s'agit d'un hexamère (n=6). En 1965, Lindsey *et. al.* conteste une fois de plus cette théorie. De nombreuses études structurales et massiques démontrent qu'il s'agit en réalité d'un trimère (n=3) qu'ils renomment le cyclotrivratriylène (CTV) (Schéma 12).<sup>[115]</sup>

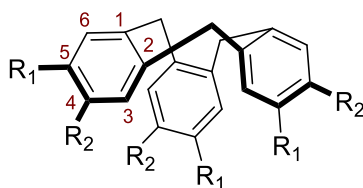


Schéma 12 : Cyclotrivratriylène

Cette molécule en forme de couronne est composée de trois groupements benzènes reliés par des ponts CH<sub>2</sub> par les carbones 1 et 2 et peut être fonctionnalisée *via* les carbones 4 et 5. Lorsque les groupements sont tous identiques, le CTV possède une symétrie C<sub>3</sub>. Sa structure rigide en forme de cône présente de nombreux avantages permettant l'utilisation de cette molécule pour diverses applications.

## I. Les applications

### 1- Hôte moléculaire

La conformation en forme de bol du CTV offre une cavité moléculaire assez grande pour que des molécules puissent se complexer à l'intérieur de manière non covalente. Les fullerènes sont un bon exemple de cette complexation. L'équipe de Atwood a étudié en 1994 les interactions entre un CTV et un fullerène  $C_{60}$ .<sup>[116]</sup> Grâce à des interactions  $\pi$ - $\pi$  au sein de la cavité, le  $C_{60}$  forme un complexe avec le CTV (Schéma 13). En revanche, le  $C_{70}$  ne constitue pas de complexe pur. Il est donc possible de séparer ces deux fullerènes.

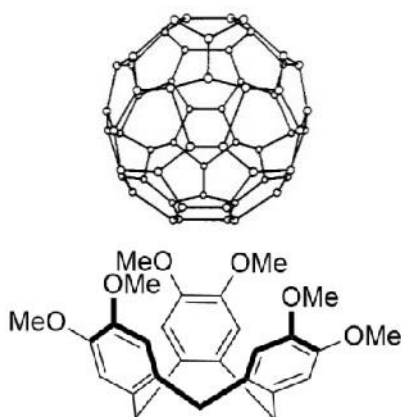


Schéma 13 : Complexe CTV-Fullerène  $C_{60}$

Les CTVs ont également des affinités avec les ions. En 1982, Lehn *et. al.* a synthétisé un éther couronne [18]- $N_3O_3$ , couplé à un CTV (Schéma 14).<sup>[117]</sup> La cavité devient alors lipophile, d'une taille d'environ 5 Å. Les sites de complexations sont alors spécifiques des petits cations, comme le  $-NH_3^+$ . Il s'agit ici également du premier hémicytrophane synthétisé, dont la nature sera explicitée plus tard.

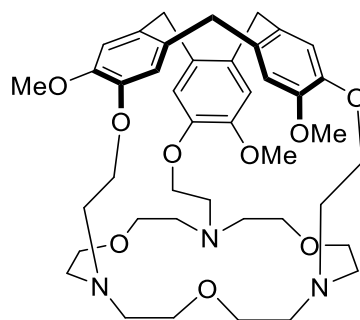


Schéma 14 : CTV couplé à l'éther couronne

En modifiant de nouveau ses substituants, le CTV peut également complexer des anions. L'équipe de Steed a obtenu un CTV capable de se complexer avec de nombreux anions comme le  $\text{BF}_3^-$ ,  $\text{CF}_3\text{SO}_3^-$ ,  $\text{CF}_3\text{CO}_2^-$  ou le  $\text{ReO}_4^-$  (Schéma 15).<sup>[118]</sup> Il est expliqué que cette affinité fonctionne avec des complexes contenant au moins deux centres de métaux de transition, comme c'est le cas ici. En effet, ces centres ont une lacune de densité d'électrons  $\pi$  qui augmente leur affinité avec les anions. En solution organique, cet hôte présente une très grande habileté à complexer de plus larges anions tétraédriques comme le  $^{99}\text{TcO}_4^-$  ou le  $\text{ReO}_4^-$ . Cette molécule a même démontré une sélectivité envers ces ions, par rapport au chlorure, nitrate, sulfate, triflate ou perchlorate.

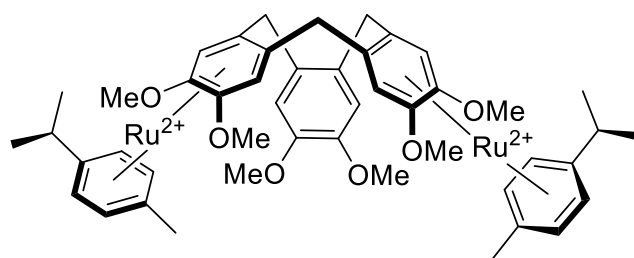


Schéma 15 : CTV avec affinité aux anions

Le CTV présente une symétrie  $C_3$ . En plaçant des substituants chiraux, il devient alors possible d'effectuer de la reconnaissance chirale. C'est en se basant sur ce principe que Martinez *et. al.* a développé un CTV couplé à des groupements binaphtols capables de jouer le rôle d'hôte pour des sucres.<sup>[119]</sup> Deux chiralités axiales sont ici présentes : celle des groupements binaphtols et celle du CTV. Après l'obtention de ces molécules de manière énantiopure (Figure 38), l'efficacité de ces dernières à interagir avec le glucose et le mannose grâce aux hydroxyles et aux cycles aromatiques des groupements binaphtols a été démontrée.

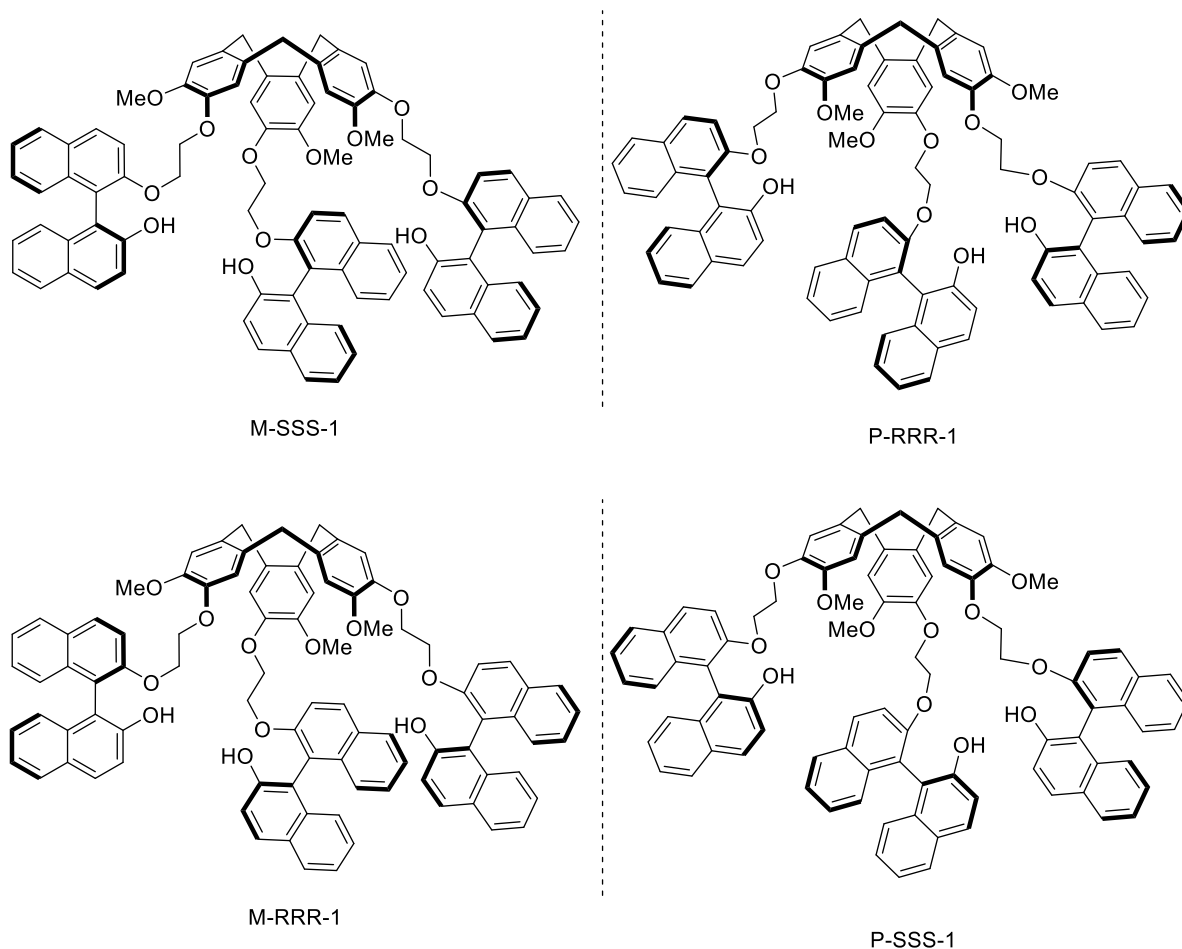


Figure 38 : Structure des CTVs couplés aux binaphtoles

Les différents énantiomères ont été mis en présence de deux anomères du glucose ( $\text{Oct}\alpha\text{Glc}$  et  $\text{Oct}\beta\text{Glc}$ ) et du mannose ( $\text{Oct}\alpha\text{Man}$  et  $\text{Oct}\beta\text{Man}$ ). Les constantes de liaison, mesurées par titration RMN du proton, diffèrent selon la stéréochimie. L'hôte M-RRR-1 a par exemple une plus haute affinité avec l' $\text{Oct}\alpha\text{Man}$ .

Il existe des cages moléculaires utilisant comme base un cyclotrivratriylène. La première est le cryptophane. Il s'agit d'un hôte homotopique, constitué de deux CTVs (Schéma 16). A l'intérieur de la cavité formée, de petites molécules peuvent être encapsulées comme le méthane, des époxydes, des anions, des cations, du xénon ou du radon.<sup>[120]</sup>

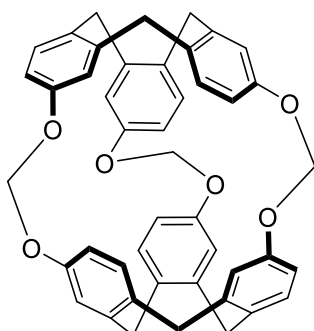


Schéma 16 : Exemple de cryptophane pour encapsuler le Xénon développé par Dutasta et. al.<sup>[121]</sup>

La seconde est l'hémicryptophane. Ici, un CTV est couplé à des groupements de symétrie  $C_3$  *via* des liaisons covalentes ou des interactions non covalentes. C'est un hôte hétérotopique capable de reconnaître des molécules chargées ainsi que des molécules neutres, comme des zwitterions, des ammoniums, des carbohydrates ou des fullerènes. Ils sont particulièrement utilisés en tant que récepteurs moléculaires, catalyseurs supramoléculaires et prémices de machine moléculaire. En 2011, l'équipe de Martinez a par exemple synthétisé un hémicryptophane triamide sélectif de la taurine (Figure 39).<sup>[122]</sup> Ce neurotransmetteur peut activer ou inhiber de nombreux récepteurs comme le récepteur GABA<sub>A</sub>. Développer un traceur de cette molécule offre donc de nombreuses applications dans le domaine médical.<sup>[123–125]</sup>

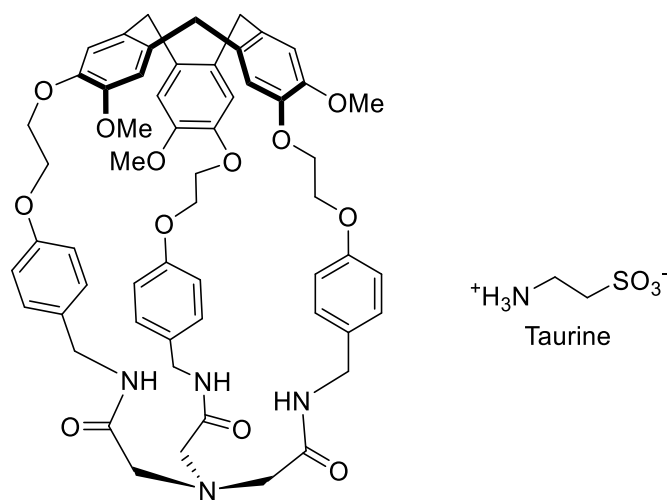


Figure 39 : Structure de l'hémicryptophane triamide et de la taurine

La taurine est une espèce zwitterionique, qui est donc fortement solvatée, rendant sa complexation défavorable énergétiquement. Cet hémicryptophane a ainsi pour but d'encapsuler sélectivement la taurine dans un milieu compétitif MeCN/H<sub>2</sub>O. Le CTV stabilise l'ammonium grâce à des interactions  $\pi$ -cations et le triamide stabilise la charge négative en liant ses NH aux H de l'espèce invitée. La spécificité de la molécule a été démontrée en effectuant des expériences de complexation suivies par RMN du proton : pour être encapsulée, la molécule invitée doit être zwitterionique, et son volume de Van der Waals ainsi que sa forme doivent correspondre à la cavité. D'autres espèces similaires à la taurine comme la glycine ne sont ainsi pas complexées.



### 2- Sonde fluorescente

En lui-même, le CTV ne présente pas d'émission de fluorescence. En revanche, il peut être fonctionnalisé pour introduire des groupements conférant à la molécule des propriétés de fluorescence intéressantes. En effet, en plaçant un groupement électroattracteur en R<sub>1</sub> et un groupement électrodonneur en R<sub>2</sub>, un effet « push-pull » est mis en place.

C'est en 2009 que le premier CTV fluorescent a été synthétisé.<sup>[126]</sup> Il est composé de trois groupements électroattracteurs, des phosphonates et de trois groupements méthoxy, électrodonneurs (Schéma 17). Sa longueur d'onde d'émission maximale est de 314 nm et son rendement quantique de fluorescence est de 14%.

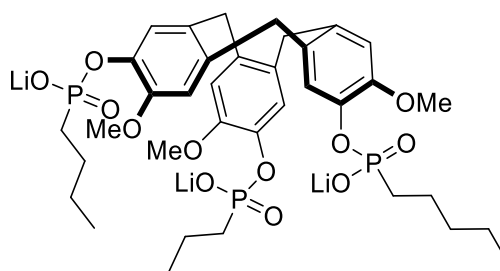


Schéma 17 : Premier CTV fluorescent

En plus d'être fluorescente, cette molécule reconnaît spécifiquement l'acétylcholine (ACh). A pH neutre, les phosphonates assurent la solubilité. Ce groupement a également une bonne capacité à se lier aux ammoniums, en plus des interactions  $\pi$ -cations apportées par le CTV. Cette molécule accueille dans sa cavité l'acétylcholine en milieu physiologique. Une titration de la sonde avec de l'ACh montre une augmentation de la fluorescence en présence du neurotransmetteur. Cette sonde peut donc s'avérer très utile pour suivre l'activité de l'ACh.

En 2011, un autre CTV a été développé par la même équipe.<sup>[127]</sup> Les chaînes *n*-butyl ont été remplacées par des groupements hydroxyles (Schéma 18). Sa longueur d'onde d'émission est de 316 nm dans une solution tampon HEPES et son rendement quantique de fluorescence est de 11%.

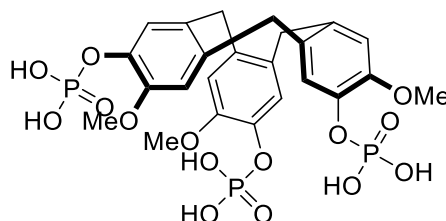


Schéma 18 : CTV fluorescent reconnaissant la Choline

Ce CTV a été obtenu de manière intéressante : la trimérisation des CTVs se fait par substitution électrophile aromatique ( $SE_{Ar}$ ). Cette réaction fonctionne bien mieux lorsque les substituants en position 4 et 5 sont des groupements électrodonneurs, comme c'est le cas pour le CTV portant trois groupements phényles et trois groupements méthoxy, intermédiaire majoritairement utilisé pour substituer des CTVs. Pour activer la fluorescence, l'un des deux groupements doit être électroattracteur. La trimérisation ne peut donc pas se faire. Pour résoudre ce problème, un CTV intermédiaire est utilisé : le CTV iodé ( $CTV_i$ ) (Schéma 19).

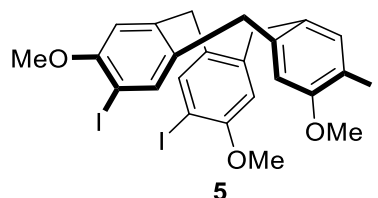


Schéma 19 : intermédiaire  $CTV_i$

Ainsi, la fonctionnalisation avec le groupement électroattracteur peut se faire après la  $SE_{Ar}$ . Le CTV a donc été fonctionnalisé avec des groupements phosphonates. Cette molécule reconnaît également l'ACh, et des titrations par fluorescence en présence de Choline (Ch) ont démontré une meilleure constante de couplage que pour l'ACh. Cette préférence est due à la formation d'une liaison hydrogène entre les groupements hydroxyles des phosphonates et celui de la Choline. Les longueurs d'onde de ces sondes sont en revanche trop faibles ( $\lambda_{em}=316$  nm). Il reste donc des améliorations à apporter pour des applications *in vivo*.

### 3- Autres applications

En plus d'être utilisé comme hôte moléculaire et sonde fluorescente, le CTV a beaucoup d'autres applications.

Le CTV peut être utilisé en tant que plateforme pour des dendrimères. En 2009, Percec *et. al.* se sert de la conformation couronne du CTV pour former des colonnes pyramidales en hélice.<sup>[128]</sup> Précédemment, cette équipe avait rapporté la première sphère supramoléculaire dendrimérique, présentant un ordre hélicoïdal interne et qui n'est donc pas micellaire. Il s'agit ainsi d'un mime synthétique des protéines globulaires.<sup>[129]</sup> Il cherche donc ici à obtenir cette couronne dendritique. Le CTV leur a apporté une très bonne base, sa forme de bol lui permettant de s'auto-assembler en colonne pyramidale. Ils ont ainsi synthétisé 14 CTVs portant des dendrimères, 7 chiraux et 7 achiraux (Figure 40). Les colonnes pyramidales hélicoïdales ainsi que les sphères supramoléculaires formées sont en revanche toutes chirales. Ils ont pu démontrer également par diffraction des rayons X et par dichroïsme circulaire que la structure interne de ces dendrimères sphériques est composée de petits fragments de colonnes pyramidales en hélice. Ce nouveau procédé d'autoassemblage permet l'accès à de nouveaux mécanismes pour le transfert et

## Chapitre I - Bibliographie

l'amplification d'informations structurales à un niveau moléculaire et supramoléculaire, afin notamment d'expliquer des processus liés au caractère chiral de macromolécules dendritiques.<sup>[130]</sup>

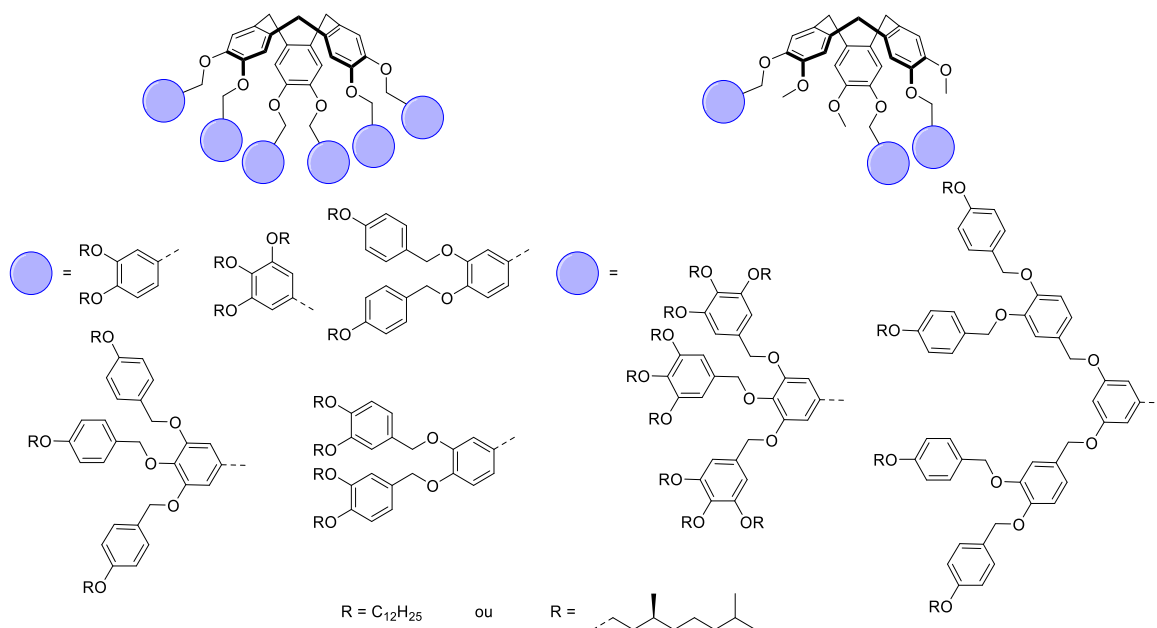


Figure 40 : Cyclotrivératrylènes fonctionnalisés par des dendrimères, chiraux et achiraux

Le CTV est aussi utilisé comme plateforme pour la formation de gel à partir de gélifiants de faible poids moléculaire.<sup>[131]</sup> C'est ici son caractère tripodal qui est intéressant. Ces gels organiques ont des applications en tant que matériaux modèles,<sup>[132]</sup> vecteurs de médicaments,<sup>[133]</sup> facteurs de séparation pour différents milieux<sup>[134]</sup> ou pour l'affichage électro-optique.<sup>[135]</sup>

Une étude similaire à celle effectuée avec les dendrimères est possible, mais cette fois pour la formation de cristaux liquides.<sup>[136]</sup> La forme de bol du CTV permet son empilement en pyramide. Zimmerman *et. al.* a étudié des procédés dynamiques ayant lieu au sein de ces cristaux liquides discotiques grâce aux deux conformations du CTV : la forme couronne et la forme selle (Figure 41). Ces études permettent de mieux comprendre le comportement de ces dipôles électriques macroscopiques formés par ces empilements de CTVs.

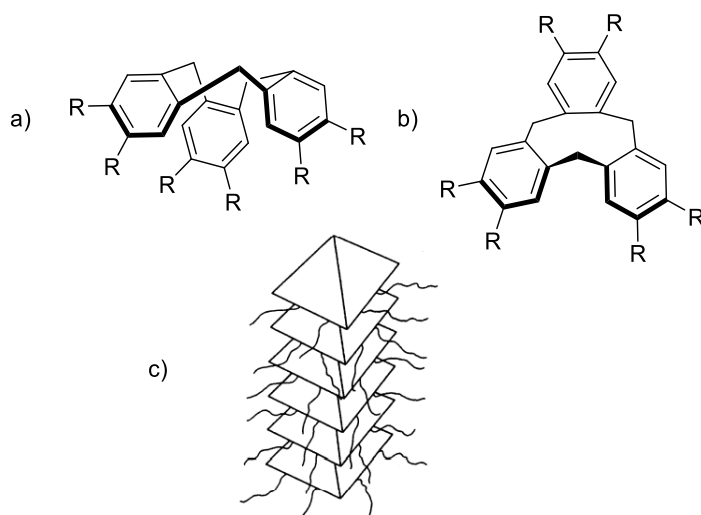


Figure 41 : a) Forme couronne du CTV - b) forme selle du CTV - c) Empilement en pyramide des CTVs

## II. Symétrie $C_1$

Tous les CTVs décrits jusqu'ici présentent une symétrie  $C_3$ . Leur haute symétrie peut être un inconvénient : le contrôle de la réactivité sur une position particulière est très compliqué. La purification de ces mélanges de complexes est contraignante, ce qui ne permet pas l'obtention du produit en grande quantité pour, par exemple, des applications *in vivo*.

Le CTV de symétrie  $C_1$  est un sujet émergent. Il n'existe encore que très peu d'études sur cette structure pourtant intéressante. Le changement de symétrie peut être apporté de trois manières différentes : en changeant un seul groupement sur l'un des aromatiques, en modifiant la position apicale d'un  $CH_2$  ou en intervertissant les groupements d'un seul aromatique.

Cette nouvelle symétrie ouvre l'accès à de nouveaux CTVs portant des groupements électroattracteurs et possédant un système  $\pi$  conjugué. De nouveaux cryptophanes ou hémicryptophanes peuvent être obtenus de manière énantiopure ; il s'agit ici de nouveaux outils pour la construction de cages moléculaires, avec des ouvertures de différentes tailles et un potentiel système « on/off » cinétique pour l'encapsulation de molécule. Ces cryptophanes peuvent également servir de biosenseur IRM du  $^{129}\text{Xe}$ , domaine dans lequel il est toujours intéressant d'obtenir de nouvelles molécules hôtes. De plus, ces CTVs ou ces cryptophanes de symétrie  $C_1$  sont chiraux, ils peuvent ainsi procéder à de l'énantiodiscrimination pour de la catalyse, de la reconnaissance de molécule, la détermination d'excès énantiomérique ou l'obtention d'informations sur la chiralité de molécules invitées.

Différentes méthodes de synthèse de CTVs de symétrie  $C_1$  vont être présentées.

## Chapitre I - Bibliographie

### 1- Modification d'un CTV de symétrie $C_3$ (CTV- $C_3$ )

La méthode la plus connue pour changer la symétrie d'un CTV est de partir d'un CTV- $C_3$  avec des groupements méthoxy et de déméthyle sélectivement un seul de ces groupements (Schéma 20).

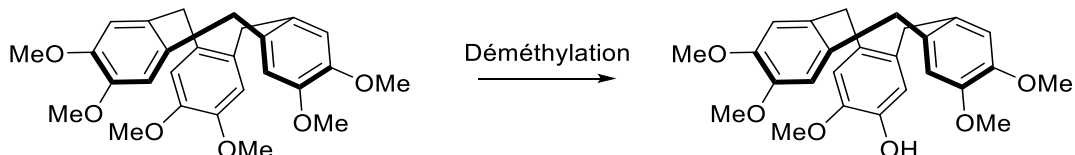


Schéma 20 : Obtention d'un CTV- $C_1$  par déméthylation

Cette voie est utilisée pour la première fois en 2005 par l'équipe de Pant.<sup>[137]</sup> En 2013, Zheng *et. al.* se sert de ce CTV- $C_1$  et le fonctionnalise avec un imidazolium.<sup>[138]</sup> Ce CTV peut ainsi servir de catalyseur pour des réactions d'addition de Michael. L'activité catalytique est meilleure que pour les carbènes traditionnels, notamment avec les composés aromatiques. Le mécanisme supposé (Schéma 21) commence par la formation d'un carbène à partir de l'imidazolium en milieu basique, puis le complexe NHC-alcool et la cétone activée par les sels de lithium accélère l'addition 1,4 de l'alcool. Lorsque l'hydroxyle se trouve sur un groupement aromatique, les interactions  $\pi$ - $\pi$  qui se mettent en place entre le CTV et le substrat facilitent la réaction, ce qui induit la chimio-sélectivité.

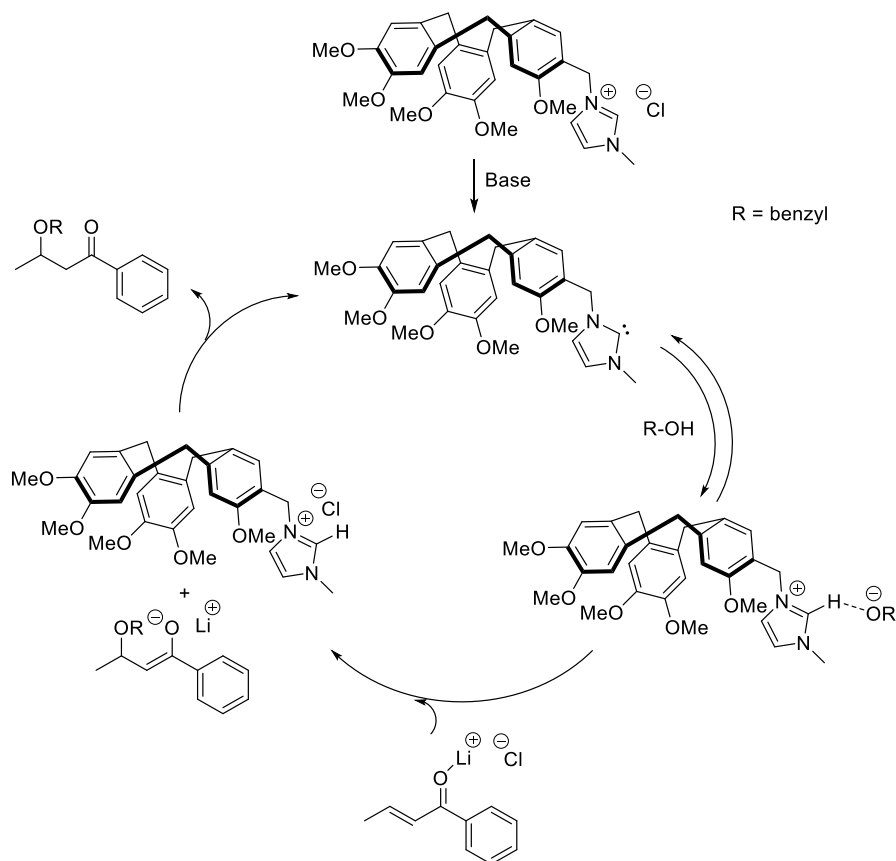


Schéma 21 : Cycle catalytique exploitant un CTV-C<sub>1</sub>

En 2017, Rousseau *et al.* reporte une nouvelle méthode : par monohalogénéation.<sup>[139]</sup> Cette méthode part d'un CTV portant trois groupements OH. En présence de NIS ou NBS dans l'acétonitrile, un mélange de trois produits est obtenu dans des proportions 41:20:39, respectivement le monohalogéné, le dihalogéné et le produit de départ (Schéma 22).

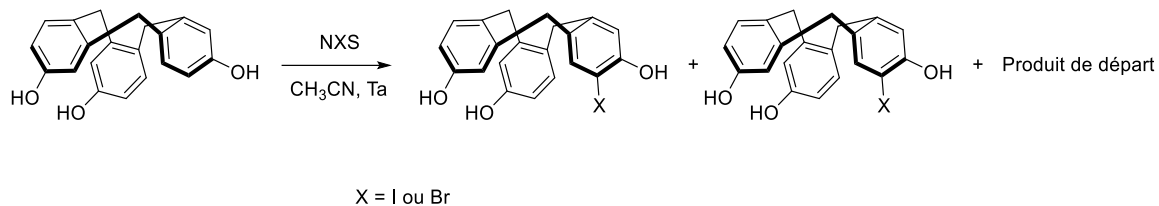


Schéma 22 : Synthèse du CTV-C<sub>1</sub> monohalogéné

Ce CTV offre l'accès à un cryptophane monofonctionnalisable soluble dans l'eau (Schéma 23). Lors de ce genre de synthèse, beaucoup de produits différents sont obtenus, ce qui demande souvent des HPLCs fastidieuses.

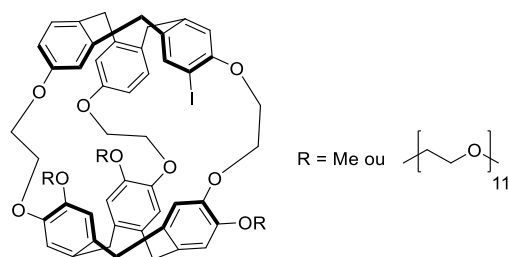


Schéma 23 : Cryptophane monofonctionné hydro-soluble

L'équipe de Liskamp a développé une stratégie permettant d'introduire trois aromatiques différents sur le CTV.<sup>[144]</sup> Le changement de symétrie s'effectue à partir d'un CTV-C<sub>3</sub> portant des alcools et des groupement méthoxy (Schéma 24). Une di-protection de ces alcools par du DHP conduit à l'obtention d'un seul phénol libre. Ce dernier est ensuite alkylé, puis les deux autres seront alors déprotégés, puis alkylés à leur tour avec des alcynes portant deux groupements protecteurs différents : un avec un TIPS et l'autre avec un TES. Il est ainsi possible de fonctionnaliser le CTV avec trois groupements différents de manière contrôlée.

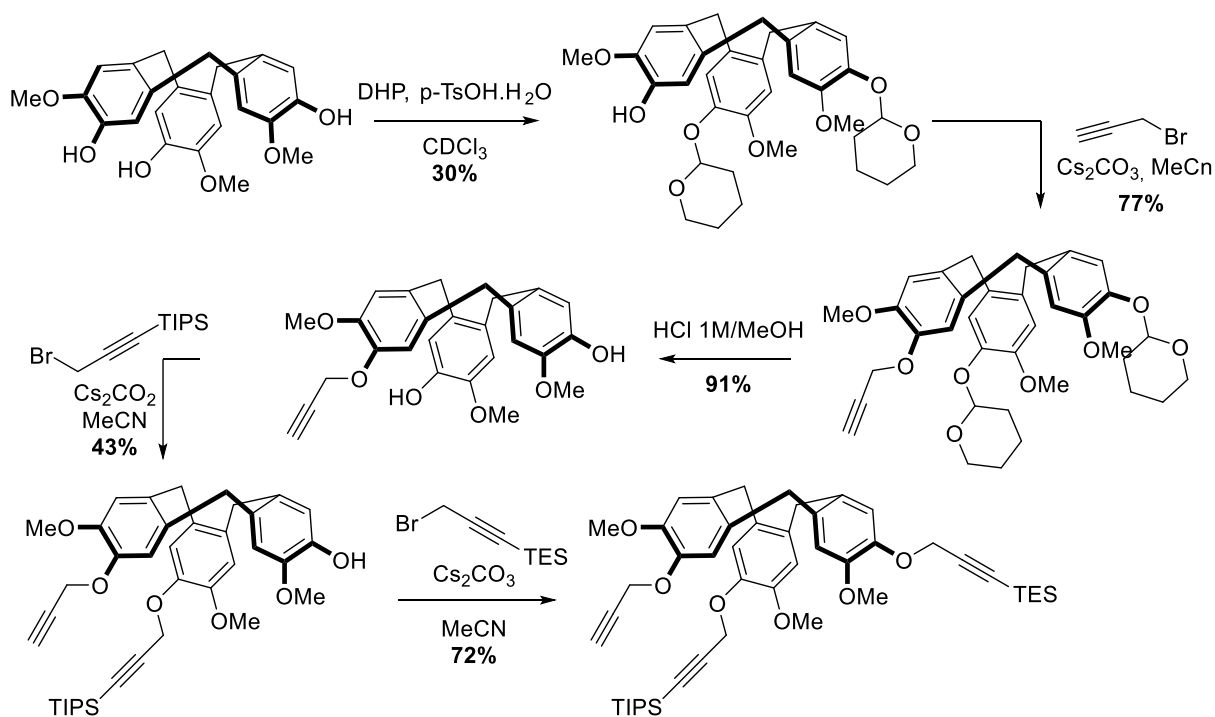


Schéma 24 : Synthèse du CTV totalement désymétrisé

C'est cette dernière méthode qui sera utilisée dans cette thèse pour synthétiser le CTV de symétrie C<sub>1</sub>.

## 2- Changement de la position apicale

La plupart des CTVs sont fonctionnalisés *via* leurs positions périphériques. Or, il est également possible de placer des groupements en position apicale, et d'introduire ainsi une symétrie  $C_1$ . L'équipe de Becker s'est servie de cette idée pour synthétiser un CTV- $C_1$  lactame.<sup>[140]</sup> Ce dernier, avec son cycle à 10 chaînons, est bien plus flexible que les CTVs « classiques ». La barrière d'énergie permettant la racémisation du mélange d'énantiomères de la molécule est donc plus basse. Becker se sert du Chirabite-AR®, un sélecteur chiral permettant de différencier des énantiomères, afin de déterminer la pureté énantiomérique de ce composé. Pour se racémiser, le CTV, d'abord en conformation couronne, doit passer par la conformation selle (Figure 42 - a). Afin d'empêcher ce mouvement, un groupement acide (-)-menthoxyloxyacétique est inséré ; ce dernier va bloquer de manière stérique le passage vers la conformation chaise (Figure 42 - b).

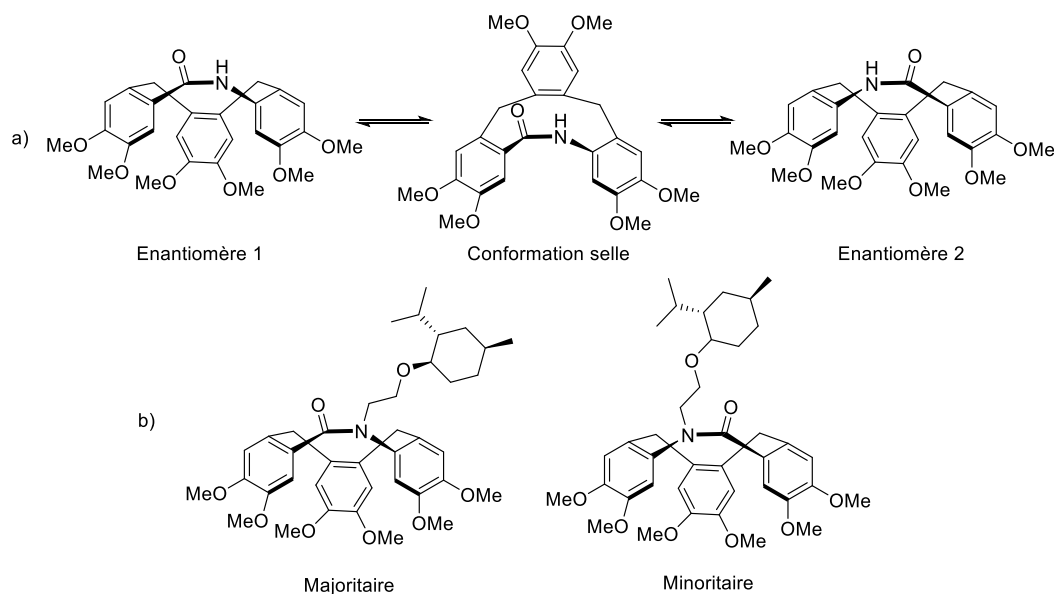


Figure 42 : a) Racémisation du CTV- $C_1$  lactame via les changements de conformation - b) Les deux diastéréoisomères du menthoxyimide

Après cristallisation, un diastéréoisomère majoritaire est isolé. La séparation se fait à l'aide du Chirabite-AR®, l'HPLC chirale n'est ainsi pas nécessaire.

## 3- Avant la trimérisation

La trimérisation est l'étape clé pour la formation des CTVs. Lors de cette étape, il est possible d'utiliser des synthons permettant d'obtenir une symétrie  $C_1$  en utilisant deux groupements identiques sur deux synthons et des groupements différents des premiers sur le troisième synthon (Schéma 25).



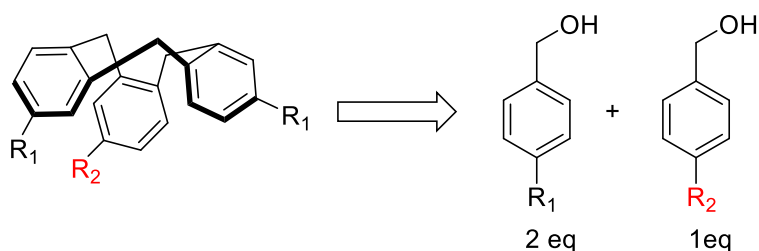


Schéma 25 : CTV- $C_1$  synthétisé à partir de deux synthons différents –  $R_1 \neq R_2$

Dès 1965, Lindsay, pour prouver le caractère trimérique du CTV, effectue sa synthèse avec du vétratole et le 6,6'-bischlorométhyl-3,3',4,4'-tetraméthoxydiphénylméthane.<sup>[115]</sup> Il teste ce protocole en remplaçant le vétratole par différentes molécules, obtenant ainsi des CTVs qualifiés alors de non symétriques (Schéma 26).

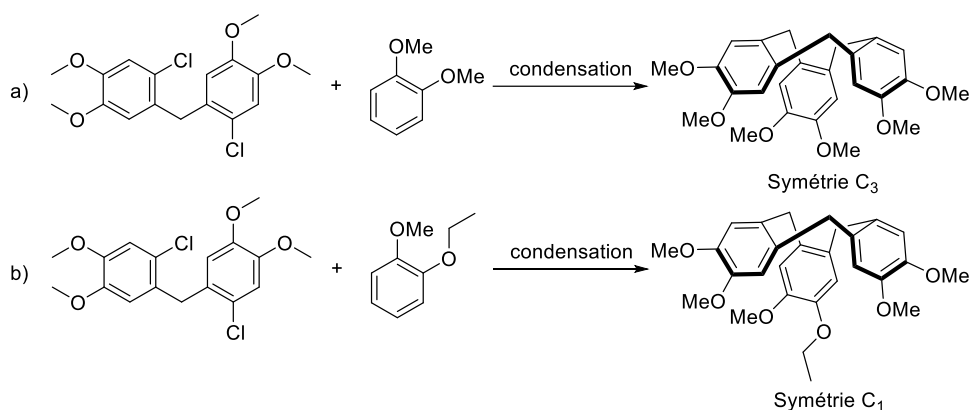


Schéma 26 : a) Synthèse du CTV- $C_3$  avec le vétratole - b) Synthèse du CTV- $C_1$  avec le 2-éthoxyanisole

Récemment, l'équipe de Martinez réalise une synthèse similaire.<sup>[141]</sup> La perte de symétrie est apportée par l'inversion des groupements d'un des aromatiques (Figure 43). Cette synthèse conduit à quatre stéréoisomères, séparés par une HPLC chirale et analysés par spectroscopie ECD afin de déterminer la configuration absolue de chacun. Ces CTVs- $C_1$  pourront par la suite mener à de nouveaux cryptophanes et hémicryptophanes, de taille et de forme de cavité non atteignables avec les autres méthodes de synthèse.

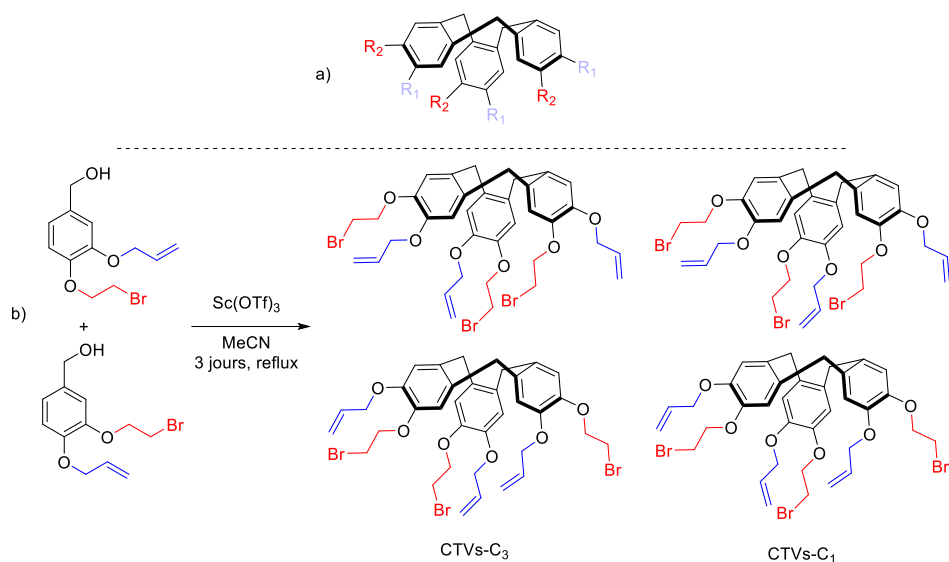


Figure 43 : a) CTV- $C_1$  avec inversion des groupements  $R_1$  et  $R_2$  - b) Synthèse des 4 stéréoisomères

Encore plus récemment, Dubost *et. al.* synthétise un CTV- $C_1$  via un couplage au Bore de Barluenga (BBC).<sup>[142]</sup> Cette réaction permet la formation d'un pont méthylène entre deux arènes dans des conditions douces.<sup>[143]</sup> Leur stratégie commence par la synthèse d'un trimère ouvert portant un alcool benzylique, obtenu grâce à deux BBCs itératifs. Après une cyclisation en milieu acide, le CTV- $C_1$  est obtenu avec un parfait contrôle de la position des substituants (Figure 44).

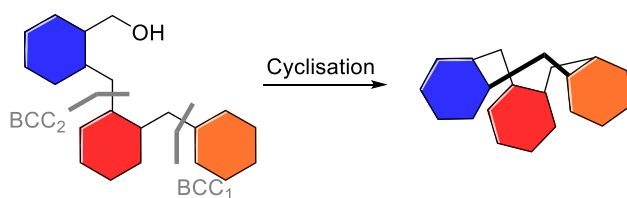


Figure 44 : Synthèse du CTV- $C_1$  via un BBC

Cette méthode est également testée pour la synthèse d'un CTV portant trois aromatiques différents, avec un rendement global de 15% en cinq étapes. Cette stratégie peut donc être appliquée efficacement pour la synthèse d'une très grande variété de CTVs.

### Partie C : Conclusion

Cette analyse bibliographique relève notamment le fait que l'utilisation de sondes bimodales est aujourd'hui essentielle pour aller plus loin dans les apports de l'imagerie médicale, à la fois pour le diagnostic et la thérapie. Ainsi, pour le diagnostic, la TEP, bien que devenue incontournable notamment avec l'utilisation du  $^{18}\text{F}$ FDG, est presque toujours couplée au CT-scan pour obtenir des images exploitables. Couplées avec l'IRM, les sondes présentent une très bonne résolution et un haut contraste des tissus mous. Il n'y a également pas d'irradiation supplémentaire, car seul un isotope pourrait être nécessaire. Mais très peu de sondes hybrides IRM/TEP ont été développées jusqu'ici dû à la différence de sensibilité de ces deux techniques.

De plus, la spécificité des radiotraceurs pour la TEP reste limitée, aucune de ces molécules n'est suffisamment spécifique pour la détection de processus cancéreux précis. Le développement de nouveaux radiomarqueurs plus spécifiques est ainsi indispensable. La bimodalité/multimodalité permettrait d'avancer vers une médecine personnalisée.

La bimodalité peut aussi être un nouvel outil pour la thérapie, en particulier pour la chirurgie. En effet, pour la résection de tumeur, le chirurgien ne peut se fier qu'à son observation visuelle et tactile. Les petites métastases entre autres passent alors souvent inaperçues et des cellules cancéreuses peuvent rester.

En couplant la TEP avec l'IO, il devient alors possible d'avoir une parfaite vision de la tumeur et de ses métastases, tout en continuant de pouvoir l'identifier et la localiser de manière spécifique. C'est pourquoi dans cette thèse nous avons choisi de synthétiser une sonde portant ces deux types d'imagerie médicale.

La construction de sondes fluorescentes à partir du CTV s'avère très prometteuse. Il n'existe en revanche pas encore d'application *in vivo*, car la longueur d'onde d'émission des sondes développées est trop basse. Mais le grand nombre d'applications attribué au CTV prouve que sa fonctionnalisation est accessible et peut être très variée. L'utiliser en tant que plateforme est donc judicieux.

Ainsi, dans le prochain chapitre, le développement d'une sonde bimodale TEP/IO basée sur un CTV sera présentée. Cette première molécule sera une preuve de concept. La seconde partie sera donc dédiée à l'optimisation de cette sonde.

# Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept



## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

La sonde bimodale envisagée ici doit comporter plusieurs éléments (Figure 45) :

- La plateforme, qui correspond au CTV
- Une partie fluorable au fluor-18 pour la TEP
- Un fluorophore pour l'IO
- Une molécule de reconnaissance pour la spécificité biologique.

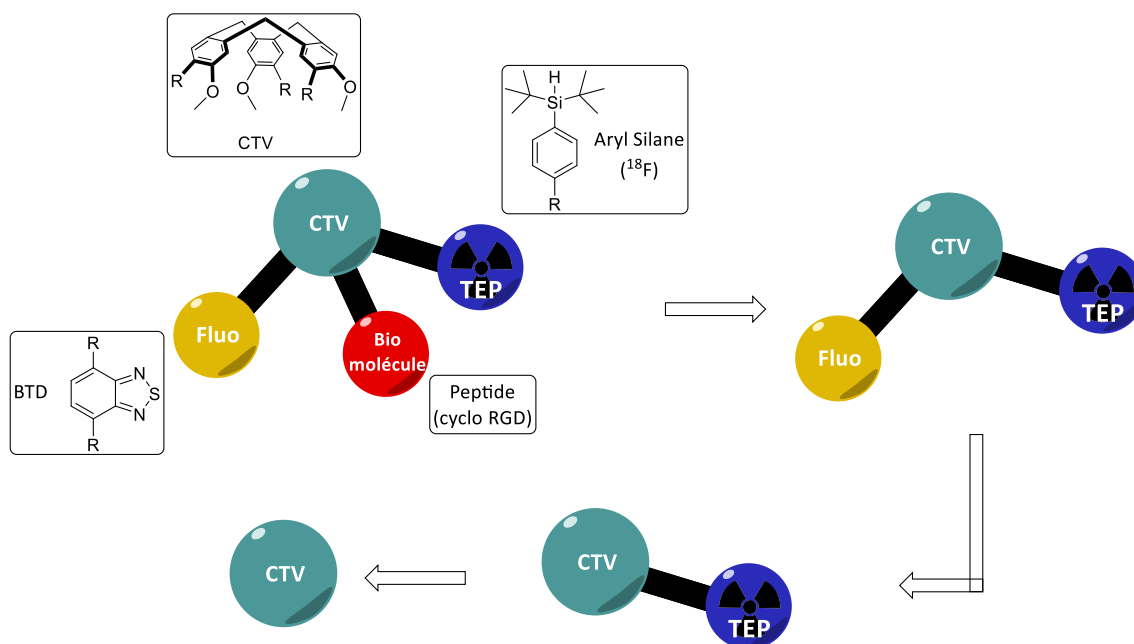


Figure 45 : Rétrosynthèse de la sonde bimodale envisagée

L'organisation de ces éléments est une très grande contrainte synthétique. La première approche a été d'insérer chaque élément en un seul exemplaire sur le CTV. Pour cela, le CTV triiodé (CTV<sub>I</sub>) a été envisagé, afin d'effectuer une fonctionnalisation sélective sur un aromatique. Par la suite, une deuxième approche avec un CTV dont la désymétrisation est totale a été utilisée : le CTV tri alcyne protégé sélectivement (CTV<sub>a</sub>). Ces deux voies seront donc explicitées dans la suite de ce chapitre.

### I. Voie 1 : Plateforme CTV iodé (CTV<sub>I</sub>)

Comme expliqué précédemment, la  $SE_{Ar}$  permettant la trimérisation du CTV nécessite l'absence de groupement électroattracteur. La solution trouvée a été de fonctionnaliser le CTV après sa formation, grâce à l'intermédiaire CTV<sub>I</sub>. De plus, l'iode permet une fonctionnalisation avec des groupements pouvant étendre le système d'électrons  $\pi$  conjugués. Ainsi, en plus de l'effet « push-pull » mis en place avec des groupements

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

électroattracteurs et les groupements méthoxy, la conjugaison permettrait d'atteindre des longueurs d'onde beaucoup plus élevées.

### 1- Synthèse du CTV<sub>1</sub> 5

La synthèse du CTV<sub>1</sub> 5 a été réalisée en 3 étapes (Schéma 27). La première étape est une substitution nucléophile aromatique. La méthode de Speicher *et. al.* a été ici suivie.<sup>[145]</sup> De l'iodure de potassium et du diiode ont été mélangés pour former du I<sup>3-</sup>. La position en *ortho* de l'alcool du composé **1** réagit avec ces ions pour former un carbocation. Le proton est ensuite piégé par les ions OH<sup>-</sup> présents dans le milieu afin de former le composé **2** avec 87% de rendement. La seconde étape est l'alkylation du phénol **2** suivie de l'estérification de l'acide carboxylique en milieu basique pour obtenir le composé **3** avec 81% de rendement. L'ester est par la suite réduit avec trois équivalents d'hydrure de diisobutylaluminium. L'alcool benzylique **4** a été ainsi obtenu avec 80% de rendement, intermédiaire clé pour la trimérisation. La dernière étape s'est inspirée du travail de l'équipe de Cram.<sup>[146]</sup> Il s'agit d'une S<sub>E</sub>Ar : l'alcool benzylique est protoné puis une molécule d'eau est éliminée conduisant à la formation d'un carbocation stabilisé par conjugaison. Ce dernier réagit sur une seconde molécule du composé **4** par S<sub>E</sub>Ar et l'opération est ainsi répétée deux nouvelles fois pour former le CTV<sub>1</sub> 5 avec 29% de rendement.

Lors de cette synthèse, aucune purification n'a été nécessaire. L'intermédiaire **4** peut ainsi être obtenu en grande quantité. L'étape de trimérisation, en revanche, n'a été réalisable que sur de faibles quantités (<1g).

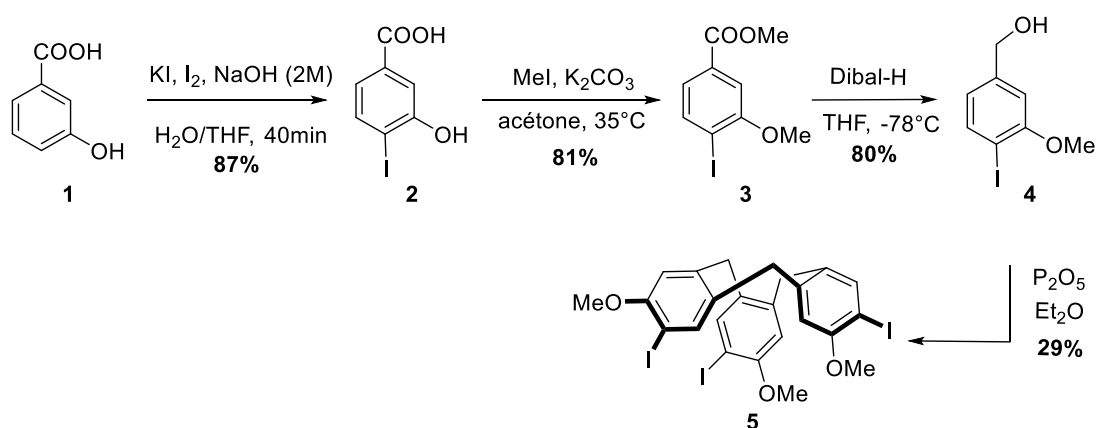


Schéma 27 : Synthèse du CTV triodé 5

Les différents synthons à introduire sur le CTV ont ensuite été synthétisés. Le premier a été un arylsilane. Ce type de synthon a été beaucoup étudié au laboratoire pour le marquage direct au fluor-18 de biomolécules (peptides et oligonucléotides).

## 2- Les arylsilanes

Dans le cadre de cette thèse, le premier arylsilane envisagé a été celui fonctionnalisé par un NH<sub>2</sub> devant permettre l'introduction sur la plateforme *via* un couplage peptidique (Schéma 28).

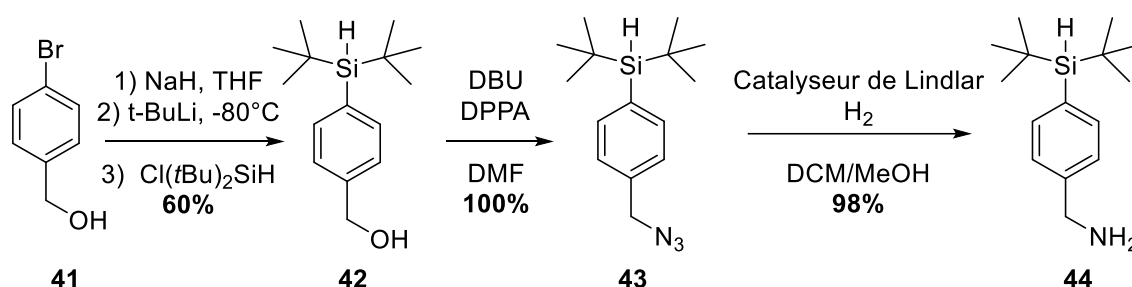


Schéma 28 : Synthèse de l'arylsilane NH<sub>2</sub> 44

La synthèse débute par l'introduction de la fonction di-*tert*-butylsilane sur l'alcool 4-bromobenzyle **41**. Ce protocole est dérivé d'une procédure développée par Scheiber *et al.*<sup>[147]</sup> La formation du composé **42** passe par un intermédiaire lithié qui réagit spontanément avec le chlorure de di-*tert*-butylsilane pour fournir **42** avec 60% de rendement (Schéma 29). La protection de l'alcool **41** n'a pas été nécessaire ici, car l'alcoolate formé *in situ* grâce à l'action de l'hydruure de sodium agit comme groupement protecteur.

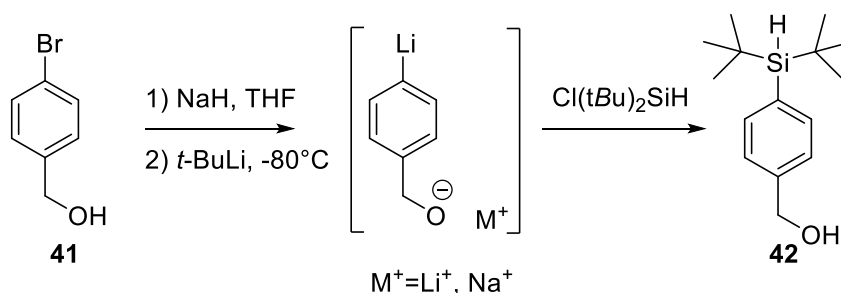


Schéma 29 : Synthèse du composé silylé 42

La procédure adaptée de conditions développées par l'équipe de Grabowski a été utilisée pour introduire l'azoture sur la molécule **42**. Du DPPA combiné à du DBU (une base non nucléophile) a permis l'obtention du composé **43** avec un rendement quantitatif. En dernière étape, l'azoture **43** a été réduit en amine **44** correspondante en présence du catalyseur de Lindlar et de dihydrogène. Un rendement de 98% a été obtenu.

La structure particulière en forme de bol du CTV permet théoriquement d'éviter tout problème stérique lors des étapes de fonctionnalisation ultérieures. Mais, dans le cas où cela serait problématique malgré tout, la possibilité d'insérer un espaceur entre les groupements



## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

et le CTV a été envisagée *via* la préparation d'un second arylsilane, présentant une chaîne polyéthylène glycol (PEG) (Schéma 30).

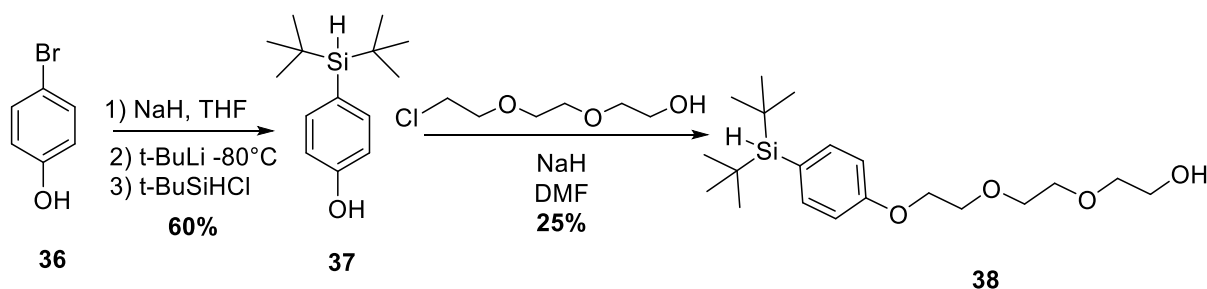


Schéma 30 : Synthèse de l'alcool triéthylène glycol silane **38**

Les chaînes PEG sont très utilisées dans la synthèse de macromolécules biologiques. Une certaine flexibilité et une augmentation du caractère hydrophile découlent de leur insertion au sein de molécules. C'est donc un espaceur de choix pour la sonde envisagée.

La synthèse du composé **38** a démarré par la silylation du composé **36**. Les mêmes conditions que pour le composé **42** ont été utilisées, en partant du 4-bromophénol **36**. Le composé **37** a ensuite été mis en présence de NaH, qui a joué le rôle de base et généré le phénolate. Pour finir, ce dernier a réagi *via* une substitution nucléophile sur le chlorotriéthylène glycol, conduisant à l'arylsilane **38** avec 25% de rendement. Cette réaction n'a été réalisée qu'une seule fois, et n'a donc pas été optimisée.

Finalement, seul l'arylsilane **43** sera utilisé pour le couplage sur la plateforme décrit ultérieurement. Le second synthon (BTD) a été synthétisé en parallèle de l'arylsilane.

### 3- Le benzothiadiazole méthyle **19** (BTD<sub>Me</sub>)

Une molécule a été étudiée depuis quelques années au laboratoire, il s'agit du benzothiadiazole. Cette petite molécule fluorescente pourrait apporter les propriétés nécessaires à la sonde bimodale envisagée. Comme mentionné précédemment, le BTD présente l'avantage de pouvoir être substitué à ses deux extrémités. De cette manière, sa conjugaison peut être facilement étendue.

#### a- Synthèse

Un premier BTD, afin de tester les propriétés de couplage avec le CTV, a été synthétisé. Il s'agit du BTD méthyle **19** (BTD<sub>Me</sub>) (Schéma 31). Ce BTD<sub>Me</sub> porte à l'autre extrémité un alcyne, pour permettre un couplage de Sonogashira avec le CTV<sub>I</sub>, le méthyle doit, quant à lui, permettre l'introduction de différentes fonctions comme un ester. Sa synthèse, issue de la littérature, comporte 4 étapes. <sup>[85,148-150]</sup>

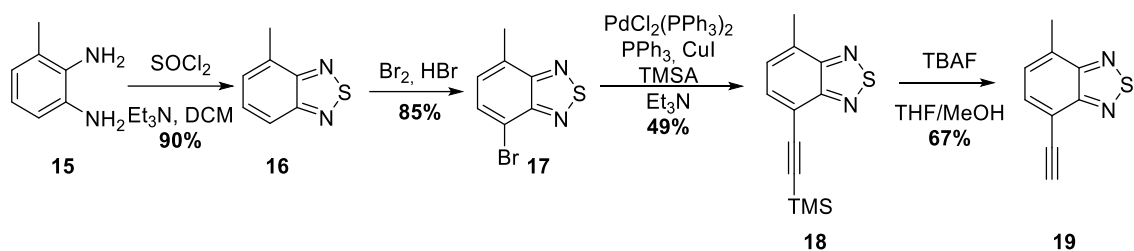


Schéma 31 : Synthèse du BTDMe

Ainsi, le composé **15** est mis en présence de  $\text{SOCl}_2$  pour conduire au composé hétérocyclique **16** avec un rendement de 90%. Une réaction de bromation est effectuée par action du  $\text{Br}_2$  sur le carbone libre en ortho de l'hétérocycle conduisant au composé **17** avec 85% de rendement. Ce composé **17** a permis l'introduction de l'alcyne protégé *via* une réaction de Sonogashira avec un rendement de 49%. Pour finir, l'alcyne est déprotégé par des ions fluorures pour obtenir le composé **19** avec 67% de rendement.

### b- Couplage du CTV 5 et du BTDMe 19

#### a) Trifonctionnalisation

Une fois le CTV **5** et le BTDMe **19** synthétisés, un couplage entre ces deux molécules a été réalisé. Ainsi, après une réaction de Sonogashira avec 9 équivalents de BTDMe **19**, le CTV **54** a pu être obtenu avec 54% de rendement (Schéma 32). Cette réaction a nécessité une purification par chromatographie sur colonne de gel de silice, puis une précipitation dans le chloroforme et l'éther diéthylique et enfin, le produit d'homocouplage contenu dans le surnageant a été éliminé par centrifugation.

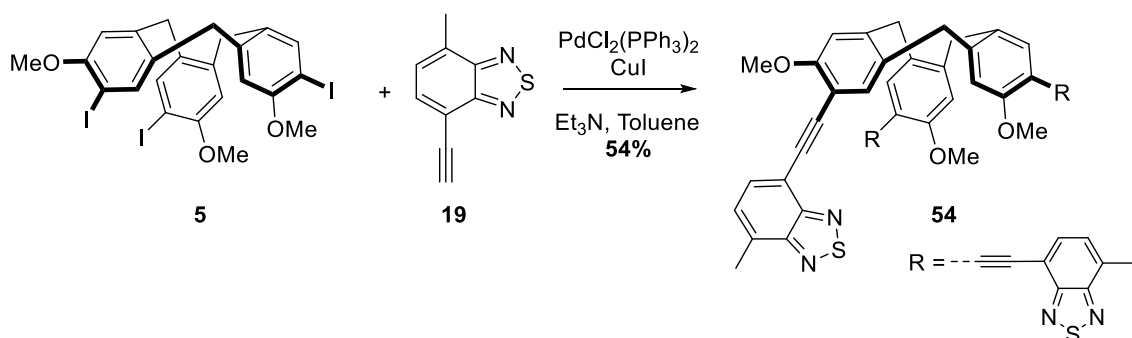


Schéma 32 : Synthèse du CTV 54

Cette molécule est la preuve que le BTDMe peut être couplé au CTV avec un rendement correct. Le composé **54** possède des propriétés fluorescentes ( $\lambda_{em}=525$  nm), mais n'est soluble que dans des solvants organiques. Dans un second temps, des essais de fonctionnalisation sélective du CTV, sur un seul de ses aromatiques, ont été menés afin de désymétriser la molécule et permettre l'introduction des trois synthons.

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

### b) Mono fonctionnalisation du CTV 5 avec le BTD 19

Plusieurs conditions sous irradiation micro-ondes pour réaliser la réaction de Sonogashira sélective sur une seule fonction ont été testées, en faisant varier le nombre d'équivalents de BTD, la concentration, le temps de réaction et la température (Schéma 33).

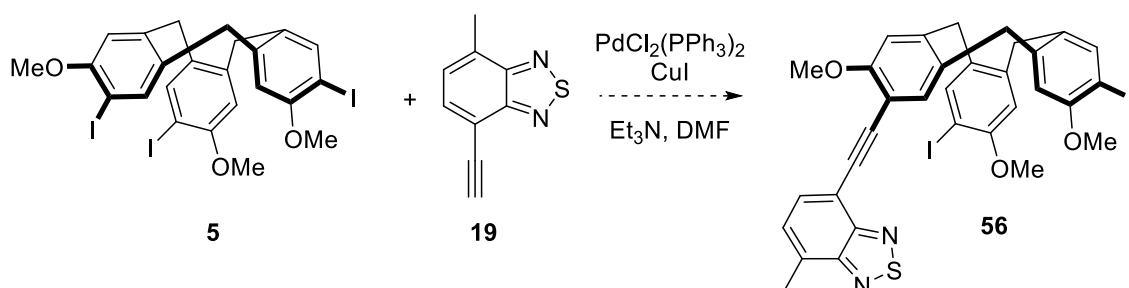


Schéma 33 : Synthèse du composé 56

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Conditions de couplage testées pour la synthèse du composé 56

Entrée	Equivalent de BTD 19	Quantité de DMF	Temps de réaction/Température
1	1,5	3 mL	2h / 40°C
2	1,5	17 mL	3h / 40 °C
3	3	10 mL	3h / 40 °C
4	1	17 mL	3h / 40 °C
5	1,5	17 mL	3h / 40 °C
6	1	10 mL	1h / 60°C
7	1	10 mL	30 min / 60°C
8	1,5	10 mL	30 min / 60°C
9	1,5 + 0,2	10 mL	30 min / 60°C + 30 min / 40°C
10	0,5	10 mL	10 min / 60°C

Tout d'abord (Entrée 1 - Tableau 3), 1,5 équivalents de BTD ont été utilisés. Après une heure, seuls les produits de départ étaient présents en RMN. En laissant la réaction une heure de plus, la présence d'un solide a été constatée au fond du tube : il s'agit ici d'un problème de solubilité, la quantité de DMF a donc été augmentée (Entrée 2 - Tableau 3). Dans ce cas, seul le CTV<sub>1</sub> et le produit d'homocouplage ont été observés.

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

La présence en grande quantité du produit d'homocouplage a été étudiée. Sa formation pourrait s'expliquer par la mauvaise qualité du cuivre utilisé, ou la présence d'air dans le milieu, qui engendre un couplage entre les deux alcynes (Schéma 34).

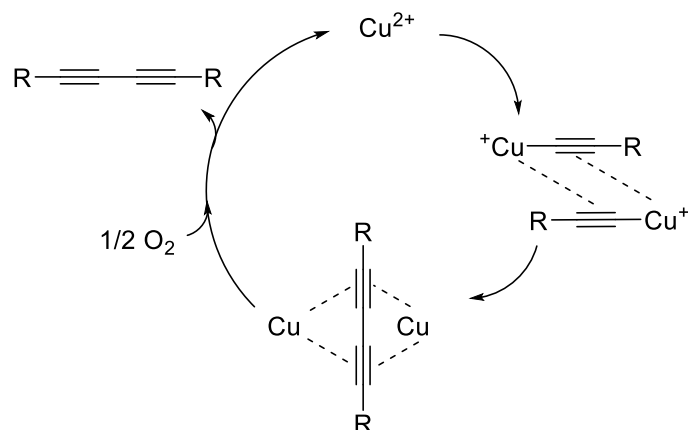


Schéma 34 : Mécanisme de formation du produit d'homocouplage

Le CuI a donc été remplacé, mais ce produit se formait toujours. Nous avons alors pensé que sa présence pourrait être expliquée par la difficulté de coupler le BTD et le CTV, à cause, entre autres, de contraintes stériques. La formation du produit d'homocouplage serait ainsi favorisée par rapport au produit attendu.

Le nombre d'équivalents du BTD **19** a donc été modifié, de manière à forcer le couplage avec le CTV **5** malgré l'homocouplage. Ainsi, 3 équivalents de BTD ont donc été mis à réagir avec la molécule **5** (Entrée 3 – Tableau 3). Après 2h, il était possible de voir une diminution des pics du CTV<sub>1</sub> en RMN en faveur de la formation de pics d'un nouveau produit. La réaction a été poursuivie encore une heure, mais la RMN finale montrait la formation du produit **54**. Pour le quatrième essai, un seul équivalent de BTD a été utilisé. Mais une fois de plus, seul l'homocouplage a été observé.

En augmentant la concentration (Entrée 5 – Tableau 3), la proportion de BTD homocouplé n'a pas diminué. Il a donc été décidé de faire varier le temps de réaction ainsi que la température. Un essai a été effectué en faisant réagir 1h à 60°C (Entrée 6 – Tableau 3), puis un autre 30 min à 60°C (Entrée 7 – Tableau 3). Dans le premier cas, des pics intéressants (les groupements méthoxy ou le système AB du CTV) ont été constatés en RMN. Mais le produit potentiellement formé a été perdu lors de la purification, conséquence de la grande quantité de produit d'homocouplage formé qu'il a été compliqué de séparer des autres produits. Dans le deuxième cas, ces pics n'ont pas été observés, seul le produit d'homocouplage était présent. Il en est de même pour les trois essais suivants.

La mono fonctionnalisation du CTV<sub>1</sub> par cette méthode s'est donc avérée très compliquée. Seules les formes non fonctionnalisées et tri fonctionnalisées semblent se former dans ces conditions.

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

En parallèle de ces tests, des essais de fonctionnalisation du CTV **54** ont été effectués afin d'envisager l'introduction des synthons *via* un couplage peptidique à partir du BTB.

### c- Fonctionnalisation du CTV **54**

Afin de modifier la solubilité de la molécule **54** mais également pour coupler les autres synthons de la sonde bimodale envisagée, le CTV **54** a été modifié.

Tout d'abord, il a été envisagé d'introduire un aldéhyde afin d'effectuer par la suite des couplages peptidiques avec d'autres groupements (Schéma 35). Le composé **54** a ainsi été mis dans plusieurs conditions d'oxydation prises dans la littérature et décrites dans le Tableau 4.

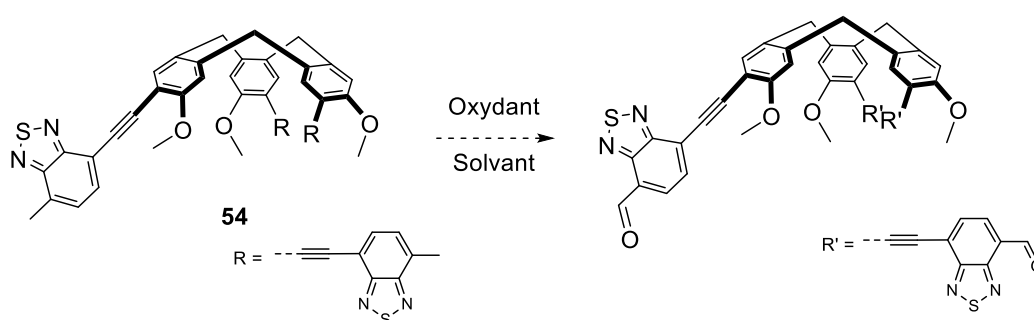


Schéma 35 : Oxydation de la molécule **54**

Tableau 4 : Conditions utilisées pour l'oxydation du composé **54**

Entrées	Conditions	Equivalents
1	PCC	9
	CHCl <sub>3</sub>	/
2	IBX	9
	DMSO	/
3	KMNO <sub>4</sub>	3,2
	MnO <sub>2</sub>	17,5
	DCM	/
4	NaClO	9
	TEMPO	0,15
	Co(OAc) <sub>2</sub>	0,03
	DCM	/

Cependant, la formation du produit attendu n'a jamais pu être observée par RMN du proton. Seule la présence du produit de départ a été constatée quelles que soient les conditions testées.

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

De nouvelles conditions, en passant par un intermédiaire dibromé, ont été développées par l'équipe d'Olivier.<sup>[151]</sup> Un essai sur la molécule **54** a été effectué mais une fois de plus sans succès (Schéma 36).

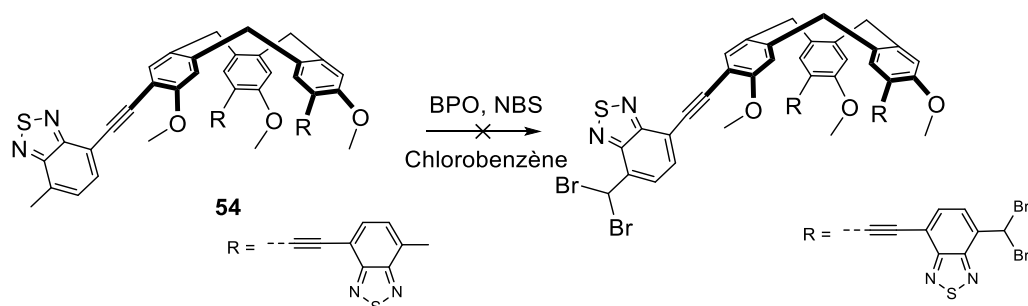


Schéma 36 : Dibromation de la molécule **54**

C'est alors qu'il a été décidé de fonctionnaliser le BTD avant de le coupler au CTV.

### 4- BTDe<sub>ster</sub>

Lors de sa thèse, Nicolas Fantozzi a synthétisé le BTD **21-5** (Schéma 38). Le couplage du BTD **21-5** sur le CTV<sub>1</sub> a été réalisé (Schéma 38). Mais la présence de l'aldéhyde sur le fluorophore gêne la réaction de Sonogashira, seuls des produits d'homocouplage et le CTV de départ ont été observés.

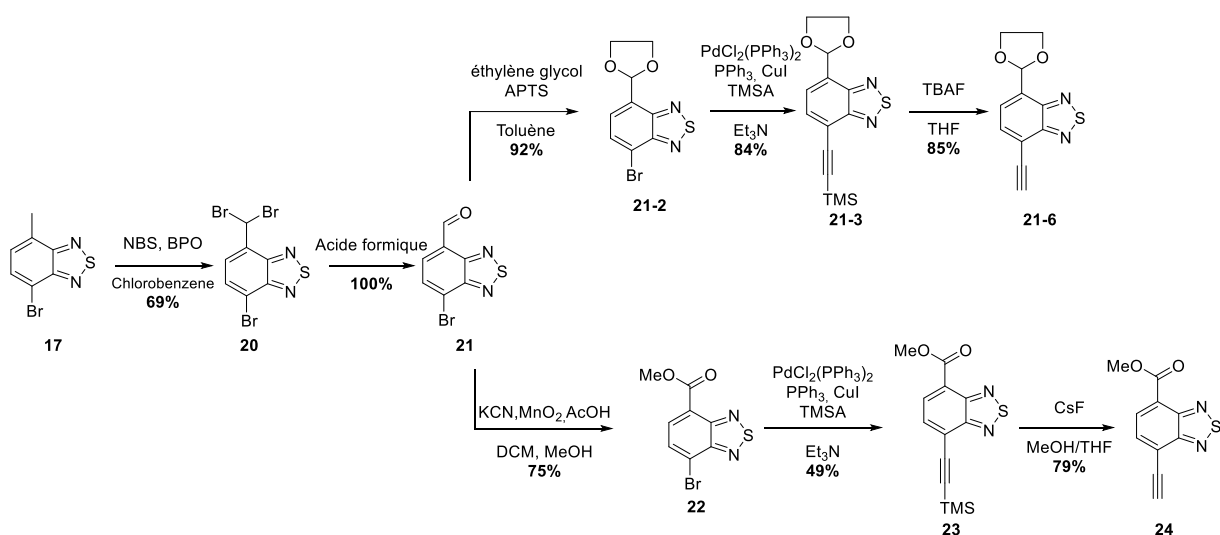


Schéma 37 : Synthèse des différents BTDs

L'aldéhyde a donc été protégé par un acétal avant d'effectuer le couplage (Schéma 37). Pour cela, le BTD **17** a tout d'abord été dibromé sur le méthyle dans les conditions montrées précédemment. Un rendement de 69% a été obtenu. Une réduction a ensuite été effectuée avec de l'acide formique afin d'obtenir le composé **21** avec un rendement quantitatif. Le

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

composé **21** a ensuite été mis en présence d'éthylène glycol et d'ATPS dans un montage Dean-Stark. L'acétal bromé **21-2** a été obtenu avec 92% de rendement. L'alcyne a ensuite été inséré dans les mêmes conditions utilisées précédemment pour obtenir le composé **21-6** avec 85% de rendement.

Dans sa thèse, Nicolas Fantozzi a pu coupler le composé **21-6** avec le CTV<sub>I</sub>, mais la déprotection a été impossible. Des problèmes de solubilité n'ont pas permis la purification du produit (Schéma 38).

Au lieu de protéger l'aldéhyde, il est également possible d'introduire directement l'acide carboxylique sous forme d'ester pour le protéger avant le couplage (Schéma 37). La réaction de Corey-Gilman-Ganem a été utilisée.<sup>[152]</sup> L'ion cyanure est additionné sur l'aldéhyde, puis le dioxyde de manganèse oxyde et la cyanhydrine est formée. Le carbonyle est attaqué par l'alcool pour former l'ester en libérant du HCN. Le composé **22** a été ainsi formé avec 75% de rendement. Les conditions de la réaction de Sonogashira, utilisées précédemment, ont été appliquées pour obtenir **23** avec 49% de rendement, puis l'alcyne a été déprotégé avec du fluorure de césium. La molécule **24** a été ainsi formée avec 79% de rendement (Schéma 37).

Le couplage entre le CTV<sub>I</sub> et le BTD<sub>ester</sub> **24** a ensuite été réalisé (Schéma 38). En premier lieu, les conditions de Sonogashira classiques ont été utilisées, mais en remplaçant le toluène par du DMF pour des questions de solubilité. Après deux jours de réaction à 45°C, un mélange 50/50 entre le CTV tri fonctionnalisé et le CTV mono fonctionnalisé (observable par RMN) a été obtenu. La polarité très proche de ces molécules n'a pas permis leur séparation. De plus, une quantité importante de produit d'homocouplage a été formée.

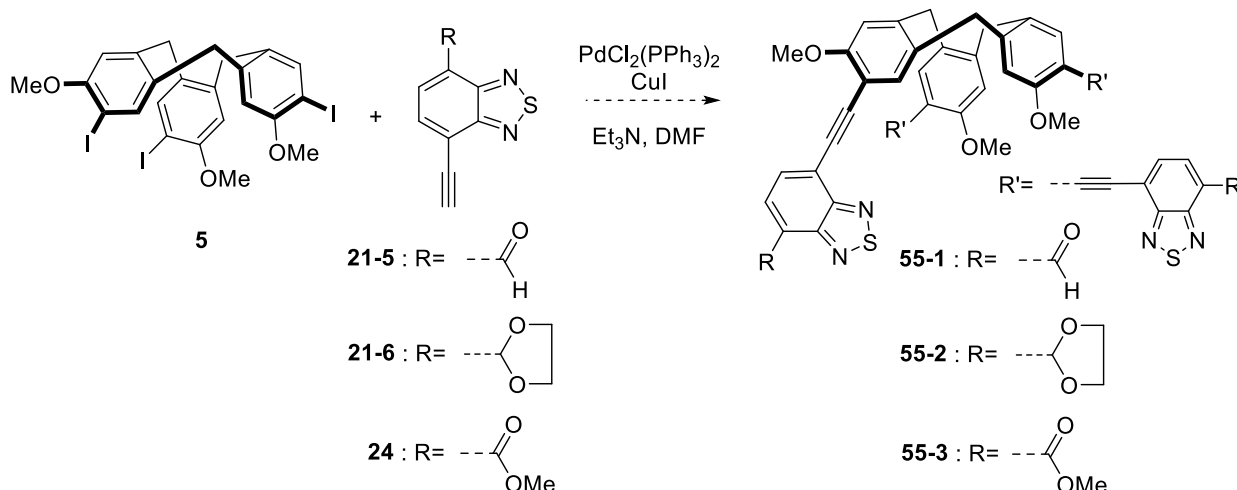


Schéma 38 : Couplage des BTDs sur le CTV<sub>I</sub> 5

Afin de rendre la réaction totale et de limiter la synthèse du produit d'homocouplage, la réaction a ensuite été réalisée sous irradiation micro-ondes. A 40°C et après 16h, le CTV<sub>I</sub> **5** était toujours présent, ainsi qu'une grande quantité de produit d'homocouplage. En

diminuant la température à 30°C, le mélange des produits mono et tri fonctionnalisés était de nouveau observable, ainsi que du produit d'homocouplage.

Ces essais de couplage n'ayant pas fonctionné, cette voie a été abandonnée. Mais la synthèse de la molécule **54** prouve tout de même la possibilité de coupler le BTD avec le CTV. Ainsi, une nouvelle stratégie a été mise en place, s'appuyant sur un autre CTV de départ.

### II. Voie deux : plateforme CTV alcyne (CTV<sub>a</sub>)

L'équipe de Liskamp, comme expliqué précédemment, a développé un CTV dont les trois aromatiques sont fonctionnalisables de manière différentes grâce à un intermédiaire portant des alcynes protégés (Schéma 39). L'idée de pouvoir insérer trois groupements différents sur le CTV est en effet très intéressante pour le projet de cette thèse. De plus, dans leur travail, le CTV est par la suite couplé à différents peptides. L'insertion de la partie de reconnaissance de la sonde ne devrait donc pas être problématique en utilisant cette plateforme. Les différents couplages, notamment avec l'arylsilane **43** décrit précédemment, peuvent être réalisés en utilisant de la chimie « click », une réaction facile à mettre en place où très peu de sous-produits sont formés.

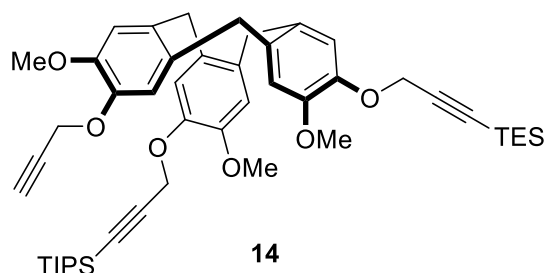


Schéma 39 : Structure du CTV<sub>trialcyne</sub>

#### 1- Synthèse du CTV<sub>a</sub> **14**

##### a- Le CTV<sub>OH</sub> **9**

La synthèse de ce CTV commence par celle du CTV triphénol **9** (CTV<sub>OH</sub>) (Schéma 40). Ce dernier a été obtenu en trois étapes à partir de l'alcool vanillique. La première étape est une S<sub>N</sub>2 du bromure d'allyle attaqué par la fonction phénol du composé **6** conduisant à l'alcool allylique **7** avec 82% de rendement. L'étape suivante est la trimérisation du composé **7** en présence d'acide perchlorique dans le méthanol, permettant d'accéder au CTV protégé **8** avec un rendement de 70%.



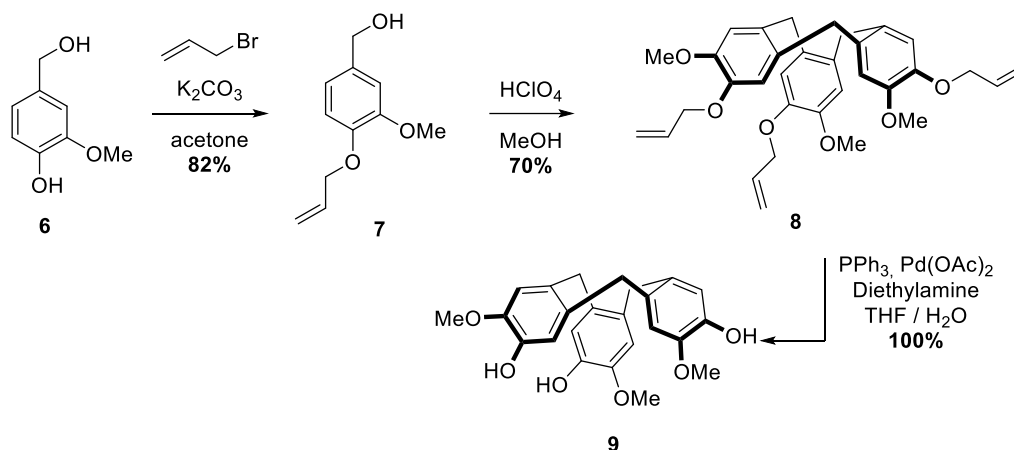


Schéma 40 : Synthèse du CTV<sub>OH</sub> 9

La méthode de déprotection des phénols utilisée par Liskamp est réalisée avec du palladium sur charbon et de l'acide perchlorique dans du dioxane et de l'éthanol. La difficulté de mise en place, ainsi que le temps de réaction (3 jours) ont conduit à modifier les conditions et à utiliser le palladium (II) acétate comme catalyseur.

Ainsi, le palladium (0) est généré *in situ* à partir du Pd(OAc)<sub>2</sub> et de la triphénylphosphine (Schéma 41). Un complexe π-allylique est alors formé entre le catalyseur et les groupements allyles de la molécule **8**. Une addition oxydante du palladium sur l'oxygène de l'aromatique suivie par l'attaque de l'eau présente dans le milieu provoque la libération du phénol. La diéthylamine joue ici le rôle de nucléophile pour piéger le groupement allyle en libérant le catalyseur. Le CTV<sub>OH</sub> **9** a ainsi été obtenu avec un rendement quantitatif.

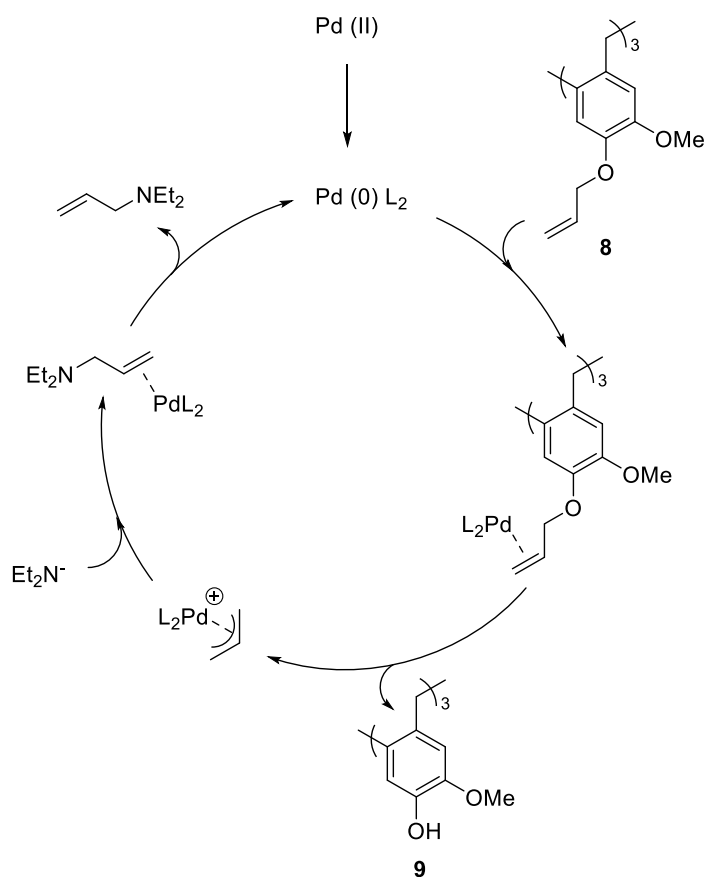


Schéma 41 : Cycle catalytique permettant la synthèse de la molécule 9

Cette synthèse ne nécessite, en temps normal, aucune purification. Mais un excès d'oxyde de triphényl phosphine, gênant dans les étapes de synthèse suivantes, a rendu la purification sur colonne de gel de silice systématique. Ce produit, en comparaison avec le CTV<sub>1</sub> 5, peut être obtenu à l'échelle du gramme.

### b- Trifonctionnalisation sélective

Pour passer d'une symétrie C<sub>3</sub> à une symétrie C<sub>1</sub> sur le CTV, l'équipe de Liskamp procède à une di protection des phénols de la molécule 9 avec un groupement protecteur THP (Schéma 42). Dans leur cas il est décrit que le CTV<sub>OH</sub> est mis en présence d'acide *paratoluènesulfonique* dans du chloroforme, puis 2 équivalents de DHP sont ajoutés et après deux heures, un autre équivalent est ajouté conduisant au composé 10 avec 30% de rendement. Cependant, ayant voulu reproduire ces conditions, le CTV 10 n'a pas été obtenu. En effet, seul le produit de départ 9 était observable par RMN.

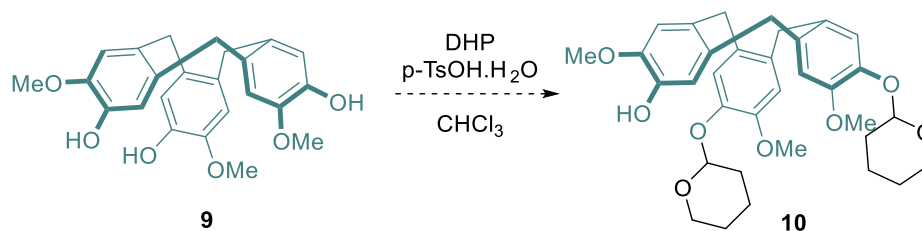


Schéma 42 : Conditions utilisées par Liskamp pour obtenir le composé **10**

Nous avons alors cherché à modifier ces conditions tout d'abord en changeant le nombre d'équivalents ou le temps de réaction (Tableau 5), mais là encore seules des traces du produit **10** ont pu être obtenues, mais en trop petite quantité pour pouvoir le séparer des autres produits du milieu (Entrée 2 – Tableau 5). Puis, d'autres catalyseurs ont été utilisés, comme des zéolites bêta et du Bi(OTf)<sub>3</sub>, qui n'ont donné aucun résultat. En revanche, le ZrCl<sub>4</sub> a permis l'observation du CTV **10** par RMN dans le brut de la réaction. Le produit était encore en trop petite quantité pour procéder à une bonne séparation. En augmentant le nombre d'équivalents, seul le tri protégé **65** a été obtenu. Le dernier catalyseur testé a été le CAN (Nitrate de cérium et d'ammonium). Avec deux équivalents de DHP et en seulement 30 min, le produit attendu **10** a été formé en quantité assez grande pour le séparer des autres produits.

Tableau 5 : Conditions testées pour la di protection au THP

Entrée	Catalyseur	Equivalent de DHP	Temps	Produit
1	p-TsOH	2 + 1	2h + 1h	<b>9</b>
2	p-TsOH	2 + 2	2h + 1h	<b>9</b> + trace <b>10</b>
3	p-TsOH	2 + 2	2h + la nuit	<b>9</b> + dégradation
4	Zeolite beta	2 + 1	2h + la nuit	<b>9</b>
5	Bi(OTf) <sub>3</sub>	2,5 + 1	2h + 2h	<b>9</b>
6	ZrCl <sub>4</sub>	2	1h	<b>9</b> + mélange <b>10</b> , <b>65</b> et <b>64</b>
7	ZrCl <sub>4</sub>	2 + 1	2h + 2h	<b>65</b>
8	Nitrate de cérium et d'ammonium	2	30min	Majorité de <b>9</b> + <b>10</b> + <b>65</b> + <b>64</b>

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

En effet, lors de cette réaction de di protection, trois produits ont en réalité été formés : le di protégé **10**, le mono protégé **64** et le tri protégé **65** (Schéma 43). Il s'agit donc de favoriser la formation du di protégé, sans aller jusqu'au tri protégé.

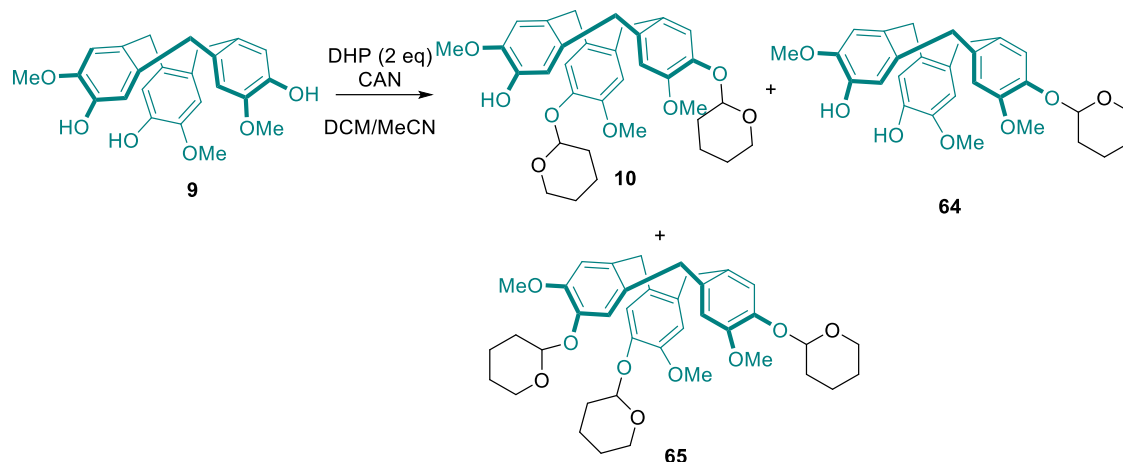


Schéma 43 : Formation des produits di, mono et tri protégés

Ainsi, seulement un maximum deux équivalents de DHP ont été utilisés. Dans ces conditions, le CTV **9** est toujours majoritaire dans le milieu, et les proportions entre le mono protégé et le di protégé sont, la plupart du temps, équivalentes alors que le tri protégé est, quant à lui, produit en très petite quantité. Mais le mono et le tri protégé peuvent être déprotégés en milieu acide afin de réobtenir le CTV<sub>OH</sub> et recommencer la réaction de di protection.

