



**HAL**  
open science

# Accepteur de fluorure à base de silicium (SiFA) sur supports solides : un nouvel outil polyvalent pour la fluoration au fluor-18 de dérivés de molécules biologiques

Marine Steffann

## ► To cite this version:

Marine Steffann. Accepteur de fluorure à base de silicium (SiFA) sur supports solides : un nouvel outil polyvalent pour la fluoration au fluor-18 de dérivés de molécules biologiques. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2022. Français. NNT : 2022BORD0448 . tel-04062506

**HAL Id: tel-04062506**

**<https://theses.hal.science/tel-04062506v1>**

Submitted on 7 Apr 2023

**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 Marine STEFFANN

Accepteur de fluorure à base de silicium (SiFA) sur support solide : Un nouvel outil polyvalent pour la fluoration au fluor-18 de dérivés de molécules biologiques

Sous la direction de : Philippe HERMANGE et Eric FOUQUET

Soutenue le 15 décembre 2022

Membres du jury :

M. BARTHELEMY, Philippe	Professeur - ARNA, Bordeaux	Président
Mme. LAMANDE-LANGLE, Sandrine	Maître de conférence - L2CM, Nancy	Rapporteur
M. GONCALVES, Victor	Maître de conférence - ICMUB, Dijon	Rapporteur
M. FELPIN, François-Xavier	Professeur - CEISAM, Nantes	Examineur
Mme. AUBERT, Cathy	Docteur - Sanofi, Vitry-sur-Seine	Invité - Encadrant Sanofi
M. ROY, Sébastien	Chef du Service - Sanofi, Vitry-sur-Seine	Invité
M. HERMANGE, Philippe	Maître de conférence - ISM, Bordeaux	Directeur de thèse
M. FOUQUET, Eric	Professeur - ISM, Bordeaux	Co-directeur de thèse



# Remerciements

Je tiens à remercier les rapporteurs Dr. Sandrine Lamandé-Langle et Dr. Victor Goncalves pour avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèses. Je souhaite également remercier le président du jury Pr. Philippe Barthélémy et enfin Pr. François-Xavier Felpin pour avoir accepté à la dernière minute de rejoindre ce jury.

Je remercie mes deux directeurs de thèses Philippe Hermange et Eric Fouquet et mes deux encadrants au sein de Sanofi Cathy Aubert et Sébastien Roy pour avoir suivi mon travail au cours de ses trois dernières années dans une bonne entente. Je remercie Philippe et Eric pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de Bordeaux pour réaliser ce projet et pour m'avoir encouragé tout au long de ces trois dernières années. Merci Eric pour ta bonne humeur et ta passion pour l'UBB. Merci Philippe pour ta disponibilité, ton enthousiasme et tes idées (parfois farfelues). J'aimerais remercier Cathy pour m'avoir initié au monde de la radiochimie au début de ma thèse et pour m'avoir suivi jusqu'au bout contre vents et marées. Et enfin Sébastien merci pour tes blagues et ta ponctualité quasi-parfaite à chaque réunion de suivi (55 réunions en 3 ans). J'ai adoré travailler avec vous quatre ça a été très enrichissant.

Je tiens ensuite à remercier l'équipe d'Isotope Chemistry qui a su m'accueillir à bras ouverts et particulièrement, Guillaume pour avoir accepté que je te suive dans l'équipe d'imagerie où tu avais bien l'intention de t'isoler seul chimiste entouré de biologistes. Mais également merci pour tous ses débats sur la modernisation de la société lors de nos matinées interminables de radiosynthèses dans le bâtiment Potier. Mélanie, merci pour tous tes conseils sur les peptides mais aussi sur la vie, pour les soirées bières et vin dans Paris. Merci à Joao pour notre soutien mutuel pendant ses trois dernières années, j'espère que la Suisse te plaira. Je viendrai peut-être faire du ski avec toi. Merci aux autres membres de l'équipe IC Jorg, Nicolas, Damien, Frank et Sabine pour leur bonne humeur jusqu'au bout. Je suis contente d'avoir pu faire partie de cette famille qui a grandi pendant 20 ans au sein de Sanofi.

Toujours chez Sanofi, merci à Rommel et Frank pour m'avoir recruté dans votre équipe en M2 pour mon stage de fin d'étude et pour m'avoir encouragé à postuler à cette thèse. Merci également pour les soirées bar avec Eykmar qui m'ont permis de retrouver la vie parisienne à chacun de mes retours dans la capitale. Et enfin, je souhaite remercier Erwan Jouannot pour m'avoir accueilli au sein de ton équipe pour la dernière année et de m'avoir permis de terminer mon projet.

Je tiens à remercier également toutes les personnes qui constituent l'équipe CSH, notamment Murielle pour son attention au quotidien, la maman des doctorants qui s'occupe de tout le monde et plus encore. Sans toi l'ISM fonctionnerais moins bien. Patrick, Magali, Frédéric, Philippe P., pour votre soutien au quotidien et vos encouragements pendant les groupes meetings. Je tiens également à remercier Karine, qui m'a permis de retrouver Eric au sein de l'université et qui m'a surtout facilité la vie face à l'emploi du temps chargé d'Eric.

Je remercie également l'équipe du CESAMO qui nous permet de réaliser nos analyses RMN en routine Yannick et Cybille et qui réalisent nos masses Yann et Claire. Petite pensée particulière à Zidane pour ton aide en RMN évidemment. Mais également pour toutes ses sorties dans la zizou mobile de jour comme de nuit, ses quelques nuits blanches mémorables et ses week-ends. Merci Zidane, je te remercie moins de m'avoir fait peur tous les jours.

J'ai remercié les membres permanent du groupe CSH mais le groupe ne serait rien sans les doctorants avec qui j'ai travaillé pendant 3 ans. Merci Titi de m'avoir transmis le flambeau pour devenir la chef du laboratoire. Merci Rongyu pour ta bonne humeur tes idées incongrues et ta joie de vivre même sous la pluie devant un match de rugby. Je ne désespère pas qu'un jour tu prendras le temps de m'apprendre à parler chinois. Merci Baba pour ton soutien à toute épreuve et pour ses soirées dansantes et chantantes qu'on a pu faire. Merci Morgan et Laura pour toutes ses discussions dans notre placard à balais (surtout sur l'horoscope) et nos soirées tous ensemble. J'ai adoré passé tous ses moments avec vous. Je remercie également Alex pour sa gentillesse au quotidien ainsi que pour les quelques discussions nocturnes qu'on a pu avoir. Je tiens également à remercier les nouveaux doctorants qui prennent le relais dans le laboratoire. On vous a aimé en stage, on vous a gardé pour la thèse. Bon courage à Alexandra, Emilie et Adrien. Je remercie également tous les stagiaires qu'on a vu passer au cours de ces trois dernières années.

Je souhaite également remercier les doctorants des autres équipes, tous les NEO boys, Amaury, Quentin, Kevin, Maxime, Axel, Borja, Victor, Mattéo et la NEO girl Nathalie. Merci pour votre gentillesse, vos conseils, vos soirées déjantées et tous ses bons moments. Nathalie, I am happy that we are still close even since you are at the opposite side of the world. Borja muchas gracias por todo. Cuando quieras vamos a un sidreria ! Merci Kevin pour tes blagues et ton rire communicatif. De rien pour t'avoir aidé à faire de ta thèse un objet esthétique. Merci Quentin pour ton soutien et ta motivation. On donne tout, tous les trois ! Merci aux doctorants de l'équipe ORGA : Joe, Lisa, Damien, Iman, Claire, Manu, Thomas, Morgan pour les soirées jeux, la danse ou encore les barbecues. A nous tous, on était une vraie petite tribu très bruyante.

J'aimerais également remercier tous mes amis que j'ai pu rencontrer à l'ENSCR, nos week-ends retrouvailles ont rythmés ses trois années de thèse que l'on a surmonté tous ensemble. Nos retrouvailles mensuelles vont pouvoir reprendre ! Merci à Camin pour m'avoir soutenue dans toutes mes bêtises pendant 3 ans. Merci à Valentin, la team Bordeaux pour avoir organisé des sorties restaurants, bars, diner au quotidien et pour ton organisation extrême ponctuée de mon imprévisibilité. Merci à tous les rennais : Claire, Milène, Jimon, Paulin, Hugo, Paul, Cécile, Magda, Pauline, Rozie, Deborah, Loulou, Willy, Baptou, Pauline, Marion, Sophie, Thomas, Elise, Adèle et Bast. Merci pour toutes ses blagues, toutes ses soirées retrouvailles et pour votre joie continue. J'espère qu'on va continuer à se voir encore autant ! Ce n'est que le début il me semble ! Santé !

Je tiens également à remercier mes copains de Bordeaux, Clément et Clément, mes parrains qui m'ont guidé tout au long de cette thèse grâce à leur sagesse et leur amitié. Je souhaite également remercier Adrien et Severine. Merci pour toutes ses soirées jeux, bricolages, piscines, paddle ! Bordeaux va me manquer mais vous aussi.

Merci à mes amis de toujours qui m'ont soutenu et épaulé pendant ses trois années, la clique Nath, Laura (déjà 21 ans qu'on faisait notre rentrée en CP tous les trois) et aussi Ali, Colin et Jean. Merci d'être venu me voir à Bordeaux et pour toutes ses soirées confinées, déguisées et tout le reste depuis si longtemps. Merci Laura S. pour toutes nos expéditions qui ont été mises en standby cette année mais qui reprendront de plus belle l'année prochaine. J'ai hâte de revivre avec vous tous l'année prochaine sur Paname City.

J'aimerais également remercier le soutien de toute ma famille depuis le début de ma thèse et de mes études. Merci de m'avoir encouragée, écoutée et de m'avoir aidée à trouver ma voie malgré tout. Merci Maman pour tout ! Merci Papa, pour ton aide à distance. Merci Capu, Auriane pour votre soutien sans faille. Merci à Maï, Thom, Doud, Nico, Fabi et Alex pour vos encouragements. Je souhaite remercier Annette et Christian, Annette et Jean-Claude, memère Odile, Michel, Chantal, Bati et Madith pour vos ondes positives.

Merci à tous pour votre soutien !

# Sommaire

REMERCIEMENTS .....	3
SOMMAIRE.....	6
ABRÉVIATIONS ET NOTATIONS .....	10
UNITÉS ET PRÉFIXES .....	14
INTRODUCTION .....	15
<b>CHAPITRE 1 : DE LA RADIOACTIVITÉ À LA SYNTHÈSE DE RADIOTRACEURS SILYLÉS.....</b>	<b>17</b>
<b>I. LA RADIOACTIVITÉ ET L'IMAGERIE.....</b>	<b>19</b>
1. LA DÉCOUVERTE DE LA RADIOACTIVITÉ.....	19
2. LA RADIOACTIVITÉ.....	20
3. LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES D'IMAGERIE .....	23
4. LES RADIOÉLÉMENTS UTILISÉS EN IMAGERIE TEP.....	25
5. LE FLUOR-18.....	26
<b>II. LA SYNTHÈSE DE RADIOTRACEURS AU FLUOR-18.....</b>	<b>28</b>
1. STRATÉGIE DE SYNTHÈSES DES RADIOTRACEURS .....	28
2. LES RÉACTIONS ÉLECTROPHILES DE FLUORATIONS .....	30
a. Réaction d'addition électrophile sur un alcène .....	30
b. Réaction de Substitution Electrophile Aromatique ( $S_EAr$ ) .....	31
c. Réaction électrophile sur des aryles organométalliques.....	32
d. Développement de réactions électrophiles par inversion de polarité : "umpolung" .....	33
3. LES RÉACTIONS NUCLÉOPHILES DE FLUORATIONS.....	36
a. Les substitutions nucléophiles aliphatiques.....	36
b. Les substitutions nucléophiles aromatiques .....	37
c. Les substitutions nucléophiles aromatiques concertées (cSNAr) .....	42
d. Réaction de substitution nucléophile par inversion de polarité "umpolung" .....	47
4. LES ÉCHANGES ISOTOPIQUES (IEX).....	48

5.	AUTRES RÉACTIONS DE MARQUAGE .....	51
a.	La catalyse photo-redox .....	51
b.	Radiofluorination par électrochimie .....	54
c.	Le radiomarquage enzymatique .....	58
6.	LES SYNTHÈSES INDIRECTES .....	59
a.	Les synthèses multi-étapes .....	60
b.	Les radiosynthèses à partir de groupements prosthétiques .....	64
7.	LES SYNTHÈSES SUPPORTÉES .....	74
a.	Anions fluorures piégés .....	75
b.	Précurseurs piégés .....	77
c.	Précurseurs greffés sur Résines .....	78
d.	Synthèse indirecte supportée .....	82
<b>III.</b>	<b>LES RADIOTRACEURS POSSEDANT UNE LIAISON SI-<sup>18</sup>F .....</b>	<b>84</b>
1.	GÉNÉRALITÉS .....	84
2.	LES SYNTHÈSES INDIRECTES .....	86
3.	LES SYNTHÈSES DIRECTES .....	87
a.	Par échange isotopique (IEX) .....	87
b.	A partir d'un groupement partant .....	88
4.	LES FLUORATIONS AU <sup>18</sup> F SUPPORTÉES .....	93
	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>96</b>
	<b>CHAPITRE 2 : DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODOLOGIE SUPPORTÉE POUR LE MARQUAGE DE PLATEFORME IMID-SIFA AU FLUOR-18.....</b>	<b>98</b>
<b>I.</b>	<b>GENÈSE DU PROJET .....</b>	<b>100</b>
1.	L'OBJECTIF DU PROJET .....	100
2.	DESIGN DE LA PLATEFORME.....	100
<b>II.</b>	<b>SYNTHÈSE ET GREFFAGE DE LA PLATEFORME IMID-SIFA.....</b>	<b>102</b>
1.	SYNTHÈSE DE LA PLATEFORME .....	102
a.	Synthèse de la plateforme développée précédemment .....	102
b.	Optimisation de la synthèse des organolithiens .....	104

c.	Synthèse de la plateforme .....	106
d.	Stratégie alternative .....	107
2.	FONCTIONNALISATION DE LA PLATEFORME.....	108
a.	Etape d'iodation de la plateforme .....	109
b.	Couplage de Sonogahira.....	112
c.	Etape d'hydrogénation et de déprotection.....	116
d.	Fonctionnalisation pour la réaction de bioconjugaison .....	120
3.	GREFFAGE DE LA PLATEFORME.....	121
a.	Greffage sur une résine Tentagel®-NHS .....	122
b.	Greffage sur du polystyrène.....	124
4.	ETAPE DE BIOCONJUGAISON SUPPORTÉE.....	128
a.	Optimisation de bioconjugaison en milieu homogène .....	128
b.	Optimisation de la réaction de bioconjugaison à partir de la plateforme Imid-SiFA supportée .....	130
c.	Diversification des structures clickées.....	132
<b>III.</b>	<b>OPTIMISATION DE LA RADIOSYNTHÈSE .....</b>	<b>137</b>
1.	PREUVE DE CONCEPT.....	137
2.	EQUIPEMENTS UTILISÉS ET CONTRAINTES DE LA RADIOSYNTHÈSE.....	138
3.	LA SYNTHÈSE EN BATCH.....	139
a.	Preuve de concept de la synthèse directe supportée .....	140
b.	Mise en place d'une séquence de marquage direct robuste et reproductible en batch .	142
c.	Comparaison avec une synthèse indirecte en batch .....	149
4.	MARQUAGE DE LA BIBLIOTHÈQUE DE PRÉCURSEURS SUPPORTÉS.....	150
5.	RADIOMARQUAGE EN FLUX AVEC UNE CARTOUCHE .....	155
	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>161</b>
	<b>CHAPITRE 3 : VERS UNE APPLICATION DES IMID-SIFA SUPPORTÉS POUR L'IMMUNO-ONCOLOGIE... 163</b>	
<b>I.</b>	<b>INTRODUCTION À L'IMMUNO-ONCOLOGIE .....</b>	<b>165</b>
1.	QU'EST-CE QUE L'IMMUNO-ONCOLOGIE ? .....	165
2.	UTILISATION DE RADIOTRACEURS "CLASSIQUES" .....	168
<b>II.</b>	<b>MARQUAGE DES NANOBODIES PAR STRATÉGIE INDIRECTE .....</b>	<b>170</b>

1.	LES NANOBODIES.....	170
a.	Qu'est ce qu'un nanobody ? .....	170
b.	Marquage d'anticorps et de nanobodies .....	172
c.	Pré-targeting d'anticorps .....	177
2.	SYNTHÈSE DE LA NOUVELLE PLATEFORME IMID-SIFA.....	179
3.	RADIOMARQUAGE INDIRECT DE Nb .....	186
a.	Mise au point de la radiosynthèse du GP [ <sup>18</sup> F]195 .....	186
b.	Tests de différents protocoles de couplage avec le Nb.....	187
<b>III.</b>	<b>SYNTHÈSE DIRECTE : MARQUEUR DE LA GRANZYME B .....</b>	<b>195</b>
1.	LA GRANZYME B.....	195
2.	SYNTHÈSE DU PEPTIDE BIOCONJUGUÉ MARQUEUR DE LA GRANZYME B .....	197
<b>IV.</b>	<b>VERS LA SYNTHÈSE D'UNE SONDE BIMODALE.....</b>	<b>207</b>
1.	QU'EST-CE QU'UNE SONDE BIMODALE IO/TEP ? .....	207
a.	L'imagerie optique et les sondes bimodales .....	207
b.	Sondes bimodales IO/TEP existantes.....	209
2.	VERS LA SYNTHÈSE D'UNE SONDE BIMODALE À PARTIR D'UN PRÉCURSEUR IMID-SIFA SUPPORTÉ.....	212
	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>220</b>
	<b>CONCLUSION GÉNÉRALE.....</b>	<b>221</b>
	<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>223</b>
	<b>PARTIE EXPÉRIMENTALE .....</b>	<b>245</b>

# Abréviations et Notations

A	Numéro de masse (= nombre de protons + nombre de neutrons)
A	Activité (en Bq)
Ac	Acétate
AFP	(1-(3-azidopropyl)-4-(3-fluoropropyl)piperazine)
A <sub>m</sub>	Activité molaire
AMM	Autorisation de mise sur le marché
APF	Fluorure de 4-azidophénylacétyle
AS	Agent sacrificiel
Asp	Acide aspartique
AZT	Zidovudine (ou azidothymidine)
α	Alpha
β	Béta
BCG	Bacillus Calmette-Guerin
Bn	Benzyl
BZR	Récepteur benzodiazépine
CBT	2-Cyanobenzothiazole
CCM	Chromatographie sur couche mince
CE	Capture électronique
CH	Partie constante de la chaîne lourde des anticorps
CL	Partie constante de la chaîne légère des anticorps
CPA	Cellules présentatrices d'antigènes
cS <sub>N</sub> Ar	Substitution nucléophile aromatique concertée
CTC	Cellules T cytotoxiques
CuAAC	Cycloaddition alcyne-azoture catalysée au cuivre (I)
cycloRGD	Péptide cyclique Arginine-Glycine-Acide aspartique-Tyrosine
d	Doublet
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane
DBCO	Dibenzocyclooctyne
dc	Corrigé de la décroissance (decay corrected)
DCC	N,N'-dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
dd	Doublet de doublet
DFT	Density functional theory
DIAD	Azodicarboxylate de diisopropyle
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	N,N-diméthylformamide
DMP	Périodine de Dess-Martin

DMSO	Diméthylsulfoxyde
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimide
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropyléthylamine
DPBS	Solution tampon phosphate
DTE	dithioérythritol
DTT	dithiothréitol
δ	Déplacement chimique
EC	Electrocatalyseur
EDC	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
EDTA	acide éthylènediaminetétraacétique
ee	Excès énantiomérique
EMA	Agence européenne des médicaments
EOB	Corrigé à la fin du bombardement (End of bombardement)
eq	équivalent
Et	Ethyle
FAC	1-(2'-Déoxy-2'-fluoroarabinofuranosyl) cytosine
FBA	Acide fluorobenzoïque
FBAM	[4-fluoro-(benzylidène)aminoxyhexyl] maléimide
FBEM	Fluorobenzamide éthyl maléimide
FES	Fluorocœstradiol
FDA	U.S. food and drug administration
FDG	Fluorodésoxyglucose
FMT	6-fluoro-meta-tyrosine
Glu	Acide glutamique
γ	Gamma
HATU	hexafluorophosphate de (diméthylamino)- <i>N,N</i> -diméthyl(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-3-yloxy)méthaniminium
HFIP	1,1,1,3,3,3-héxafluoro-2-propanol
HcAbs	heavy-chain-only antibodies présent chez le camélidé
HOBt	Hydroxybenzotriazole
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
HOMO	Orbitale moléculaire la plus haute occupée
IEDDA	Réaction de Diels-Alder à demande d'électron inverse en électron
IEX	Echange isotopique (isotopic exchange)
Ile	Isoleucine
LUMO	Orbitale moléculaire la plus basse vacante
Ig G	Immunoglobuline G
IO	Imagerie optique
IR	Infra-rouge
IRM	Imagerie par résonance magnétique

K222	2.2.2-Cryptant (Kryptofix K2.2.2.)
m	multiplet
mCPBA	Acide metachloroperbenzoïque
Me	Méthyle
MOM	méthoxyméthyle
MS	Spéctrométrie de masse
NaAsc	Ascorbate de sodium
Nb/Nbs	Nanobody, anticorps à domaine unique
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
ndc	Non corrigé de la décroissance (no decay corrected)
NFSI	N-Fluorobenzenesulfonimide
NIR	Proche infra-rouge
NIS	N-iodosuccinimide
Ns	Nosylate
OTf	Triflate
PBS	Solution tampon phosphate salin (Phosphate buffer salin)
PC	Photocatalyseur
PEG	Polyéthylène glycole
Phe	Phénylalanine
PIDA	Diacétate diodobenzène
PIDTC	1,4-phénylène de diisothiocyanate
ppb	Partie par milliard
PQs	9,10-phénanthrènequinones
PSMA	Antigène spécifique de la prostate
PTC	Cation de transfert de phase
QMA	Ammonium quaternaire greffée sur silice
RA	Rendement d'activité (non corrigé de la décroissance)
RCP	Pureté radiochimique
RCY	Rendement radiochimique (corrigé de la décroissance)
RCC	Conversion radiochimique (rendement radioHPLC corrigé de la décroissance)
Rdt	Rendement
RMN	Résonance magnétique nucléaire (NMR)
RPM	Tour par minute
s	singulet
SAM	S-adénosyl-L-méthionine
SI	Système international
S <sub>E</sub> Ar	Substitution électrophile aromatique
SEC	Chromatographie par exclusion stérique
SFB	N-succinimidyl 4-fluorobenzoate
SiFA	Accepteur de fluorure à base de silicium

S <sub>N</sub>	Substitution nucléophile
S <sub>N</sub> Ar	Substitution nucléophile aromatique
SPAAC	chimie "click" azoture-cyclooctyne promue par tension de cycle
SPANAC	chimie "click" alcyne-nitrone promue par tension de cycle
SPE	Extraction en phase solide
SPI5	6,10-dioxaspiro[4.5]decane-7,9-dione
SPIAd	spiroadamantyl-1,3-dioxane-4,6-dione
SuFEX	Sulfure fluoride exchange
t	Triplet
t <sub>1/2</sub>	Temps de demi-vie
t <sub>a</sub>	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tétra-N-butylammonium
TBAB	bromure de tétra-N-butylammonium
TBAP	Perchlorate de tétra-N-butylammonium
TBSCI	tert-butyldiméthylsilyle
TBTA	Tris((1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl)amine
<sup>t</sup> Bu	Tert-Butyle
TCEP	(tris(2-carboxyethyl)-phosphine
TCO	Trans-cyclooctène
TDM	Tomodensitométrie
TE	Transfert monoélectronique
TEAB	Bromure de N-tétraéthylammonium
TEMP	Tomographie par émission monophotonique
TEMPO	((2,2,6,6-Tétraméthylpipéridin-1-yl)oxy)
TEP	Tomographie par émission de positron
TFA	Acide trifluoroacétique
TFE	Trifluoroéthanol
THF	Tétrahydrofurane
TIS	Triisopropylsilane
Ts	Tosyle
TSTU	tétrafluoroborate de N,N,N',N'-tétraméthyl-O-(N-succinimidyl)uronium
Tz	Tétrazine
UV	ultraviolet
VH	Partie variable de la chaîne lourde des anticorps
VHH	Partie variable de la chaîne lourde des HcAbs, Nanobody
VL	Partie variable de la chaîne légère des anticorps
X	Symbole de l'élément
Z	Numéro atomique (= nombre de protons)

# Unités et préfixes

Bq	Becquerel ( 1 Bq = 1 cp.s <sup>-1</sup> )
Ci	Curie (1 Ci = 37 GBq = 3,7 x 10 <sup>10</sup> Bq)
°C	Degrés Celsius
eV	électronVolt
f	Femto (10 <sup>-15</sup> )
k	Kilo (10 <sup>3</sup> )
kg	Kilogramme (SI)
G	Giga (10 <sup>9</sup> )
h	heure
M	Méga (10 <sup>6</sup> )
mbar	Millibar
min	Minute
m	Milli (10 <sup>-3</sup> )
m	Mètre (SI)
mol	Mole (SI)
μ	Micro (10 <sup>-6</sup> )
n	Nano (10 <sup>-9</sup> )
p	Pico (10 <sup>-12</sup> )
s	Seconde (SI)

# Introduction Générale

Depuis sa découverte, la radioactivité a permis de développer de nombreuses applications dans des domaines très variés tel que l'énergie, l'industrie agroalimentaire ou la santé (la médecine, l'industrie pharmaceutique). La médecine nucléaire, c'est-à-dire l'utilisation de la radioactivité à des fins médicales, a permis d'accéder à de nouveaux traitements de plus en plus précis et efficaces, mais également de développer de nouveaux outils de diagnostic se perfectionnant de jour en jour. Ainsi, une nouvelle discipline de la chimie est apparue et s'est développée : la radiochimie. Cette discipline étudie les propriétés chimiques des radioéléments et de la matière radioactive,<sup>1</sup> et permet de mettre en place des réactions chimiques mettant en jeu des radionucléides instables. L'incorporation de fluor-18 (un radioélément émetteur  $\beta^+$ ) dans des molécules, a contribué à l'essor d'une technique d'imagerie très sensible : la tomographie par émission de positrons (imagerie TEP). Cette technique est peu invasive, et permet d'observer le fonctionnement métabolique d'organes ou d'établir la position dans le corps d'une cible précise grâce à des radiotraceurs.

Le développement de radiotraceurs spécifiques est donc un enjeu global de santé publique, nécessitant de renouveler et d'améliorer au quotidien les méthodes de synthèse et les molécules permettant cette reconnaissance *in vivo*. Un des premiers défis du radiochimiste est donc de concevoir de nouvelles méthodes de synthèses et de purifications suffisamment robustes et rapides pour être compatibles avec les temps de demi-vie des radionucléides utilisés. C'est pourquoi, la synthèse sur supports solides, particulièrement employée pour la synthèse peptidique<sup>2</sup>, est très intéressante en radiochimie car elle permet de faciliter l'étape de purification et donc diminuer le temps nécessaire pour purifier le radiotraceur. Ainsi, la première synthèse supportée d'un médicament radioactif pour la radiothérapie, l'Azedra marqué à l'iode 131 (émetteur  $\beta^-$ ), a été acceptée en 2021 par la Food and Drug Administration (FDA) aux Etats-Unis.

Enfin, le développement de radiotraceurs doit être en cohérence avec le développement des traitements actuels. Par exemple, la recherche de nouveaux radiotraceurs permettant de suivre l'évolution et l'amélioration des traitements en oncologie et en immuno-oncologie est un domaine de l'imagerie nucléaire en pleine expansion, de part notamment l'aide potentielle qu'elle peut apporter au médecin lors du suivi de traitement.

---

<sup>1</sup> Guillaumont R., "Avant-propos" dans Radiochimie et Chimie sous rayonnement, *L'Actualité Chimique*, **2021**, n°460-461.

<sup>2</sup> Brown R. J. C. Recent developments in solid-phase organic synthesis. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1998**, 3293–3320.

Ce projet de thèse s'inscrit dans le cadre d'un contrat CIFRE entre le laboratoire ISM (Bordeaux) et le service Isotope Chemistry de la plateforme Integrated Drug Discovery (Sanofi, Vitry-sur-Seine) et porte sur la mise au point d'un nouvel outil polyvalent pour la fluoration au fluor-18 de dérivés de molécules biologiques, un accepteur de fluorure à base de silicium sur support solide.

Le manuscrit est organisé en trois chapitres. Le premier chapitre présente la radioactivité, les différentes techniques d'imagerie ainsi qu'un état de l'art des stratégies utilisées pour la synthèse de radiotraceurs marqués au fluor-18. Le second chapitre décrit la synthèse, le greffage sur support solide et la fonctionnalisation d'une molécule plateforme constituée d'un accepteur de fluorure à base de silicium (SiFA) ainsi que le radiomarquage au fluor-18 de ces précurseurs supportés. Enfin, le dernier chapitre est dédié aux différentes tentatives d'application de cette plateforme SiFA à l'immuno-oncologie.



# Chapitre 1 :

De la Radioactivité à la synthèse de  
radiotraceurs silylés





## I. La radioactivité et l'imagerie

### 1. La découverte de la radioactivité<sup>3,4</sup>

En 1895, Henri Becquerel découvre, par hasard, la radioactivité en manipulant des sels d'uranium devant des plaques photographiques. Ces sels d'uranium sont capables de noircir les plaques photographiques dans le noir. Il réalise alors que la présence d'objets permet de diminuer l'intensité des rayonnements atteignant la plaque permettant ainsi de dessiner les objets dessus. Il suppose l'existence de rayonnements liée à la présence d'uranium qu'il appellera "rayon uranique". En parallèle, l'imagerie médicale vit ses débuts dans le laboratoire de Wilhelm Röntgen. En 1895, le physicien allemand découvre également par hasard des rayons invisibles capables de passer à travers le corps humain, les rayons X. Bien que les deux découvertes présentent des propriétés similaires la communauté scientifique met du temps à faire le lien entre les rayons X de Röntgen et les "rayons uraniques" de Becquerel.

Röntgen se rend compte rapidement de l'impact que peut avoir la découverte des rayons X sur le domaine médical. Il réalise en 1896 la première radiographie de l'histoire en utilisant la main de sa femme. Ses travaux lui permettent d'obtenir le prix Nobel de physique en 1901. Cette technique d'imagerie se développe très vite et s'améliore. Par exemple, le temps de pose diminue rapidement : la première radiographie thoracique nécessite 30 minutes en 1896 contre 5 à 10 secondes en 1898. L'essor de cette technique s'accélère de nouveau durant la Première Guerre Mondiale. Marie Curie développe des ambulances de radiologie appelées "les petites curies" donnant à tous les soldats l'accès à la radiologie. La radiologie permet notamment aux chirurgiens de connaître la position des éclats d'obus dans le corps des patients avant toutes opérations.

Les travaux d'Henri Becquerel sont repris par le couple Pierre et Marie Curie qui découvrent la radioactivité naturelle en 1898. Ils isolent le Polonium-210 et le Radium-226. C'est Marie Curie qui introduira pour la première fois le terme de radioactivité. Les travaux d'Henri Becquerel, de Pierre et Marie Curie leur permettent d'obtenir le prix Nobel de Physique en 1903 pour la découverte de la radioactivité. En 1911, Marie Curie reçoit un second Prix Nobel en chimie pour la découverte et

---

<sup>3</sup> Zimmermann R., *La Médecine Nucléaire*, France, Ed. EDP Sciences, **2006**, ISBN : 2-86883-865-0.

<sup>4</sup> Pallardy G., Pallardy M.-J., "Histoire abrégée du radiodiagnostic et de l'imagerie médicale" dans *Histoire des sciences médicales*, **2007**, 41 (1), pp.34-40.

l'utilisation du Radium et du Polonium. Suite à cela de nombreuses expériences sont réalisées à travers le monde afin de comprendre les propriétés physiques de la radioactivité.

La radioactivité devient dès 1901 un outil thérapeutique. Suite à l'observation de brûlures liées à une exposition prolongée à des composés radioactifs, deux médecins français décident alors de soigner des affections tuberculeuses cutanées. C'est le début de la médecine nucléaire et de la radiothérapie.

La découverte en 1934 de la radioactivité artificielle par Frédéric et Irène Joliot-Curie est une nouvelle avancée spectaculaire. Ils sont capables de synthétiser au laboratoire des radionucléides avec des temps de demi-vie plus courts par rapport aux éléments radioactifs naturels. Ces radionucléides sont plus adaptés à la médecine nucléaire et permettent de développer la médecine nucléaire autant au niveau de la thérapie que de l'imagerie. Le couple obtient le prix Nobel de Chimie en 1935.

## 2. La radioactivité<sup>3</sup>

Un **élément chimique** (ou nucléide) désigne l'ensemble des entités (atomes, ions) possédant le même numéro atomique  $Z$  (nombre de protons) dans le noyau. Il est représenté de la façon suivante :

${}^A_ZX$  avec  $A$  : le nombre de masse (nombre de protons + nombre de neutrons).

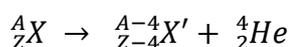
$X$  : le symbole de l'élément chimique.

Lorsque deux nucléides possèdent le même numéro atomique mais un nombre de neutrons différents, on dit qu'ils sont **isotopes**. La quantité d'isotope varie d'un élément à l'autre ainsi que leur stabilité.

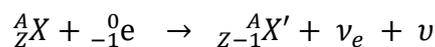
Le terme **radioactivité** désigne la capacité de certains nucléides à subir une transformation spontanée en un autre élément en émettant simultanément des particules de matière et de l'énergie. On parle alors de **radionucléide** ou de **radioisotope**, ce sont des isotopes instables.

Il existe 5 phénomènes radioactifs principaux (**Fig. 1**) :

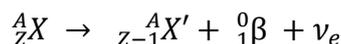
- **Le rayonnement  $\alpha$**  : désigne la libération d'une particule  $\alpha$  (hélium :  ${}^4_2He$ ). La particule  $\alpha$  ne peut pas traverser une feuille de papier rendant son exposition externe peu dangereuse. Elle est utilisée en médecine nucléaire pour réaliser de la radiothérapie. L'hélium étant plus lourd, cela permet de dégrader les cellules cancéreuses sur un champ d'action plus faible.



- **Le rayonnement  $\gamma$**  : n'est pas constitué de particules mais d'ondes électromagnétiques de longueur d'onde allant de 1 pm à 10 fm et dont l'énergie varie de quelques keV à plusieurs MeV. On parle alors de transition radioactive. Il est très pénétrant et donc dangereux. Il peut être ralenti avec du plomb ou du béton. Les émetteurs  $\gamma$  sont utilisés en médecine nucléaire en tant que radiotraceurs. L'exemple le plus utilisé est le Technétium-99 métastable ( $t_{1/2} = 6,02$  h) en imagerie Tomographie par émission monophotonique (TEMP).
- **Les rayons X** : sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde allant de 0,01 à 10 nm. Ils sont ralentis par la matière et sont donc utilisés pour faire des radiologies et de la tomodensitométrie (TDM). Il existe plusieurs méthodes pour les fabriquer :
  - Le bombardement avec des électrons d'une anode métallique. Cette technique entraîne deux mécanismes distincts de formation des rayons X.
    1. La vitesse de l'électron est suffisante pour perturber les couches électroniques internes de l'atome. La désexcitation de l'atome vers l'état fondamental entraîne l'émission de rayons X.
    2. Le ralentissement dans la matière des électrons produit des rayonnements de freinage pouvant donner lieu à la formation de rayons X.
  - **La capture électronique (CE)** ou désintégration  $\epsilon$  existe pour les radioéléments constitués d'un excès de protons par rapport aux neutrons. Le proton excédentaire se transforme en neutron uniquement si l'énergie est transférée à une orbitale interne. La CE émet un neutrino  $\nu_e$  tandis que le rayon X  $\nu$  sera émis par le passage d'un électron d'orbitale supérieure vers la première orbitale.



- **Le rayonnement  $\beta$**  : il s'agit de particules légères se déplaçant à grande vitesse. Leur dangerosité est plus importante.
  - **Les émetteurs  $\beta^-$**  : émettent un électron  $e^-$  et un anti-neutrino  $\bar{\nu}_e$  utilisés notamment en radiothérapie. Les électrons sont rapidement absorbés par la matière et peuvent engendrer des rayons X.
$${}^A_ZX \rightarrow {}^A_{Z+1}X' + {}^0_{-1}\beta + \bar{\nu}_e$$
  - **Les émetteurs  $\beta^+$**  : émettent un positron  $e^+$  et un neutrino  $\nu_e$  utilisé notamment pour l'imagerie TEP. Le positon s'annihile en rencontrant un électron et génère deux photons  $\gamma$  antiparallèle de 511 keV.



- **La fission nucléaire** : concerne les noyaux lourds excités. Ils se scindent en deux noyaux plus légers en libérant un rayon  $\gamma$  et un neutron.

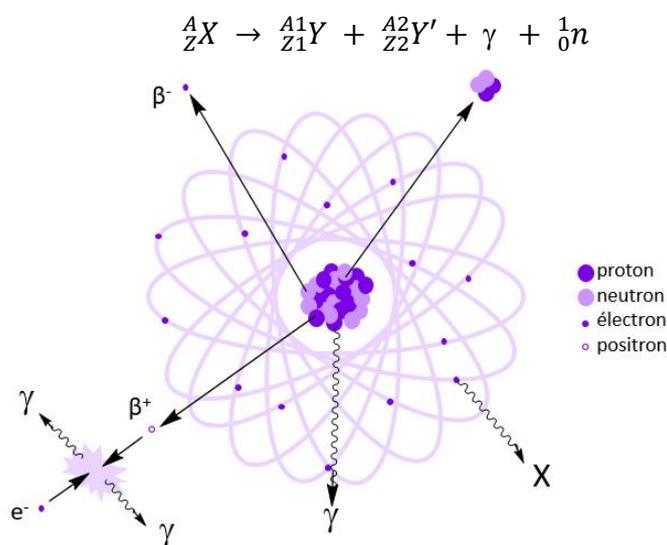


Figure 1 - Représentation des différentes méthodes de désintégration

La radioactivité est mesurée par l'**activité A** en Becquerel (Bq), c'est-à-dire le nombre de désintégration (ou coup) par seconde ( $1 \text{ Bq} = 1 \text{ cp.s}^{-1}$ ). Historiquement, l'activité était mesurée en Curie (Ci) soit le nombre de désintégration par seconde d'un gramme de radium ( $1 \text{ Ci} = 3,7 \times 10^{10} \text{ Bq}$ ). Les radioisotopes sont caractérisés par le type de désintégration radioactive qu'ils subissent mais également par leur **temps de demi-vie ( $t_{1/2}$ )**, c'est-à-dire le temps au bout duquel l'activité d'un élément radioactif est divisée par deux.<sup>5</sup>

Lors de la production de radionucléides, l'**activité molaire  $A_m$**  est une composante importante. Elle correspond à l'activité mesurée par quantité de matière ( $\text{Bq.mol}^{-1}$ ).<sup>3</sup>

En radiochimie, le réactif limitant est toujours le composé radioactif. C'est pourquoi les rendements sont calculés en prenant en compte l'activité. Il existe trois manières de calculer le rendement :

- Le **rendement d'activité (RA)** désigne le rapport entre l'activité finale et l'activité initiale sans prendre en compte la décroissance (ndc).
- Le **rendement radiochimique (RCY)** désigne le rapport entre l'activité finale isolée corrigée de la décroissance (dc) au début de la synthèse et l'activité initiale au moment de la correction.

<sup>5</sup> Coenen H.H. *et al.* Consensus nomenclature rules for radiopharmaceutical chemistry — Setting the record straight *Nuclear Medicine and Biology* **2017**, 55, v–xi.

- La **conversion radiochimique (RCC)** désigne le rapport entre l'activité finale estimée sur HPLC et corrigée de la décroissance au début de la synthèse et l'activité initiale au moment de la correction.

### 3. Les différentes techniques d'imagerie<sup>6</sup>

Les différentes techniques d'imagerie sont apparues au cours du 20<sup>ème</sup> siècle au rythme des découvertes scientifiques. Aujourd'hui, il existe de nombreuses techniques d'imagerie dont l'objectif est de diagnostiquer des maladies. L'imagerie médicale peut également être utilisée pour réaliser des suivis thérapeutiques, pour comprendre le fonctionnement métabolique du corps humain et pour comprendre la pharmacodynamie et la pharmacocinétique des médicaments développés.

Il existe deux types d'imagerie médicale :

- **L'imagerie anatomique**, servant à étudier la forme et la taille des différentes parties du corps,
- **L'imagerie fonctionnelle**, servant à visualiser des phénomènes biochimiques (le métabolisme), les fonctions et les propriétés des organes et des tissus (la physiologie). Par extension, l'imagerie moléculaire permet de visualiser des protéines ou des gènes.<sup>7</sup>

Les techniques principales d'imagerie anatomique utilisent majoritairement trois phénomènes physiques : les rayons X, la résonance magnétique et les ultrasons.

- Les rayons X sont utilisés pour réaliser des images des tissus les plus denses (squelette, poumons, ...). Les techniques principales sont la TDM et la radiologie.
- L'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet d'observer l'intensité la distribution spatiale des protons de l'eau dans le corps. L'IRM mesure le temps de relaxation des protons, c'est-à-dire le temps que met le proton à se réaligner au champ magnétique après avoir été excité par une onde radio.
- Les ultrasons sont utilisés lors des échographies et des échographies Doppler. A l'interface entre deux organes, une partie des ultrasons est réfléchi tandis que l'autre partie est transmise à l'organe suivant. Le temps mis par l'ultrason pour revenir permet de visualiser l'interface entre les tissus mous.

---

<sup>6</sup> Long N. (ed.), Wong W.-T. (ed.) *The chemistry of molecular imaging*, Wiley, **2015**, ISBN : 978-1-118-09327-6.

<sup>7</sup> Chen K., Chen X. Design and development of Molecular Imaging Probes. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2010**, 10, 1227-1236.

Les techniques d'imagerie fonctionnelle utilisent principalement deux types de rayonnement : la lumière visible et infrarouge (IR) et les rayonnements  $\gamma$ . Dans les deux cas, il est nécessaire d'injecter une sonde capable de se lier à une cible biologique précise via des interactions spécifiques. Lorsque la sonde est radioactive, on parle de radiotracteur.

- L'imagerie optique utilise différentes propriétés de la lumière tel que l'absorption, la fluorescence, la polarisation, etc... afin de créer un contraste. L'imagerie optique fluorescente est la plus utilisée.
- Les rayonnements  $\gamma$  sont utilisés pour deux techniques d'imagerie distincte la TEP et la TEMP. La différence majeure entre les deux techniques consiste en l'utilisation d'une sonde contenant respectivement un émetteur  $\beta^+$  et un émetteur  $\gamma$ . Pour l'imagerie TEP, c'est donc le phénomène d'annihilation du positron avec l'électron, engendrant deux rayonnements  $\gamma$ , qui est utilisé. Les deux rayonnements  $\gamma$  antiparallèles permettent de connaître la position exacte du radiotracteur dans le corps du patient. L'analyse est donc plus facile comparée à la TEMP utilisant des émetteurs  $\gamma$ . Cependant, la TEMP permet d'utiliser différents radiotraceurs simultanément car l'énergie des rayonnements  $\gamma$  d'un radioisotope à l'autre est différente, ce que ne permet pas la TEP.

Tableau 1 - Comparaison des techniques d'imageries les plus utilisées

Technique d'imagerie	Optique*	IRM	TEP	TEMP	TDM	Echographie
Type d'énergie électromagnétique	Visible - proche infrarouge	Ondes Radio	Rayons $\gamma$ (haute énergie)	Rayons $\gamma$ (basse énergie)	Rayons X	Ultrasons (haute fréquence)
Résolution spatiale	15-1000 nm	4-10 $\mu\text{m}$	1-2 mm	1-2 mm	12-200 $\mu\text{m}$	50-500 $\mu\text{m}$
Temps d'analyse	Secondes	Minutes - Heures	Minutes		Minutes	Secondes
Quantité de sondes chez le petit animal	10 $\mu\text{g}$ à 1mg	10 $\mu\text{g}$ à 1mg	Quelques ng	Quelques ng		10 $\mu\text{g}$ à 1mg
Utilisation clé	Visualisation de la structure des cellules	Anatomique fIRM (activité fonctionnelle : cerveau)	Imagerie métabolique-moléculaire		Imagerie des tumeurs aux poumons et aux os	Imagerie vasculaire

\*inconvenient : ne passe pas à travers les tissus

La plupart du temps, les techniques d'imagerie sont combinées les unes aux autres. L'imagerie TEP est rarement utilisée sans être couplée à une TDM ou une IRM. Cela permet de visualiser plus précisément dans quel organe le radiotraceur s'est fixé.

#### 4. Les radioéléments utilisés en imagerie TEP

Suite au développement de l'imagerie TEP et des radioisotopes artificiels, plusieurs émetteurs  $\beta^+$  ont été développés. L'utilisation d'un radionucléide dépend des paramètres chimiques et physiques de celui-ci : le temps de demi-vie ( $t_{1/2}$ ), le rendement positronique, l'énergie du positron et la chimie.

Le  $t_{1/2}$  est la plus grande contrainte concernant l'utilisation du radioélément et doit être particulièrement pris en compte lors de la production du radioélément. Plus le  $t_{1/2}$  est court, plus le rendement doit être élevé et la production proche du site d'imagerie. Le  $t_{1/2}$  doit également rester dans la gamme du temps de demi-vie biologique du radiotraceur, c'est-à-dire le temps au bout duquel la moitié du composé ingéré ou inhalé est dégradé par des processus biologiques ou éliminé de l'organisme. Cependant, il doit également correspondre au temps nécessaire pour que le radiotraceur atteigne la cible biologique afin d'avoir des images exploitables. Par exemple, après injection d'un anticorps dans le corps, cela peut prendre plusieurs heures à une journée pour que celui-ci se fixe sur le récepteur. Les radionucléides tel que le  $^{64}\text{Cu}$ , le  $^{89}\text{Zr}$  et l' $^{124}\text{I}$  sont donc plus adaptés pour les longs temps de distribution (**Tableau 2**). En revanche, le  $^{11}\text{C}$  et le  $^{18}\text{F}$  sont mieux adaptés pour les petites structures moléculaires, circulant souvent plus rapidement.

Enfin, le  $t_{1/2}$  va déterminer le temps maximal pour réaliser la synthèse, la purification, la formulation et enfin l'injection. En effet, il est préférable que ces étapes combinées n'excèdent pas trois fois le  $t_{1/2}$  du radioélément choisi.<sup>8</sup>

Le **rendement positronique** désigne le nombre de positrons émis sur 100 désintégrations. En effet, pour certains isotopes, il est possible qu'une autre réaction de désintégration ait lieu.

L'**énergie du positron** désigne l'énergie cinétique maximale qu'il peut avoir. Plus son énergie est grande plus sa vitesse est grande. Ainsi, il sera capable de parcourir une plus grande distance avant d'être annihilé. Ceci diminue donc la résolution de l'imagerie TEP.<sup>9</sup>

---

<sup>8</sup> Li Z., Conti P.S. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2010**, 62, 1031–1051.

<sup>9</sup> Miller, P. W.; Long, N. J.; Vilar, R.; Gee, A. D. Synthesis of  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{15}\text{O}$ , and  $^{13}\text{N}$  Radiolabels for Positron Emission Tomography. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 8998–9033.

Enfin la synthèse du radiotracer est possible en fonction de la réactivité de chaque radioélément. Ainsi, certains éléments peuvent faire des liaisons covalentes, tandis que d'autres seront intégrés au radiotracer par chélation.

**Tableau 2 - Caractéristiques des principaux émetteurs  $\beta^+$  utilisés en imagerie TEP**

Radioélément	Temps de demi-vie	$E_{\max}$ (keV)	Rendement $\beta^+$ (%)	Chimie
$^{11}\text{C}$	20,3 min	961	100	covalente
$^{64}\text{Cu}$	12,8 h	656	19	chélation
$^{18}\text{F}$	109,8 min	634	97	covalente et chélation
$^{68}\text{Ga}$	67,6 min	1899	89	chélation
$^{124}\text{I}$	4,17 jours	2100	23	covalente
$^{13}\text{N}$	9,97 min	1190	100	covalente
$^{15}\text{O}$	2,1 min	1732	100	covalente
$^{89}\text{Zr}$	78,4 h	897	23	chélation

### 5. Le fluor-18

Le fluor-18 est un élément de choix du fait de son temps de demi-vie de 109,8 min, permettant le transport du composé radioactif du lieu de production au centre d'imagerie. De plus, des synthèses compliquées contenant plusieurs étapes peuvent être potentiellement réalisées. Le fluor-18 permet également de réaliser des analyses plus longues comparé à d'autres radioisotopes. Enfin, l'énergie du positron est suffisamment faible (634 keV) pour permettre une bonne résolution d'image d'environ 1 mm avec un rendement positronique de 97%.<sup>5</sup>

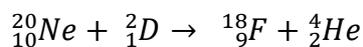
Chimiquement, le fluor-18 est capable de faire des liaisons covalentes ce qui permet une meilleure stabilité *in vivo*. Il est produit par bombardement dans un cyclotron. Il existe deux méthodes principales de production<sup>10</sup> du fluor-18 conduisant soit au difluor-18 soit au fluorure-18, possédant des réactivités différentes :

- La synthèse du difluor-18 à partir du Néon-20 (isotope du néon majoritaire) : le néon-20 (gazeux) est bombardé avec des deutérons pour obtenir un difluor-18 électrophile utilisant une réaction de fusion nucléaire  $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ . L'inconvénient de cette méthode est le flux de difluor stable présent dans le cyclotron. Cela permet d'éviter l'adsorption du difluor-18 sur la

---

<sup>10</sup> Coenen H. H. "Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions." Dans *The driving force of molecular imaging*. Schubiger P. A (éd.), Lehmann L. (éd.), Friebe M. (éd.), Heidelberg, Springer, 2007, ISBN : 3-540-32623-5.

plaque de bombardement lors de la synthèse, mais diminue l'activité molaire moyenne du difluor-18 à  $1 \times 10^{-1}$  GBq. $\mu\text{mol}^{-1}$ . De plus, le rendement maximal théorique est limité à 50% car pour chaque atome de  $^{18}\text{F}$  il y a un atome de  $^{19}\text{F}$  stable.



- La synthèse du fluorure-18 dans l'eau enrichie en oxygène-18 :  $[^{18}\text{O}]\text{OH}_2$  est bombardée avec des protons pour obtenir un fluorure-18 nucléophile  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ . L'activité molaire est en moyenne de 600 GBq.mol $^{-1}$ .



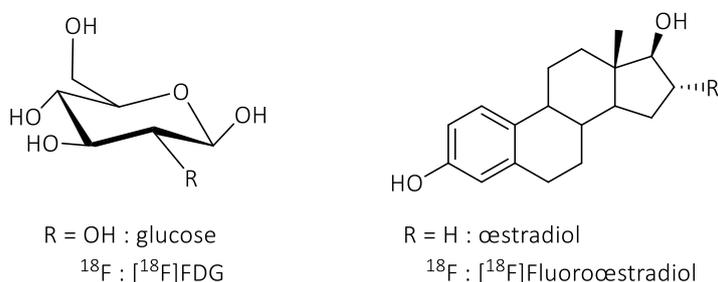
La seconde méthode de production permet d'avoir une meilleure activité molaire et est la plus utilisée de nos jours. Les radiosynthèses utilisant un gaz de difluor-18 radioactif sont plus difficile à mettre en place pour des questions de sécurité et de réactivité. De plus, le fluorure-18 est également plus facile à purifier et à concentrer par cette méthode en utilisant des résines échangeuses d'anion tel que les ammoniums quaternaires sur résine (QMA).

## II. La synthèse de radiotraceurs au fluor-18

### 1. Stratégie de synthèses des radiotraceurs

Il existe 2 types de radiotraceurs, les radiotraceurs où le radioélément est incorporé dans la structure généralement de faible poids moléculaire, et les radiotraceurs bioconjugués où le marquage se fait *via* un groupement prosthétique.

Le premier type de radiotraceur consiste à utiliser des molécules de faible poids moléculaire dont l'activité biologique est connue, telles que le glucose ou l'œstradiol (**Fig. 2**). Dans le cas du glucose, une fonction chimique hydroxyle est modifiée pour insérer le fluor-18.<sup>11</sup> Il faut faire attention à ce que cette modification chimique impacte peu l'activité biologique nécessaire et l'affinité de la structure avec la cible biologique *in vivo*. Dans le cas de l'œstradiol, un hydrogène présent sur l'œstradiol est remplacé par un fluor-18.<sup>12</sup> Le fluor est considéré comme un bioisostère de l'hydrogène car leurs rayons de van der Waals sont proches, respectivement de 1,35 Å et de 1,20 Å. Donc le remplacement d'un hydrogène par un fluor produit une faible modification de la structure du composé dans l'espace. Ainsi, l'activité biologique est peu ou non modifiée.<sup>13</sup>



**Figure 2** - Structures de molécules marquées avec un faible poids moléculaire

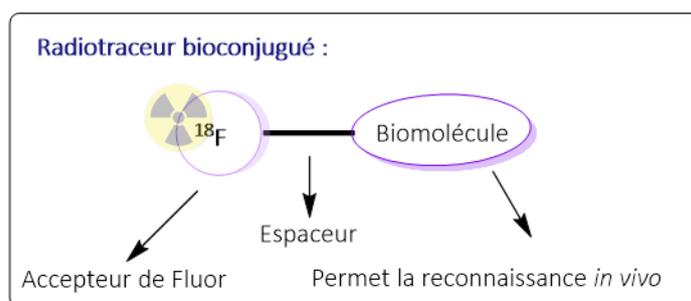
La seconde stratégie de synthèse consiste à utiliser un bioconjugué (**Fig. 3**), c'est-à-dire que le radiotraceur est formé de deux parties. La première partie est constituée d'un accepteur de fluorure sur lequel le fluor-18 se fixe. La seconde partie désigne la structure biologique permettant la

<sup>11</sup> Ido, T.; Wan, C.-N.; Casella, V.; Fowler, J. S.; Wolf, A. P.; Reivich, M.; Kuhl, D. E. Labeled 2-Deoxy-D-Glucose Analogs. 18F-Labeled 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose, 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Mannose and 14C-2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1978**, 14 (2), 175–183.

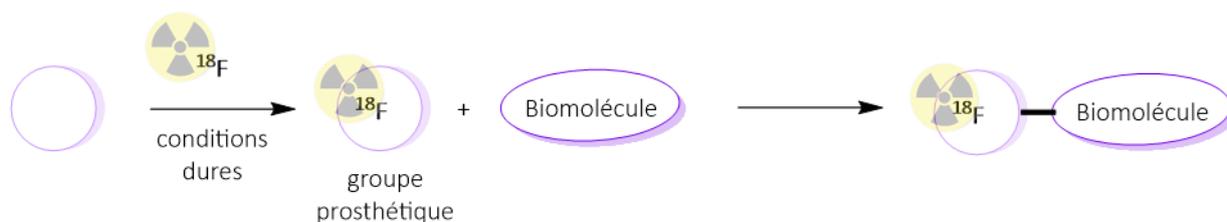
<sup>12</sup> Kiesewetter D. O., Kilbourn M. K., Landvatter S. W., Heiman D. F., Katzenellenbogen J. A., Welch M. J. Preparation of four fluorine-18-labeled estrogens and their selective uptakes in target tissues of immature rats. *J. Nucl. Med.* **1984**, 25, 1212-1221.

<sup>13</sup> Ametamey S. M., Honer M., Schubiger P. A. Molecular Imaging with PET, *Chemical Reviews*, **2008**, 108, 5.

reconnaissance *in vivo*, généralement une biomolécule.<sup>5</sup> Entre les deux parties, il est courant d'ajouter un espaceur permettant de les éloigner stériquement afin de ne pas impacter l'activité biologique de la biomolécule. L'espaceur peut être constitué d'une chaîne polyéthylène glycol ou d'une chaîne d'acides aminés constituée de glycines. Cela permet également de moduler la pharmacocinétique du traceur (le temps de résidence du radiotraceur dans l'organisme et sa stabilité).<sup>14</sup>



**Synthèse indirecte :**



**Synthèse directe :**

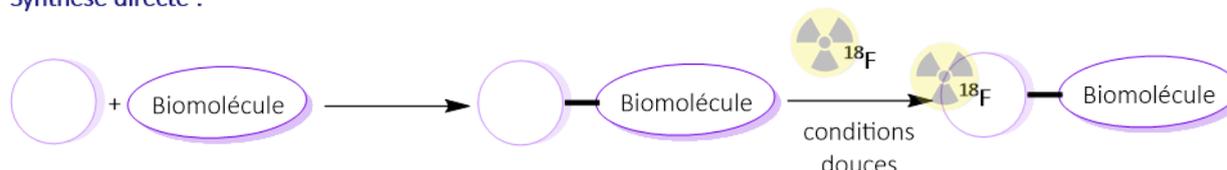


Figure 3 - Synthèse de radiotraceurs bioconjugués

Dans le cas d'un radiotraceur bioconjugué, il existe deux stratégies de synthèse (Fig. 3). La première consiste à réaliser une synthèse indirecte. Dans ce cas, la radiosynthèse a lieu en deux temps : le premier temps est la fluoration du groupement prosthétique, et le second temps est la réaction de couplage entre la biomolécule et l'accepteur de fluorure déjà marqué. Ainsi, l'étape de fluoration peut être mise au point dans des conditions non compatibles avec la biomolécule. Cependant, le fait

<sup>14</sup> Jamous M., Tamma M. J., Gourni E., Waser B., Reubi J.C., Maecke H. R., Mansi R. PEG spacers of different length influence the biological profile of bombesin-based radiolabeled antagonists. *Nuclear Medicine and Biology*, 2014, 41, 464–470.

d'ajouter une seconde étape peut diminuer le rendement d'activité global, et ajoute généralement une étape de purification intermédiaire chronophage.

La seconde stratégie possible est la synthèse directe du radiotraceur bioconjugué. Cependant, cela implique que l'étape de radiomarquage soit compatible avec la biomolécule. De plus, il arrive souvent lors de la synthèse directe que le réactif soit très proche chimiquement du composé final, ce qui peut rendre la séparation des deux composés compliquée voire impossible.

Les réactions permettant de réaliser des radiofluorations sont nombreuses. Dans un premier temps, les réactions électrophiles ainsi que les réactions nucléophiles seront développées. Ensuite, d'autres types de radiosynthèses seront détaillés tel les échanges isotopiques, les réactions de photo-radiofluoration, les radiofluorations par électrochimie et les radiosynthèses enzymatiques. Enfin, différentes stratégies de radiosynthèse seront abordées, comme par exemple les synthèses indirectes et les synthèses supportées.

## 2. Les réactions électrophiles de fluorations

### a. Réaction d'addition électrophile sur un alcène

En 1978, l'une des premières radiofluoration électrophile a été mise au point pour la radiosynthèse du 2- $^{18}\text{F}$ fluoro-2-désoxy-*D*-glucose ( $^{18}\text{F}$ FDG) par l'équipe de Wolf. Le  $^{18}\text{F}$ FDG a été synthétisé à partir de difluor-18 gazeux bullant en présence du *D*-glucal **1** (Schéma 1).<sup>11</sup> La synthèse comporte deux étapes car le précurseur **1** était protégé. La déprotection a ensuite été effectuée en milieu acide pour obtenir le  $^{18}\text{F}$ FDG avec un rendement radiochimique de 8% et une pureté radiochimique supérieure à 98%. L'activité molaire obtenue était de 8750 mCi.mmol<sup>-1</sup> soit 0,324 GBq.μmol<sup>-1</sup>. De plus, un sous-produit a été obtenu (le  $^{18}\text{F}$ -fluorodésoxymannose) diminuant ainsi le rendement radiochimique.

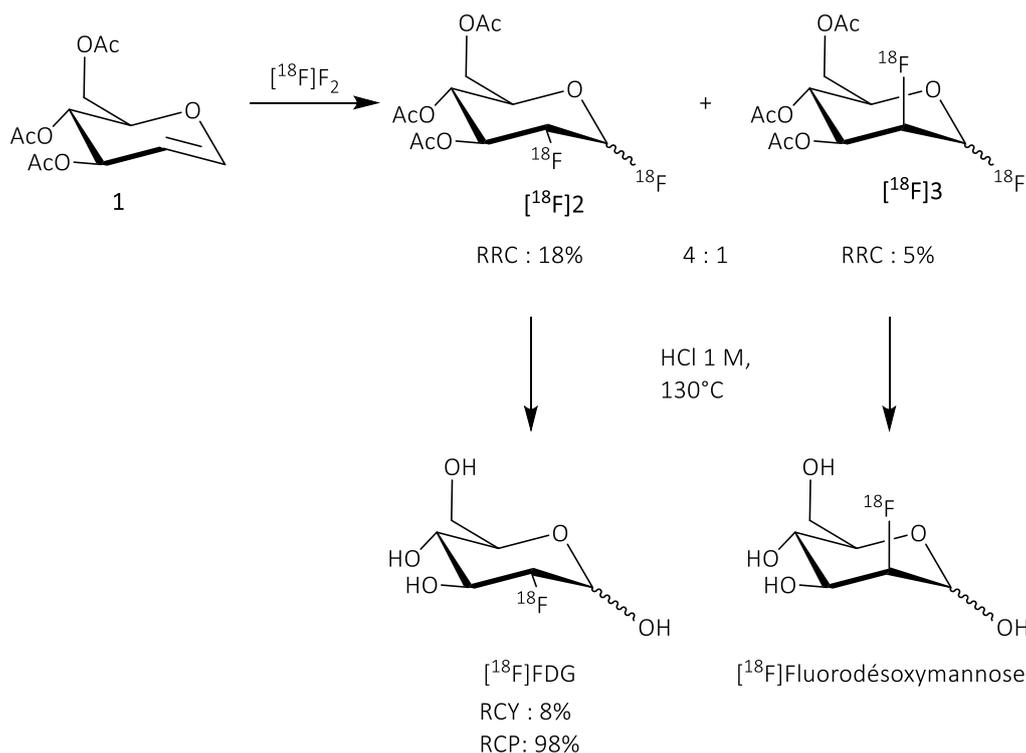


Schéma 1- Première synthèse décrite du  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  utilisant du difluor-18 électrophile

Le  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  est le radiotraceur le plus utilisé à ce jour. Il permet d'observer les différents tissus possédant une surconsommation de sucre, notamment les cellules cancéreuses.<sup>15</sup>

### b. Réaction de Substitution Electrophile Aromatique ( $\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$ )

L'une des premières synthèses de la 6- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-L-dopamine}$  est une substitution électrophile aromatique ( $\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$ ) réalisée sur la *L-dopamine* non protégée mise au point en 1984. La 6- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-L-dopamine}$  est un radiotraceur encore utilisé aujourd'hui. Il permet d'observer la voie métabolique de la dopamine ainsi que les différentes voies dopaminergiques du cerveau. Il est utilisé pour comprendre l'impact et la modification du système dopaminergique présynaptique dans la maladie de Parkinson ainsi que chez les patients atteints de schizophrénie.<sup>16</sup>

<sup>15</sup> Meller J., Sahlmann C.-O., Scheel A. K. 18F-FDG PET and PET/CT in Fever of Unknown Origin, *J. Nucl. Med.*, **2007**, 48, 1, 35-45.

<sup>16</sup> Pretze M., Wängler C., Wängler B. 16- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-L-DOPA}$ : A Well-Established Neurotracer with Expanding Application Spectrum and Strongly Improved Radiosyntheses, *BioMed Research International*, **2014**, Vol. 2014, Article ID 674063.

La réaction a été réalisée à  $-65^{\circ}\text{C}$  avec le fluorure d'hydrogène (HF) comme solvant, dans lequel bulle un flux de  $^{18}\text{F}$ -difluor (**Schéma 2**).<sup>17</sup> Le composé [ $^{18}\text{F}$ ]5 a été obtenu avec un rendement radiochimique de 3% après purification. Deux autres composés [ $^{18}\text{F}$ ]6 et [ $^{18}\text{F}$ ]7 ont également été obtenus dans des quantités non négligeables, rendant l'étape de purification compliquée. Cette méthode de radiofluoration électrophile ne permet pas de réaliser une réaction régiosélective. Pour améliorer la radiosynthèse des acides de Lewis, tel que le trifluorure de bore ( $\text{BF}_3$ ), ont été utilisés permettant ainsi d'obtenir des rendements radiochimiques jusqu'à 18%.<sup>18</sup>

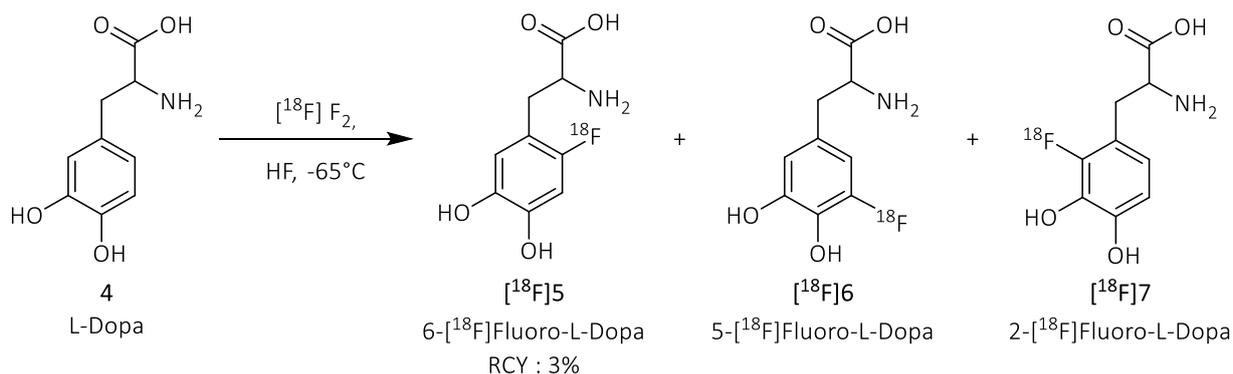


Schéma 2 - Synthèse électrophile aromatique du [ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-L-Dopa

### c. Réaction électrophile sur des aryles organométalliques

Afin de pallier les problèmes de régiosélectivité et de faibles rendements radiochimiques obtenus avec la  $\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$ , divers précurseurs organométalliques ont été synthétisés tel que des organosilanes, des organomercuriques ou encore des organostannanes.

La réaction de désilylation<sup>19</sup> (**Schéma 3A**) a permis d'obtenir le composé désiré [ $^{18}\text{F}$ ]5 avec un rendement radiochimique de 8% en 60 min. L'activité molaire de ce composé était de  $2,5 \times 10^{-2}$  GBq. $\mu\text{mol}^{-1}$ .

La réaction de démercuration<sup>20</sup> (**Schéma 3B**) a permis d'obtenir [ $^{18}\text{F}$ ]5 en 50 min avec un rendement radiochimique de 11%. L'activité molaire était de  $2,6 \times 10^{-3}$  GBq. $\mu\text{mol}^{-1}$  et le taux de contamination au mercure était inférieur à 20 ppb.

<sup>17</sup> Fimau G., Chirakal R., Garnett E. S. Aromatic Radiofluorination with [ $^{18}\text{F}$ ]fluorine Gas: 6-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-L-Dopa, *J. Nucl. Med.*, **1984**, 25, 1228-1233.

<sup>18</sup> Chirakal R., Fimau G., Garnett E. S. High yield synthesis of 6-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-L-dopa, *J. Nucl. Med.*, **1986**, 27, 3, 417-421.

<sup>19</sup> Diksic M., Farrokhzad S., New synthesis of fluorine-18- labeled 6-fluoro-L-dopa by cleaving the carbon-silicon bond with fluorine, *J. Nucl. Med.*, **1985**, 26, 1314-1318.

<sup>20</sup> Luxen A., Perlmutter M., Bida G. T. *et al.*, Remote, semiautomated production of 6-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-L-dopa for human studies with PET, *Applied Radiation and Isotopes*, **1990**, 41, 275-281.

Enfin, la réaction de déstannylation<sup>21</sup> (**Schéma 3C**) a donné le meilleur résultat en synthétisant [<sup>18</sup>F]5 avec un rendement de 25% en 50 min avec une activité molaire de  $3 \times 10^{-2}$  GBq.μmol<sup>-1</sup>.

Ces précurseur organométalliques ont donc permis de réaliser des réactions régiosélectives, mais il est à noter que dans les trois cas une faible activité molaire liée à la dilution du [<sup>18</sup>F]difluor dans du [<sup>19</sup>F]difluor (<1 GBq. μmol<sup>-1</sup>).

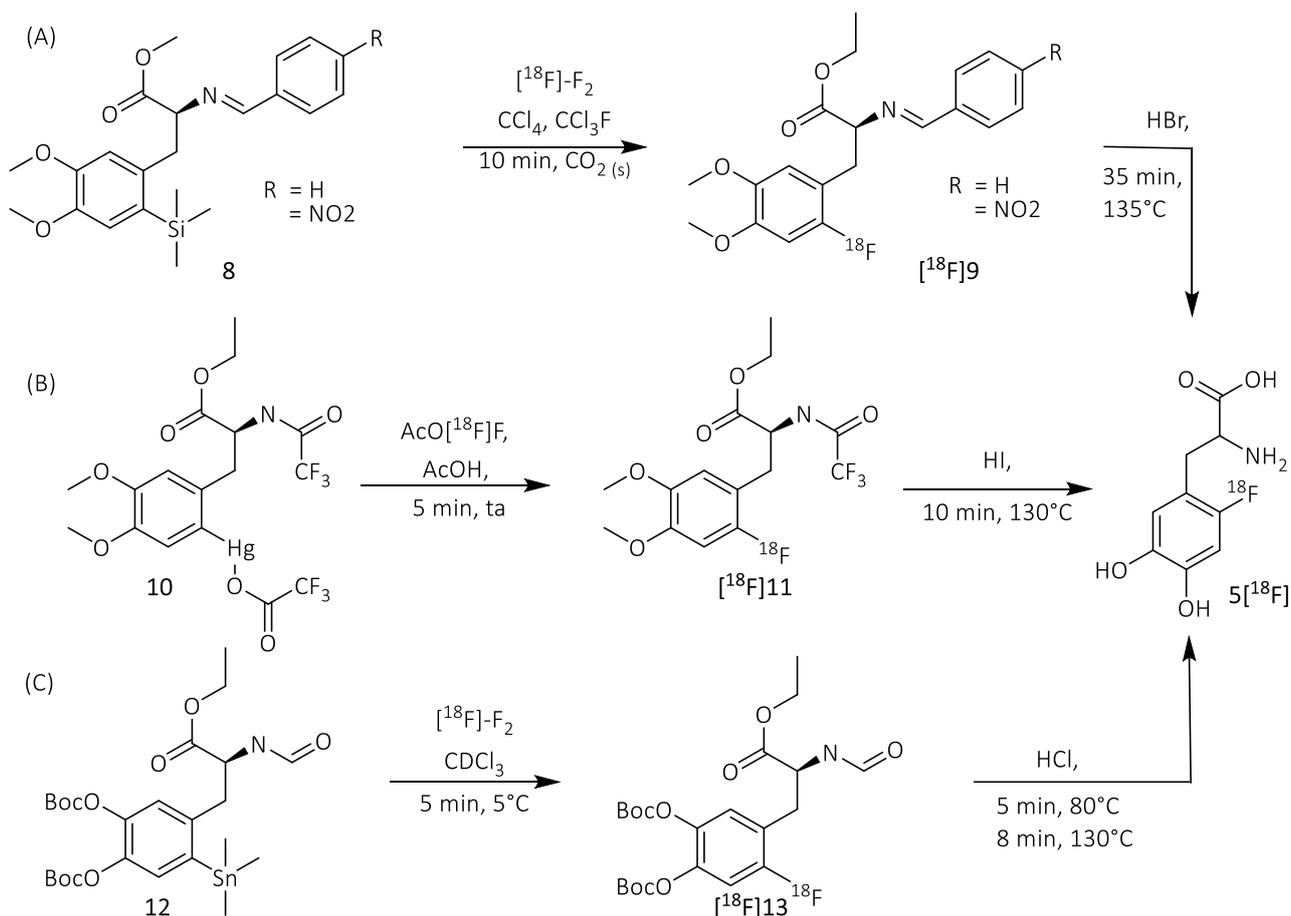


Schéma 3 - Synthèse de la 6-[<sup>18</sup>F]-Fluorodopamine à partir de différents organométalliques

#### d. Développement de réactions électrophiles par inversion de polarité : "umpolung"

Une inversion de polarité ou "umpolung" consiste à inverser la polarité d'un groupe fonctionnel<sup>22</sup>, c'est-à-dire que des réactifs électrophiles contenant du fluor-18 ont été synthétisés à partir de fluorure-18 nucléophile.

<sup>21</sup> Fuchtnner F., Zessin J., Mäding P., Wüst, Aspects of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-L-DOPA preparation, *Nuklearmedizin*, **2008**, 47, 62–64.

<sup>22</sup> Seebach D., Methods of Reactivity Umpolung, *Angew. Chem. Int.*, **1979**, 18, 4, 239–258.

Il existe plusieurs réactifs permettant de faire des inversions de polarité à partir de complexes organométalliques, mais également à partir de composés iodés hypervalents.

❖ "Umpolung" réalisée par un catalyseur organométallique au palladium

Différents complexes organométalliques ont été mis au point pour réaliser des inversions de polarité, tels que des complexes de palladium<sup>23</sup> ou de nickel<sup>24</sup> développés par l'équipe de T. Ritter. Le complexe de palladium **15** (Schéma 7) est synthétisé à partir du complexe **14** en présence de K<sub>222</sub> et de KHCO<sub>3</sub> dans l'acétone. Le complexe a été purifié par filtration et mis en présence d'un composé de palladium (II) **16** à 85°C dans l'acétone. Le transfert du fluor-18 d'un complexe à l'autre a permis d'oxyder le palladium (II) **16** en palladium (IV). Ensuite, une élimination réductrice a été effectuée afin d'obtenir le composé final contenant un fluor-18. Les rendements radiochimiques corrigés de la décroissance ont été évalués entre 10 et 33% sur les deux étapes de synthèse, avec une durée totale de radiosynthèse inférieure à 1h.

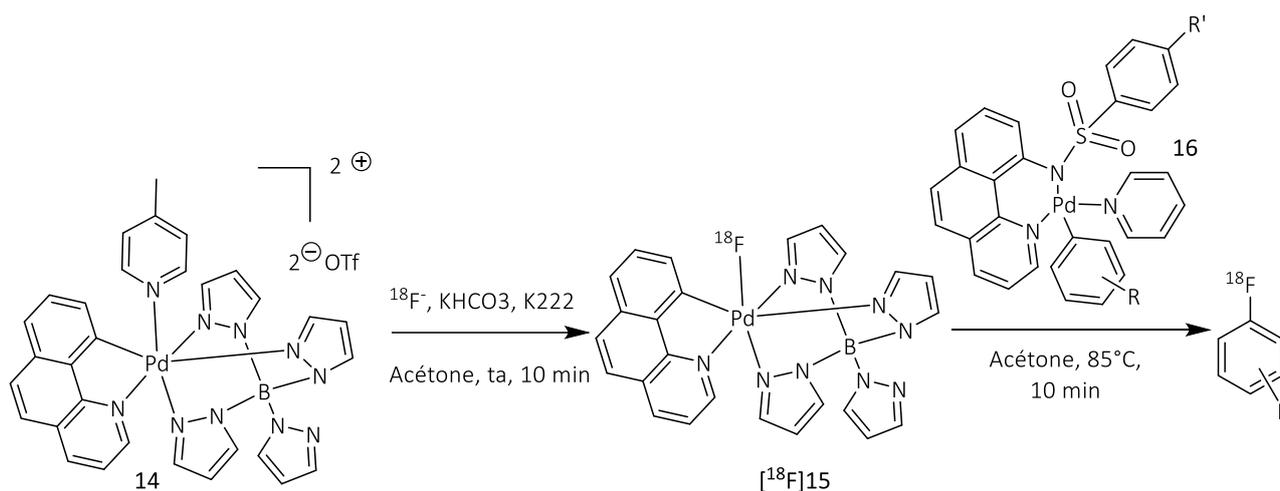


Schéma 4 - Complexe de palladium avec inversion de polarité

L'utilisation de palladium en dernière étape pourrait poser problème compte tenu des contaminations au palladium. A la fin de la synthèse, il a été mesuré que le composé purifié contient uniquement 5 ppb de palladium, ce qui est inférieur aux recommandations internationales concernant les contaminations au palladium (maximum 1000 ppb).

<sup>23</sup> Lee E., Kamlet A. S., Powers D. C., Neumann C. N., Boursalian G. B., Furuya T., Choi D. C., Hooker J. M., Ritter T., A Fluoride-derived electrophilic Late-Stage Fluorination reagent for PET imaging, *Science*, **2011**, 334, 639.

<sup>24</sup> Lee E., Hooker J. M., Ritter T. Nickel-mediated oxidative fluorination for PET with aqueous [<sup>18</sup>F] fluoride. *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 17456–17458.

❖ "Umpolung" réalisée à partir d'un iode- $\lambda^3$  hypervalent

Dans ce cas, le composé d'iode hypervalent [ $^{18}\text{F}$ ]**18** a été synthétisé à partir de fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF) (Schéma 5). Une substitution nucléophile a été mise au point en utilisant un groupement tosylate comme groupement partant.<sup>25</sup>

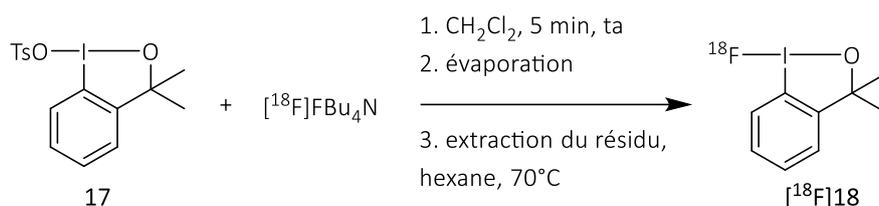


Schéma 5 - Synthèse du réactif d'iode hypervalent

L'iode hypervalent [ $^{18}\text{F}$ ]**18** a été mis en présence d'un *o*-styrilamide **19** afin de réaliser une réaction électrophile de fluorocyclisation de Gulder<sup>26</sup> (Schéma 9). Le composé final [ $^{18}\text{F}$ ]**20** a été obtenu avec un rendement radiochimique corrigé de la décroissance de 10%. L'activité molaire obtenue était de 396 GBq.μmol<sup>-1</sup>.

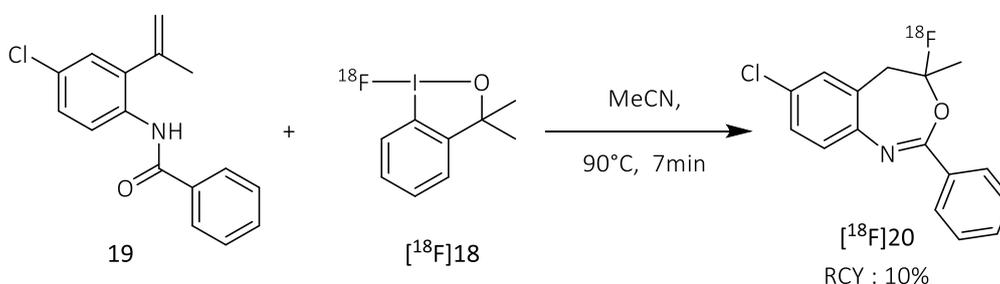


Schéma 6 - Réaction électrophile de fluorocyclisation

Les réactions permettant de réaliser des réactions électrophiles avec des ions fluorures ont l'avantage d'avoir des activités molaires bien supérieures à celles utilisant directement le [ $^{18}\text{F}$ ]difluor.

<sup>25</sup> Cortés González M. A., Nordeman P., Bermejo Gómez, Meyer D. N., Antoni G., Schouc M., Szabo K. J. [ $^{18}\text{F}$ ]fluorobenziodoxole: a no-carrier-added electrophilic fluorinating reagent. Rapid, simple radiosynthesis, purification and application for fluorine-18 labelling, *Chem. Commun.*, **2018**, 54, 4286-4289.

<sup>26</sup> Ulmer A., Brunner C., Arnold A. M., Pöthig A., Gulder T. A Fluorination/aryl migration/Cyclization Cascade for the Metal-Free Synthesis of Fluorobenzoxazepines, *Chem. – Eur. J.*, **2016**, 22, 3660.

### 3. Les réactions nucléophiles de fluorations

Les fluorures sont généralement peu nucléophiles que ce soit en présence d'eau du fait de leur capacité à former des liaisons H fortes, mais également dans les solvants organiques à cause de leurs faibles solubilités. Afin d'augmenter la nucléophilie et la solubilité de l'anion fluorure-18 dans les solvants organiques, des additifs peuvent être utilisés tels que les catalyseurs de transfert de phase comme le cryptant Kryptofix 222 (K222, un éther couronne) ou des cations organiques encombrés tel que le tétra-*n*-butylammonium (formant avec le fluorure le TBAF). L'utilisation de bases peu nucléophiles est également nécessaire afin d'éviter des réactions non désirées.

#### a. Les substitutions nucléophiles aliphatiques

Dans un premier temps, les réactions nucléophiles les plus décrites dans la littérature sont les réactions de substitution nucléophile de type S<sub>N</sub>2.

La première synthèse utilisant une réaction S<sub>N</sub>2 a été développée pour la synthèse du [<sup>18</sup>F]FDG (Schéma 7). Le précurseur **21** était un mannose acétylé possédant en position 2 un groupement partant triflate. La première étape était la réaction de substitution nucléophile. La seconde étape était une hydrolyse acide permettant de déprotéger les acétyles.<sup>27</sup>

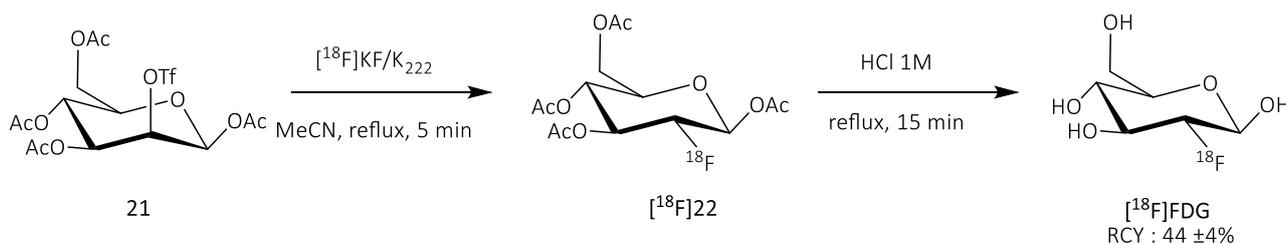


Schéma 7 - Synthèse du [<sup>18</sup>F]FDG à partir d'un ion fluorure-18

En comparaison avec la radiosynthèse du [<sup>18</sup>F]FDG électrophile, le rendement était nettement meilleur. La diminution du rendement de la réaction électrophile était notamment due à la formation d'un sous-produit électrophile pouvant également impacter l'étape de purification. Les activités

<sup>27</sup> Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G. Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2-[<sup>18</sup>F]-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution, *J. Nucl. Med.* **1986**, 27 (2), 235–238.

molaires n'ont pas été mesurées mais il est possible de supposer que celle-ci était meilleure pour la synthèse nucléophile.

La plupart des radiotraceurs possédant une autorisation de mise sur le marché (AMM) aujourd'hui ont été synthétisés en utilisant une réaction de substitution de type  $S_N2$ .

## b. Les substitutions nucléophiles aromatiques

Pour réaliser une réaction de substitution nucléophile aromatique ( $S_NAr$ ), il est nécessaire d'utiliser un groupement partant efficace qui laissera sa place au fluor-18 (Schéma 8).

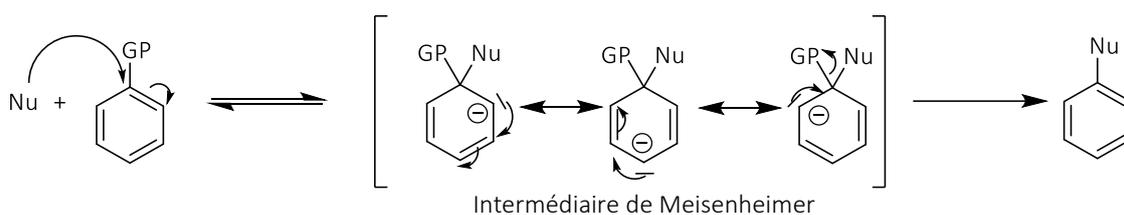


Schéma 8 - Mécanisme de  $S_NAr$

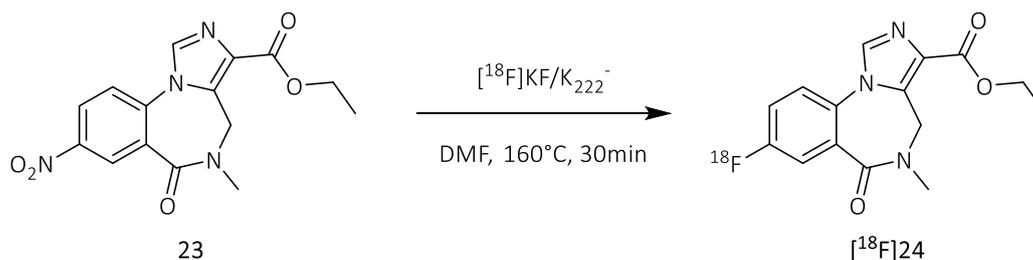
### ❖ $S_NAr$ sur un cycle aromatique

Pour ce faire, le cycle aromatique a été activé par un groupement électroattracteur en position *ortho* ou *para* (tel que  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$  ou les groupements carbonyles) par rapport au groupe partant. La mise en place des  $S_NAr$  nécessitent d'utiliser un solvant polaire aprotique ainsi que des températures en moyenne plus élevées comparées aux températures de réactions nucléophiles de type  $S_N2$ .<sup>28</sup> Les deux groupes partants les plus utilisés pour les fluorations nucléophiles ont été les fonctions nitro et le triméthylammonium.<sup>29</sup> Des précurseurs constitués de composés halogénés et de sels de sulfonium ont également été mis au point. De nouveaux groupements partants ont été développés dans l'optique de réaliser des  $S_NAr$  plus rapides et dans des conditions plus douces. Par exemple, en 2017, il a également été démontré que la radiofluoration aromatique sur une *para*-nitro-*N*-arylsydnone<sup>30</sup> peut être réalisée. De plus, dans ces conditions, la sydnone s'est révélée être un meilleur groupe partant que le groupement nitro.

<sup>28</sup> Jacobson O., Kiesewetter D. O., Chen X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes, *Bioconjugate Chem.*, **2015**, 26, 1–18.

<sup>29</sup> Tredwell M., Gouverneur V.  $^{18}F$  Labeling of Arenes, *Angew. Int. Ed. Chem.*, **2012**, 51, 11426–22437.

<sup>30</sup> Narayanam M. K., Ma G., Champagne P. A., Houk K. N., Murphy J. M. Synthesis of [ $^{18}F$ ]Fluoroarenes by Nucleophilic Radiofluorination of *N*-Arylsydnone, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2017**, 56, 42, 13006–13010.



**Schéma 9** - Synthèse directe du [ $^{18}\text{F}$ ]flumazenil avec un précurseur contenant une fonction nitro

Un exemple représentatif de cette stratégie a été la synthèse directe de [ $^{18}\text{F}$ ]flumazenil ([ $^{18}\text{F}$ ]FMZ) (Schéma 9).<sup>31</sup> Un séchage azéotropique a d'abord été effectué, puis, le fluorure-18 a été élué en présence de  $\text{K}_{222}$ . Enfin, une solution du précurseur nitro dans le DMF a été ajoutée dans le réacteur. Le mélange a été chauffé pendant 30 min à 160°C. Le rendement radiochimique obtenu après purification par HPLC était de 30% avec une synthèse comprise entre 75 et 80 min.

Le [ $^{18}\text{F}$ ]FMZ permet l'évaluation quantitative des récepteurs de benzodiazépine (BZR). Le radiotraceur a été utilisé notamment pour évaluer la zone épileptogène<sup>32</sup>, c'est-à-dire la zone minimale responsable de crises épileptiques. Cela permet de vérifier après chirurgie que toute la zone épileptogène a bien été enlevée. Le [ $^{18}\text{F}$ ]FMZ a également été utilisé pour d'autres maladies touchant le cerveau, comme par exemple, la maladie d'Alzheimer.

Les conditions dures utilisées lors d'une  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  sont non compatibles avec des biomolécules sensibles. Cependant, cette réaction peut être utilisée pour la synthèse de groupements prosthétiques en stratégie indirecte.

#### ❖ $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ sur un cycle hétéroaromatique

Afin de réaliser des radiosynthèses directes dans des conditions plus douces, les cycles aromatiques contenant un atome d'azote tel que les pyridines ou les quinoléines ont été utilisés. Ils n'ont pas besoin d'être activés par un groupement électroattracteur car ils possèdent déjà un déficit en électron.

L'un des derniers radiotraceurs ayant obtenu une autorisation d'utilisation en études cliniques était le [ $^{18}\text{F}$ ]DCFPyl.<sup>33</sup> La synthèse directe du [ $^{18}\text{F}$ ]DCFPyl a totalement été automatisée avec une pyridine

<sup>31</sup> N. N. Ryzhikov, N. Seneca, R. N. Krasikova, N. A. Gomzina, E. Shchukin, O. S. Fedorova, D. A. Vassiliev, B. Gulyás, H. Hall, I. Savic, C. Halldin. Preparation of highly specific radioactivity [ $^{18}\text{F}$ ]flumazenil and its evaluation in cynomolgus monkey by positron emission tomography, *Nucl. Med. Biol.* **2005**, 32, 109.

<sup>32</sup> Kahane P., Landré E. La zone épileptogène The epileptogenic zone, *Neurochirurgie*, **2008**, 54, 265–271.

<sup>33</sup> Bouvet V., Wuest M., Jans H.-S., Janzen N., Genady A. R., Valliant J. F., Benard F., Wuest F. Automated synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]DCFPyl via direct radiofluorination and validation in preclinical prostate cancer models, *EJNMMI Research*, **2016**, 6, 40.

substituée par un triméthylammonium. La première étape consistait à réaliser un séchage azéotropique de 5 min du [ $^{18}\text{F}$ ]TBAF, puis, celui-ci a été ajouté au précurseur **25** dans de l'acétonitrile et chauffé pendant 10 min à 60°C. Enfin, plusieurs étapes de déprotection du composé [ $^{18}\text{F}$ ]26 conduisaient à l'obtention du traceur final. La synthèse durait 55 min au total, permettant d'obtenir le [ $^{18}\text{F}$ ]DCFPyl avec un rendement radiochimique de  $23 \pm 5\%$  ( $n = 10$ ) (Schéma 10).

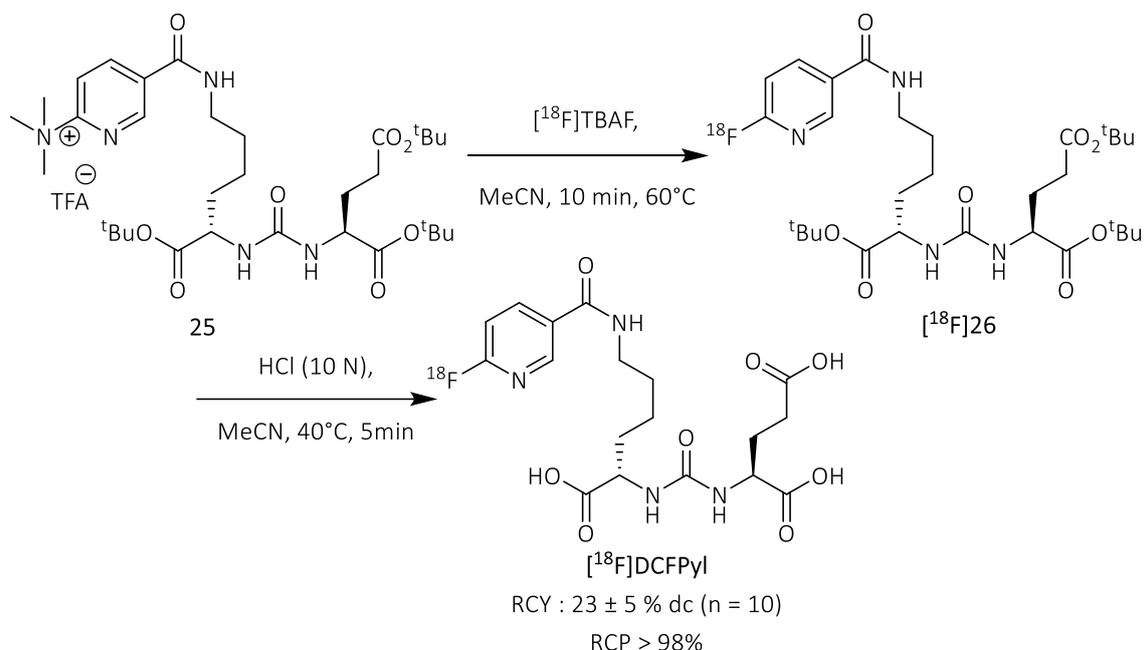


Schéma 10 - Synthèse directe d'un dérivé de ligand du PSMA marqué grâce à une réaction de  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$

Le [ $^{18}\text{F}$ ]DCFPyl est un radiotraceur TEP ciblant l'antigène membranaire spécifique de la prostate (PSMA) et permet de visualiser les cancers de la prostate. Ce type de cancer n'est pas observable avec le [ $^{18}\text{F}$ ]FDG à cause de l'élimination naturelle des sucres par les urines. La vessie se trouvant devant la prostate, il est impossible de faire la distinction entre un potentiel cancer de la prostate et l'accumulation de sucre dans les urines.

#### ❖ Les substitutions nucléophiles aromatiques passant par un cation arylium

Il existe actuellement deux réactions  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  monomoléculaires. La première réaction est la réaction de Balz-Schiemann<sup>34</sup> développée en 1927 par les deux chimistes du même nom. La seconde réaction est la réaction de Wallach<sup>35</sup>. Cette réaction a été développée en 1886 mais est considérée comme une variante de la réaction de Balz-Schiemann. Dans les deux cas, la réaction passe par un sel

<sup>34</sup> Balz G., Schieman G. Über aromatische Fluorverbindungen, I.: Ein neues Verfahren zu ihrer Darstellung, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, **1927**, 60, 5, 1186-1190.

<sup>35</sup> Wallach, O. Ueber das Verhalten einiger Diazo- und Diazoamidoverbindungen, *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, **1886**, 235, 3, 233-255.

d'aryldiazonium qui se dégrade thermiquement pour former un cation arylium (Schéma 11). La réaction peut être utilisée pour synthétiser des fluoroaryles uniquement si le contre-ion du sel d'aryldiazonium est un tétrafluoroborate ( $\text{BF}_4^-$ ). Ces deux réactions sont considérées comme régiospécifiques, c'est-à-dire qu'elles sont orientées par les groupements fonctionnels présents sur le cycle aromatique.

❖ Réaction de Balz-Schiemann

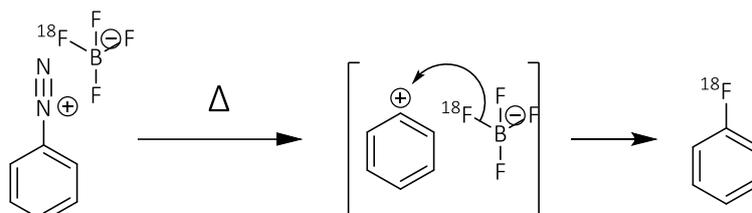


Schéma 11 - Mécanisme de la réaction de Balz-Schiemann

Il existe peu d'exemples appliqués à la radiochimie, mais une synthèse de la  $^{18}\text{F}$ 5-fluoro-*L*-dopa [ $^{18}\text{F}$ ]6 a été développée (Schéma 12).<sup>36</sup> Dans un premier temps, un échange isotopique a été réalisé avec le sel tétrafluoroborate d'aryldiazonium directement dans l'eau de bombardement après la réaction nucléaire  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  pour obtenir [ $^{18}\text{F}$ ]27. L'échange isotopique a lieu pendant 20 min à 60°C. Une fois le milieu réactionnel évaporé à sec, le résidu a été repris dans du xylène. La réaction a été chauffée pendant 20 min à 120°C. Le composé [ $^{18}\text{F}$ ]28 a été déprotégé en présence de HBr à 14% dans l'eau pendant 20 min à 100°C. La synthèse durait 100 min au total, avec un rendement radiochimique de 54%. Cette méthode a conduit à la racémisation du composé [ $^{18}\text{F}$ ]6. L'étape finale de purification a été permise par une colonne chirale permettant de séparer les deux énantiomères pour obtenir un rendement radiochimique de la  $^{18}\text{F}$ 5-fluoro-*L*-dopa de 24%.

<sup>36</sup> Argentini M., Wiese C., Weinreich R. Syntheses of 5-fluoro-D/L-dopa and [ $^{18}\text{F}$ ]5-fluoro-*L*-dopa, *Journal of Fluorine Chemistry*, **1994**, 68, 141-144.

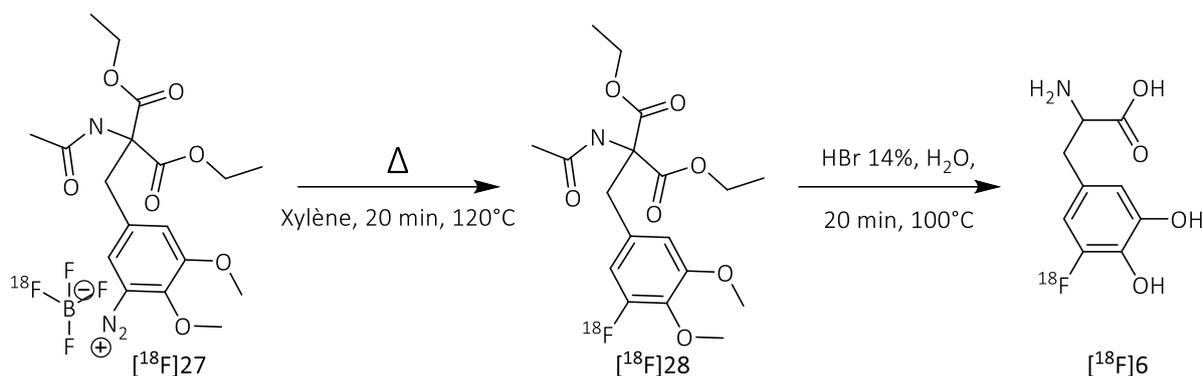


Schéma 12 - Radiomarquage direct de la  $[^{18}\text{F}]5$ -fluoro-L-dopa utilisant une réaction de Balz-Schiemann

Cependant, l'utilisation d'un contre-ion  $\text{BF}_4^-$  permet des échanges isotopiques entre les quatre fluorures, diminuant de manière drastique l'activité molaire du composé final. De plus, les composés aryl diazotriazoles ont été compliqués à synthétiser et à purifier.

#### ❖ La réaction de Wallach

La réaction de Wallach est plus facile à mettre en place car elle nécessite un aryltriazène. En milieu acide, l'aryltriazène a été décomposé pour former un sel d'aryl-diazonium *in situ* dont le contre-ion était la base conjuguée de l'acide. La décomposition a été suivie par une réaction de Balz-Schiemann. Les deux étapes ont été réalisées en one-pot (Schéma 13).

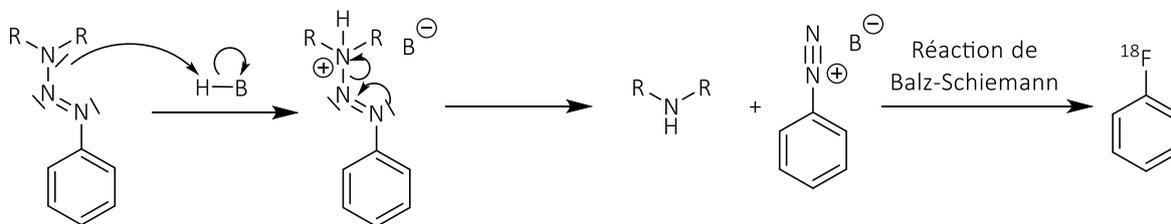


Schéma 13 - Mécanisme de la réaction de Wallach

Dans la plupart des cas, un aryltriazène cyclique a été utilisé. La réaction "one-pot" donnait généralement de très faibles rendements, comme pour la synthèse du  $[^{18}\text{F}]$ halopéridol (Schéma 14).<sup>37</sup> Pour activer la réaction, l'ajout de fluor-19 était parfois nécessaire, ce qui diminue malheureusement l'activité molaire. Ces deux réactions présentaient donc des limites expliquant le peu d'exemples décrits dans la littérature.