La polarité très proche de ces quatre produits (**9**, **10**, **64** et **65**) est une difficulté supplémentaire. Leur séparation a été très problématique, et beaucoup de mélanges ont été obtenus à chaque fin de colonne de gel de silice, nécessitant parfois plusieurs colonnes successives pour accéder finalement au composé **10** avec 37% de rendement.

La suite de la synthèse passe par l'insertion des trois groupements alcynes différents. Ainsi, dans un premier temps, le composé **10** a été mis en présence de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> et de bromure de propargyle pour synthétiser le composé **11** avec 59% de rendement. Les phénols ont ensuite été déprotégés en milieu acide et le composé **12** a été obtenu avec 59% de rendement (Schéma 44).

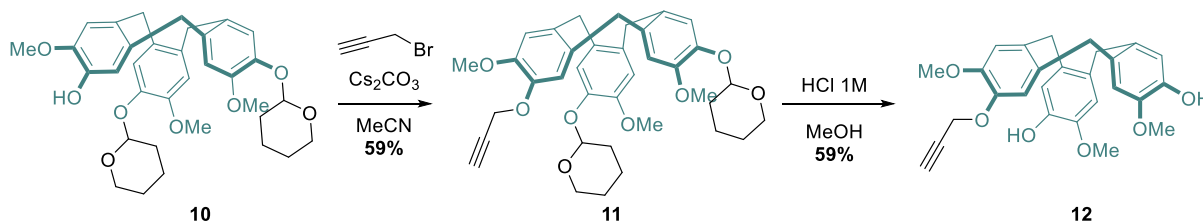


Schéma 44 : Synthèse des composés **11** et **12**

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

Les deux autres alcynes protégés respectivement par un groupement TES (**33**) et par un groupement TIPS (**35**) ont ensuite été synthétisés en suivant les travaux décrits par l'équipe de Liskamp (Figure 46).

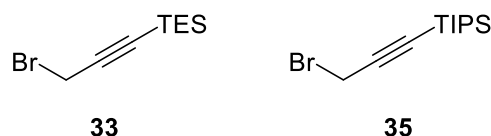


Figure 46 : Structure des deux alcynes protégés

Le groupement TES étant moins stable que le groupement TIPS, c'est avec le TES que la voie de synthèse a été explorée pour vérifier sa faisabilité. En effectuant une silylation directe, un sous-produit de substitution est majoritairement obtenu. Il est donc nécessaire de protéger l'alcool du propargyle en éther THP. Ce dernier a ensuite été silylé avec TES-Cl ou TIPS-Cl pour donner respectivement les composés **32** et **34**. La déprotection accompagnée de la bromation a ensuite permis d'obtenir les composés **33** et **35** (Schéma 45).

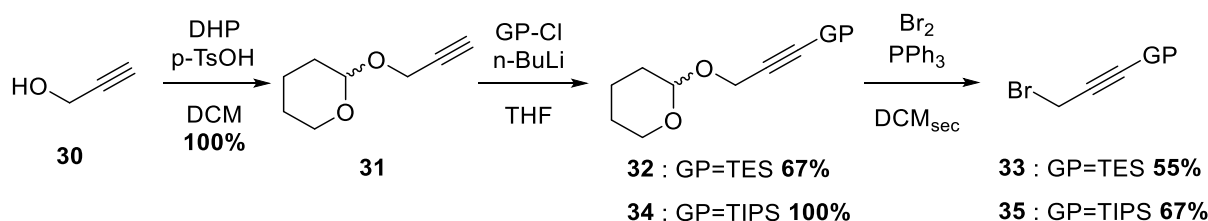


Schéma 45 : Synthèse des composés alcynes protégés **33** et **34**

Afin de vérifier la faisabilité du couplage de ces deux groupements sur le CTV **11**, la synthèse a d'abord été effectuée sur le CTV di protégé **10**. Une fois de plus, le groupement TES étant le moins stable, c'est avec la molécule **33** que les essais ont été effectués (Schéma 46).

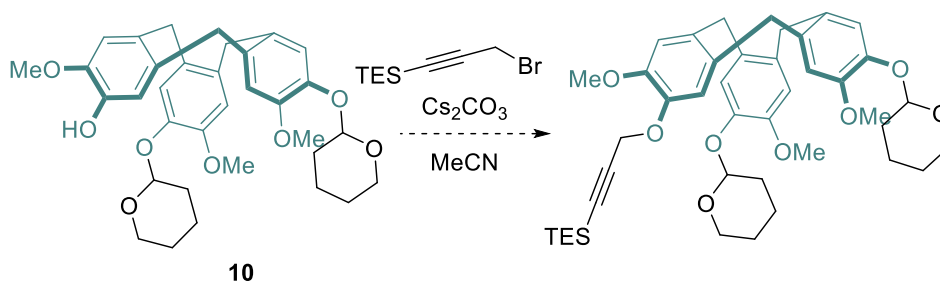


Schéma 46 : Synthèse test pour l'insertion des composés alcynes silylés

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

Deux essais ont été effectués : le premier utilisait les mêmes conditions que celles décrites pour la synthèse de la molécule **11** alors que dans le second, le temps de réaction a été augmenté à 5h (par rapport aux 2h30 initiales). Dans le premier cas, seul le produit de départ a été obtenu. Quelques milligrammes du produit ont pu être synthétisés en allongeant le temps de réaction, mais des produits de dégradation étaient présents en majorité. Il n'a donc pas pu être isolé.

Compte tenu de ces difficultés à reproduire cette synthèse, une nouvelle stratégie a été envisagée. Il a été décidé d'employer une voie plus rapide : au lieu d'introduire les trois éléments (pour la TEP, la fluorescence et la reconnaissance) sur les trois « bras » du CTV de manière indépendante, et ainsi avoir un CTV complètement désymétrisé, il a été envisagé d'avoir deux substituants identiques, associant le fluorophore et la molécule de reconnaissance (cRGD), sur deux des aromatiques, et un troisième synthon pour la TEP situé sur le troisième aromatique (Figure 47). Le CTV serait alors de symétrie  $C_1$ . Cette stratégie trouve également son intérêt dans la possibilité d'avoir deux molécules de reconnaissance ainsi que deux fluorophores. Les propriétés de chacun pourraient être amplifiées.

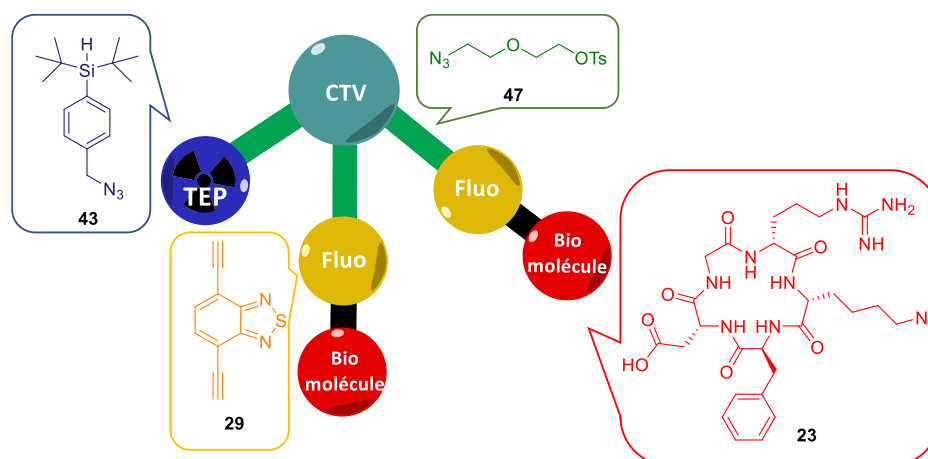


Figure 47 : Schéma de la nouvelle sonde bimodale envisagée

À la suite de l'obtention de la plateforme, les différents synthons ont été préparés.

### 2- Préparation des différents synthons

#### a- Synthèse de chaîne PEG $N_3$

Une fois de plus, des chaînes PEG ont été synthétisées en tant qu'espaces pour éviter les gênes stériques éventuelles. La première molécule envisagée a été le composé **50** (Schéma 47). La synthèse se déroule en trois étapes. Le triéthylène glycol a d'abord été alkylé sur un des alcools avec 41% de rendement *via* l'utilisation du 3-bromoprop-1-yne en présence de *t*-BuOK. L'alcool restant a ensuite réagi sur un groupement tosyl activé par de la  $Et_3N.HCl$ , pour former le composé **50** avec 80% de rendement.

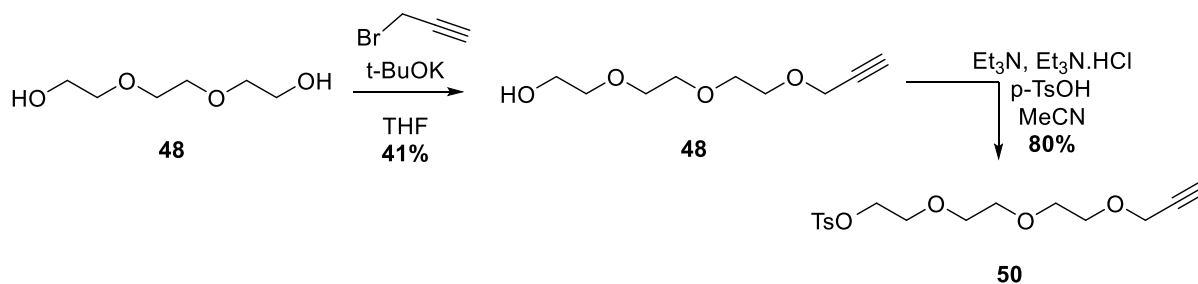


Schéma 47 : Synthèse du composé 50

Cette chaîne triéthylène glycol étant plutôt longue, une plus courte a par la suite été synthétisée pour éviter tout caractère « dendrimérique » au sein de la molécule : la chaîne diéthylène glycol **47**. En plus du changement de longueur, cette molécule a été fonctionnalisée de manière différente. Un azoture a remplacé l'alcyne, de manière à pouvoir effectuer la chimie « click » ; les synthons porteront donc l'alcyne pour former le triazole. La synthèse est partie du 2-(2-chloroéthoxy)éthan-1-ol **45**. Le  $\text{NaN}_3$  a permis l'introduction de l'azoture pour obtenir le composé **46** avec 54% de rendement. La tosylation de l'alcool a ensuite été effectuée dans les mêmes conditions que précédemment, donnant accès au composé **47** avec 80% de rendement (Schéma 48).

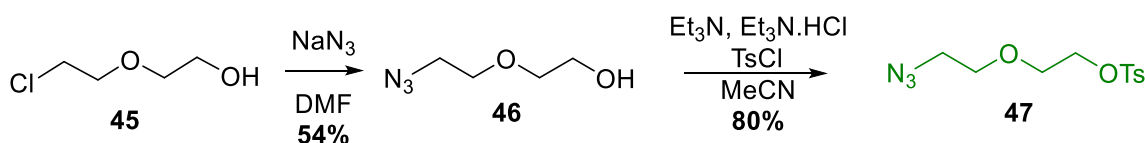


Schéma 48 : Synthèse du composé 47

### b- Synthèse du BTD dialcyne **29** (BTD<sub>a</sub>)

Un nouveau BTD a été envisagé afin de répondre à la nouvelle stratégie de synthèse. En effet, il est nécessaire de fonctionnaliser le BTD de chaque côté. La réaction choisie pour réaliser le couplage du BTD sur le CTV est la chimie « click ». La chaîne PEG ainsi que le cRGD étant fonctionnalisés  $\text{N}_3$ , le BTD envisagé comporte donc deux alcynes (Schéma 49). Sa synthèse se déroule en quatre étapes, la première étant la fermeture de l'hétérocycle, dans les mêmes conditions utilisées précédemment, pour obtenir le composé **26** avec 91% de rendement. La bromation a été effectuée aux deux extrémités du BTD, donnant le composé **27** avec 99% de rendement. Une réaction de Sonogashira a ensuite été réalisée, donnant accès au composé **28** avec 75% de rendement, qui est finalement déprotégé en présence de TBAF afin d'obtenir le composé **29** avec 77% de rendement.

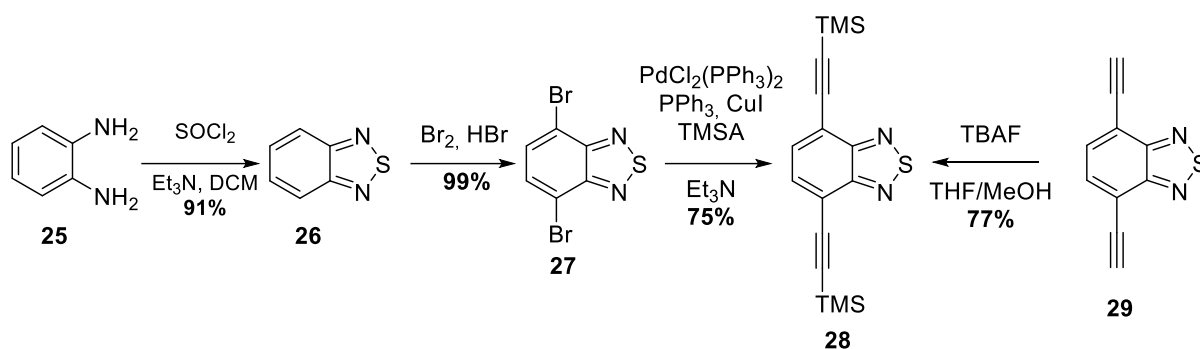


Schéma 49 : Synthèse du composé 29

Le dernier synthon utilisé est l'arylsilane fonctionnalisé N<sub>3</sub> **43**. Le couplage des molécules **29** et **43** sera décrit dans la suite de cette partie.

### 3- Couplages par chimie « click »

La chimie « click » a été mentionnée pour la première fois par Huisgen en 1963.<sup>[153]</sup> Le terme générique était alors cycloaddition 1,3- dipolaire entre un alcyne et un azoture. Cette première méthode menait à deux triazoles régioisomères 1,4 et 1,5 sous des conditions de température élevée (Figure 48).

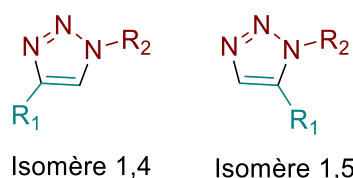


Figure 48 : Produits de la chimie "click" en conditions thermodynamiques

Meldal et Sharpless ont par la suite introduit une catalyse au cuivre (I) permettant l'obtention d'un seul régioisomère, le 1,4.<sup>[154,155]</sup> La réaction est alors appelée « Copper Catalysed Azide-Alkyne Cycloaddition », ou CuAAC. Cette réaction a été largement utilisée, notamment pour des couplages impliquant des biomolécules. En effet, la chimie « click » est compatible avec de nombreux groupements et des conditions douces sont utilisées. Très peu de sous-produits sont générés. Son mécanisme démarre par la réduction du cuivre (II) en cuivre (I) sous l'action d'un réducteur (souvent de l'ascorbate de sodium), formant ensuite un complexe  $\pi$  avec l'alcyne (Schéma 50). La base présente dans le milieu déprotone l'alcyne et permet la formation du complexe Cu-acétylure. L'azoture se fixe à son tour sur le cuivre et le complexe Cu-azote-acétylure est généré, suivi par la cyclisation. La protonation du cycle permet pour finir la dissociation du métal et l'obtention du produit de manière régiosélective.



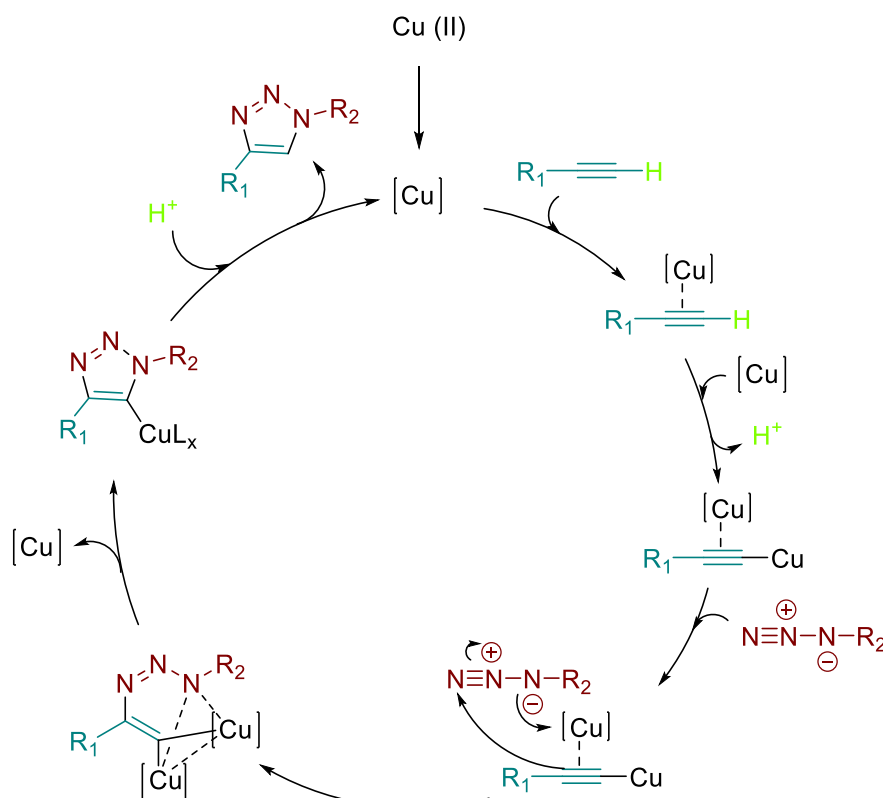


Schéma 50 : cycle catalytique de la CuAAC

Plusieurs options ont été explorées pour le couplage des différents synthons sur le CTV. La première implique l'introduction du **BTD<sub>a</sub> 29** sur le CTV. Les réactions engageant le CTV sont souvent compliquées, notamment au niveau de la purification. Afin d'effectuer le moins d'étapes possibles avec la plateforme, la stratégie envisagée en premier met en jeu l'insertion des chaînes PEG sur les synthons puis, dans un deuxième temps, le couplage sur le CTV.

La deuxième option consiste à insérer l'arylsilane **43** en premier, puis les chaînes PEG sur les deux autres « bras » du CTV. Le **BTD<sub>a</sub> 29** est ensuite couplé et pour finir, le cRGD est introduit à la suite du **BTD<sub>a</sub>**.

Ces deux options seront ainsi présentées dans la suite de cette partie.

### a- Couplage entre la chaîne PEG **46** et le **BTD 29** et le CTV **64**

La chaîne PEG et le **BTD** ont été couplés. Le premier essai a impliqué la chaîne PEG **46**, avec à ses deux extrémités un alcool et un groupement azoture. Le couplage s'est déroulé dans des conditions classiques de CuAAC, en utilisant comme catalyseur du  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , comme base de la triéthylamine et comme réducteur l'ascorbate de sodium, le tout dans du DMF pour la solubilité de tous les réactifs (Schéma 51). Le produit **52** a ainsi été obtenu avec 32% de rendement.

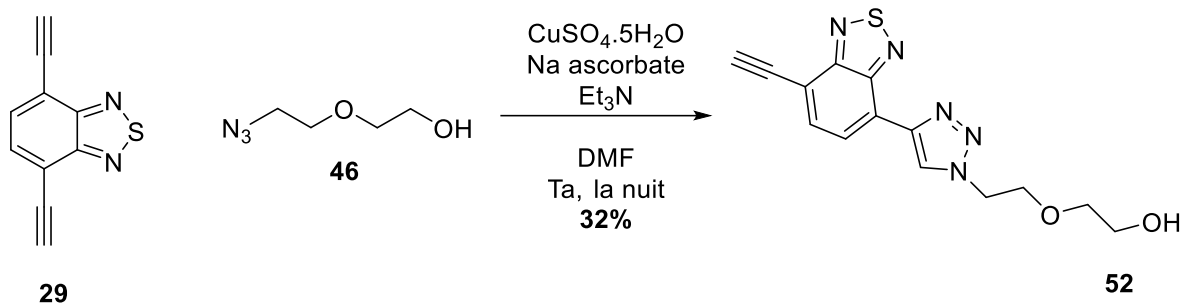


Schéma 51 : Synthèse du composé 52

Lors de la réaction de désymétrisation du  $\text{CTV}_{\text{OH}}$  **9** par protection sélective, le produit majoritaire formé est le mono protégé **64**. Les premiers essais d'insertion du composé **52** sur le CTV ont ainsi été réalisés sur cette plateforme. Le **BTD 29** et le composé **46** ont ainsi été mis en présence de triphénylphosphine et de DIAD afin d'effectuer une réaction de Mitsunobu (Schéma 52). Mais la réaction n'a pas fonctionné : en RMN, le composé **52** était visible, avec un peu du composé **64**. Des dégradations du CTV ont aussi été constatées.

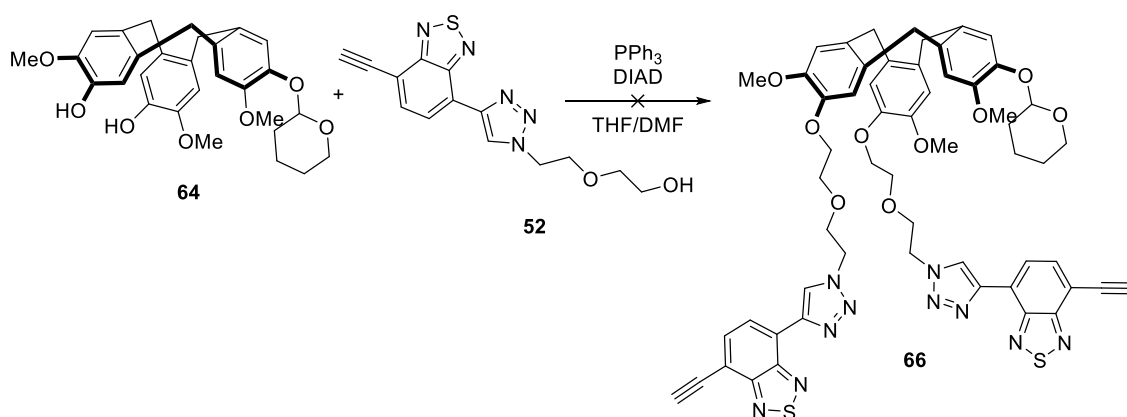


Schéma 52 : Premier essai de synthèse du composé 66

Un meilleur groupement partant a donc été inséré sur la chaîne PEG, le groupement tosyl. Les mêmes conditions que précédemment ont été utilisées afin de synthétiser le composé **53** avec 75% de rendement (Schéma 53).

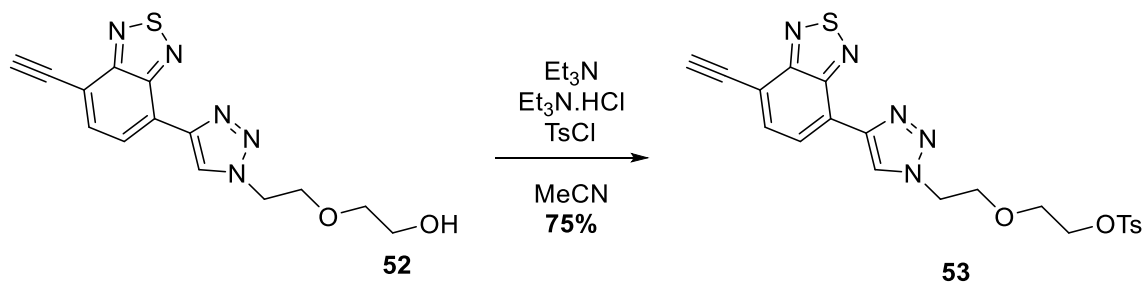


Schéma 53 : Synthèse du composé 53

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

Le couplage de ce composé avec le CTV **64** a été tenté en utilisant du NaH ainsi que du TBAI (Schéma 54). Mais une fois de plus, la réaction a échoué. Seuls les produits de départ ont été observés en RMN, ainsi que le CTV<sub>OH</sub> **9**, le mono protégé **64** se serait donc déprotégé durant la réaction.

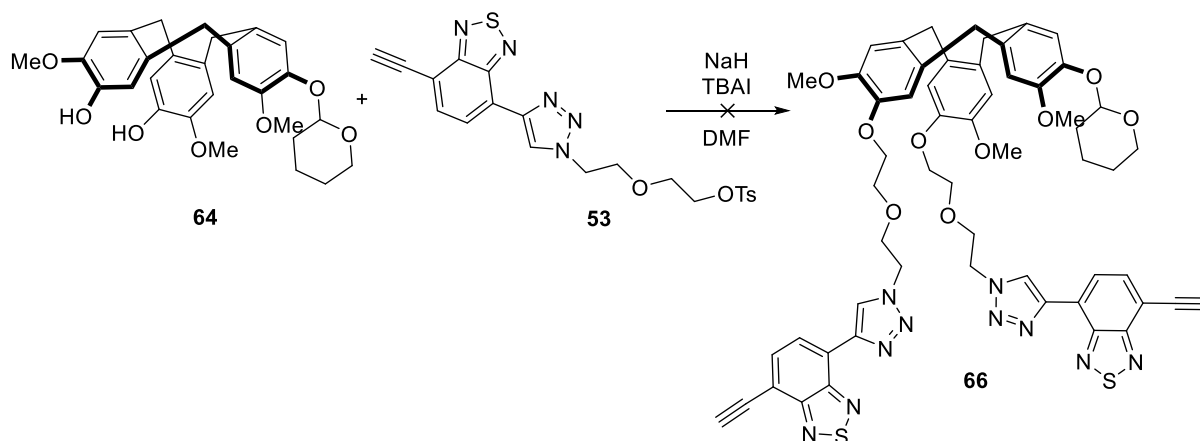


Schéma 54 : Deuxième essai de synthèse du composé **66**

Suite à l'échec de ce couplage, la deuxième option présentée précédemment a été envisagée. Dans ce cas, on utilise le CTV **11** essentiellement mais une alternative avec le CTV **64** a également été développée.

- b- Couplage de l'Aryl silane **43** avec le CTV **11** suivie de l'insertion des chaînes PEG, du BTD **29** et du cRGD

### a) Synthèse de la molécule **71**

Cette stratégie commence par le couplage entre le CTV **11** et l'arylsilane. Pour cela, la molécule **43** a été utilisée, son N<sub>3</sub> terminal permettant un couplage par CuAAC avec l'alcyne déjà inséré sur la molécule **11** (Schéma 55). Des conditions classiques de chimie « click » ont ainsi été utilisées pour obtenir la molécule **70** avec 73% de rendement.

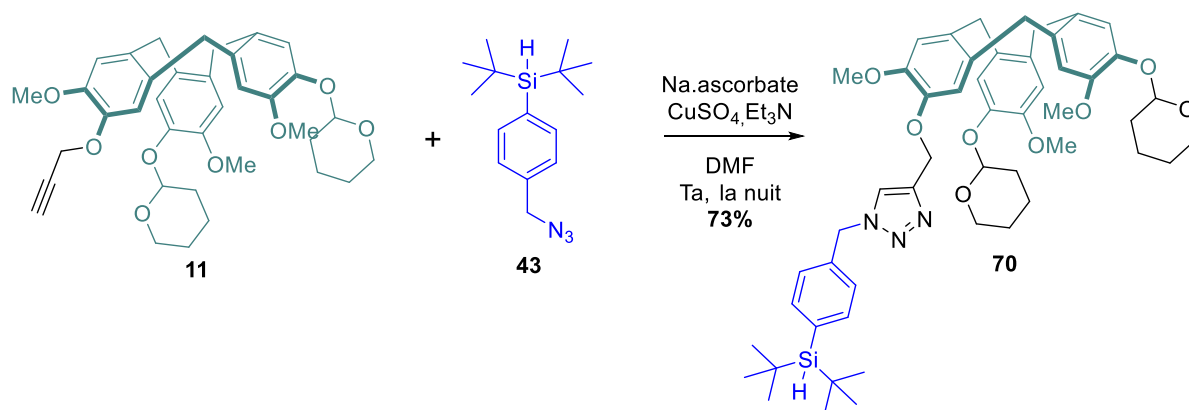


Schéma 55 : Synthèse du composé **70**

Les phénols sont ensuite déprotégés. Le composé **70** est mis en présence d'acide chloridrique à 1M dans le méthanol pour obtenir la molécule **71** avec 72% de rendement (Schéma 56).

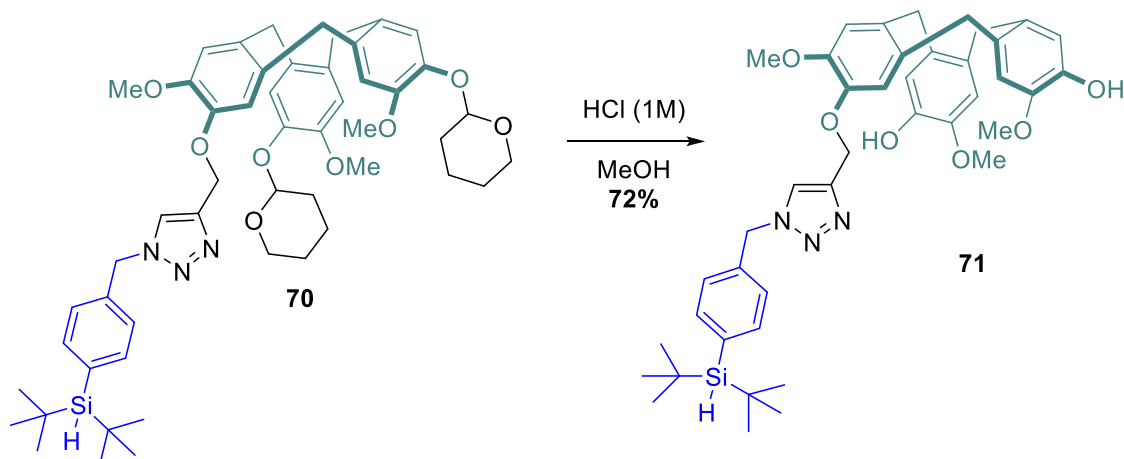


Schéma 56 : Déprotection des phénols pour obtenir le composé **71**

Afin de simplifier la synthèse et effectuer moins de purification sur gel de silice, ces deux étapes ont été réalisées par la suite sans purification intermédiaire. Le rendement sur deux étapes est alors de 65%.

Afin d'obtenir le produit en plus grande quantité, une autre voie a été testée en parallèle à celle-ci, utilisant comme intermédiaire le CTV mono-protégé **64**.

La molécule mono protégé **64** est également un CTV de symétrie  $C_1$ . La possibilité de pouvoir obtenir la molécule **60** *via* ce dernier a donc été envisagée. Lors du changement de symétrie, la molécule **64** a été obtenue en plus grande quantité que le di protégé **11** dans la majorité des cas. La molécule commune avec la voie utilisée précédemment est le composé **71**. Sa synthèse a été envisagée en cinq étapes (Schéma 57).

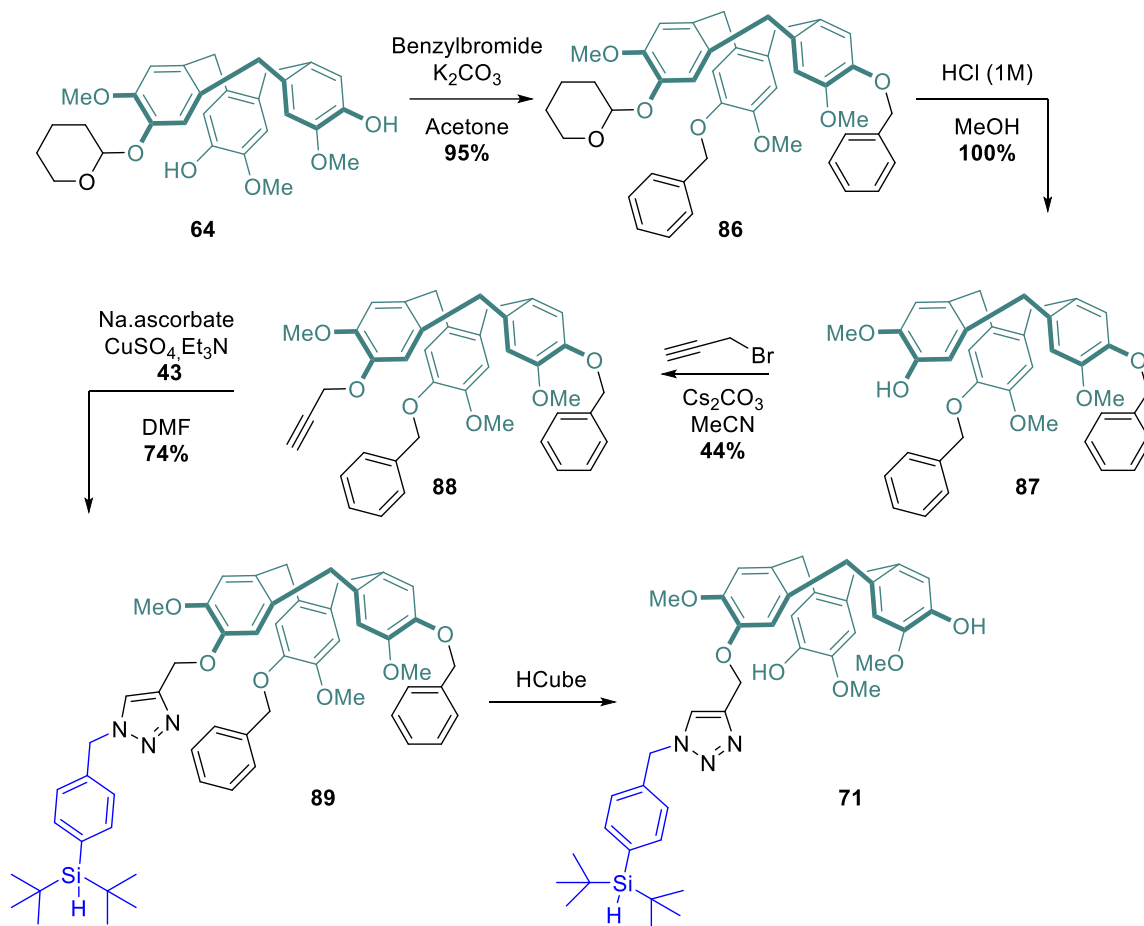


Schéma 57 : Synthèse du composé **71** via une protection avec des groupement benzyles

Ainsi, les deux phénols libres du CTV **64** ont été protégés avec un groupement benzyle pour donner la molécule **86** avec 95% de rendement. Le benzyle a été choisi comme groupement protecteur car des conditions acides sont nécessaires pour retirer le groupement THP, n'affectant donc pas le groupement benzyle, la déprotection sera donc sélective. Le THP a ainsi été déprotégé, donnant accès au produit **87** de manière quantitative. Un alcyne a été inséré sur l'alcool libéré avec 74% de rendement, en utilisant les conditions décrites précédemment, avant d'effectuer le couplage avec l'arylsilane **43** dans des conditions classiques de CuAAC pour donner le produit **89** avec 74% de rendement. La déprotection des benzyles a été réalisée en présence de H<sub>2</sub> et de palladium. Ici, un Hcube<sup>®</sup> a été utilisé, mais la déprotection n'a pas fonctionné : le produit désiré a été formé mais en très petite quantité, le produit de départ étant majoritaire, même après plusieurs passages dans la machine. Cette voie est donc à poursuivre pour optimisation.

Malgré l'obtention en bien plus grande quantité du CTV **64** par rapport au CTV **11** lors de la protection sélective, cette voie est réalisée en plus d'étapes (5 pour 3). Le rendement global atteint avant la déprotection des benzyles est de 31% sur 4 étapes. Pour la méthode précédente, le rendement global pour obtenir le composé **71** à partir du CTV **11** en 3 étapes est de 38%. Mais cette voie reste tout de même intéressante, car la quantité de produit obtenu

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

est plus importante que pour la première voie développée (150 mg du composé **89** pour 50 mg du composé **70** en moyenne).

### b) Insertion des chaînes PEG

L'insertion de la chaîne PEG **47** sur le CTV a d'abord été testée à partir du composé **9** de manière à optimiser les conditions (Schéma 58).

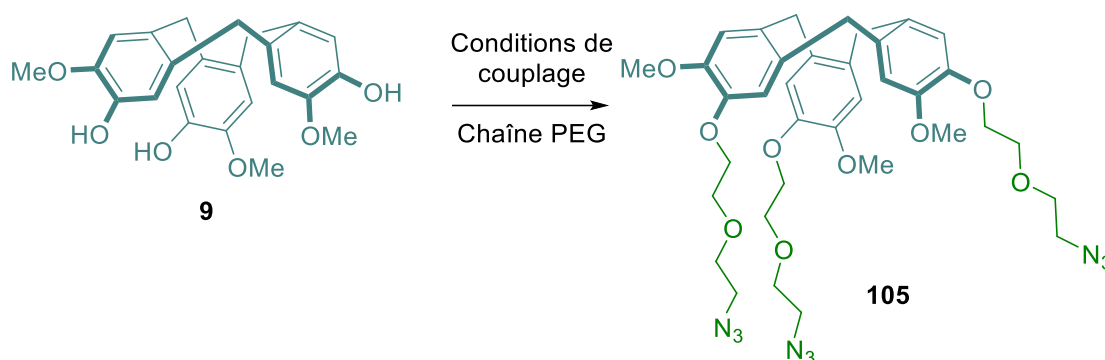


Schéma 58 : Synthèse du composé **105**

Plusieurs protocoles ont été utilisés (Tableau 6). Dans les quatre premiers cas, seuls les produits de départ ont été observés par RMN. Les dernières conditions mises en œuvre utilisent du TBAI et du CsCO<sub>3</sub> dans du DMF. Le produit **105** a pu être obtenu ainsi, avec 80% de rendement.

Tableau 6 : Conditions testées pour la synthèse du produit **105**

Entrée	Conditions	Temps / température	Produit
1	NaH, TBAI, DMF	La nuit / TA	<b>9</b>
2	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , TBAI, DMF	La nuit + 3h / TA	<b>9</b>
3	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , MeCN	2h30/ TA	<b>9</b>
4	NaI, Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , DMF	La nuit / TA	<b>9</b>
5	TBAI, Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , DMF	La nuit / TA	<b>105</b>

### c) Synthèse du composé **73**

Les chaînes PEG **47** ont tout d'abord été insérées sur le CTV dans les conditions décrites précédemment pour la synthèse du composé **105**, donnant accès au composé **73** avec 92% de rendement (Schéma 59).

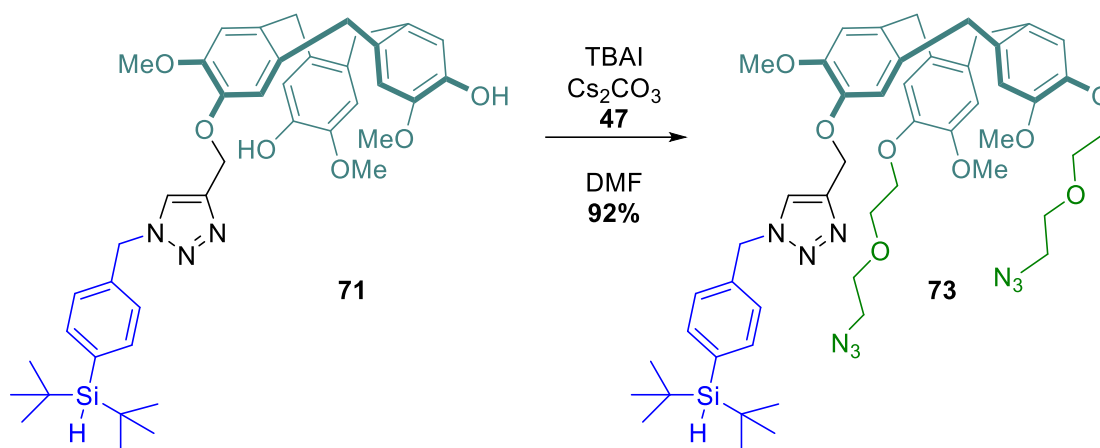


Schéma 59 : Synthèse du composé 73

### d) Synthèse du composé 74

La suite de la synthèse est l'introduction du motif BTD. Ainsi, le BTD **29** a été couplé à la molécule **73** dans des conditions classiques de CuAAC afin d'obtenir le composé **74** avec 53% de rendement (Schéma 60). Lors de cette réaction, 9 équivalents de BTD ont été utilisés.

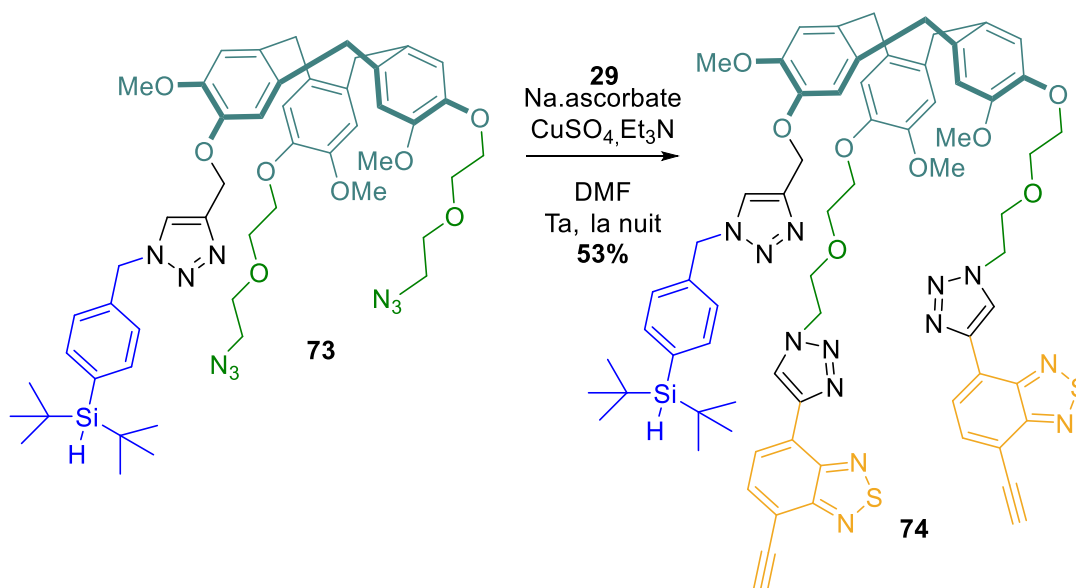


Schéma 60 : Synthèse du composé 74

### e) Synthèse du composé 60

Le dernier synthon à coupler au CTV est la molécule de reconnaissance. Le RGD (arginine-glycine-aspartate) est un motif peptidique jouant un rôle important dans la reconnaissance et l'adhésion cellulaire. Cette molécule a en effet une forte affinité avec les intégrines  $\alpha_v\beta_3$ , surexprimées dans les cellules tumorales de certains cancer, notamment le cancer du sein et de la prostate. Pour des raisons de stabilité métabolique, c'est une version

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

cyclisée de ce peptide qui est utilisée, obtenue en insérant une phénylalanine et une lysine fonctionnalisée N<sub>3</sub> (Figure 49).

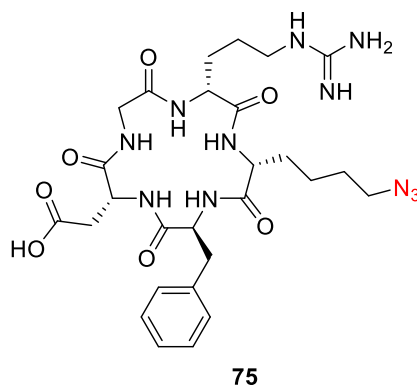


Figure 49 : cRGD N<sub>3</sub>

Sa synthèse a été effectuée au laboratoire, le protocole est inspiré de la publication de Kessler *et. al.* et de celle de Fouquet *et. al.*.<sup>[156,157]</sup> La lysine portant un N<sub>3</sub> terminal a d'abord été synthétisée, afin de permettre la fonctionnalisation du peptide final. La séquence Arg-Gly-Asp-Phe-Lys(N<sub>3</sub>) a ensuite été obtenue en utilisant une méthode classique de chimie Fmoc sur support solide, suivi d'une cyclisation et d'une déprotection en conditions acides. Le cRGD **75** portant un N<sub>3</sub> terminal a ainsi été obtenu.

La molécule **74** a alors été couplée au cRGD **75** dans des conditions de chimie « click » classiques. Le produit étant soluble dans l'eau, le brut obtenu a été lyophilisé puis purifié par HPLC semi-préparative en phase inverse. Le produit **60** a été obtenu avec 21% de rendement (Schéma 61).



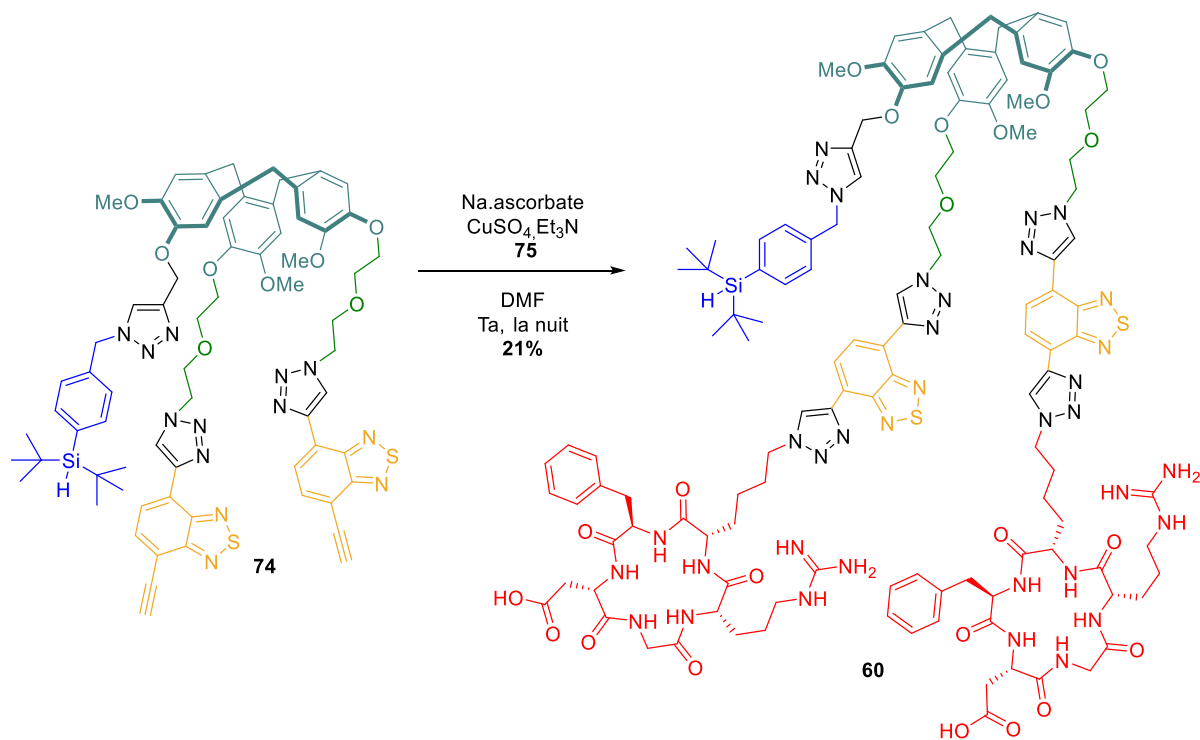


Schéma 61 : Synthèse de la molécule 60

Cette molécule est ainsi une preuve de concept : tous les synthons ont pu être couplés à la plateforme CTV. Certaines étapes ont des rendements assez bas, notamment l'étape de protection sélective.