<sup>37</sup> Kilbourn M. R., Welch M. J., Dence C. S., Tewson T. J., Saji H., Maeda M. Carrier-added and no-carrier-added syntheses of  $[^{18}\text{F}]$ spiroperidol and  $[^{18}\text{F}]$ haloperidol, *The Int. Journal of Applied Radiation and Isotopes* **1984**, 35 (7), 591–598.

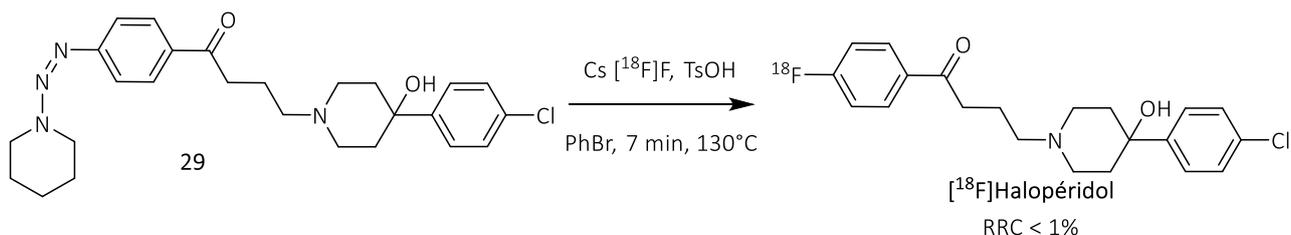


Schéma 14 - Synthèse de la  $[^{18}\text{F}]\text{halopéridol}$  en utilisant la réaction de Wallach

### c. Les substitutions nucléophiles aromatiques concertées (cSNAr)

Les substitutions nucléophiles aromatiques concertées désignent les réactions possédant un mécanisme concerté, c'est-à-dire que l'addition et l'élimination se font en même temps.<sup>38</sup> Il y a une distorsion de la liaison covalente entre le cycle aromatique et le groupement partant qui permet au nucléophile de prendre sa place (Schéma 15). Ce mécanisme a été proposé pour la première fois lors de la réduction par des hydrures de potassium de cycles aromatiques halogénés. Les expériences montrent qu'en présence de  $\text{K}_{222}$ , les rendements s'améliorent et la vitesse de réaction aussi. L'absence d'un dégagement de dihydrogène et l'absence de formation de biphenyle permet d'exclure tous les mécanismes aromatiques existants. Ce mécanisme imaginé pour l'ion hydrure a été par la suite étendu aux halogénures.<sup>39</sup>

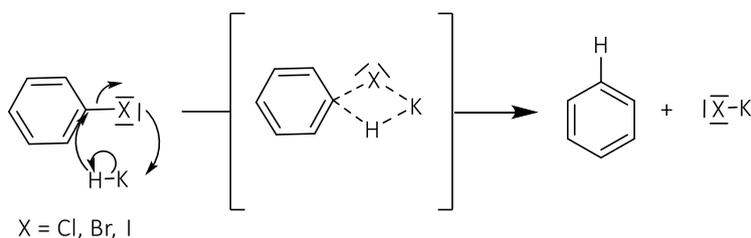


Schéma 15 - Mécanisme de  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  concertée

#### ❖ Les déoxyfluorations des phénols

Ce mécanisme a été notamment utilisé pour décrire les déoxyfluorations des phénols.<sup>40</sup> La première étape de cette fluoration "one-pot" consistait à former un uronium **31** à partir du chlorure de chloroimidazolium **30** et d'un phénol. Une addition du fluor-18 a eu lieu sur le carbone de l'uronium

<sup>38</sup> Handel H., Pasquini M. A., Pierre J. L. Effets de cryptands et activation de bases : réduction des halogénures de phényle par l'hydrure de potassium, *Tetrahedron* **1980**, 36 (22), 3205–3208.

<sup>39</sup> Fry S. E., Pient N. J., Effects of Molten Salts on Reactions. Nucleophilic Aromatic Substitution by Halide Ions in Molten Dodecyltributylphosphonium Salts, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 6400-6402.

<sup>40</sup> Neumann C. N., Hooker J. M., Ritter T. Concerted nucleophilic aromatic substitution with  $^{19}\text{F}^-$  and  $^{18}\text{F}^-$ , *Nature*, **2016**, 534, 7607, 369–373.

permettant de rapprocher le nucléophile (fluorure-18) et le carbone aromatique portant la fonction hydroxyle pour obtenir  $[^{18}\text{F}]\mathbf{32}$ . C'est à ce moment qu'intervient le mécanisme de réaction  $\text{cS}_{\text{N}}\text{Ar}$ , le fluor-18 réagit sur le carbone phénolique en même temps que l'oxygène crée une double liaison sur l'imidazole. On obtient finalement le cycle aromatique avec un fluor-18 et une urée cyclique  $\mathbf{33}$  (Schéma 16).

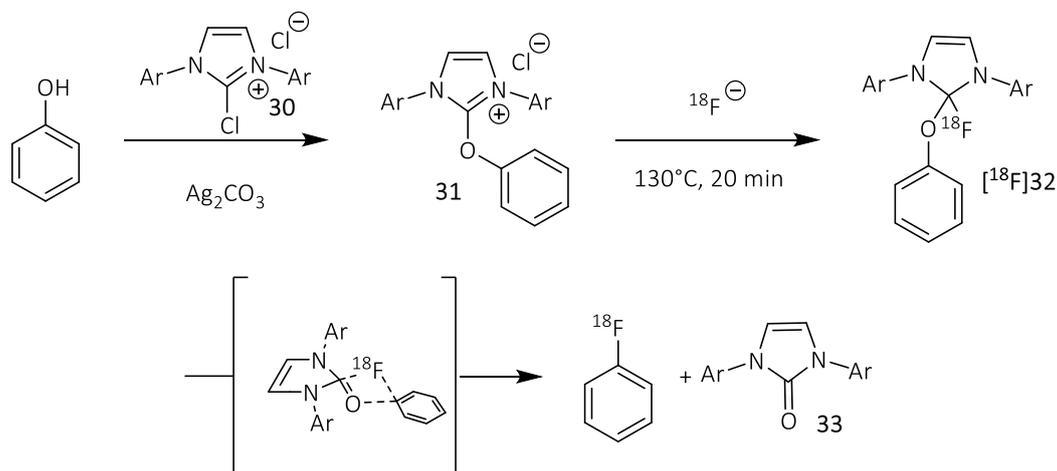


Schéma 16 - Déoxyfluoruration des phénols

De nombreux substrats ont été synthétisés en utilisant cette réaction, mais seul le  $[^{18}\text{F}]\mathbf{35}$  a été isolé à partir du composé  $\mathbf{34}$  (Schéma 17). Il a été obtenu avec un rendement radiochimique de 27% et une activité molaire de  $3,03 \text{ Ci} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$  soit  $112 \text{ GBq} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ .<sup>38</sup>

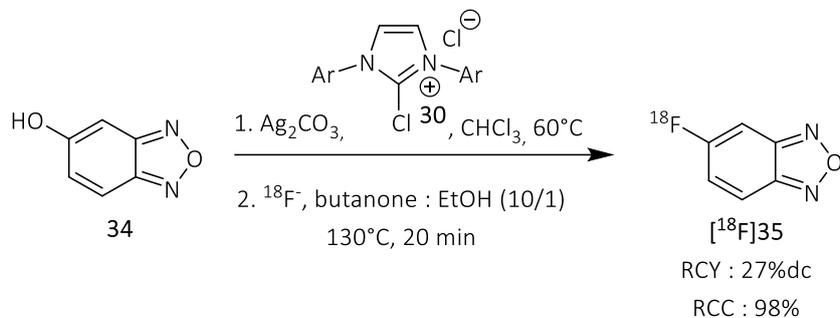


Schéma 17 - Synthèse du  $[^{18}\text{F}]\mathbf{35}$  par déoxyfluoruration

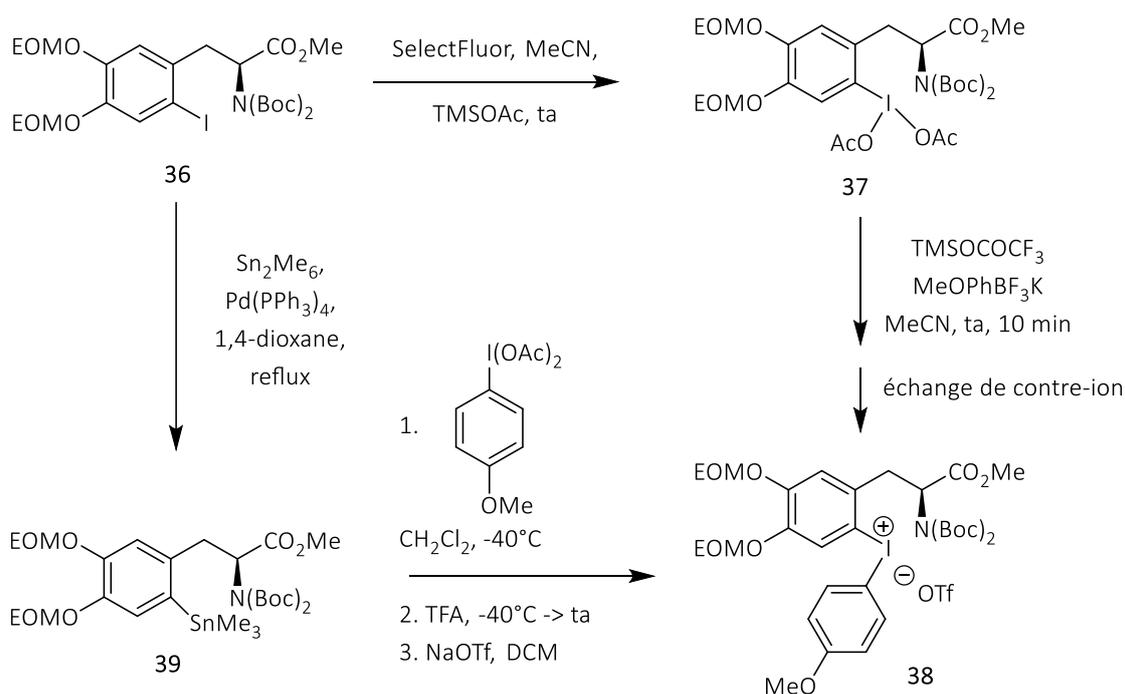
#### ❖ Les précurseurs diaryliodonium

Ce mécanisme a également été décrit pour les sels d'iodoniums réagissant avec un ion fluorure.<sup>41</sup> Les sels de diaryliodoniums ont été compliqués à synthétiser. Dans cette étude sur la  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6}$ -fluoro-*L*-

<sup>41</sup> Maisoinal-Besset A., Serre A., Ouadi A., Schmitt S., Canitrot D., Léal F., Miot-Noirault E., Brasse D., Marchand P., Chezal J.-M. Base/Cryptand/Metal-Free Automated Nucleophilic Radiofluorination of  $[^{18}\text{F}]\text{FDOPA}$  from Iodonium Salts: Importance of Hydrogen Carbonate Counterion, *European Journal of Organic Chemistry* **2018**, 2018, 48, 7058–7065.

dopa [ $^{18}\text{F}$ ]5, le précurseur a été synthétisé de deux manières différentes (**Schéma 18**). La première synthèse, inspirée de la publication de Kuik *et al*<sup>42</sup>, consistait en l'oxydation de l'iodoarène **36** par du Selectfluor<sup>®</sup> pour former le difluoro(aryl)- $\lambda^3$ -iodane. Un échange de ligand *in situ* a été réalisé avec des acétates pour former le composé **37**. Puis le sel de diaryliodonium **38** a été synthétisé par un second échange de ligand. Une succession d'échanges du contre-ion (3 étapes de synthèses différentes) a été réalisée pour obtenir un contre-ion triflate. Cette synthèse a permis d'obtenir le précurseur **38** avec un rendement de 36%. Ce rendement était plus faible que celui décrit par l'équipe de Kuik *et al* (63%) sûrement à cause de la purification finale sur colonne de silice.

La seconde synthèse consistait à passer par un organostannane **39** sur lequel un diacétate(aryl)- $\lambda^3$ -iodane réagissait en présence de TFA. Cette étape permettait d'obtenir le sel de diaryliodonium avec un contre-ion trifluoroacétate. Un échange d'anions a ensuite été effectué pour obtenir le précurseur final possédant un contre-ion triflate. Dans ce cas, le précurseur désiré **38** a été obtenu avec un rendement total de 53%.



**Schéma 18** - Synthèse du précurseur constitué d'un sel de diaryliodonium

<sup>42</sup> Kuik W.-J., Kema I. P., Brouwers A. H., Zijlma R., Neumann K. D., Rudi A.J.O., Dierckx R. A. J. O., DiMaggio S. G., Elsinga P. H. In Vivo Biodistribution of No-Carrier-Added 6- $^{18}\text{F}$ -Fluoro-3, 4-Dihydroxy-L-Phenylalanine ( $^{18}\text{F}$ -DOPA), Produced by a New Nucleophilic Substitution Approach, Compared with Carrier-Added  $^{18}\text{F}$ -DOPA, Prepared by Conventional Electrophilic Substitution, *J. Nucl. Med.*, **2015**, 56, 106–112.

Dans un premier temps, l'équipe de Kuik<sup>42</sup> a développé une radiosynthèse en présence de diglyme anhydre à 140°C pendant 5 min, suivie d'une déprotection dans un mélange eau/éthanol avec de l'acide sulfurique à 140°C pendant 5 min pour obtenir après purification le produit désiré [<sup>18</sup>F]5 avec un rendement radiochimique corrigé après la fin du bombardement (EOB), de 14 ± 4% et un *ee* supérieur à 99%. La réaction a duré 117 min au total. L'activité molaire obtenue était de 11 ± 2 x 10<sup>3</sup> GBq.μmol<sup>-1</sup>.

La seconde synthèse développée par l'équipe de Chezal<sup>41</sup> (Schéma 19) a été réalisée dans du toluène à 110°C pendant 10 min. Une déprotection en milieu acide de [<sup>18</sup>F]40 a permis d'obtenir le produit final avec un rendement radiochimique compris entre 27 et 38 %, et une activité molaire entre 170 et 230 GBq.μmol<sup>-1</sup>. Le rendement radiochimique et l'activité molaire ont été plus intéressantes que pour les S<sub>E</sub>Ar présentées précédemment. De plus, le temps total de réaction était plus court car il était de 64 min.

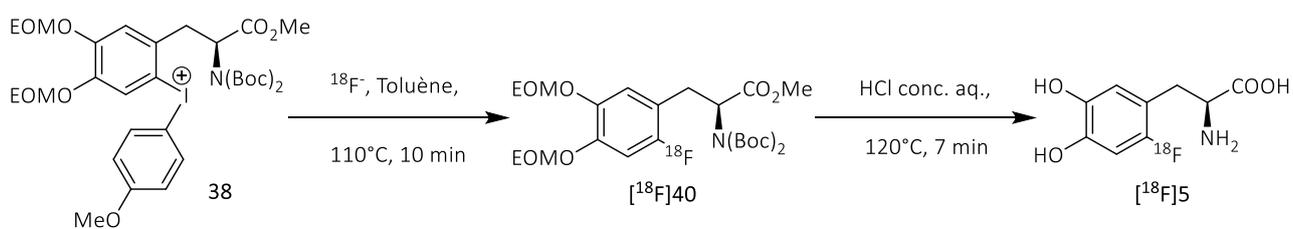


Schéma 19 - Synthèse de la [<sup>18</sup>F]-6-Fluoro-L-dopa en passant par un sel de diaryliodonium

### ❖ Les ylures d'iodonium

Un ylure d'iodonium est une espèce chimique neutre et dipolaire dont l'atome de carbone possède une charge formelle négative et l'atome d'iode une charge formelle positive. La première utilisation d'ylure d'iodonium pour réaliser des radiofluorations a été décrite en 2010 dans le brevet de Barrio et Satyamurthy.<sup>43</sup> L'ylure a été synthétisé à partir d'un dérivé d'acide de Meldrum sur la 6-iodo-L-dopa protégée. L'utilisation d'ylure a été reprise par Cardinale *et al* toujours à partir d'acide de Meldrum.<sup>44</sup> Les rendements radiochimiques à partir de ces précurseurs ont été, en moyenne, de 20%. Un autre régioisomère se formait lors de la radiosynthèse et la purification par HPLC pouvait s'avérer compliquée en raison de la formation de nombreux sous-produits.

<sup>43</sup> N. Satyamurthy and J. R. Barrio, Patent, WO 2010/117435 A2, 2010.

<sup>44</sup> Cardinale, J.; Ermert, J.; Humpert, S.; Coenen, H. H. Iodonium ylides for one-step, no-carrier-added radiofluorination of electron rich arenes, exemplified with 4-([<sup>18</sup>F]fluorophenoxy)- phenylmethyl)piperidine NET and SERT ligands, *RSC Adv.* 2014, 4,33, 17293–17299.

Ces problèmes ont été résolus par l'utilisation d'une structure de type spiro-adamantane avec un dérivé d'acide de Meldrum, pour donner la spiroadamantyl-1,3-dioxane-4,6-dione (SPIAd).<sup>45</sup> Le remplacement de l'acide de Meldrum par un SPIAd améliore nettement la stabilité de l'ylure. Un large panel de précurseurs a ainsi été radiomarqué avec des conversions radiochimiques (RCC) allant de 25% à 82%. Quelques structures ont été purifiées comme le [<sup>18</sup>F]-6-fluoro-*meta*-tyrosine ([<sup>18</sup>F]FMT). Une comparaison des marquages a été effectuée entre deux spiro-ylures différents, la 6,10-dioxaspiro[4.5]decane-7,9-dione (SPI5) et le SPIAd (Schéma 20). Les deux composés ont été marqués dans les mêmes conditions, c'est-à-dire avec un fluorure-18 en présence de bromure de *N*-tétraéthylammonium (TEAB) dans le DMF à 20°C pendant 20 min, puis s'ensuit une étape de déprotection acide de 3 min à 100°C.

Le rendement radiochimique d'activité était de 1 à 2 % pour le SPI5 et de 12% pour le SPIAd. Il est donc à noter que l'encombrement du SPIAd permet d'obtenir un rendement final plus important.

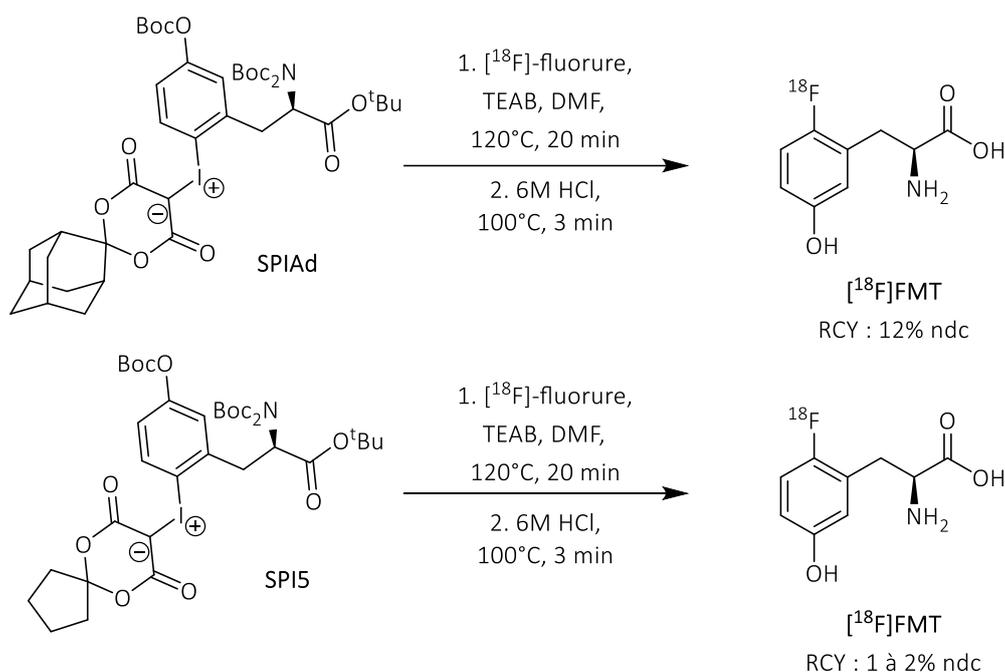


Schéma 20 - Fluorination des ylures de iodonium spiro

Si on compare l'utilisation d'ylure d'iodonium aux sels de diaryliodoniums, il y a certains avantages :

- pas d'autre aryle présent sur l'iode, ce qui évite une possible compétition entre les deux aryles présents sur le sel,
- pas de contre-ion externe qui influence fortement la réactivité,

<sup>45</sup> Rotstein B. H., Wang L., Liu R. Y., Patteson J., Kwan E. E., Vasdev N., Liang S. H. Mechanistic studies and radiofluorination of structurally diverse pharmaceuticals with spirocyclic iodonium(III) ylides, *Chem. Sci.*, **2016**, 7, 4407–4417.

- purification du précurseur plus facile.

### d. Réaction de substitution nucléophile par inversion de polarité "umpolung"

#### ❖ Fonctionnalisation de phénols et de *N*-arylsulfonamides par "umpolung"

Enfin, une dernière réaction, a été développée utilisant l'"umpolung" sur les phénols<sup>46</sup> ou les *N*-arylsulfonamides (Schéma 21).<sup>47</sup> Ces réactions ont été réalisées en deux étapes. Tout d'abord, une oxydation du cycle aromatique (41 ou 44) avec du diacétate d'iodobenzène (PIDA) a permis d'inverser la polarité du carbone en *para* permettant ensuite de subir l'addition du fluorure-18 dans une deuxième étape (<sup>18</sup>F42 ou <sup>18</sup>F45). Lors de l'addition du fluorure-18, un pseudo complexe de Meisenheimer non anionique a été obtenu. Son absence de charge l'a rendu stable et isolable. Enfin, le milieu réactionnel a été agité en présence de TFA afin de permettre la réaromatisation du cycle par départ du cation *tert*-butyl pour obtenir <sup>18</sup>F43 ou <sup>18</sup>F46.

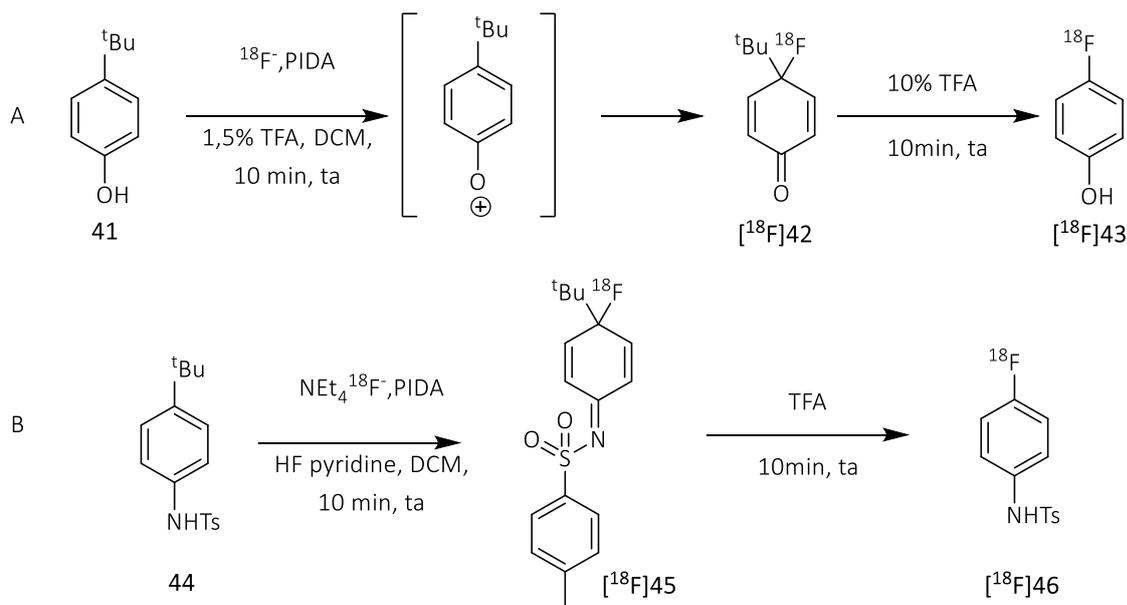


Schéma 21 - Réaction utilisant un mécanisme "umpolung" de phénol et de *N*-arylsulfonamide

<sup>46</sup> Bienvenu A., Barthelemy A., Boichut S., Marquet B., Billard T., Langlois B. R., Synthesis of 4-Fluorophenols from 4-tert-Butylphenols and Fluoride Sources Under Oxidative Conditions, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2002**, 67 (10), 1467–1478.

<sup>47</sup> Gao Z., Lim Y. H., Tredwell M., Li L., Verhoog S., Hopkinson M., Kaluza W., Collier T. L., Passchier J., Huiban M., Gouverneur V., Metal-Free Oxidative Fluorination of Phenols with [<sup>18</sup>F]Fluoride, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51 (27), 6733–6737.

## 4. Les échanges isotopiques (IEX)

L'échange isotopique (IEX) est une réaction permettant d'échanger des fluor-19 stables présents sur le radiotraceur avec un fluor-18 radioactif. Ces réactions utilisent majoritairement les réactions nucléophiles vu précédemment. Cependant, la réaction d'échange isotopique (IEX) présente des activités molaires souvent faibles car le radiotraceur marqué a été dilué avec le précurseur non marqué. C'est le même composé constitué de deux isotopes différents, il est donc impossible de les séparer. Les échanges isotopiques peuvent être réalisés suivant différents mécanismes. Ils sont également réalisés sur tous les types de liaisons chimiques F-C, F-B, F-P, F-S,... mais aussi sur des liaisons covalentes de coordinations Al-F et Ga-F.

### ❖ IEX sur liaisons covalentes

Les réactions d'échanges isotopiques ont été réalisées sur des cycles aromatiques suivant un mécanisme de  $S_NAr$ , par exemple pour la synthèse du [ $^{18}F$ ]-Flumazénil ([ $^{18}F$ ]FMZ)<sup>48</sup> (Schéma 22). La réaction a été chauffée à 130°C pendant 5 min en présence de  $K_2CO_3/K_{222}$  dans le DMSO. Le rendement radiochimique a été évalué par chromatographie sur couche mince (CCM), 62% du fluor-18 a été incorporé au radiotraceur.

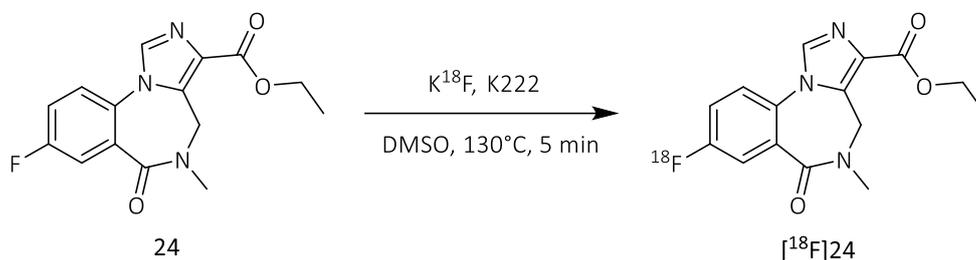


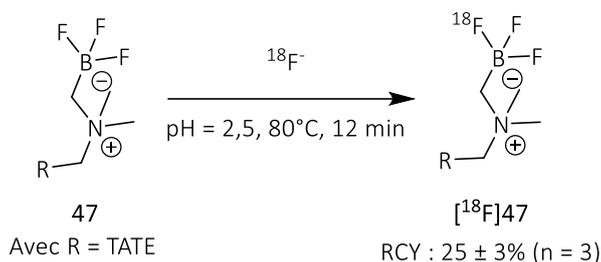
Schéma 22 - IEX par  $S_NAr$  sur le [ $^{18}F$ ]FMZ

L'IEX sur un atome de bore est une réaction souvent utilisée. L'IEX a été mise au point lors d'une synthèse directe (Schéma 23).<sup>49</sup> La synthèse a été effectuée dans une solution tampon de pyridazine/HCl de pH 2,5 à 80°C pendant 12 min. Les rendements radiochimiques obtenus ont été évalués allant de 22 à 36%. Pour toutes les structures proposées, l'activité molaire était comprise entre 2 et 4 Ci. $\mu\text{mol}^{-1}$ , soit entre 74 et 148 GBq.  $\mu\text{mol}^{-1}$ . L'activité molaire était ici particulièrement

<sup>48</sup> Ryzhikov N. N., Gomzina N. A., Fedorova O. S., Vasil'ev D. A., Kostikov A. P., Krasikova R. N. Preparation of [ $^{18}F$ ]Flumazenil, a Potential Radioligand for PET Imaging of Central Benzodiazepine Receptors, by isotope exchange, *Radiochemistry*, **2004**, 46, 3, 290-294.

<sup>49</sup> Liu Z., Pourghiasian M., Radtke M. A., Lau J., Pan J., Dias G. M., Yapp D, Lin K.-S., Bénard F., Perrin D. M. 48An Organotrifluoroborate for Broadly Applicable One-Step  $^{18}F$  labeling, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 11876-11880.

élevée car le précurseur a été utilisé dans des quantités du même ordre de grandeur que le fluor-18 soit entre 50 et 75 nmol. On observe donc un effet de concentration.



**Schéma 23** - IEX sur une liaison B-F

L'IEX a eu lieu dans l'eau (**Schéma 23**), donc cette synthèse a été réalisée sur de nombreux peptides tel que le peptide TATE, qui est un peptide cyclique grâce à un pont disulfure. Le peptide TATE est capable de cibler une protéine transmembranaire surexprimée au niveau des tumeurs neuro-endocriniennes.

Une méthodologie d'IEX permettant de faire une synthèse chimiosélective a été développée en utilisant une liaison S-F (**Schéma 24**), ces composés ont été appelés SuFEx (Sulfure fluoride exchange).<sup>50</sup> Ces composés ont permis de réaliser des fluorations dans des conditions douces en milieu basique  $\text{K}_2\text{CO}_3$  avec du K222 dans l'acétonitrile à température ambiante pendant 30s. Afin de réaliser la synthèse, le précurseur a été utilisé dans des faibles quantités, environ 500 nmoles. Les rendements et l'activité molaire varient en fonction de l'activité de départ. Les essais de marquage ont été réalisés en utilisant 3,7 GBq au départ. Les RCC étaient plutôt bonnes, toutes supérieures à 90% à part pour le dérivé tétrazine.

Ensuite, le fluorosulfate de 3-éthynylphényl **48** a été utilisé comme réactif modèle pour une montée en échelle avec 37 GBq. La RCC obtenue a été alors de  $91 \pm 3\%$  ( $n=2$ ), et après purification  $32 \pm 11\%$  de [<sup>18</sup>F]**48** ont été isolés. L'activité molaire était comprise entre 103 et 111 GBq. $\mu\text{mol}^{-1}$ . Ensuite, lorsque l'activité de départ a été augmentée à 106 GBq, la RCC obtenue a été maintenue à 89% et l'activité molaire a été augmentée à 280 GBq.  $\mu\text{mol}^{-1}$ . On observe donc bien une augmentation de l'activité molaire avec l'augmentation de l'activité de départ, grâce à l'effet de concentration.

<sup>50</sup> Zheng Q., XU H., Wang H., Han Du W.-G., Wang N., Xiong H., Gu Y., Noodleman L., Sharpless K. B., Yang G., Wu P. Sulfur [<sup>18</sup>F]Fluoride Exchange Click Chemistry Enabled Ultrafast Late-Stage Radiosynthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**.

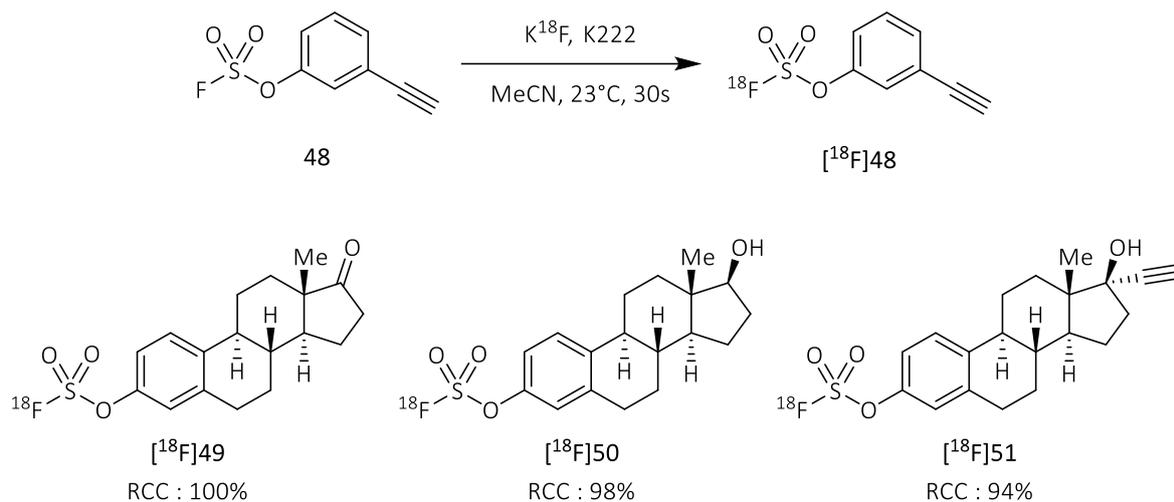


Schéma 24 - IEX en utilisant des SuFEx

❖ IEX sur liaisons de coordinations

Une IEX sur des liaisons de coordination a été réalisée sur un complexe de gallium (Schéma 25).<sup>51</sup> Cette réaction a permis de réaliser des IEX dans un mélange eau/EtOH ou eau/MeCN à 80°C pendant 10 min. Ces conditions de réaction ont permis d’obtenir une incorporation du fluorure-18 allant de 65 à 73%. Les activités de départ utilisées (200 MBq) ainsi que la quantité de matière (27 nmol) étaient très faibles, et ont permis d’obtenir une activité molaire de 0,675 GBq.  $\mu\text{mol}^{-1}$  pour cette réaction. Cette activité molaire était faible comparée à une réaction nucléophile, mais pourrait certainement être améliorée en travaillant avec une plus grande activité de départ.

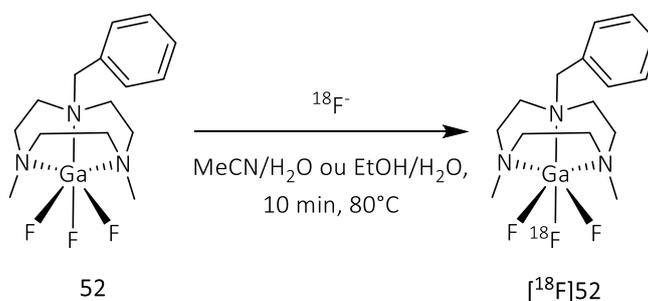


Schéma 25 - IEX sur complexe à partir de Ga

<sup>51</sup> Monzittu F. M., Khan I., Levason W., Luthra S. K., McRobbie G. Rapid Aqueous Late-Stage Radiolabelling of [GaF<sub>3</sub>(BnMe<sub>2</sub>-tacn)] by <sup>18</sup>F/<sup>19</sup>F Isotopic Exchange: Towards New PET Imaging Probes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 6658–6661.

## 5. Autres réactions de marquage

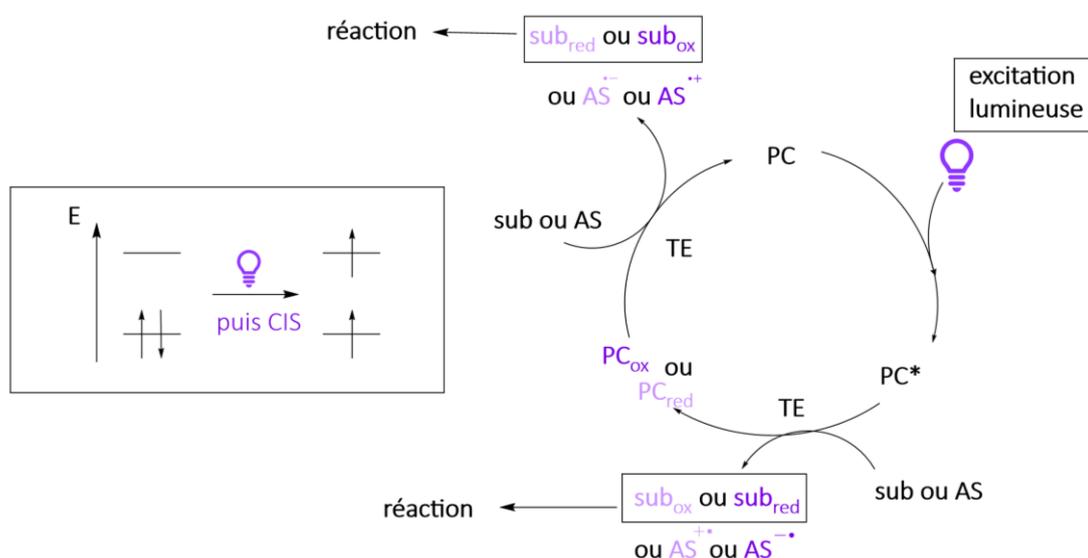
### a. La catalyse photo-redox

La **catalyse photo-redox** fait référence à l'utilisation de la lumière comme source d'énergie afin de faire passer d'un état stable à un état excité un photocatalyseur (PC).<sup>52</sup> Le photon est absorbé permettant ainsi à un électron de passer à un niveau d'énergie supérieure. Cet état excité permet d'attribuer au photocatalyseur possédant une structure stable des propriétés oxydantes ou réductrices. Cette chimie repose sur deux transferts monoélectroniques (TE) prenant place dans le même cycle catalytique et permettant de régénérer le photocatalyseur.

Il existe deux types de réaction (**Fig. 4**) :

- dans le premier cas, l'état excité du photocatalyseur (PC\*) réagit directement sur le substrat dans une réaction d'oxydo-réduction puis l'agent sacrificiel (AS) régénère le PC à l'aide d'une seconde réaction d'oxydo-réduction.
- dans le second cas, le PC\* réagit en premier sur l'AS à l'aide d'une réaction d'oxydo-réduction et le PC est régénéré par la réaction d'oxydo-réduction réalisée sur le substrat.

L'AS peut être soit un donneur d'électron tels que des amines ou l'acide ascorbique ou bien un accepteur d'électron tels que le dioxygène ou le peroxydisulfate.



**Figure 4** - Diagramme orbitalaire d'une excitation photochimique et mécanisme en catalyse photoredox en synthèse organique

<sup>52</sup> Lefebvre C., Fortier L., Hoffmann N. Électricité et lumière en synthèse organique : l'électrophotocatalyse. *L'Actualité Chimique, Société chimique de France*, 2020. hal-02885211.

Il existe de nombreuses réactions d'oxydo-réduction photocatalysées et de nombreux catalyseurs, mais seules deux familles de réactions permettant de synthétiser des radiotraceurs au fluor-18 seront détaillées.<sup>53</sup>

#### ❖ Photo-radiofluoruration aliphatique

Une photo-radiofluoruration aliphatique désigne une réaction permettant de casser une liaison C-H ou C-CO<sub>2</sub>H afin de la remplacer par une liaison C-<sup>18</sup>F.

Dans un premier temps, l'équipe de Britton a synthétisé des dérivés de leucine par photocatalyse (Schéma 26).<sup>54</sup> Ces dérivés d'acides aminés ont été marqués en utilisant le [<sup>18</sup>F]NFSI comme donneur de fluor et comme AS, ainsi que du decatungstène de sodium comme PC. La réaction a eu lieu dans un mélange eau/acétonitrile à température ambiante pendant 50 min. Le produit a été isolé en déposant tous les sous-produits et catalyseur sur cartouche C18. En effet, le radiotracer est soluble dans l'eau et ne se dépose pas sur la C18. Il n'y a donc pas de formulation à faire. Les rendements radiochimiques ont été mesurés allant de 6% à 30% sur les composés [<sup>18</sup>F]54, tous les substrats n'ont pas été détaillés. De plus, les acides aminés n'ont pas été protégés. Cependant, les activités molaires étaient très faibles entre 3 et 7 x 10<sup>-3</sup> GBq.μmol<sup>-1</sup>.

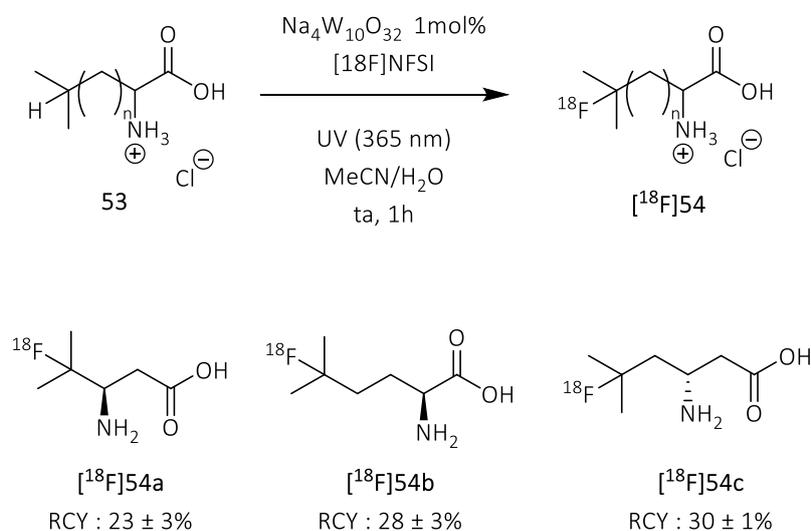


Schéma 26 - Fluoruration au fluor-18 directe par photochimie

<sup>53</sup> Bui T. T., Kim H.-K. Recent Advances in Photo-mediated Radiofluorination, *Chem. Asian J.*, **2021**, 16, 2155–2167.

<sup>54</sup> Nodwell M. B., Yang H., Čolovic M., Yuan Z., Merckens H., Martin R. E., Bénard F., Schaffer P., Britton R. <sup>18</sup>F-Fluorination of Unactivated C–H Bonds in Branched Aliphatic Amino Acids: Direct Synthesis of Oncological Positron Emission Tomography Imaging Agents, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 3595–3598.

Cette méthode a ensuite été développée pour la synthèse directe de petits peptides allant jusqu'à 10 acides aminés contenant une leucine ou une isoleucine.<sup>55</sup>

Une réaction de décarboxylation photocatalysée<sup>56</sup> a également été utilisée avec un mécanisme croisé radicalaire et polaire (**Schéma 27**). Ce mécanisme a permis de créer d'abord un radical lors de l'élimination du CO<sub>2</sub>, puis, une lacune électronique par transfert de l'électron seul du radical sur l'iridium. Ainsi, une lacune électronique a été formée sur le substrat, permettant au fluorure-18 de réagir avec le substrat et de régénérer le PC (complexe d'Iridium). La réaction a été réalisée dans un mélange eau/acétonitrile à température ambiante pendant 10 min, sous irradiation avec une LED bleue. Le composé [<sup>18</sup>F]56 a été obtenu avec une RCC de 49 ± 7 % et une activité molaire comprise entre 36,6 ± 18,8 GBq.μmol<sup>-1</sup>.

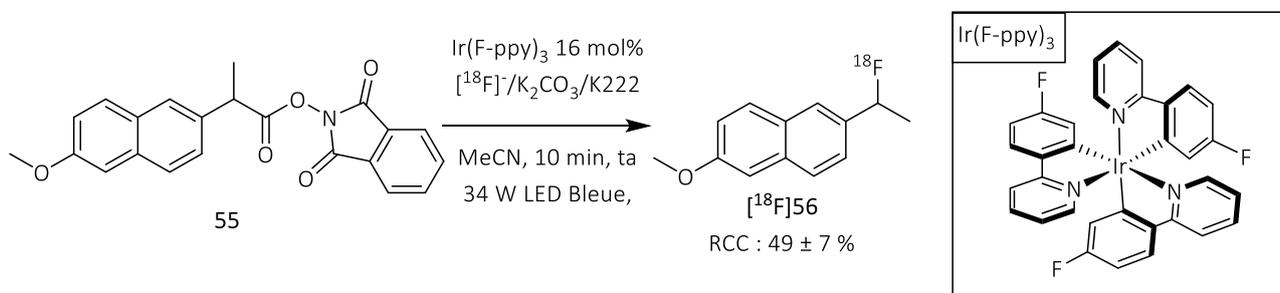


Schéma 27 - Décarboxylation photocatalysée

#### ❖ Photo-radiofluorination aromatique

Il existe de nombreuses radiofluorations aromatiques. Un exemple de radiofluorination aromatique, était la déoxyfluoruration par catalyse photo-redox (**Schéma 28**).<sup>57</sup> Le photo-oxydant était un acridinium **59** activé par un laser à 450nm. La réaction a été réalisée en 30 min à 0°C à l'air libre. Le fluorure-18 est sous forme de [<sup>18</sup>F]TBAF afin qu'il soit soluble dans le mélange de solvants. Des dérivés d'œstradiol ont ainsi été marqués avec des rendements radiochimiques allant de 22 à 46 %.

<sup>55</sup> Yuan Z., Nodwell M. B., Yang H., Malik N., Merckens H., Benard F., Martin R. E., Schaffer P., Britton R., Site-Selective, Late-Stage C–H <sup>18</sup>F-Fluorination on Unprotected Peptides for Positron Emission Tomography Imaging, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 12733–12736; *Angew. Chem.* 2018, 130, 12915–12918.

<sup>56</sup> Webb E. W., Park J. B., Cole E. L., Donnelly D. J., Bonacorsi S. J., Ewing W. R., Doyle A. G. Nucleophilic (Radio)Fluorination of Redox-Active Esters via RadicalPolar Crossover Enabled by Photoredox Catalysis, *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142, 9493–9500.

<sup>57</sup> Tay N. E., Chen W., Levens A., Pistritto V. A., Huang Z., Wu Z., Li Z., Nicewicz D. A. <sup>19</sup>F- and <sup>18</sup>F-arene deoxyfluorination via organic photoredox-catalysed polarity-reversed nucleophilic aromatic substitution, *Nat. Catal.*, 2020, 3, 734–742.

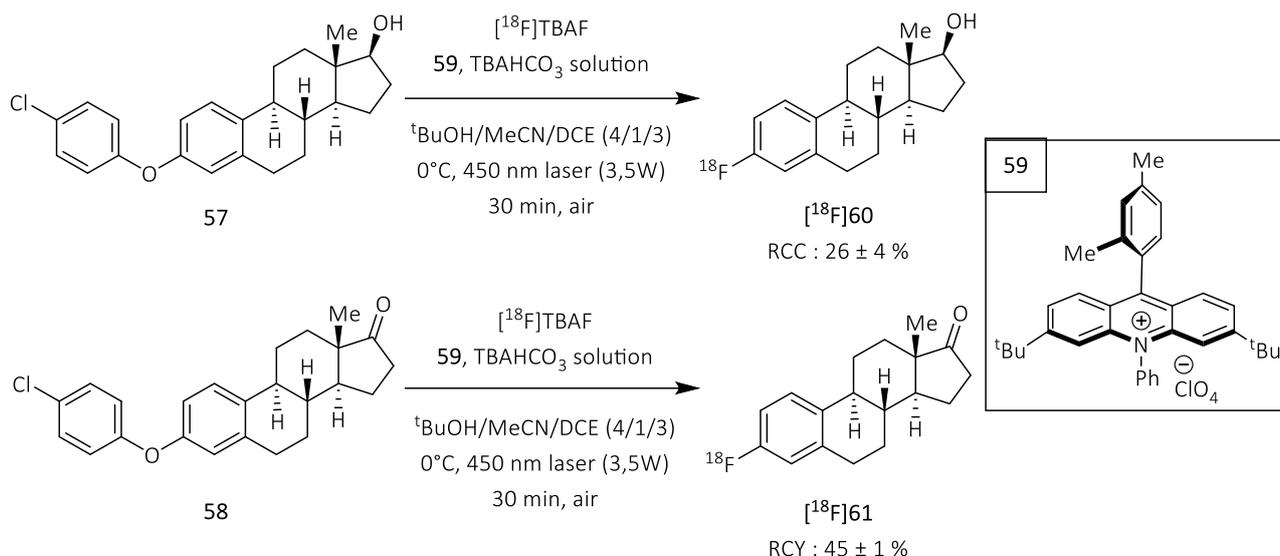


Schéma 28 - Radiofluoruration photo-aromatique activée par des acridiums

La photocatalyse a permis d'obtenir des radiotraceurs marqués au fluor-18 dans des conditions douces sans avoir besoin de les protéger.

## b. Radiofluoruration par électrochimie

L'**électrochimie**<sup>52</sup> utilise le potentiel électrique pour modifier les propriétés oxydantes et réductrices du substrat ou de l'électrocatalyseur (EC). Cette chimie repose sur un transfert mono-électronique (TE) réalisé à la surface des deux électrodes. Les propriétés du substrat ou de l'EC changent selon le potentiel appliqué. Il peut devenir soit oxydant soit réducteur. Il existe deux mécanismes différents (Fig. 5):

- le **premier mécanisme** est la réduction (à la cathode) ou l'oxydation (à l'anode) du substrat, permettant à celui-ci de réagir lors d'une réaction d'oxydo-réduction.
- le **second mécanisme** est la réduction (à la cathode) ou l'oxydation (à l'anode) de l'EC réagissant ensuite sur le substrat pour se régénérer. Le substrat peut alors réagir dans une réaction d'oxydo-réduction.

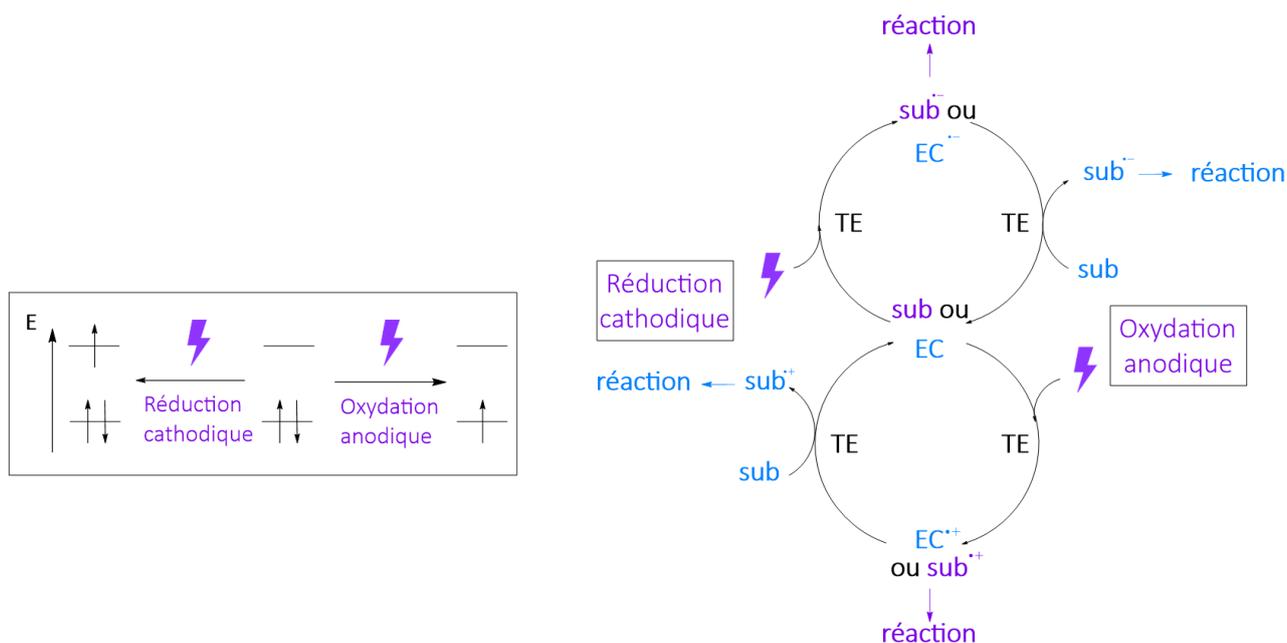


Figure 5 - Diagramme orbitalaire d'une excitation électrochimique et mécanisme en électrocatalyse en synthèse organique

L'électrochimie radioactive est un nouveau domaine en plein essor, de nombreuses réactions ont été mises au point récemment. Une des premières utilisations de l'électrochimie en radiochimie a été développée en 2013 afin de réaliser un drying en flux.<sup>58</sup> L'application d'un courant permet d'adsorber à la surface de l'anode les fluorures-18, à l'aide d'un flux, le mélange de solvant peut être complètement modifié. Cependant, l'étape de désorption a posé problème en fonction de la nature de l'électrode mais aussi du nouveau mélange de solvant. L'étape de piégeage sur électrode en laiton pour l'anode (et d'une cathode plaquée en platine) a permis d'adsorber  $95 \pm 4\%$  du fluorure-18 et de désorber  $88 \pm 3\%$ . Suivie par une réaction de type  $S_N2$  a été réalisée en microflux.

Une des radiofluorations développées par électrochimie a été l'activation d'une liaison C-H en  $\alpha$  d'un thioether.

#### ❖ Activation C-H en $\alpha$ d'un thioether par électrochimie<sup>59</sup>

La réaction a été électrocatalysée suivant un mécanisme de réarrangement de fluoro-Pummerer. De par ce mécanisme, cette réaction est régiosélective, permettant ainsi de contrôler la position du

<sup>58</sup> Sadeghi S., Liang V., Cheung S., Woo S., Wu C., Ly J., Deng Y., Eddings M., van Dam R. M. Reusable electrochemical cell for rapid separation of [<sup>18</sup>F]fluoride from [<sup>18</sup>O]water for flow-through synthesis of <sup>18</sup>F-labeled tracers, *Applied Radiation and Isotopes*, **2013**, 75, 85–94.

<sup>59</sup> Allison N., Balandeh M., Holloway T., Gomez A., Rios A., Waldmann C. M., Lebedev A., Sadeghi S. Electrochemical no-vcarrier-added radiofluorination of thioethers, *Journal of Fluorine Chemistry*, **2022**, 257-258, **109988**.

fluor-18 (Schéma 29). L'atome de soufre a permis de stabiliser le radical se formant lors de l'oxydation du réactif de départ à la surface de l'anode. La réaction a été réalisée dans le trifluoroéthanol (TFE). L'électrolyte utilisé a été le perchlorate de tétrabutylammonium (TBAP) avec un potentiel appliqué de 1,9 V à 70°C pendant 30 min.

La réaction a été réalisée sur des substrats avec différents substituants, mais seul le composé [<sup>18</sup>F]63 a été isolé, avec un rendement radiochimique de 88 ± 3% EOB et une pureté supérieure à 95%. La durée totale de la réaction était de 90 min. L'activité molaire a également été mesurée et est comprise entre 4,7 et 5,3 GBq.μmol<sup>-1</sup>.

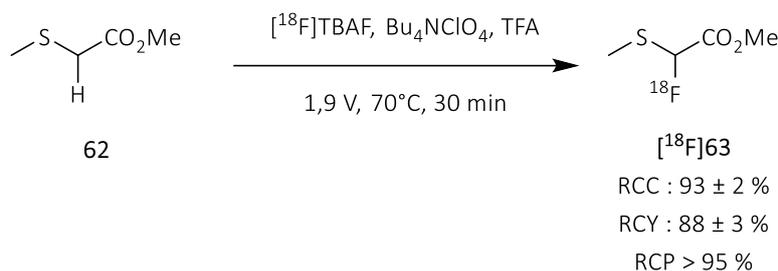
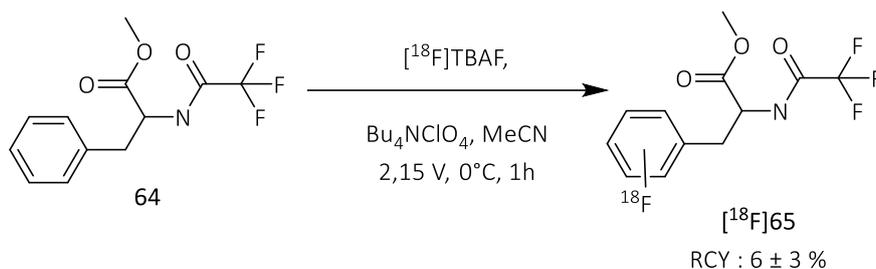


Schéma 29 - Activation C-H en α d'un thio-éther par électrocatalyse

#### ❖ Radiofluorination de cycles aromatiques par électrochimie

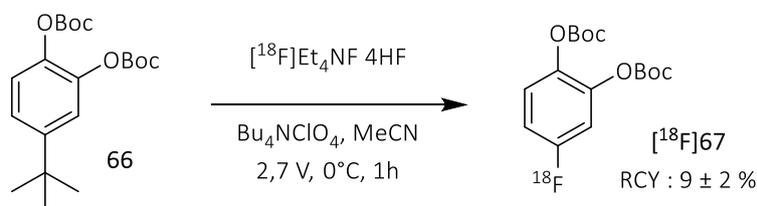
Les liaisons C-H présentes sur un cycle aromatique ont aussi été activées par électrochimie pour obtenir la phénylalanine protégée marquée [<sup>18</sup>F]65 (Schéma 30).<sup>60</sup> Un système à trois électrodes a été utilisé constitué d'une anode et d'une contre-électrode en platine, ainsi que d'une électrode de référence en argent. L'électrolyte utilisé a été constitué de TBAP. Le potentiel appliqué était de 2,15 V et a permis d'obtenir une fluoration avec un RCY de 6±3% (n=10) en prenant en compte les *ortho*-, *meta*- et *para*-isomères. La réaction n'était donc pas régiosélective. De plus, le rendement radiochimique final a été fortement dépendant des groupements protégeant les fonctions amines et des acides carboxyliques du dérivé de la phénylalanine. L'activité molaire pour ce procédé a été relativement faible, 1,2x10<sup>-3</sup> GBq.μmol<sup>-1</sup>.

<sup>60</sup> Kienzle G. J., Reischl G., Machulla H.-J. Electrochemical radiofluorination. 3. Direct labeling of phenylalanine derivatives with [<sup>18</sup>F]fluoride after anodic oxidation, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2005**, 48, 259–273.



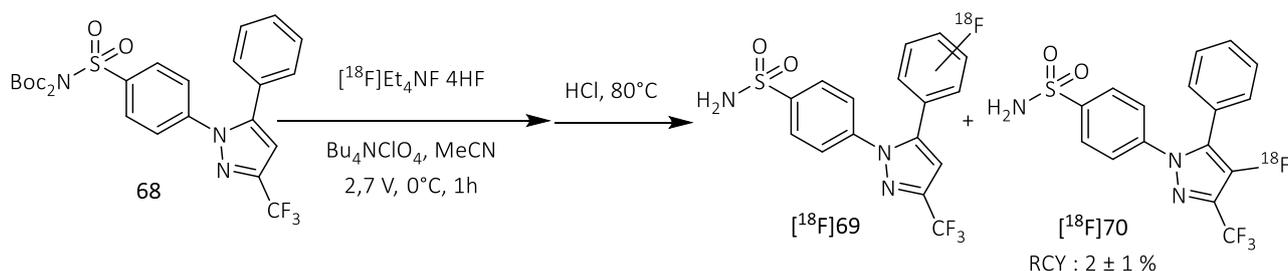
**Schéma 30** - Radiofluoruration aromatique électrocatalysée d'un dérivé de la phénylalanine

Afin d'obtenir une meilleure régiosélectivité, une réaction électrochimique sur un cycle aromatique constitué d'un groupement *tert*-butyl a été réalisée afin de le substituer par un fluor-18 (**Schéma 31**).<sup>61</sup> La réaction a été effectuée avec un courant pulsé majoritairement à 2,7V. Cette réaction a permis d'obtenir le composé  $[^{18}\text{F}]\text{67}$  en 1h à 0°C avec un RCY de 9±2%. L'activité molaire maximale calculée était de 0,043GBq.μmol<sup>-1</sup>.



**Schéma 31** - Radiofluoruration aromatique électrocatalysée régiosélective

L'électro-radiofluoruration de cycles aromatiques est la réaction la plus utilisée mais elle n'est pas régiosélective sauf dans certains cas particuliers (**Schéma 31**). Ceci rend son application difficile pour des composés contenant plusieurs cycles aromatiques tel que **68**, la substitution nucléophile ayant lieu sur deux cycles aromatiques différents (**Schéma 32**).<sup>62</sup>



**Schéma 32** - Radiofluoruration non régiosélective électrocatalysée

<sup>61</sup> He Q., Wang Y., Alfeazi I., Sadeghi S. Electrochemical nucleophilic synthesis of di-*tert*-butyl-(4- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro}$ -1,2-phenylene)-dicarbonate, *Applied Radiation and Isotopes*, **2014**, 92, 52–57.

<sup>62</sup> Lebedev A., Jiao J., Yang F., Allison N., Herschman H., Sadeghi S. Radiochemistry on electrodes: Synthesis of an  $^{18}\text{F}$ -labelled and in vivo stable COX-2 inhibitor, *PLoS ONE*, **2017**, 12, 5, e0176606.

Pour conclure, l'électrochimie possède de nombreux avantages tels que<sup>63</sup> :

- l'utilisation de fluorure-18 brut sans purification préalable (séchage azéotropique, additifs,...),
- l'utilisation d'un potentiel spécifique de la fonction chimique sur laquelle la réaction doit avoir lieu,
- les réactifs utilisés sont peu dangereux contrairement à la plupart des oxydants,
- le produit final est plus facile à purifier,
- l'électrochimie ne demande pas d'activation particulière du précurseur,

Mais, l'électrochimie présente aussi de nombreux inconvénients :

- les fonctions chimiques avec des potentiels d'oxydations plus bas présentes sur la molécule peuvent induire des réactions non désirées,
- les groupements protecteurs sont nécessaires pour les fonctions alcools et les fonctions amines, ces groupements protecteurs peuvent fortement influencer le rendement,
- la radiofluorination est non sélective pour les composés contenant plusieurs groupements aromatiques,
- l'électrofluorination sur des molécules plus grandes et plus complexes, est compliquée car cette molécule possède potentiellement plusieurs fonctions chimiques pouvant être oxydées.

### c. Le radiomarquage enzymatique

Le radiomarquage enzymatique utilise des enzymes telle que la fluorinase permettant de fluorer sélectivement la 5'-[<sup>18</sup>F]fluoro-5'-déoxyadenosine à partir de S-adenosyl-L-méthionine (SAM) et d'ions fluorures<sup>64</sup>. Cette enzyme naturelle a été extraite de la bactérie *streptomyces cattleya*. La radiosynthèse est sélective du composé SAM permettant ainsi de réaliser des radiomarquages directs sur des composés déjà bioconjugués contenant un composé SAM comme accepteur de fluorure. Les synthèses ont été réalisées à 35-37°C, ces températures physiologiques permettant de marquer des composés sensibles à la température tels que des peptides. Deux composés ont été synthétisés de

---

<sup>63</sup> Hernández-Valdés D., Sadeghi S. Electrochemical Radiofluorination of Small Molecules: New Advances, *Chem. Rec.*, **2021**, 21, 2397– 2410.

<sup>64</sup> Martarello L., Schaffrath C., Deng H., Gee A. D., Lockhart A., O'Hagan, D. The First Enzymatic Method for C–<sup>18</sup>F Bond Formation: The Synthesis of 5'-[<sup>18</sup>F]-Fluoro-5'-Deoxyadenosine for Imaging with PET, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2003**, 46, 13, 1181–1189.

cette manière : un dérivé de cyclo-RGD<sup>65,66</sup> possédant une grande affinité avec les récepteurs  $\alpha_v\beta_3$  présents dans certains cancers du sein et un ligand de type PSMA.<sup>67</sup>

La réaction sur le ligand du PSMA a été réalisée dans une solution tampon à pH 7,8 (Schéma 33). La fluorinase ( $\mu\text{M}$ ) a été utilisée en excès comparé à la quantité de fluorure-18 (pM), permettant ainsi de diminuer le temps de réaction à 45 min. Le mélange a été chauffé à 95°C pendant 5 min afin de dénaturer l'enzyme. Après formulation, le composé a été récupéré avec un rendement d'activité de 3,4% et une pureté >99%.

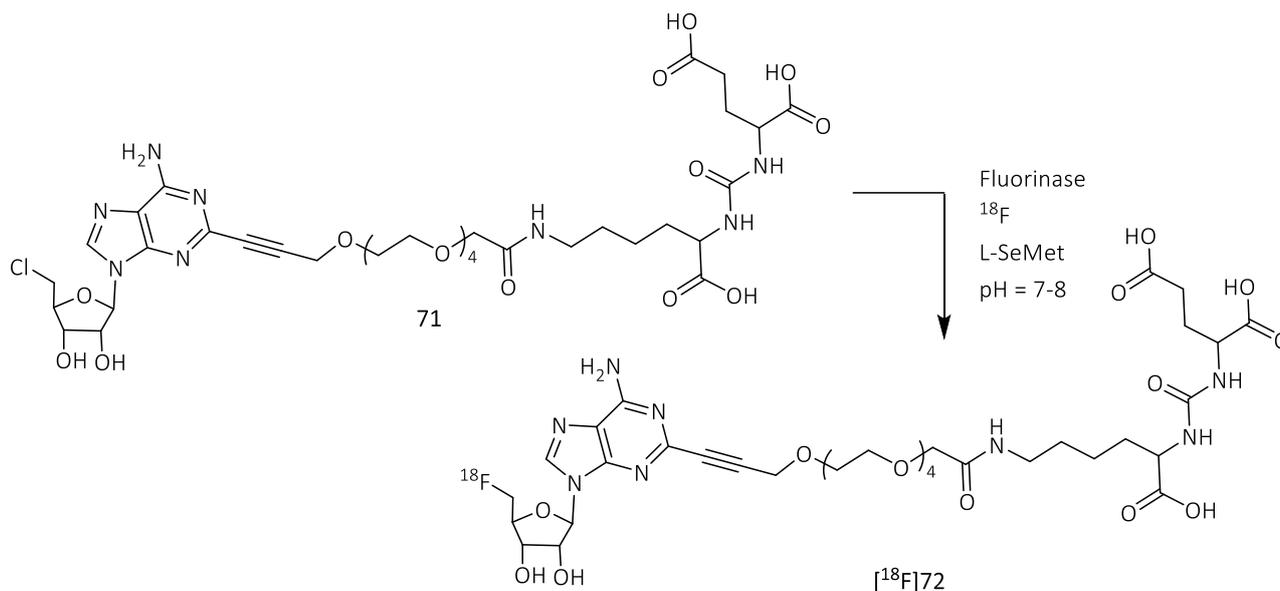


Schéma 33 - Radiofluoruration enzymatique

Cette technique n'a pas permis de récupérer de grosses quantités de composés marqués car la synthèse n'a pas pu être automatisée en raison des étapes de centrifugation nécessaires.

## 6. Les synthèses indirectes

Il existe deux types de synthèses indirectes, les synthèses multi-étapes et les synthèses de radiotraceurs bioconjugués à partir d'un groupement prosthétique.

<sup>65</sup> Thompson S., Zhang Q., Onega M., McMahon S., Fleming I., Ashworth S., Naismith J. H., Passchier J., O'Hagan D. A Localized Tolerance in the Substrate Specificity of the Fluorinase Enzyme Enables "Last-Step" <sup>18</sup>F Fluorination of a RGD Peptide under Ambient Aqueous Conditions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 34, 8913–8918.

<sup>66</sup> Zhang Q., Dall'Angelo S., Fleming I. N., Schweiger L. F., Zanda M., O'Hagan D. Last-Step Enzymatic [<sup>18</sup>F]-Fluorination of Cysteine-Tethered RGD Peptides Using Modified Barbas Linkers. *Chem. – Eur. J.* **2016**, 22 (31), 10998–11004.

<sup>67</sup> Lowe P. T., Dall'Angelo S., Fleming I. N., Piras M., Zanda M., O'Hagan D. Enzymatic radiosynthesis of a <sup>18</sup>F-Glu-Ureido-Lys ligand for the prostate-specific membrane antigen (PSMA), *Org. Biomol. Chem.*, **2019**, 17, 1480–1486.

Les synthèses multi-étapes désignent les synthèses où le radiomarquage au fluor-18 d'un synthon a été suivi de plusieurs réactions chimiques, autres que des déprotections, afin d'obtenir une structure finale différente.

Concernant le marquage de radiotraceurs bioconjugués, le groupement prosthétique (GP) a été marqué au fluor-18 en utilisant une des réactions décrites ci-dessus suivi d'une étape de bioconjugaison permettant d'accrocher la biomolécule capable de réaliser la reconnaissance *in vivo*.

### a. Les synthèses multi-étapes

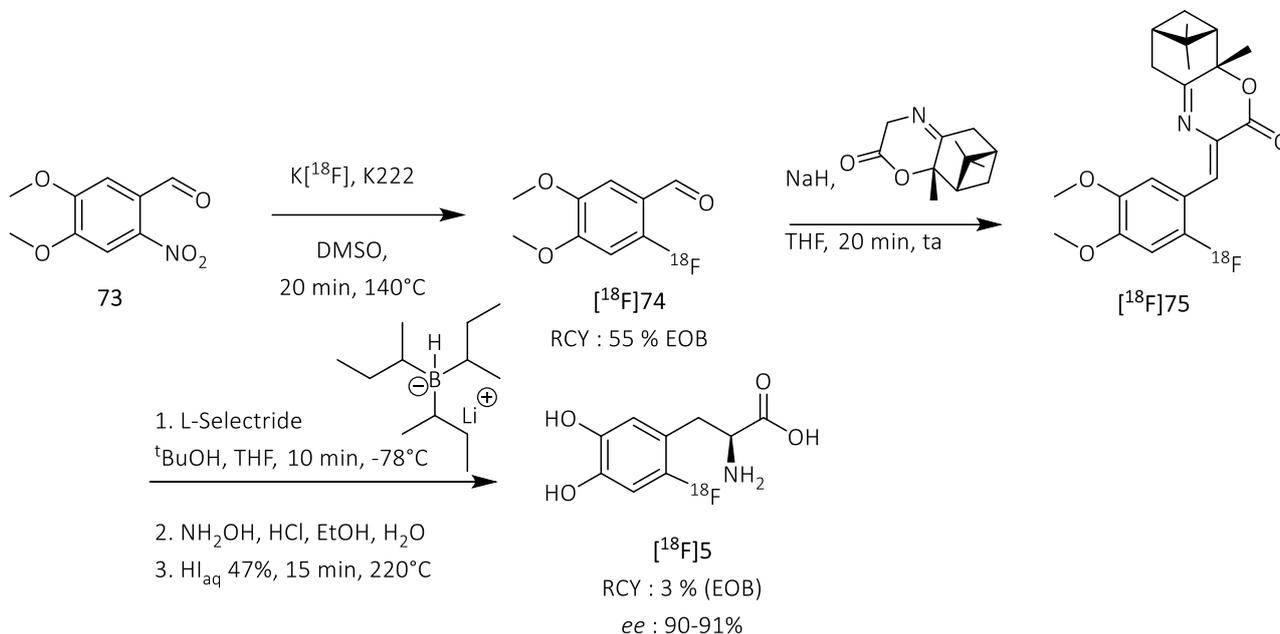
Il existe de nombreuses synthèses multi-étapes appliquées à la synthèse de radiotraceurs et seulement une sélection de trois synthèses multi-étapes de la 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-*L*-dopamine seront présentées afin de montrer la diversité des stratégies possibles. Il est important de noter que les trois radiosynthèses multi-étapes de la 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-*L*-dopamine présentées utilisent du fluorure-18, permettant ainsi une meilleure activité molaire que les synthèses électrophiles utilisant du difluor-18.

Une première synthèse multi-étape a été développée en 1995 par l'équipe de Soufer<sup>68</sup> (**Schéma 34**), dont l'objectif était d'obtenir un composé énantiopur. La première étape consistait à marquer le 3,4-diméthoxy-2-nitrobenzaldéhyde en utilisant une réaction de S<sub>N</sub>Ar en présence de K222 dans le DMSO à 140°C pendant 20 min. Le rendement radiochimique obtenu après cette première étape a été de 55% EOB. Une condensation de Knoevenagel a ensuite été effectuée sur l'aldéhyde avec une lactone chirale en présence de NaH dans le THF avec un rendement de 80% par rapport au réactif de départ. Ensuite, la réduction de l'alcène et les déprotections du composé ont été réalisées avec de l'hydroxylamine en présence d'acide iodhydrique. Le mélange a été chauffé pendant 40 min à 220°C, mais dans ces conditions, une racémisation a lieu, donnant le mélange racémique avec un rendement radiochimique de 10-12%. Le composé chiral pur a ensuite été obtenu après purification sur colonne chirale avec un rendement de 4-5% dc (corrigé de la décroissance). Pour éviter la racémisation, le L-selectride® a été utilisé afin de réduire la double liaison dans des conditions douces à -78°C en présence de *tert*-butanol dans un mélange éther/THF. Puis le composé a été déprotégé en deux étapes. La réaction a été "quenchée" par l'addition de *N*-hydroxylamine et d'acide chlorhydrique au mélange froid. Le mélange de solvants a ensuite été évaporé et une solution d'acide iodhydrique a

---

<sup>68</sup> Horti A., Redmond D. E., Soufer R. No-carrier-added (NCA) synthesis of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-*L*-DOPA using 3,5,6,7,8,8a-hexahydro-7,7,8a-trimethyl-1,4-benzoxazin-2-one, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, **1995**, 36, 5, 409-423.

été utilisée pour la déprotection finale à 220°C pendant 15 min. La 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-*L*-dopamine a été obtenue avec un rendement radiochimique de 3% (EOB) et un *ee* de 90-91%. La procédure a duré au total 125 min.



**Schéma 34** - Synthèse multi-étape utilisant une lactone chirale pour obtenir [<sup>18</sup>F]5

La seconde synthèse multi-étape a une durée plus courte, 20 min en moins (**Schéma 35**). Le radiomarquage a été réalisé à partir d'un échange isotopique.<sup>69</sup> Après de nombreux essais, les conditions optimales permettant d'obtenir le meilleur rendement radiochimique et la plus faible quantité de sous-produit ont nécessité 11,5 μmol de composé de départ en présence de l'azote de tétrabutylammonium (TBAHCO<sub>3</sub>) dans une solution tampon. Le mélange a été chauffé pendant 8 min à 110°C conduisant au composé radiomarqué avec un rendement radiochimique de 48 ± 10%. Le radiomarquage a été suivi par une oxydation de Baeyer-Villiger de l'aldéhyde en *para* du fluor (aldéhyde électroattracteur permettant d'améliorer les rendements de la S<sub>N</sub>Ar d'IEX) pour obtenir un ester formique en *para*. La réaction a été réalisée avec du *m*CPBA (acide *metachloroperbenzoïque*) dans le chloroforme à 60°C pendant 20 min. Enfin, la déprotection a été effectuée en présence de HBr à 150°C pendant 30 min. Le composé a été obtenu avec un rendement radiochimique de 22% et l'excès énantiomérique supérieur à 96% en 105 min. On observe une nette amélioration du rendement radiochimique comparé à la première synthèse multi-étape et le *ee* est également

<sup>69</sup> Wagner F. M., Ermert J., Coenen H. H., Three-Step, "One-Pot" Radiosynthesis of 6-Fluoro-3,4-Dihydroxy-*L*-Phenylalanine by Isotopic Exchange, *J. Nucl. Med.*, 2009, 50, 10, 1724-1729.

meilleur. L'activité molaire du composé final n'a pas été calculée, mais celle-ci était sûrement plus basse pour la deuxième synthèse à cause de l'étape de radiofluoration par IEX.

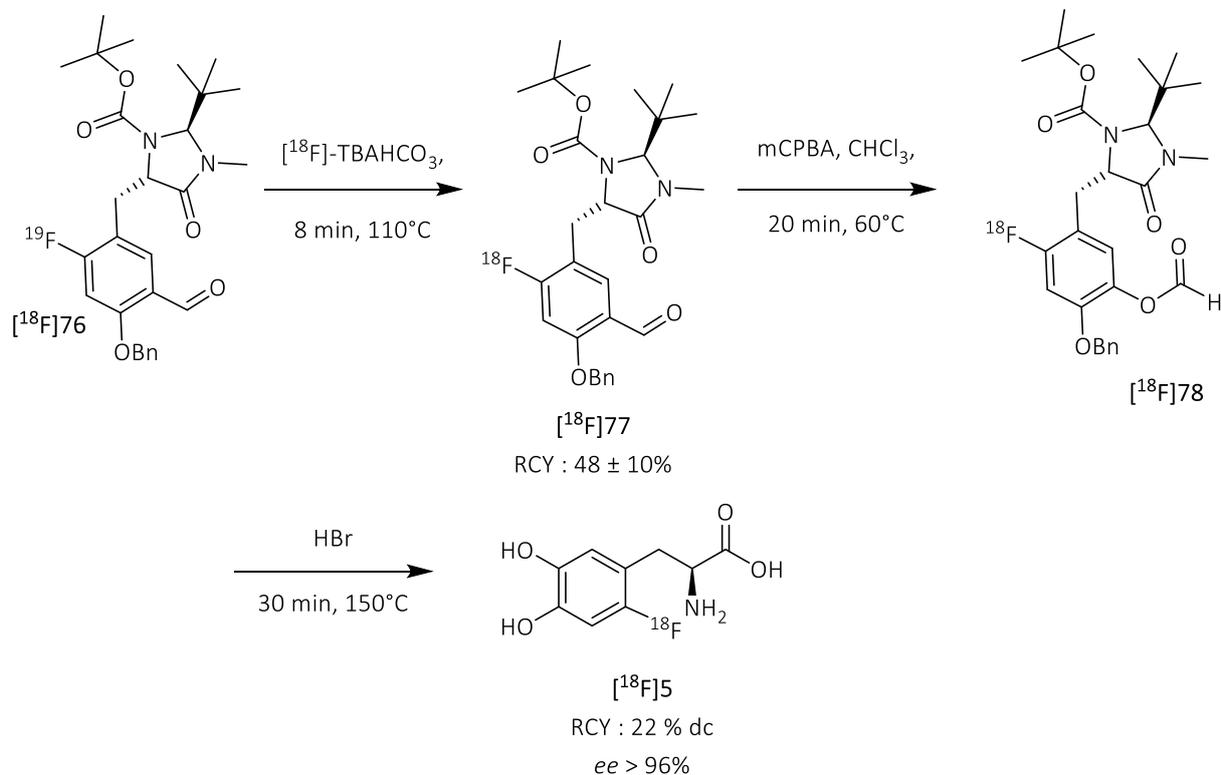


Schéma 35 - Synthèse multi-étape par IEX de la 6- $[^{18}\text{F}]$ fluoro-L-dopamine

Enfin, la dernière synthèse multi-étape a été mise au point avec des étapes en solution (notamment le radiofluoration) et des étapes où le précurseur est piégé sur une cartouche (Schéma 36).<sup>70</sup> L'étape de fluoration a été développée à l'aide d'une  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  sur un groupement triméthylammonium. La réaction a eu lieu avec du K222 et du carbonate de potassium dans le DMSO à  $140^\circ\text{C}$  pendant 2,5 min. Le rendement radiochimique était de 50%. Le composé fluoré a été piégé ensuite sur une cartouche d'extraction en phase solide (SPE) C18. La cartouche a été lavée avec de l'eau puis séchée. Cette étape, en plus de piéger le réactif, a permis d'éliminer le produit de départ mis en excès dans le milieu réactionnel. Une solution aqueuse de borohydrure de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ) a été utilisée afin de réduire le benzaldéhyde  $[^{18}\text{F}]77$  en alcool sur la cartouche. Enfin, une solution d'acide iodhydrique à 57% a été éluée lentement sur la cartouche 0,8 mL en 2 min (soit  $0,4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) pour réaliser la réaction d'iodation suivant un mécanisme de type  $\text{S}_{\text{N}}2$ . Le composé  $[^{18}\text{F}]80$  a ensuite été entraîné avec du toluène (2,5 mL) et mis en présence d'un agent de transfert de phase chiral (de type

<sup>70</sup> Libert L. C., Franci X., Plenevaux A. R., Ooi T., Maruoka K., Luxen A. J., Lemaire C. F. Production at the Curie Level of No-Carrier-Added 6- $^{18}\text{F}$ -Fluoro-L-Dopa, *J. Nucl. Med.*, **2013**, 54, 7, 1154-1161.

ammonium) permettant d'utiliser une solution de KOH pendant 5 min à température ambiante. La base de Schiff prochirale a été déprotonée pour faire une substitution nucléophile sur le composé iodé, grâce à l'ammonium chiral de transfert de phase permettant à la réaction d'être énantiosélective (PTC : "Phase Transfert Catalyst" ou catalyse par transfert de phase). Finalement, la réaction a été stoppée par ajout d'une solution de HI à 57%. Le solvant organique a été évaporé et le composé a été déprotégé par hydrolyse acide à 180°C pendant 15 min. Le composé a ensuite été purifié par une colonne semi-préparative. Le rendement d'activité final mesuré de la séquence  $[^{18}\text{F}]77$  à  $[^{18}\text{F}]5$  était de 24% après 63 min de synthèse. L'*ee* était supérieur à 96% et une excellente activité molaire a été obtenue comprise entre 750 et 1300 GBq.μmol<sup>-1</sup>.

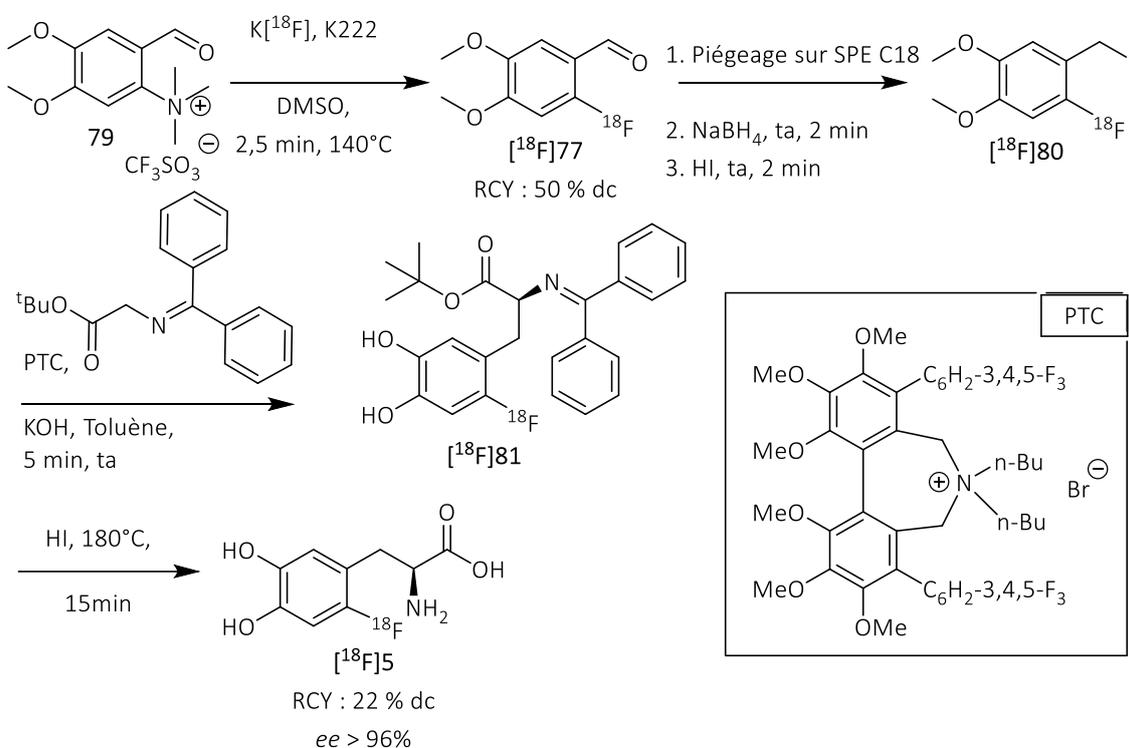


Schéma 36 - Synthèse multi-étape en partie supportée de la 6- $[^{18}\text{F}]$ fluoro-L-Dopamine

Ces trois synthèses ont permis d'obtenir la 6- $[^{18}\text{F}]$ fluoro-L-dopamine avec des rendements radiochimiques et des *ee* qui ont été améliorés. Le rendement radiochimique de la seconde synthèse multi-étape était similaire mais l'activité molaire de la dernière synthèse multi-étape était plus élevée que toutes les radiosynthèses de  $[^{18}\text{F}]5$  présentées précédemment. Malgré le plus grand nombre d'étape de synthèse, la dernière synthèse multi-étape a été la plus rapide, permettant de gagner 40 min à 1 heure de synthèse comparée aux deux autres.

Enfin, la chiralité a été induite par différentes stratégies utilisant soit des réactifs chiraux soit des auxiliaires chiraux, permettant d'obtenir des composés avec des *ee* élevés. La présence de

l'énantiomère d'un radiotraceur peut avoir un fort impact. En effet, l'énantiomère a potentiellement une activité biologique différente du radiotraceur utilisé, lui permettant soit de se fixer à une autre cible biologique que celle désirée (créant du bruit de fond), ou bien même d'avoir un impact toxique sur le patient.

## b. Les radiosynthèses à partir de groupements prosthétiques

Les radiosynthèses utilisant des groupements prosthétiques sont effectuées en deux étapes, une étape de marquage suivi d'une étape de couplage entre la biomolécule et le GP. Une sélection non exhaustive de GP ainsi que leur réactivité permettant de réaliser les réactions de bioconjugaisons compatible avec les biomolécules seront présentées.

### ❖ Acylation des amines

L'acylation des amines permet d'obtenir un amide à partir d'une amine et d'un ester activé, ou autre dérivé d'acide suffisamment réactif. L'inconvénient est que le GP réagit avec toutes les fonctions amines primaires et secondaires. Lors du marquage de peptides ou de protéines, il est possible qu'il y ait de nombreuses fonctions amines, et la réaction ne sera donc pas régiosélective.

L'un des esters activés le plus utilisé est le *N*-succinimidyl 4- $^{18}\text{F}$ fluorobenzoate ( $^{18}\text{F}$ SFB) (Schéma 37). Il a été synthétisé de deux manières différentes. La première synthèse a été développée en 1991 en 3 étapes à partir du  $^{18}\text{F}$ fluorobenzaldéhyde<sup>71</sup> ( $^{18}\text{F}$ 83). Le radiomarquage de  $^{18}\text{F}$ 83 a été réalisé à partir du *p*-triméthylammonium benzaldéhyde par une  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ . Ensuite, le composé est oxydé en présence de permanganate de potassium ( $\text{KMnO}_4$ ) pour obtenir l'acide  $^{18}\text{F}$ fluorobenzoïque ( $^{18}\text{F}$ FBA). Enfin, le *N*-hydroxysuccinimide a été couplé avec le  $^{18}\text{F}$ FBA à l'aide d'un agent de couplage, le *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC). La réaction a duré au total 100 min. Le RCY obtenu à la fin des trois étapes est de 25%, avec une activité molaire de  $300 \text{ Ci}\cdot\text{mmol}^{-1}$  soit  $11,1 \text{ Gbq}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$ . La seconde synthèse a également été mise au point en 3 étapes.<sup>72</sup> La première étape a consisté à marquer l'éthyl de *p*-triméthylammonium benzoate. Une fois le marquage réalisé, une solution de NaOH a été ajoutée au milieu réactionnel afin de réaliser la saponification et d'obtenir le  $^{18}\text{F}$ FBA. Enfin, l'ester activé a été synthétisé à partir d'un donneur de succinimide, le tétrafluoroborate de

---

<sup>71</sup> Vaidyanathan G., Zalutsky M. R. Labeling Proteins with Fluorine- 18 Using *N*-Succinimidyl 4- $^{18}\text{F}$ Fluorobenzoate, *Nucl. Med. Biol.*, **1992**, 19, 3, 275-281.

<sup>72</sup> Wester H.-J., Hamacher K., Stscklin G. A Comparative Study of *N.C.A.* Fluorine-48 Labeling of Proteins via Acylation and Photochemical Conjugation, *Nucl. Med. Biol.*, **1996**, 23, 365-372.

*N,N,N',N'*-tétraméthyl-*O*-(*N*-succinimidyl)uronium (TSTU). Le rendement radiochimique total a été de  $55 \pm 10\%$  et la durée totale de la synthèse de 35 min.

La seconde synthèse a permis d'obtenir le [ $^{18}\text{F}$ ]SFB plus rapidement et avec un meilleur rendement.

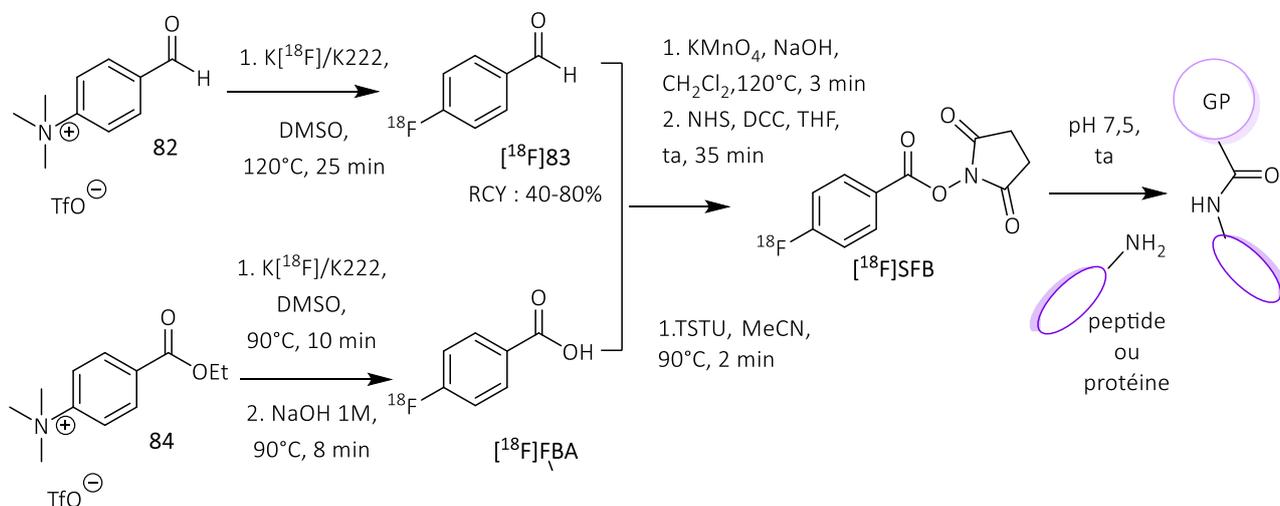


Schéma 37 - Synthèse de GP réagissant avec les amines

Le [ $^{18}\text{F}$ ]SFB n'est pas le seul groupement prosthétique permettant de réaliser des acylations sur les amines. Il existe d'autres esters activés mais ce ne sont pas les seules fonctions chimiques capables de réagir sélectivement avec des amines. Il y a également des isothiocyanates, des amidoesters et des sulfones, permettant d'obtenir respectivement des thiourées, des amidines ou bien encore des amines  $\beta$ -sulfonylées.

#### ❖ Réaction de thiol-Michael

Une réaction de thiol-Michael nécessite un thiol capable de réaliser une addition nucléophile sur un système  $\alpha,\beta$ -insaturé. Plusieurs systèmes  $\alpha,\beta$ -insaturés tels que les sulfones vinyliques<sup>73</sup> ont été développés mais le plus réactif et donc le plus utilisé est le maléimide.

Il existe de nombreux GP permettant de réaliser une réaction de thio-Michael, mais seul le marquage des trois GP les plus utilisés sera détaillé (Schéma 38).

Le premier GP est le [ $^{18}\text{F}$ ]FpyMe.<sup>74</sup> Sa synthèse a été réalisée en deux étapes : l'étape de radiofluoration correspondant à une réaction de type  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  sur le précurseur-nitro **85** suivie d'une

<sup>73</sup> Wu Z., Li L., Liu S., Yakushijin F., Yakushijin K., Horne D., Conti P. S., Li Z., Kandeel F., Shively J. E. Facile Preparation of a Thiol-Reactive  $^{18}\text{F}$ -Labeling Agent and Synthesis of  $^{18}\text{F}$ -DEG-VS-NT for PET Imaging of a Neurotensin Receptor-Positive Tumor, *J. Nucl. Med.*, **2014**, 55, 1178-1184.

<sup>74</sup> Cavani M., Bier D., Holschbach M., Coenen H. H. Efficient synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]FpyMe: A new approach for the preparation of maleimide-containing prosthetic groups for the conjugation with thiols, *J. Labelled Compd Radiopharm.*, **2017**, 60, 1, 87-92.

réaction de type rétro Diels-Alder dans le toluène à 110°C conduisant à la déprotection du maléimide. Le [<sup>18</sup>F]FPyMe a été obtenu avec un rendement radiochimique de 23 ± 3%.

Les deux autres groupements prosthétiques ont été synthétisés à partir de radiotraceurs connus et détaillés précédemment. Le [<sup>18</sup>F]FBEM<sup>75</sup> a été synthétisé à partir de du [<sup>18</sup>F]SFB. L'ester activé a réagi avec une amine sur laquelle se trouvait une fonction maléimide. Quant au [<sup>18</sup>F]FBAM<sup>76</sup>, il a été synthétisé à partir du [<sup>18</sup>F]fluorobenzaldéhyde grâce à une réaction d'oximation avec une hydroxylamine sur laquelle se trouve une fonction maléimide.

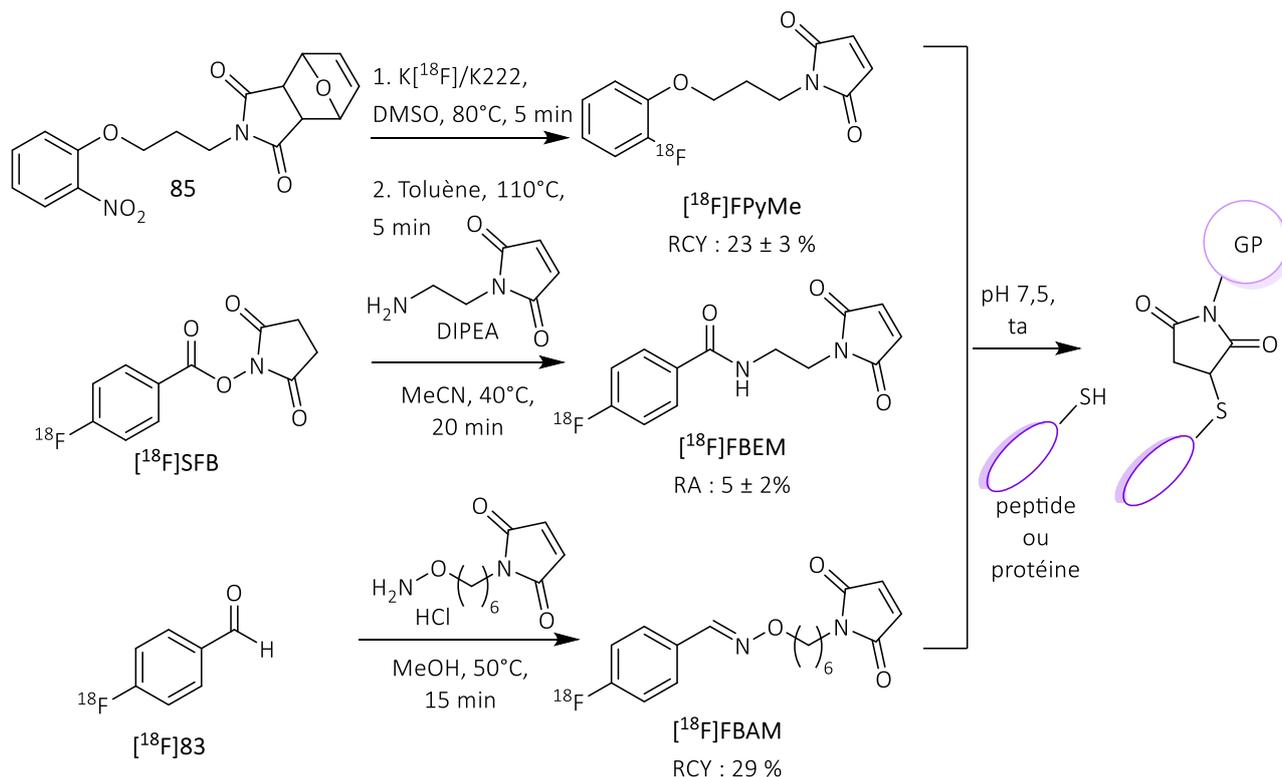


Schéma 38 - Synthèses de GP pouvant réagir avec des thiols par une réaction thiol-Michael

#### ❖ Condensation avec des cystéines terminales<sup>77</sup>

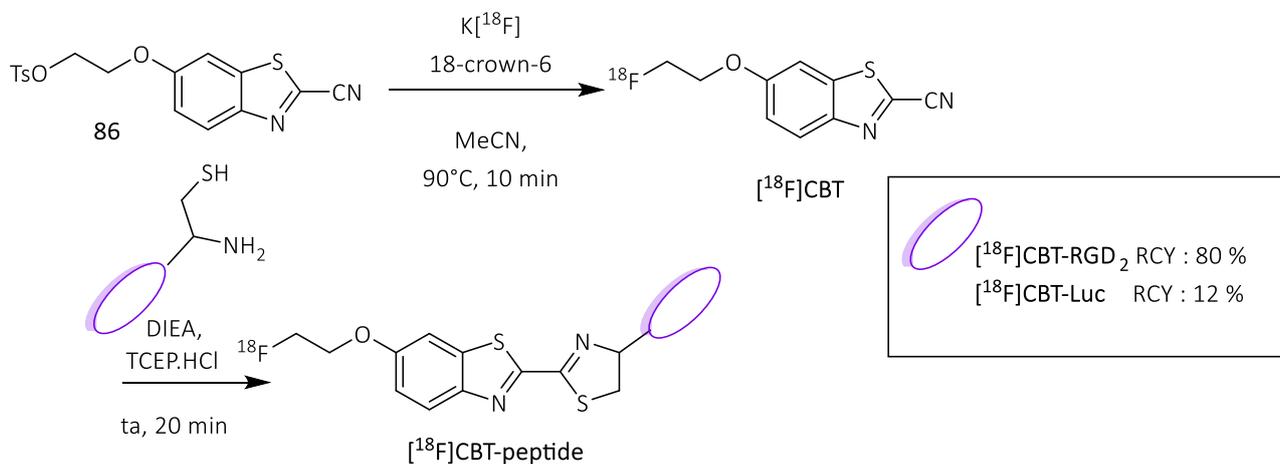
Les réactions de type thiol-Michael et d'acylation ne sont pas régiosélectives en cas de présence de plusieurs fonctions thiols ou amines, c'est pourquoi une réaction régiosélective de condensation des cystéines N-terminales a été mise au point. La réaction de marquage du [<sup>18</sup>F]CBT a été effectuée grâce

<sup>75</sup> Cai W., Zhang X., Wu Y., Chen X. A thiol-reactive <sup>18</sup>F-labeling agent, N-[2-(4-<sup>18</sup>F-fluorobenzamido)ethyl]maleimide, and synthesis of RGD peptide-based tracer for PET imaging of alpha vβ3 integrin expression, *J. Nucl. Med.*, **2006**, 47, 7, 1172-1180.

<sup>76</sup> Berndt M., Pietzsch J., Wuest F. Labeling of low-density lipoproteins using the <sup>18</sup>F-labeled thiol-reactive reagent N-[6-(4-[<sup>18</sup>F]fluorobenzylidene)aminoxyhexyl]maleimide, *Nucl. Med. Biol.*, **2007**, 34, 1, 5-15.

<sup>77</sup> Jeon J., Shen B., Xiong L., Miao Z., Lee K. H., Rao J., Chin F. T. Efficient Method for Site-Specific <sup>18</sup>F-Labeling of Biomolecules Using the Rapid Condensation Reaction between 2-Cyanobenzothiazole and Cysteine, *Bioconjugate Chem.*, **2012**, 23, 1902-1908.

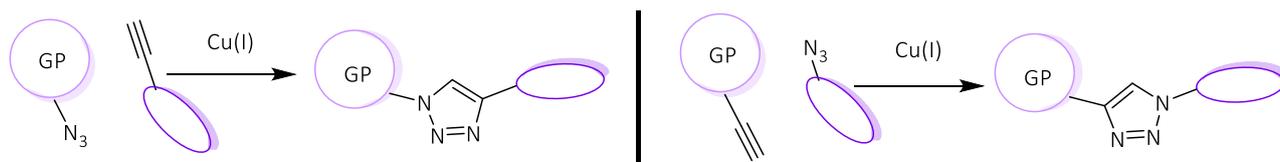
à un éther couronne (18-crown-6) (**Schéma 39**). Le K222 n'a pas été utilisé car il hydrolyse le groupe cyano en amide terminal. Ensuite, la réaction de condensation a été réalisée en présence de DIEA et d'hydrochlorure de (tris(2-carboxyéthyl)-phosphine (TCEP.HCl) afin d'éviter l'oxydation non-désirée du thiol. Cette réaction a permis d'obtenir une dithiazoline entre le GP et le peptide ou la protéine.