Afin d'obtenir le produit en plus grande quantité, rappelons qu'une autre voie a été testée en parallèle à celle-ci, utilisant comme intermédiaire le CTV mono-protégé **64**.

#### 4- Analyses de la molécule 60

##### a- Caractérisation

La molécule **60** a été caractérisée par HPLC (Figure 50). Un pic à 22,63 minutes a été obtenu.

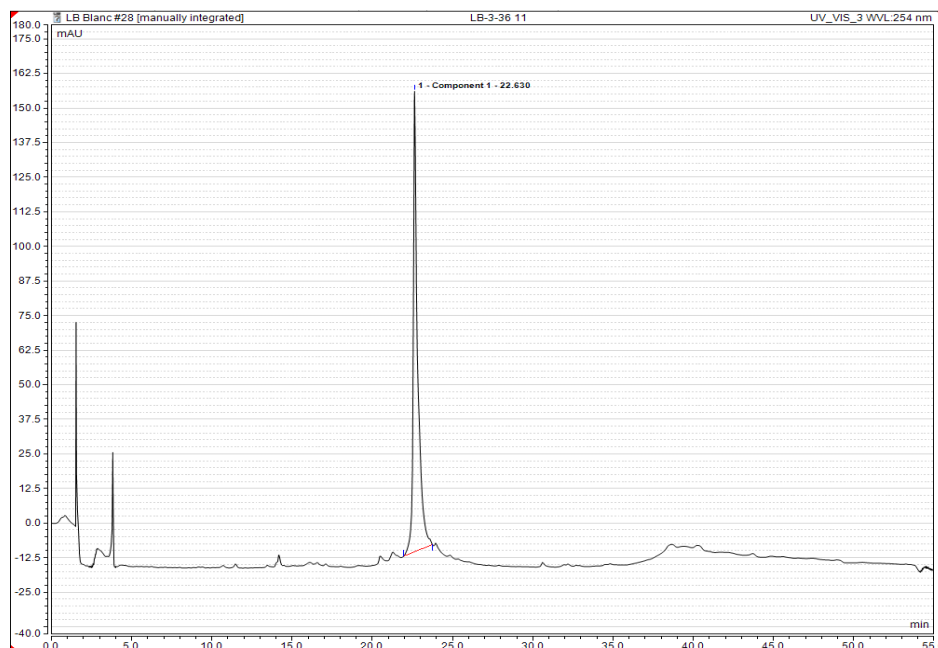


Figure 50 : HPLC de la molécule **60**

Une caractérisation par MALDI a également été effectuée (Figure 51). Un pic moléculaire à 2575,37 a été obtenu, confirmant la structure de la sonde **60**.

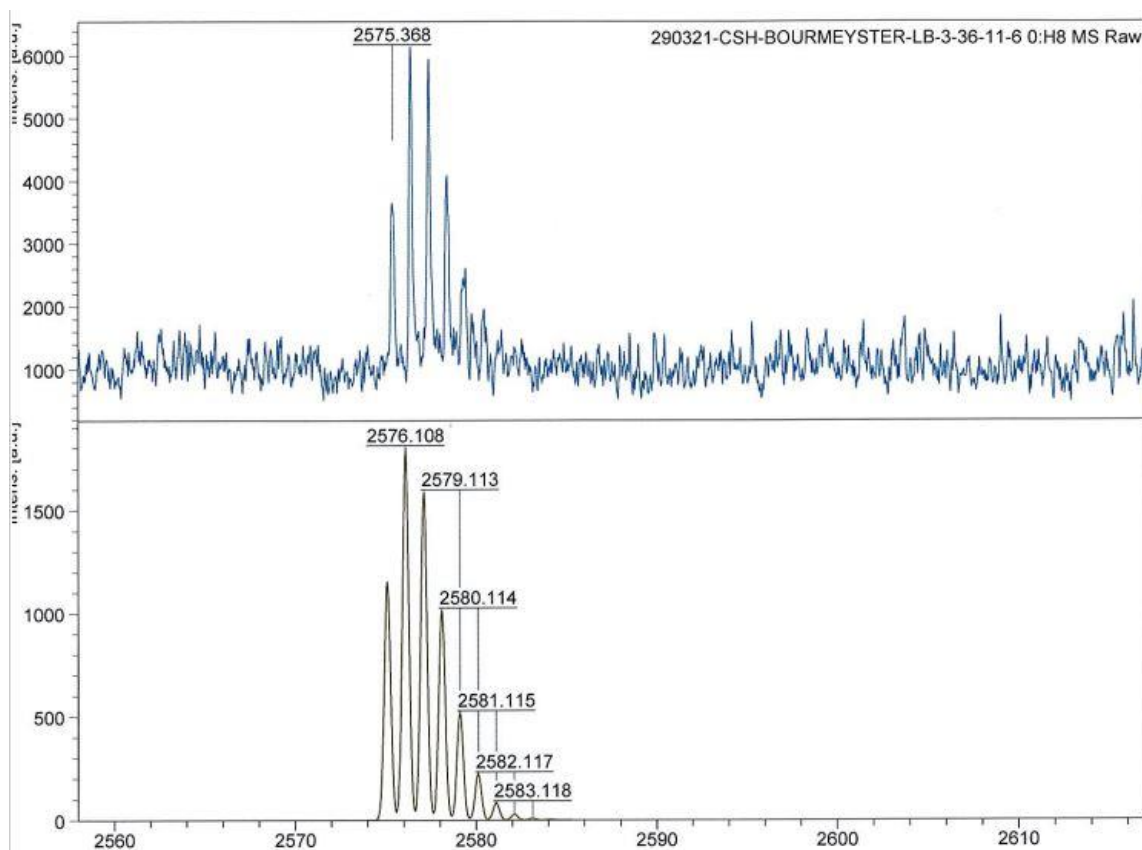


Figure 51 : MALDI de la molécule **60**. En haut, l'expérimental, en bas, le théorique

## Chapitre II - Molécule de première génération ; preuve de concept

### b- Propriétés de fluorescence

Pour être performante en imagerie optique, la sonde doit posséder une longueur d'onde d'émission comprise dans la fenêtre de transparence du vivant (entre 800 et 1200 nm), même si couramment des sondes émettant entre 500 nm et 800 nm sont utilisées. Des mesures de fluorescence et d'UV visible ont donc été effectuées.

Le **BTD<sub>a</sub> 29** a ainsi révélé une longueur d'onde d'émission à 435 nm pour un rendement quantique de fluorescence correct de 28% dans le méthanol. Cette longueur d'onde est en effet un peu basse. Comme expliqué précédemment, le **BTD** est un fluorophore dont la conjugaison peut être facilement étendue. Son couplage sur le **CTV** ainsi que l'insertion du **cRGD** sur son deuxième alcyne sont effectués par **CuAAC**, introduisant à ses deux extrémités des cycles triazoles. Ces derniers peuvent instaurer une conjugaison croisée et ainsi augmenter sa longueur d'onde d'émission maximale.

La molécule **106** a été synthétisée afin de constater ce changement de longueur d'onde (Schéma 62).

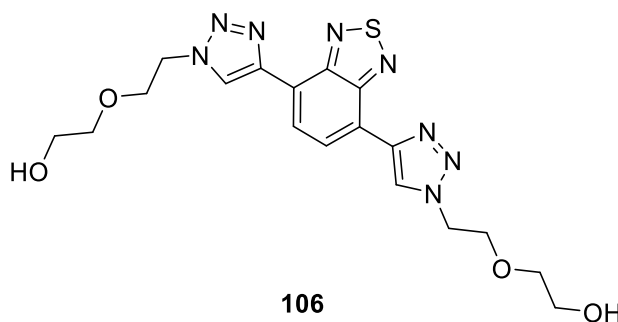


Schéma 62 : Structure de la molécule **106**

La longueur d'onde d'émission maximale de cette molécule est de 516 nm, pour un rendement quantique de fluorescence inchangé de 27%. Comme prévu, les deux triazoles ont bien un effet bathochrome sur la longueur d'onde d'émission maximale du **BTD**. De plus, un léger effet « push-pull » intervient entre le triazole et le centre pauvre en électron du **BTD**.

Les chaînes PEG entre le **BTD** et le **CTV** empêchent en revanche toute conjugaison ou effet « push-pull » avec la plateforme. En effet, la longueur d'onde d'émission de la molécule **74** est de 463 nm pour un rendement quantique de fluorescence de 33%. L'ajout des **cRGDs** implique la formation du deuxième triazole, la longueur d'onde d'émission de la molécule **60** est ainsi supérieure, elle est de 520 nm pour un rendement quantique de fluorescence de 11%. Cette longueur d'onde, est encore trop faible pour obtenir une sonde pour l'imagerie optique *in vivo*.

Comme mentionné précédemment, cette molécule est une preuve de concept. Ses propriétés de fluorescence pourront donc être améliorées par la suite.

### c- Tests biologiques

Lors de de cette thèse, deux collaborations ont été mises en place grâce au financement TRAIL, dans le cadre de projet BIMOP. Le premier partenariat est avec la plateforme « Vivoptic » du laboratoire IMOTION. Ce partenariat a permis d'effectuer des tests biologiques sur la sonde **60**.

Tout d'abord, afin d'évaluer les types de tests possibles à effectuer avec la molécule (*in vitro*, *in vivo*), la radiance<sup>1</sup> de la molécule a été mesurée (Figure 52). La sonde **60** a été solubilisée dans un mélange 60% MeCN/ 40% H<sub>2</sub>O, avec une concentration à 10<sup>-5</sup>M. La molécule a ensuite été excitée à 465 nm. Les images obtenues montrent une radiance basse : pour pouvoir exploiter correctement des images en *in vivo*, la radiance idéale est entre 4 et 5 p.sec.cm<sup>2</sup>.s. Ici, seule la partie la plus concentrée rentre dans cette gamme. La fluorescence n'est donc pas assez vive pour envisager des tests *in vivo*, car les interférences avec la fluorescence naturelle du corps ne permettraient pas d'obtenir des images exploitables. Des tests *in vitro* sont en revanche réalisables.

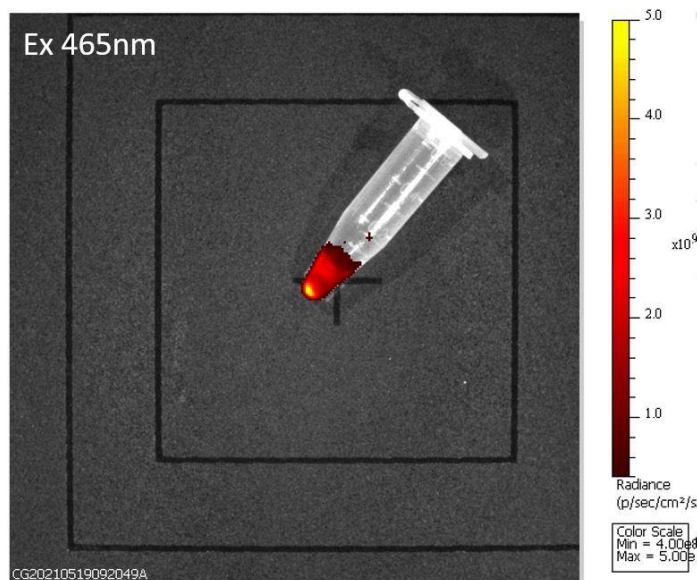


Figure 52 : Radiance de la molécule **60**

Par ailleurs, la cytotoxicité du composé **60** a été mesurée sur des cellules de cancer de la prostate humaine (PC3). Les cellules ont été incubées 24h avec différentes concentrations de la sonde, reprise dans un mélange DMSO 5% / H<sub>2</sub>O 95%. Les résultats indiquent une cytotoxicité à partir de 1.10<sup>-5</sup>M (Figure 53).

<sup>1</sup> Puissance par unité de surface du rayonnement passant ou émis en un point de surface, et dans une direction donnée

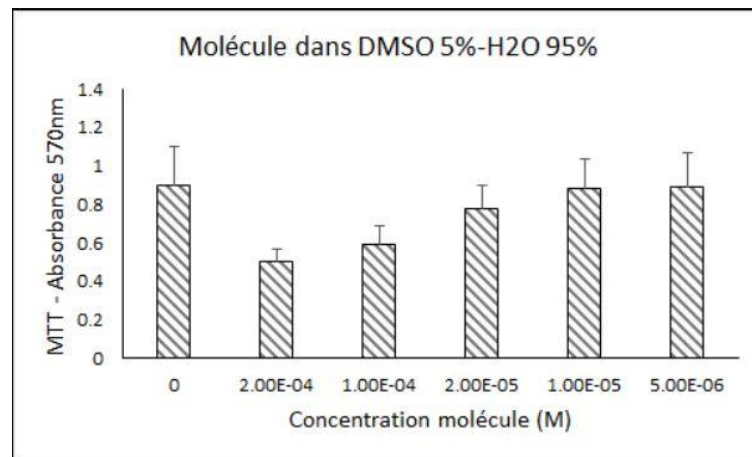


Figure 53 : Test de cytotoxicité de la molécule 60

Enfin, des tests d'immunofluorescence ont également pu être réalisés. Des cellules PC3 ont été incubées avec la sonde ( $10^{-5}$  M) pendant 24h. Elles sont ensuite incubées avec une sonde à l'actine F, la phalloïdine Alexa Fluor® 647 destinée à colorer les parois des cellules. Après une heure à température ambiante, des images de microscopie confocale ont été obtenues. Une LED à 405 nm et un laser à 638 nm permettent respectivement d'observer la sonde 60 et les cellules (Figure 54).

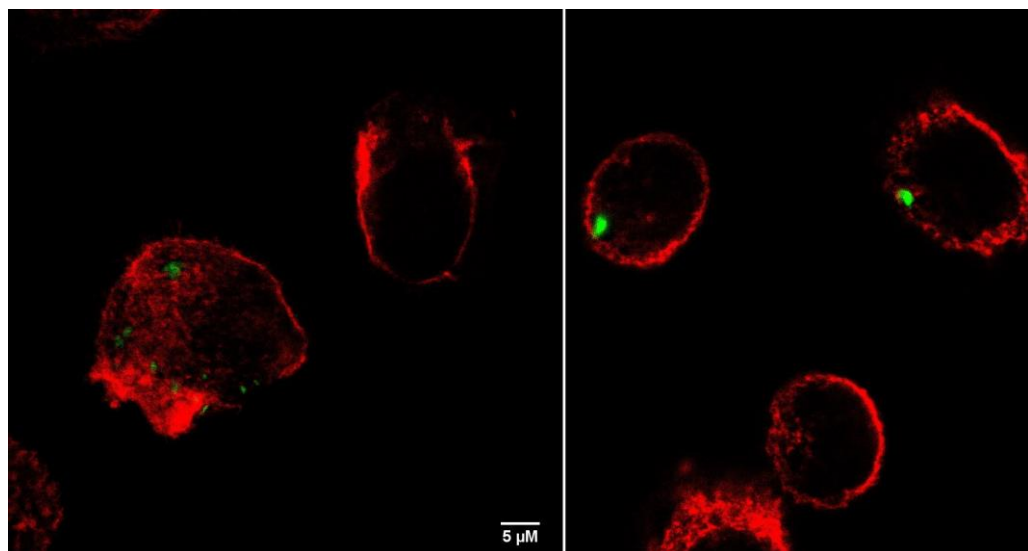


Figure 54 : Images obtenues par microscopie confocale de cellules PC3 incubées avec la sonde 60 et une sonde Alexa647. En rouge, la paroi des cellules et en vert la molécule 60

Ces images permettent de constater la spécificité de la molécule : cette dernière n'est située que sur la paroi des cellules. De plus, sa fluorescence se superpose à celle de la sonde Alexa647. Ces images sont très prometteuses : la fluorescence pourrait être suffisante pour effectuer des tests *in vivo*, contrairement à ce que prédisaient les résultats préliminaires obtenus. Des tests de spécificité supplémentaires sur des cellules n'exprimant pas les intégrines  $\alpha_v\beta_3$  pourraient être menés afin de confirmer la spécificité de la molécule.

### 5- Fluoration

La seconde collaboration est avec le laboratoire INCIA, chargé de mettre au point la réaction de radiosynthèse.

La réaction de fluoration a d'abord été réalisée à froid, c'est-à-dire avec le fluor-19, afin de confirmer la formation de l'espèce désirée ainsi que d'avoir par la suite accès à une référence en HPLC pour faciliter l'analyse des produits issus du radiomarquage.

La fluoration a été réalisée de manière directe. Cette approche a été développée par Ametamey *et. al.*<sup>[158]</sup> Une substitution nucléophile a lieu, entre le fluor et un groupement partant comme un alkoxy, un hydroxy ou un hydrure. La réaction a été réalisée en présence de crypt-222 (Kryptofix®), de fluor de potassium ainsi que d'acide acétique.

Un premier essai a été réalisé sur la molécule **60**, à 35°C dans un mélange MeCN/H<sub>2</sub>O, la solubilité de la molécule n'étant, dans un premier temps, connue qu'avec ce solvant (Schéma 63).

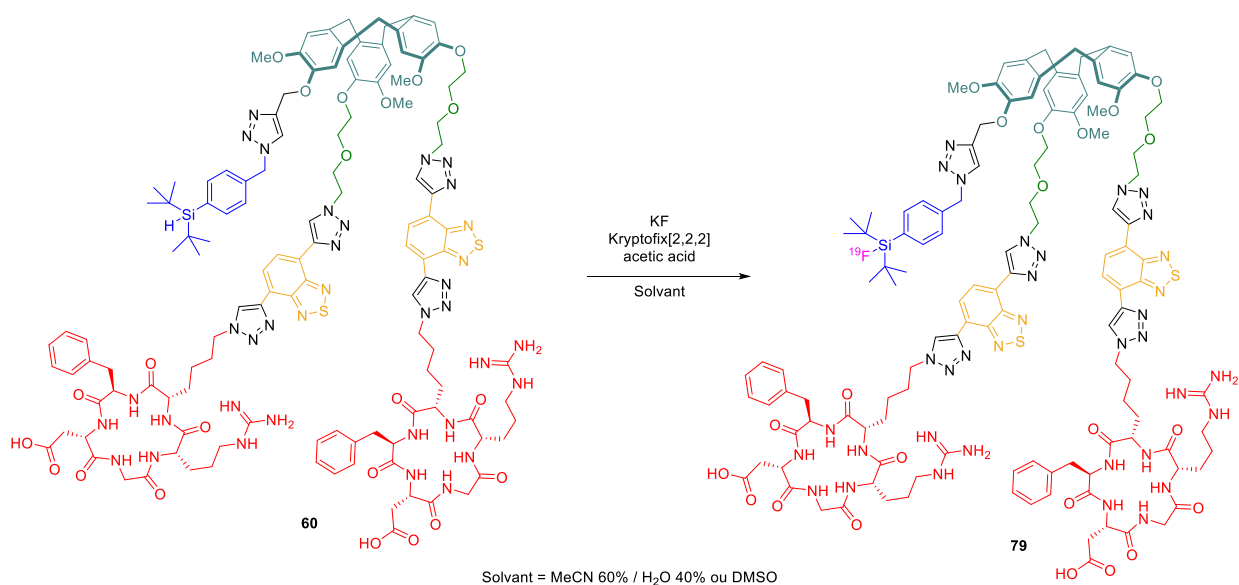


Schéma 63 : Fluoration de la molécule **60**

La réaction a été suivie par HPLC. Après une nuit, des pics sont apparus, mais même après traitement, il n'a pas été possible de les identifier. La température a donc été augmentée à 75°C. Après 7h, un pic HPLC était visible, proche du produit de départ. Après la nuit, la proportion de ce pic a augmenté par rapport à celui du composé **60**, attestant de la consommation de ce dernier. La séparation de ces deux pics a pu être réalisée par HPLC semi-préparative, mais le produit a été obtenu en trop petite quantité pour pouvoir confirmer sa nature par MALDI.

Un dernier essai a été réalisé, cette fois-ci dans le DMSO. Après la nuit, le pic formé précédemment était de nouveau observable. Le produit a pu être isolé en assez grande

quantité pour être analysé par masse, confirmant qu'il s'agit bien de la molécule fluorée **74** (Figure 55).

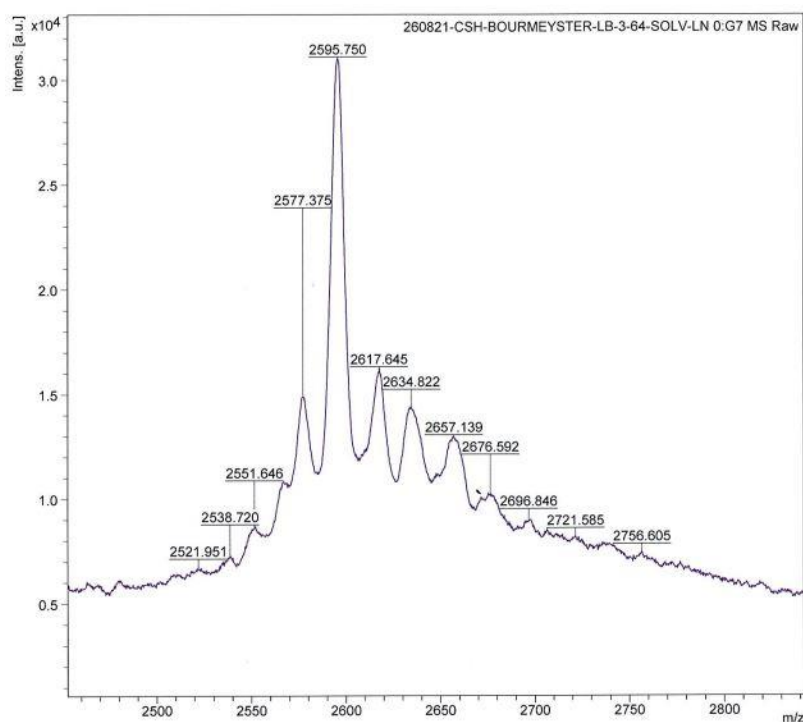


Figure 55 : MALDI de la molécule **74**

La molécule fluorée **79** constitue une référence pour la radiosynthèse. Le précurseur **60** ainsi que la molécule **79** ont été envoyés au laboratoire INCIA, où se déroule actuellement des tests de radiosynthèse.

La faisabilité synthétique de cette sonde bimodale TEP/IO a été prouvée. Cependant, les propriétés de fluorescence sont insuffisantes pour permettre des applications *in vivo*. Le dernier chapitre de cette thèse présentera une voie d'amélioration possible par rapport à la molécule **60**.

# Chapitre III - Molécule de deuxième génération ; optimisation





## Chapitre III - Molécule de deuxième génération ; optimisation

Il existe plusieurs moyens pour augmenter les longueurs d'onde d'excitation et d'émission de molécules fluorescentes. Il a été envisagé, dans un premier temps, d'augmenter la conjugaison au sein de la molécule ainsi que de mettre en place un effet « push-pull » et enfin de remplacer le fluorophore par une molécule émettant à d'autres longueurs d'onde. Ce chapitre présente les stratégies mises en place, utilisant ces possibilités.

### I. Augmentation de la conjugaison et effet « push-pull »

Comme expliqué dans le premier chapitre de cette thèse, la conjugaison peut être augmentée en étendant le système  $\pi$  au sein d'une molécule. De cette manière, la longueur d'onde subira un effet bathochrome. Dans le composé **60**, il est possible d'étendre ce système en liant le BTD **29** directement avec les cycles aromatiques du CTV, c'est-à-dire en enlevant les chaînes PEG (Schéma 64). En plus d'augmenter la conjugaison du BTD, un effet « push-pull » serait mis en place entre le groupement méthoxy et le BTD lié *via* un alcyne.

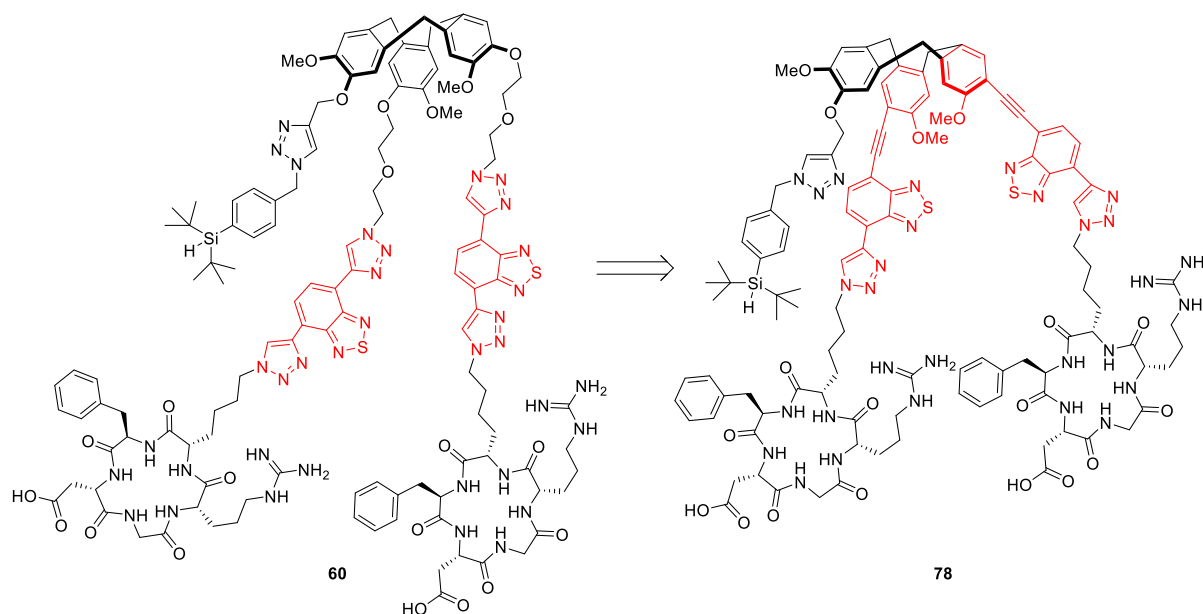


Schéma 64 : Changement de structure pour augmenter la longueur d'onde d'émission

Afin de créer une liaison directe entre l'alcyne du BTD **29** et le CTV, il a été envisagé de procéder à une réaction de Sonogashira. Trois groupements ont ainsi été considérés : l'iode, le brome et un groupement triflate. Le dernier étant plus facile à insérer à partir du phénol sans perturber les autres groupements déjà présents sur le CTV, c'est celui-ci qui a été privilégié.

Les essais ont été menés à partir du CTV **9**. En présence d'anhydride trifluorométhane sulfonique et de triéthylamine, le produit **91** a été formé avec 64% de rendement (Schéma 65).

## Chapitre III - Molécule de deuxième génération ; optimisation

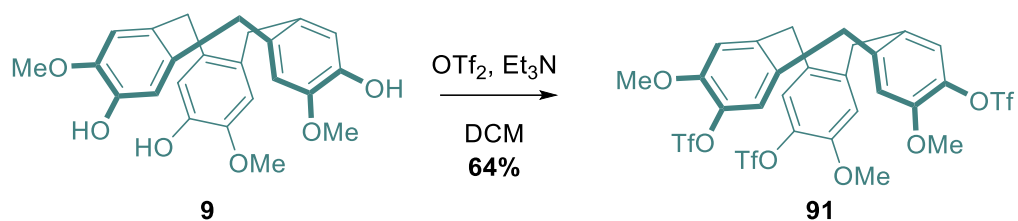


Schéma 65 : Synthèse du composé **91**

Plusieurs conditions ont ensuite été testées pour effectuer la réaction de Sonogashira (Tableau 7 et Schéma 66).

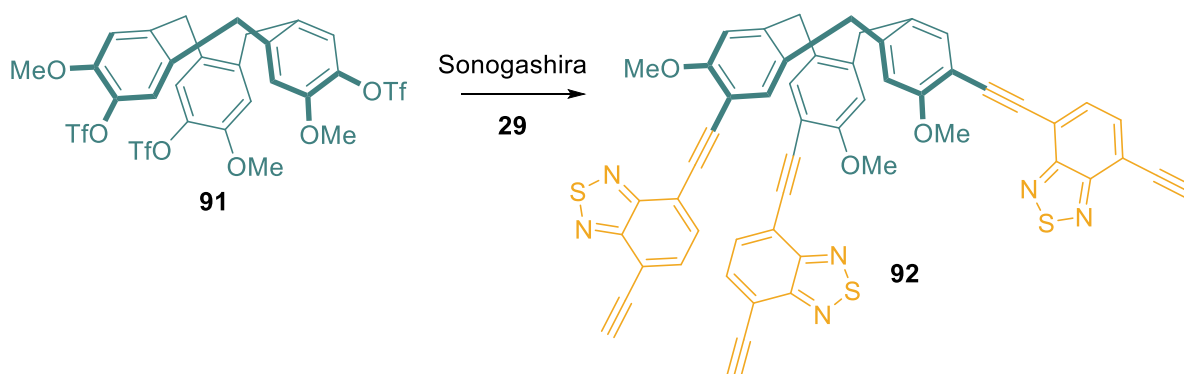


Schéma 66 : Synthèse composé **92**

Tableau 7 : Protocoles pour la réaction de Sonogashira

Entrée	Alcyne (eq)	Réactifs (eq)	Température / Temps	Résultats
1	<b>29</b> (9)	Pd(OAc) <sub>2</sub> (0.05) PPh <sub>3</sub> (5) K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (0.06)	45 °C / la nuit	<b>91</b> + <b>29</b> + OPPh <sub>3</sub> + produit dégradation
2	<b>29</b> (9)	PdCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (0.6) CuI (0.6) Et <sub>3</sub> N	45°C / 2j	<b>91</b> + <b>29</b> + OPPh <sub>3</sub>
3	<b>29</b> (9)	PdCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (0.6) CuI (0.6) Et <sub>3</sub> N	MO 40°C / 1.5h + 50°C / 1h	<b>91</b> + <b>29</b> + OPPh <sub>3</sub> + homocouplage
4	TMSA (9)	PdCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (0.6) CuI (0.6) Et <sub>3</sub> N	MO 40°C / 1h	<b>91</b> + OPPh <sub>3</sub> + homocouplage
5	TMSA (9)	PdCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (0.6) CuI (0.6) TBAI (1.5) Et <sub>3</sub> N	Ta / la nuit	<b>91</b> + OPPh <sub>3</sub> + homocouplage

## Chapitre III - Molécule de deuxième génération ; optimisation

Trois essais ont été réalisés avec le BTD **29**, puis deux avec le TMSA, servant d'alcyne modèle. Le premier essai a été effectué sans cuivre, mais avec du  $K_3PO_4$  pour éviter la formation du produit d'homocouplage entre les molécules de BTD. Seuls les produits de départ étaient observables par RMN du proton. Pour la deuxième entrée, des conditions plus « classiques » de Sonogashira ont été utilisées mais le produit ne s'est pas formé. Les troisième et quatrième entrées ont été réalisées sous micro-ondes. Du produit d'homocouplage s'est alors formé, mais lors du quatrième essai, un produit apparaît : un deuxième système AB (protons des  $CH_2$  du CTV) a été observé par RMN. Il n'a en revanche pas pu être isolé par colonne, dû à une trop petite quantité formée. Ces conditions ont été répétées une seconde fois, mais le produit ne s'est pas reformé. Pour le dernier essai, du TBAI a été ajouté afin d'assister la réaction. Mais seul un produit d'homocouplage s'est formé et le composé **91** était toujours visible par RMN.

Par manque de temps, cette voie n'a pas été plus explorée. De plus, des résultats prometteurs ont été obtenus en parallèle, utilisant un autre fluorophore.

### II. Changement de fluorophore

Le benzothiadiazole peut émettre entre 400 et 600 nm. Sa longueur d'onde d'émission peut être augmentée en modifiant son environnement pour étendre sa conjugaison. Dans l'éventualité où cette voie ne peut être réalisée, d'autres fluorophores ont été envisagés, émettant à des longueurs d'onde plus élevées.

#### 1- Cyanine

La cyanine est le fluorophore le plus populaire pour le suivi de biomolécules. Cette molécule est composée de deux cycles azotés cationiques (qui peuvent être très variés, de 5 à 6 chaînons, ou des cycles multiples), reliés par un pont polyméthine insaturé (Figure 56).

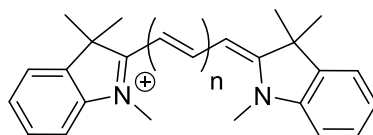


Figure 56 : Structure de la cyanine, portant le cycle le plus classique : l'indolium

Les longueurs d'onde d'absorption et d'émission varient selon la taille du pont : avec trois unités (Cy3), les longueurs d'ondes sont à environ 300 nm, avec cinq (Cy5) vers 600 nm et à sept unités (Cy7), à environ 700 nm.

## Chapitre III - Molécule de deuxième génération ; optimisation

Ce fluorophore a donc été envisagé pour la sonde bimodale. Pour simplifier les premières synthèses de ce type de molécule, une Cy3 a été considérée. Le protocole a été tiré de la littérature (Schéma 67).<sup>[159]</sup> L'amine du composé **80** a réagi avec du NaNO<sub>2</sub> pour former le sel de diazonium, qui a été ensuite réduit par du SnCl<sub>2</sub> afin de former la phénylhydrazine **81** avec 67% de rendement. Une phénylhydrazone a été formée en mettant **81** en présence de l'isopropylméthylcétone, puis, *via* le mécanisme de synthèse des indoles de Fischer, une cyclisation a eu lieu avec élimination d'ammoniac. Après réaction avec l'iodure de méthyle, le composé **82** aurait dû être obtenu, mais la recristallisation du produit n'a pas fonctionné.

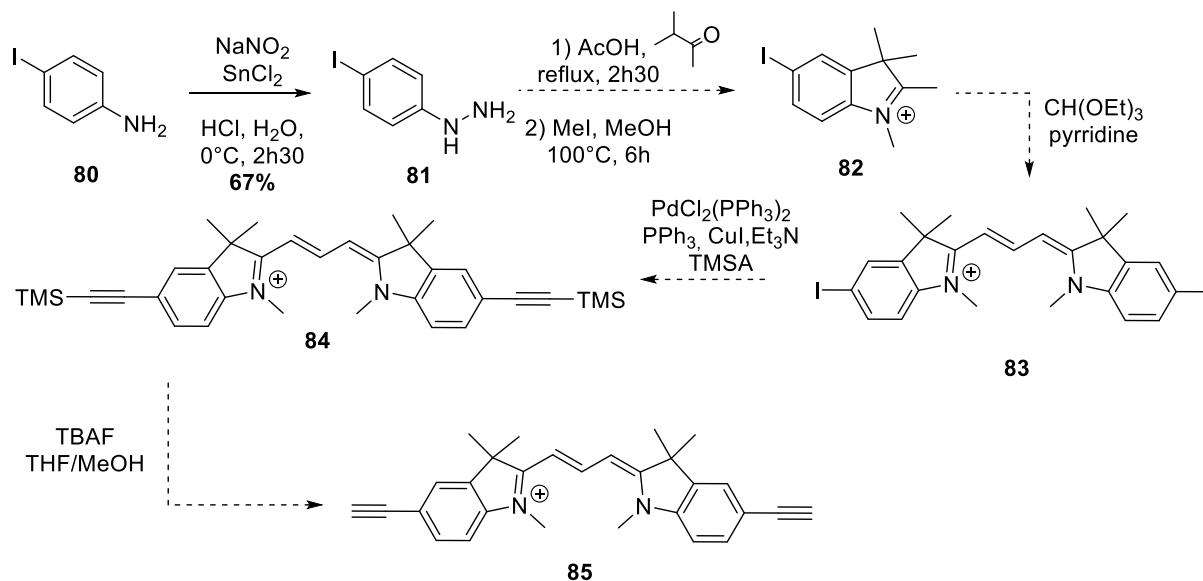


Schéma 67 : Synthèse du composé **85**

D'autres fluorophores ont été synthétisés en parallèle, cette réaction n'a donc été réalisée qu'une seule fois avant d'être abandonnée.

### 2- BODIPY

Il existe de nombreux exemples dans la littérature illustrant l'utilisation des BODIPYs en tant que fluorophore pour des applications *in vivo*. De plus, les caractéristiques fluorescentes de cette molécule en font un synthon de choix pour l'amélioration de la sonde bimodale développée. Cette molécule est également facilement fonctionnalisable, insérer les deux alcynes à ses deux extrémités est donc envisageable.

#### a- BODIPY dialcyne

Le premier motif BODIPY envisagé a été la molécule **98**. Le protocole a été développé par l'équipe de Burgess.<sup>[160]</sup> Les méthodes classiques pour obtenir le motif BODIPY utilisent

## Chapitre III - Molécule de deuxième génération ; optimisation

une condensation entre le 3,5-diméthylpyrrole-2-carbaldéhyde et le 2,4-diméthylpyrrole (Schéma 68).

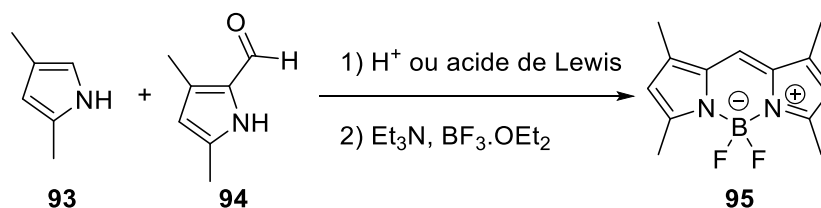


Schéma 68 : Méthode classique pour obtenir le BODIPY 95

Cette publication présente une synthèse à partir du pyrrole-2-carbaldéhyde seul, où de meilleurs rendements sont obtenus.

L'aldéhyde est donc tout d'abord inséré sur le 2,4-diméthylpyrrole **93-2** (Schéma 69) : en présence d'oxychlorure de phosphore et de 1,2-dichloroéthane, puis en ajoutant de l'acétate de sodium et de l'eau, le produit **94** est formé avec 74% de rendement.

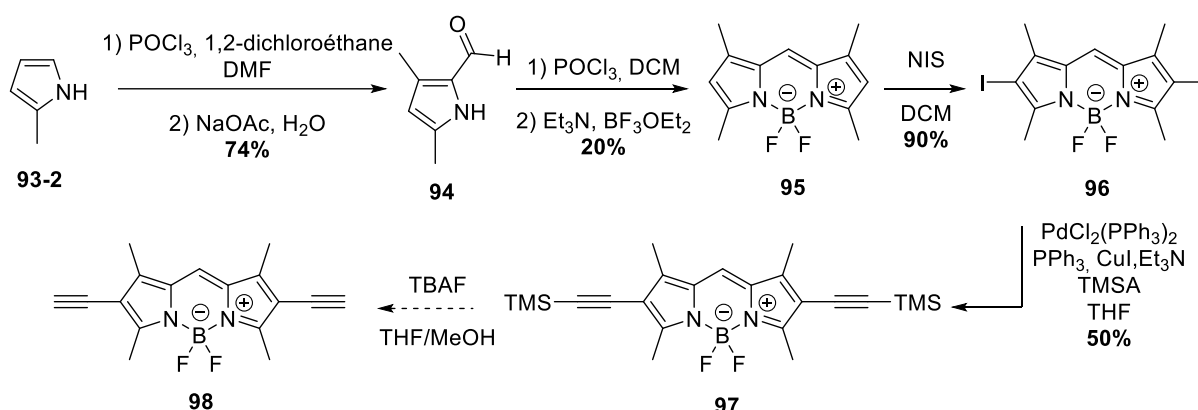


Schéma 69 : Synthèse du composé 98

Le 3,5-diméthylpyrrole-2-carbaldéhyde **94** réagit ensuite avec l'oxychlorure de phosphore, pour donner un intermédiaire vinylique de Vilsmeier-Haack (Schéma 70). Une autre molécule du composé **94** effectue alors une attaque nucléophile, menant à un intermédiaire cationique dipyrrométhénium.

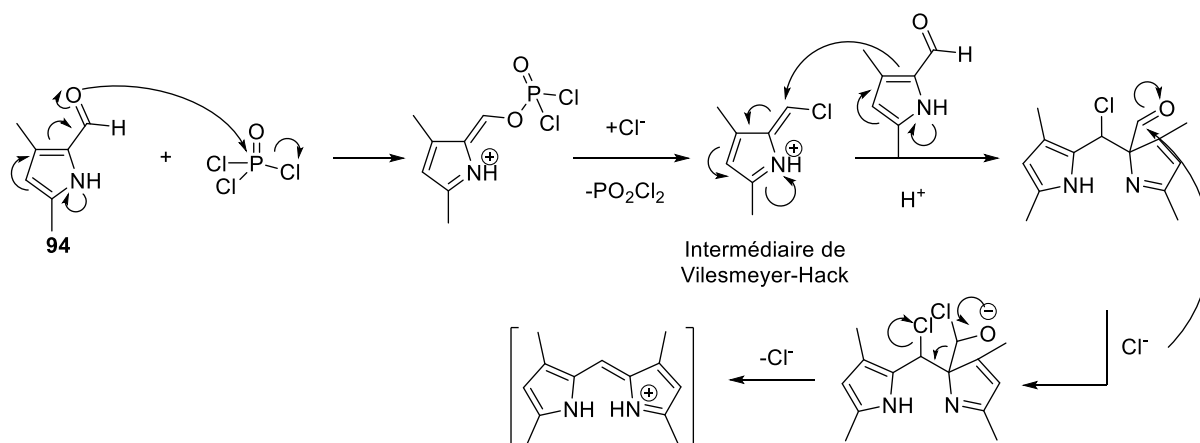


Schéma 70 : Mécanisme de formation de l'intermédiaire cationique

Le diéthyléthérate de trifluorure de bore réagit ensuite sur le cation pour former le BODIPY **95** avec 20% de rendement. Ce bas rendement s'explique par des purifications compliquées, de plus, cette réaction n'a été réalisée qu'une seule fois et n'a donc pas été optimisée. La synthèse s'est poursuivie avec la diiodation à chaque extrémité de la molécule **95** en présence de NIS, pour donner le composé **96** avec 90% de rendement. Une réaction de Sonogashira a ensuite été réalisée dans les conditions précédemment décrites donnant accès au composé **97** avec 50% de rendement. La déprotection de cette molécule a été tentée plusieurs fois, mais l'instabilité du produit **98** n'a pas permis son obtention. En effet, sans substituant en  $\beta$  des azotes, le BODIPY portant deux alcynes se décompose.

Des analyses de fluorescence ont tout de même été réalisées sur le composé **97**. La longueur d'onde d'émission maximale est de 570 nm.

Ce composé est donc très prometteur au niveau de ses propriétés spectroscopiques, mais son manque de stabilité ne permet pas de le fonctionnaliser avec les deux alcynes nécessaires au couplage. Un autre BODIPY a donc été envisagé, portant un groupement phényle.

### b- BODIPY phényle dialcyne

#### a) Synthèse

Le second BODIPY envisagé est la molécule **101** (Schéma 71).

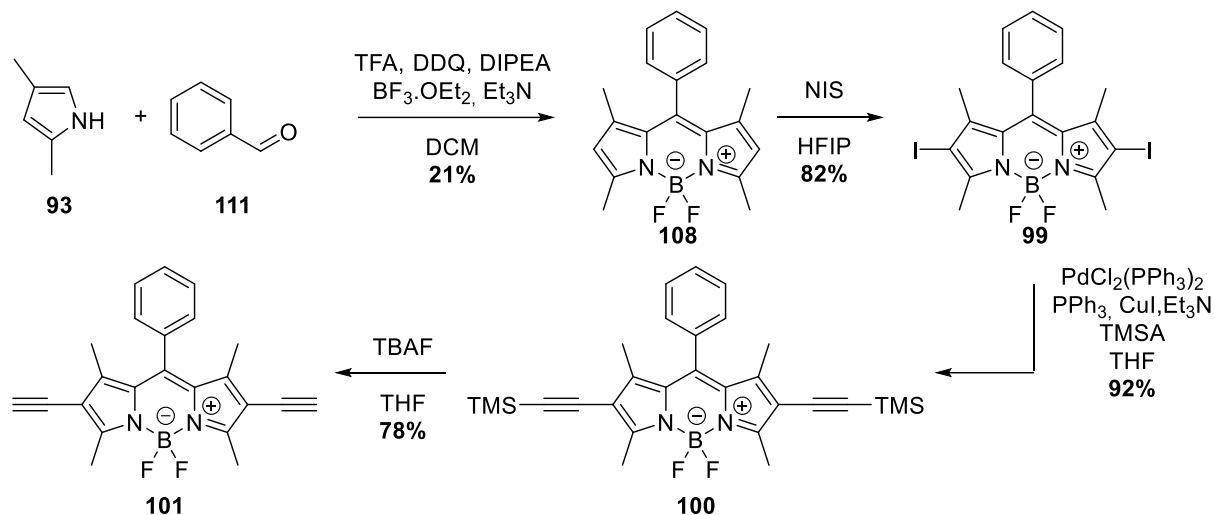


Schéma 71 : Synthèse du composé **101**

Le 2,4-diméthylpyrrole **93** réagit avec le benzaldéhyde **111** en milieu acide pour donner l'intermédiaire cationique. La DDQ (2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone) oxyde ensuite cette molécule, puis le diéthyléthérate de trifluorure de bore, en présence de triéthylamine, amène au produit **108** avec 21% de rendement. La suite de la synthèse est effectuée dans les mêmes conditions que précédemment pour obtenir le composé diiodé **99** avec 82% de rendement, puis l'introduction des alcynes donne le composé **100** avec 92% de rendement. Pour finir, la déprotection des alcynes permet d'obtenir le composé **101** avec 78% de rendement.

#### b) Couplage

Une fois le BODIPY **101** synthétisé il a été possible de le coupler avec le CTV **73**. Une fois de plus, une réaction de chimie « click » a été réalisée dans les conditions décrites précédemment (Schéma 72). Le produit **109** a ainsi été obtenu avec 19% de rendement.



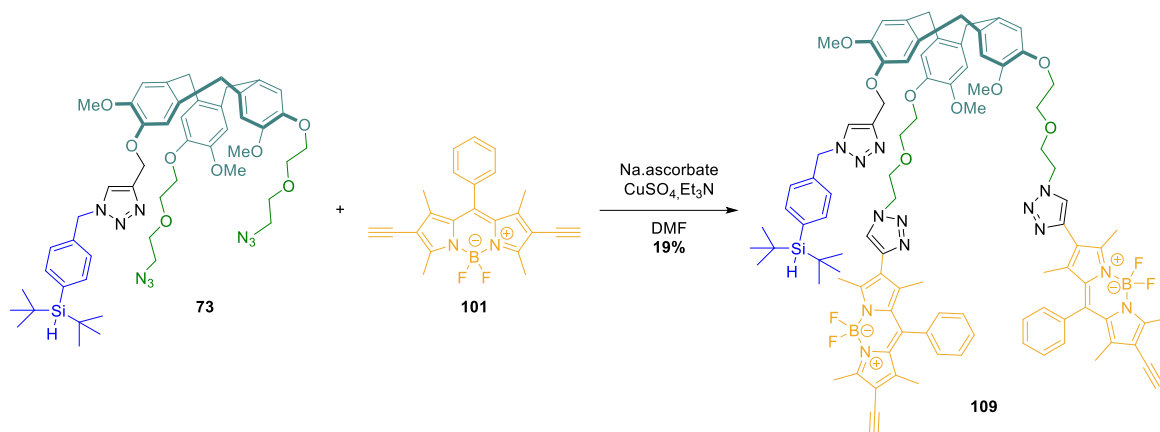


Schéma 72 : Synthèse du composé **109**

Par manque de temps, ce composé n'a pas été couplé avec le cRGD.

### c) Analyses de fluorescence

Tout d'abord, le BODIPY **101** a été analysé. Sa longueur d'onde d'émission est de 558 nm pour un rendement quantique de fluorescence de 70%. Le composé **109** possède une longueur d'onde d'émission maximale de 560 nm et un rendement quantique de fluorescence de 68%. Le triazole n'a pas eu l'effet bathochrome observé précédemment pour le composé **74**. La première raison envisagée est le fait que la conjugaison n'est pas augmentée au sein de la molécule : les groupements méthyles du BODIPY l'empêcheraient de se placer dans le même plan que le triazole. Une modélisation 3D de la molécule suivie d'un calcul MM2 permettant d'obtenir la molécule dans sa conformation nécessitant le moins d'énergie ont été réalisés (Figure 57).

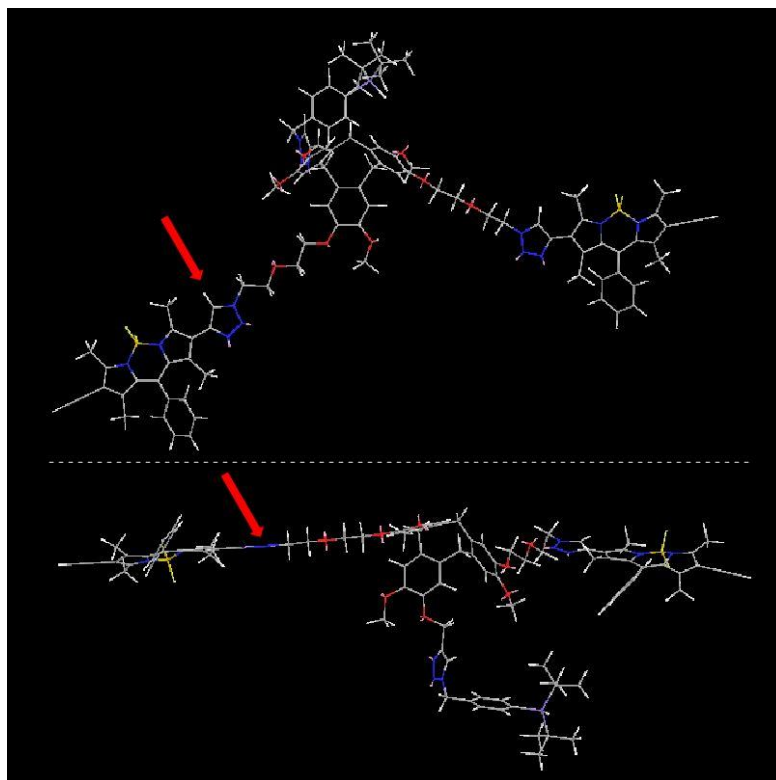


Figure 57 : Modélisation 3D de la molécule **109**. La flèche rouge désigne le triazole reliant le BODIPY à la chaîne PEG

Il est ici possible d'observer que le triazole et le BODIPY sont dans le même plan. La conjugaison peut donc être mise en place entre ces deux éléments. En revanche, contrairement à la molécule **74**, le BODIPY est riche en électrons. Aucun effet « push-pull » ne se met en place avec l'ajout du triazole. De plus, le centre de fluorescence au sein du BODIPY est situé au niveau du bore, la fonctionnalisation des alcynes est trop éloignée pour avoir un impact sur les états excités du BODIPY, contrairement au BTD où la fluorescence est liée aux échanges d'électrons au sein de la molécule.

L'augmentation de la conjugaison n'a pas été possible au sein de la sonde synthétisée. En revanche, en modifiant le fluorophore, la longueur d'onde d'émission s'est améliorée, il en est de même pour le rendement quantique de fluorescence. Des applications *in vivo* sont désormais envisageables.



# Conclusion et perspectives



Le but de cette thèse était de synthétiser une sonde bimodale TEP/IO capable de détecter et localiser une tumeur, guider le chirurgien durant la tumorectomie ainsi qu'effectuer un suivi post-opératoire.

Le défi était tout d'abord synthétique. Les synthons devaient s'organiser autour d'une plateforme, le CTV. Il a tout d'abord fallu modifier la symétrie de ce composé afin d'introduire des groupements différents sur chacun des trois « bras ». Pour simplifier la synthèse, deux groupements identiques et un seul différent ont été incorporés.

La synthèse des différents synthons a tout d'abord été effectuée. Pour la TEP, un arylsilane a été utilisé pour réaliser la radiosynthèse en dernière étape par substitution du  $^{18}\text{F}$ . Pour les propriétés de fluorescence, un BTM a été introduit en première intention. La reconnaissance a été assurée par un cRGD, un peptide capable de détecter les intégrines  $\alpha_v\beta_3$  surexprimées dans certains cancers.

Par la suite, ces différents synthons ont été couplés sur la plateforme CTV *via* des réactions de chimie « click ». L'arylsilane a été introduit sur le premier « bras ». Pour faciliter le couplage avec le BTM, des chaînes PEG ont été introduites sur les deux autres phénols du CTV, puis un BTM a été introduit sur chacune d'elles. Le dernier couplage a permis d'ajouter deux cRGDs à la suite des BTMs donnant ainsi accès à la première sonde bimodale envisagée.

Les propriétés fluorescentes de cette molécule ont été mesurées. Excitée à 400 nm, sa longueur d'onde d'émission est de 520 nm. D'après ces résultats, il a été déterminé que la sonde ne serait pas adéquate pour des applications *in vivo*. Des tests biologiques *in vitro* ont tout de même pu être menés, pour déterminer le seuil de cytotoxicité, ainsi qu'une expérience d'immunofluorescence *in vitro*. Les images obtenues montrent la bonne spécificité de la molécule. La fluorescence de la sonde ressort également très bien face à celle de la sonde injectée pour mettre en valeur les cellules. De tels résultats laissent espérer que des tests *in vivo* seraient peut-être envisageables.

La fluoration à froid a également pu être réalisée avec du fluor-19, permettant par la suite de réaliser la radiosynthèse au sein du laboratoire INCIA. Cette dernière étape étant en cours, les résultats n'ont pas pu être présentés dans cette thèse.

Ainsi, toute la chimie froide a pu être validée pour la sonde synthétisée. Il faudra en revanche par la suite évaluer la cytotoxicité de la molécule portant le fluor-19, afin de vérifier que ce dernier ne modifie pas les résultats obtenus avec la molécule **60**.

La longueur d'onde d'émission de la sonde étant jugée trop basse, il a été nécessaire d'améliorer les propriétés de fluorescence. Pour cela, plusieurs possibilités ont été explorées : tout d'abord, l'augmentation de la conjugaison en couplant le BTM directement sur le CTV à l'aide d'une réaction de Sonogashira. Mais cette réaction ayant échoué, une deuxième option a été mise en place : la modification du fluorophore. Cette voie a donné accès à une molécule portant un BODIPY phényl dont les propriétés de fluorescence sont très prometteuses. Une sonde de deuxième génération est alors envisageable, avec de potentielles applications *in vivo*.

D'autres améliorations pourraient être apportées. Notamment, l'augmentation de la conjugaison pourrait être optimisée de manière à réussir la réaction de Sonogashira entre le

## Conclusion et perspectives

---

CTV et le BTD. Un autre BODIPY pourrait être utilisé, la molécule **109**, portant des chaînes *p*-méthoxy styrènes qui permettraient d'augmenter sa conjugaison et donc sa longueur d'onde d'émission (Figure 58).

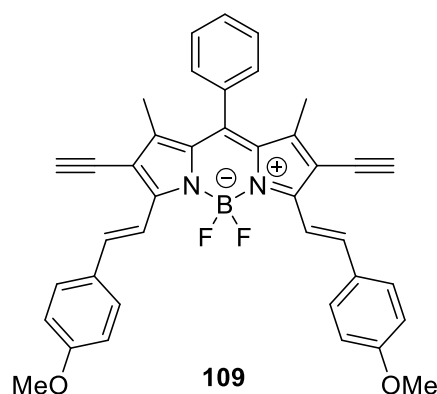


Figure 58 : BODIPY **109**

Le but de cette thèse était également d'apporter un caractère modulable à la stratégie de synthèse où chacun des synthons pourrait être remplacé aisément par un autre du fait de l'utilisation de la chimie « click », en particulier pour le couplage. L'introduction d'un autre fluorophore a permis de prouver ce concept. Pour donner suite à cela, d'autres parties de la molécule pourraient être modifiées comme la molécule de reconnaissance. Ici, le cRGD est spécifique de certains cancers comme le cancer de la prostate ou du sein. En modifiant ce peptide, il serait possible de reconnaître d'autres types de récepteurs et ainsi moduler l'utilisation de la sonde selon le type de cancer ou de maladie visés. La partie portant la TEP pourrait également être modifiée selon l'application souhaitée, afin d'introduire un autre type d'imagerie médicale comme l'IRM.

La sonde synthétisée est ainsi une preuve de concept qui s'avère prometteuse compte-tenu des possibilités d'amélioration et/ou de modification qu'il est possible d'imaginer.

# Partie expérimentale





## I. Généralités

### 1- Solvants et réactifs

La proportion des éluants utilisés est décrite de la façon suivante : « n % A/B » signifiant « n % de solvant B dans le solvant A ».

Les réactifs commerciaux proviennent de Sigma-Aldrich, Acros, fluorochem, TCI ou Fisher, et sont utilisés sans purification. Le dichlorométhane, l'éther diéthylique, le méthanol et le tétrahydrofurane proviennent d'un purificateur SP lorsque ces derniers sont manipulés sous atmosphère inerte. Le *N,N*-diméthylformamide sec est stocké sous azote et utilisé sans purification. Les autres solvants, utilisés sans précaution particulière, sont à une pureté de 98% (sauf si une précision est apportée dans le mode opératoire). La triéthylamine est distillée sur CaH<sub>2</sub>.

### 2- Chromatographies

Les chromatographies sur couche mince (CCM) en phase normale ont été réalisées sur des plaques de silice Supelco<sup>®</sup>, gel de silice 60 F<sub>254</sub> et les CCM en phase inverse sur des plaques de silice Merck<sup>®</sup>, gel de silice 60 RP-18 F<sub>254</sub>. Les séparations par colonne de gel de silice ont été réalisées sur un gel de silice 40-63 µm VWR. Les produits ont été révélés à l'aide d'une lampe UV ( $\lambda = 254$  ou  $365$  nm) et/ou du révélateur : vanilline ou KMnO<sub>4</sub>.

### 3- HPLC

Les analyses par **HPLC** ont été réalisées sur une HPLC analytique Ultimate 3000 Dionex de Thermo Scientific, sur une colonne Phenomenex Luna 5u C<sub>18</sub> (2) 100 A de dimension 250\*4.60 mm et de 5 microns. Les séparations sur HPLC ont été effectuées sur une HPLC semi préparative Jasco, LC-NetII/ABC avec une colonne Phenomenex Luna 10u C<sub>18</sub> (2) 100 A de dimension 250\*10 mm et de 10 microns.

### 4- Analyses

Les spectres de **résonance magnétique nucléaire** (RMN) du proton, du carbone et du silicium ont été enregistrés sur des spectromètres du laboratoire CESAMO de l'ISM : le Bruker AVANCE I 300 MHz (<sup>1</sup>H=300 MHz, <sup>13</sup>C=75.3 MHz), le Bruker DPX-400 FT (<sup>1</sup>H=400 MHz, <sup>13</sup>C=100.2 MHz) et le Bruker DPX-600 FT (<sup>1</sup>H=600 MHz, <sup>13</sup>C=150.6 MHz). Les déplacements chimiques des spectres RMN ( $\delta$ ) sont rapportés en ppm par rapport au pic résiduel du solvant. Les constantes de couplages (*J*) sont exprimées en hertz (Hz). Les abréviations utilisées pour

## Partie expérimentale

---

les multiplicités des pics sont les suivantes : s = singulet, d= doublet, t= triplet, m= multiplet, sl= singulet large, dd= doublet de doublet.

Les **spectres de masse** ont été réalisés par le laboratoire CESAMO de l'ISM (Talence, France) :

- **Electrospray (ESI) Qexactive de Thermo** : l'instrument est équipé d'une source ESI et les spectres sont obtenus en mode positif ou négatif. Le voltage du spray est maintenu à 3200 V avec une température capillaire à 320°C. Les injections se font dans une boucle de 20 µL dans un flux de 300 µL/min de méthanol de la pompe LC.
- **GC-MS** : les analyses se déroulent sur un appareil Agilent 7890 A GC gaz chromatographe couplé à un JEOL Accutof mass detector. L'analyse capillaire GC est effectuée sur une colonne capillaire TG-5MS (30m\*0.32 mm, 0.25 µm), avec 5% de phényle méthylpolysiloxane et 95% de diméthylpolysiloxane, et l'hélium est utilisé comme gaz vecteur. Les conditions sont gardées à 100°C pendant 1 min, puis une augmentation de 15°C/min est appliquée pour atteindre 300°C, gardé pendant 1 min. Le débit est alors de 1.2 mL/min. La température d'injection est de 230°C en split mode. La température de transfert et de la source d'ions sont maintenues à 250 et 200°C. Par ionisation électronique (EI), les spectres ont été mesurés entre 40 et 800 m/z à 70 eV. Par ionisation de champs (FI), le champ d'ionisation émet à 10kV de voltage, avec un émetteur de 10 µm à 40 mA de courant.
- **FD** : les mesures ont été prises sur un appareil TOF mass spectrometer AccuTOF GCv utilisant la désorption de champs avec un voltage de 10 kV. Un ou deux microlitres de solution du composé ont alors été déposés sur un fil émetteur de 13 µm.
- **MALDI** : les spectres ont été mesurés sur un appareil Autoflex maX TOF de Bruker Daltonics, équipé avec un laser à fréquence triple Nd:YAG émettant à 355 nm. Les spectres ont été enregistrés en mode ions positifs en utilisant un réflecteur et avec un voltage d'accélération de 19 kV. Les échantillons ont été dissous dans un mélange 60% MeCN / 40% H<sub>2</sub>O. Une matrice α-cyano, préparée en dissolvant 10 mg dans 1 mL du solvant. Les solutions ont été combinées dans un ratio volumique de 10:10 (matrice, échantillon). Dix microlitres du mélange obtenu sont déposés sur la plaque d'échantillon et séchés.

Les réactions de débenzylation ont été réalisées sur un **Hcube**<sup>®</sup> miniplus de Tales Nano avec des CatCart<sup>®</sup> préremplies de 10% Pd/C. Les réactions par irradiation au **micro-ondes** ont été réalisées sur un appareil BIOTAGE Initiator.

Les **spectres Uv-vis** ont été réalisés sur un spectrophotomètre CARY 100 scan et les **spectres de fluorescence** sur un spectrophotomètre CARY ECLIPSE. La température est régulée dans le spectrophotomètre grâce à un contrôleur de température Peltier Varian Cary type SPVF 1x0. Le rendement quantique de fluorescence est mesuré en utilisant la méthode standard d'équilibration d'aire des échantillons à température ambiante. Les rendements quantiques sont obtenus en utilisant le Pérylène dans le cyclohexane ou la Rhodamine B dans le méthanol. Les rendements quantiques reportés le sont avec une erreur de ±10%.

## 5- Méthodes HPLC

Les **HPLC analytiques** ont été réalisées selon la méthode suivante :

**Débit** : 1mL/min

$\lambda_{\text{ext}}$  : 600 et 400 nm

**Proportion de solvant** :

	H <sub>2</sub> O	MeCN
<b>0 min</b>	95%	5%
<b>35 min</b>	5%	95%
<b>50 min</b>	5%	95%
<b>55 min</b>	95%	5%

Les **HPLC séparatives** ont été réalisées selon la méthode suivante :

**Débit** : 5mL/min

$\lambda_{\text{ext}}$  : 269 nm

**Proportion de solvant** :

	H <sub>2</sub> O	MeCN
<b>0 min</b>	95%	5%
<b>30 min</b>	5%	95%
<b>32 min</b>	5%	95%
<b>34 min</b>	95%	5%

## 6- Analyses biologiques

## a- Culture cellulaire

La lignée de cellules du cancer de la prostate (PC3) a été maintenue dans un milieu RPMI 1640 avec 10% de sérum fœtal bovin et 1% d'un mélange antimycotique et antibiotique. Les cellules PC3 ont été transfectées de manière stable avec le vecteur pcDNA6.2-CMV/LucF (Mazzocco *et. al.*) en utilisant le réactif lipofectamine® 2000 et de la blasticidine (10 µg/mL) pour la sélection. La lignée cellulaire a été maintenue dans un incubateur à CO<sub>2</sub> à 37°C avec un taux d'humidification de 5%.

## b- Mesure de cytotoxicité

Les cellules ont été placées sur une plaque à 48 puits (20 000 cellules par puit) 24h avant l'expérience et incubées avec différentes concentrations de la sonde pendant 24h. La

## Partie expérimentale

---

viabilité des cellules a été évaluée en utilisant un « CellTiter96® Non-Radioactive Cell Proliferation Assay kit » (Promega), en suivant le protocole indiqué par le fabricant.

### c- Immunofluorescence

Les cellules ont été cultivées sur des lamelles et incubées avec la sonde (10<sup>-5</sup> M) pendant 24h. Les cellules ont ensuite été fixées par 4% de paraformaldéhyde et incubée avec un anticorps phalloïdine Alexa Fluore 647 (dilué à 1/400<sup>e</sup>) pendant une heure à température ambiante et mise en milieu de montage Fluoromount. Les images ont été obtenue *via* l'utilisation d'un microscope confocal Leica DM6 CFS TCS SP8. La détection de la sonde a été réalisée grâce à une diode à 405 nm et la détection d'Alexa647 à l'aide d'un laser à 638 nm.

## II. Descriptions des produits synthétisés

### General procedures

#### General procedure A for the Copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition

Alkyne product, azide product, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O and Na ascorbate were dissolved in DMF<sub>dry</sub> under nitrogen. Et<sub>3</sub>N was added. The mixture was stirred overnight at RT. H<sub>2</sub>O was added in the mixture and the total was extracted by DCM. The organic layer has been then extracted five times by water and dried over MgSO<sub>4</sub>, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (Cyclo/AcOEt).

#### General procedure B for the Copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition

Alkyne product, azide product, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O and Na ascorbate were dissolved in DMF<sub>dry</sub> under nitrogen. Et<sub>3</sub>N was added. The mixture was stirred overnight at RT. H<sub>2</sub>O and MeCN were added (60/40) and the mixture was transferred into a falcon tube. The solution has been lyophilized during 24h. The crude product was purified on semi-preparative HPLC with the method described before.

#### General procedure C for the formation of the benzothiadiazole

Phenylenediamine and Et<sub>3</sub>N were dissolved in DCM and cooling down to 0°C. SOCl<sub>2</sub> was added dropwise. The mixture was stirred 5h under reflux. The solvent was removed under reduce pressure, and DCM was added. The solution was washed three times by HCl (1M) and H<sub>2</sub>O and dried over MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed under reduced pressure.

### General procedure D for the bromination

The benzothiadiazole was dissolved in HBr and cooled down to 0°C. Br<sub>2</sub> was added dropwise, and the mixture was stirred at 80°C during 30 min and 130°C overnight. Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> solution was added to quench and the solution was extracted three times by DCM, dried on MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed under reduced pressure.

### General procedure E for the Sonogashira reaction in Et<sub>3</sub>N

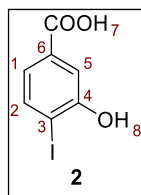
Bromide compound, PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, PPh<sub>3</sub>, CuI and TMSA were dissolved in Et<sub>3</sub>N under nitrogen. The reaction was stirred during 4 h at 90°C. The solvent was evaporated, and the crude product was purified by column chromatography (Cyclo/AcOEt).

### General procedure F for the deprotection of TMS

The protected product was dissolved into THF/MeOH (1/1) under nitrogen. TBAF was added dropwise, and the reaction was stirred at RT 1 h. The solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (Cyclo/DCM or Cyclo/AcOEt).

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>I

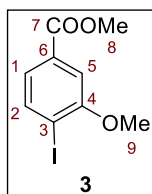
**Rf:** 0.13 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 264.02 g.mol<sup>-1</sup>

3-hydroxybenzoic acid (10 g, 72 mmol, 1 eq) was dissolved in NaOH (2M) (100 mL). In another flask, KI (1.44 g, 8.69 mmol, 1.2 eq) and I<sub>2</sub> (1.69 g, 7.24 mmol, 1 eq) were dissolved in THF/H<sub>2</sub>O (6.72 mL/0.64 mL) and the solution was added to the previous one dropwise (wait for the discoloration before adding a new drop) and stirred 40 min at RT. HCl (37%) was added, a precipitate was formed. After a filtration and a wash with H<sub>2</sub>O, Et<sub>2</sub>O was added, and the solution was dried with MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed under reduce pressure to give **2** as a yellow solid (16.33 g, 86%).

**BENZYLE <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.78-7.75 (d, 1H, <sup>3</sup>J=8.1 Hz, H<sub>2</sub>), 7.46-7.42 (d, 1H, <sup>3</sup>J=1.8 Hz, H<sub>1</sub>), 7.21-7.18 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=8.1-1.8 Hz, H<sub>5</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[127]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>I

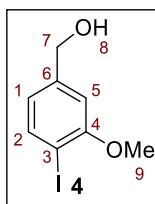
**Rf:** 0.78 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 292.07 g.mol<sup>-1</sup>

**2** (3.64 g, 13.8 mmol, 1 eq) was dissolved in acetone (22.7 mL). K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.63 g, 55.2 mmol, 4 eq) and CH<sub>3</sub>I (5.15 mL, 82.8 mmol, 6 eq) were added and the solution was stirred 4 H at 35°. The solvent was removed under reduce pressure and AcOEt was added. The mixture was washed with H<sub>2</sub>O and dried with MgSO<sub>4</sub>. After filtration, the solvent was removed under reduce pressure to give **3** as an orange oil (2.95 g, 73%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.87-7.84 (d, 1H, <sup>3</sup>J=8.1 Hz, H<sub>2</sub>), 7.46-7.45 (d, 1H, <sup>3</sup>J=1.8 Hz, H<sub>1</sub>), 7.39-7.36 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=8.1 – 1.8 Hz, H<sub>5</sub>), 3.94 (s, 3H, H<sub>9</sub>), 3.92 (s, 3H, H<sub>7</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[127]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>I

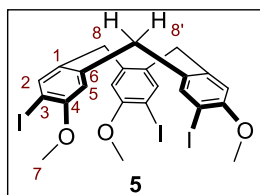
**Rf:** 0.40 (20% Cyclo/AcOEt)

**M:** 264.06 g.mol<sup>-1</sup>

**3** (1.62 g, 5.55 mmol, 1 eq) was dissolved in THF<sub>dry</sub> (21.6 mL) under nitrogen. The solution was cooled down to -78°C and Dibal-H (14.8 mL, 14.76 mmol, 3 eq) was added dropwise. The solution was stirred ON at RT. The mixture was cooled down to 0°C and quenched with HCl (1M) (100 mL) and extracted three time with DCM. The organic phase was washed again with H<sub>2</sub>O and dried with MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed under reduce pressure to give **4** as a white oil (1.4 g, 96%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.61-7.58 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.8 Hz, H<sub>1</sub>), 6.69 (d, 1H, <sup>3</sup>J=2 Hz, H<sub>2</sub>), 6.56-6.54 (d, 1H, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, H<sub>5</sub>), 4.46 (s, 2H, H<sub>7</sub>), 3.74 (s, 3H, H<sub>9</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[127]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>O<sub>3</sub>I<sub>3</sub>

**Rf:** 0.40 (20% Cyclo/AcOEt)

**M:** 738.14 g.mol<sup>-1</sup>

P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (3.29 g, 22.7 mmol, 6 eq) was dissolved in Et<sub>2</sub>O<sub>dry</sub> (23 mL) under nitrogen. In another flask, **4** (1 g, 3.79 mmol, 1 eq) was dissolved in Et<sub>2</sub>O<sub>dry</sub> (3 mL) under nitrogen and added to the first flask. The solution was stirred at reflux 2 days. The solvent was removed under reduce pressure and a lot of DCM was added. The product was triturated and filtrated on silica, and the solvent is removed under reduce pressure. The solid obtained was triturated three time with Et<sub>2</sub>O/DCM (95/5 10mL). Each trituration, Et<sub>2</sub>O was removed slowly as the solid stayed in the flask. The product was dried on a pump to give **5** as a white solid (268 mg, 29%).

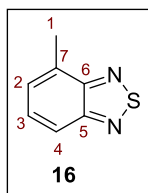
**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.72 (s, 3H, H<sub>5</sub>), 6.74 (s, 3H, H<sub>2</sub>), 4.67-4.63 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.7 Hz, H<sub>8</sub>), 3.86 (s, 9H, H<sub>7</sub>), 3.60-3.56 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.7 Hz, H<sub>8'</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[127]</sup>



## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.20 (50% Cyclo/AcOEt)

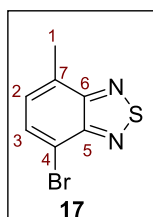
**M:** 150.20 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Brown oil

Compound **16** was obtained following the procedure **C**, starting from 3-methylbenzene-1,2-diamine (5 g, 41 mmol, 1 eq), SOCl<sub>2</sub> (5 mL, 69 mmol, 1.7 eq) and Et<sub>3</sub>N (23.8 mL, 176 mmol, 4.3 eq) in DCM (160 mL), with 83% yield (5.06 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.64-7.61 (d, 1H, <sup>3</sup>J=8.8 Hz, H<sub>2</sub>), 7.28-7.23 (t, 1H, <sup>3</sup>J=7.6 Hz, H<sub>3</sub>), 7.10-7.08 (d, 1H, <sup>3</sup>J=6.8 Hz, H<sub>4</sub>), 2.56 (s, 3H, H<sub>1</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[85]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>BrN<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.52 (40% Cyclo/DCM)

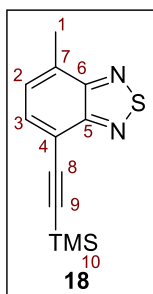
**M:** 150.20 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Brown oil

Compound **17** was obtained following the procedure **D**, starting from **16** (4.17 g, 27.7 mmol, 1 eq), Br<sub>2</sub> (1.24 mL, 27.7 mmol, 1 eq) in HBr (29 mL), with 85% yield (5.43 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.76-7.74 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.3 Hz, H<sub>2</sub>), 7.28-7.25 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, H<sub>3</sub>), 2.72 (s, 3H, H<sub>1</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[85]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>SSi

**Rf:** 0.47 (40% Cyclo/DCM)

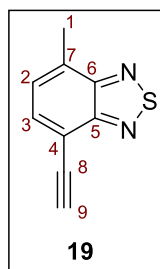
**M:** 246.40 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Brown oil

Compound **18** was obtained following the procedure **E**, starting from **17** (1.83 g, 7.96 mmol, 1 eq), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (561 mg, 0.80 mmol, 0.1 eq), CuI (152 mg, 0.80 mmol, 0.1 eq), PPh<sub>3</sub> (417 mg, 1.85 mmol, 0.2 eq) and TMSA (3.44 mL, 22.28 mmol, 2.8 eq) in Et<sub>3</sub>N (23.9 mL), with 49% yield (2.69 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.71-7.69 (d, 1H, <sup>3</sup>J=6.6 Hz, H<sub>2</sub>), 7.34-7.31 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=7.1 – 1.1 Hz, H<sub>3</sub>), 2.76 (s, 3H, H<sub>1</sub>), 0.35 (s, 9H, H<sub>10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 155.03 (C<sub>5</sub>), 154.50 (C<sub>6</sub>), 133.90 (C<sub>3</sub>), 132.85 (C<sub>7</sub>), 127.90 (C<sub>2</sub>), 114.31 (C<sub>4</sub>), 100.54 (C<sub>8</sub>), 100.45 (C<sub>9</sub>), 18.16 (C<sub>1</sub>), 0.11 (C<sub>10</sub>).



**Chemical Formula:** C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.23 (40% Cyclo/DCM)

**M:** 174.22 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Orange solid

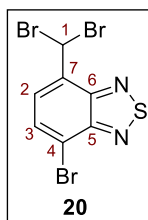
Compound **19** was obtained following the procedure **F**, starting from **18** (4.75 g, 19.3 mmol, 1 eq), TBAF 1M (23.1 mL, 23.1 mmol, 1.2 eq), in THF/MeOH (400 mL), with 67% yield (2.33 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.73-7.71 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.1 Hz, H<sub>2</sub>), 7.36-7.33 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=7.1 – 1.2 Hz, H<sub>3</sub>), 3.56 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 2.78 (s, 3H, H<sub>1</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 155.03 (C<sub>5</sub>), 154.76 (C<sub>6</sub>), 134.04 (C<sub>3</sub>), 133.42 (C<sub>7</sub>), 127.90 (C<sub>2</sub>), 113.23 (C<sub>4</sub>), 82.73 (C<sub>8</sub>), 79.54 (C<sub>9</sub>), 18.19 (C<sub>1</sub>).

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>7</sub>H<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>S

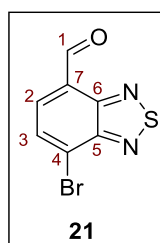
**Rf:** 0.75 (40% Cyclo/DCM)

**M:** 386.89 g.mol<sup>-1</sup>

**17** (7.69 g, 33.4 mmol, 1 eq), NBS (17.8 g, 100.2 mmol, 3 eq) and BPO (1.61 g, 6.68 mmol, 0.2 eq) were dissolved into chlorobenzene (69.9 mL) and the reaction was stirred at 80°C overnight. The solid that was formed has been filtrated on cotton. H<sub>2</sub>O was then added to the filtra, and the solution was extracted by DCM, dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure. The crude product was purified by column chromatography (Clyclo/DCM 9/1) and recrystallized by dissolving it into ethanol and stirring at 80°C during 1 h. After cooling it down, the mixture was filtrated to obtain **20** as orange crystals (8.96, 62%).

**NMR** <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 8.00-7.93 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 7.43 (s, 1H, H<sub>1</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[161]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>7</sub>H<sub>3</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>S

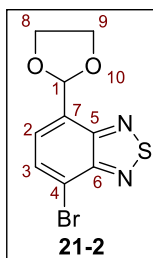
**Rf:** 0.60 (30% Cyclo/DCM)

**M:** 386.89 g.mol<sup>-1</sup>

**20** (8.96 g, 13.9 mmol, 1 eq) was dissolved in formic acid (53.9 mL) and stirred at 110°C 2 h. After the return to RT, the mixture was poured out into water, a precipitate formed. The solution was filtered and dried with a pump to give **21** as an orange solid (5.63, 100%).

**NMR** <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 10.74 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 8.11-8.04 (q, 1H, <sup>3</sup>J=7.5 Hz, H<sub>1</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[161]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.45 (50% Cyclo/DCM)

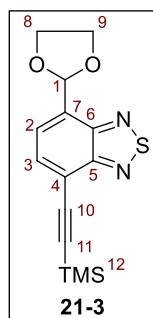
**M:** 285.94 g.mol<sup>-1</sup>

**20** (377.4 mg, 1.55 mmol, 1 eq) was put into a Dean Stark with ethylene glycol (1.9 mL, 3.11 mmol, 2 eq) and APTS (3.43 mg, 15.5 mmol, 10 eq) dissolved in toluene (9 mL) under reflux overnight. AcOEt was then added, and the solution was washed with H<sub>2</sub>O three times and NaCl, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure to give **21-2** as a yellow solid (169 mg, 38%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.84-7.81 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, H<sub>3</sub>), 7.64-7.61 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, H<sub>2</sub>), 6.45 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 4.22-4.10 (m, 4H, H<sub>8,9</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 153.78 (C<sub>6</sub>), 152.75 (C<sub>5</sub>), 131.75 (C<sub>3</sub>), 130.38 (C<sub>2</sub>), 127.03 (C<sub>7</sub>), 115.28 (C<sub>4</sub>), 100.58 (C<sub>1</sub>), 70.24 (C<sub>8,9</sub>).

**HRMS (ESI):** [M] (*m/z*) calculated 285.94; (*m/z*) found 285.93538.



**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>SSi

**Rf:** 0.30 (40% Cyclo/DCM)

**M:** 304.44 g.mol<sup>-1</sup>

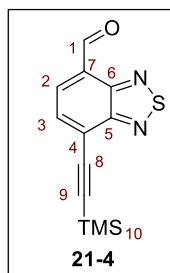
Compound **21-3** was obtained following the procedure E, starting from **21-2** (169 mg, 0.59 mmol, 1 eq), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (41.4 mg, 0.06 mmol, 0.1 eq), CuI (11.4 mg, 0.06 mmol, 0.1 eq), PPh<sub>3</sub> (30.8 mg, 0.12 mmol, 0.2 eq) and TMSA (0.2 mL, 1.65 mmol, 2.8 eq) in Et<sub>3</sub>N (2.2 mL), with 73% yield (131.4 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.77-7.70 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 6.49 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 4.24-4.11 (m, 4H, H<sub>8,9</sub>), 0.32 (s, 9H, H<sub>12</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 155.01 (C<sub>5</sub>), 152.76 (C<sub>5</sub>), 133.30 (C<sub>3</sub>), 131.26 (C<sub>2</sub>), 126.07 (C<sub>7</sub>), 117.73 (C<sub>4</sub>), 102.39 (C<sub>1</sub>), 100.69 (C<sub>10</sub>), 100.09 (C<sub>11</sub>), 65.85 (C<sub>8,9</sub>), 0.07 (C<sub>12</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 305.07; (*m/z*) found 305.07745.

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>SSi

**Rf:** 0.50 (30% Cyclo/DCM)

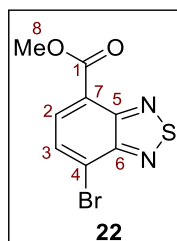
**M:** 260.39 g.mol<sup>-1</sup>

Compound **21-4** was obtained following the procedure **E**, starting from **21** (7.20 g, 29.6 mmol, 1 eq), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (2 g, 2.96 mmol, 0.1 eq), CuI (564 mg, 02.96 mmol, 0.1 eq), PPh<sub>3</sub> (1.55 g, 5.92 mmol, 0.2 eq) and TMSA (11.7 mL, 82.9 mmol, 2.8 eq) in Et<sub>3</sub>N (94 mL), with 100% yield (7.70 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 10.75 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 8.17 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 7.3 Hz, H<sub>2</sub>), 7.90 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 7.3 Hz, H<sub>3</sub>), 0.35 (s, 9H, H<sub>10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 191.9 (C<sub>1</sub>), 155.3 (C<sub>5</sub>), 152.8 (C<sub>6</sub>), 142.8 (C<sub>7</sub>), 133.6 (C<sub>3</sub>), 128.3 (C<sub>2</sub>), 117.1 (C<sub>4</sub>), 103.0 (C<sub>8</sub>), 100.2 (C<sub>9</sub>), 0.08 (C<sub>10</sub>)

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[151]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S

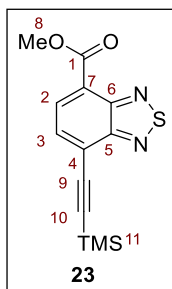
**Rf:** 0.18 (40% Cyclo/DCM)

**M:** 273.10 g.mol<sup>-1</sup>

**21** (1 g, 4.11 mmol, 1 eq) was dissolved in DCM (30 mL) and MeOH (34 mL). KCN (1.28 g, 19.7 mmol, 4.8 eq), AcOH (0.7 mL, 13.2 mmol, 3.2 eq) and MnO<sub>2</sub> (7.15 g, 82.2 mmol, 20 eq) were added and the solution was stirred at 40°C ON. The mixture was filtrated on celite and washed with a lot of AcOEt. The solvent was removed under reduce pressure. The crude was purified on column chromatography (20% Cyclo/AcOEt) to give **22** as an orange solid (839 mg, 75%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 8.25-8.22 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.6 Hz, H<sub>2</sub>), 7.95-7.92 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.7 Hz, H<sub>3</sub>), 4.05 (s, 3H, H<sub>8</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[162]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>SSi

**Rf:** 0.25 (40% Cyclo/DCM)

**M:** 290.41 g.mol<sup>-1</sup>

Compound **23** was obtained following the procedure **E**, starting from **22** (839 mg, 2.59 mmol, 1 eq), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (203 mg, 0.29 mmol, 0.1 eq), CuI (55 mg, 0.29 mmol, 0.1 eq), PPh<sub>3</sub> (152 mg, 0.58 mmol, 0.2 eq) and TMSA (1.14 mL, 8.09 mmol, 2.8 eq) in Et<sub>3</sub>N (1.83 mL), with 85% yield (709.4 mg).

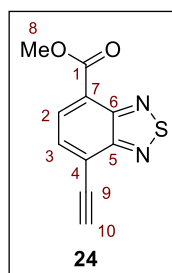
**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 8.17-8.14 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.3 Hz, H<sub>2</sub>), 7.66-7.64 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, H<sub>1</sub>), 3.93(s, 3H, H<sub>8</sub>), 0.26 (s, 9H, H<sub>11</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 164.85 (C<sub>1</sub>), 155.41 (C<sub>5</sub>), 151.87 (C<sub>6</sub>), 133.24 (C<sub>3</sub>), 132.36 (C<sub>2</sub>), 123.09 (C<sub>7</sub>), 121.87 (C<sub>4</sub>), 105.65 (C<sub>9</sub>), 99.78 (C<sub>10</sub>), 52.90 (C<sub>8</sub>), -0.07 (C<sub>11</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 291.06; (*m/z*) found 291.06195.

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.33 (40% Cyclo/DCM)

**M:** 218.23 g.mol<sup>-1</sup>

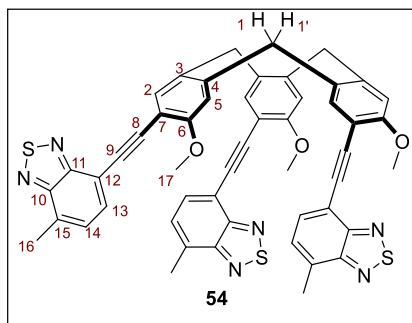
CsF (540 mg, 3.56 mmol, 1.2 eq) was dissolved in MeOH (7 mL) with ultrasound bath. The solution was deoxygenated with nitrogen. In another flask, **23** (709.4 mg, 3.08 mmol, 1 eq) was dissolved in THF (7.1 mL) and deoxygenated. The solution with CsF was added to the flask dropwise and the mixture was stirred 3 H at RT. The solvent was removed under reduce pressure and AcOEt was added. The solution was washed with H<sub>2</sub>O three time, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure to give **24** as a yellow solid (533 mg, 79%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 8.63-8.33 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, H<sub>2</sub>), 7.88-7.85 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, H<sub>3</sub>), 4.07 (s, 3H, H<sub>8</sub>), 2.04 (s, 1H, H<sub>10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 164.63, 155.51, 151.70, 133.08, 132.62, 123.69, 120.70, 86.59, 78.91, 52.95.

**HRMS (ESI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 219.23; (*m/z*) found 219.02213.

**FTIR ν (cm<sup>-1</sup>):** 3208, 1704.



**Chemical Formula:** C<sub>51</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S<sub>3</sub>

**Rf:** 0.12 (40% Cyclo/DCM)

**M:** 876.04 g.mol<sup>-1</sup>

**5** (232 mg, 0.31 mmol, 1 eq) and **19** (491 mg, 2.83 mmol, 9 eq), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (131 mg, 1.86 mmol, 0.6 eq) and CuI (35 mg, 1.86 mmol, 0.6 eq) were dissolved in Et<sub>3</sub>N (2.32 mL) and toluene (9.28 mL) under nitrogen. The solution was stirred 2 days at 45°C. The solvent was removed under reduce pressure and DCM was added. The mixture was washed with HCl (1M) and dried with MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed under reduce pressure and the crude product was purified on column chromatography (100% DCM → 50% DCM/AcOEt) to give **54** as a yellow solid (161.3 mg, 54%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.70-7.70 (d, 3H, <sup>3</sup>J=7.1 Hz, H<sub>13</sub>), 7.63 (s, 3H, H<sub>5</sub>), 7.35-7.32 (dd, 3H, <sup>3</sup>J=9.0-1.1 Hz, H<sub>14</sub>), 6.96 (s, 3H, H<sub>2</sub>), 4.82-4.78 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.7 Hz, H<sub>1</sub>), 3.98 (s, 9H, H<sub>17</sub>), 3.74-3.70 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.8 Hz, H<sub>1'</sub>), 2.75 (s, 9H, H<sub>16</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 159.10 (C<sub>6</sub>), 155.16 (C<sub>11</sub>), 154.67 (C<sub>10</sub>), 141.95 (C<sub>4</sub>), 135.21 (C<sub>2</sub>), 132.81 (C<sub>13</sub>), 132.11 (C<sub>15</sub>), 130.87 (C<sub>3</sub>), 128.11 (C<sub>14</sub>), 114.88 (C<sub>5</sub>), 112.57 (C<sub>12</sub>), 111.09 (C<sub>7</sub>), 91.45 (C<sub>9</sub>), 89.03 (C<sub>8</sub>), 56.17 (C<sub>17</sub>), 36.70 (C<sub>1</sub>), 18.10 (C<sub>16</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 877.20838; (*m/z*) found 877.20956.

**λ<sub>abs</sub>(CHCl<sub>3</sub>/MeOH 98/2)** = 495 nm, **ε** = 4x10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>, **λ<sub>em</sub>** = 525 nm, **φ<sub>f</sub>** = 32% (perylene as reference)

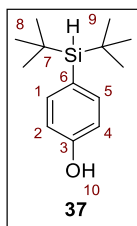
**FTIR ν (cm<sup>-1</sup>):** 2917, 2207, 1603, 1248.

**MP:** 318°C.



## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>OSi

**Rf:** 0.26 (90% Pentane/AcOEt)

**M:** 236.43 g.mol<sup>-1</sup>

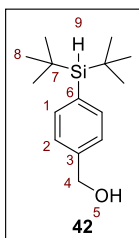
Under nitrogen, NaH (99 mg, 4.13 mmol, 1.1 eq) was dissolved in THF<sub>dry</sub> (28.8 mL). 4- bromophenol (1.02 mg, 3.45 mmol, 1 eq) was added slowly and the mixture was stirred 3 h at 55°C. The reaction was then allowed to warm up at RT, and cold down at -78°C. Tert-butyllithium (10 mL, 7.88 mmol, 2.1 eq) was added very carefully drop by drop with a syringe gas high. The mixture was stirred 1 h at -78°C. Di-tert-butylchlorosilane (0.8 mL, 3.94 mmol, 1.05 eq) was added and the mixture was allowed to warm up to RT and stirred for the night. The reaction was quenched with NH<sub>4</sub>Cl and extracted three times with Et<sub>2</sub>O. The organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub>, and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (10% EP/Et<sub>2</sub>O) to give **37** as a white solid (887.2 g, 90%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.47-7.44 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.5 Hz, H<sub>1,5</sub>), 6.86-6.83 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.5 Hz, H<sub>2,4</sub>), 5.65 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 3.84 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 1.04 (s, 18H, H<sub>8</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 172.5 (C<sub>3</sub>), 129.8 (C<sub>1</sub>), 129.1 (C<sub>6</sub>), 128.8 (C<sub>2</sub>), 28.8 (C<sub>8</sub>), 19.1 (C<sub>7</sub>).

**NMR <sup>29</sup>Si (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 12.93.

**HRMS (ESI):** [M + Ag]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 343.0641 ; (*m/z*) found 343.0637.



**Chemical Formula:** C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>OSi

**Rf:** 0.26 (90% Pentane/AcOEt)

**M:** 250.46 g.mol<sup>-1</sup>

Under nitrogen, NaH (319 mg, 13.3 mmol, 1.1 eq) was dissolved in THF<sub>dry</sub> (53 mL). 4-bromobenzyl alcohol (2.27 mg, 12.1 mmol, 1 eq) was added slowly and the mixture was stirred 3 h at 55°C. The reaction was then allowed to warm up at RT, and cold down at -78°C. Tert-butyllithium (15 mL, 25.5 mmol, 2.1 eq) was added very carefully drop by drop with a syringe gas high. The mixture was stirred 1 h at -78°C. Di-tert-butylchlorosilane was added and the mixture was allowed to warm up to RT and stirred for the night. The reaction was quenched with NH<sub>4</sub>Cl and extracted three times with Et<sub>2</sub>O. The organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (90% Pentane/AcOEt) to give **42** as a white solid (1.65 g, 55%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.59-7.56 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, H<sub>1</sub>), 7.35-7.32 (d, 2H, <sup>3</sup>J=7.9 Hz, H<sub>2</sub>), 4.71-4.69 (d, 2H, <sup>3</sup>J=5.5 Hz, H<sub>4</sub>), 3.86 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 1.04 (s, 18H, H<sub>8</sub>).

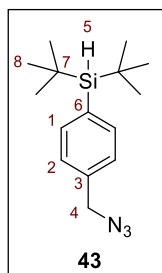
**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 141.4 (C<sub>3</sub>), 136.0 (C<sub>1</sub>), 134.8 (C<sub>6</sub>), 126.1 (C<sub>2</sub>), 65.3 (C<sub>4</sub>), 28.9 (C<sub>8</sub>), 19.0 (C<sub>7</sub>).

**NMR <sup>29</sup>Si (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 13.44.

**HRMS (ESI):** [M + Ag]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 357.0798 ; (*m/z*) found 357.0802.

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>Si

**Rf:** 0.62 (100% Pentane)

**M:** 275.47 g.mol<sup>-1</sup>

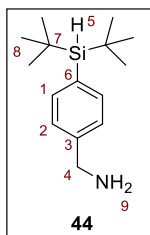
Under nitrogen, **42** (500 mg, 1.99 mmol, 1 eq) was dissolved in DMF<sub>dry</sub> (0.8 mL). 1,8 Diazabicyclo[5.4.0]undec7-ene (0.7 mL, 4.99 mmol, 2.5 eq) and diphenyl phosphoryl azide (1.2 mL, 4.99 mmol, 2.5 eq) were added and the mixture was stirred overnight at Ta. The reaction was extracted six times with pentane and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (100% Pentane) to give **43** as a white oil (575 mg, 100%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.65-7.62 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.1 Hz, H<sub>1</sub>), 7.33-7.30 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, H<sub>2</sub>), 4.73 (s, 2H, H<sub>4</sub>), 3.92 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 1.09 (s, 18H, H<sub>8</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 136.2 (C<sub>1</sub>), 136.0 (C<sub>3</sub>), 135.7 (C<sub>6</sub>), 127.1 (C<sub>2</sub>), 54.7 (C<sub>4</sub>), 28.9 (C<sub>8</sub>), 19.0 (C<sub>7</sub>)

**NMR <sup>29</sup>Si (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 12.91.

**HRMS (ESI):** [M + Ag]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 382.0864 ; (*m/z*) found 382.0863.



**Chemical Formula:** C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NSi

**Rf:** 0.75 (100% Pentane)

**M:** 249.47 g.mol<sup>-1</sup>

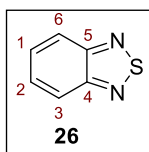
Under nitrogen, **43** (275 mg, 1 mmol, 1 eq) was dissolved in DMF<sub>dry</sub> (3.5 mL) and MeOH (10.4 mL). Lindlar's catalyst (275 mg) was added and the mixture was stirred overnight at Ta under a H<sub>2</sub> flux. The mixture was filtrated on celite, and the solvent was removed under reduce pressure to give **44** as a white solid (264 mg, 100%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.59-7.57 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, H<sub>1</sub>), 7.33-7.30 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, H<sub>2</sub>), 3.89 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 3.72 (s, 2H, H<sub>4</sub>), 3.62 (sl, 2H, H<sub>9</sub>), 1.03 (s, 18H, H<sub>8</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 140.7 (C<sub>3</sub>), 135.8 (C<sub>1</sub>), 134.9 (C<sub>6</sub>), 125.2 (C<sub>2</sub>), 45.9 (C<sub>4</sub>), 28.8 (C<sub>8</sub>), 19.1 (C<sub>7</sub>).