La réaction de condensation des cystéines terminales a été réalisée sur un traceur constitué de deux peptides (cRGD)<sub>2</sub> et sur une protéine. En ce qui concerne le **[<sup>18</sup>F]CBT-RGD<sub>2</sub>**, la réaction a eu lieu dans du DMF anhydre. Le rendement radiochimique était de 80%, le rendement d'activité de 8% et l'activité molaire en moyenne de 1,3 Ci.μmol<sup>-1</sup> soit 48 GBq.μmol<sup>-1</sup>. La durée totale de la synthèse, prenant en compte le marquage et les différentes étapes de purification, a été mesurée à 100 min. Pour le **[<sup>18</sup>F]CBT-Luc**, la réaction a été faite dans une solution tampon (PBS) et un rendement radiochimique plus faible de 12% a été obtenu.

#### ❖ CuAAC

La cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée au cuivre (I) (CuAAC) est une réaction de chimie "click" permettant d'obtenir un triazole à partir d'un azoture et d'un alcyne (**Schéma 40**). Il existe de nombreux groupements prosthétiques utilisant cette réaction. Le GP contient soit un alcyne, soit un azoture.



**Schéma 40 - CuAAC**

Les  $[^{18}\text{F}]$ fluorobutyne<sup>78</sup>,  $[^{18}\text{F}]$ -PEG<sub>3</sub><sup>79</sup>, azoture de  $[^{18}\text{F}]$ fluoroéthyl<sup>80</sup> et  $[^{18}\text{F}]$ F- $\beta$ -gluco<sup>81</sup> ont été obtenus grâce à des S<sub>N</sub>2 (Fig. 6).  $[^{18}\text{F}]$ FpyKYNE<sup>82</sup> et l'azoture de  $[^{18}\text{F}]$ fluorobenzyle<sup>83</sup> ont été obtenus par des réactions de type S<sub>N</sub>Ar. Enfin,  $[^{18}\text{F}]$ AMBF<sub>3</sub><sup>47</sup> a été obtenu à l'aide d'une réaction de type IEX.

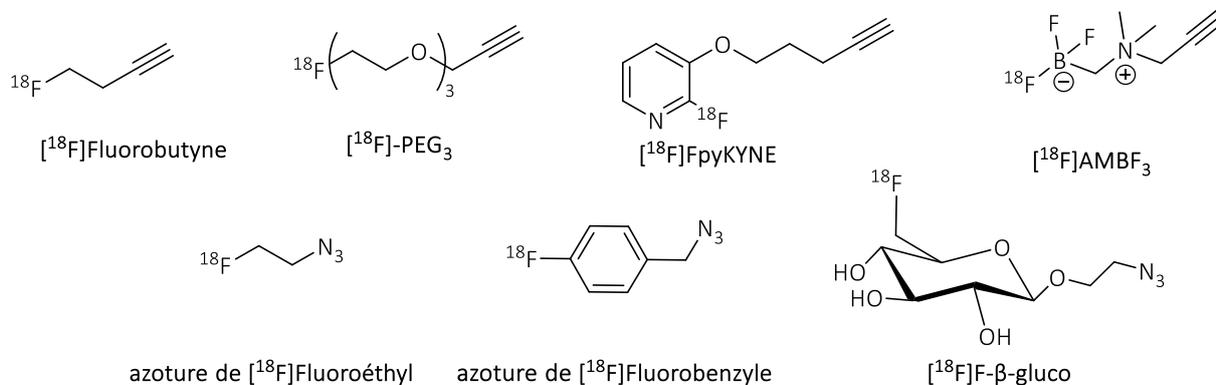


Figure 6 - Différents GP capable de réaliser de CuAAC

#### ❖ SPAAC

La chimie "click" promue par tension de cycle (SPAAC) fait réagir un azoture et un cyclooctène afin d'obtenir un triazole comme pour la CuAAC. Contrairement à la CuAAC, cette réaction n'est pas régiosélective et conduit à deux régioisomères. Les groupements prosthétiques portant un azoture présentés ci-dessus peuvent également être utilisés afin de réaliser des SPAAC.

Un des groupes prosthétiques utilisé pour les réactions de type SPAAC est le  $[^{18}\text{F}]$ SFB-DBCO (Schéma 41).<sup>84</sup> Il a été synthétisé à partir du  $[^{18}\text{F}]$ SFB et du DBCO-amine dans l'acétonitrile pendant 30 min à 40°C. Le composé  $[^{18}\text{F}]$ SFB-DBCO a été obtenu avec un RCY de 85% pour une durée totale de réaction/purification de 60 min.

<sup>78</sup> Marik J., Sutcliffe J.L. Click for PET: rapid preparation of  $[^{18}\text{F}]$ fluoropeptides using CuI catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition, *Tet. Let.*, **2006**, 47, 6681-6684.

<sup>79</sup> Devaraj N.K., Keliher E.J., Thurber G.M., Nahrendorf M. Weissleder R.  $^{18}\text{F}$  Labeled Nanoparticles for in vivo PET-CT, *Imaging. Bioconj. Chem.*, **2009**, 20, 397-401.

<sup>80</sup> Smith G., Glaser M., Perumal M., Nguyen Q.-D., Shan B., Årstad E., Aboagye E.O. Design, Synthesis, and Biological Characterization of a Caspase 3/7 Selective Isatin Labeled with 2-  $[^{18}\text{F}]$ fluoroethylazide, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 8057-8067.

<sup>81</sup> Collet C., Maskali F., Clément A., Chrétien F., Poussier S., Karcher G., Marie P.-Y., Chapleur Y., Lamandé-Langle S. Development of 6- $[^{18}\text{F}]$ fluoro-carbohydratebased prosthetic groups and their conjugation to peptides via click chemistry, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2016**, 59, 54-62.

<sup>82</sup> Kuhnast B., Hinnen F., Tavitian B., Dolle F.  $[^{18}\text{F}]$ FpyKYNE, a fluoropyridine-based alkyne reagent designed for the fluorine-18 labelling of macromolecules using click chemistry, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2008**, 51, 336-42.

<sup>83</sup> Thonon D., Kech C., Paris J., Lemaire C., Luxen A. New Strategy for the Preparation of Clickable Peptides and Labeling with 1- (Azidomethyl)-4- $[^{18}\text{F}]$ -fluorobenzene for PET, *Bioconj. Chem.*, **2009**, 20, 817-23.

<sup>84</sup> Bouvet V., Wuest M., Wuest F. Copper-free click chemistry with the short-lived positron emitter fluorine-18. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2011**, 9, 21, 7393-7399.

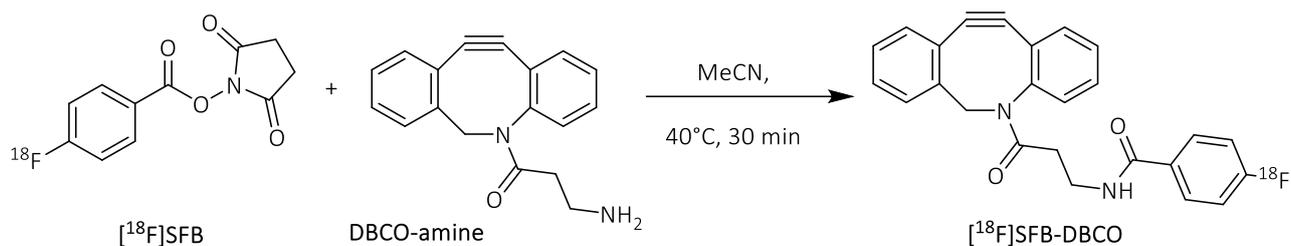


Schéma 41 - Synthèse du  $[^{18}\text{F}]\text{SFB-DBCO}$

Suite à cela, plusieurs structures ont été liées à ce  $[^{18}\text{F}]\text{SFB-DBCO}$  par des réactions de SPAAC comme par exemples des sucres, mais également des structures plus complexes permettant d'obtenir  $[^{18}\text{F}]\mathbf{87}$  avec une conversion radiochimique de 69% (Fig. 7).<sup>84</sup> Le composé  $[^{18}\text{F}]\mathbf{88}$  utilise cette fois un groupement prosthétique contenant un azoture et c'est le peptide bombésine qui a été modifié pour porter le DBCO.<sup>85</sup> Le groupement prosthétique a été obtenu à partir de l'azoture de nitrobenzyle, avec un RCY de 37% et une activité molaire de 57 GBq.μmol<sup>-1</sup>.

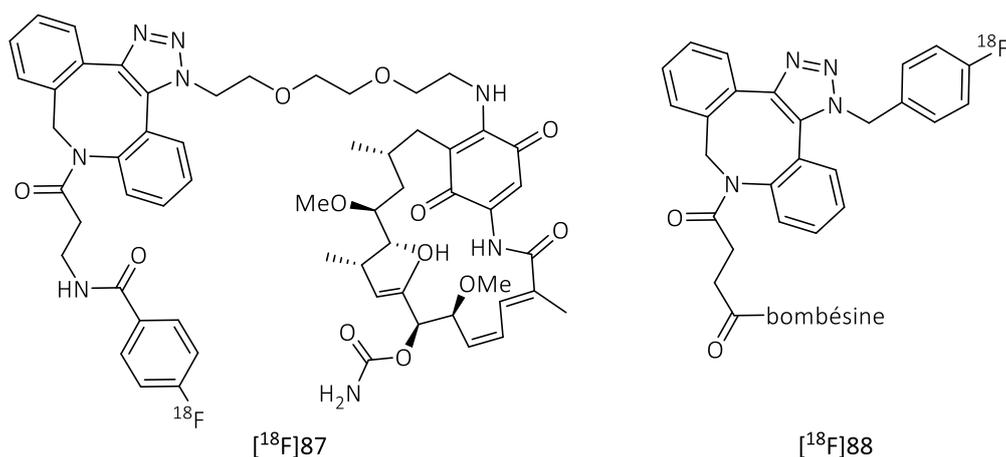


Figure 7 - Exemples de structures utilisant une réaction de type SPAAC

#### ❖ IEDDA

La réaction de Diels-Alder à demande inverse en électron est la réaction de chimie "click" la plus rapide et est irréversible grâce à une perte de diazote. Les deux réactifs les plus utilisés pour une réaction de type IEDDA sont des dérivés de la tétrazine (Tz) et des dérivés du *trans*-cyclooctènes (TCO).

Dans un premier temps, le TCO a été marqué avec du fluorure-18 en présence de bromure de tétrabutylammonium (TBAB) dans l'acétonitrile, à partir d'une réaction de type S<sub>N</sub>2 sur une fonction

<sup>85</sup> Campbell-Verduyn L., Mirfeizi L., Schoonen A., Dierckx R., Elsinga P., Feringa B. Strain-Promoted Copper-Free "Click" Chemistry for <sup>18</sup>F Radiolabeling of Bombesin, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, 50, 47, 11117-11120.

nosylate (Ns) pendant 15 min à 75°C (Schéma 42).<sup>86</sup> [<sup>18</sup>F]90 a ainsi été marqué avec un rendement radiochimique de 71%.

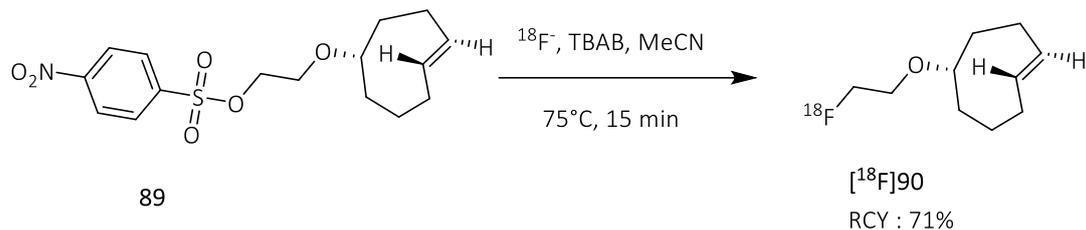


Schéma 42 - Marquage d'un TCO

Ensuite, le TCO a été utilisé pour réaliser une réaction d'IEDDA sur un peptide Exedin-4 avec une cystéine terminale (Schéma 43).<sup>87</sup> Le peptide a été fonctionnalisé en amont par une tétrazine (Tz) maléimide pour obtenir **91**. Le composé **91** est alors mis en présence de [<sup>18</sup>F]90 dans de l'acétonitrile pendant 5 min à ta, pour obtenir [<sup>18</sup>F]92 avec un RCY moyen (n=4) de 80%. L'activité molaire calculée était de 160 GBq.μmol<sup>-1</sup>.

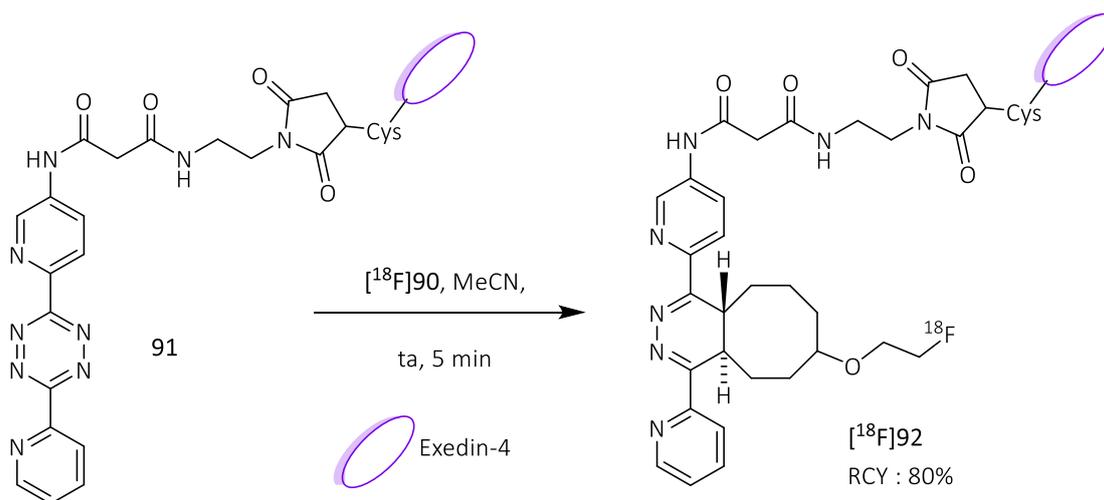


Schéma 43 - Réaction d'IEDDA avec un TCO marqué

L'exedin-4 est un peptide capable de se fixer sur des protéines membranaires présentes dans les cellules pancréatiques. Ce traceur permet de suivre l'évolution des îlots pancréatiques après une greffe.

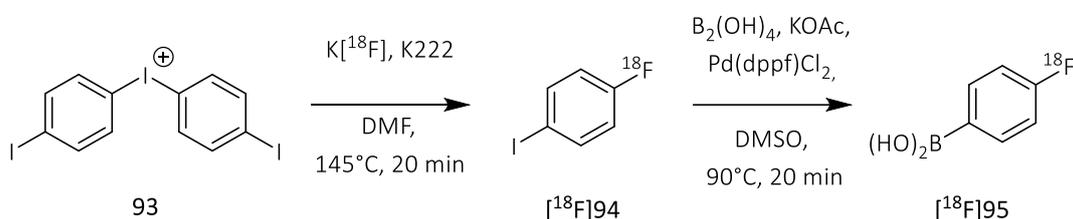
<sup>86</sup> Selvaraj R., Giglio B., Liu S., Wang H., Wang M., Yuan H., Chintala S. R., Yap L.-P., Conti P. S., Fox J. M., Li, Z. Improved Metabolic Stability for <sup>18</sup>F PET Probes Rapidly Constructed via Tetrazine trans-Cyclooctene Ligation. *Bioconjugate Chem.*, **2015**, 26, 3, 435-442.

<sup>87</sup> Wu Z., Liu S., Hassink M., Nair I., Park R., Li L., Todorov I., Fox J. M., Li Z., Shively J. E., Conti P. S., Kandeel F. Development and evaluation of <sup>18</sup>F-TTCO-Cys40-exendin-4: A PET probe for imaging transplanted islets, *J. Nucl. Med.*, **2013**, 54, 2, 244-251.

❖ **Systèmes pallado-catalysés**

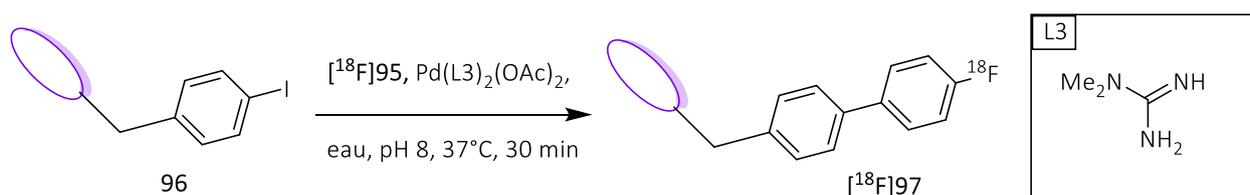
Des réactions de couplages pallado-catalysés ont été réalisées entre un groupement prosthétique et la biomolécule. Deux réactions connues ont notamment été utilisées : des couplages de Suzuki et des couplages de Sonogashira.

Le couplage de Suzuki a été développé avec le marquage d'un phénylboronique (**Schéma 44**).<sup>88</sup> Dans un premier temps, le triflate de diiodophényl iodonium **93** a été marqué dans le DMF pendant 20 min à 145°C afin d'obtenir le composé [<sup>18</sup>F]**94**. Puis, une substitution à l'aide d'un complexe de palladium a été réalisée entre l'iode et l'acide boronique permettant ainsi d'obtenir le groupement prosthétique désiré [<sup>18</sup>F]**95**. Le RCY sur les deux étapes était de 5-10% avec des puretés pour chaque étape supérieures à 95%.



**Schéma 44** - Marquage du groupe prosthétique contenant un acide boronique

Le couplage de Suzuki a été réalisé sur un peptide possédant un iodophényl en bout de chaîne **96** (**Schéma 45**). La réaction a été réalisée dans l'eau avec des ligands spéciaux pour le palladium permettant ainsi de le solubiliser dans l'eau avec un pH 8 à 37°C. La réaction a duré 30 min et permet d'obtenir [<sup>18</sup>F]**97** avec un rendement radiochimique de 48%. Le taux de contamination de palladium de [<sup>18</sup>F]**97** a été estimé à 1 ppm.



**Schéma 45** - Couplage de Suzuki

<sup>88</sup> Gao Z., Gouverneur V., Davis B. Enhanced Aqueous Suzuki–Miyaura Coupling Allows Site-Specific Polypeptide <sup>18</sup>F-Labeling. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 37, 13612-13615.

Un couplage de Sonogashira a été envisagé à partir du  $[^{18}\text{F}]$ fluoroiodophényl  $[^{18}\text{F}]$ 94 (Schéma 46).<sup>89</sup> Dans un premier temps, ce groupement prosthétique a été synthétisé en utilisant un triflate de (4-iodophényl)diphénylsulfonium 98.<sup>90</sup> Il a permis d'obtenir le composé attendu  $[^{18}\text{F}]$ 94 avec un RCY de  $89 \pm 10\%$  en présence de  $[^{18}\text{F}]$ fluorophényl comme produit secondaire.

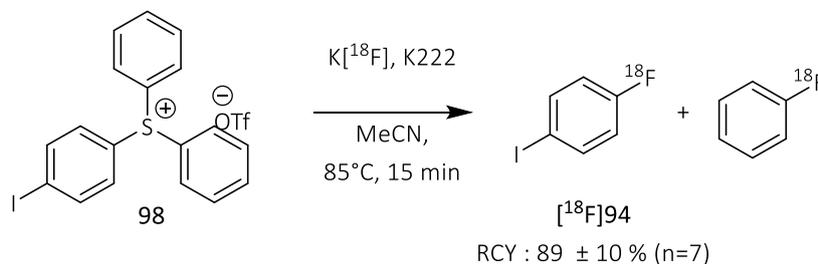


Schéma 46 - Synthèse du  $[^{18}\text{F}]$ fluoroiodophényl

Ensuite, le couplage de Sonogashira a été étendu à un dérivé de la bombésine contenant un alcyne (Schéma 47). Le rendement radiochimique de cette réaction a été de  $71 \pm 4\%$ . Le couplage a été possible dans l'eau grâce au triphénylphosphate trisulfonate de sodium, permettant de solubiliser le palladium dans ce mélange. L'activité molaire a été mesurée à  $625 \pm 334 \text{ GBq} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ .

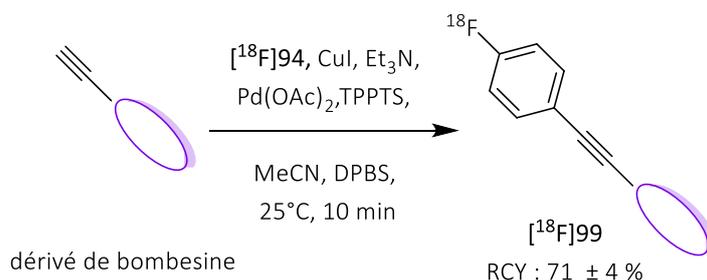


Schéma 47 - Réaction de couplage de Sonogashira avec un dérivé de la bombésine dans l'eau

#### ❖ Réaction de photoclick-photocycloaddition

Une des premières réactions photocatalysées a été une réaction d'acylation des amines<sup>72</sup>, utilisant un azoture aromatique pour obtenir une fonction azépine (Schéma 48). La réaction de marquage a permis d'obtenir  $[^{18}\text{F}]$ APF avec un RCY de  $71 \pm 5\%$  en 15 min. La réaction de marquage n'a pas été prolongée plus de 4 min car des sous-produits, issus de la thermolyse, ont alors été observés. Ce  $[^{18}\text{F}]$ APF a ensuite été mis en présence de protéines possédant des amines, sous une lampe UV de

<sup>89</sup> Way J., Bergman C., Wuest F. Sonogashira cross-coupling reaction with 4- $[^{18}\text{F}]$ fluoroiodobenzene for rapid  $^{18}\text{F}$ -labelling of peptides. *Chem. Comm.*, **2015**, 51, 18, 3838-3841.

<sup>90</sup> Way J., Wuest F. Automated radiosynthesis of no-carrier-added 4- $[^{18}\text{F}]$ fluoroiodobenzene: A versatile building block in  $^{18}\text{F}$  radiochemistry. *J. Label. Cmpd. Radiopharm.*, **2014**, 57, 2, 104-109.

366 nm pendant 5 à 10 min. Les rendements radiochimiques ont été calculés entre 10 et 25 %, en fonction de la quantité de lysine disponible.

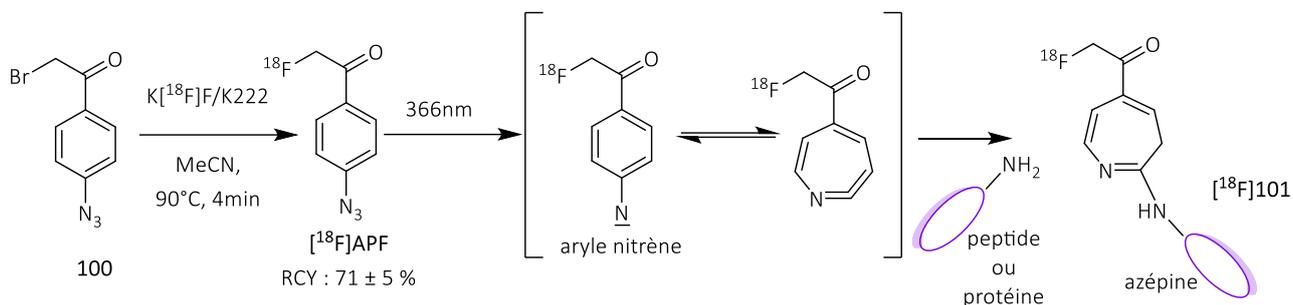


Schéma 48 - Réaction photocatalysée formant une azépine à partir d'une amine

Récemment, une équipe a décrit une nouvelle réaction de bioconjugaison par photochimie "click" régiosélective. La réaction a été réalisée à partir de 9,10-phénanthrènequinones (**PQs**) et d'un alcène substitué (Schéma 49).<sup>91</sup> Dans un premier temps, le groupement prosthétique a été marqué à l'aide d'une réaction de type  $S_N2$  dans l'acétonitrile en présence de K222. Le milieu réactionnel a ensuite été chauffé à 110°C pendant 3 min. **[18F]VE1** a été purifié par distillation et obtenu avec un RCY de 58 ± 8% (n=6). Le distillat a été envoyé dans un vial contenant la **PQs**. Ensuite, le mélange a été pompé afin de réaliser la réaction de photochimie "click" en flux irradiée par des LEDs à 395nm pendant 1 min. Plusieurs radiotraceurs peptidiques ont été obtenus avec différents rendements. Il est tout de même à noter que lorsque les peptides ont été protégés, les rendements obtenus étaient meilleurs, les groupements protecteurs permettant une meilleure solubilisation dans l'acétonitrile.

<sup>91</sup> Fu Y., Helbert H., Simeth N. A., Crespi S., Spoelstra G.B., van Dijn J. M., van Oosten M., Nazario L. R., van der Born D., Luurtsema G., Szymanski W., Elsinga P. H., Feringa B. L. Ultrafast Photoclick Reaction for Selective 18F-Positron Emission Tomography Tracer Synthesis in Flow. *Journal of the American Chemical Society*. 2021;143(27):10041–7.

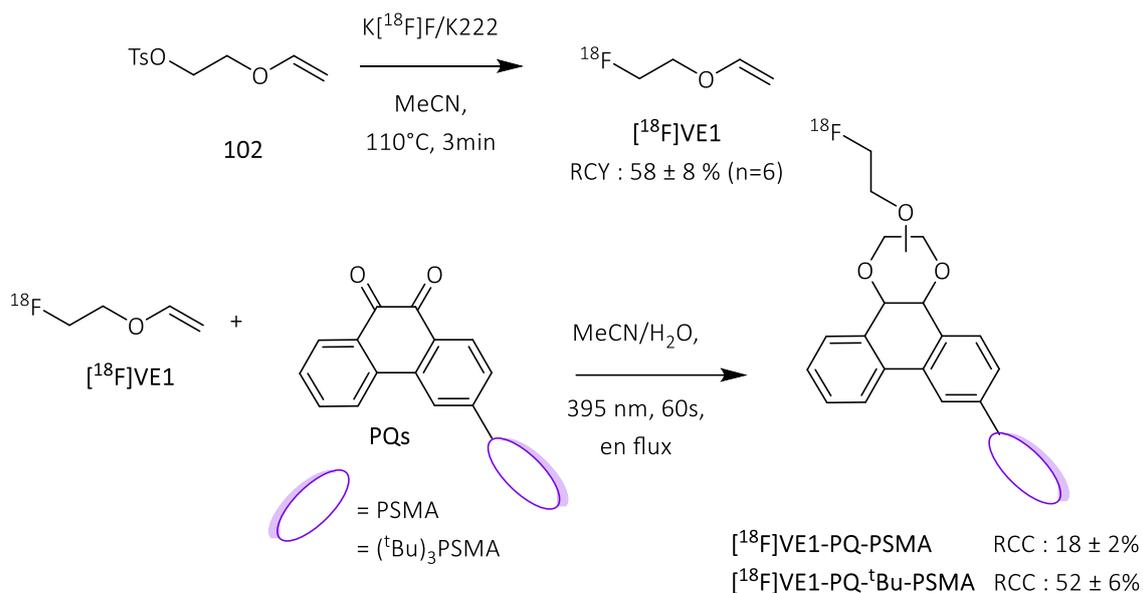


Schéma 49 - Réaction de bioconjugaison par photoclick

Cette liste de réactions de bioconjugaison n'est pas exhaustive, il existe de nombreuses autres réactions comme par exemple la réaction de ligation de Staudinger<sup>92</sup> ou la réaction d'oximation<sup>93</sup>. Certains groupements prosthétiques sont également sélectifs des phénols.<sup>94</sup> Enfin, de nouvelles réactions de chimie "click" promue par tension de cycle ont également été mises à jour, comme par exemple la réaction dite de SPANC, faisant réagir cette fois une nitronne avec un alcyne pour former un dérivé d'isoxazole.<sup>95</sup>

## 7. Les synthèses supportées

La synthèse supportée présente de nombreux avantages pour la radiofluorination. Elle permet de faciliter le travail sur de petites quantités et également de faciliter l'étape de purification

<sup>92</sup> Mamat C., Franke M., Peppel T., Köckerling M., Steinbach J. Synthesis, structure determination, and (radio-)fluorination of novel functionalized phosphanes suitable for the traceless Staudinger ligation. *Tetrahedron*, **2011**, 67, 4521–4529.

<sup>93</sup> Glaser M., Morrison M., Solbakken M., Arukwe J., Karlsen H., Wiggen U., Champion S., Kindberg G. M., Cuthbertson A. Radiosynthesis and Biodistribution of Cyclic RGD Peptides Conjugated with Novel [<sup>18</sup>F]Fluorinated Aldehyde-Containing Prosthetic Groups. *Bioconj. chem.*, **2008**, 19, 951–957.

<sup>94</sup> Al-Momani E., Israel I., Buck A. K., Samnick S. Improved synthesis of [<sup>18</sup>F]FS-PTAD as a new tyrosine-specific prosthetic group for radiofluorination of biomolecules, *Applied radiation and isotopes*, **2015**, 104, 136–142.

<sup>95</sup> Ghiassian S., Yu L., Gobbo P., Nazemi A., Romagnoli T., Luo W., Luyt L. G., Workentin M. S. Nitronne-Modified Gold Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Potential as <sup>18</sup>F-Labeled Positron Emission Tomography Probes via I-SPANC, *ACS Omega*, **2019**, 4, 19106–19115.

habituellement chronophage. L'étape de purification est simplifiée car une simple étape de filtration peut être effectuée, permettant ainsi d'augmenter l'activité molaire des composés synthétisés. Les supports solides ont été utilisés dans quatre stratégies différentes de radiosynthèses. La première stratégie consiste à piéger un fluorure-18 sur une cartouche puis de faire passer un précurseur de radiotraceur sur la cartouche pour qu'il réagisse avec le fluorure-18. La seconde stratégie consiste à piéger le précurseur sur une cartouche et à faire passer le fluorure-18 sur la cartouche pour qu'il réagisse avec le précurseur piégé. La troisième stratégie consiste à accrocher le précurseur sur un support solide, puis, en présence de fluorure-18, le précurseur a été marqué et décroché de la résine et le radiotraceur a été collecté. Cela a permis notamment d'utiliser des groupements partants contenant des éléments toxiques sans qu'il y ait une contamination de ce composé dans le composé final. Enfin, la dernière stratégie consiste à marquer un groupement prosthétique, puis, à l'aide d'une réaction de bioconjugaison de l'accrocher sur une biomolécule supportée.

### a. Anions fluorures piégés

Les premières synthèses supportées utilisaient des résines capables de piéger les anions fluorure-18. Les précurseurs ont ensuite été passés en solution lentement sur la résine, ceci permettant au fluorure-18 de réagir avec le précurseur. Par exemple, pour une synthèse du [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, le fluorure-18 a été piégé par un échange de contre-ion d'un motif pyridinium greffé sur une résine de Merrifield (**Schéma 50**).<sup>96</sup> Ensuite, le précurseur **21** a été élué sur la résine, permettant d'obtenir le [ $^{18}\text{F}$ ]FDG avec un rendement d'activité de 50% sur une durée totale de 40 min. Si on compare cette synthèse avec la synthèse du [ $^{18}\text{F}$ ]FDG présentée précédemment, le rendement d'activité (non corrigé de la décroissance) est plus élevé que le rendement radiochimique de la synthèse du [ $^{18}\text{F}$ ]FDG de type  $\text{S}_{\text{N}}2$  corrigé de la décroissance. La résine piégeant les anions de fluorure-18 a donc permis d'obtenir un meilleur rendement.

---

<sup>96</sup> Toorongian S. A., Mulholland G. K., Jewett D. M., Bachelor M. A., Kilbourn M. R. Routine Production of 2-Deoxy-2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-D-Glucose by Direct Nucleophilic Exchange on a Quaternary 4-Aminopyridinium Resin, *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B.*, **1990**, 17, 3, 273–279.

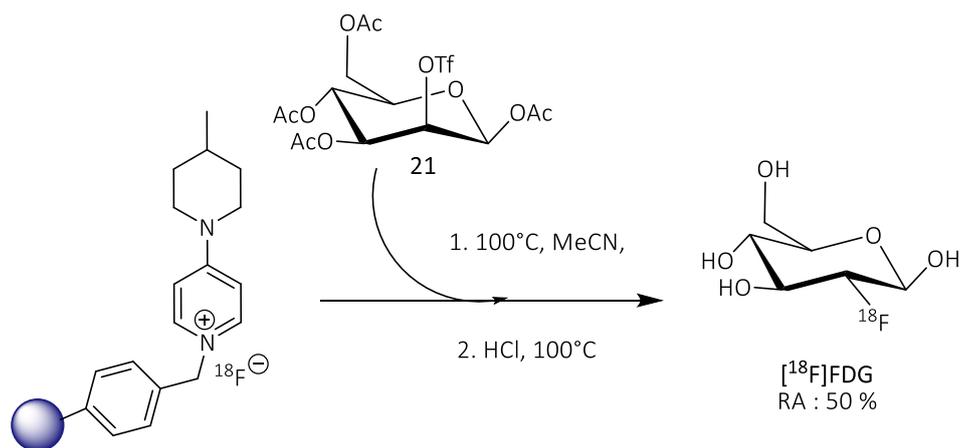


Schéma 50 - Synthèse supportée du  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  grâce à une résine capable de piéger un fluorure

Suite au développement de cette résine, d'autres résines ont été développées comportant des ammoniums ou des phosphoniums<sup>97</sup> capables de piéger jusqu'à 1 mmol de fluorure-18 par gramme de résine (Fig. 8). La résine contenant l'ion phosphonium a ainsi permis d'obtenir le  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  avec un rendement radiochimique de 70% (EOB). Une amélioration a été observée comparée à la première résine présentée.

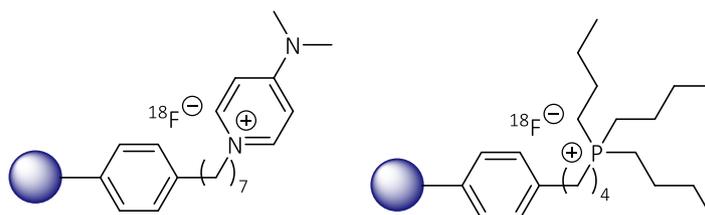


Figure 8 - Autres résines contenant un ammonium et un phosphonium

Enfin, une dernière résine a été développée sur laquelle se trouve un phosphazène<sup>98</sup>, un agent de transfert de phase capable de capter les fluorures-18 en milieu acide et de mieux les solubiliser en présence d'un solvant organique afin d'augmenter leur réactivité en phase organique (Schéma 51). Ces résines ont été utilisées pour réaliser des radiofluorations avec des RCY allant de 7 à 52%.<sup>99</sup> De plus, pour essayer d'augmenter la solubilité des phosphazènes, un espaceur PEG a été ajouté entre

<sup>97</sup> Ohsaki K., Endo Y., Yamazaki S., Tomoi M., Iwata R. Polymer-Supported Catalysts for Efficient on-Column Preparation of 2-Deoxy-2- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-D-Glucose}$ . *Appl. Radiat. Isot.*, **1998**, 49, 4, 373–378.

<sup>98</sup> Mathiessen B., Jensen A. T. I., Zhuravlev F. Homogeneous Nucleophilic Radiofluorination and Fluorination with Phosphazene Hydrofluorides, *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 7796 – 7805.

<sup>99</sup> Mathiessen B., Zhuravlev F. Automated Solid-Phase Radiofluorination Using Polymer-Supported Phosphazenes, *Molecules*, **2013**, 18, 10531-10547.

la résine et le phosphazène. Cependant, les rendements radiochimiques obtenus se sont révélés plus faibles qu'avec la première résine sans espaceur.

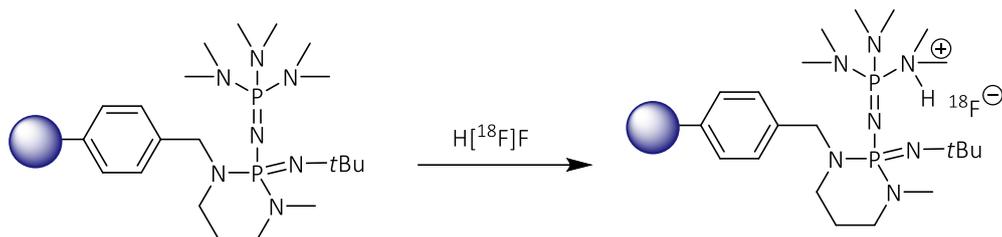


Schéma 51 - Résine contenant un phosphazène

### b. Précurseurs piégés

Il existe quelques exemples dans lesquels les précurseurs ont été piégés sur la cartouche, ceci permettant à la réaction d'avoir lieu sur un support solide. Une réaction de ce type a été décrite dans la partie synthèse indirecte multi-étape. Cependant, il existe d'autres exemples, notamment la réaction de chimie "click" suivante réalisée sur cartouche HLB Oasis®.<sup>100</sup> Dans un premier temps, le précurseur a été fluoré à l'aide d'une réaction S<sub>N</sub>2 puis celui-ci a été purifié et piégé sur une cartouche C18. Un mélange d'alcyne **103** et Cu(I)BPDS (Bathophénanthroline disulfate) dans du DMF a permis d'éluer le composé radioactif [<sup>18</sup>F]**104** de la cartouche C18 vers la cartouche HLB. Cette réaction a permis d'obtenir [<sup>18</sup>F]**104** avec une RCC de 91% (Schéma 52).

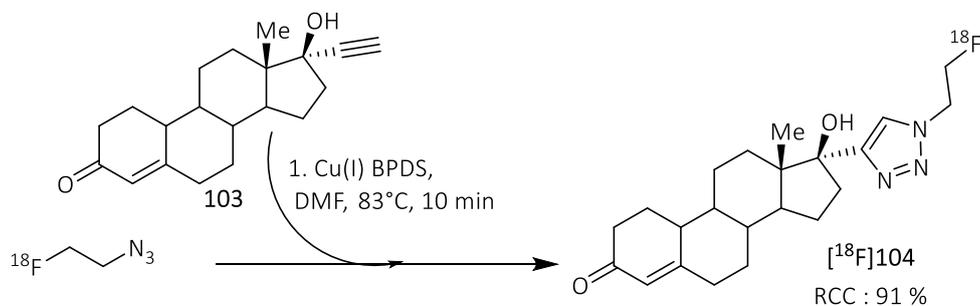


Schéma 52 - Synthèse de sur une cartouche HLB

La réaction a été réalisée à température ambiante à 83°C pendant 5-10 min, selon la nature du substrat. Les conversions radiochimiques ont été évaluées par HPLC allant de 20 à 97%.

<sup>100</sup> Zhou D., Chu W., Peng X., McConathy J., Mach R. H., Katzenellenbogen J.A. Facile purification and click labeling with 2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl azide using solid phase extraction cartridges, *Tetrahedron Letters*, **2015**, 56, 952–954.

### c. Précurseurs greffés sur Résines

#### ❖ Synthèse électrophile supportée

Une synthèse supportée à partir de l'organomercurique précurseur de la 6- $^{18}\text{F}$ fluoro-L-dopamine a été développée.<sup>101</sup> Le composé **10** a été greffé sur la résine **105** (Schéma 53) afin d'éviter les nombreuses purifications permettant d'éliminer la contamination du produit final par le mercure. Dans un premier temps, le fluor électrophile a été piégé en présence de  $\text{AcOK} \cdot (\text{H}_2\text{O})_3$  afin de former le  $^{18}\text{F}$ AcOF (quantité évaluée grâce à un titrage). La démercuration a ensuite été réalisée dans le réacteur contenant la résine en présence de chloroforme pendant 15-20 min à température ambiante. Ensuite, le milieu réactionnel a été filtré et la résine lavée plusieurs fois. Les différentes phases de lavages ont été combinées et évaporées. Le résidu a été dilué dans du chloroforme, et de l'acide iodhydrique a été ajouté afin de déprotéger l'amine. En fonction des différentes résines, le rendement radiochimique est compris entre 3 et 23%. L'activité molaire a été évaluée comme supérieure à  $650 \text{ mCi} \cdot \text{mmol}^{-1}$  soit  $0,024 \text{ GBq} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ . Enfin, aucun résidu de mercure n'a été détecté dans le produit final, confirmant l'intérêt du support solide dans ce cas.

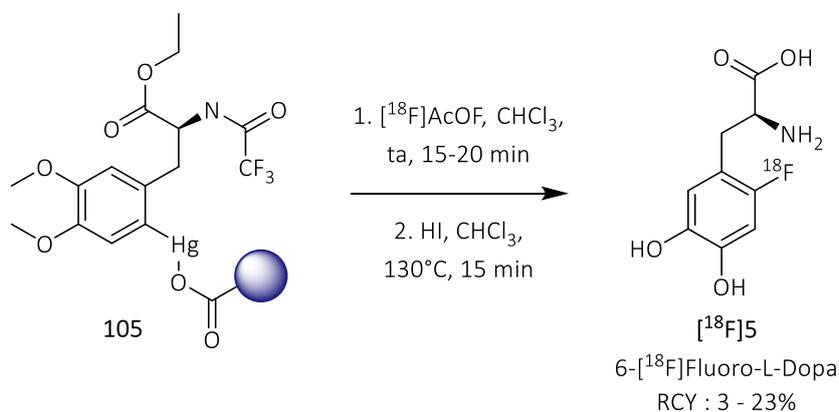


Schéma 53 - Synthèse électrophile supportée de 6- $^{18}\text{F}$ fluoro-L-dopa

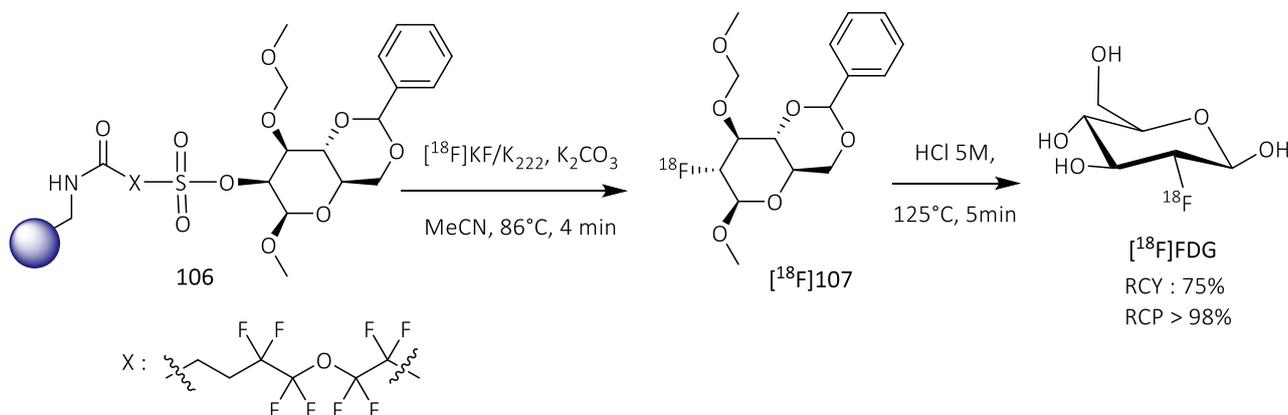
#### ❖ Synthèse supportée du $^{18}\text{F}$ FDG

Une des premières synthèses supportées du  $^{18}\text{F}$ FDG a été développée en 2005.<sup>102</sup> Le  $^{18}\text{F}$ FDG a été greffé sur une résine sur laquelle se trouve une sulfone jouant le rôle de groupement partant (Schéma 54). La sulfone étant directement accrochée sur la résine, seul le composé  $^{18}\text{F}$ 107 a été libéré dans

<sup>101</sup> Szajek L.P., Channing M.A., Eckelman W.C. Automated Synthesis of 6- $^{18}\text{F}$ fluoro- L-DOPA Using Modified Polystyrene Supports with Bound 6-mercuric DOPA Precursors, *Applied Radiation and Isotopes*, **1998**, 49, 7, 795-804.

<sup>102</sup> Bouvet D., Brown G., Brown R., Champion S. M., Devenish A., Gibson A. M. R., Hu Y., Jackson A., Khan I., Ma N., Millot N., Wadsworth H., Brady F., Luthra S.K. The Radiosynthesis of [2- $^{18}\text{F}$ ] Fluorodeoxyglucose Using a Resin Bound Precursor, *Academic Radiology*, **2005**, 12, 1, S59-S60.

la solution après la radiofluoruration. Enfin, le composé  $[^{18}\text{F}]\mathbf{107}$  a été déprotégé en milieu acide pour obtenir le  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  avec un RCY de 75% et une pureté radiochimique supérieure à 98%.



L'introduction d'un espaceur dans le précurseur **106** entre la fonction sulfone et la résine a été également décrite.<sup>103</sup> Cet espaceur avait pour objectif d'éloigner le précurseur de la résine afin d'augmenter la réactivité. Cette nouvelle résine a ainsi permis d'incorporer de 70 à 91% du fluorure-18 à 86°C en seulement 3-4 minutes de synthèse. Le composé  $[^{18}\text{F}]\mathbf{107}$  a ensuite été déprotégé à l'aide d'HCl à 6M pendant 5 min à 125°C. Le rendement radiochimique final obtenu était de 73% en moyenne du même ordre de grandeur que le rendement précédent. La présence d'un espaceur n'a pas apporté d'amélioration concernant la radiosynthèse supportée du  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ . La synthèse présentée ici avec un précurseur supporté a permis d'obtenir un meilleur rendement comparé aux réactions présentées précédemment.

#### ❖ Réaction de Wallach supportée<sup>104</sup>

La réaction de Wallach supportée a été mise en place grâce à l'utilisation d'un triazène supporté **108** sur résine Amberlyst (copolymère styrène-divinylbenzène) (**Schéma 55**). En utilisant une amine supportée, le triazène n'ayant pas réagi est resté sur support solide libérant uniquement le radiotracer  $[^{18}\text{F}]\mathbf{109}$  lors du marquage et facilitant l'étape de purification. Cette substitution nucléophile a dû être exécutée à 120°C et le rendement d'activité final mesuré a été de 14%.

<sup>103</sup> Brown L. J., Ma N., Bouvet D. R., Champion S., Gibson A. M., Hu Y., Jackson A., Khan I., Millot N., Topley A. C., Wadsworth H., Wynn D., Brown R. C. D. Synthesis of the positron-emitting radiotracer  $[^{18}\text{F}]\text{-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose}$  from resin-bound perfluoroalkylsulfonates, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 564–575.

<sup>104</sup> Riss P., Kuschel S., & Aigbirio F. No carrier-added nucleophilic aromatic radiofluorination using solid phase supported arenediazonium sulfonates and 1-(aryldiazenyl)piperazines, *Tetrahedron Letters*, **2012**, 53, 14, 1717-1719.

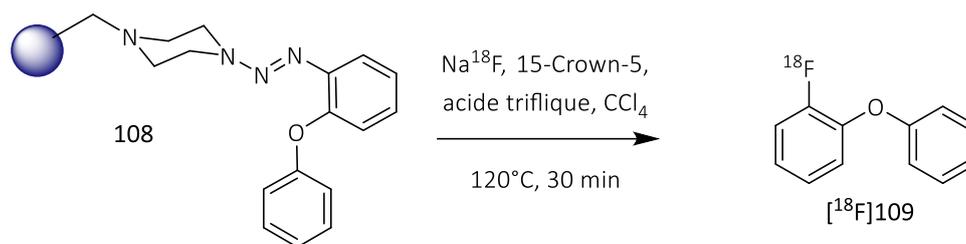


Schéma 55 - Réaction de Wallach supportée

#### ❖ Sels d'iodoniums supportés<sup>105</sup>

Les sels d'iodoniums sont très réactifs mais sont compliqués à purifier. L'utilisation d'un sel d'iodonium supporté a donc été envisagée. Une preuve de concept a été testée avec le [<sup>18</sup>F]fluorobenzène comme modèle afin de montrer que la radiofluoration était possible (Schéma 56). Dans un premier temps, un sel d'iodonium a été greffé sur une résine par un espaceur en *para*, puis la réaction de radiofluoration a été effectuée après un séchage azéotropique du fluorure-18 dans l'acétonitrile avec du K222. Le mélange a été mis en présence de la résine **110** et de TEMPO ((2,2,6,6-Tétraméthylpipéridin-1-yl)oxy). Le milieu a ensuite été chauffé à 90°C pendant 30 min, conduisant au produit final avec une RCC de 3%. Il est à noter que lors de cette synthèse, 12% de l'activité a été retenue par la résine. Suite à cela, d'autres résines ont été développées afin de synthétiser des dérivés du [<sup>18</sup>F]fluorobenzaldéhyde et [<sup>18</sup>F]fluorophénol comme groupes prosthétiques pour des radiosynthèses indirectes. Pour ces deux derniers groupements prosthétiques seules les fluorations avec des anions fluorure-19 ont été testées.

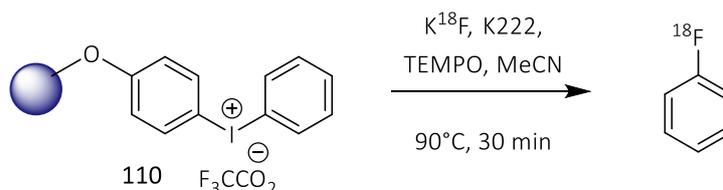


Schéma 56 - Synthèse supportée à partir d'un sel d'iodonium

#### ❖ Sels d'ammoniums supportés

La synthèse supportée la plus récente a été mise au point en 2020 par l'équipe de Kuhnast (Schéma 57).<sup>106</sup> Cette synthèse supportée a nécessité un dérivé de DABCO comme groupement partant afin de réaliser une réaction de type S<sub>N</sub>Ar. Cette résine a été constituée d'un ammonium, permettant

<sup>105</sup> Edwards R., de Vries W., Westwell A. D., Daniels S., Wirth T. Solid-Supported Iodonium Salts for Fluorinations, *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, 6909–6916.

<sup>106</sup> Richard M., Specklin S., Roche M., Hinnen F., Kuhnast B. Original synthesis of radiolabeling precursors for batch and on resin one-step/late-stage radiofluorination of peptides, *Chem. Commun.*, **2020**, 56, 2507–2510.