**NMR <sup>29</sup>Si (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 13.41.

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 272.1811 ; (*m/z*) found 272.1816.



**Chemical Formula:** C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.20 (5% Cyclo/AcOEt)

**M:** 136.17 g.mol<sup>-1</sup>

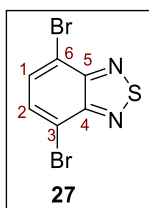
**Aspect:** Orange crystal

Compound **26** was obtained following the procedure **C**, starting from *o*-phenylenediamine (5 g, 46.2 mmol, 1 eq), SOCl<sub>2</sub> (5.7 mL, 78.6 mmol, 1.7 eq) and Et<sub>3</sub>N (27.7 mL, 198.8 mmol, 4.3 eq) in DCM (160 mL), with 85% yield (5.33 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.65-7.59 (m, 2H, H<sub>6,3</sub>), 7.18-7.12 (m, 2H, H<sub>1,2</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 154.83 (C<sub>4,5</sub>), 128.33 (C<sub>1,2</sub>), 121.58 (C<sub>3,6</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[163]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.80 (20% Cyclo/AcOEt)

**M:** 291.83 g.mol<sup>-1</sup>

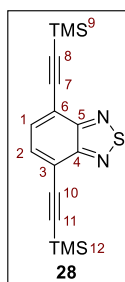
**Aspect:** Brown powder

Compound **27** was obtained following the procedure **D**, starting from **26** (3.36 g, 24.7 mmol, 1 eq), Br<sub>2</sub> (2.21 mL, 49.4 mmol, 2 eq) in HBr (9.5 mL), with 100% yield (7.20 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.73 (s, 2H, H<sub>1,2</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 132.39 (C<sub>1</sub>), 113.94 (C<sub>6</sub>), 77.23 (C<sub>5</sub>).

**HRMS (FI):** [M] (*m/z*) calculated 291.83; (*m/z*) found 291.83.



**Chemical Formula:** C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>SSi

**Rf:** 0.77 (5% Cyclo/AcOEt)

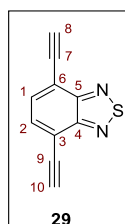
**M:** 328.58 g.mol<sup>-1</sup>

Compound **28** was obtained following the procedure **E**, starting from **27** (7.19 mg, 24.5 mmol, 1 eq), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (1.72 g, 2.45 mmol, 0.1 eq), CuI (467 mg, 2.45 mmol, 0.1 eq), PPh<sub>3</sub> (1.29 g, 4.9 mmol, 0.2 eq) and TMSA (20 mL, 147 mmol, 6 eq) in Et<sub>3</sub>N (92.7 mL), with 100% yield (8.09 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.70 (s, 2H, H<sub>1,2</sub>), 0.33 (s, 18H, H<sub>12,9</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 149.85 (C<sub>4,5</sub>), 133.16 (C<sub>1,2</sub>), 120.41 (C<sub>3,6</sub>), 117.28 (C<sub>8,10</sub>), 103.66 (C<sub>8,11</sub>), -0.11 (C<sub>9,12</sub>).

**HRMS (FD): [M] (m/z)** calculated 328.09; (m/z) found 328.09.



**Chemical Formula:** C<sub>10</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.86 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 184.22 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Brown solid

Compound **29** was obtained following the procedure **F**, starting from **28** (2.90 g, 8.83 mmol, 1 eq), TBAF 1M (17.65 mL, 17.65 mmol, 2 eq), in THF/MeOH (328.6 mL), with 77% yield (1.25 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.77 (s, 2H, H<sub>1,2</sub>), 3.68 (s, 2H, H<sub>8,10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 154.38 (C<sub>4,5</sub>), 133.25 (C<sub>1,2</sub>), 116.78 (C<sub>3,6</sub>), 85.35 (C<sub>8,10</sub>), 78.93 (C<sub>7,9</sub>).

**HRMS (FI): [M] (m/z)** calculated 184.00; (m/z) found 184.00.

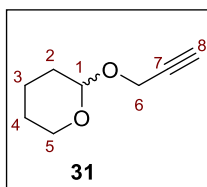
**λ<sub>abs</sub>:** 362 nm

**λ<sub>em</sub>:** 435 nm

**Φ<sub>f</sub>:** 0.28 (cyclohexane)

**ε:** 3,5.10<sup>3</sup> M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>

**Rf:** 0.30 (5% Hexane/Et<sub>2</sub>O)

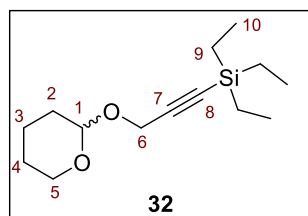
**M:** 140.18 g.mol<sup>-1</sup>

Propargyl alcohol (2.6 mL, 44.6 mmol, 1 eq) was dissolved in DCM (45 mL) and p-tsOH (90 mg, 0.5 mmol, 0.01 eq) was added. At 0°C, DHP (4.3 mL, 46.5 mmol, 1.05 eq) was added dropwise. The solution was stirred 1 h at RT. The reaction was quenched with NaHCO<sub>3</sub>, and the aqueous phase was extracted three times by DCM. The organic phase was dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure. **31** was obtained as a yellow oil with a quantitative yield (6.28 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 4.82-4.80 (t, 1H, <sup>3</sup>J=3.1 Hz, H<sub>1</sub>), 4.32-4.19 (m, 2H, H<sub>6</sub>), 3.8-3.79 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.57-3.49 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.41-2.40 (t, 1H, <sup>3</sup>J=2.4 Hz, H<sub>8</sub>), 1.88-1.69 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 1.66-1.51 (m, 4H, H<sub>3,4</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 96.86 (C<sub>1</sub>), 79.79 (C<sub>7</sub>), 73.98 (C<sub>8</sub>), 62.01 (C<sub>5</sub>), 54.00 (C<sub>6</sub>), 30.22 (C<sub>2</sub>), 25.33 (C<sub>4</sub>), 19.00 (C<sub>3</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 141.18; (*m/z*) found 141.05.



**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>Si

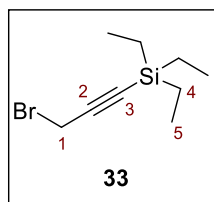
**Rf:** 0.42 (5% Hexane/Et<sub>2</sub>O)

**M:** 254.45 g.mol<sup>-1</sup>

**31** (1 g, 7.13 mmol, 1 eq) was dissolved in THF (19.2 mL) under nitrogen. The temperature was cooled down to -78°C and n-BuLi (4.7 mL, 7.8 mmol, 1.06 eq) was added dropwise. The solution was stirred 1 h at -78 °C and TESCl (1.31 mL, 7.8 mmol, 1.1 eq) was added. The mixture was stirred 4 h at RT, before being quenched by NH<sub>4</sub>Cl. The aqueous phase was extracted two times by Et<sub>2</sub>O, and the organic phase was dried with MgSO<sub>4</sub> before the solvent was removed under reduce pressure. **32** was obtained as a transparent oil (1.22 g, 55%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 4.87-4.85 (t, 1H, <sup>3</sup>J=3.2 Hz, H<sub>1</sub>), 4.29 (s, 2H, H<sub>6</sub>), 3.89-3.81 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.56-3.49 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 1.89-1.69 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 1.66-1.50 (m, 4H, H<sub>3,4</sub>), 1.01-0.96 (t, 9H, <sup>3</sup>J=7.8 Hz, H<sub>10</sub>), 0.64-0.59 (m, 6H, H<sub>9</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[144]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>BrSi

**Rf:** 0.66 (100% Cyclo)

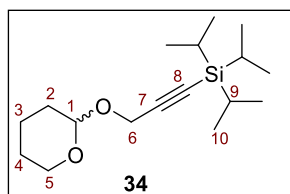
**M:** 232.03 g.mol<sup>-1</sup>

PPh<sub>3</sub> (834 mg, 4.13 mmol, 1.05 eq) was dissolved in DCM (13 mL) and cooled down to 0°C. Br<sub>2</sub> (0.18 mL, 3.93 mmol, 1 eq) was added. The solution was stirred 30 min at 0°C and **32** (1g, 3.93 mmol, 1 eq) was added dropwise. The mixture was stirred 5 h at 0°C. H<sub>2</sub>O was added and extracted two time with hexane. Organic phases were washed with NaHCO<sub>3</sub>, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure with no heating. After a purification of column chromatography (100% Cyclo), **33** was obtained as a transparent oil (1.22 g, 67%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 3.93 (s, 2H, H<sub>1</sub>), 1.02-0.97 (t, 9H, <sup>3</sup>J=7.9 Hz, H<sub>5</sub>), 0.65-0.57 (m, 6H, H<sub>4</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 101.15 (C<sub>3</sub>), 90.08 (C<sub>2</sub>), 14.84 (C<sub>1</sub>), 7.81 (C<sub>5</sub>), 4.17 (C<sub>4</sub>).

**HRMS (FI):** [M] (*m/z*) calculated 232.03; (*m/z*) found 232.03.



**Chemical Formula:** C<sub>17</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>Si

**Rf:** 0.44 (5% Hexane/Et<sub>2</sub>O)

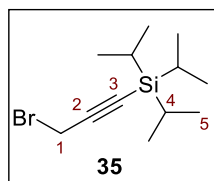
**M:** 296.53 g.mol<sup>-1</sup>

**31** (1 g, 7.10 mmol, 1 eq) was dissolved in THF (20 mL) under nitrogen. The temperature was cooled down to -78°C and n-BuLi (4.7 mL, 7.5 mmol, 1.06 eq) was added dropwise. The solution was stirred 1 h at -78 °C and TIPSCl (1.7 mL, 7.9 mmol, 1.1 eq) was added. The mixture was stirred 4 h at RT, before being quenched by NH<sub>4</sub>Cl. The aqueous phase was extracted two times by Et<sub>2</sub>O, and the organic phase was dried with MgSO<sub>4</sub> before the solvent was removed under reduce pressure. **34** was obtained as a transparent oil (2.11 g, 100%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 4.92-4.90 (t, 1H, <sup>3</sup>J=3.3 Hz, H<sub>1</sub>), 4.31-4.30 (d, 2H, <sup>3</sup>J=3.8 Hz, H<sub>6</sub>), 3.90-3.82 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.56-3.49 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 1.87-1.70 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 1.66-1.51 (m, 4H, H<sub>3</sub>, 4), 1.11-1.09 (m, 3H, H<sub>9</sub>), 1.07-1.05 (m, 18H, H<sub>10</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[144]</sup>





**Chemical Formula:** C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>BrSi

**Rf:** 0.69 (100% Cyclo)

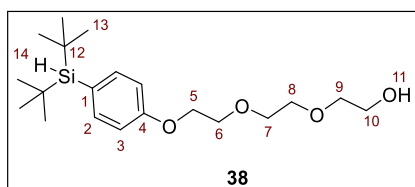
**M:** 275.31 g.mol<sup>-1</sup>

PPh<sub>3</sub> (2 g, 7.46 mmol, 1.05 eq) was dissolved in DCM (28 mL) and cooled down to 0°C. Br<sub>2</sub> (0.3 mL, 7.1 mmol, 1 eq) was added. The solution was stirred 30 min at 0°C and **34** (2.11g, 7.1 mmol, 1 eq) was added dropwise. The mixture was stirred 5 h at 0°C. H<sub>2</sub>O was added and extracted two time with hexane. Organic phases were washed with NaHCO<sub>3</sub>, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure with no heating. After a purification of column chromatography (100% Cyclo), **35** was obtained as a transparent oil (1.31 g, 67%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 3.93 (s, 2H, H<sub>1</sub>), 1.02-0.97 (t, 9H, <sup>3</sup>J=7.9 Hz, H<sub>5</sub>), 0.65-0.57 (m, 6H, H<sub>4</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 101.84 (C<sub>3</sub>), 89.18 (C<sub>2</sub>), 18.52 (C<sub>5</sub>), 15.00 (C<sub>1</sub>), 11.17 (C<sub>4</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[144]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>Si

**Rf:** 0.62 (100% Pentane)

**M:** 368.59 g.mol<sup>-1</sup>

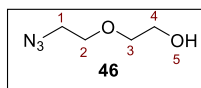
**37** (371 mg, 1.57 mmol, 1 eq) was dissolved in DMF<sub>dry</sub> (14.3 mL) under nitrogen. NaH (45.2 mg, 1.88 mmol, 1.2 eq) was added slowly and the mixture was stirred 30 min at RT. In another flask, (2-(2-(2-chloroethoxy) ethoxy) ethanol) (0.5 mL, 3.14 mmol, 2 eq) was dissolved in DMF (6 mL) and added to the first flask. The solution was stirred ON at 50°C. H<sub>2</sub>O was added to quench and the solution was extracted three times with Et<sub>2</sub>O, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified on column chromatography (40% EP/AcOEt) to give **38** as an uncolored oil (147.5 mg, 25%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.47-7.44 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.7 Hz, H<sub>2</sub>), 6.89-6.86 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.7 Hz, H<sub>3</sub>), 4.13-4.10 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 3.85-3.82 (m, 2H, H<sub>6</sub>), 3.81 (s, 1H, H<sub>14</sub>), 3.71-3.64 (m, 6H, H<sub>7</sub>, 8, 9), 3.59-3.57 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 1.01 (s, 18H, H<sub>13</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 159.5 (C<sub>4</sub>), 137.2 (C<sub>1</sub>), 126.7 (C<sub>1</sub>), 114.0 (C<sub>3</sub>), 72.6 (C<sub>7</sub>), 70.9 (C<sub>8</sub>), 70.5 (C<sub>9</sub>), 69.8 (C<sub>6</sub>), 67.0 (C<sub>5</sub>), 61.8 (C<sub>10</sub>), 29.0 (C<sub>13</sub>), 19.1 (C<sub>12</sub>).

**NMR <sup>29</sup>Si (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 12.51

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 391.2275 ; (*m/z*) found 391.2272.



**Chemical Formula:** C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

**Rf:** 0.16 (20% EP/Et<sub>2</sub>O)

**M:** 131.14 g.mol<sup>-1</sup>

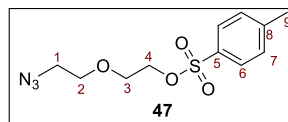
Under nitrogen, 2-(2-chloroethoxy) ethanol (3.4 mL, 32 mmol, 1 eq) was dissolved in DMF<sub>dry</sub> (43.2 mL). NaN<sub>3</sub> (4.16 mg, 64 mmol, 2 eq) was added and the mixture was stirred overnight at 100°C. The DMF was removed under reduced pressure as much as possible. The solution was diluted with water and extracted with a large quantity of Et<sub>2</sub>O many times. The organic phase was dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (80% → 100% Et<sub>2</sub>O/EP) to give **46** as a white oil (2.78 g, 66%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 3.78-3.73 (m, 2H, H<sub>4</sub>), 3.71-3.68 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 3.63-3.60 (m, 2H, H<sub>3</sub>), 3.43-3.39 (m, 2H, H<sub>1</sub>), 2.14-2.11 (m, 1H, H<sub>5</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 72.65 (C<sub>3</sub>), 70.33 (C<sub>2</sub>), 62.04 (C<sub>4</sub>), 50.97 (C<sub>1</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 154.04 ; (*m/z*) found 154.06.

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S

**Rf:** 0.28 (60% EP/Et<sub>2</sub>O)

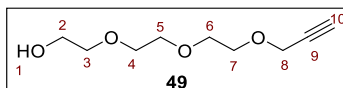
**M:** 285.32 g.mol<sup>-1</sup>

Under nitrogen, **46** (1.55 g, 11.82 mmol, 1 eq), Et<sub>3</sub>N.HCl (244 mg, 1.77 mmol, 0.15 eq) and TsCl (4.51 g, 23.60 mmol, 2 eq) were dissolved in MeCN distilled (87.6 mL). At 0°C, Et<sub>3</sub>N (4.12 mL, 29.55 mmol, 2.5 eq) was carefully added and the mixture was stirred 2 h at RT. The solution was quenched with water and extracted with Et<sub>2</sub>O three times. The organic phase was dry with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (60% EP/Et<sub>2</sub>O) to give **47** as a white oil (2.69 g, 80%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.82-7.79 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.1 Hz, H<sub>6</sub>), 7.36-7.33 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.5 Hz, H<sub>7</sub>), 4.19-4.16 (m, 2H, H<sub>4</sub>), 3.72-3.68 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 3.62-3.59 (t, 2H, <sup>3</sup>J=5.0 Hz, H<sub>3</sub>), 3.34-3.30 (t, 2H, <sup>3</sup>J=4.8 Hz, H<sub>1</sub>), 2.45 (s, 3H, H<sub>9</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 145.1 (C<sub>5</sub>), 133.0 (C<sub>8</sub>), 130.0 (C<sub>7</sub>), 128.1 (C<sub>6</sub>), 70.3 (C<sub>2</sub>), 69.3 (C<sub>3</sub>), 68.1 (C<sub>4</sub>), 50.7 (C<sub>1</sub>), 21.8 (C<sub>9</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 308.31 ; (*m/z*) found 308.07.



**Chemical Formula:** C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

**Rf:** 0.17 (50% Cyclo/AcOEt)

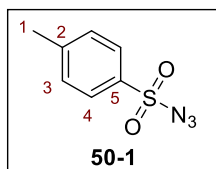
**M:** 188.22 g.mol<sup>-1</sup>

Under nitrogen, t-BuOK (1.2 g, 11 mmol, 0.5 eq) was dissolved in THF (176 mL). Triethylene glycol (3 mL, 22 mmol, 1 eq) was added and the solution was stirred 30 min at RT. Propargyl bromide (0.8 mL, 11 mmol, 0.5 eq) was added and the mixture was stirred ON at RT. The solution was filtrated on celite and washed with AcOEt. After evaporation of the solvent at reduce pressure, the crude product was purified on column chromatography (100 % AcOEt ) to give **49** as a yellow oil (1.70 g, 41%)

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 4.21-4.20 (d, 2H, <sup>3</sup>J=2.4 Hz, H<sub>8</sub>), 3.74-3.66 (m, 10H, H<sub>3, 4, 5, 6, 7</sub>), 3.63-3.60 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 2.44-2.42 (t, 1H, <sup>3</sup>J=2.4 Hz, H<sub>10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 94.79 (C<sub>9</sub>), 74.70 (C<sub>10</sub>), 72.56 (C<sub>2</sub>), 70.59 (C<sub>3</sub>), 70.31 (C<sub>4, 5, 6, 7</sub>), 70.25 (C<sub>6</sub>), 69.06 (C<sub>7</sub>), 58.40 (C<sub>8</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 211.09; (*m/z*) found 211.09.



**Chemical Formula:** C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

**Rf:** 0.17 (50% Cyclo/AcOEt)

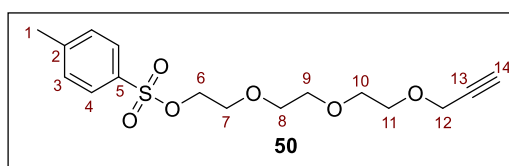
**M:** 197.21 g.mol<sup>-1</sup>

4-Toluenesulfonyl chloride (5 g, 26.2 mmol, 1 eq) was dissolved in a acetone (50 mL) and water (25 mL) at 0°C. NaN<sub>3</sub> (1.2 g, 27.5 mmol, 1.05 eq) was added and the mixture was stirred 4 h at RT. The solvent was removed under reduce pressure. The solution was extracted three time with DCM. The organic phase was dried on MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure to obtain **50-1** as a transparent oil (4.22 g, 82%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.86-7.83 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.5 Hz, H<sub>4</sub>), 7.42-7.40 (d, 2H, <sup>3</sup>J=7.2 Hz, H<sub>3</sub>), 2.48 (s, 3H, H<sub>1</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 146.22 (C<sub>5</sub>), 135.54 (C<sub>2</sub>), 130.29 (C<sub>3</sub>), 127.07 (C<sub>4</sub>), 21.78 (C<sub>1</sub>).

**HRMS (FI):** [M] (*m/z*) calculated 197.21; (*m/z*) found 197.02.



**Chemical Formula:** C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>S

**Rf:** 0.16 (20% Cyclo/AcOEt)

**M:** 342.41 g.mol<sup>-1</sup>

Under nitrogen, **49** (1.70 g, 9.03 mmol, 1 eq) and Et<sub>3</sub>N.HCl (124 mg, 0.90 mmol, 0.1 eq) were dissolved in MeCN (22 mL). After cooling to 0°C, Et<sub>3</sub>N (3 mL, 22.6 mmol, 2.5 eq) was added. In another flask, p-tsCl (3.4 g, 18.06 mmol, 1 eq) was dissolved in MeCN (11 mL) and added dropwise to the first mixture and the solution was stirred ON at RT. After evaporation of the solvent at reduce pressure, the crude product was purified on column chromatography (20 % Cyclo/AcOEt) to give **50** as a white oil (2.48 g, 80%)

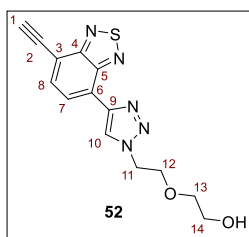
**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.81-7.78 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.4 Hz, H<sub>4</sub>), 7.35-7.32 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.6 Hz, H<sub>3</sub>), 4.19-4.18 (d, 2H, <sup>3</sup>J=2.4 Hz, H<sub>12</sub>), 4.18-4.11 (m, 2H, H<sub>6</sub>), 3.70-3.59 (m, 10H, H<sub>7,8,9,10,11</sub>), 2.45 (s, 3H, H<sub>1</sub>), 2.43-2.42 (t, 1H, <sup>3</sup>J=2.4 Hz, H<sub>14</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 144.84 (C<sub>5</sub>), 133.03 (C<sub>2</sub>), 129.83 (C<sub>3</sub>), 128.00 (C<sub>4</sub>), 76.63 (C<sub>13</sub>), 74.57 (C<sub>14</sub>), 7.075 (C<sub>10</sub>), 70.56 (C<sub>11</sub>), 70.44 (C<sub>8</sub>), 69.24 (C<sub>9</sub>), 69.10 (C<sub>12</sub>), 68.70 (C<sub>7</sub>), 58.40 (C<sub>6</sub>), 21.65 (C<sub>1</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 365.39; (*m/z*) found 365.10.

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>SO

**Rf:** 0.60 (5 % Cyclo/AcOEt)

**M:** 315.35 g.mol<sup>-1</sup>

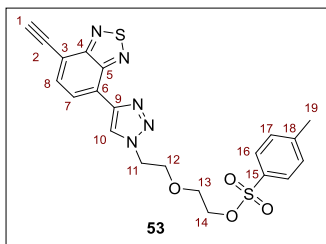
**Aspect:** Brown oil

Compound **52** was obtained following the procedure **A**, starting from **29** (108 mg, 0.59 mmol, 1 eq), **46** (69 mg, 0.53 mmol, 0.9 eq), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (29.3 mg, 0.2 mmol, 0.12 eq), Et<sub>3</sub>N (0.07 mL, 0.53 mmol, 9 eq) and Na ascorbate (52.3 mg, 0.26 mmol, 0.45 eq) in DMF (3 mL), purified with 2% DCM/MeOH as eluent, with 21% yield (43 mg).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 8.83 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 8.46-8.43 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, H<sub>8</sub>), 7.87-7.84 (d, 1H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, H<sub>7</sub>), 4.69-4.66 (t, 2H, <sup>3</sup>J=5.1 Hz, H<sub>14</sub>), 3.99-3.96 (t, 2H, <sup>3</sup>J=5.1 Hz, H<sub>12</sub>), 3.76-3.73 (t, 2H, <sup>3</sup>J=4.5 Hz, H<sub>13</sub>), 3.62-3.59 (m, 3H, H<sub>1</sub>, H<sub>11</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 162.78 (C<sub>4</sub>), 151.50 (C<sub>5</sub>), 134.37 (C<sub>7</sub>), 124.40 (C<sub>8</sub>), 125.09 (C<sub>10</sub>), 124.64 (C<sub>6</sub>), 118.10 (C<sub>9</sub>), 114.55 (C<sub>3</sub>), 83.97 (C<sub>1</sub>), 79.26 (C<sub>2</sub>), 72.63 (C<sub>11</sub>), 69.36 (C<sub>12</sub>), 61.82 (C<sub>13</sub>), 50.45 (C<sub>14</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 316.35; (*m/z*) found 316.10.



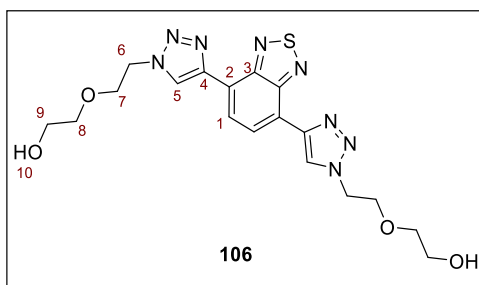
**Chemical Formula:** C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

**Rf:** 0.15 (50 % Cyclo/AcOEt)

**M:** 469.53 g.mol<sup>-1</sup>

Under nitrogen, **52** (100 mg, 0.52 mmol, 1 eq) and Et<sub>3</sub>N.HCl (4.4 mg, 0.03 mmol, 0.1 eq) were dissolved in MeCN (2.5 mL). After cooling to 0°C, Et<sub>3</sub>N (0.1 mL, 0.79 mmol, 2.5 eq) was added. In another flask, p-tsCl (120.9 mg, 0.63 mmol, 2 eq) was dissolved in MeCN (1 mL) and added dropwise to the first mixture and the solution was stirred ON at RT. After evaporation of the solvent at reduce pressure, the crude product was purified on column chromatography (20% → 50% Cyclo/AcOEt) to give **53** as a yellow oil (112 mg, 75%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 8.84 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 8.51-8.49 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=7.5 – 1.0 Hz, H<sub>8</sub>), 7.92-7.89 (d, 1H, <sup>3</sup>J=6.4 Hz, H<sub>7</sub>), 4.64-4.61 (t, 2H, <sup>3</sup>J=5.0 Hz, H<sub>14</sub>), 4.18-4.15 (m, 2H, H<sub>12</sub>), 3.93-3.89 (t, 2H, <sup>3</sup>J=5.0 Hz, H<sub>13</sub>), 3.70-3.67 (m, 2H, H<sub>11</sub>), 3.63 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 2.38 (s, 3H, H<sub>19</sub>).



**Chemical Formula:** C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>N<sub>8</sub>S

**Rf:** 0.30 (10% DCM/MeOH)

**M:** 446.49 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Brown solid

Compound **106** was obtained following the procedure **A**, starting from **29** (20 mg, 0.11 mmol, 1 eq), **47** (35.6 mg, 2.71 mmol, 2.5 eq), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (13.6 mg, 0.05 mmol, 0.5 eq), Et<sub>3</sub>N (0.04 mL, 2.71 mmol, 2.5 eq) and Na ascorbate (26.9 mg, 0.14 mmol, 1.25 eq) in DMF (0.6 mL), purified with 10% DCM/MeOH as eluent, with 45% yield (22 mg).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 8.87 (s, 2H, H<sub>1</sub>), 8.66 (s, 2H, H<sub>5</sub>), 4.73-4.70 (m, 4H, H<sub>6</sub>), 4.02-3.98 (m, 4H, H<sub>7</sub>), 3.77-3.75 (m, 4H, H<sub>9</sub>), 3.65-3.62 (m, 4H, H<sub>8</sub>), 3.49 (s, 2H, H<sub>10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 158.55 (C<sub>3</sub>), 144.16 (C<sub>4</sub>), 130.10 (C<sub>2</sub>), 125.81 (C<sub>5</sub>), 125.00 (C<sub>1</sub>), 72.64 (C<sub>8</sub>), 69.42 (C<sub>7</sub>), 61.83 (C<sub>9</sub>), 50.40 (C<sub>6</sub>).

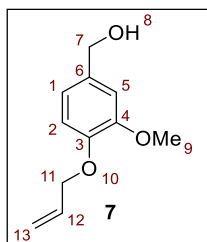
**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 469.14 ; (*m/z*) found 469.14.

**λ<sub>em</sub>:** 515 nm

**Φ<sub>f</sub>:** 0.27

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>

**Rf:** 0.32 (40% Cyclo/AcOEt)

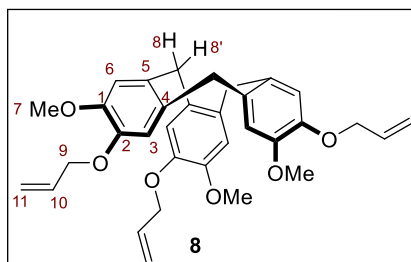
**M:** 194.23 g.mol<sup>-1</sup>

Vanillyl alcohol **6** (20 g, 129.7 mmol, 1 eq) was dissolved in acetone (30 mL) and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20.7 g, 130.9 mmol, 1.01 eq) and allyl bromide (12.3 mL, 142.7 mmol, 1.1 eq) were added. The mixture was stirred for 4.5 h under reflux. The solvent was removed under reduced pressure and DCM was added. The solution was washed with water and the organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub>. The solvent was removed under reduced pressure to give a foam, diluted again in MTBE and crystallized with n-hexane. After filtration, the product **7** is finally obtained as a white crystal (23.8 g, 95%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 6.94 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 6.86 (s, 2H, H<sub>1,2</sub>), 6.15-6.02 (m, 1H, H<sub>12</sub>), 5.40 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=17.3-1.6 Hz, H<sub>13</sub>), 5.28 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=10.5-1.4 Hz, H<sub>13</sub>), 4.63-4.60 (m, 4H, H<sub>7,11</sub>), 3.89 (s, 3H, H<sub>9</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 149.47 (C<sub>3</sub>), 147.37 (C<sub>4</sub>), 134.06 (C<sub>12</sub>), 133.31 (C<sub>6</sub>), 119.27 (C<sub>13</sub>), 117.94 (C<sub>1</sub>), 113.34 (C<sub>5</sub>), 110.85 (C<sub>2</sub>), 69.93 (C<sub>11</sub>), 64.98 (C<sub>7</sub>), 55.84 (C<sub>9</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 217.23 ; (*m/z*) found 217.08.



**Chemical Formula:** C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub>

**Rf:** 0.47 (40% Cyclo/AcOEt)

**M:** 528.64 g.mol<sup>-1</sup>

Compound **7** (15.6 g, 80.0 mmol, 1 eq) was dissolved in MeOH (92 mL). The mixture was cooling down to 0°C, and a precipitate has formed. HClO<sub>4</sub> (60%) (40 mL) is added dropwise. The reaction mixture was allowed to warm up to RT and stirred overnight. A pink precipitate has formed and was next diluted in DCM. The mixture was washed with water 7 times, until it became yellow and with a neutral pH. The organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure to give a yellow foam, diluted in Et<sub>2</sub>O. After 2 hours of stirring, the precipitate was filtrated and dry to give **8** as a white solid (12.51 g, 89%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 6.85 (s, 3H, H<sub>6</sub>), 6.79 (s, 3H, H<sub>3</sub>), 6.12-5.99 (m, 3H, H<sub>10</sub>), 5.40 (dd, 3H, <sup>3</sup>J=17.3-1.7 Hz, H<sub>11</sub>), 5.26 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=10.6-1.5 Hz, H<sub>11</sub>), 4.76 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.8 Hz, H<sub>8</sub>), 3.83 (s, 9H, H<sub>7</sub>), 3.54 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.8 Hz, H<sub>8</sub>').

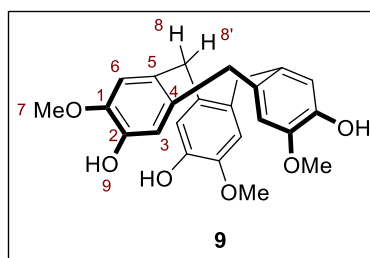
**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 148.20 (C<sub>1</sub>), 146.75 (C<sub>2</sub>), 133.75 (C<sub>10</sub>), 132.33 (C<sub>5</sub>), 131.74 (C<sub>4</sub>), 117.54 (C<sub>11</sub>), 115.54 (C<sub>6</sub>), 113.58 (C<sub>3</sub>), 70.20 (C<sub>9</sub>), 56.11 (C<sub>7</sub>), 36.54 (C<sub>8</sub>)

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 551.63 ; (*m/z*) found 551.24.



## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>

**Rf:** 0.18 (50% Cyclo/AcOEt)

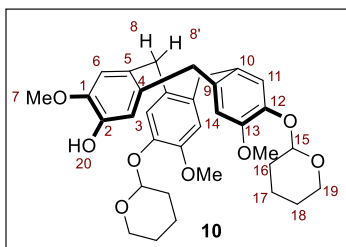
**M:** 408.44 g.mol<sup>-1</sup>

Compound **8** (1.15 g, 2.18 mmol, 1 eq) was dissolved in THF<sub>dry</sub>/H<sub>2</sub>O (35.7 mL/7 mL) under N<sub>2</sub>. Triphenylphosphine (74 mg, 0.28 mmol, 0.13 eq), palladium acetate (II) (20 mg, 0.09 mmol, 0.04 eq) and diethylamine (7 mL, 72.1 mmol, 33 eq) were added and the mixture was stirred for 4 h with reflux. The THF is evaporated under reduced pressure. A lot of AcOEt was added and the solid was triturated and then filtrated. The solid is washed again with AcOEt and the filtrate was washed with water until a neutral pH. The organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure until just 30 mL left. A high quantity of pentane was then added. The formed precipitate was filtrated and dry to give a white powder, **9** (546.6 g, quant.).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 6.88 (s, 3H, H<sub>6</sub>), 6.79 (s, 3H, H<sub>3</sub>), 5.39 (sl, 3H, H<sub>9</sub>), 4.74 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.7 Hz, H<sub>8</sub>), 3.85 (s, 9H, H<sub>7</sub>), 3.52 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.8 Hz, H<sub>8'</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 145.39 (C<sub>1</sub>), 144.27 (C<sub>2</sub>), 132.62 (C<sub>5</sub>), 131.45 (C<sub>4</sub>), 115.58 (C<sub>6</sub>), 112.43 (C<sub>3</sub>), 56.26 (C<sub>7</sub>), 36.45 (C<sub>8</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 431.15; (*m/z*) found 431.15



**Chemical Formula:** C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>O<sub>8</sub>

**Rf:** 0.55 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 576.69 g.mol<sup>-1</sup>

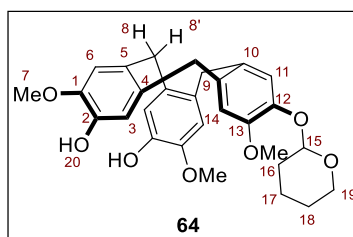
Ceric ammonium nitrate (18 mg, 0.03 mmol, 0.05 eq) was dissolved in MeCN (2.6 mL), helped with ultrasounds bath. **9** (268.5 mg, 0.66 mmol, 1 eq) was dissolved in another flask, in DCM (4.2 mL). The solution with CAN was then add to **9** and the DHP (0.12 mL, 1.31 mmol, 2 eq) was added. The mixture was stirred 30 min at RT. The solution was quenched with H<sub>2</sub>O and extracted with AcOEt three time. The organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (30% → 50% Cyclo/AcOEt) to give **10** as a yellow foam (137.7 mg, 36%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.14-7.10 (m, 2H, H<sub>11</sub>), 6.90-6.88 (dd, 1H, <sup>3</sup>J=4.1-1.3 Hz, H<sub>3</sub>), 6.84-6.83 (m, 2H, H<sub>14</sub>), 6.80-6.79 (d, 1H, <sup>3</sup>J=1.9 Hz, H<sub>6</sub>), 5.41-5.39 (m, 2H, H<sub>15</sub>), 5.19-5.16 (m, 1H, H<sub>20</sub>), 4.74-4.68 (m, 3H, H<sub>8</sub>), 4.05-3.98 (m, 1H, H<sub>15</sub>), 3.86-3.80 (m, 10H, H<sub>7</sub>, <sub>15</sub>), 3.58-3.46 (m, 5H, H<sub>8'</sub>, <sub>15</sub>), 2.04-1.96 (m, 2H, H<sub>16</sub>), 1.91-1.82 (m, 4H, H<sub>17</sub>), 1.68-1.54 (m, 6H, H<sub>18</sub>, <sub>16</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 19.05 (C<sub>16</sub>), 19.65 (C<sub>17</sub>), 25.46 (C<sub>18</sub>), 30.35 (C<sub>17</sub>), 36.28 (C<sub>8</sub>), 56.00 (C<sub>7</sub>), 62.39 (C<sub>19</sub>), 97.14 (C<sub>15</sub>), 112.20 (C<sub>6</sub>), 113.86 (C<sub>14</sub>), 115.47 (C<sub>3</sub>), 118.62 (C<sub>11</sub>), 131.53 (C<sub>1</sub>), 131.57 (C<sub>2</sub>), 131.88 (C<sub>5</sub>), 133.11 (C<sub>12</sub>), 144.00 (C<sub>4</sub>), 144.88 (C<sub>13</sub>), 148.49 (C<sub>9</sub>, <sub>10</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 599.67 ; (*m/z*) found 599.26.

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>

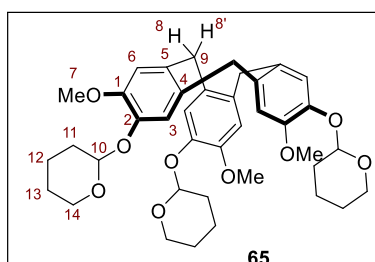
**Rf:** 0.39 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 492.57 g.mol<sup>-1</sup>

The procedure is the same as **10** (238.8 mg, 73%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.11 (s, 1H, H<sub>11</sub>), 6.91-6.79 (m, 5H, H<sub>6, 3, 14</sub>), 5.45-5.41 (m, 2.5H, H<sub>20, 15</sub>), 5.19 (t, 0.5H, <sup>3</sup>J=3.2 Hz, H<sub>15</sub>), 4.73-4.69 (m, 3H, H<sub>8</sub>), 4.01 (m, 0.5H, H<sub>19</sub>), 3.82 (m, 9.5H, H<sub>7, 19</sub>) 3.52-3.48 (m, 4H, H<sub>8', 19</sub>), 3.82 (m, 10H, H<sub>7, H15</sub>), 3.58-3.46 (m, 5H, H<sub>8', 15</sub>), 1.94-1.85 (m, 3H, H<sub>16, 17</sub>), 1.72-1.59 (m, 3H, H<sub>17, 18</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[144]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>39</sub>H<sub>48</sub>O<sub>9</sub>

**Rf:** 0.62 (50% Cyclo/AcOEt)

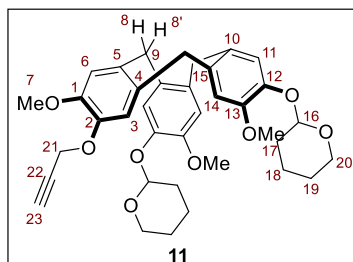
**M:** 660.80 g.mol<sup>-1</sup>

The procedure is the same as **10** (80.3 mg, 18%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.12-7.11 (m, 3H, H<sub>6</sub>), 6.84 (s, 3H, H<sub>3</sub>), 5.42-5.38 (m, 1.5H, H<sub>10</sub>), 5.19-5.18 (m, 1.5H, H<sub>10</sub>), 4.73-4.69 (m, 3H, H<sub>8</sub>), 4.04-3.98 (m, 1.5H, H<sub>14</sub>), 3.83-3.78 (m, 10.5H, H<sub>7, 14</sub>), 3.52-3.48 (m, 6H, H<sub>8', 14</sub>), 1.94-1.79 (m, 9H, H<sub>11, 12, 13</sub>), 1.60-1.49 (m, 9H, H<sub>11, 12, 13</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 145.30 (C<sub>1</sub>), 144.13 (C<sub>2</sub>), 132.47 (C<sub>4</sub>), 131.21 (C<sub>5</sub>), 115.55 (C<sub>6</sub>), 112.31 (C<sub>3</sub>), 94, 67 (C<sub>10</sub>), 63.85 (C<sub>14</sub>), 56.06 (C<sub>7</sub>), 36.28 (C<sub>9</sub>), 30.70 (C<sub>11</sub>), 25.46 (C<sub>13</sub>), 20.27 (C<sub>12</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[144]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>37</sub>H<sub>42</sub>O<sub>8</sub>

**Rf:** 0.49 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 614.74 g.mol<sup>-1</sup>

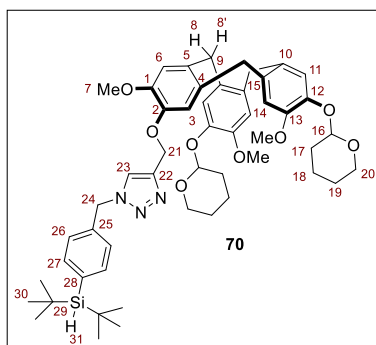
**10** (105.8 mg, 0.18 mmol, 1 eq) was dissolved in MeCN (1.8 mL). Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (167.6 mg, 0.51 mmol, 2.8 eq) and allyl bromide (0.04 mL, 0.55 mmol, 3 eq) were added. The mixture was stirred 2 h at RT. The solvent was removed under reduced pressure and the solid was dissolved in AcOEt. The solution has been washed two times with H<sub>2</sub>O. The aqueous layer was extracted three times with AcOEt and the organics layers were washed another time with brine. The organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (70% Cyclo/AcOEt) to give **11** as a white foam (94 mg, 85%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.16-7.13 (m, 2H, H<sub>14</sub>), 7.02-7.01 (d, 1H, <sup>3</sup>J=4.5 Hz, H<sub>3</sub>), 6.88 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 6.85-6.84 (m, 2H, H<sub>6</sub>), 5.41-5.39 (m, 1H, H<sub>16</sub>), 5.22-5.17 (m, 1H, H<sub>16</sub>), 4.77-4.68 (m, 5H, H<sub>8</sub>, <sub>21</sub>), 4.05-3.98 (m, 1H, H<sub>20</sub>), 3.85-3.78 (m, 11H, H<sub>7</sub>, <sub>20</sub>), 3.58-3.52 (m, 5H, H<sub>8'</sub>, <sub>20</sub>), 2.48 (s, 1H, H<sub>23</sub>), 1.92-1.82 (m, 6H, H<sub>17</sub>, <sub>18</sub>), 1.69-1.57 (m, 6H, H<sub>18</sub>, <sub>19</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 149.05 (C<sub>1</sub>), 148.39 (C<sub>13</sub>), 145.28 (C<sub>12</sub>), 144.94 (C<sub>2</sub>), 133.77 (C<sub>5</sub>), 133.13 (C<sub>4</sub>), 132.22 (C<sub>10</sub>), 131.54 (C<sub>15</sub>), 119.76 (C<sub>14</sub>), 116.53 (C<sub>3</sub>), 114.69 (C<sub>6</sub>), 113.42 (C<sub>11</sub>), 97.19 (C<sub>16</sub>), 79.12 (C<sub>22</sub>), 75.73 (C<sub>23</sub>), 62.24 (C<sub>20</sub>), 57.05 (C<sub>21</sub>), 56.19 (C<sub>7</sub>), 36.44 (C<sub>9</sub>), 30.50 (C<sub>17</sub>), 25.31 (C<sub>19</sub>), 18.96 (C<sub>18</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 637.28 ; (*m/z*) found 637.28.

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>52</sub>H<sub>67</sub>O<sub>8</sub>N<sub>3</sub>Si

**Rf:** 0.62 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 890.21 g.mol<sup>-1</sup>

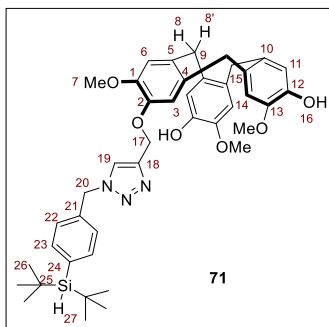
**Aspect:** white crystal

Compound **70** was obtained following the procedure **A**, starting from **11** (205.8 mg, 0.33 mmol, 1 eq), **43** (277 mg, 1 mmol, 3 eq), CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (33.4 mg, 0.13 mmol, 0.4 eq), Et<sub>3</sub>N (0.09 mL, 0.67 mmol, 2 eq) and Na ascorbate (57.9 mg, 0.3 mmol, 0.9 eq) in DMF (5.7 mL), purified with 80% Cyclo/AcOEt as eluent, with 73% yield (215.9 mg).

**NMR <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.57-7.54 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, H<sub>27</sub>), 7.50 (s, 1H, H<sub>23</sub>), 7.20-7.17 (d, 2H, <sup>3</sup>J=7.8 Hz, H<sub>26</sub>), 7.13-7.10 (m, 2H, H<sub>11</sub>), 7.03-7.02 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 6.84 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.83- 6.81 (m, 2H, H<sub>14</sub>), 5.54-5.39 (m, 2H, H<sub>21</sub>), 5.41-5.39 (m, 1H, H<sub>16</sub>), 5.23-5.24 (d, 2H, <sup>3</sup>J=2.3 Hz, H<sub>24</sub>), 5.21-5.16 (m, 1H, H<sub>16</sub>), 4.72-4.67 (m, 3H, H<sub>8</sub>), 4.04-3.97 (m, 1H, H<sub>20</sub>), 3.85-3.79 (m, 11H, H<sub>7</sub>, <sub>31</sub>, <sub>20</sub>), 3.57-3.49 (m, 5H, H<sub>8'</sub>, <sub>20</sub>), 2.00-1.85 (m, 6H, H<sub>17</sub>, <sub>18</sub>), 1.68-1.62 (m, 6H, H<sub>18</sub>, <sub>19</sub>), 1.02 (s, 18H, H<sub>30</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (100.2 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 149.31 (C<sub>22</sub>), 149.03 (C<sub>1</sub>), 148.44 (C<sub>13</sub>), 145.06 (C<sub>2</sub>), 144.97 (C<sub>12</sub>), 136.45 (C<sub>27</sub>), 135.00 (C<sub>25</sub>), 133.27 (C<sub>5</sub>), 133.14 (C<sub>4</sub>), 131.86 (C<sub>10</sub>), 131.66 (C<sub>15</sub>), 131.45 (C<sub>28</sub>), 127.12 (C<sub>26</sub>), 123.02 (C<sub>23</sub>), 119.10 (C<sub>3</sub>), 115.86 (C<sub>11</sub>), 114.32 (C<sub>6</sub>), 114.07 (C<sub>14</sub>), 97.98 (C<sub>16</sub>), 63.56 (C<sub>24</sub>), 62.20 (C<sub>20</sub>), 55.78 (C<sub>7</sub>), 55.78 (C<sub>21</sub>), 36.34 (C<sub>9</sub>), 30.48 (C<sub>17</sub>), 28.87 (C<sub>30</sub>), 25.31 (C<sub>19</sub>), 21.06 (C<sub>18</sub>), 18.99 (C<sub>29</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 912.46; (*m/z*) found 912.46.