également de mettre au point une métathèse d'anions entre le triflate et le fluorure-18. Il s'agit donc d'une résine capable à la fois de piéger le fluorure-18 et de libérer un précurseur supporté, permettant de faciliter le contact des deux réactifs pour la réaction de radiofluoration. Les trois résines ont été développées à base de polystyrène et ont été synthétisées avec des charges allant de 0,46 à 0,90 mmol.g<sup>-1</sup>. L'eau de bombardement a ainsi été éluée directement sur la cartouche remplie de résine, puis la cartouche a été séchée. Un flux lent de DMSO a été utilisé sur la cartouche pendant 15 min pour éluier le composé marqué. La réaction dépend donc de la quantité de fluorure-18 piégée sur la cartouche, celle-ci représentant en moyenne 25 à 35% de l'activité initiale. La réaction de substitution avec le fluorure-18 était en compétition avec une réaction de S<sub>N</sub>Ar avec l'eau, une petite quantité de 2-hydroxypyridine correspondant à ce sous-produit a également été isolée. Les rendements radiochimiques pour les différents composés radiomarqués isolés étaient faibles, allant de 1 à 8% mais les puretés radiochimiques étaient très bonnes sans purification par HPLC (>95%).

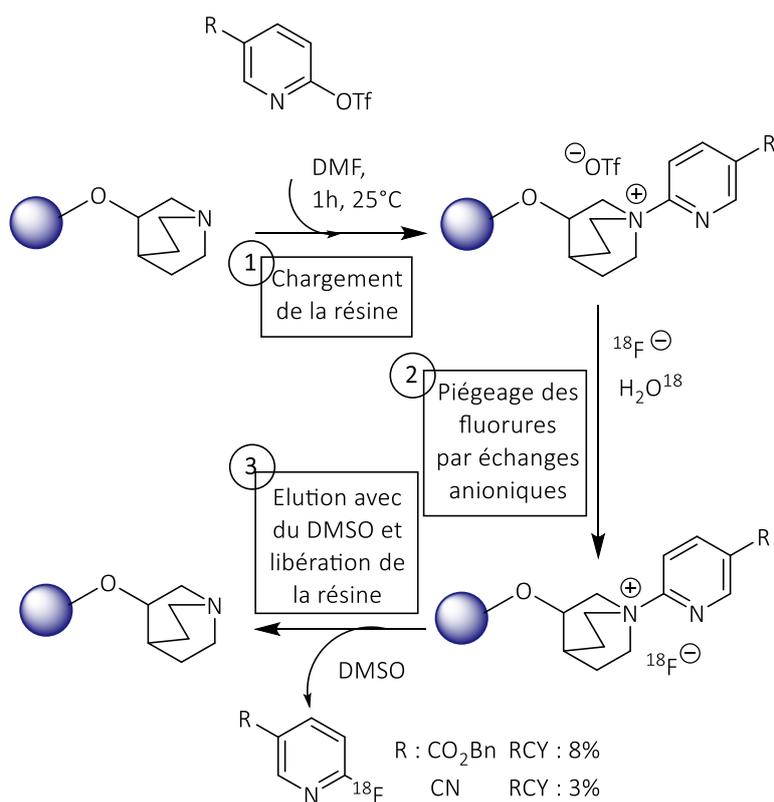


Schéma 57 - Radiofluoration sur sels d'ammonium supporté

#### d. Synthèse indirecte supportée

L'équipe de Mamat à Dresde a développé une synthèse indirecte supportée, où la radiofluoration a été effectuée en solution en amont (**Schéma 58**).<sup>107</sup> Une fois purifiée, le composé [<sup>18</sup>F]AFP (1-(3-azidopropyl)-4-(3-fluoropropyl)pipérazine) a été accroché au peptide SWLAY *via* une réaction de cycloaddition de Huisgen. Ce peptide a été directement synthétisé sur support solide mais n'a pas encore été clivé permettant ainsi de réaliser une réaction de chimie "click" de type CuAAC sur support solide entre l'azoture de [<sup>18</sup>F]AFP et la chaîne latérale de la lysine fonctionnalisée avec une triple liaison. Enfin, le peptide marqué a été clivé de la résine.

Tout d'abord, la fluoration a eu lieu à 100°C pendant 15 min dans l'acétonitrile en présence de K222 par une réaction de type S<sub>N</sub>2 sur un ammonium, conduisant au composé [<sup>18</sup>F]AFP désiré. Ensuite, la réaction de chimie "click" a été réalisée sur la résine (710 nmol) au micro-onde pendant 1 h à 70W dans un mélange DMF/solution tampon avec du CuSO<sub>4</sub> et de l'ascorbate de sodium en présence de TBTA (tris[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl]amine) afin de stabiliser le cuivre (I). La résine a été lavée dans un mélange DMF/MeOH/eau (1/1/0,1) en présence de bispyridine (afin de capter les résidus de cuivre dans la résine) sous irradiation micro-onde (30W) pendant 20min. Enfin, le peptide a été déprotégé et clivé de la résine en présence d'une solution d'acide trifluoroacétique et de triisopropylsilane (TFA/TIS) pendant 30 min. Le peptide [<sup>18</sup>F]112 a ainsi été obtenu avec un rendement final de 11± 2 % (n=5), une pureté radiochimique supérieure à 98%. L'activité molaire a été mesurée à environ 5 GBq.μmol<sup>-1</sup>.

---

<sup>107</sup> Pretze M., Mosch B., Bergmann R., Steinbach J., Pietzsch J., Mamat C. Radiofluorination and first radiopharmacological characterization of a SWLAY peptidebased ligand targeting EphA2, *J. Label Compd. Radiopharm*, **2014**, 57 660–665.

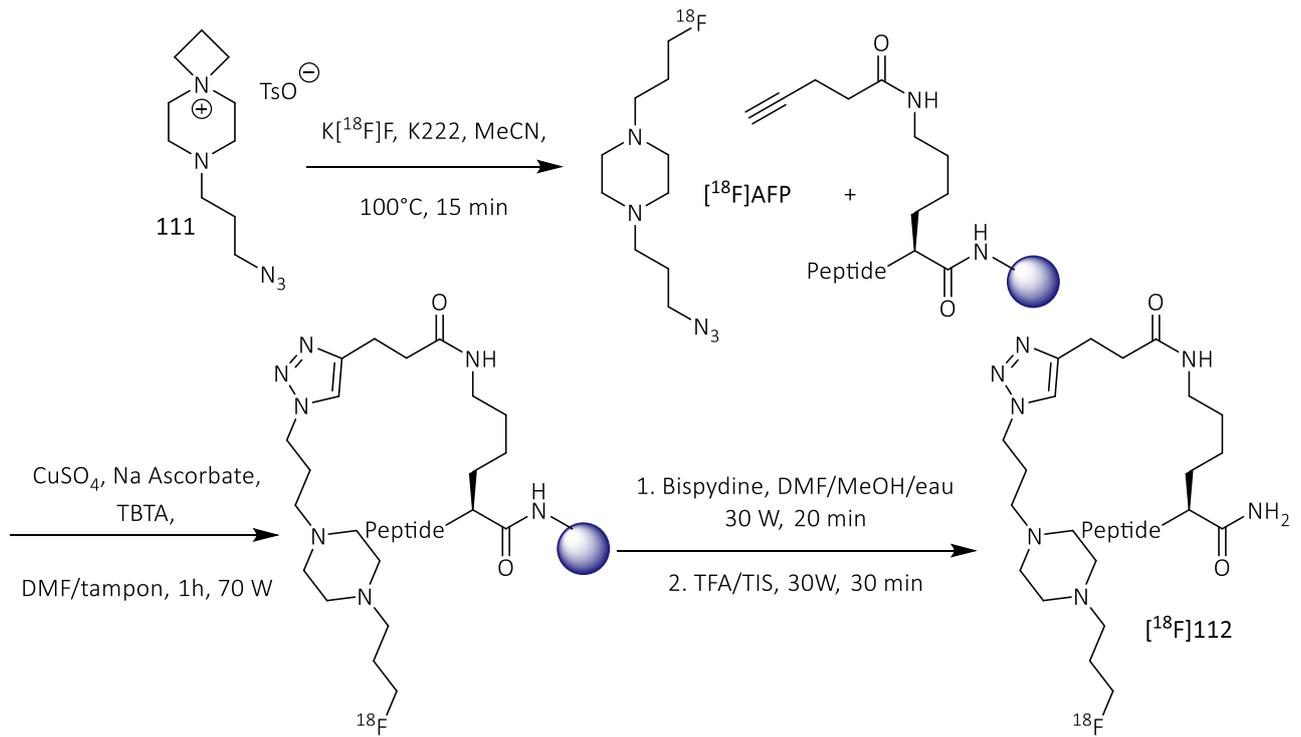


Schéma 58 - Synthèse indirecte supportée

### III. Les radiotraceurs possédant une liaison Si-<sup>18</sup>F

Comme il a été montré dans les parties précédentes, il existe une grande diversité d'éléments (C, B, Al, Ga, ou encore S) permettant de réaliser des radiofluorations avec le <sup>18</sup>F directes et indirectes *via* la formation de liaisons C-<sup>18</sup>F, B-<sup>18</sup>F, Al-<sup>18</sup>F, Ga-<sup>18</sup>F et S-<sup>18</sup>F. En plus de ces liaisons, la formation de la liaison Si-<sup>18</sup>F a également été explorée. Bien que la radiochimie mettant en œuvre l'utilisation du silicium remonte à 1958<sup>108</sup>, il a fallu attendre le début des années 2000 pour qu'elle connaisse une forte expansion.

#### 1. Généralités

L'énergie de liaison Si-F étant forte (80 kJ.mol<sup>-1</sup> de plus que la liaison C-F), de nombreux composés silylés ont été étudiés pour réaliser des radiotraceurs, généralement appelés siliciums accepteur de fluorure (SiFA). La stabilité *in vivo* des composés fluorés résultants a été étudiée. Il a été démontré notamment que la liaison Si-F se dégrade en milieu physiologique selon le mécanisme suivant (Schéma 59).<sup>109</sup> Cette hydrolyse conduisant à la formation d'un silanol non marqué et au relargage de [<sup>18</sup>F]F<sup>-</sup> diminuant la qualité du signal TEP à cause d'une accumulation des ions fluorures-18 dans les os.

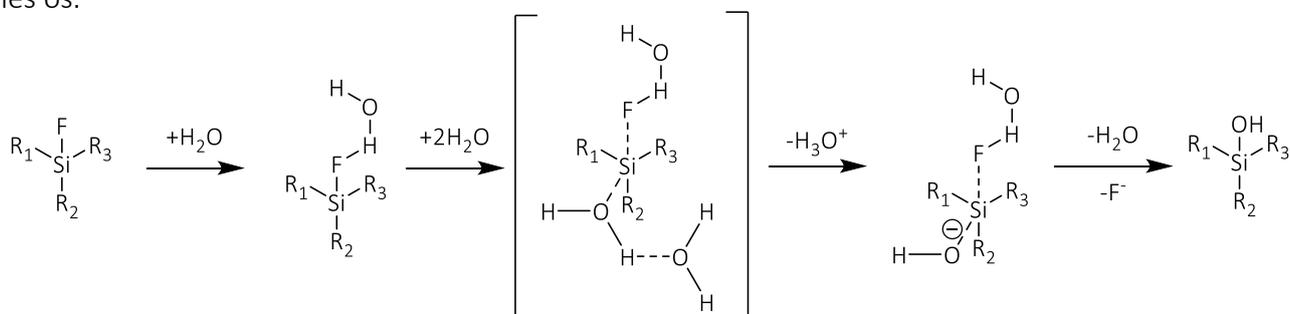


Schéma 59 - Mécanisme d'hydrolyse de la liaison Si-F

Pour éviter l'hydrolyse des composés SiFA *in vivo*, des études ont donc été réalisées permettant d'évaluer le temps de demi-vie biologique de différentes structures. Ces études ont montré que plus le silicium est encombré, moins la liaison Si-F sera hydrolysée, car l'encombrement empêche les molécules d'eau d'approcher de l'atome de silicium. Plus précisément, il a été démontré que les

<sup>108</sup> Gens T.A., Wethington J.A., Brosi A.R. The exchange of F<sup>18</sup> between metallic fluorides and silicon tetrafluorid, *J. Phys. Chem.*, **1958**, 62, 1593.

<sup>109</sup> Höhne A., Yu L., Mu L., Reiher M., Voigtmann U., Klar U., Graham K., Schubiger P. A., Ametamey S. M. Organofluorosilanes as Model Compounds for <sup>18</sup>F-Labeled Silicon-Based PET Tracers and Their Hydrolytic Stability: Experimental Data and Theoretical Calculations (PET=Positron Emission Tomography), *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15, 3736-743.

composés SiFA portant deux groupements *tert*-butyl sur le silicium sont les plus stables *in vivo* (Fig. 9).

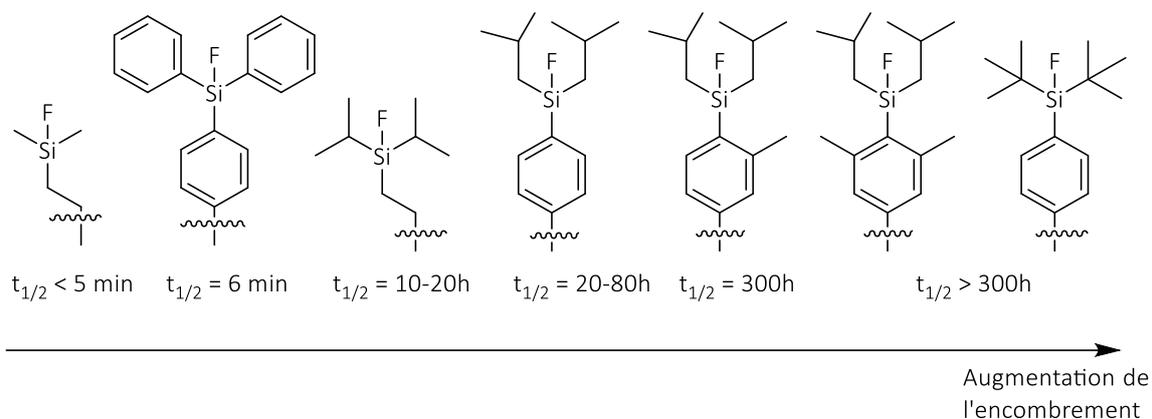


Figure 9 - Corrélation entre la stabilité des structures silylés *in vivo* et l'encombrement

Malgré la stabilité des composés silylés comportant deux groupements *tert*-butyl, la présence en  $\beta$  d'un amide permet tout de même d'hydrolyser le silicium selon le mécanisme suivant (Schéma 60).<sup>110</sup>

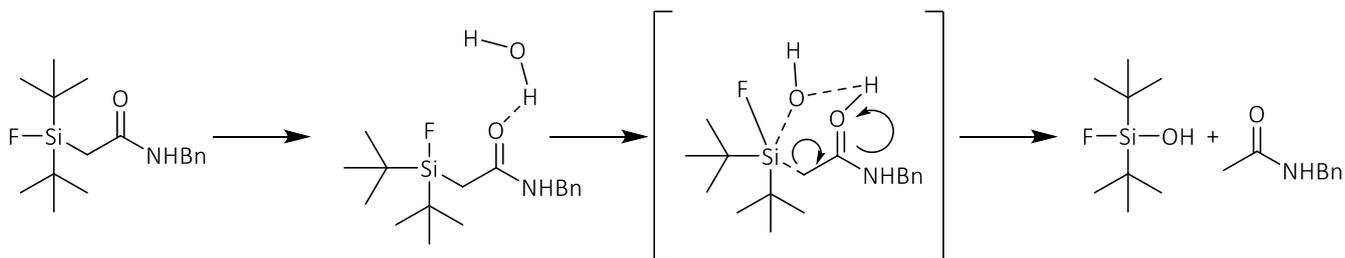


Schéma 60 - Mécanisme de dégradation d'un fluorosilane contenant un amide en  $\beta$

Il est donc important de faire attention à la manière dont a été fonctionnalisé le composé SiFA, au risque d'obtenir un fluoro di-*tert*-butylsilanol.

<sup>110</sup> Dialer L. O., Selivanova S. V., Müller C. J., Müller A., Stellfeld T., Graham K., Dinkelborg L. M., Krämer S. D., Schibli R., Reiher M., Ametamey S. M. Studies toward the Development of New Silicon-Containing Building Blocks for the Direct <sup>18</sup>F-Labeling of Peptides, *J. Med. Chem.*, **2013**, 56, 19, 7552–7563.

## 2. Les synthèses indirectes<sup>104</sup>

De nombreux groupements prosthétiques constitué d'une fonction de type SiFA existent. La plupart des groupements prosthétiques sont marqués à partir d'une réaction de type IEX, comme par exemple le composé **[<sup>18</sup>F]113 (Schéma 61)**.<sup>111</sup> Ce synthon a ensuite permis de mettre au point des réactions de couplage de type oximation à température ambiante dans l'eau à pH 4. La réaction de couplage a été testée sur différents peptides, et notamment des peptides cRGD et TATE avec des RCY globaux de 50-55%. La durée totale de la synthèse était de 40 min et l'activité molaire des différents peptides a été mesurée à 185 GBq.μmol<sup>-1</sup>, ce qui est très bon pour un échange isotopique.

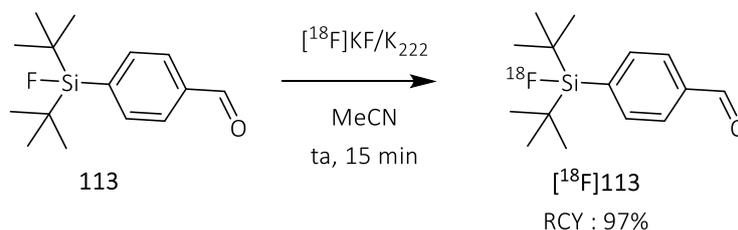


Schéma 61 - Synthèse par IEX de [<sup>18</sup>F]SiFA-p-CHO

Des composés de type esters activés et des thiocyanates<sup>112</sup> ont également été utilisés pour faire des acylations d'amines (Schéma 62). Par exemple, le marquage de **[<sup>18</sup>F]116** a été effectué avec un RCY de 95% après échange isotopique.

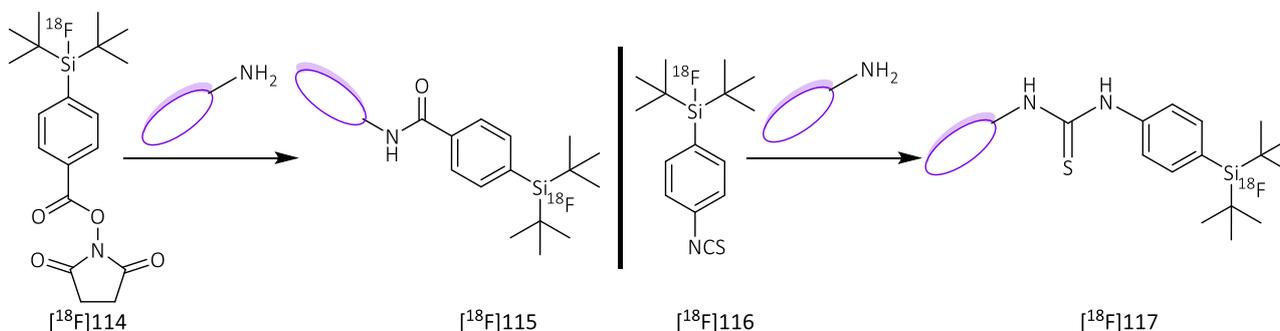


Schéma 62 - GP SiFA permettant de faire des acylations d'amine

<sup>111</sup> Schirrmacher E., Wängler B., Cypryk M., Bradtmöller G., Schäfer M., Eisenhut M., Jurkschat K., Schirrmacher R. Synthesis of p-(Di-tert-butyl[<sup>18</sup>F]fluorosilyl)benzaldehyde ([<sup>18</sup>F]SiFA-A) with High Specific Activity by Isotopic Exchange: A Convenient Labeling Synthon for the <sup>18</sup>F-Labeling of N-amino-oxy Derivatized Peptides, *Bioconjugate chem.*, **2007**, 18, 6, 2085–2089.

<sup>112</sup> Rosa-Neto P., Wängler B., Iovkova L., Boening G., Reader A., Jurkschat K., Schirrmacher E. [<sup>18</sup>F]SiFA-isothiocyanate: A New Highly Effective Radioactive Labeling Agent for Lysine-Containing Proteins, *ChemBiochem : A European Journal of Chemical Biology*, **2009**, 10, 8, 1321-324.

Des groupements partants contenant des thiols tel que [ $^{18}\text{F}$ ]118 (Schéma 63) ont également été utilisés, permettant d'obtenir des bioconjugués tels que [ $^{18}\text{F}$ ]120 avec des rendements radiochimiques globaux de 12% en 20 à 30 min.

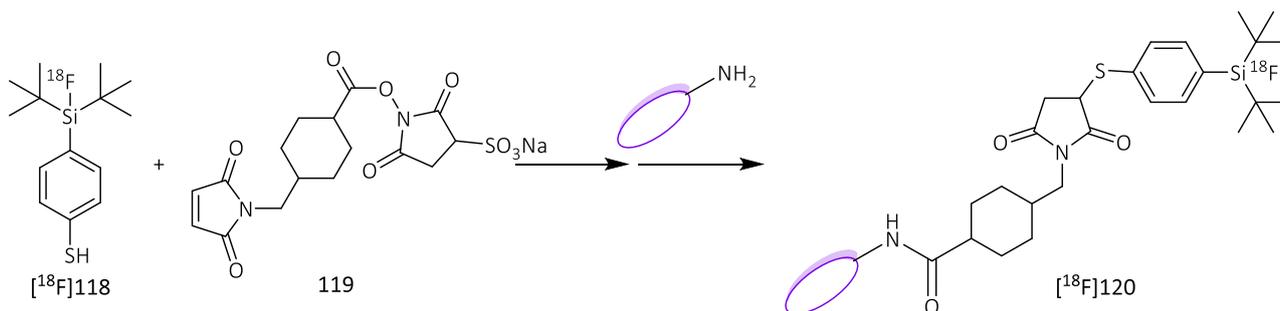


Schéma 63 - GP contenant un thiol

Enfin, le dernier groupe prosthétique SiFA présenté est un GP contenant un maléimide (Schéma 64). Il est notamment utilisé pour marquer des protéines albumines présentes dans le sang.

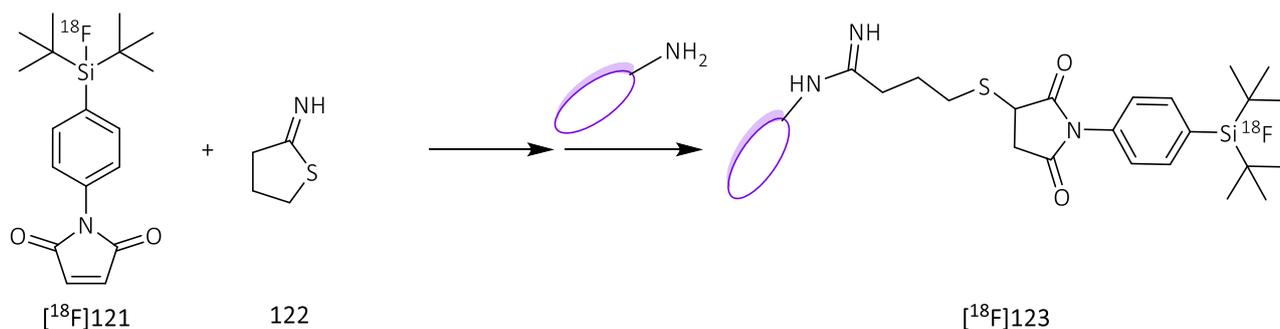


Schéma 64 - GP SiFA contenant un maléimide

### 3. Les synthèses directes

#### a. Par échange isotopique (IEX)

De nombreuses réactions directes d'IEX ont également été envisagées sur les composés silylés Si-F.<sup>113</sup> Dans un premier temps, une preuve de concept a été faite avec le composé 124 (Schéma 65-A). L'IEX a été mise au point en présence de K<sub>2</sub>22 dans l'acétonitrile à température ambiante pendant 15 min. Les RCY obtenus ont été compris entre 80 et 95%. Au vu de ces résultats, la réaction d'IEX a été appliquée sur un peptide Tyr<sup>3</sup>-octréotate bioconjugué grâce à une réaction d'oximation (Schéma

<sup>113</sup> Schirmmayer R., Bradtmöller G., Schirmmayer E., Thews O., Tillmanns J., Siessmeier T., Buchholz H. G., Bartenstein P., Wängler B., Niemeyer C. M., Jurkschat K.  $^{18}\text{F}$ -Labeling of Peptides by means of an Organosilicon-Based Fluoride Acceptor, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 36, 6047–6050.

65-B). Ce peptide a été utilisé pour évaluer la taille des tumeurs. Le marquage a été réalisé dans les mêmes conditions que précédemment et a permis d'obtenir [<sup>18</sup>F]125 désiré avec un rendement radiochimique compris entre 95 et 97% et une activité molaire comprise entre 3 et 5 GBq.μmol<sup>-1</sup>.

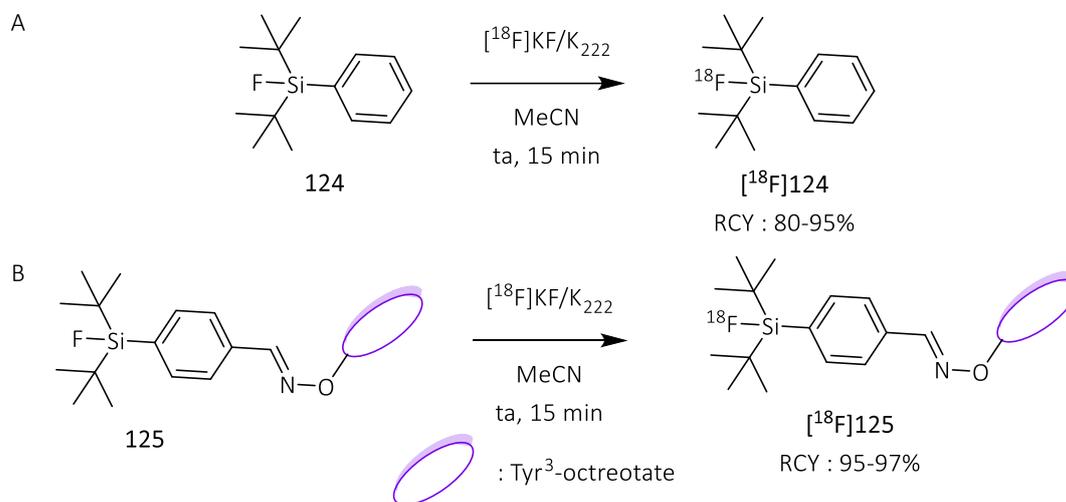


Schéma 65 - Synthèse directe grâce à une réaction d'IX

De nombreux échanges isotopiques sur les composés Si-F ont été décrits dans la littérature. En effet, cette réaction a été réalisée dans des conditions douces permettant ainsi de l'appliquer à des structures complexes et sensibles. Cette réactivité est due au fait qu'il y a une faible barrière énergétique entre un composé Si-F/Si-<sup>18</sup>F et un composé silylé pentavalent intermédiaire constitué du <sup>18</sup>F et du <sup>19</sup>F.<sup>106</sup> Le milieu réactionnel a ensuite été purifié facilement par extraction en phase solide (SPE).

### b. A partir d'un groupement partant

Les mêmes réactions présentées précédemment peuvent être appliquée à des composés silylés. Il existe de nombreux groupements partants permettant des réaliser des réactions de type S<sub>N</sub>2 (Schéma 66)<sup>114</sup>, comme des hydrures mais également des esters silylés. Enfin, le dernier groupement partant décrit est un méthylimidazole développé au sein de notre laboratoire à Bordeaux.

<sup>114</sup> Gower-Fry L., Kronemann T., Dorian A., Pu Y., Jaworski C., Wängler C., Bartenstein P., Beyer L., Lindner S., Jurkschat K., Wängler B., Bailey J. J., Schirmacher R. Recent Advances in the Clinical Translation of Silicon Fluoride Acceptor (SiFA) <sup>18</sup>F-Radiopharmaceuticals, *Pharmaceuticals*, **2021**, 14, 701.

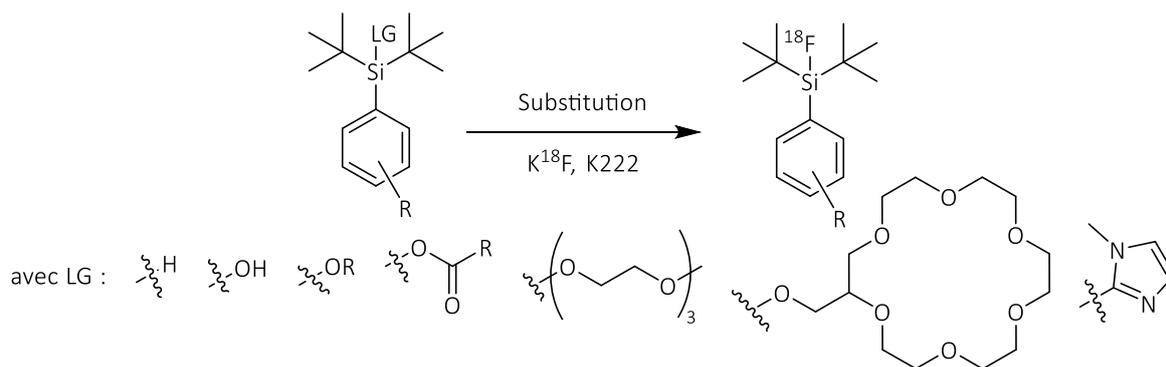


Schéma 66 - Différents groupements partants permettant des réactions de radiofluoruration

#### ❖ Hydrures silylés : Si-H

Le marquage au fluor-18 de plateforme SiFA utilisant un hydrure comme groupement partant a été développé au sein de diverses équipes dont notre laboratoire. Par exemple l'équipe de Fouquet a décrit en 2012 leur utilisation pour le marquage un dérivé de cycloRGD (Schéma 67).<sup>115</sup> Le composé **126** a été constitué de la plateforme SiFA, d'un espaceur diéthylène glycol accroché à un sucre et du cRGD accroché par une réaction de chimie "click" de type CuAAC. Le composé **126** a été marqué avec du  $\text{K}^{18}\text{F}$ , K222 en présence d'acide acétique, dans le DMSO à 100°C pendant 15 minutes. Après une étape de purification par HPLC semi-préparative, le composé  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{127}$  désiré a été obtenu avec un rendement d'activité de 17% et une activité molaire de 180 GBq. $\mu\text{mol}^{-1}$ .

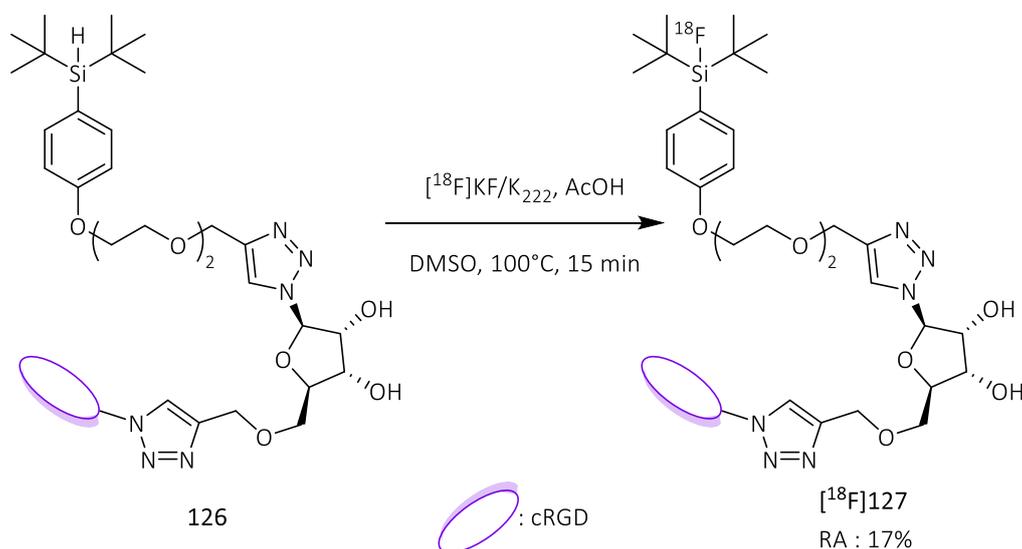


Schéma 67 - Marquage d'un dérivé du cRGD contenant un Si-H

<sup>115</sup> Amigues E., Schulz J., Szlosek-Pinaud M., Fernandez P., Silvente-Poirot S., Brillouet S., Courbon F., Fouquet E.  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{Si-RiboRGD}$ : From Design and Synthesis to the Imaging of  $\alpha\text{v}\beta 3$  Integrins in Melanoma Tumors. *ChemPlusChem*, **2012**, 77, 345-349.

Dans le second exemple choisi décrit par l'équipe de Fouquet en 2014, un espaceur de type glycérol a été utilisé pour faire un radioligand dimérique dont l'objectif a été d'augmenter l'affinité de [<sup>18</sup>F]BMPPSiF avec les récepteurs à sérotonine 5-HT<sub>1A</sub> (Schéma 68).<sup>116</sup> Le composé [<sup>18</sup>F]BMPPSiF a été synthétisé à partir du composé **128** avec du K<sup>18</sup>F, K222 en présence d'acide acétique en quantité catalytique dans le DMSO à 80°C pendant 15 min. Le composé [<sup>18</sup>F]BMPPSiF a ainsi été obtenu avec un rendement radiochimique de 52 ± 11%, une activité molaire de 481 ± 9 GBq.μmol<sup>-1</sup>, et une pureté radiochimique >99% avec une durée totale de préparation de 58 min. Le composé [<sup>18</sup>F]BMPPSiF a été facilement séparé de **128** ce qui a permis d'obtenir une bonne activité molaire. La synthèse à partir du groupement partant hydrure a été comparée à un échange isotopique avec le composé BMPPSiF. Lorsque [<sup>18</sup>F]BMPPSiF a été obtenu par un échange isotopique, le rendement radiochimique était supérieur de 5%. L'activité molaire du composé n'a pas été donnée mais elle est sûrement moins bonne que dans le cas où le précurseur **128** a été utilisé.

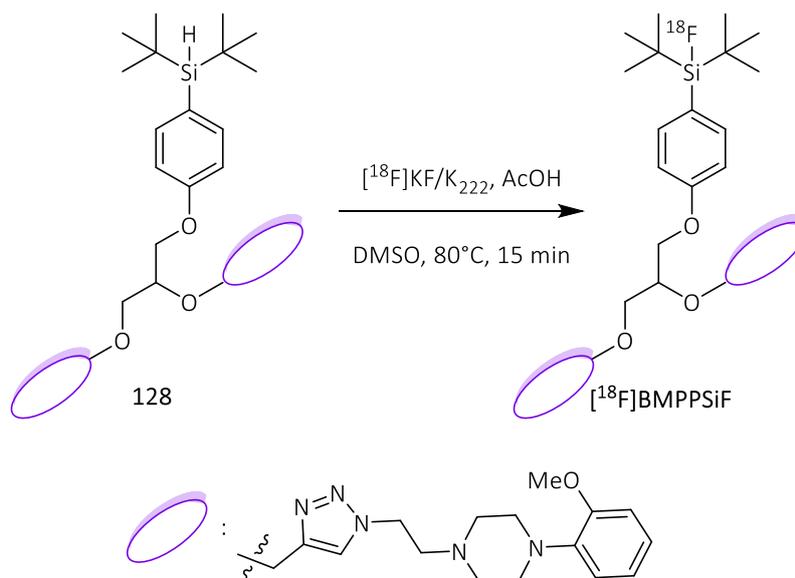


Schéma 68 - Marquage d'un radioligand dimérique constitué d'une groupement partant Si-H

#### ❖ Ethers silylés : Si-OR

Le premier exemple présenté de radiosynthèse à partir d'un éther silylé a été développé par l'équipe de Chapleur (Schéma 69).<sup>117</sup> Le précurseur **129** a permis d'obtenir le composé [<sup>18</sup>F]130 à

<sup>116</sup> Hazari P. P., Schulz J., Vimont D., Chadha N., Allard M., Szlosek-Pinaud M., Fouquet E. A New SiF-Dipropargyl Glycerol Scaffold as a Versatile Prosthetic Group to Design Dimeric Radioligands: Synthesis of the [<sup>18</sup>F]BMPPSiF Tracer to Image Serotonin Receptors. *ChemMedChem*, **2014**, 9, 337–349.

<sup>117</sup> Balentova E., Collet C., Lamandé-Langle S., Chrétien F., Thonon D., Aerts J., Lemaire C., Luxen A., Chapleur Y. Synthesis and hydrolytic stability of novel 3-[<sup>18</sup>F]fluoroethoxybis (1-methylethyl)silyl]propanamine-based prosthetic groups, *J. Fluorine Chem.*, **2011**, 132, 250–257.

partir de fluorure-18 en présence d'acide acétique dans le DMSO pendant 20 minutes à 90°C. Le composé [ $^{18}\text{F}$ ]130 a été obtenu avec un rendement radiochimique de 51% et une pureté radiochimique supérieure à 97%.

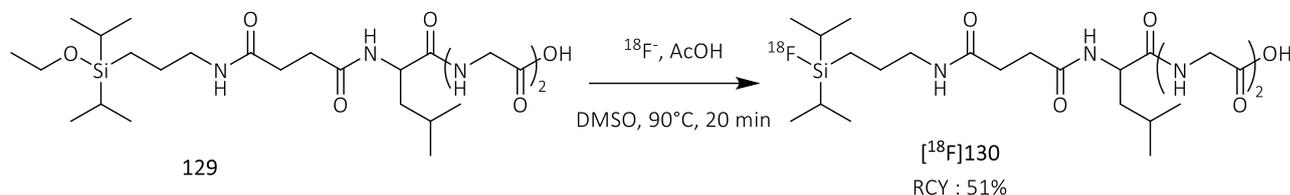


Schéma 69 - Marquage direct d'un éther silylé développé par l'équipe de Chapleur

Le composé [ $^{18}\text{F}$ ]130 a peu été encombré car le silicium a été entouré de deux isopropyles et d'une chaîne alkyle. Le temps de demi-vie hydrolytique de ces composés a été évaluée comme inférieure à 15 min, posant ainsi un réel problème concernant les applications biologiques.

Un autre exemple utilisant les éthers silylés a été mis au point en 2014 (Schéma 70). L'article a été publié comparant la réactivité de différents éthers silylés afin de réaliser des radiofluorations avec et sans K222. Le précurseur 131 a été marqué à partir de  $\text{K}^{18}\text{F}$  dans l'acétonitrile sec à température ambiante pendant 20 min. Le composé [ $^{18}\text{F}$ ]132 a été obtenu avec un rendement radiochimique de 70 à 80% corrigé sur la quantité de  $\text{K}^{18}\text{F}$  dissous dans l'acétonitrile sec après le séchage azéotropique. Cependant, la quantité de  $\text{K}^{18}\text{F}$  qui a été dissous est inférieure à 5%. Afin d'augmenter la quantité de fluorure-18 dans le milieu réactionnel, de l'eau a été ajoutée, mais cela a uniquement fait diminuer le rendement radiochimique à 35% à cause de la dégradation du composé [ $^{18}\text{F}$ ]132 en présence d'eau.

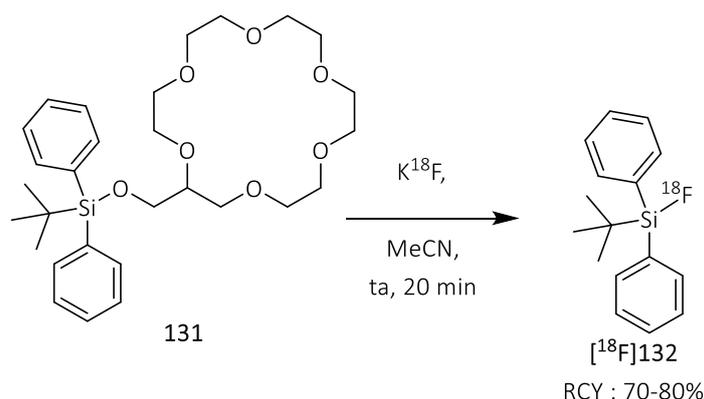


Schéma 70 - Marquage d'une éther silylé constitué d'un éther couronne

❖ Imidazole silylés : Si-Im

Le dernier groupement partant présenté permettant d'accomplir des synthèses directes avec un SiFA a été développé par Marion Tisseraud au sein de notre équipe à Bordeaux.<sup>118</sup> Dans un premier temps, une structure modèle basée sur une molécule d'AZT **133** a été utilisée afin de réaliser des essais de fluorations et d'obtenir le composé [<sup>18</sup>F]**134** (Schéma 71). Ce premier composé a été synthétisé afin de servir de modèle pour déterminer les meilleures conditions permettant de réaliser la réaction de radiofluoration.

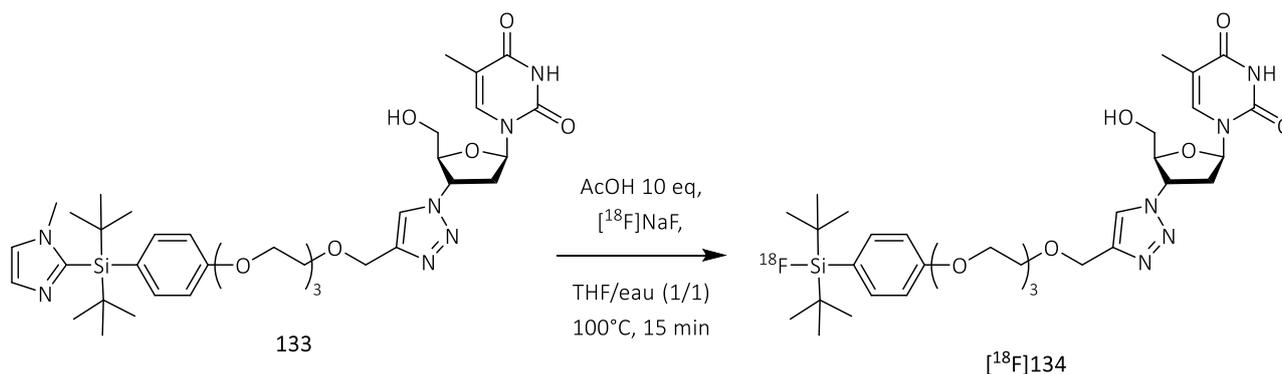


Schéma 71 - Radiofluoration d'un composé Imidazole-silylé modèle

La radiosynthèse a été entièrement automatisée (Fig. 10). Tout d'abord, l'activité a été piégée sur une résine échangeuse d'anion, une ammonium quaternaire (QMA). A l'aide d'une solution saline à 0,9% (300 µL), le fluorure-18 a été élué vers le réacteur préalablement chargé avec le précurseur **133** (6,6 µmol), de l'acide acétique (10 eq) et du THF (300µL). Puis, la réaction a été chauffée à 100°C pendant 15 min pour obtenir un rendement radiochimique de 35 ± 3 % avec une activité molaire de 89 ± 20 GBq.µmol<sup>-1</sup> (n=3). La purification a été réalisée à l'aide d'une HPLC Semi-préparative en phase inverse. La radiosynthèse a été accomplie avec une durée totale comprise entre 50 min et 1h. Contrairement aux radiosynthèses présentées précédemment, cette radiosynthèse a été exécutée en présence d'eau, en milieu légèrement acide, et aucune dégradation de la plateforme n'a été observée.

<sup>118</sup> Tisseraud M., Schulz J., Vimont D., Berlande M., Fernandez P., Hermange P., Fouquet E. Highly hindered 2-(aryl-di-tert-butylsilyl)-N-methyl-imidazoles: a new tool for the aqueous <sup>19</sup>F- and <sup>18</sup>F-fluorination of biomolecule-based structures, *Chem. Commun.*, **2018**, 54, 5098–5101.

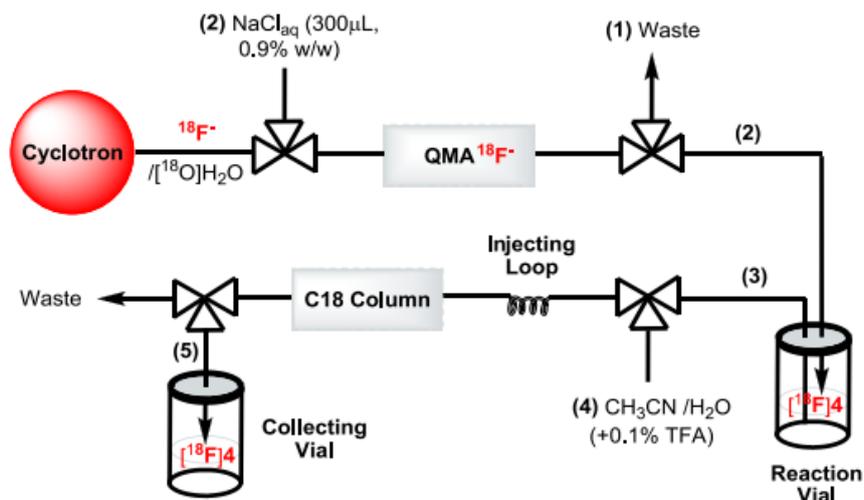


Figure 10 - Synthèse automatisée de  $[^{18}\text{F}]134$

La radiosynthèse a également été appliquée à un dérivé du cyclo-RGD (Schéma 72) afin de montrer que la radiosynthèse peut être étendue à un autre substrat plus complexe. Dans ce cas, les conditions ont été légèrement ajustées. En présence de deux équivalents d'acide acétique en 30 min à 100°C et deux fois moins de précurseur **135** (3,3  $\mu\text{mol}$ ),  $[^{18}\text{F}]136$  a été récupéré avec un rendement radiochimique de  $20 \pm 8 \%$  et une activité molaire de  $129 \pm 37 \text{ GBq} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ .

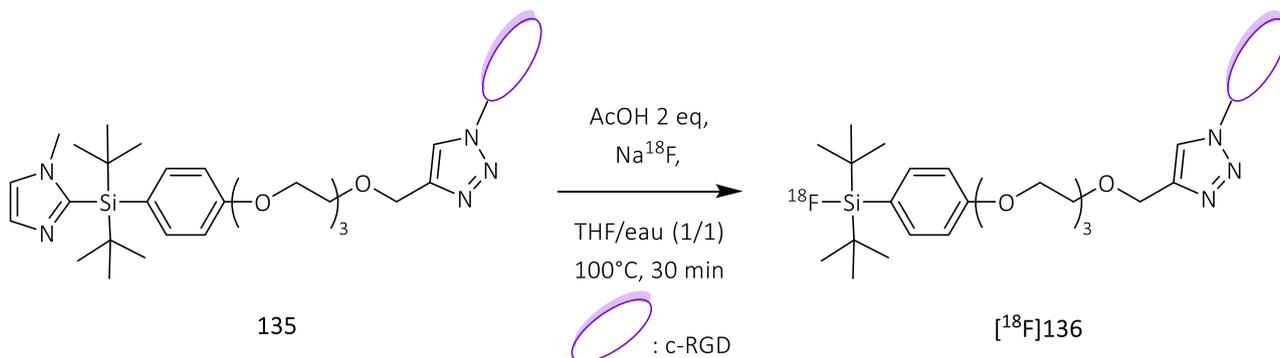


Schéma 72 - Conditions optimisées pour la radiosynthèse directe de SiFA-cRGD

#### 4. Les fluorations au $^{18}\text{F}$ supportées

Il a également été montré dans des travaux de thèse<sup>119</sup> qu'il était possible de réaliser des fluorations au  $^{18}\text{F}$  supportées sur des silylesters (Schéma 73). Le groupement partant utilisé a été dans ce cas un ester silylé permettant de réaliser des réactions de marquage à température ambiante ou à 70°C

<sup>119</sup> Yasui N. I. Facile Preparation of Ortho-Fluorophenols from Non-Aromatic Precursors and Investigation of Applications to Fluorine-18 Labeling II. Resin-Supported Silyl Ester Precursors for Kit-like Radiolabeling with Fluorine-18, University of Illinois: Urbana, 2015.

dans un mélange eau/DMSO. Le composé dérivé d'œstradiol [ $^{18}\text{F}$ ]138 a été ainsi récupéré avec un rendement radiochimique de 41% en seulement 10 min de réaction.

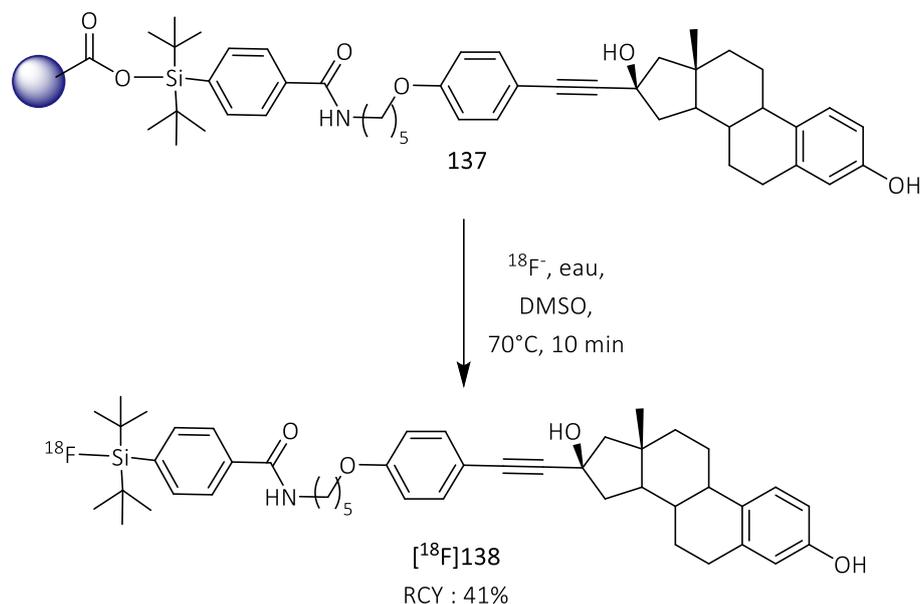


Schéma 73 - Synthèse supportée de SiFA contenant un dérivé d'œstradiol

Ensuite, un dérivé du peptide cRGD [ $^{18}\text{F}$ ]140 a également été synthétisé selon cette approche (Schéma 74). Dans ce cas, le cRGD 139 étant un peptide, la synthèse a été effectuée à température ambiante afin de ne pas le dégrader. D'après les auteurs, le rendement radiochimique a atteint les 50%, mais l'analyse des radiochromatogrammes a montré la présence d'un deuxième composé radioactif non identifié suggérant une instabilité du précurseur ou du produit.