**Chemical Formula:** C<sub>42</sub>H<sub>51</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>Si

**Rf:** 0.30 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 721.97 g.mol<sup>-1</sup>

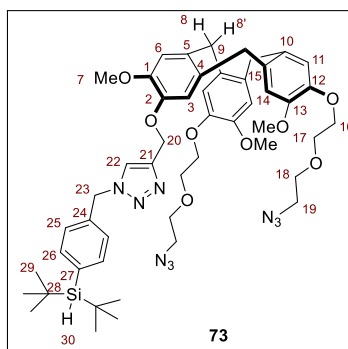
**70** (49 mg, 0.05 mmol, 1 eq) was dissolved in MeOH (1.4 mL) and HCl 1M (0.07 mL) was added carefully. The mixture was stirred 1 h at RT. The solvent was removed under reduced pressure and H<sub>2</sub>O was added extracted by AcOEt three times. The organic layer has been then washed by brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (70% Cyclo/AcOEt) to give **71** as white crystal (25.9 mg, 72%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.55–7.52 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.1 Hz, H<sub>23</sub>), 7.48 (s, 1H, H<sub>19</sub>), 7.17–7.14 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8 Hz, H<sub>22</sub>), 7.02 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.87 (s, 2H, H<sub>11</sub>), 6.79 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 6.78–6.77 (d, 2H, <sup>3</sup>J=1.8 Hz, H<sub>14</sub>), 5.58 (sl, 2H, H<sub>16</sub>), 5.49–5.30 (q, 2H, <sup>3</sup>J=14.9–27.8 Hz, H<sub>17</sub>), 5.23 (s, 2H, H<sub>20</sub>), 4.69–4.65 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.7 Hz, H<sub>8</sub>), 3.86–3.78 (m, 9H, H<sub>7</sub>), 3.84 (s, 1H, H<sub>26</sub>), 3.50–3.45 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.8 Hz, H<sub>8'</sub>), 1.01 (s, 18H, H<sub>25</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 148.11 (C<sub>13</sub>), 140.19 (C<sub>12</sub>), 145.42 (C<sub>1</sub>), 149.35 (C<sub>18</sub>), 144.22 (C<sub>2</sub>), 136.47 (C<sub>23</sub>), 139.95 (C<sub>21</sub>), 132.91 (C<sub>5</sub>), 132.41 (C<sub>15</sub>), 131.85 (C<sub>10</sub>), 131.62 (C<sub>24</sub>), 131.18 (C<sub>4</sub>), 127.13 (C<sub>22</sub>), 123.10 (C<sub>19</sub>), 115.95 (C<sub>3</sub>), 115.58 (C<sub>11</sub>), 113.44 (C<sub>14</sub>), 112.33 (C<sub>6</sub>), 63.36 (C<sub>20</sub>), 56.03 (C<sub>7</sub>), 54.08 (C<sub>17</sub>), 36.34 (C<sub>9</sub>), 29.73 (C<sub>26</sub>), 19.01 (C<sub>25</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 744.87 ; (*m/z*) found 744.34.

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>50</sub>H<sub>65</sub>O<sub>8</sub>N<sub>9</sub>Si

**Rf:** 0.30 (50% Cyclo/AcOEt)

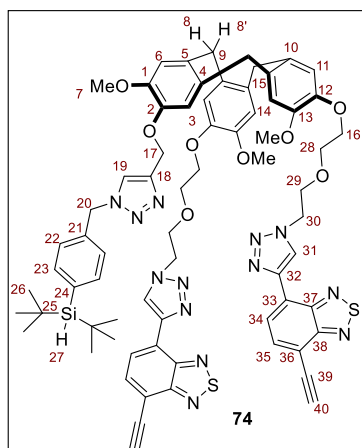
**M:** 948.21 g.mol<sup>-1</sup>

**71** (13.2 mg, 0.02 mmol, 1 eq) and Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (54 mg, 0.16 mmol, 9 eq) were dissolved in DMF<sub>dry</sub> (0.7 mL) under nitrogen and stirred 30 min at RT. TBAI (61 mg, 0.16 mmol, 9 eq) dissolved in DMF<sub>dry</sub> was then added and the mixture was stirred 30 min at RT. **47** (47 mg, 0.16 mmol, 9 eq) was added and the total was stirred ON at RT. The solution was then quenched with NH<sub>4</sub>Cl and extracted three times with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (60% → 50% → 40% Cyclo/AcOEt) to give **73** as white crystal (17.5 mg, 92%).

**NMR <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.57-7.54 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.1 Hz, H<sub>26</sub>), 7.51 (s, 1H, H<sub>22</sub>), 7.20-7.17 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, H<sub>25</sub>), 7.07 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.90 (s, 2H, H<sub>11</sub>), 6.83 (d, 2H, <sup>3</sup>J=2.0 Hz, H<sub>14</sub>), 6.81 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.54-5.37 (q, 2H, <sup>3</sup>J=14.9-20.2 Hz, H<sub>20</sub>), 5.24 (s, 2H, H<sub>23</sub>), 4.76-4.69 (m, 3H, H<sub>8</sub>), 4.19-34.07 (m, 4H, H<sub>16</sub>), 3.85-3.80 (m, 14H, H<sub>7</sub>, <sub>17</sub>, <sub>30</sub>), 3.74-3.70 (m, 4H, H<sub>18</sub>), 3.56-3.49 (m, 3H, H<sub>8'</sub>), 3.37-3.34 (m, 4H, H<sub>19</sub>), 1.02 (s, 18H, H<sub>29</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (100.2MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 148.45 (C<sub>12</sub>), 148.18 (C<sub>13</sub>), 146.77 (C<sub>1</sub>), 146.39 (C<sub>21</sub>), 144.94 (C<sub>2</sub>), 136.47 (C<sub>26</sub>), 134.93 (C<sub>24</sub>), 133.10 (C<sub>5</sub>), 132.96 (C<sub>15</sub>), 132.89 (C<sub>10</sub>), 131.84 (C<sub>27</sub>), 131.62 (C<sub>4</sub>), 127.12 (C<sub>25</sub>), 123.04 (C<sub>22</sub>), 116.63 (C<sub>14</sub>), 116.04 (C<sub>3</sub>), 113.94 (C<sub>11</sub>), 113.49 (C<sub>6</sub>), 70.28 (C<sub>16</sub>), 69.77 (C<sub>17</sub>), 69.24 (C<sub>18</sub>), 63.50 (C<sub>23</sub>), 56.36 (C<sub>7</sub>), 54.13 (C<sub>20</sub>), 50.71 (C<sub>19</sub>), 36.47 (C<sub>9</sub>), 31.94 (C<sub>29</sub>), 14.13 (C<sub>28</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 970.21 ; (*m/z*) found 970.46.



**Chemical Formula:** C<sub>70</sub>H<sub>73</sub>O<sub>8</sub>N<sub>13</sub>S<sub>2</sub>Si

**Rf:** 0.40 (30% Cyclo/AcOEt)

**M:** 1316.64 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Brown solid

Compound **74** was obtained following the procedure **A**, starting from **73** (71.2 mg, 0.075 mmol, 1 eq), **29** (124.5 mg, 0.68 mmol, 9 eq), CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (16.9 mg, 0.068 mmol, 0.9 eq), Et<sub>3</sub>N (0.09 mL, 0.68 mmol, 9 eq) and Na ascorbate (36.1 mg, 0.19 mmol, 2.5 eq) in DMF (1.5 mL), purified with 50% → 40% Cyclo/AcOEt as eluent, with 53% yield (53 mg).

**NMR <sup>1</sup>H (600MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 8.85 (s, 2H, H<sub>31</sub>), 8.47-8.44 (dd, 2H, <sup>3</sup>J=7.4-1.3 Hz, H<sub>34</sub>), 7.87-7.84 (dd, 2H, <sup>3</sup>J=7.4-2.2 Hz, H<sub>35</sub>), 7.55-7.53 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.1 Hz, H<sub>23</sub>), 7.49 (s, 1H, H<sub>19</sub>), 7.18-7.15 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.0 Hz, H<sub>22</sub>), 7.03 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.73 (s, 2H, H<sub>11</sub>), 6.72-6.70 (d, 2H, <sup>3</sup>J=7.5 Hz, H<sub>14</sub>), 6.58 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.50-5.36 (q, 2H, <sup>3</sup>J=15.0-13.4 Hz, H<sub>17</sub>), 5.16 (s, 2H, H<sub>20</sub>), 4.66-4.61 (m, 7H, H<sub>8</sub>, <sub>30</sub>), 4.04-3.98 (m, 8H, H<sub>16</sub>, <sub>29</sub>), 3.85-3.80 (m, 5H, H<sub>27</sub>, <sub>28</sub>), 3.77 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.72 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.59 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.49-3.31 (m, 5H, H<sub>8</sub>, <sub>40</sub>), 1.01 (s, 18H, H<sub>26</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (150.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 160.43 (C<sub>38</sub>), 151.19 (C<sub>37</sub>), 148.65 (C<sub>12</sub>), 148.29 (C<sub>13</sub>), 146.58 (C<sub>1</sub>), 146.49 (C<sub>18</sub>), 144.85 (C<sub>2</sub>), 136.45 (C<sub>23</sub>), 134.95 (C<sub>21</sub>), 134.20 (C<sub>35</sub>), 133.08 (C<sub>5</sub>), 132.84 (C<sub>15</sub>), 132.72 (C<sub>10</sub>), 131.64 (C<sub>24</sub>), 131.39 (C<sub>4</sub>), 127.08 (C<sub>22</sub>), 125.72 (C<sub>31</sub>), 124.65 (C<sub>33</sub>), 123.01 (C<sub>19</sub>), 118.41 (C<sub>32</sub>), 116.09 (C<sub>14</sub>), 115.95 (C<sub>3</sub>), 114.18 (C<sub>36</sub>), 113.63 (C<sub>11</sub>), 113.51 (C<sub>6</sub>), 83.79 (C<sub>40</sub>), 79.53 (C<sub>39</sub>), 69.94 (C<sub>16</sub>), 69.88 (C<sub>28</sub>), 69.52 (C<sub>29</sub>), 63.51 (C<sub>20</sub>), 56.18 (C<sub>7</sub>), 54.09 (C<sub>17</sub>), 50.47 (C<sub>30</sub>), 36.36 (C<sub>9</sub>), 28.86 (C<sub>26</sub>), 22.70 (C<sub>25</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 1339.54; (*m/z*) found 1338.48.

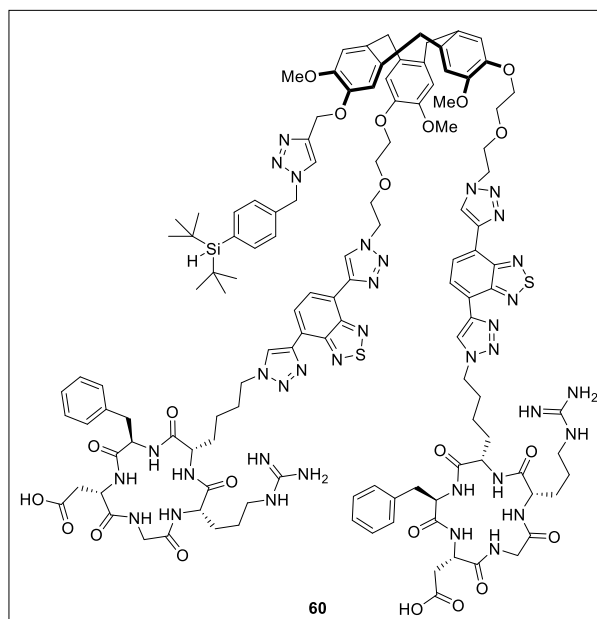
**λ<sub>abs</sub>:** 377 nm

**λ<sub>em</sub>:** 463 nm

**Φ<sub>f</sub>:** 0.33 (cyclohexane)

**ε:** 15,9.10<sup>3</sup> M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>





**Chemical Formula:** C<sub>124</sub>H<sub>151</sub>O<sub>22</sub>N<sub>35</sub>S<sub>2</sub>Si

**R<sub>f</sub>:** 0.62 (80% H<sub>2</sub>O/MeCN)

**M:** 2576 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Yellow crystal

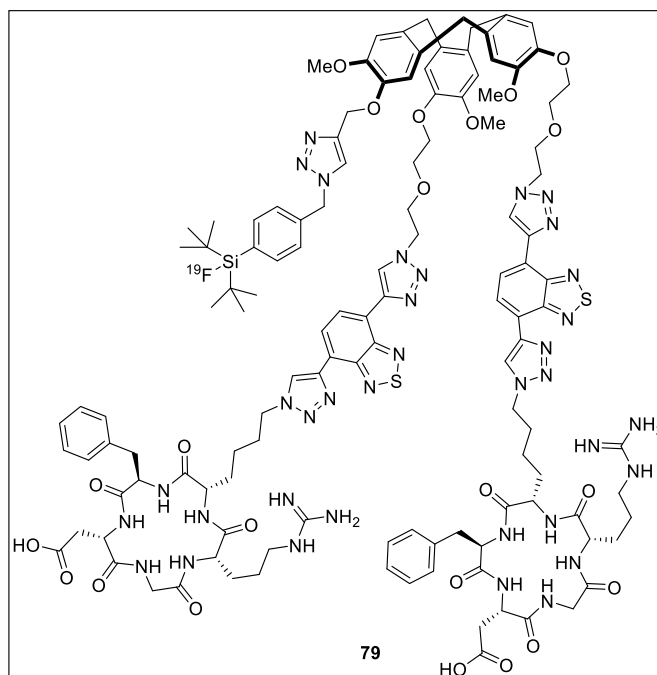
Compound **60** was obtained following the procedure **B**, starting from **73** (53 mg, 0.04 mmol, 1 eq), RGD<sub>N3</sub> (228 mg, 0.36 mmol, 9 eq), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (20.1 mg, 0.08 mmol, 2 eq), Et<sub>3</sub>N (0.05 mL, 0.36 mmol, 9 eq) and Na ascorbate (35.9 mg, 0.18 mmol, 4.5 eq) in DMF (4.8 mL), purified with HPLC method **a**, with 21% yield (21.2 mg).

**HRMS (MALDI):** [M] (*m/z*) calculated 2576; (*m/z*) found 2576.

**λ<sub>abs</sub>:** 400 nm

**λ<sub>em</sub>:** 520 nm

**Φ<sub>f</sub>:** 0.11 (70/30 MeCN/H<sub>2</sub>O 0.1% TFA)



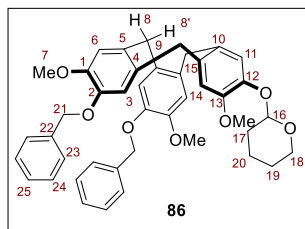
**Chemical Formula:** C<sub>124</sub>H<sub>150</sub>FO<sub>22</sub>N<sub>35</sub>S<sub>2</sub>Si

**M:** 2593.99 g.mol<sup>-1</sup>

In a celled tube, **60** (5.72 mg, 0.002 mmol, 1 eq), KF (1.2 mg, 0.02 mmol, 9 eq) and kryptofix[2,2,2] (7.5 mg, 0.02 mmol, 9 eq) were dissolved in DMSO (0.03 mL) under nitrogen. Acetic Acid (0.01 mL, 0.024 mmol, 11 eq) was added. Th solution was stirred overnight at 72°C. The advance of the reaction was followed by HPLC. H<sub>2</sub>O was added. A Sep Pack C18 has been conditioned, and the crude solution was filtered. The Sep Pack has been washed with water, Et<sub>2</sub>O and a mixture of 60 MeCN/40% H<sub>2</sub>O. Every solvent was collected in different pillbox and evaporated. A purification on HPLC has been done to obtain **79** as a yellow solid.

**HRMS (MALDI):** [M] (*m/z*) calculated 2594.1; (*m/z*) found 2594.2.

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>43</sub>H<sub>44</sub>O<sub>7</sub>

**Rf:** 0.82 (50% Cyclo/AcOEt)

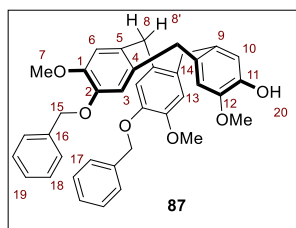
**M:** 672.82 g.mol<sup>-1</sup>

**64** (174 mg, 0.35 mmol, 1 eq) was dissolved in acetone (1.1 mL). K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (498 mg, 3.15 mmol, 9 eq) and Benzyl bromide (0.37 mL, 3.15 mmol, 9 eq) were added and the solution was stirred 48 h at RT. The mixture was filtrated, and the solvent was removed under reduce pressure. After a purification by column chromatography (30% Cyclo/AcOEt) **86** was obtained as a transparent oil (223.1 mg, 95%).

**NMR <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.42-7.28 (m, 10H, H<sub>23</sub>, 24, 25), 7.13-7.12 (d, 1H, <sup>3</sup>J=2.2 Hz, H<sub>11</sub>), 6.85-6.83 (m, 3H, H<sub>6</sub>, 14), 6.67-6.65 (m, 2H, H<sub>3</sub>), 5.19-5.16 (m, 1H, H<sub>16</sub>), 5.12-5.09 (m, 4H, H<sub>21</sub>), 4.73-4.68 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.7 Hz, H<sub>8</sub>), 3.85 (m, 3H, H<sub>7</sub>), 3.70 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.66 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.57-3.50 (dd, 2H, <sup>3</sup>J=13.6-5.8 Hz, H<sub>20</sub>), 3.48-3.43 (d, 3H, H<sub>8</sub>'), 1.90-1.83 (m, 2H, H<sub>17</sub>), 1.70-1.61 (m, 4H, H<sub>20</sub>, 19).

**NMR <sup>13</sup>C (100.2 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 149.09 (C<sub>13</sub>), 148.031 (C<sub>1</sub>), 147.15 (C<sub>12</sub>), 145.21 (C<sub>2</sub>), 137.50 (C<sub>22</sub>), 133.62 (C<sub>5</sub>), 132.90 (C<sub>4</sub>), 132.12 (C<sub>10</sub>), 131.24 (C<sub>15</sub>), 128.64 (C<sub>24</sub>), 127.88 (C<sub>25</sub>), 126.96 (C<sub>23</sub>), 119.95 (C<sub>11</sub>), 116.15 (C<sub>6</sub>), 114.28 (C<sub>3</sub>), 113.69 (C<sub>14</sub>), 97.11 (C<sub>16</sub>), 71.57 (C<sub>21</sub>), 62.26 (C<sub>18</sub>), 56.58 (C<sub>7</sub>), 36.51 (C<sub>9</sub>), 30.53 (C<sub>17</sub>), 25.35 (C<sub>19</sub>), 19.00 (C<sub>20</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 695.72 ; (*m/z*) found 695.30.



**Chemical Formula:** C<sub>38</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub>

**Rf:** 0.72 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 588.70 g.mol<sup>-1</sup>

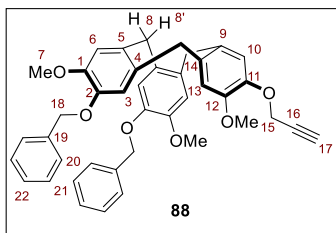
**86** (98.4 mg, 0.15 mmol, 1 eq) was dissolved in MeOH (2.8 mL) and HCl 1M (0.14 mL) was added carefully. The mixture was stirred 1 h at RT. The solvent was removed under reduced pressure and H<sub>2</sub>O was added extracted by AcOEt three times. The organic layer has been then washed by brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (20% Cyclo/AcOEt) to give **87** as transparent oil (100 mg, 100%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.42-7.28 (m, 10H, H<sub>17, 18, 19</sub>), 6.89 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 6.84-6.83 (d, 2H, <sup>3</sup>J=3.1 Hz, H<sub>6</sub>), 6.80 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 6.66 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.58 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 5.36 (s, 1H, H<sub>20</sub>), 5.12-5.09 (m, 4H, H<sub>15</sub>), 4.72-4.67 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.6 Hz, H<sub>8</sub>), 3.87 (m, 3H, H<sub>7</sub>), 3.68 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.67 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.53-3.41 (m, 3H, H<sub>8</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 148.42 (C<sub>12</sub>), 147.08 (C<sub>1</sub>), 144.16 (C<sub>2</sub>), 141.63 (C<sub>11</sub>), 137.40 (C<sub>16</sub>), 132.71 (C<sub>5</sub>), 132.17 (C<sub>14</sub>), 131.69 (C<sub>9</sub>), 130.95 (C<sub>4</sub>), 128.54 (C<sub>18</sub>), 127.76 (C<sub>19</sub>), 126.80 (C<sub>17</sub>), 116.09 (C<sub>13</sub>), 114.60 (C<sub>10</sub>), 113.78 (C<sub>6</sub>), 112.20 (C<sub>3</sub>), 71.57 (C<sub>15</sub>), 56.26 (C<sub>7</sub>), 36.32 (C<sub>8</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 611.24 ; (*m/z*) found 611.24.

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>41</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub>

**Rf:** 0.78 (38% Cyclo/AcOEt)

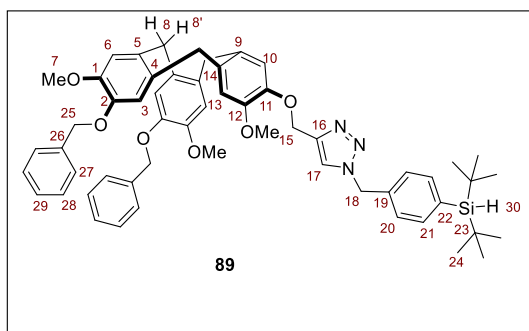
**M:** 626.75 g.mol<sup>-1</sup>

**87** (307.2 mg, 0.52 mmol, 1 eq) was dissolved in MeCN (5.2 mL). Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (187 mg, 0.63 mmol, 1.1 eq) and allyl bromide (0.05 mL, 0.63 mmol, 1.2 eq) were added. The mixture was stirred 4 h at RT. The solvent was removed under reduced pressure and the solid was dissolved in AcOEt. The solution has been washed two times with H<sub>2</sub>O. The aqueous layer was extracted three times with AcOEt and the organics layers were washed another time with brine. The organic phase was dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (70% Cyclo/AcOEt) to give **88** as a white oil (141.8 mg, 44%).

**NMR <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.43-7.28 (m, 10H, H<sub>20</sub>, H<sub>21</sub>, H<sub>22</sub>), 7.01 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 6.89 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 6.85 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.82 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.68 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 6.64 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.36 (s, 1H, H<sub>20</sub>), 5.12-5.09 (m, 4H, H<sub>15</sub>), 4.72-4.67 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.6 Hz, H<sub>8</sub>), 3.87 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.68 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.67 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.53-3.41 (m, 3H, H<sub>8</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (100.2 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 148.47 (C<sub>11</sub>), 147.14 (C<sub>1</sub>), 147.14 (C<sub>12</sub>), 145.37 (C<sub>2</sub>), 137.57 (C<sub>19</sub>), 133.32 (C<sub>9</sub>), 132.65 (C<sub>14</sub>), 132.65 (C<sub>5</sub>), 131.61 (C<sub>4</sub>), 128.60 (C<sub>11</sub>), 127.83 (C<sub>22</sub>), 126.97 (C<sub>20</sub>), 116.58 (C<sub>3</sub>), 116.04 (C<sub>10</sub>), 114.85 (C<sub>6</sub>), 113.85 (C<sub>6</sub>), 113.56 (C<sub>13</sub>), 79.04 (C<sub>16</sub>), 75.74 (C<sub>17</sub>), 71.57 (C<sub>18</sub>), 57.01 (C<sub>15</sub>), 56.40 (C<sub>7</sub>), 56.28 (C<sub>7</sub>), 56.09 (C<sub>7</sub>), 36.53 (C<sub>8</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 649.26 ; (*m/z*) found 659.25.



**Chemical Formula:** C<sub>56</sub>H<sub>63</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>Si

**Rf:** 0.18 (70% Cyclo/AcOEt)

**M:** 902.22 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** white crystal

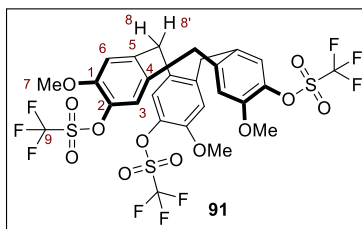
Compound **89** was obtained following the procedure **A**, starting from **88** (75.2 mg, 0.12 mmol, 1 eq), **43** (36.1 mg, 1.32 mmol, 1.1 eq), CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (6 mg, 0.02 mmol, 0.2 eq), Et<sub>3</sub>N (0.015 mL, 0.11 mmol, 0.9 eq) and Na ascorbate (10 mg, 0.5 mmol, 0.45 eq) in DMF (2.1 mL), purified with 70% Cyclo/AcOEt as eluent, to obtain **89** with 74% yield (78.5 mg).

**NMR <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.58-7.56 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.2 Hz, H<sub>20</sub>), 7.50 (s, 1H, H<sub>17</sub>), 7.44-7.28 (m, 10H, H<sub>27</sub>, 28, 29), 7.21-7.18 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.2 Hz, H<sub>19</sub>), 7.07 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 6.86 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 6.85 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.82 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.67 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 6.62 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.54-5.35 (m, 2H, H<sub>15</sub>), 5.25-5.10 (dd, 4H, <sup>3</sup>J=8.6-4.1 Hz, H<sub>25</sub>), 4.72-4.67 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.8 Hz, H<sub>8</sub>), 3.91 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.86 (s, 1H, H<sub>24</sub>), 3.70 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.64 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.55-3.41 (m, 3H, H<sub>8</sub>).

**HRMS (ESI):** [M] (*m/z*) calculated 902.22; (*m/z*) found 902.45.

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>27</sub>H<sub>21</sub>F<sub>9</sub>O<sub>12</sub>S<sub>3</sub>

**Rf:** 0.86 (50% Cyclo/AcOEt)

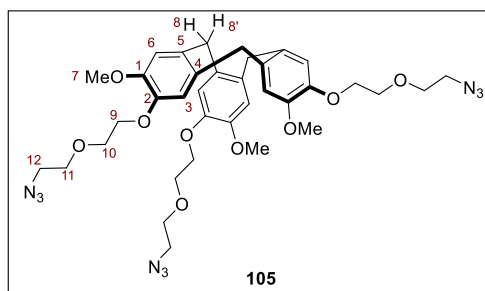
**M:** 804.62 g.mol<sup>-1</sup>

Compound **9** (100 mg, 0.24 mmol, 1 eq) was dissolved in DCM<sub>dry</sub> (0.7 mL) under N<sub>2</sub>. Et<sub>3</sub>N (0.2 mL, 1.44 mmol, 6 eq) was added and the solution was cooled down to 0°C. Trifluoromethane sulfonic anhydride (0.4 mL, 2.16 mmol, 9 eq) was added dropwise, and the mixture was stirred 30 min at RT. H<sub>2</sub>O was added to quench, and the solution was extracted two times with AcOEt. The organic phase was washed until neutral pH. The solvent was evaporated under reduced pressure and the crude product was purified on column chromatography (55% Cyclo/AcOEt) to give **91** as a white solid (123.2 mg, 64%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 6.88 (s, 3H, H<sub>6</sub>), 6.79 (s, 3H, H<sub>3</sub>), 5.39 (sl, 3H, H<sub>9</sub>), 4.74 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.7 Hz, H<sub>8</sub>), 3.85 (s, 9H, H<sub>7</sub>), 3.52 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.8 Hz, H<sub>8</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 150.66 (C<sub>1</sub>), 140.88 (C<sub>2</sub>), 137.90 (C<sub>5</sub>), 131.67 (C<sub>4</sub>), 124.29 (C<sub>3</sub>), 119.28 (C<sub>9</sub>), 115.01 (C<sub>6</sub>), 56.81 (C<sub>7</sub>), 36.70 (C<sub>8</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Mg]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 825.92; (*m/z*) found 826.99.



**Chemical Formula:** C<sub>36</sub>H<sub>45</sub>O<sub>9</sub>N<sub>9</sub>

**Rf:** 0.45 (50% Cyclo/AcOEt)

**M:** 747.81 g.mol<sup>-1</sup>

**9** (20 mg, 0.05 mmol, 1 eq) and Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (143.4 mg, 0.44 mmol, 9 eq) were dissolved in DMF<sub>dry</sub> (1 mL) under nitrogen and stirred 30 min at RT. TBAI (162.7 mg, 0.44 mmol, 9 eq) dissolved in DMF<sub>dry</sub> (1mL) was then added and the mixture was stirred 30 min at RT. **47** (125.7 mg, 0.44 mmol, 9 eq) was added and the total was stirred ON at RT. The solution was then quenched with NH<sub>4</sub>Cl and extracted three times with AcOEt, dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (60% → 50% → 40% Cyclo/AcOEt) to give **105** as white solid (26 mg, 70%).

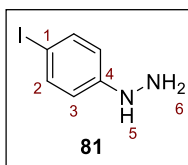
**NMR** <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 6.91 (s, 3H, H<sub>3</sub>), 6.83 (s, 3H, H<sub>6</sub>), 4.76-4.72 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.7 Hz, H<sub>8</sub>), 4.19-4.10 (m, 6H, H<sub>9</sub>), 3.85-3.82 (m, 15H, H<sub>7,10</sub>), 3.74-3.70 (t, 6H, <sup>3</sup>J=5.0 Hz, H<sub>11</sub>), 3.56-3.51 (d, 3H, <sup>3</sup>J=13.8 Hz, H<sub>8'</sub>), 3.37-3.34 (m, 6H, H<sub>12</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 769.81 ; (*m/z*) found 770.32.



## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>IN<sub>2</sub>

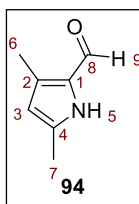
**Rf:** 0.75 (40% Cyclo/AcOEt)

**M:** 234.04 g.mol<sup>-1</sup>

p-iodoaniline (300 mg, 1.37 mmol, 1 eq) was dissolved in HCl 20% (1.8 mL) and cooled down to 0°C. In another flask, NaNO<sub>2</sub> (79 mg, 1.41 mmol, 1.03 eq) was dissolved in H<sub>2</sub>O (2.76 mL) and added dropwise with a dropping funnel. The solution was stirred 1h30 at 0°C. In another flask, SnCl<sub>2</sub> (623 mg, 3.29 mmol, 2.4 eq) was dissolved in HCl 37% (1.2 mL) and added dropwise to the first solution, still at 0°C. The mixture was stirred 1h at 0°C. The formatted precipitate was filtrated on Büchner and dissolved in NaOH 1M (10 mL). The solution was extracted three time with DCM, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure. The crude product was purified on column chromatography (40% Cyclo/AcOEt) to obtain **81** as a brown solid (216.2 mg, 67%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.53-7.50 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8.9 Hz, H<sub>2</sub>), 6.66-6.63 (d, 2H, <sup>3</sup>J=9.0 Hz, H<sub>3</sub>), 5.22 (sl, 1H, H<sub>5</sub>), 3.58 (sl, 2H, H<sub>6</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[164]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO

**Rf:** 0.39 (20% Cyclo/AcOEt)

**M:** 123.07 g.mol<sup>-1</sup>

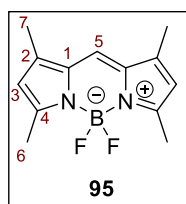
DMF<sub>dry</sub> (0.9 mL) was put in a flask under nitrogen at 0°C. POCl<sub>3</sub> was added dropwise. After stirring 15 min at RT, a solid was formed and dissolved with the ultrasound bath. After cooling again to 0°C, dichloroethane (5 mL, 62.4 mmol, 6.6 eq) was added. In another flask, 2,4-dimethyl-1H-pyrrole (1 mL, 9.5 mmol, 1 eq) was dissolved in dichloroethane (9 mL, 112 mmol, 11.8 eq) and added dropwise to the first mixture. The solution was stirred 30 min at 85 °C and cooled down to RT. NaOAc (4.3 g, 52 mmol, 5.5 eq) dissolved in H<sub>2</sub>O (18 mL) was added and the whole was stirred 30 min under reflux. H<sub>2</sub>O was added and the solution was washed with Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> two times and NaCl one time. The organic phase was dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. After a column chromatography (20% CYclo/AcOEt), **94** was obtained as a gray solid (864.1 mg, 74%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 9.49 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 9.13 (sl, 1H, H<sub>5</sub>), 5.86-5.85 (d, 1H, <sup>3</sup>J=4.1 Hz, H<sub>3</sub>), 2.32 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 2.28 (s, 3H, H<sub>6</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 124.07; (*m/z*) found 124.08.

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[160]</sup>

## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

**Rf:** 0.76 (20% Cyclo/AcOEt)

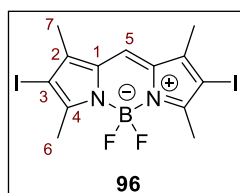
**M:** 248.08 g.mol<sup>-1</sup>

**94** (864.1 mg, 7.02 mmol, 1 eq) was dissolved in DCM<sub>dry</sub> (35.1 mL) under nitrogen and cooled down to 0°C. POCl<sub>3</sub> (0.92 mL, 9.8 mmol, 1.4 eq) was added dropwise and the mixture was stirred ON at RT. After the night, the flask was cooled down again to 0°C and Et<sub>3</sub>N (4.9 mL, 35.1 mmol, 5 eq) was added dropwise. After 15 min of stirring at RT, the solution was again put to 0°C and BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub> (5.3 mL, 56.2 mmol, 8 eq) was added dropwise. The mixture was stirred ON at RT and then filtrated on silica, washed with DCM and the solvent was removed under reduce pressure. DCM and H<sub>2</sub>O were added, and the solution was stirred 3 days at RT. The mixture was extracted and washed with NaCl, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure. The crude product was purified on column chromatography (10% → 20% Cyclo/AcOEt) to give **95** as an orange solid (353 mg, 20%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.04 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 6.05 (s, 2H, H<sub>3</sub>), 2.53 (s, 3H, H<sub>6</sub>), 2.25 (s, 3H, H<sub>7</sub>).

**HRMS (FI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 248.12 ; (*m/z*) found 248.13.

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[160]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>BF<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

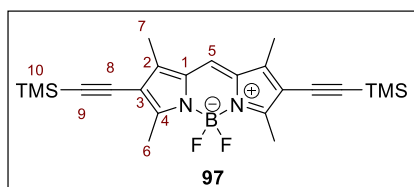
**Rf:** 0.61 (50% Cyclo/DCM)

**M:** 440.49 g.mol<sup>-1</sup>

**95** (100 mg, 0.4 mmol, 1 eq) and NIS (200 mg, 0.89 mg, 2.2 eq) were dissolved in DCM (40 mL) and the mixture was stirred 1h at RT and H<sub>2</sub>O was added. The solution was extracted with DCM, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure. After a column chromatography (50% Cyclo/DCM) **96** was obtain as an orange solid (65.3 mg, 33%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.11 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 2.59 (s, 6H, H<sub>6</sub>), 2.23 (s, 6H, H<sub>7</sub>).

**Spectroscopic data are the same as in the literature**<sup>[165]</sup>



**Chemical Formula:** C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>BF<sub>2</sub>I<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

**Rf:** 0.67 (50% Cyclo/DCM)

**M:** 499.88 g.mol<sup>-1</sup>

**96** (26.6 mg, 0.05 mmol, 1 eq), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (3.7 mg, 0.0053 mmol, 0.1 eq), CuI (1.3 mg, 0.0007 mmol, 0.13 eq), TMSA (0.022 mL, 0.16 mmol, 3 eq) and Et<sub>3</sub>N (1.18 mL) were dissolved in THF<sub>dry</sub> (1.2 mL) under nitrogen and stirred at 55°C 5h. The solvent was removed under reduce pressure and H<sub>2</sub>O was added. The solution was extracted three time with AcOEt, dried with MgSO<sub>4</sub>, and after the removal of the solvent under reduce pressure, **97** was obtain as a purple solid (10.8 mg, 50%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.07 (s, 1H, H<sub>5</sub>), 2.59 (s, 6H, H<sub>6</sub>), 2.30 (s, 6H, H<sub>7</sub>), 0.25 (s, 18H, H<sub>10</sub>).

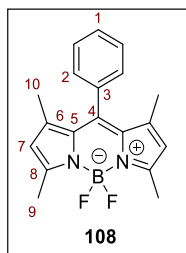
**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 142.99 (C<sub>1</sub>), 142.59 (C<sub>2</sub>), 132.54 (C<sub>4</sub>), 121.19 (C<sub>5</sub>), 101.52 (C<sub>3</sub>), 88.86 (C<sub>9</sub>), 85.99 (C<sub>8</sub>), 13.57 (C<sub>6</sub>), 10.73 (C<sub>7</sub>), 0.13 (C<sub>10</sub>).

**λ<sub>abs</sub>:** 553 nm

**λ<sub>em</sub>:** 570 nm

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

**Rf:** 0.96 (10% EP/AcOEt)

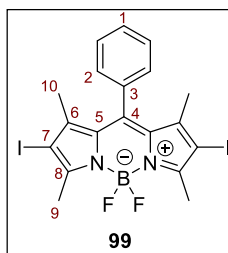
**M:** 324.18 g.mol<sup>-1</sup>

2,4-dimethyl-1*H*-pyrrole (0.5 mL, 5 mmol, 1 eq) and Benzaldehyde (1.13 mL, 11 mmol, 2.2 eq) were dissolved in THF (20 mL) under nitrogen. TFA (0.02 mL, 0.25 mmol, 0.05 eq) was added dropwise and the mixture was stirred 3h at RT, until the observation of the disappearance of the aldehyde by TLC. In another flask, DDQ (1.14 mg, 5 mmol, 1 eq) was dissolved in THF (15 ml) under nitrogen and added to the other flask. After 1h of stirring at RT, the solution was cooled down to 0°C and Et<sub>3</sub>N (8.1 mL, 57.5 mmol, 11.5 eq) and BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub> (4.6 ml, 37.5 mmol, 7.5 eq) were added slowly and the solution was stirred for another hour at RT. The solvent was removed under reduce pressure and the crude product was purified by column chromatography (10% → 50% EP/AcOEt) to give **108** as a flashy orange solid (75.8 mg, 21%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.49-7.45 (m, 3H, H<sub>1</sub>), 7.30-7.26 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 5.98 (s, 2H, H<sub>7</sub>), 2.55 (s, 6H, H<sub>9</sub>), 1.37 (s, 6H, H<sub>10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 155.52 (C<sub>8</sub>), 143.25 (C<sub>5</sub>), 141.84 (C<sub>6</sub>), 135.08 (C<sub>4</sub>), 129.22 (C<sub>1</sub>), 129.04 (C<sub>1'</sub>), 128.03 (C<sub>2</sub>), 121.33 (C<sub>7</sub>), 14.66 (C<sub>9</sub>), 14.41 (C<sub>10</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 325.18; (*m/z*) found 325.17.



**Chemical Formula:** C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>BF<sub>2</sub>I<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

**Rf:** 0.87 (10% EP/AcOEt)

**M:** 575.97 g.mol<sup>-1</sup>

**108** (75.8 mg, 0.23 mmol, 1 eq) and NIS (126 mg, 0.56 mg, 2.4 eq) were dissolved in HFIP (2.3 mL) and the mixture was stirred 5 min at RT. The solvent was removed under reduce pressure and DCM was added. The solution was washed with H<sub>2</sub>O, dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduce pressure. After a column chromatography (10% EP/AcOEt) **99** was obtain as an orange solid (108.5 mg, 82%).

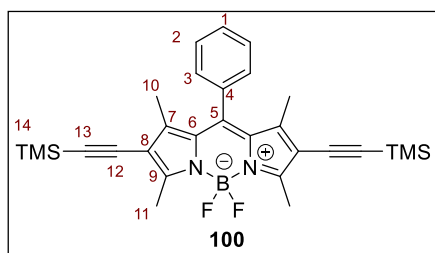
**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.55-7.50 (m, 3H, H<sub>1</sub>), 7.27-7.23 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 2.565 (s, 6H, H<sub>9</sub>), 1.38 (s, 6H, H<sub>10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 156.79 (C<sub>8</sub>), 145.38 (C<sub>5</sub>), 141.27 (C<sub>6</sub>), 134.75 (C<sub>4</sub>), 131.29 (C<sub>3</sub>), 129.47 (C<sub>1</sub>), 129.36 (C<sub>1'</sub>), 127.79 (C<sub>2</sub>), 29.71 (C<sub>7</sub>), 16.95 (C<sub>10</sub>), 16.01 (C<sub>9</sub>).

**HRMS (ESI):** [M] (*m/z*) calculated 575.95; (*m/z*) found 575.95.

## Partie expérimentale

---



**Chemical Formula:** C<sub>29</sub>H<sub>35</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>

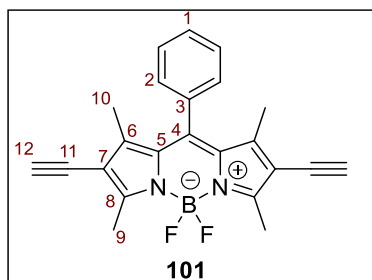
**Rf:** 0.94 (20% Cyclo/AcOEt)

**M:** 516.59 g.mol<sup>-1</sup>

**99** (50 mg, 0.09 mmol, 1 eq), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (6.1 mg, 0.009 mmol, 0.1 eq), CuI (2.1 mg, 0.011 mmol, 0.13 eq), TMSA (0.04 mL, 0.26 mmol, 3 eq) and Et<sub>3</sub>N (2.2 mL) were dissolved in THF<sub>dry</sub> (2.2 mL) under nitrogen and stirred at 55°C 5h. The solvent was removed under reduce pressure and H<sub>2</sub>O was added. The solution was extracted three time with AcOEt, dried with MgSO<sub>4</sub>, and after the removal of the solvent under reduce pressure, **100** was obtain as an orange solid (42.9 mg, 92%).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.51-7.49 (m, 3H, H<sub>1</sub>), 7.25-7.22 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 2.63 (s, 6H, H<sub>9</sub>), 1.45 (s, 6H, H<sub>10</sub>), 0.20 (s, 27H, H<sub>13</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 158.75 (C<sub>8</sub>), 144.90 (C<sub>5</sub>), 142.73 (C<sub>6</sub>), 134.40 (C<sub>4</sub>), 131.03 (C<sub>3</sub>), 129.32 (C<sub>1</sub>), 127.76 (C<sub>2</sub>), 101.70 (C<sub>7</sub>), 87.99 (C<sub>12</sub>), 85.96 (C<sub>11</sub>), 13.31 (C<sub>9</sub>), 13.36 (C<sub>10</sub>), 0.50 (C<sub>13</sub>).



**Chemical Formula:** C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

**Rf:** 0.64 (20% Cyclo/AcOEt)

**M:** 372.23 g.mol<sup>-1</sup>

Compound **101** was obtained following the procedure **F**, starting from **100** (49.9 mg, 0.08 mmol, 1 eq), TBAF 1M (0.29 mL, 0.29 mmol, 3.5 eq), in THF (1.7 mL), with 78% yield (24.1 g).

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.53-7.51 (m, 3H, H<sub>1</sub>), 7.28-7.24 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 3.31 (s, 2H, H<sub>12</sub>), 2.65 (s, 6H, H<sub>9</sub>), 1.46 (s, 6H, H<sub>10</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (75.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 159.00 (C<sub>8</sub>), 145.70 (C<sub>5</sub>), 143.30 (C<sub>6</sub>), 134.40 (C<sub>4</sub>), 131.10 (C<sub>1</sub>), 129.56 (C<sub>2</sub>), 115.32 (C<sub>7</sub>), 84.30 (C<sub>12</sub>), 76.07 (C<sub>11</sub>), 13.68 (C<sub>9</sub>), 13.40 (C<sub>10</sub>).

**HRMS (ESI):** [M + Na]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 395.13; (*m/z*) found 395.15.

**λ<sub>abs</sub>:** 538 nm

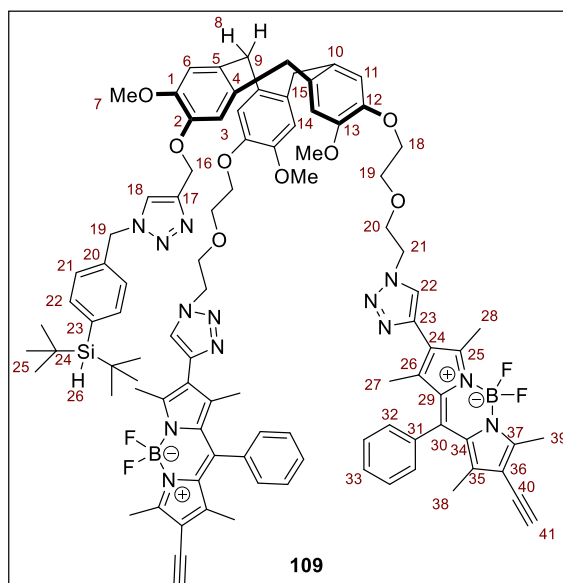
**λ<sub>em</sub>:** 568 nm

**Φ<sub>f</sub>:** 0.70 (methanol)

**ε:** 61,8.10<sup>3</sup> M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>



## Partie expérimentale



**Chemical Formula:** C<sub>96</sub>H<sub>103</sub>B<sub>2</sub>F<sub>4</sub>O<sub>8</sub>N<sub>13</sub>Si

**Rf:** 0.23 (80% Cyclo/AcOEt)

**M:** 1692.66 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspect:** Purple solid

Compound **109** was obtained following the procedure **A**, starting from **73** (28.3 mg, 0.03 mmol, 1 eq), **101** (99.9 mg, 0.27 mmol, 9 eq), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (15 mg, 0.06 mmol, 2 eq), Et<sub>3</sub>N (0.04 mL, 0.27 mmol, 9 eq) and Na ascorbate (26.6 mg, 0.13 mmol, 4.5 eq) in DMF (0.6 mL), purified with 50% → 40% Cyclo/AcOEt as eluent, to obtain **109** with 19% yield (10 mg).

**NMR <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 7.81 (s, 1H, H<sub>31</sub>), 7.74 (s, 1H, H<sub>31'</sub>), 7.59-7.55 (m, 3H, H<sub>22</sub>, 18), 7.48-7.42 (m, 6H, H<sub>42</sub>), 7.27-7.24 (m, 4H, H<sub>41</sub>), 7.23-7.20 (m, 2H, H<sub>21</sub>), 7.15 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 6.86 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 6.80-6.79 (d, 4H, <sup>3</sup>J=2.1 Hz, H<sub>14</sub>, 11), 5.55-5.50 (m, 2H, H<sub>16</sub>), 5.23 (s, 2H, H<sub>19</sub>), 4.78-4.72 (m, 3H, H<sub>8</sub>), 4.59-4.54 (m, 4H, H<sub>30</sub>), 4.11-4.04 (m, 4H, H<sub>27</sub>), 3.94-3.91 (m, 4H, H<sub>28</sub>), 3.87 (s, 1H, H<sub>26</sub>), 3.80-3.75 (m, 9H, H<sub>7</sub>), 3.69-3.62 (m, 4H, H<sub>29</sub>), 3.59-3.48 (m, 4H, H<sub>8'</sub>), 3.32 (s, 2H, H<sub>50</sub>), 2.66 (s, 6H, H<sub>38</sub>), 1.47 (s, 6H, H<sub>37</sub>), 1.04 (s, 18H, H<sub>25</sub>).