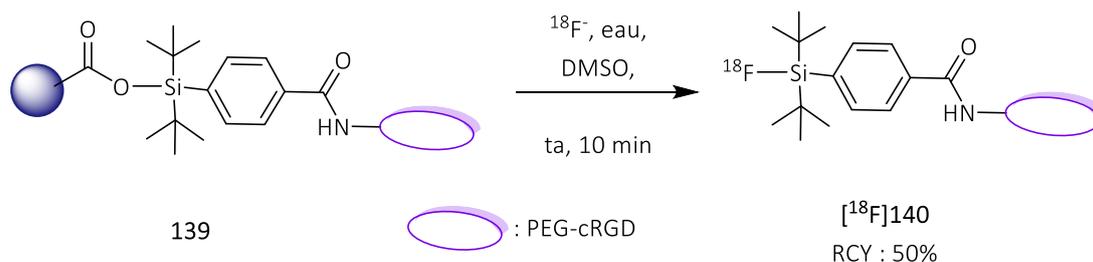


Schéma 74 - Marquage supporté d'un dérivé de cRGD

Finalement, une stratégie indirecte a été testée et le composé SiFA succinimide [ $^{18}\text{F}$ ]116 a été synthétisé sur support solide à partir de 141 (Schéma 75). Puis, [ $^{18}\text{F}$ ]116 a été mis en présence du dérivé de cRGD dans le DMF à température ambiante pendant 30 min. Le composé souhaité [ $^{18}\text{F}$ ]140 a ainsi été obtenu avec un rendement radiochimique de 15% sur deux étapes et en évitant la formation d'impureté lors du marquage.

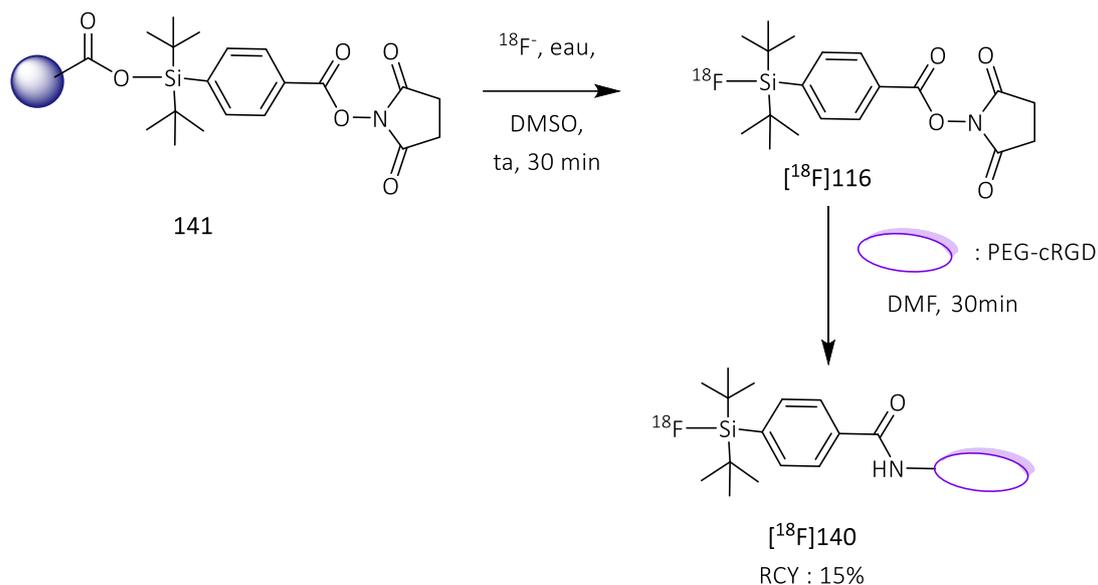


Schéma 75 - Marquage supporté indirect de cRGD

Il est à noter que les puretés radiochimiques et les activités molaires n'ont pas été évaluées dans cette étude. Une preuve de concept a également été réalisée par un autre groupe sur un éther de silyle isopropyle, mais aucune application en radiosynthèse n'a été décrite à ce jour dans la littérature.<sup>120</sup>

<sup>120</sup> Kramer C. S., Greiner L., Kopka K., Schäfer M. Fluorination of silyl prosthetic groups by fluorine mediated silyl ether linker cleavage: a concept study with conditions applicable in radiofluorination, *EJNMMI*, **2022**, 7, 15.

## Conclusion

La découverte de radionucléides artificiels a permis de synthétiser des radioéléments possédant des temps de demi-vie courts utilisables pour des applications médicales tel que le développement de techniques d'imageries fonctionnelles. Parmi les radioisotopes identifiés, le fluor-18 est le plus connu et le plus largement exploité en imagerie médicale. De plus, l'évolution des techniques de production du fluorure-18, a permis d'améliorer les activités molaires pour de nombreux radiotraceurs. Depuis les années 70, de nombreux radiomarquages au fluor-18 ont été décrits *via* des réactions très différentes. Il est intéressant de noter que les groupements partants utilisés pour les radiofluorations par réactions de substitution ont évolués, et les premières approches utilisant des métaux toxiques tel que l'étain ou le mercure ont été remplacées au fur et à mesure par des espèces de moins en moins toxiques. De plus, l'utilisation de nouvelles techniques de synthèses tel que la photochimie ou l'électrochimie ont également permis le développement de nouveaux précurseurs pour les stratégies de radiomarquage direct. Concernant les radiomarquages indirects, les conditions utilisées peuvent être plus dures afin d'augmenter les rendements radiochimiques, et les synthons obtenus sont ensuite couplés avec des réactions de bioconjugaisons compatibles avec des structures biologiques sensibles. En parallèle, le développement de radiomarquages à partir de précurseurs supportés a permis d'améliorer la purification des composés et d'obtenir généralement de meilleures activités molaires. Enfin, l'utilisation d'accepteurs de fluorures est intéressante car la liaison silicium-fluor est relativement forte. Cependant, un problème majeur de cette plateforme reste la nécessité de protéger le silicium de l'hydrolyse *in vivo* de la liaison silicium-fluor, ce qui peut être réalisé en introduisant des *tert*-butyles comme groupements encombrants. De plus, l'utilisation d'un groupement partant de type imidazole/imidazolium a permis d'obtenir un précurseur greffé sur support solide fonctionnalisable avec une biomolécule par chimie "click" de type CuAAC, celui-ci étant ensuite directement radiomarquable par du fluorure-18. Cette stratégie a permis d'obtenir des conjugués radiomarqués avec des puretés radiochimiques correctes sans étape de purification HPLC, démontrant ainsi son intérêt pour le radiomarquage au fluor-18.





# Chapitre 2 :

Développement d'une méthodologie  
supportée pour le marquage de  
plateforme Imid-SiFA au fluor-18





## I. Genèse du projet

### 1. L'objectif du projet

L'objectif de ce projet est de construire une plateforme SiFA supportée permettant de mettre au point une radiofluoruration directe. Comme on a pu le voir précédemment, il existe de nombreuses méthodes permettant de réaliser des synthèses directes, mais peu ont été transposées sur support solide. La synthèse sur support solide offre de nombreux avantages en terme de purification et de gain de temps, et permet généralement de réaliser des synthèses avec de meilleurs activités molaires car seul le radiotracteur désiré est récupéré en solution. De plus, le conditionnement de ce support solide en cartouche pourrait permettre d'automatiser au maximum cette radiosynthèse.

Pour ce faire, la plateforme SiFA sera constituée d'une part d'un groupement partant lié directement à un support solide, et d'autre part d'une biomolécule apportant la reconnaissance *in vivo* (Fig. 11). Cette plateforme devra être capable de se décrocher du support solide sélectivement en présence de fluorure-18.

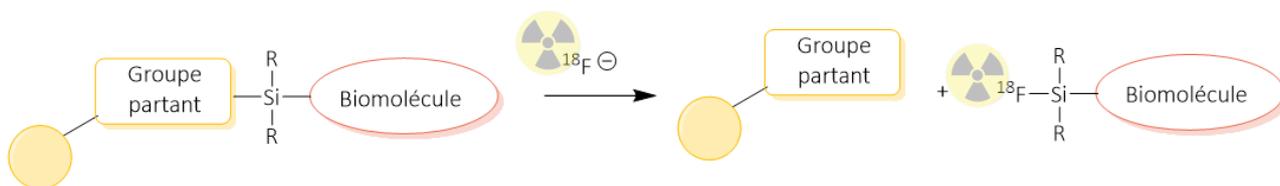


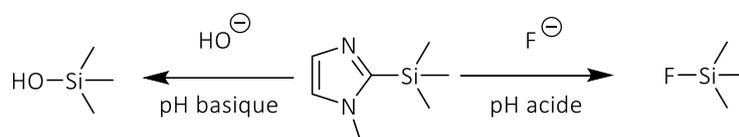
Figure 11 – Plateforme type

### 2. Design de la plateforme

Le design de la plateforme est très important que ce soit pour le choix des substituants et du groupement partant sur le silicium que pour le "montage" des différentes étapes de synthèses. Comme on a pu le voir dans le chapitre 1. III. 1., pour éviter l'hydrolyse de la plateforme en milieu aqueux, il est important que le silicium soit suffisamment encombré : deux *tert*-butyles ont donc été retenus.

Le choix du groupement partant porté par le silicium est le point clé de notre stratégie. En effet, il doit répondre à plusieurs critères. Tout d'abord, il doit être suffisamment stable et sélectif pour être fonctionnalisé lors d'une synthèse multi-étapes. Cependant, une fois mis en présence de fluorure-18, il doit être suffisamment réactif pour que la réaction soit faisable dans des conditions les plus "douces" possibles.

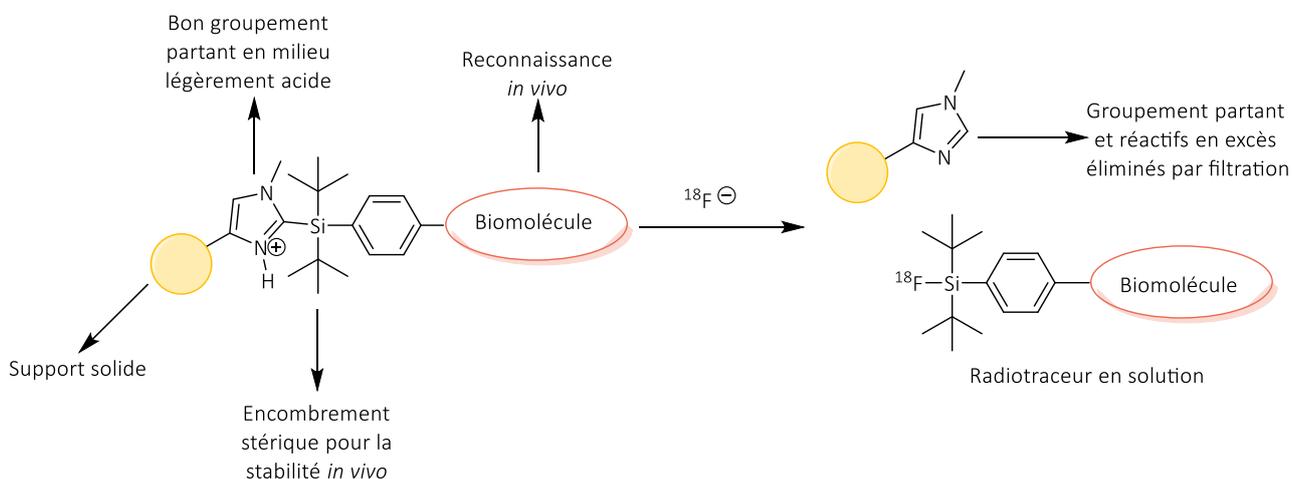
Le groupement partant méthylimidazole a été sélectionné. En effet, en 1980, il a été démontré que le clivage d'une liaison Si-C entre un méthylimidazole et un silicium par un fluorure est possible après activation sous forme silyl-imidazolium, celui-ci étant fortement impacté par le pH (compétition avec la substitution par les ions hydroxydes) (**Schéma 76**).<sup>121</sup>



**Schéma 76** - Réactivité d'un imidazole triméthyl-silane en présence d'anions fluorures et hydroxydes

Les travaux de thèse de Marion Tisseraud ont démontré que la fonction silylimidazole est suffisamment stable pour des étapes de post-fonctionnalisation mais peut également réagir en présence de fluorure après activation en milieu légèrement acide (voir chap. 1. III. 3.).

Ensuite, afin d'effectuer une radiosynthèse directe et supportée, la plateforme est greffée sur une résine, après avoir fonctionnalisé le méthylimidazole. Enfin, la réaction de bioconjugaison avec la biomolécule capable de réaliser la reconnaissance *in vivo* de la cible biologique est réalisée à l'aide d'une réaction de chimie "click". L'ajout de la biomolécule en dernière étape permet ainsi de changer plus facilement la biomolécule (et donc la cible biologique) et rend cette plateforme Imid-SiFA supportée très polyvalente (**Fig. 12**).



**Figure 12** - Design de la plateforme Imid-SiFA supportée

<sup>121</sup> Brown R. S., Slebocka-Tilk H., Buschek J. M., Ulan J. G. Hydrolyses of 2-Trimethylsilyl N<sup>1</sup>-Heterocycles. Involvement of Zwitterions in the Hydrolysis of 2-(Trimethylsilyl)-Af-methylimidazole, 2-(Trimethylsilyl)pyridine, and 2-((Trimethylsilyl)methyl)-N-methylimidazole, *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 5979-5984.

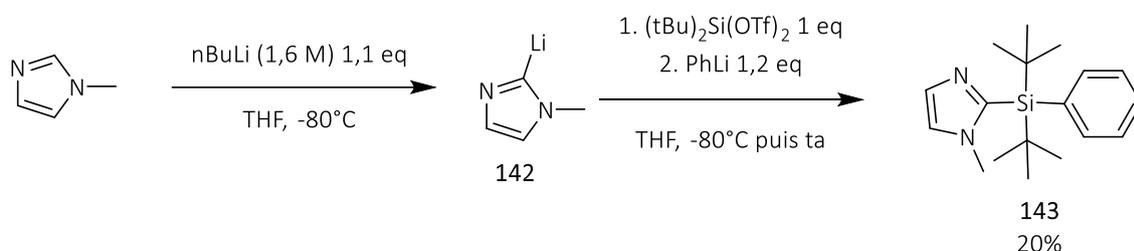
## II. Synthèse et greffage de la plateforme Imid-SiFA

### 1. Synthèse de la plateforme

#### a. Synthèse de la plateforme développée précédemment

##### ❖ Réaction modèle

Dans un premier temps, les conditions de synthèse ont été testées sur une réaction modèle. Cette réaction a permis de vérifier qu'il est possible d'obtenir un organosilylé encombré sur lequel le silicium est capable de porter deux *tert*-butyles, un méthylimidazole et un phényle. La synthèse de **143** a donc été développée. Dans un premier temps, une réaction acido-basique a été mise au point entre le *n*-Butyllithium (*n*-BuLi) et un méthylimidazole à  $-80^\circ\text{C}$  dans le THF, permettant ainsi d'obtenir l'organolithien intermédiaire **142** (Schéma 77). Ensuite, le di-*tert*-butyl bis(trifluoromethanesulfonyloxy)silane a été ajouté à la solution. Enfin, du phényllithium a été ajouté au milieu réactionnel, toujours à  $-80^\circ\text{C}$ . La réaction a été remontée à température ambiante au cours de la nuit, permettant d'obtenir après purification par colonne de silice le composé **143** avec un rendement total de 20%.



##### ❖ Protocole mis au point précédemment<sup>122</sup>

Le développement de cette réaction modèle a permis de mettre au point un protocole similaire permettant de synthétiser une plateforme Imid-SiFA fonctionnalisable de part et d'autre.

Pour ce faire, le 4-bromophénol a été protégé à l'aide d'un groupement MOM (Schéma 78). Cette étape de protection a été réalisée avec du chlorométhoxyméthane (MOMCl) en présence de *N,N'*-

<sup>122</sup> Marion Tisseraud, Développement de plateformes moléculaires silylées supportée pour une fluoration facilitée de biomolécules, Université de Bordeaux, 2018.

diisopropyléthylamine (DIEA) dans du dichlorométhane. Le bromophénol protégé **144** a été obtenu avec un rendement de 91%.

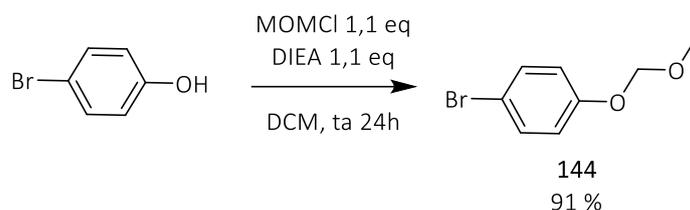


Schéma 78 - Réaction de protection du 4-bromophénol

Lors de l'établissement de la preuve de concept, un protocole pour synthétiser la plateforme **145** a été mis au point qui a ensuite pu être fonctionnalisée. La synthèse "one-pot" qui a été développée nécessite dans un premier temps de réaliser l'organolithien **142** pendant 15 min à  $-80^\circ\text{C}$  (Schéma 79). Puis, le di-*tert*-butyl-silylbis (trifluorométhanosulfonate)  $(^t\text{Bu})_2\text{Si}(\text{OTf})_2$  a été ajouté au milieu réactionnel suivi par **144** (2 eq) et le *n*-BuLi (2,2 eq) pour faire l'échange halogène-lithium. Enfin, après le dernier ajout de *n*-BuLi, le cryostat a été éteint et le mélange remonte lentement à température ambiante durant la nuit. Ce protocole donne le composé **145** avec un rendement très variable allant de 0% jusqu'à 70% après purification sur colonne de silice.

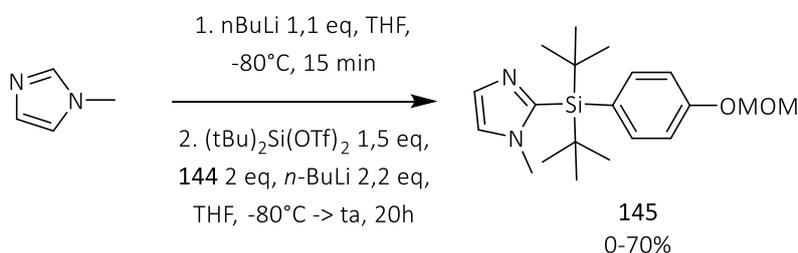


Schéma 79 - Synthèse de la plateforme, 1<sup>er</sup> protocole

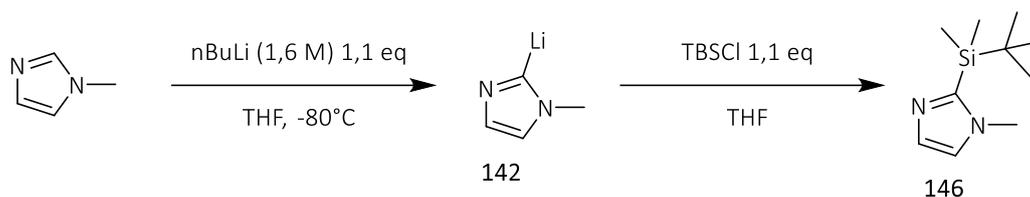
Les rendements varient beaucoup notamment à cause de la qualité du  $(^t\text{Bu})_2\text{Si}(\text{OTf})_2$ . En effet, il a été montré que le taux d'hydrolyse sur le composé de départ a un fort impact sur la synthèse totale de **145**. Il est à noter que la reproductibilité de ce protocole est très variable et dépend beaucoup des réactifs et de l'opérateur. En effet, au cours de l'utilisation de ce protocole il a été observé que lors de l'ajout des réactifs en fonction de la vitesse et du positionnement du ballon, les réactifs avaient tendance à geler, rendant impossible la synthèse du composé **145**. Pour éviter cela, les différentes étapes de cette réaction one-pot ont été étudiées.

## b. Optimisation de la synthèse des organolithiens

Afin de comprendre les différents paramètres impactant cette réaction, les différentes étapes de la réaction ont été étudiées une par une dans le but d'optimiser la synthèse "one-pot" de la plateforme.

### ❖ Analyse de la réaction acido-basique du méthylimidazole avec le *n*-BuLi

Dans un premier temps, la réaction entre le méthylimidazole et le *n*-BuLi a été évaluée afin de comprendre les différents paramètres impactant la formation du méthyl-2-imidazolyl de lithium **142**. Ainsi, l'intermédiaire lithié **142** a été piégé par du chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle (TBSCl) (**Schéma 80**).



**Schéma 80** - Réaction permettant d'optimiser la synthèse de l'organolithien **142**

Les premiers paramètres évalués ont été le temps et la température nécessaires pour former l'organolithien **142**. Le temps ainsi que la température entre l'ajout du *n*-BuLi et l'ajout du TBSCl ont ainsi été modifiés (**Tableau 3**). Dans les trois cas, une fois le TBSCl ajouté, le milieu réactionnel a été agité à température ambiante pendant 15 min, puis la réaction a ensuite été "quenchée" avec  $\text{H}_2\text{O}$ . Le ratio entre le produit de départ méthylimidazole et le produit d'arrivée **146** a été évalué par RMN  $^1\text{H}$  (**Fig. 13**). La RMN  $^1\text{H}$  du méthylimidazole de référence est en violet.

**Tableau 3** - Essais de formation de l'organolithien **142**

Essai	Ajout du TBSCl par rapport au <i>n</i> -BuLi	Ratio départ/arrivé (RMN $^1\text{H}$ )
1 (vert)	Immédiat à -80°C	40/60
2 (rouge)	Après 15 min à -80°C	99/1
3 (bleu)	Après 15 min à -80°C + 15 min à ta	66/34

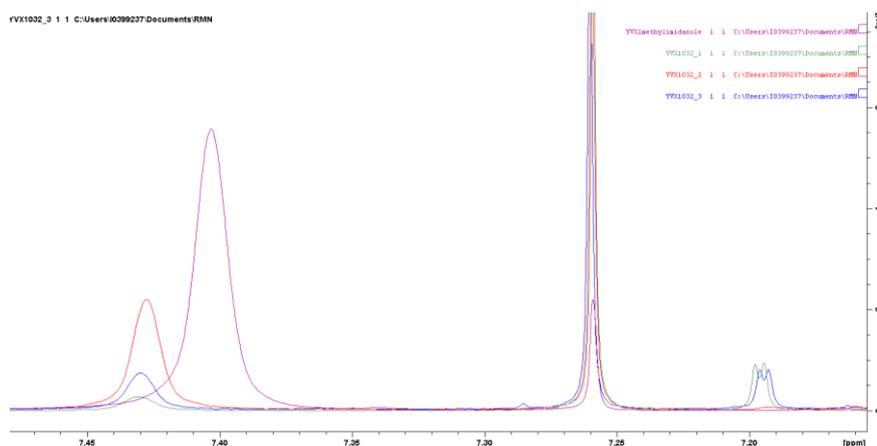


Figure 13 - Comparaison des spectres RMN  $^1\text{H}$  du méthylimidazole et des bruts de réaction

Comme on peut le voir dans le tableau récapitulatif des résultats des analyses des RMN  $^1\text{H}$ , la réaction acido-basique a été très rapide dès  $-80^\circ\text{C}$ . Cependant, le composé **142** ne semble pas stable ni à plus haute température ni dans le temps.

#### ❖ Synthèse *in situ* du phénollithium protégé

Une fois l'étape de protection avec de le groupement MOM effectuée, le composé **144** a été mis en présence de *n*-BuLi afin de réaliser une réaction d'échange halogène-lithium. Comme précédemment, la formation de l'organolithien **147** a été d'abord évaluée par piégeage à l'aide de TBSCl, donnant le composé **148** (Schéma 81). Dans ce cas, deux autres produits ont également été obtenus en plus du produit de départ et du produit **148**. En effet, pendant la réaction d'échange halogène-lithium, le bromobutane a été formé et ce composé électrophile a été capable de réagir avec l'organolithien **147** pour obtenir **149**. Quant au composé **150**, celui-ci a été formé après avoir ouvert le ballon à l'air libre par réaction avec  $\text{O}_2$ . La présence de ce produit indique à priori la présence de l'organolithien **147** n'ayant pas eu le temps de réagir avec le TBSCl.

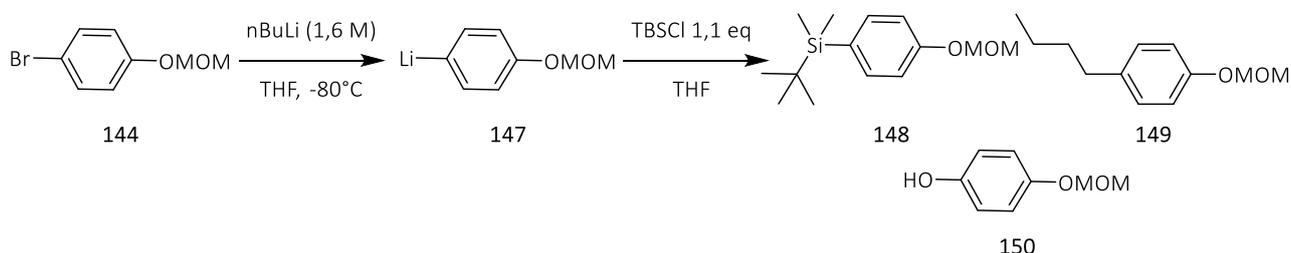


Schéma 81 - Réactions tests pour la formation de l'organolithien **147**

Les taux de conversion ont été analysés par RMN  $^1\text{H}$ . Dans ces différents essais, les paramètres étudiés sont le nombre d'équivalent de *n*-BuLi, le temps d'attente entre l'ajout du *n*-BuLi et le TBSCl

et le temps d'attente nécessaire pour que **147** ait totalement réagi sur le TBSCl. A part pour l'essai 5 et 6 où le *n*-BuLi a été ajouté après le TBSCl.

**Tableau 4** - Essais d'optimisation de la synthèse de l'organolithien **147**

Essai	<i>n</i> BuLi (eq)	Temps après l'ajout de <i>n</i> BuLi	Temps après l'ajout de TBSCl	Conversion RMN <sup>1</sup> H (Rdt isolé)
1	1 eq	30 min à -80°C	15 min à -80°C	<b>144</b> : 40% - <b>149</b> : 60%
2	1eq	30 min à -80°C	15 min à ta	<b>148</b> : 25% - <b>149</b> : 75%
3	1 eq	0 min à -80°C	30 min à -80°C	<b>144</b> : 72% - <b>149</b> : 28%
4	2 eq	30 min à -80°C	15 min à ta	<b>148</b> : 23% - <b>150</b> : 77% ( <b>148</b> : 16% - <b>150</b> : 58%)
5	2 eq	45 min à -80°C	Déjà présent dans le milieu	<b>148</b> : 40% - <b>150</b> : 15% + Produit de dégradation
6	2 eq	45 min à -80°C + 3h à ta	Déjà présent dans le milieu	Produit de dégradation
7	2 eq	30 min à -80°C	15 min à -80°C + 3h à ta	<b>148</b> : 100%

Pour éviter la formation du composé **149**, il a été nécessaire d'ajouter deux équivalents de *n*-BuLi (**Tableau 4**). Le deuxième équivalent a permis de réagir avec le bromobutane avant qu'il ne réagisse avec l'organolithien **147**. De plus, afin d'obtenir 100% de conversion en composé **148** il a également été nécessaire de laisser le composé **147** réagir 3h avec le TBSCl à température ambiante. La seconde étape, la réaction de substitution n'a donc pas été immédiate.

### c. Synthèse de la plateforme

#### ❖ Nouveau protocole

Après ces différents tests, un nouveau protocole de synthèse a été développé. Il consiste à synthétiser les organolithiens en amont et de les ajouter un par un avec des temps d'attente bien précis (**Schéma 82**). Dans un premier temps, l'intermédiaire **147** a été synthétisé dans un ballon par ajout de *n*-BuLi (2,2 eq) dans le THF à -80°C pendant 30 min, puis 10 min à température ambiante. En parallèle, le composé **142** a été synthétisé par ajout de *n*-BuLi (1,1 eq) dans du THF à -80°C pendant 10 min, il a alors été mis en présence de (tBu)<sub>2</sub>Si(OTf)<sub>2</sub> dilué dans du THF à -80°C. Le mélange a été agité pendant 10 min puis l'organolithien **147** a été ajouté. Le mélange a ensuite remonté lentement à température ambiante en 16h.

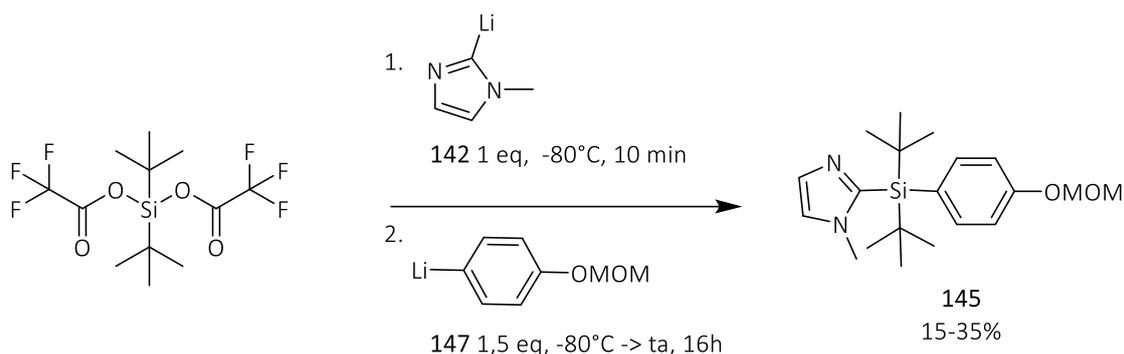


Schéma 82 - Synthèse plateforme, nouveau protocole

Ce nouveau protocole permet une meilleure reproductibilité et les rendements obtenus ont été compris entre 15 et 35%.

#### d. Stratégie alternative

Lors des essais de double substitution pour la synthèse de la plateforme, il a été possible d'obtenir des sous-produits symétriques. Alors que le produit symétrique constitué de deux phénols protégés s'est montré très stable et donc peu intéressant, il a été envisagé d'utiliser le composé silylé **151** (constitué de deux groupements imidazoles) comme intermédiaire isolable pour la synthèse de la plateforme **145**.

Dans un premier temps, la synthèse du composé **151** a donc été réalisée en utilisant du  $n\text{-BuLi}$  (1 eq) pendant 5 min à  $-80^{\circ}\text{C}$  (Schéma 83). Puis, le composé **142** a été introduit sur le  $(t\text{Bu})_2\text{Si}(\text{OTf})_2$  à  $-80^{\circ}\text{C}$ . La réaction a été remontée à température ambiante lentement durant la nuit permettant d'obtenir le composé symétrique **151** avec un rendement de 83%.

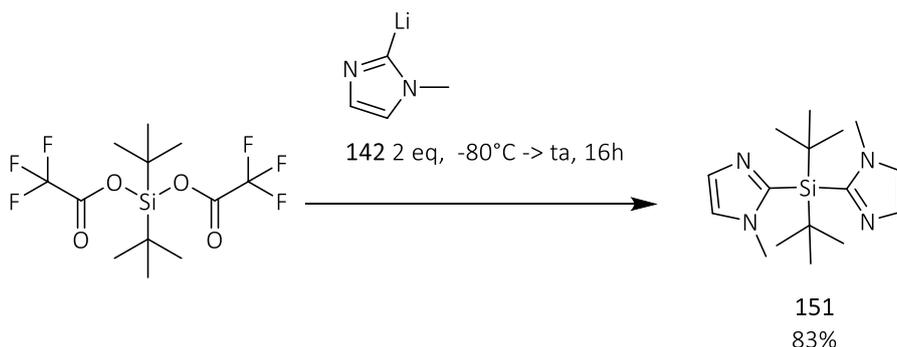
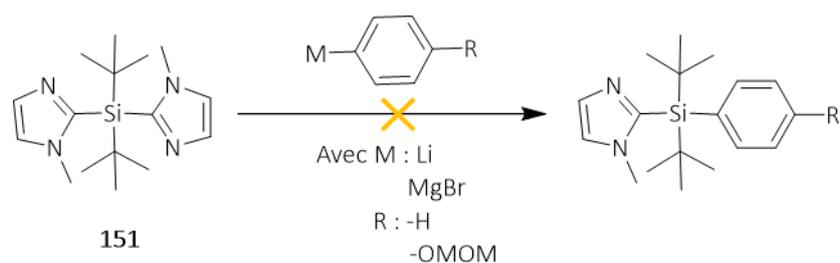


Schéma 83 - Substitution symétrique permettant d'obtenir le composé diimidazole **151**

Une fois la double substitution symétrique réalisée, le composé **151** a été mis en présence de différents composés organométalliques afin de le désymétriser (Schéma 84).



**Schéma 84** - Tentative de désymétrisation de **151**

Dans un premier temps, l'organolithien **147** a été utilisé (**Tableau 5**). Deux essais ont été tentés mais dans les deux cas, le composé de départ **151** a été retrouvé intact même après chauffage du milieu à 50°C.

Pour tenter d'activer l'imidazole, du triflate de méthyle (1 eq) a été utilisé, en formant un intermédiaire imidazolium cationique diméthylé. Une fois le composé **151** activé, celui-ci a été mis en présence de l'organolithien **147** (2 eq) à -80°C. Le mélange a alors retourné à température ambiante lentement en 18h, mais seule la dégradation de **151** a été observée dans ce protocole. Dans le second essai, du phényllithium a été mis en présence de **151** activé grâce à du triflate de méthyle à 0°C pendant 5 min puis 2h à température ambiante. Le produit souhaité n'a pas été obtenu, et **151** a également été dégradé. Enfin, le dernier essai a été réalisé avec du bromure de phénylmagnésium à 0°C pendant 5 min, puis à température ambiante pendant 2h. Là encore, seule la dégradation du produit de départ a été observée.

**Tableau 5** - Tentatives de désymétrisation de **151**

Essai	Additif	Organométallique	Conditions	Résultats
1	-	<b>147</b>	-78°C -> rt, 18h puis 50°C, 3h	<b>151</b>
2	-	<b>147</b>	-78°C : 15 min, puis ta : 1h, enfin 50°C : 18h	<b>151</b>
3	MeOTf	<b>147</b>	-78°C -> rt, 18h	Dégradation
4	MeOTf	Phényllithium	0°C, 5min, ta pendant 2h	Dégradation
5	MeOTf	Bromure de phénylmagnésium	0°C, 5min, ta pendant 2h	Dégradation

## 2. Fonctionnalisation de la plateforme

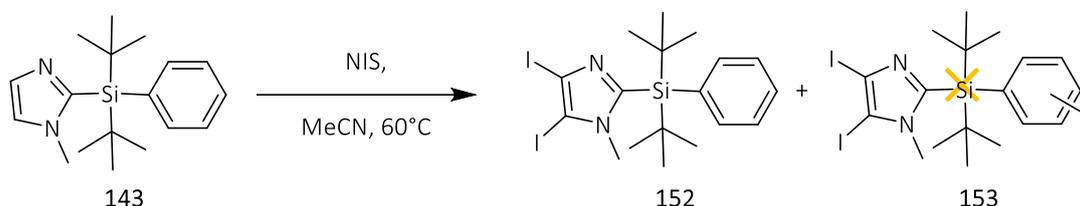
Dans un premier temps, la plateforme a été fonctionnalisée de façon à pouvoir greffer l'imidazole sur les billes de polystyrène. La première étape a consisté à ajouter un atome d'iode sur l'imidazole afin de pouvoir réaliser ensuite un couplage de Sonogashira. Ce couplage a permis d'ajouter une chaîne alkyle sur l'imidazole. Le composé a ensuite été hydrogéné et déprotégé des deux côtés. La partie gauche sera utilisée pour le greffage de la plateforme Imid-SiFA sur la résine et la partie droite pour

ajouter une chaîne PEG portant un alcyne terminal, celui-ci permettant de réaliser la bioconjugaison *via* une réaction de CuAAC.

### a. Etape d'iodation de la plateforme

#### ❖ Essais sur le composé modèle 143

Le composé **143** a été obtenu à partir de réactifs uniquement commerciaux. Une réaction d'iodation multiple de cette plateforme pourrait permettre d'obtenir des composés multiiodés pouvant être potentiellement intéressants pour sa fonctionnalisation (**Schéma 85**). Différents essais ont été effectués, l'objectif étant d'essayer d'ioder à la fois la partie imidazole et la partie phényle, pour pouvoir fonctionnaliser sélectivement chaque partie de la plateforme.



**Schéma 85 - Valorisation du composé 143**

Afin de réaliser l'étape d'iodation, trois essais ont été effectués en utilisant du *N*-iodosuccinimide (NIS) (**Tableau 6**). Dans le premier cas, deux équivalents de NIS ont été utilisés, dans le second cas trois équivalents et dans le troisième cas cinq équivalents. Les trois essais ont été réalisés dans l'acétonitrile à 60°C pendant 24h. Pour le troisième cas, le milieu réactionnel a ensuite été de nouveau agité pendant 24h à 60°C après ajout de TFA pour activer le NIS.

Dans les trois cas, le composé **152** a été isolé avec des rendements compris entre 27% et 45% mais le composé désiré **153** n'a jamais été obtenu.

**Tableau 6 -Essais d'iodation de 143**

Essai	Temps de réaction	NIS ( eq)	Additif	Rendement de 152
1	24h	2 eq	-	45%
2	24h	3 eq	-	45%
3	24h + 24h	5eq	- TFA	27%

Un dernier essai a été tenté en essayant d'ioder le composé **152** en **153** (Schéma 86). Pour ce faire, le composé **152** a été chauffé pendant 17h à 60°C dans l'acétonitrile en présence de NIS (5 eq) et de TFA (2 eq), mais seul le produit de départ a été récupéré.

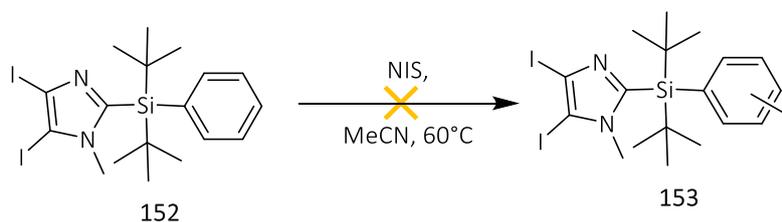


Schéma 86 - Essai d'iodation de **152**

#### ❖ Réaction de diiodation optimisée

Il a été montré que l'utilisation en défaut d'agent électrophile conduisait quasi-uniquement au produit de diiodation. Cette étape a donc été optimisée, ce qui a permis d'obtenir le produit **154** (Schéma 87) avec un rendement de 81%. Ainsi, le rendement a été amélioré en supprimant les traitements basiques intermédiaires. En effet, la présence de silanol après l'étape de traitement, a mis en évidence la dégradation de la plateforme en présence d'eau, même en condition faiblement basique.

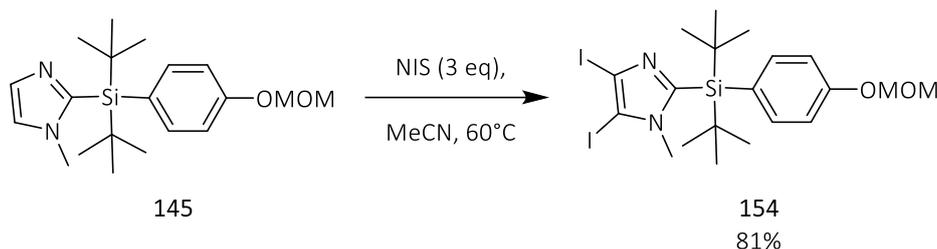


Schéma 87 – Réaction optimisée de diiodation de **145**

#### ❖ Réaction de déiodation

Suite à la formation du composé diiodé **154**, une réaction de déiodation sélective a été testée en suivant les conditions décrites par l'équipe de Dhanak<sup>123</sup> (Schéma 88). Cette réaction de déiodation a été réalisée dans le THF en présence de bromure d'éthylmagnésium à 3M dans le diéthyléther à 0°C. La réaction a été suivie par CCM et a duré entre 30 min et 1h30. Une fois l'étape de transmétallation terminée, le mélange a été "quenché" avec une solution saturée de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Cette étape a permis d'hydrolyser l'iodure de magnésium formé pour obtenir **155** avec un rendement de 95%.

<sup>123</sup> Qian X., Bergnes G., Newlander K., Fitch D., Dhanak D. Certain Chemical Entities, Compositions, and Methods, U.S. Patent, WO2007056143 (A2), 18 Mai 2007.

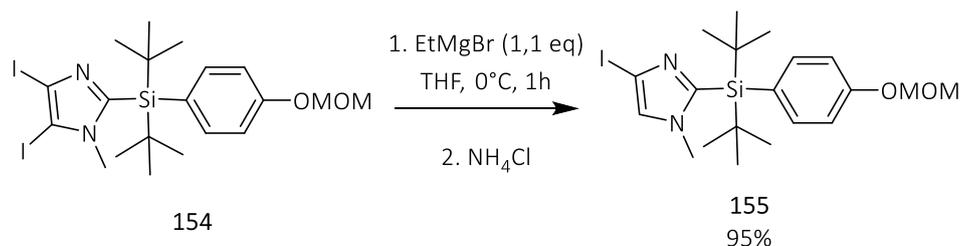


Schéma 88 - Réaction de déiodation

Pour mieux comprendre cette très bonne sélectivité, les orbitales frontières ont été calculées par A. Geoffroy-Neveux à l'université de la Sorbonne, au niveau BLYP avec la base LANL2DZ. L'optimisation de la structure a été confirmée par l'absence de fréquence de vibration imaginaire. Ces calculs de DFT (density fonctionnal theory) ont permis de visualiser l'orbitale moléculaire la plus haute occupée (HOMO) ainsi que l'orbitale moléculaire la plus basse vacante (LUMO) de **154** (Fig. 14).

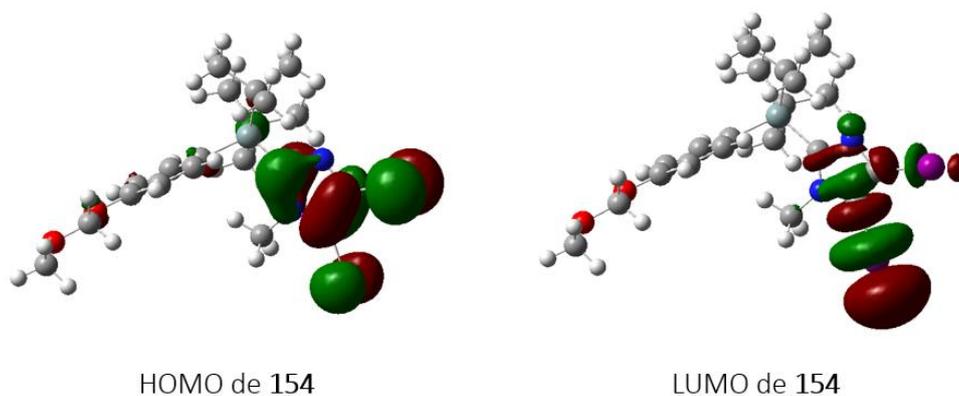


Figure 14 – Représentation des HOMO et LUMO de **154**

On observe donc ici que la LUMO est une orbitale moléculaire antiliante centrée sur l'iode à côté du méthyle. L'échange halogène-métal fonctionnant à priori par des transferts monoélectroniques, le radical anion se forme uniquement sur cet iode qui subit ensuite l'échange avec EtMgBr, ce qui explique ainsi la régiosélectivité observée.

De plus, le composé **155.HCl** a été cristallisé, permettant ainsi d'obtenir la première structure par rayon X de ce précurseur SiFA contenant un imidazole comme groupement partant (Fig. 15). Le cristal a été obtenu après évaporation du chloroforme deutéré dans un tube RMN. De façon intéressante, l'analyse des longueurs de liaison entre le chlorure et l'iode porté par l'imidazole suggère la formation d'une liaison halogène.

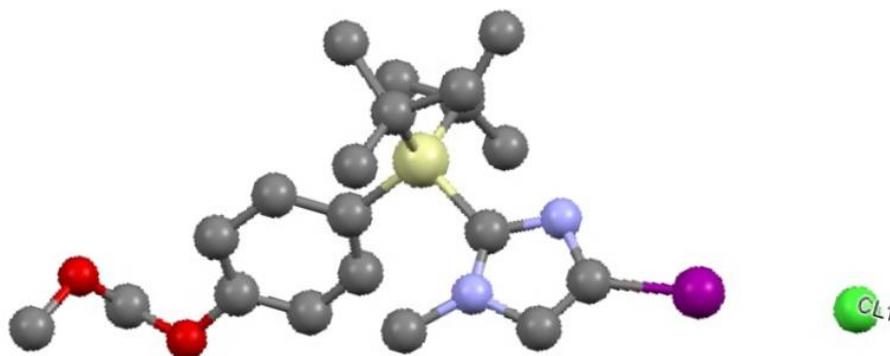


Figure 15 – Structure de **155.HCl** obtenue par analyse de diffraction des rayons X

#### ❖ Essais de monoiodation

L'iodation électrophile avec le NIS donnant un composé diiodé majoritairement, il a été envisagé d'utiliser une séquence de déprotonation au *n*-BuLi-iodation avec  $\text{I}_2$  (Schéma 89).

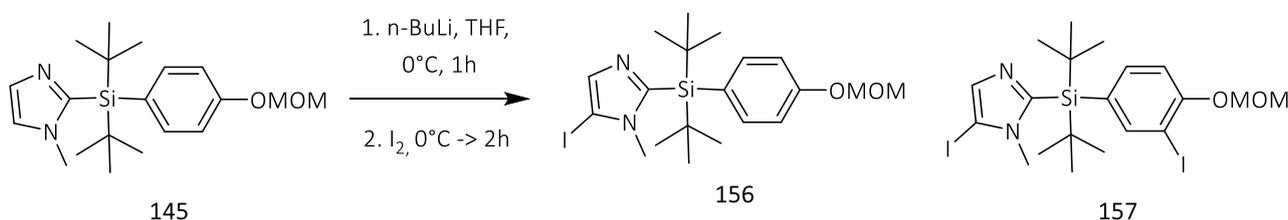


Schéma 89 - Différents produits obtenus dans des conditions différentes d'iodation

Cependant, le produit désiré **156** n'a pu être obtenu qu'avec un rendement de 7% et le sous-produit diiodé **157** issu de l'*ortho*-métallation du phénol a été obtenu à chaque fois (Tableau 7).

Tableau 7 – Essais de conditions pour faire une réaction sélective de monoiodation sur **145**

Test	Agent d'iodation	Additif	Solvant	T (°C)	Temps	Rendement
1	$\text{I}_2$ ( 3,3 eq)	<i>n</i> -BuLi (2,67 eq)	THF	0°C -> ta	1h + 2h	<b>157</b> : 33%
2	$\text{I}_2$ ( 0,9 eq)	<i>n</i> -BuLi (2,8 eq)	THF	0°C -> ta	1h + 2h	<b>157</b> : 6% + <b>156</b> : 7%

### b. Couplage de Sonogashira

Une fois l'étape d'iodation réalisée, un couplage de Sonogashira peut être effectué sur le composé monoiodé. Cette étape permet d'ajouter une chaîne alkyle qui servira ensuite pour greffer l'imidazole à la résine. Pour ce couplage, les fonctions alcools présentes sur les alcynes ont été protégées avant de mettre au point le couplage de Sonogashira (Schéma 90).

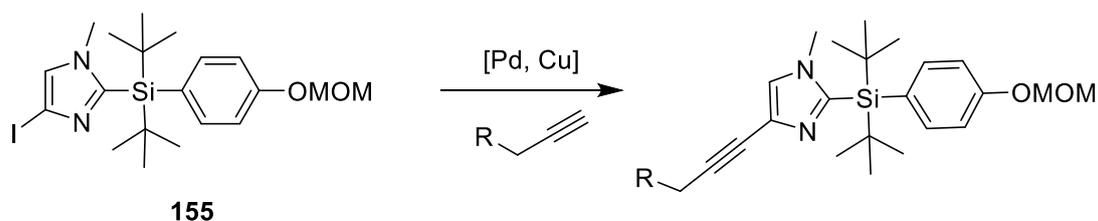


Schéma 90 - Couplage de Sonogashira

#### ❖ Réactions de protection des alcynes

Dans un premier temps, l'alcool propargylique a été protégé par un groupement benzyle (Bn) en présence de NaH et dans le THF à 0°C pendant 30 min (Schéma 91). Puis, le bromure de benzyle a été ajouté au milieu réactionnel à 0°C. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 16h pour obtenir le composé **158** avec un rendement de 71%.

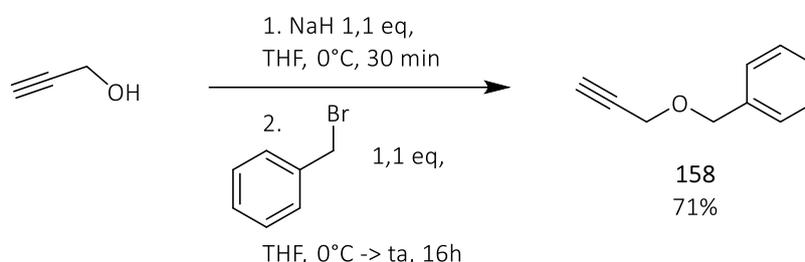


Schéma 91 - Etape de protection de l'alcool propargylique avec un groupement benzyl

Afin de faciliter la déprotection de l'alcool terminal, l'alcool propargylique a également été protégé par un groupement MOM (Schéma 92). Dans un premier temps, le même protocole a été suivi en substituant le bromure de benzyle par du MOMCl. Lors de l'étape de purification sur silice, le composé **159** s'est entièrement dégradé et l'alcool propargylique a été récupéré. Le *tert*-butylate de potassium (<sup>t</sup>BuOK) a donc été utilisé, permettant d'obtenir uniquement des sous-produits volatils séparables par évaporateur rotatif et évitant ainsi une étape de purification sur colonne chromatographique sur silice. Le composé **159** a alors été obtenu avec un rendement de 20%.