**NMR <sup>13</sup>C (150.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm):** 157.60 (C<sub>34</sub>), 148.66 (C<sub>12</sub>), 148.44 (C<sub>13</sub>), 148.22 (C<sub>1</sub>), 146.66 (C<sub>2</sub>), 144.78 (C<sub>36</sub>), 144.31 (C<sub>17</sub>), 142.87 (C<sub>35</sub>), 136.49 (C<sub>22</sub>), 134.96 (C<sub>20</sub>), 134.61 (C<sub>24</sub>), 134.53 (C<sub>39</sub>), 134.49 (C<sub>5</sub>), 133.21 (C<sub>40</sub>), 133.00 (C<sub>15</sub>), 132.09 (C<sub>10</sub>), 131.84 (C<sub>23</sub>), 130.34 (C<sub>4</sub>), 129.32 (C<sub>42</sub>), 127.87 (C<sub>21</sub>), 127.79 (C<sub>41</sub>), 123.88 (C<sub>31</sub>), 123.49 (C<sub>32</sub>), 123.16 (C<sub>18</sub>), 118.67 (C<sub>33</sub>), 116.26 (C<sub>3</sub>), 116.20 (C<sub>6</sub>), 113.81 (C<sub>14</sub>), 113.75 (C<sub>11</sub>), 112.01 (C<sub>45</sub>), 83.79 (C<sub>49</sub>), 83.69 (C<sub>50</sub>), 69.81 (C<sub>28</sub>), 69.55 (C<sub>27</sub>), 69.02 (C<sub>29</sub>), 63.51 (C<sub>19</sub>), 55.90 (C<sub>7</sub>), 54.13 (C<sub>16</sub>), 50.25 (C<sub>30</sub>), 36.48 (C<sub>9</sub>), 28.40 (C<sub>25</sub>), 13.43 (C<sub>38</sub>), 13.04 (C<sub>37</sub>).

**HRMS (MALDI):** [M + H]<sup>+</sup> (*m/z*) calculated 1693.66; (*m/z*) found 1693.81.

**λ<sub>abs</sub>:** 529 nm

**λ<sub>em</sub>:** 540 nm

**Φ<sub>f</sub>:** 0.68 (methanol)

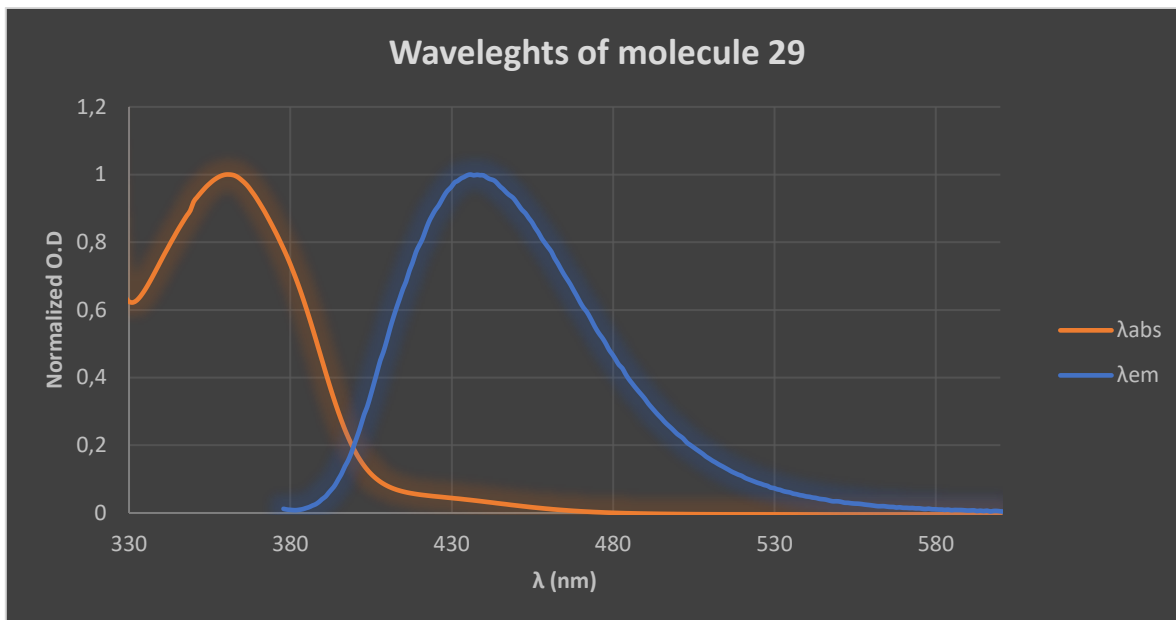
**ε:** 49,9.10<sup>3</sup> M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>

# Annexes

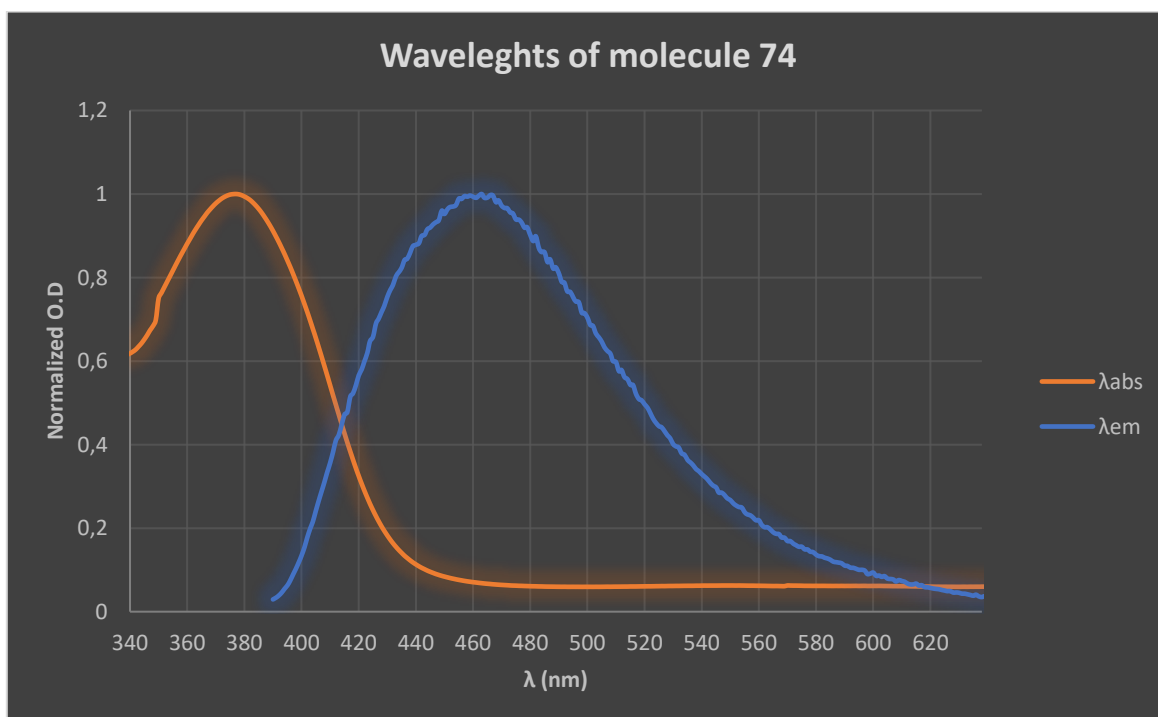


## UV spectra

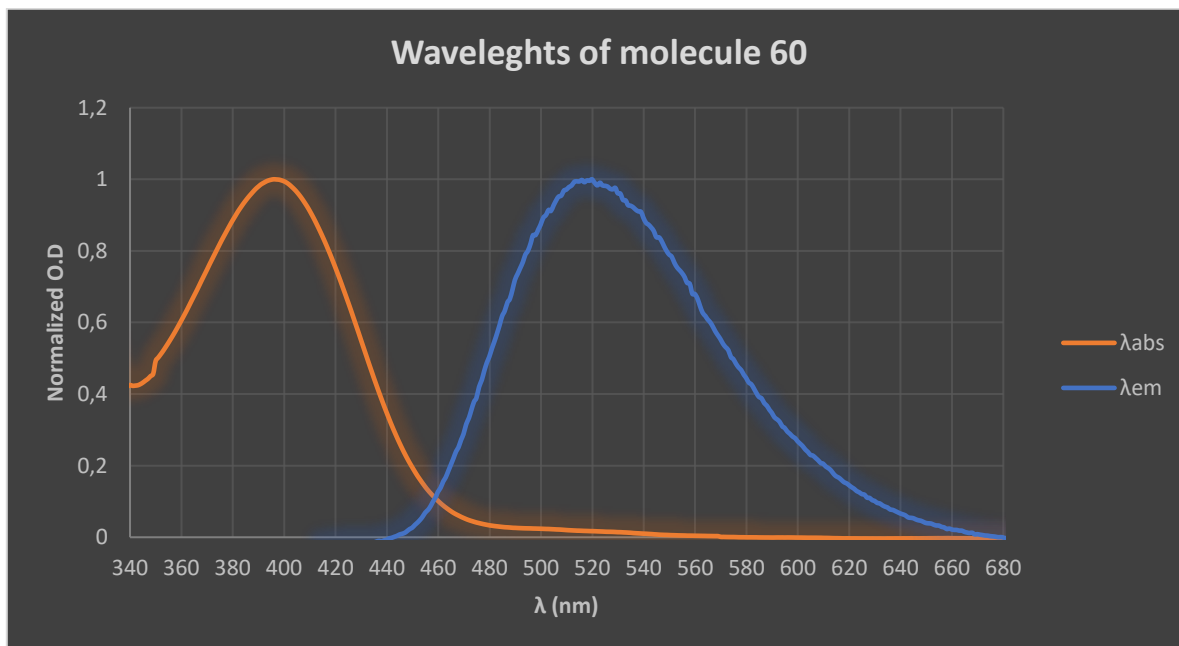
## I. Molecule 29



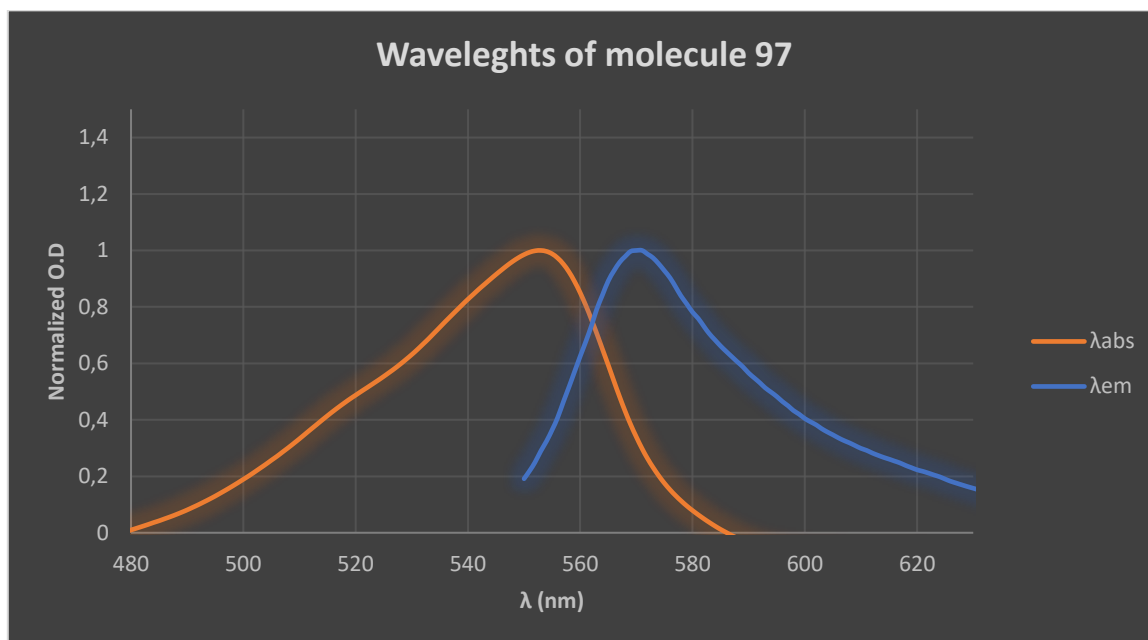
## II. Molecule 74



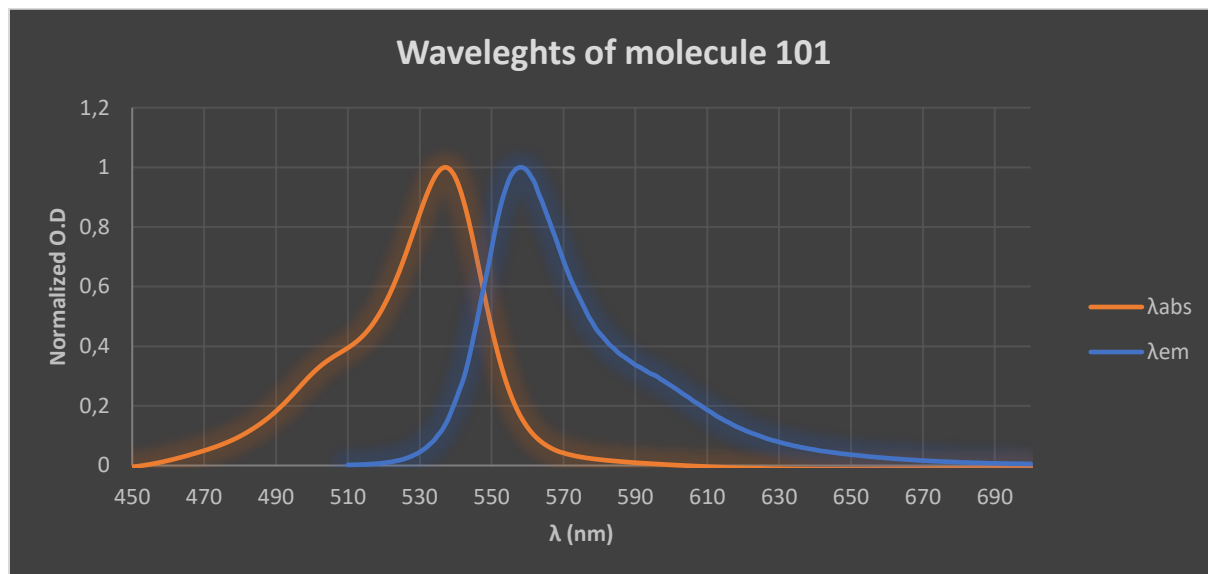
III. Molecule 60



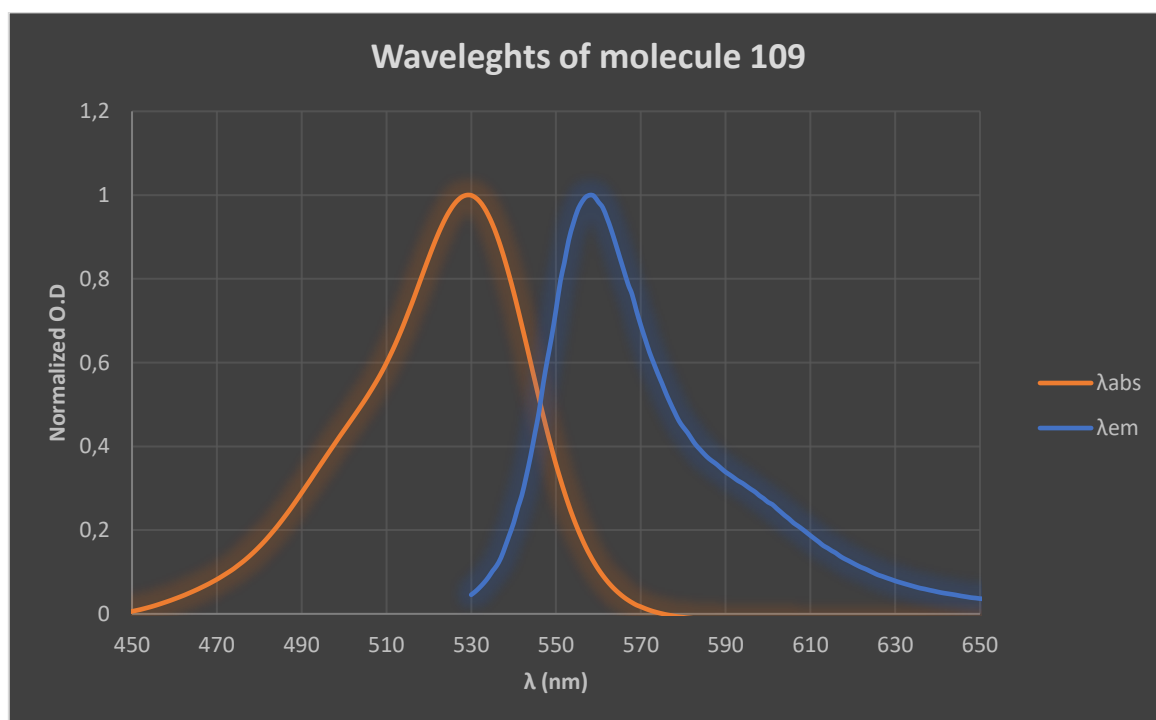
IV. Molecule 97



## V. Molecule 101



## VI. Molecule 109





## Références

- [1] Jean-Philippe Dillenseger, Elisabeth Moerschel, Claudine Zorn, *Guide des technologies de l'imagerie médicale et de la radiothérapie*, **2016**.
- [2] F. A. Gallagher, *Clinical Radiology* **2010**, *65*, 557–566.
- [3] A. Tartaro, M. T. Maccarone, *RMI* **2015**, 25–35.
- [4] J. E. Bulbul, A. Hashem, A. Goldberg, *APPLIED RADIOLOGY* **2017**, *19*, 14–17.
- [5] T. Savić, G. Gambino, V. S. Bokharaie, H. R. Noori, N. K. Logothetis, G. Angelovski, *Proc Natl Acad Sci USA* **2019**, *116*, 20666–20671.
- [6] H. B. Na, I. C. Song, T. Hyeon, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 2133–2148.
- [7] Ralph Weissleder, Albert S. Lee, Alan J. Fischman, Peter Reimer, Tueng Shen, Robert Wilkinson, Ronald J. Callahan, Thomas J. Brady, *Radiology* **1991**, *181*, 245–249.
- [8] Ralph Weissleder, Albert S. Lee, Ban An Khaw, Tueng Shen, Thomas J. Brady, *Radiology* **1992**, *182*, 381–385.
- [9] L. G. Remsen, C. I. McCormick, S. Roman-Goldstein, G. Nilaver, R. Weissleder, A. Bogdanov, K. E. Hellstrom, I. Hellstrom, R. A. Kroll, E. A. Neuwelt, **1996**, *17*, 411–418.
- [10] M. Zhao, D. A. Beauregard, L. Loizou, B. Davletov, K. M. Brindle, *Nat Med* **2001**, *7*, 1241–1244.
- [11] L. W. Goldman, *Journal of Nuclear Medicine Technology* **2008**, *36*, 57–68.
- [12] L. Husain, D. Wayman, K. Carmody, L. Hagopian, W. Baker, *J Emerg Trauma Shock* **2012**, *5*, 76–81.
- [13] M. Saake, T. Struffert, P. Goelitz, S. Ott, F. Seifert, O. Ganslandt, A. Doerfler, *Neuroradiology* **2012**, *54*, 727–735.
- [14] S. Unnikrishnan, A. L. Klibanov, *American Journal of Roentgenology* **2012**, *199*, 292–299.
- [15] Amiram Grinvald, Edmund Lieke, Ron D. Frostig, Charles D. Gilbert, Torsten N. Wiesel, *Nature* **1986**, *324*, 361–364.
- [16] W.-W. Liu, P.-C. Li, *J Biomed Sci* **2020**, *27*, 1–9.
- [17] A. B. E. Attia, G. Balasundaram, M. Moothanchery, U. S. Dinish, R. Bi, V. Ntziachristos, M. Olivo, *Photoacoustics* **2019**, *16*, 100144–100161.
- [18] I. Stoffels, S. Morscher, I. Helfrich, U. Hillen, J. Leyh, N. C. Burton, T. C. P. Sardella, J. Claussen, T. D. Poeppel, H. S. Bachmann, A. Roesch, K. Griewank, D. Schadendorf, M. Gunzer, J. Klode, *Sci. Transl. Med.* **2015**, *7*, 199–210.
- [19] G. P. Luke, D. Yeager, S. Y. Emelianov, *Ann Biomed Eng* **2012**, *40*, 422–437.
- [20] W. Wadsak, M. Mitterhauser, *European Journal of Radiology* **2010**, *73*, 461–469.
- [21] K. Tanaka, K. Fukase, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 815–828.
- [22] W. M. Rokey, L. Huang, K. C. Kloepping, N. J. Baumhover, P. H. Giangrande, M. K. Schultz, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19*, 4080–4090.
- [23] M. G. Straatmann, M. J. Welch, *JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE* **1975**, *16*, 4.
- [24] N. Kobori, Y. Imahori, K. Mineura, S. Ueda, R. Fujii, *NeuroReport* **1999**, *10*, 2971–2974.
- [25] L. Samuelsson, B. Långström, *J Label Compd Radiopharm* **2003**, *46*, 263–272.
- [26] Q. Cheng, S. Stone-Elander, E. S. J. Arnér, *Nat Protoc* **2006**, *1*, 604–613.
- [27] Gary D. Hutchins, Michael A. Miller, Victor C. Soon, Timothy Receveur, *ILAR journal* **2008**, *49*, 54–65.
- [28] L. Jiang, Y. Tu, H. Shi, Z. Cheng, *J Biomed Res* **2014**, *28*, 435–446.
- [29] Oliver von Bohlen und Halbach, Rolf Dermietzel, *Neurotransmitters and Neuromodulators: Handbook of Receptors and Biological Effects*, Wiley-Blackwell, **2006**.
- [30] A. Becherer, M. Szabo, G. Karanikas, P. Wunderbaldinger, P. Angelberger, M. Raderer, A. Kurtaran, R. Dudczak, K. Kletter, **2004**, *45*, 1161–1167.
- [31] G. Tedeschi, S. Bonavita, *J. Neurosurg.* **1997**, *87*, 516–524.
- [32] E. Ackerstaff, B. R. Pflug, J. B. Nelson, Z. M. Bhujwala, **2021**, *61*, 3599–3603.
- [33] T. Hara, N. Kosaka, H. Kishi, **202AD**, *43*, 187–199.
- [34] M. Blau, R. Ganatra, M. A. Bender, **1972**, *2*, 31–37.



## Références

---

- [35] V. Huchet, F. Paycha, S. Balogova, A. Halimi, K. Kerrou, O. Pascal, F. Montravers, J.-N. Talbot, *Médecine Nucléaire* **2009**, *33*, 388–397.
- [36] J. D. Chapman, A. J. Franko, J. Sharplin, *Br J Cancer* **1981**, *43*, 546–550.
- [37] S.-M. Eschmann, F. Paulsen, M. Reimold, H. Dittmann, S. Welz, G. Reischl, H.-J. Machulla, R. Bares, **2005**, *46*, 253–260.
- [38] ARVID CARLSSON, MARGIT LINDQVIST, TOR MAGNUSSON, BERTIL WALDECK, *Science* **1958**, *127*, 471–471.
- [39] X. B. Kong, Q. Y. Zhu, P. M. Vidal, K. A. Watanabe, B. Polsky, D. Armstrong, M. Ostrander, S. A. Lang, E. Muchmore, T. C. Chou, *Antimicrob Agents Chemother* **1992**, *36*, 808–818.
- [40] T. Saga, H. Kawashima, N. Araki, J. A. Takahashi, Y. Nakashima, T. Higashi, N. Oya, T. Mukai, M. Hojo, N. Hashimoto, T. Manabe, M. Hiraoka, K. Togashi, *Clinical Nuclear Medicine* **2006**, *31*, 774–780.
- [41] O. Couturier, A. Luxen, J.-F. Chatal, J.-P. Vuillez, P. Rigo, R. Hustinx, *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2004**, *31*, 1182–1206.
- [42] L. B. Been, A. J. H. Suurmeijer, D. C. P. Cobben, P. L. Jager, H. J. Hoekstra, P. H. Elsinga, *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2004**, *31*, 1659–1672.
- [43] F. Lodi, C. Malizia, P. Castellucci, G. Cicoria, S. Fanti, S. Boschi, *Nuclear Medicine and Biology* **2012**, *39*, 447–460.
- [44] K. Ishiwata, W. Vaalburg, P. H. Elsinga, A. M. J. Paans, **1988**, *29*, 1419–1427.
- [45] K. Bratteby, V. Shalgunov, U. Battisti, I. N. Petersen, M. Erlandsson, M. M. Herth, **2021**, 1–12.
- [46] H. Liu, S. Liu, Z. Miao, H. Jiang, Z. Deng, X. Hong, Z. Cheng, *Mol. Pharmaceutics* **2013**, *10*, 3384–3391.
- [47] L. Cai, S. Lu, V. W. Pike, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 2853–2873.
- [48] C. Wangler, R. Schirmacher, P. Bartenstein, B. Wangler, *CMC* **2010**, *17*, 1092–1116.
- [49] U. Roehn, J. Becaude, L. Mu, A. Srinivasan, T. Stellfeld, A. Fitzner, K. Graham, L. Dinkelborg, A. P. Schubiger, S. M. Ametamey, *Journal of Fluorine Chemistry* **2009**, *130*, 902–912.
- [50] J. Becaude, 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. Kokscha, *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 2254–2261.
- [51] O. Jacobson, L. Zhu, Y. Ma, I. D. Weiss, X. Sun, G. Niu, D. O. Kiesewetter, X. Chen, *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 422–428.
- [52] R. Ting, M. J. Adam, T. J. Ruth, D. M. Perrin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13094–13095.
- [53] S. Faulkner, N. J. Long, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6196–6205.
- [54] T. A. Gens, J. A. Wethington, A. R. Brosi, *J. Phys. Chem.* **1958**, *62*, 1593–1593.
- [55] M. S. Rosenthal, A. L. Bosch, R. J. Nickles, S. J. Gatley, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1985**, *36*, 318–319.
- [56] R. Schirmacher, G. Bradtmöller, E. Schirmacher, O. Thews, J. Tillmanns, T. Siessmeier, H. G. Buchholz, P. Bartenstein, B. Wängler, C. M. Niemeyer, K. Jurkschat, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6047–6050.
- [57] 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*, 1100–1105.
- [58] Von C. A. Parker, *Photoluminescence of Solutions.*, **1969**.
- [59] G. T. Hermanson, in *Bioconjugate Techniques*, Elsevier, **2013**, pp. 395–463.
- [60] John B. Birks, *Photophysics of Aromatic Molecules*, North-Holland Publishing Co., **1971**.
- [61] F. J. H. Douglas A. Skoog, Timothy A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis*, Belmont (Calif.) : Brooks/Cole, **1998**.
- [62] S. Abou-Hatab, V. A. Spata, S. Matsika, *J. Phys. Chem. A* **2017**, *121*, 1213–1222.
- [63] Bernard Valeur, *Invitation à La Fluorescence Moléculaire*, **2004**.
- [64] M. Staderini, M. A. Martín, M. L. Bolognesi, J. C. Menéndez, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 1807–1819.
- [65] M. Monici, in *Biotechnology Annual Review*, Elsevier, **2005**, pp. 227–256.
- [66] N. Ducros, Tomographie optique de fluorescence dans les milieux diffusants: apport de l'information temporelle, Université Claude Bernard - Lyon I, **2009**.
- [67] G. E. Moore, W. T. Peyton, L. A. French, W. W. Walker, *Journal of Neurosurgery* **1948**, *5*, 392–398.

- [68] K. J. Murray, *Surgical Neurology* **1982**, *17*, 316–319.
- [69] S. Walter, S. Susanne, W. Simon, S. Herbert, F. Clemens, G. Claudia, E. G. Alwin, K. Rainer, J. R. Hans, *Neurosurgery* **1998**, *42*, 518–526.
- [70] W. Stummer, J.-C. Tonn, C. Goetz, W. Ullrich, H. Stepp, A. Bink, T. Pietsch, U. Pichlmeier, *Neurosurgery* **2014**, *74*, 310–320.
- [71] W. Stummer, U. Pichlmeier, T. Meinel, O. D. Wiestler, F. Zanella, H.-J. Reulen, *The Lancet Oncology* **2006**, *7*, 392–401.
- [72] R. J. Diaz, R. R. Dios, E. M. Hattab, K. Burrell, P. Rakopoulos, N. Sabha, C. Hawkins, G. Zadeh, J. T. Rutka, A. A. Cohen-Gadol, *JNS* **2015**, *122*, 1360–1369.
- [73] E. H. Moriyama, S. K. Bisland, L. Lilge, B. C. Wilson, *Photochemistry and Photobiology* **2007**, *80*, 242–249.
- [74] A. Zimmermann, M. Ritsch-Martel, H. Kostron, *Photochemistry and Photobiology* **2007**, *74*, 611–616.
- [75] J. J. Hu, N.-K. Wong, S. Ye, X. Chen, M.-Y. Lu, A. Q. Zhao, Y. Guo, A. C.-H. Ma, A. Y.-H. Leung, J. Shen, D. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 6837–6843.
- [76] S. Achilefu, H. N. Jimenez, R. B. Dorshow, J. E. Bugaj, E. G. Webb, R. R. Wilhelm, R. Rajagopalan, J. Jöhler, J. L. Erion, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2003–2015.
- [77] D. Cao, Z. Liu, P. Verwilt, S. Koo, P. Jangjili, J. S. Kim, W. Lin, *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 10403–10519.
- [78] A. Loudet, K. Burgess, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891–4932.
- [79] Y. Urano, D. Asanuma, Y. Hama, Y. Koyama, T. Barrett, M. Kamiya, T. Nagano, T. Watanabe, A. Hasegawa, P. L. Choyke, H. Kobayashi, *Nat Med* **2009**, *15*, 104–109.
- [80] D. Maysinger, M. Behrendt, M. Lalancette-Hébert, J. Kriz, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 2513–2520.
- [81] L. C. Mattheakis, J. M. Dias, Y.-J. Choi, J. Gong, M. P. Bruchez, J. Liu, E. Wang, *Analytical Biochemistry* **2004**, *327*, 200–208.
- [82] B. A. D. Neto, P. H. P. R. Carvalho, J. R. Correa, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1560–1569.
- [83] L. D. Lavis, R. T. Raines, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 855–866.
- [84] B. A. D. Neto, A. A. M. Lapis, E. N. da Silva Júnior, J. Dupont, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 228–255.
- [85] S. Holliday, R. S. Ashraf, C. B. Nielsen, M. Kirkus, J. A. Röhr, C.-H. Tan, E. Collado-Fregoso, A.-C. Knall, J. R. Durrant, J. Nelson, I. McCulloch, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 898–904.
- [86] Q. Jiang, Z. Zhang, J. Lu, Y. Huang, Z. Lu, Y. Tan, Q. Jiang, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21*, 7735–7741.
- [87] C.-T. Yang, K. K. Ghosh, P. Padmanabhan, O. Langer, J. Liu, D. N. C. Eng, C. Halldin, B. Gulyás, *Theranostics* **2018**, *8*, 6210–6232.
- [88] E. Forte, D. Fiorenza, E. Torino, A. Costagliola di Polidoro, C. Cavaliere, P. A. Netti, M. Salvatore, M. Aiello, *JCM* **2019**, *9*, 1–21.
- [89] S. Musafargani, K. K. Ghosh, S. Mishra, P. Mahalakshmi, P. Padmanabhan, B. Gulyás, *European J Hybrid Imaging* **2018**, *2*, 12–40.
- [90] C. Catana, *Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America* **2017**, *25*, 231–243.
- [91] D. W. Townsend, *Seminars in Ultrasound, CT and MRI* **2008**, *29*, 232–235.
- [92] X. Chen, X. Zhang, M. Du, C. Dong, L. Cao, R. Wei, C. Liu, W. Zhai, B. Wang, J. Xin, *Annals of Nuclear Medicine* **2019**, *33*, 806–812.
- [93] R. A. Taylor, S. Xiao, A. M. Carias, M. D. McRaven, D. N. Thakkar, M. Araínga, E. J. Allen, K. A. Rogers, S. C. Kumarapperuma, S. Gong, A. J. Fought, M. R. Anderson, Y. Thomas, J. R. Schneider, B. Goins, P. Fox, F. J. Villinger, R. M. Ruprecht, T. J. Hope, *PLoS Pathog* **2021**, *17*, e1009632.
- [94] B. J. Fueger, K. Yeom, J. Czernin, J. W. Sayre, M. E. Phelps, M. S. Allen-Auerbach, *Mol Imaging Biol* **2009**, *11*, 269–274.
- [95] H. Qin, T. Zhou, S. Yang, Q. Chen, D. Xing, *Nanomedicine* **2013**, *8*, 1611–1624.
- [96] L.-S. Lin, Z.-X. Cong, J.-B. Cao, K.-M. Ke, Q.-L. Peng, J. Gao, H.-H. Yang, G. Liu, X. Chen, *ACS Nano* **2014**, *8*, 3876–3883.
- [97] Q. Fan, K. Cheng, X. Hu, X. Ma, R. Zhang, M. Yang, X. Lu, L. Xing, W. Huang, S. S. Gambhir, Z. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 15185–15194.

## Références

---

- [98] J. Huang, M. Guo, H. Ke, C. Zong, B. Ren, G. Liu, H. Shen, Y. Ma, X. Wang, H. Zhang, Z. Deng, H. Chen, Z. Zhang, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 5049–5056.
- [99] M. Devreux, C. Henoumont, F. Dioury, D. Stanicki, S. Boutry, L. Larbanoix, C. Ferroud, R. N. Muller, S. Laurent, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2019**, *2019*, 3354–3365.
- [100] M. Devreux, F. Dioury, C. Henoumont, S. Laurent, in *Proceedings of MOL2NET 2018, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 4th Edition*, MDPI, Sciforum.Net, **2018**, p. 5865.
- [101] W. J. M. Mulder, G. J. Strijkers, K. Nicolay, A. W. Griffioen, *Angiogenesis* **2010**, *13*, 131–134.
- [102] W. J. M. Mulder, G. J. Strijkers, G. A. F. van Tilborg, D. P. Cormode, Z. A. Fayad, K. Nicolay, *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 904–914.
- [103] L. Frullano, T. J. Meade, *J Biol Inorg Chem* **2007**, *12*, 939–949.
- [104] Bünzli, *Lanthanide Probes in Life, Chemical, and Earth Sciences : Theory and Practice*, Elsevier, Amsterdam, **1989**.
- [105] J.-C. G. Bünzli, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2729–2755.
- [106] C. S. Bonnet, É. Tóth, *Comptes Rendus Chimie* **2010**, *13*, 700–714.
- [107] L. N. Goswami, A. A. Khan, S. S. Jalisatgi, M. F. Hawthorne, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 5793–5795.
- [108] M. Modo, D. Cash, K. Mellodew, S. C. R. Williams, S. E. Fraser, T. J. Meade, J. Price, H. Hodges, *NeuroImage* **2002**, *17*, 803–811.
- [109] U. Seibold, B. Wängler, R. Schirmacher, C. Wängler, *BioMed Research International* **2014**, *2014*, 1–13.
- [110] S. C. Ghosh, P. Ghosh, N. Wilganowski, H. Robinson, M. A. Hall, G. Dickinson, K. L. Pinkston, B. R. Harvey, E. M. Sevick-Muraca, A. Azhdarinia, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 406–416.
- [111] S. Liu, D. Li, C.-W. Huang, L.-P. Yap, R. Park, H. Shan, Z. Li, P. S. Conti, *Mol Imaging Biol* **2012**, *14*, 718–724.
- [112] S. H. Ahn, E. Boros, *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* **2018**, *33*, 308–315.
- [113] Gertrude Maud Robinson, *J. Chem. Soc., trans.* **1915**, *107*, 267–276.
- [114] Oliverio A., Casinovi C., *Ann. Chim. (Rome)* **1952**, *42*, 167–168.
- [115] A. S. Lindsey, *Journal of the chemical society* **1965**, 1685–1692.
- [116] J. W. Steed, P. C. Junk, J. L. Atwood, M. J. Barnes, C. L. Raston, R. S. Burkhater, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10346–10347.
- [117] J. Canceill, A. Collet, J. Gabard, F. Kotzyba-Hibert, J.-M. Lehn, *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 1894–1897.
- [118] K. T. Holman, M. M. Halihan, S. S. Jurisson, J. L. Atwood, R. S. Burkhater, A. R. Mitchell, J. W. Steed, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9567–9576.
- [119] S. Lefevre, A. Héloin, D. Pitrat, J.-C. Mulatier, N. Vanthuyne, M. Jean, J.-P. Dutasta, L. Guy, A. Martinez, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 3199–3205.
- [120] T. Brotin, J.-P. Dutasta, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 88–130.
- [121] H. A. Fogarty, P. Berthault, T. Brotin, G. Huber, H. Desvaux, J.-P. Dutasta, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10332–10333.
- [122] O. Perraud, V. Robert, A. Martinez, J.-P. Dutasta, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 13405–13408.
- [123] A. Dahchour, P. De Witte, *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **2000**, *65*, 345–350.
- [124] M. Kurachi, K. Yoshihara, H. Aihara, *Japanese Journal of Pharmacology* **1983**, *33*, 1247–1254.
- [125] M. H. Bureau, R. W. Olsen, *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology* **1991**, *207*, 9–16.
- [126] M.-L. Dumartin, C. Givélet, P. Meyrand, B. Bibal, I. Gosse, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2725–2728.
- [127] L. Peyrard, S. Chierici, S. Pinet, P. Batat, G. Jonusauskas, N. Pinaud, P. Meyrand, I. Gosse, *Organic & Biomolecular Chemistry* **2011**, *9*, 8489–8494.
- [128] V. Percec, M. R. Imam, M. Peterca, D. A. Wilson, P. A. Heiney, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1294–1304.

- [129] V. Percec, M. Peterca, S. D. Hudson, S. Nummelin, P. Adelman, P. A. Heiney, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13079–13094.
- [130] C. W. Thomas, Y. Tor, *Chirality* **1998**, *10*, 53–59.
- [131] A. Westcott, C. J. Sumby, R. D. Walshaw, M. J. Hardie, *New J. Chem.* **2009**, *33*, 902.
- [132] K. Sugiyasu, N. Fujita, S. Shinkai, *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 2747–2754.
- [133] A. Motulsky, M. Lafleur, A.-C. Couffin-Hoarau, D. Hoarau, F. Boury, J.-P. Benoit, J.-C. Leroux, *Biomaterials* **2005**, *26*, 6242–6253.
- [134] S. Mizrahi, J. Gun, Z. G. Kipervaser, O. Lev, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 5399–5404.
- [135] N. Mizoshita, Y. Suzuki, K. Kishimoto, K. Hanabusa, T. Kato, *J. Mater. Chem.* **2002**, *12*, 2197–2201.
- [136] H. Zimmermann, V. Bader, R. Poupko, E. J. Wachtel, Z. Luz, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15286–15301.
- [137] A. Chakrabarti, H. M. Chawla, G. Hundal, N. Pant, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 12323–12329.
- [138] J.-R. Song, Z.-T. Huang, Q.-Y. Zheng, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 7308–7313.
- [139] G. Milanole, B. Gao, E. Mari, P. Berthault, G. Pieters, B. Rousseau, *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017*, 7091–7100.
- [140] M. R. Lutz, E. Ernst, M. Zeller, J. Dudzinski, P. Thoresen, D. P. Becker, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018*, 4639–4645.
- [141] A. Long, C. Colomban, M. Jean, M. Albalat, N. Vanthuyne, M. Giorgi, L. Di Bari, M. Górecki, J.-P. Dutasta, A. Martinez, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 160–165.
- [142] C. Vigier, P. Fossé, F. Fabis, T. Cailly, E. Dubost, *Adv. Synth. Catal.* **2021**, *363*, 3756–3761.
- [143] J. Barluenga, M. Tomás-Gamasa, F. Aznar, C. Valdés, *Nature Chem* **2009**, *1*, 494–499.
- [144] O. Longin, H. van de Langemheen, R. M. J. Liskamp, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2017**, *25*, 5008–5015.
- [145] A. Speicher, T. Backes, K. Hesidens, J. Kolz, *Beilstein J. Org. Chem.* **2009**, *5*, 1–9.
- [146] Donald J. Cram, Martin E. Tanner, Steven J. Keipert, Carolyn B. Knobler, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8909–8916.
- [147] S. M. Sternson, J. C. Wong, C. M. Grozinger, S. L. Schreiber, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4239–4242.
- [148] S. Zhang, G. R. Hutchison, T. Y. Meyer, *Macromol. Rapid Commun.* **2016**, *37*, 882–887.
- [149] A. V. Moro, P. C. Ferreira, P. Migowski, F. S. Rodembusch, J. Dupont, D. S. Lüdtkke, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 201–206.
- [150] F. Pop, S. Seifert, J. Hankache, J. Ding, A. Hauser, N. Avarvari, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 1040–1047.
- [151] S. De Sousa, S. Lyu, L. Ducasse, T. Toupance, C. Olivier, *J. Mater. Chem. A* **2015**, *3*, 18256–18264.
- [152] E. J. Corey, N. W. Gilman, B. E. Ganem, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5616–5617.
- [153] R. Huisgen, *Angew. Chem.* **1963**, *75*, 604–637.
- [154] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
- [155] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed* **2002**, *51*, 2596–2599.
- [156] M. Aumailley, M. Gurrath, G. Müller, J. Calvete, R. Timpl, H. Kessler, *FEBS Letters* **1991**, *291*, 50–54.
- [157] E. Amigues, J. Schulz, M. Szlosek-Pinaud, P. Fernandez, S. Silvente-Poirot, S. Brillouet, F. Courbon, E. Fouquet, *ChemPlusChem* **2012**, *77*, 345–349.
- [158] L. Mu, A. Höhne, P. A. Schubiger, S. M. Ametamey, K. Graham, J. E. Cyr, L. Dinkelborg, T. Stellfeld, A. Srinivasan, U. Voigtmann, U. Klar, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4922–4925.
- [159] E. J. F. Klotz, T. D. W. Claridge, H. L. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15374–15375.
- [160] L. Wu, K. Burgess, *Chem. Commun.* **2008**, *40*, 4933–4935.
- [161] M. Jørgensen, F. C. Krebs, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6004–6017.
- [162] I. Cummins, D. J. Wortley, F. Sabbadin, Z. He, C. R. Coxon, H. E. Straker, J. D. Sellars, K. Knight, L. Edwards, D. Hughes, S. S. Kaundun, S.-J. Hutchings, P. G. Steel, R. Edwards, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2013**, *110*, 5812–5817.
- [163] J. Wu, G. Lai, Z. Li, Y. Lu, T. Leng, Y. Shen, C. Wang, *Dyes and Pigments* **2016**, *124*, 268–276.

## Références

---

- [164] T. M. Ebaston, F. Nakonechny, E. Talalai, G. Gellerman, L. Patsenker, *Dyes and Pigments* **2021**, *184*, 1–7.
- [165] T. Yogo, Y. Urano, Y. Ishitsuka, F. Maniwa, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12162–12163.



## **Titre : SONDE BIMODALE TEP/IO : APPLICATION EN CANCEROLOGIE**

La nécessité de détecter de manière encore plus efficace et surtout plus spécifique les tumeurs ou d'autres maladies a fait évoluer les techniques d'imagerie médicale vers la bimodalité, voire la multimodalité. Durant ces dernières années, de nombreuses recherches ont été menées dans le but de concevoir des agents de contraste hybrides. La Tomographie par Emission de Positron (TEP) est une méthode sensible qui permet l'identification et la localisation d'une tumeur ainsi qu'un suivi thérapeutique. L'imagerie optique (via la fluorescence) permet de guider le chirurgien pendant la tumorectomie. Une sonde portant ces deux types d'imagerie pourrait rendre possible la prise en charge complète d'un patient, du diagnostic d'un cancer à son traitement par chirurgie, puis son suivi post opératoire. Ce projet consiste donc à développer une sonde bimodale TEP/IO basée sur la fonctionnalisation d'un cyclotrivrétrilène (CTV) utilisé comme plateforme. En effet, le CTV présente une forme de bol avec trois « bras » fonctionnalisables. Il a ainsi été envisagé d'introduire sur ces « bras » un cRGD, permettant la reconnaissance spécifique des intégrines  $\alpha_v\beta_3$ , un arylsilane permettant d'introduire en dernière étape de synthèse un  $^{18}\text{F}$  nécessaire à la TEP, ainsi qu'un fluorophore (en premier lieu un benzothiadiazole - BTM). La synthèse de ces différentes molécules ainsi que leur couplage sur la plateforme conduisant à la première sonde bimodale désirée sont présentés. Les propriétés de fluorescence de certains intermédiaires et de la molécule finale sont évaluées. Des analyses biologiques préliminaires, comme la cytotoxicité, la radiance et la fluorescence *in vitro* ainsi que la fluoration à froid et la radiosynthèse sont exposées. Dans une seconde partie, des voies d'amélioration de cette première sonde sont explorées, notamment pour optimiser les propriétés de fluorescence. Un BODIPY est alors utilisé pour remplacer le BTM permettant d'envisager l'obtention d'une sonde de deuxième génération prometteuse pour des applications *in vivo*.

**Mots clés :** Imagerie Bimodale, Sondes, Fluorescence, TEP

## **Title: BIMODAL PROBE PET/OI: APPLICATION IN CANCEROLOGY**

Medical imaging is spreading more and more into a bimodal system. Considerable research has been conducted in this field of hybrid contrast agents over the last years. Therefore, Positron-Emission Tomography (PET), a sensitive method, can allow the identification and localization of a tumor and the therapy monitoring, while fluorescence can help during surgery. A probe with these two kinds of medical imaging would make possible the entire patient support, from the diagnosis of the cancer to the treatment by surgery and the therapy monitoring. This project consists in the development of a bimodal probe PET/OI, based on the functionalization of a cyclotrivrétrilène (CTV) used as a template. This macromolecule presents a bowl shape with three "arms". These three parts are functionalized with a cRDG, a peptide able to recognize the activity of  $\alpha_v\beta_3$  integrins, an arylsilane, allowing the introduction of a  $^{18}\text{F}$  during the last step of the synthesis for PET imaging and a fluorophore (as first intention, a benzothiadiazole - BTM). The synthesis of the different synthons as well as the coupling with the platform by "click" chemistry reactions leading to the obtention of the first desired bimodal probe are presented in this manuscript. The fluorescence of some intermediate products and of the final molecule is measured. Some preliminary biological analyses are conducted, like cytotoxicity test, the radiance, and the *in vitro* fluorescence as well as the cold fluorination and radiosynthesis of the probe. The second part of this thesis describes some ways of improvement for the probe, notably concerning the fluorescence properties. The synthesis of other fluorophores is presented and the coupling with the one that has presented the most favorable properties (a BODIPY) is described allowing to consider the obtention of a very promising second-generation probe for *in vivo* applications.

**Keywords :** Bimodal Imaging, Probes, Fluorescence, PET

### **Unité de recherche**

Institut des Sciences Moléculaires, UMR n°5255 CNRS, Bâtiment A12, 351 cours de la libération 33405 TALENCE cedex