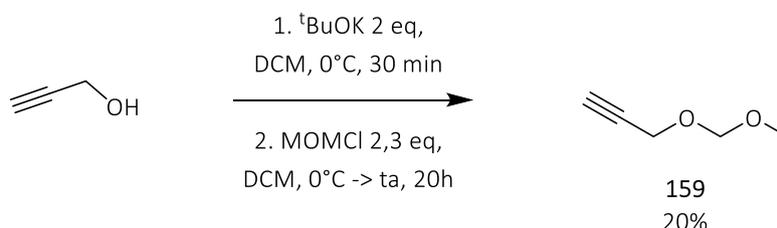


Schéma 92 - Protection avec un groupement MOM de l'alcool propargylique

Enfin, les derniers alcynes utilisés pour faire un couplage de Sonogashira contiennent une chaîne PEG afin d'espacer la plateforme SiFA de la résine (Schéma 93). Dans un premier temps, le composé **160**

a été obtenu en faisant réagir du triéthylène glycol en présence de  $t\text{BuOK}$  pendant 30 min à température ambiante, puis le bromure propargylique a été ajouté au milieu réactionnel dans un second temps. La réaction a été agitée pendant 24h à température ambiante pour obtenir le composé **160** avec un rendement de 51%. Ensuite, l'alcool terminal restant a été protégé par les deux groupements protecteurs précédents. Dans le cas du groupement benzyle, le composé **160** a été mis en présence de NaH dans le THF à  $0^\circ\text{C}$  pendant 30 min, puis le bromure de benzyle a été ajouté à  $0^\circ\text{C}$ . Le composé **161** a été obtenu avec un rendement de 57%. Dans le cas du groupement MOM, le composé **160** a été mis en présence de MOMCl avec de la DIEA dans le dichlorométhane à température ambiante pendant 5 jours pour obtenir le produit **162** avec un rendement de 49%.

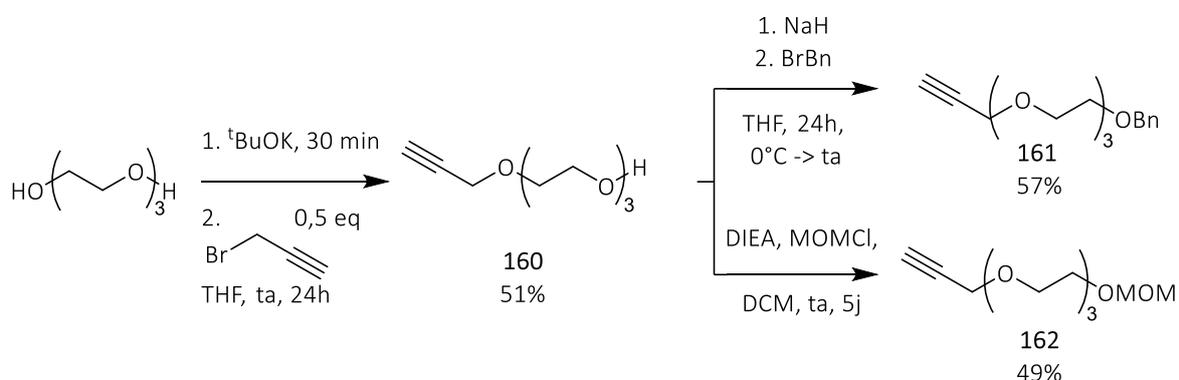


Schéma 93 - Synthèse des alcynes péglés **161** et **162**

#### ❖ Réaction de couplage de Sonogashira

La première réaction de Sonogashira a été réalisée sur le composé **155** (Schéma 94). Elle a été effectuée en présence de palladium tétrakis  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (fraichement synthétisé), de CuI, d'alcyne **158** et de  $\text{Et}_3\text{N}$  dans le DMF à  $80^\circ\text{C}$  pendant 3h. Cette réaction a permis d'obtenir le composé désiré **163** avec un rendement de 88%.

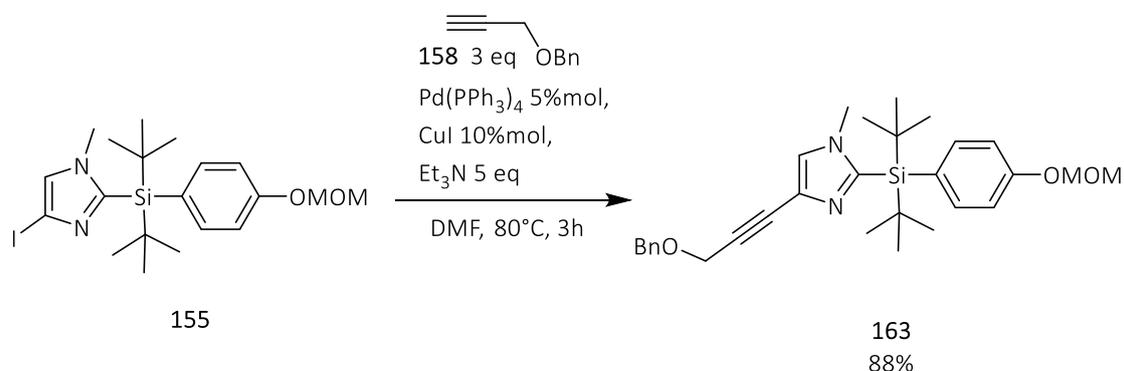


Schéma 94 - Couplage de Sonogashira avec l'alcyne **158**

Le couplage de l'alcyne **159** a ensuite été réalisé dans les mêmes conditions, conduisant au produit **164** avec un rendement de 62% (**Schéma 95**). Cependant, la reproductibilité de ce couplage de Sonogashira s'est révélée faible à cause de l'instabilité de l'alcyne **159**, ce qui n'a pas permis d'effectuer ce couplage dans de grandes quantités (contrairement à la synthèse de **163**).

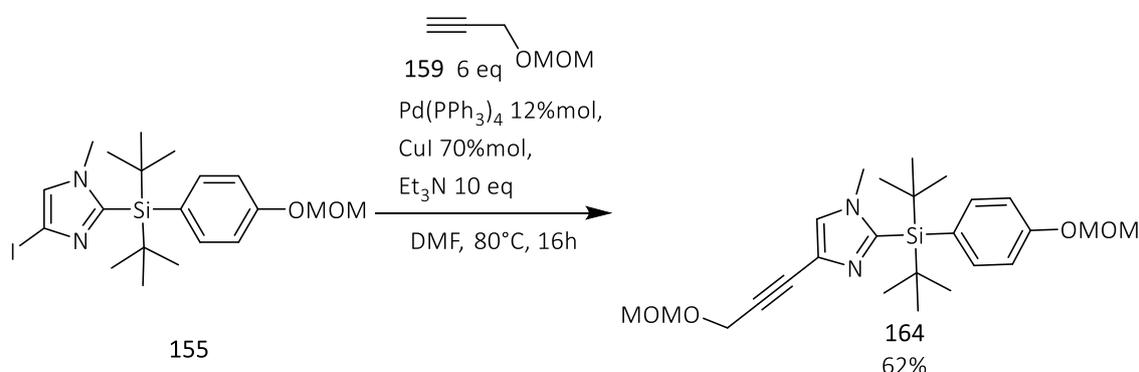


Schéma 95 - Couplage de Sonogashira avec l'alcyne **159**

Un couplage de Sonogashira a également été mis en place dans les mêmes conditions avec l'alcyne **161** contenant la chaîne PEG ce qui a permis d'obtenir **165** avec un rendement de 57% (non optimisé) (**Schéma 96**).

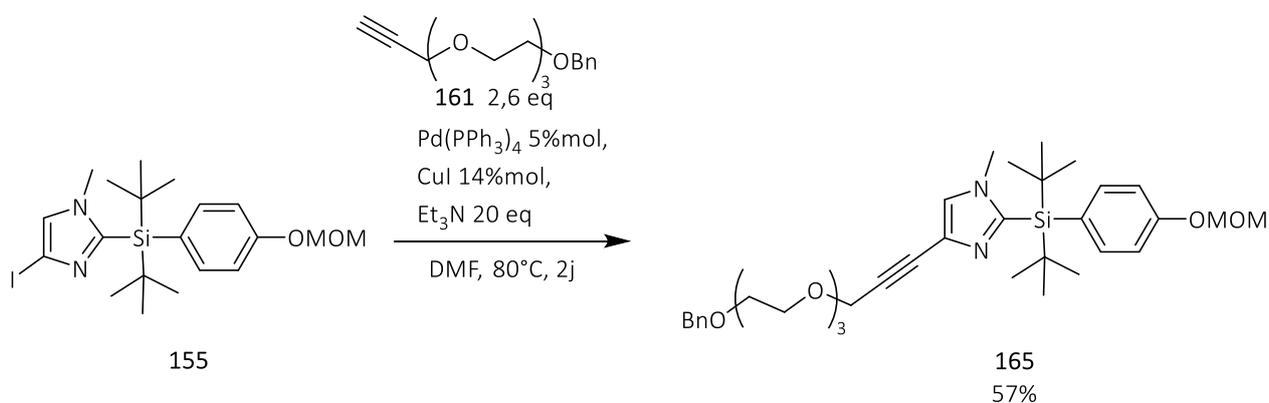


Schéma 96 - Couplage de Sonogashira avec l'alcyne **161**

Enfin, le dernier couplage de Sonogashira a utilisé l'alcyne **162** pour obtenir le composé silylé **155** avec un rendement de 74% (**Schéma 97**). L'intérêt ici était d'avoir deux groupements protecteurs MOM qui s'enlèvent dans des conditions plus douces que pour le groupement Bn.

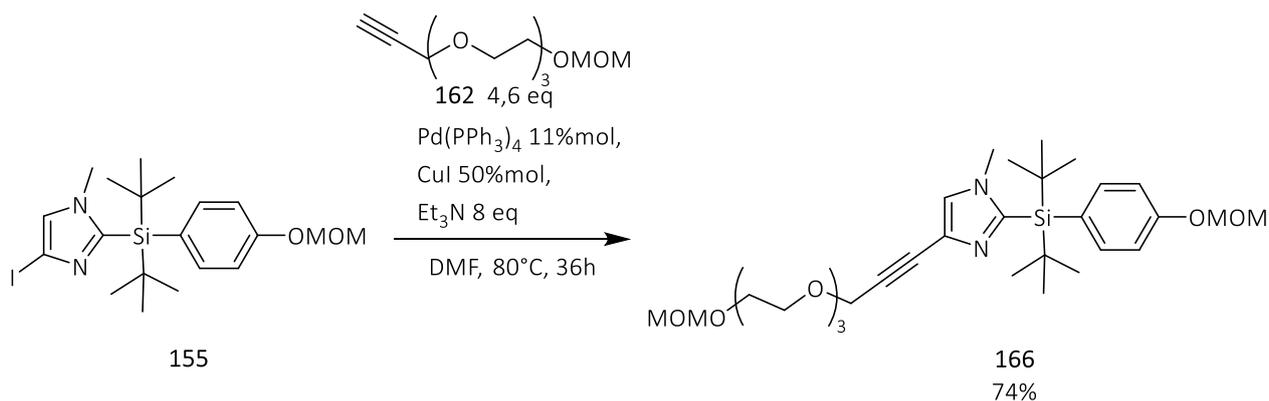


Schéma 97 - Couplage de Sonogashira avec l'alcyne **162**

### c. Etape d'hydrogénation et de déprotection

Après les différents couplages de Sonogashira, l'alcyne a été réduit et les groupements protecteurs enlevés lors d'une étape d'hydrogénation et de déprotection. Différentes conditions ont été testées pour réaliser l'hydrogénation en utilisant un ballon classique sous atmosphère de dihydrogène ou en flux à l'aide d'un H-cube.

#### ❖ Hydrogénation sous atmosphère de dihydrogène

Pour commencer, l'étape d'hydrogénation suivie de la déprotection de **163** a été réalisée dans un ballon sous atmosphère de dihydrogène ( $\text{H}_2$ ) (Schéma 98). Cette étape d'hydrogénation en présence de palladium sur charbon à 10% ( $\text{Pd/C}$ ) avec de l'acide acétique (10 eq) dans le méthanol a permis d'obtenir le composé **167** après 16h à température ambiante. Le milieu réactionnel a ensuite été filtré sur celite puis concentré, le résidu a été dilué dans un mélange de méthanol et d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  aqueux à 6,2M (10 eq) pour déprotéger le groupement MOM encore présent sur **167**. La réaction a été agitée pendant 5h à  $50^\circ\text{C}$  et après purification, le composé **168** a été obtenu avec un rendement de 66% sur les deux étapes.

La réaction ci-dessus a été effectuée à partir de 0,14 mmol de **163**. Lors d'un changement d'échelle, la réaction a été testée en utilisant 0,6 mmol de **163** (4 fois plus) et il a été nécessaire d'augmenter le temps de réaction de la première étape à 5 jours au lieu de 16h afin d'obtenir une conversion complète. Après purification, le rendement de cette réaction a alors diminué pour atteindre 48%.

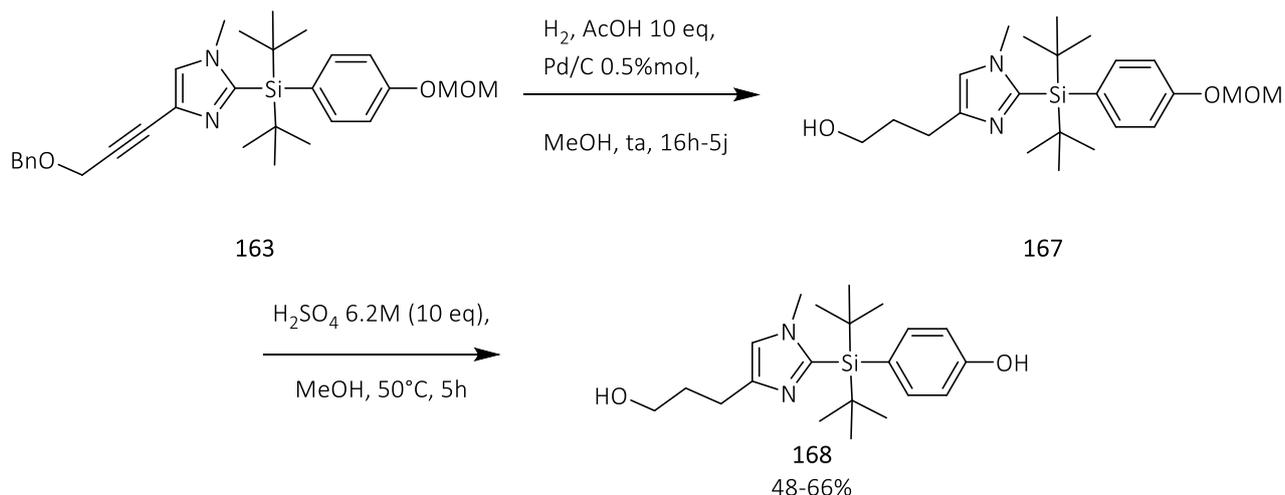


Schéma 98 - Réaction d'hydrogénation et de déprotection de **163**

Cette baisse de rendement et l'augmentation du temps de réaction nous a poussé à faire des essais d'hydrogénation en flux à l'aide du H-cube.

#### ❖ Hydrogénation à l'aide d'un H-cube

Dans un premier temps, l'hydrogénation en flux a été mise au point sur le composé **163** (Schéma 99). La température et la pression ont été variées avec une concentration de  $0,008 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  et un débit de  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Les taux de conversion de chaque essai ont été analysés par RMN  $^1\text{H}$ . Parmi les sous-produits, le composé **169** hydrogéné au niveau de la triple liaison mais possédant toujours les deux groupements protecteurs a été observé.

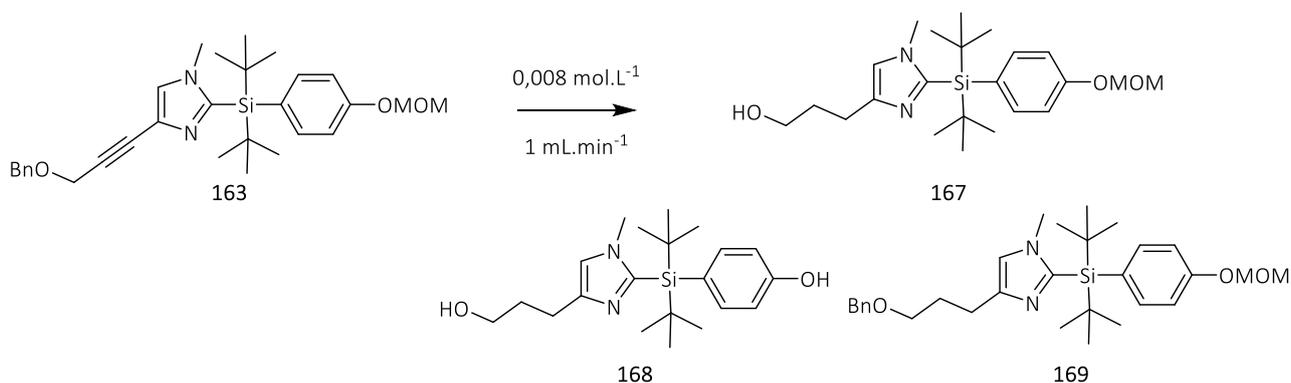


Schéma 99 - Différents composés obtenus par Hydrogénation à l'aide du H-cube

Tout d'abord, la réaction d'hydrogénation de **163** a été faite dans les mêmes conditions que pour l'hydrogénation sous pression de dihydrogène, c'est-à-dire dans un mélange MeOH/AcOH (2%) avec une cartouche de Pd/C (Tableau 8). Cependant, la cartouche a été chauffée à  $50^\circ\text{C}$  et la pression de  $\text{H}_2$  a été réglée à 10 bar. Dans ce cas, il a été observé que 100% de la triple liaison est hydrogénée mais que les groupements protecteurs Bn et MOM sont toujours présents. La quantité d'acide et la

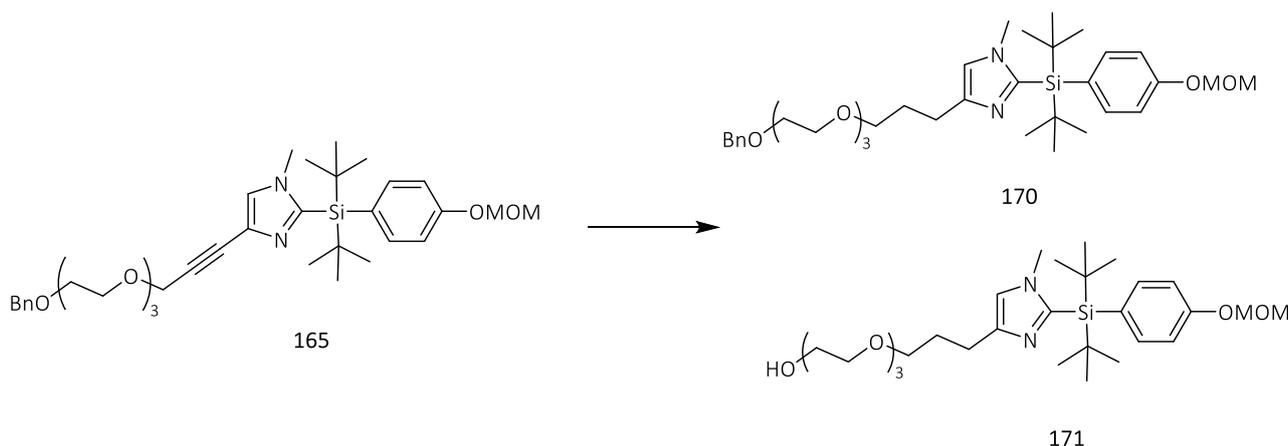
pression de  $\text{H}_2$  ont été augmentées, mais le même résultat a été obtenu. Une cartouche de  $\text{Pd}(\text{OH})_2$ / $^{\text{s}}\text{C}$  (plus réactive) a ensuite été utilisée mais la présence de **169** a là encore été observée (le complexe de palladium étant basique, il n'a pas été possible d'ajouter d'acide). Afin de pouvoir chauffer plus fort la réaction d'hydrogénation, le méthanol a ensuite été remplacé par l'éthanol.

**Tableau 8** – Différentes conditions utilisées pour Hydrogéner **163** avec le H-cube

Essai	Solvants	Catalyseur	T (°C)	P° (bar)	Conversion RMN $^1\text{H}$
1	MeOH/AcOH (2%)	$\text{Pd}^{\text{s}}/\text{C}$	50	10	<b>169</b> : 100%
2	MeOH/AcOH (9/1)	$\text{Pd}^{\text{s}}/\text{C}$	50	40	<b>169</b> : 100%
3	MeOH	$\text{Pd}(\text{OH})_2^{\text{s}}/\text{C}$	50	10	<b>167</b> : 30%, <b>168</b> : 15%, <b>169</b> : 55%
4	MeOH	$\text{Pd}(\text{OH})_2^{\text{s}}/\text{C}$	50	40	<b>167</b> : 55%, <b>168</b> : 15%, <b>169</b> : 30%
5	EtOH	$\text{Pd}(\text{OH})_2^{\text{s}}/\text{C}$	60	40	<b>167</b> : 80%, <b>168</b> : 20%

Lors de ce dernier essai, le composé **169** n'était plus présent, mais le rendement après purification n'était que de 5%. Il semble que le groupement benzyle ne peut pas être hydrogéné en utilisant le H-cube sans dégrader les autres fonctionnalités.

L'hydrogénation en flux à l'aide d'un H-cube a également été réalisée sur les composés **165** et **166**. Dans un premier temps, différents essais ont été réalisés sur le composé **165** contenant un groupement benzyle (**Schéma 100**). La formation du produit **170** a également été observée où seulement la triple liaison a été hydrogénée.



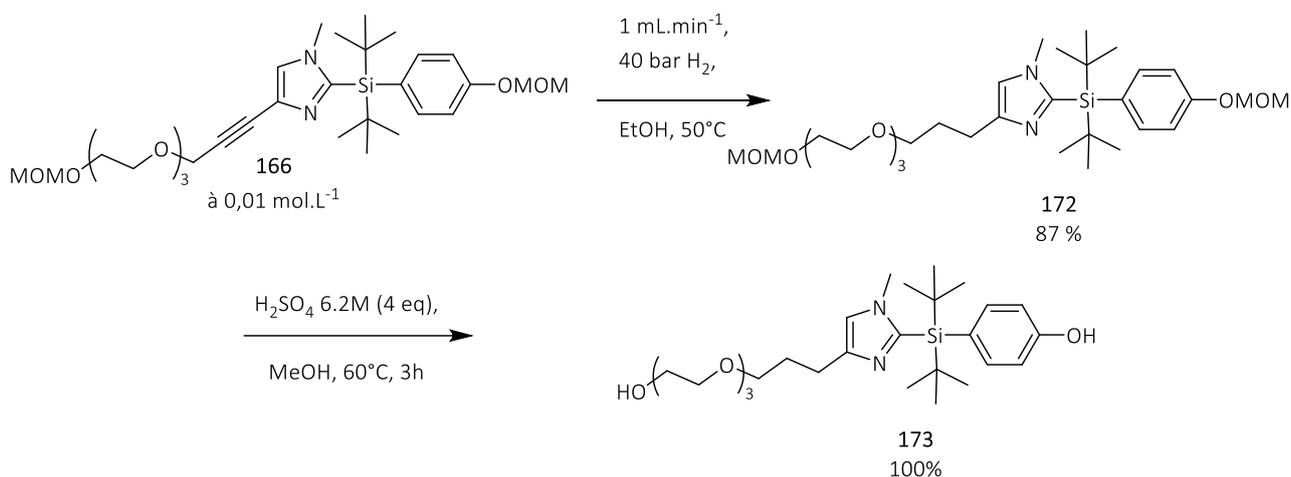
**Schéma 100** - Hydrogénation de **165** au H-cube

Comme pour **163**, il a donc été observé un problème pour déprotéger le groupement Benzyle (**Tableau 9**).

Tableau 9 - Conditions utilisées pour l'hydrogénation de **165**

Essai	Solvants	Catalyseur	T (°C)	P° (bar)	Flux (mL.min <sup>-1</sup> )	Rendement
1	MeOH/AcOH (2%)	Pd s/ C	50	40	1	<b>170</b> : 100%
2	EtOH	Pd s/ C	70	40	1	<b>170</b> : 100%

Le composé **166** a ensuite été synthétisé pour éviter ce problème de déprotection du groupement benzyle. Celui-ci a ainsi pu être hydrogéné en **172** en utilisant une pression de dihydrogène de 40 bar dans l'éthanol à 50°C avec un rendement de 87% en utilisant le H-cube (**Schéma 101**). Ces conditions ont été mises au point au vue des résultats précédents montrant que la triple liaison a été hydrogénée dans des conditions douces. Enfin, les groupements MOM ont été clivés en milieu acide permettant d'obtenir **173** quantitativement.

Schéma 101 - Hydrogénation et déprotection du composé **166**

#### ❖ Confirmation de la structure de **168** par Rayon X

Le composé **168** a été cristallisé par évaporation lente d'un mélange de toluène avec quelques gouttes d'acétate d'éthyle. L'obtention de ce cristal a permis d'obtenir une seconde preuve de la structure de notre plateforme (**Fig. 16**). Dans ce cas, il a été observé la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire, du méthylimidazole avec l'alcool terminal de la chaîne carbonée.

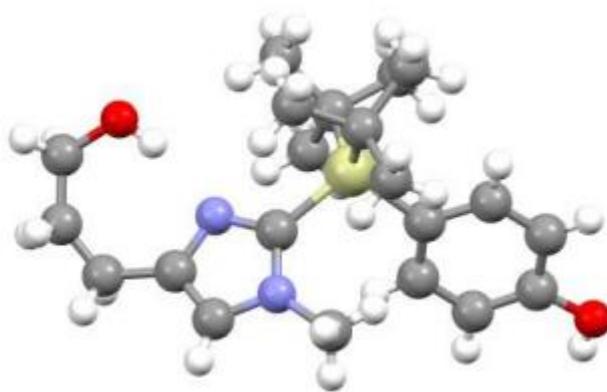


Figure 16 - Structure de **168** obtenue par diffraction des rayons X

Il est à noter qu'une synthèse multi-gramme a été menée à bien par un prestataire de Sanofi afin d'obtenir plusieurs grammes du composé **168**, et les rendements obtenus par l'entreprise sont du même ordre de grandeurs que ceux présentés ci-dessus.

#### d. Fonctionnalisation pour la réaction de bioconjugaison

Enfin, la dernière étape de synthèse consiste à alkyler le phénol du composé **168** avec une chaîne PEG contenant un alcyne, celui-ci étant utilisé par la suite pour réaliser des réactions de bioconjugaison par chimie "Click".

Dans un premier temps, la chaîne PEG **160** a été modifiée par une réaction de tosylation sur l'alcool terminal en présence de chlorhydrate de triméthylamine, de la triéthylamine ( $\text{NEt}_3$ ) et de chlorure de toluènesulfonyl (**Schéma 102**). Cette réaction a permis d'obtenir le composé **174** avec un rendement de 90%.

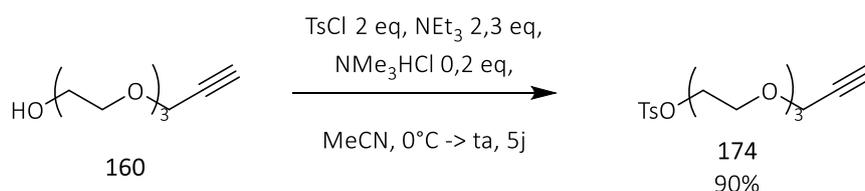
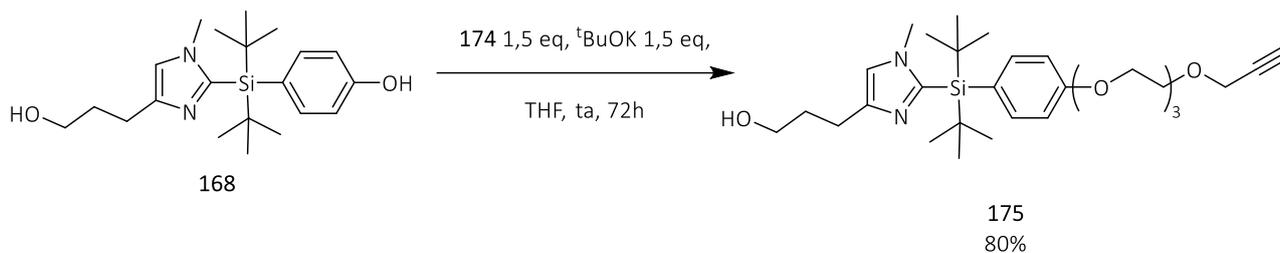


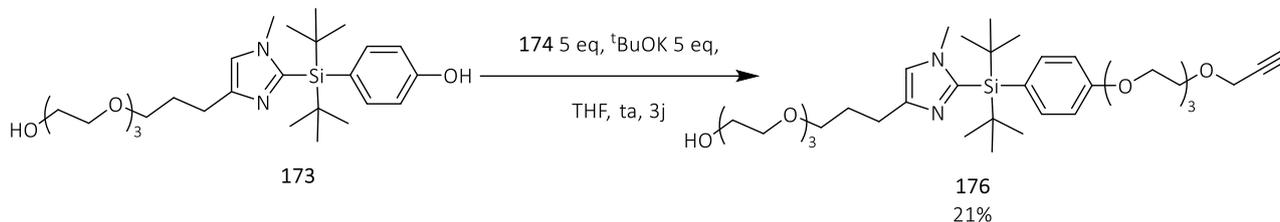
Schéma 102 - Réaction de tosylation de **160**

La chaîne PEG **174** a été ajoutée à la plateforme par une réaction de type  $\text{S}_{\text{N}}2$  en utilisant du  $^t\text{BuOK}$  (1,5 eq) dans le THF (**Schéma 103**). Cette réaction a permis d'obtenir le composé **175** avec un rendement de 80%.



**Schéma 103** - Ajout d'une chaîne PEG sur la plateforme **168**

Enfin, la fonctionnalisation avec une chaîne PEG a également été accomplie sur le composé **173** avec un rendement de 21% (**Schéma 104**). Cependant, la réaction ayant été mise au point sur une petite quantité de **165** (50  $\mu\text{mol}$ ), la perte par hydrolyse de la plateforme en milieu basique n'est pas négligeable dans ce cas.



**Schéma 104** - Ajout d'une chaîne PEG sur la plateforme **173**

### 3. Greffage de la plateforme

Une fois la synthèse réalisée, la plateforme **175** a ensuite été greffée sur une résine. Deux types de résines ont été essayés pour ce greffage (**Fig. 17**). La première est une résine de type Tentagel® sur laquelle se trouve un ester activé par un succinimide. L'avantage de cette résine est qu'elle est soluble dans beaucoup de solvants organiques et insoluble en présence d'eau. Elle permettrait donc potentiellement de réaliser la radiosynthèse en solution afin d'augmenter la réactivité. L'ajout d'eau permet de faire précipiter la résine et ainsi de filtrer les réactifs et sous-produits non désirés.

Le second polymère utilisé est un polystyrène contenant des chlorures d'acides (en moyenne de 2,1 mmol par gramme de résine). Cette résine est commercialisée directement par Sigma-Aldrich. La résine est insoluble en présence de solvants organiques, malgré une tendance à se gonfler. Cependant, en présence d'une trop grande quantité d'eau, la résine a tendance à se contracter ce qui défavorise fortement toute approche du fluorure vers la plateforme.

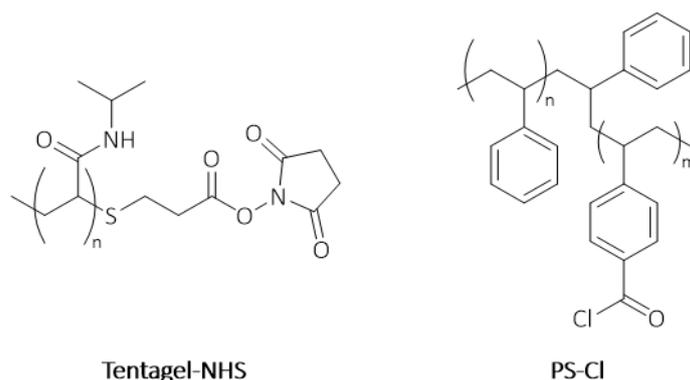


Figure 17 - Les deux polymères utilisés pour tenter de supporter la plateforme

### a. Greffage sur une résine Tentagel<sup>®</sup>-NHS

#### ❖ Greffage sur la résine

Pour réaliser le greffage de la plateforme, la résine Tentagel<sup>®</sup>-(NHS) a été mise en présence de la plateforme **175** et d'hydruure de sodium afin de déprotomer l'alcool terminal dans du dichlorométhane. Le mélange a été agité pendant 2 jours à température ambiante puis encore 2 jours à 50°C (**Schéma 105**).

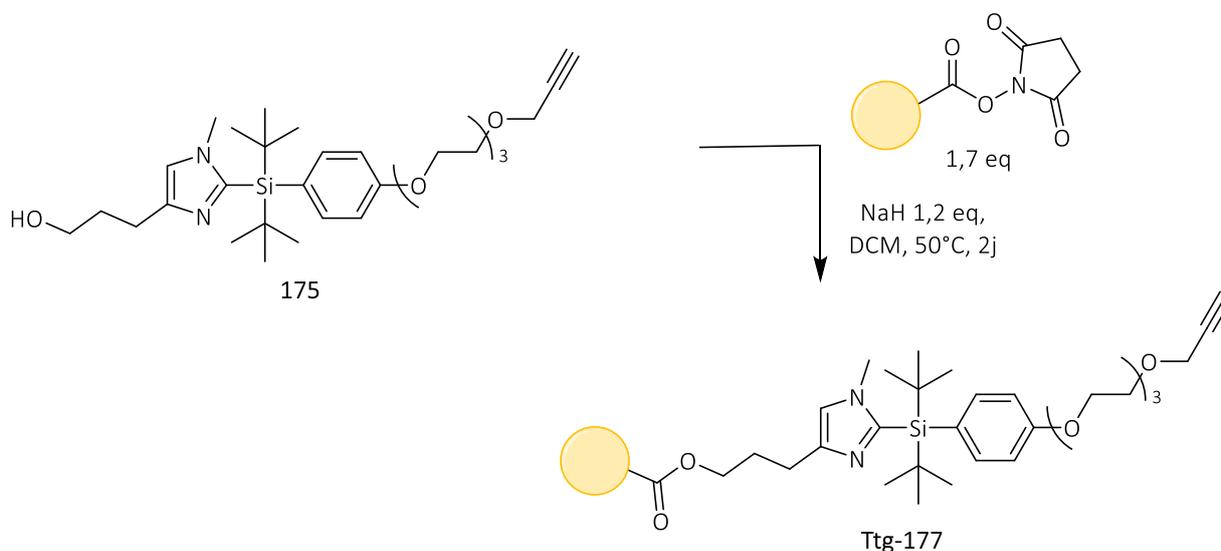
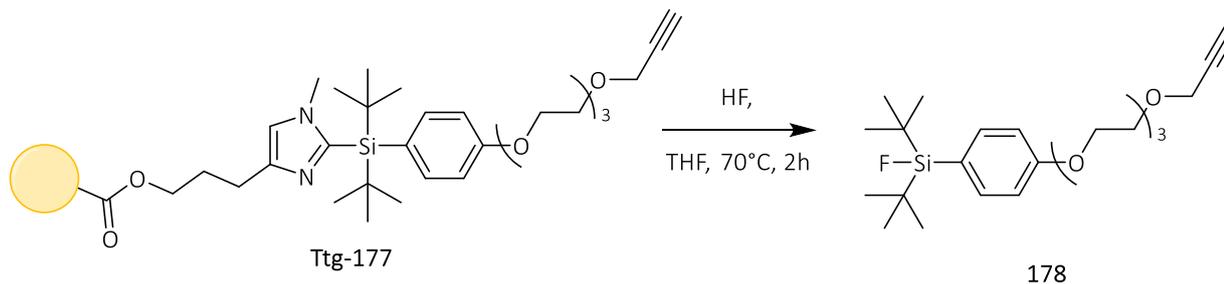


Schéma 105 - Tentative de greffage de la résine **175** sur une résine tentagel

Afin de valider le greffage de la plateforme sur la résine Tentagel<sup>®</sup>, un microclivage par fluoruration de **Ttg-177** a été réalisée à 70°C dans le THF pendant 2h avec de l'acide fluorohydrique aqueux (**Schéma 106**). La réaction étant testée sur une toute petite quantité de résine, l'ajout d'eau n'a pas permis de précipiter la résine et de filtrer les sous-produits. Une RMN  $^1\text{H}$  réalisée sur le mélange a montré la

présence du composé fluoré alcyne **178** désiré. Une RMN  $^{19}\text{F}$  a cependant montré la présence d'un deuxième composé fluoré dans le mélange.



**Schéma 106** - Réaction de micro-clivage permettant de déterminer si la plateforme a été greffée sur la résine

#### ❖ Analyse par RMN DOSY

Afin de savoir si la plateforme **167** a été greffée avec succès, une expérience RMN DOSY  $^1\text{H}$  a été réalisée par Zidane Mdarhri du CESAMO (**Fig. 18**). La RMN DOSY  $^1\text{H}$  est une expérience RMN en deux dimensions. En abscisse, le déplacement chimique RMN  $^1\text{H}$  des différents composés présents dans le mélange est affiché, et le coefficient de diffusion des différentes structures présentes dans le mélange est placé en ordonnée avec une échelle logarithmique. Pour obtenir un spectre DOSY, une série de mesures 1D ont été exécutées en faisant varier l'amplitude des impulsions et en gardant un délai de diffusion constant. L'intensité des spectres à chaque mesure pour chaque espèce s'atténue selon une courbe décroissante exponentielle dépendante du coefficient de diffusion. Après traitement informatique, les différents spectres ont donc permis d'obtenir les coefficients de diffusion pour chaque pic présent sur le spectre  $^1\text{H}$  en abscisse, afin de grouper les pics correspondants à chaque molécule.

De plus, plus le coefficient de diffusion de la molécule était faible et plus la molécule est grosse. Il est donc important que la masse molaire des molécules présentes dans le milieu soient très différentes pour que les coefficients de diffusion soient bien séparés lors d'une expérience DOSY.

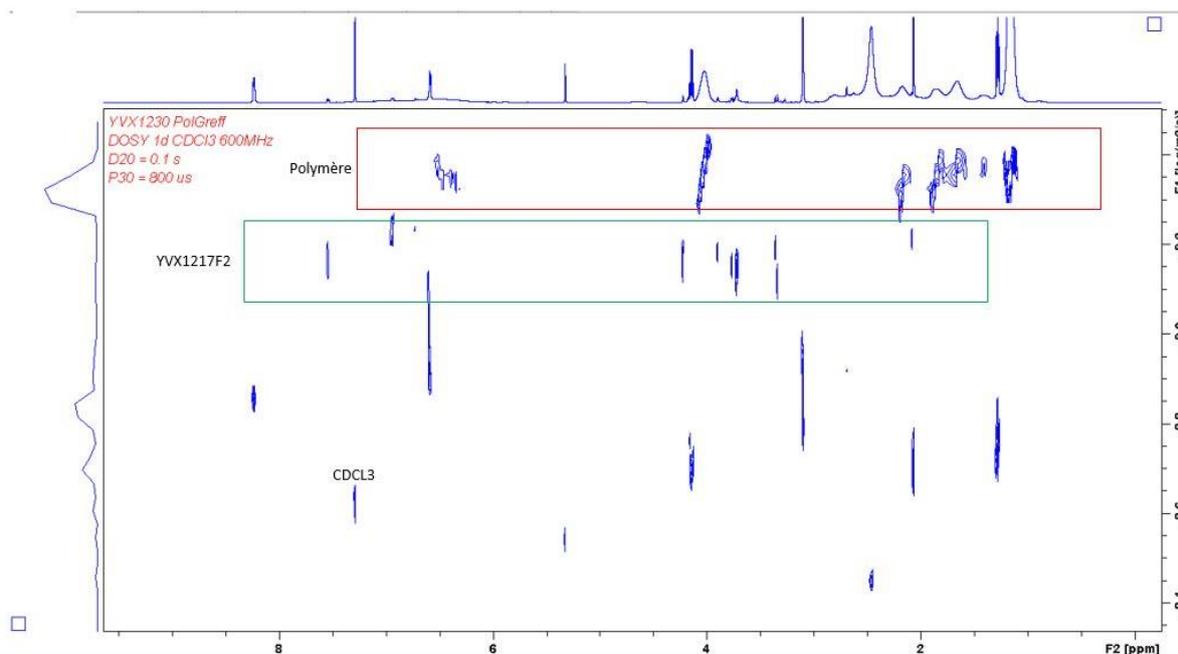


Figure 18 - Expérience DOSY pour évaluer le greffage de la plateforme 175 sur la résine tentagel

L'expérience DOSY a été effectuée dans le chloroforme deutéré dans lequel la plateforme 175 et la résine Tentagel® Ttg-177 sont toutes les deux solubles (Fig. 18). La masse molaire du polymère Tentagel® utilisé est d'environ  $2000 \text{ g.mol}^{-1}$ . La masse molaire de la plateforme 175 est de  $544 \text{ g.mol}^{-1}$ . Les deux composés ont donc des masses molaires très différentes. La seconde étape a donc consisté à vérifier que les composés possèdent des signaux caractéristiques ne se chevauchant pas. Une RMN  $^1\text{H}$  de chaque composé seul dans le milieu a donc été faite. Les pics présents dans le domaine aromatique correspondants au méthylimidazole et au phényle de la plateforme sont particulièrement intéressants car la résine Tentagel® ne possède aucun pic  $^1\text{H}$  dans ce domaine. L'absence de pics dans ce domaine avec le même coefficient de diffusion que la résine a donc permis de conclure que la plateforme 175 ne s'est pas greffée sur la résine mais s'est juste adsorbée ou liée de façon supramoléculaire.

## b. Greffage sur du polystyrène

### ❖ Greffage de la plateforme sur une résine polystyrène

La plateforme 175 a été greffée sur une résine polystyrène fonctionnalisée par des chlorures d'acyles capables de réagir avec la fonction alcool terminale. Afin de trouver les meilleures conditions pour ce greffage, différents solvants et différentes températures ont été testés en présence de deux bases : la *N,N*-Diméthylaminopyridine (DMAP) et la triéthylamine (Tableau 10). Les réactions ont été arrêtées en même temps après 3 jours lorsque la disparition de la plateforme 175 a été observée par

CCM pour les essais 3 et 4. Comme on a pu le voir dans le tableau suivant, le greffage réalisé avec le dichlorométhane et le chloroforme a donc été limité respectivement à 47% et 27% après déduction de la quantité de plateforme **175** récupérée après l'arrêt du greffage.

**Tableau 10** – *Essais de greffage*

Essai	Solvant	Base	T(°C)	Quantité de 167 récupérée (mg)
1	<i>Dichlorométhane</i>	Oui	30	8 mg (53%)
2	Chloroforme	Oui	60	4 mg (73%)
3	Toluène	Oui	110	0 mg
4	Pyridine	Non	110	0 mg

Suite à cela, une étape de micro-fluoration a été réalisée sur la résine **PS-179**, afin d'obtenir le composé **178** (**Tableau 11**). Une solution d'acide fluorhydrique à 0,1 mol.L<sup>-1</sup> a été utilisée dans du THF à 70°C pendant 2h. Les milieux réactionnels ont été filtrés et concentrés pour récupérer le composé **178** dans des proportions différentes. L'essai de greffage dans le toluène est celui qui a donné le meilleur résultat avec un rendement quantitatif sur les deux étapes.

**Tableau 11** - *Quantité de composé fluoré 178 récupérée par filtration après la séquence greffage/fluoration*

Essai	178	Rendement sur les 2 étapes
1	0,7 mg	33%
2	dégradation	0%
3	6 mg	Quantitatif
4	1,7 mg	59%

Finalement, les meilleures conditions pour greffer la plateforme **175** sur la résine ont donc été les conditions de l'essai 3, c'est-à-dire en utilisant 10 équivalents de NEt<sub>3</sub>, un équivalent de DMAP pour 5 équivalents de résine en suspension dans le toluène et en chauffant à 110°C pendant 3 jours. Il est à noter que la résine a ensuite été filtrée sur des frittés de porosité 4 et lavée avec du méthanol afin de "quencher" les chlorures d'acyles résiduels en fonction ester.

### ❖ Analyses pour évaluer le taux de greffage

Le polystyrène utilisé n'étant pas assez soluble dans le chloroforme ou d'autres solvants organiques. Il n'a donc pas été possible de réaliser une RMN DOSY  $^1\text{H}$  pour évaluer le taux de greffage de la plateforme sur la résine. Deux autres méthodes ont cependant été testées.

La première méthode testée pour analyser le taux de greffage de la résine a été inspirée de la publication de Gallop.<sup>124</sup> Dans ce cas, une résine polystyrène-Tentagel® a été utilisée pour greffer un benzaldéhyde sur une amine supportée, l'imine formée réagit avec un acide thioglycolique formant une 4-thiazolidinone par condensation. Cette réaction a été suivie par RMN  $^{13}\text{C}$  liquide car les composés ont été préalablement enrichis en carbone-13.

Dans notre cas, des essais de RMN liquide du silicium-29 ont été entrepris. En effet, le  $^{29}\text{Si}$  est un élément présent sur la plateforme mais absent de la résine. Le chloroforme deutéré a été utilisé car il permet de gonfler la résine. Cependant, après 24h d'acquisition, aucun pic de silicium n'a été observé, ne permettant pas de conclure sur le niveau de greffage de la plateforme sur la résine.

Dans une autre publication, les RMN  $^{13}\text{C}$  et RMN  $^{19}\text{F}$  du solide ont été réalisées sur du polystyrène, au fur et à mesure des cycles de réaction pour identifier l'éventuelle dégradation de cette résine.<sup>125</sup>

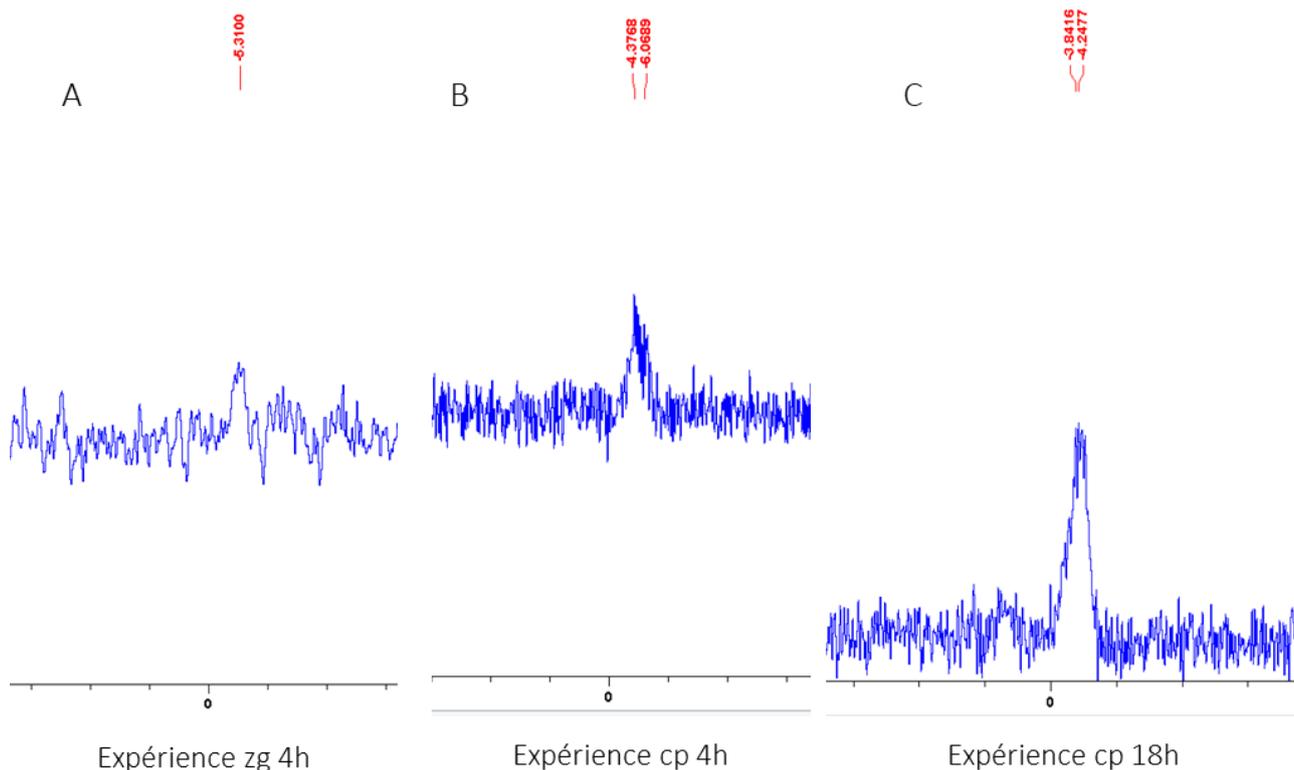
Différentes expériences de RMN du solide du silicium-29 ont donc été tentées par Cybille Rossy du CESAMO. La première expérience de RMN du solide effectuée sur le noyau  $^{29}\text{Si}$  a été une expérience *zg*. C'est l'expérience de base afin d'observer les noyaux de manière directe, en appliquant une impulsion électromagnétique qui permet de déséquilibrer les spins des électrons du  $^{29}\text{Si}$  et d'un délai D1 afin que l'élément revienne à son état d'équilibre. Le délai D1 est dépendant de chaque élément, et celui du  $^{29}\text{Si}$  est particulièrement long à cause de son temps de relaxation, ce qui augmente fortement les temps d'acquisition. Après 4h d'acquisition un pic de  $^{29}\text{Si}$  a commencé à apparaître mais celui-ci reste relativement faible (**Fig. 19-A**). Une seconde expérience a donc été testée avec une séquence *cp* par transfert d'aimantation. La plateforme étant constituée de deux *tert*-butyles présents sur le noyau  $^{29}\text{Si}$ , cela signifie qu'en  $^3J$  il y a 18 protons équivalents capables de réaliser un transfert d'aimantation au  $^{29}\text{Si}$ . Cette expérience est une méthode indirecte permettant d'observer les hétéroatomes moins sensibles qu'un noyau  $^1\text{H}$  tel que  $^{29}\text{Si}$ . La distance maximale pour faire un transfert d'aimantation entre les deux noyaux est de trois liaisons. A la fin de l'expérience, une étape

---

<sup>124</sup> Look G. C., Holmes C. P., Chinn J. P., Gallop M. A. Methods for Combinatorial Organic Synthesis: The Use of Fast  $^{13}\text{C}$  NMR Analysis for Gel Phase Reaction Monitoring, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 7588-7590.

<sup>125</sup> Kim D. W., Chi D. Y. Polymer-Supported Ionic Liquids: Imidazolium Salts as Catalysts for Nucleophilic Substitution Reactions Including Fluorinations, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 4, 483-485.

de découplage a été ajoutée pour simplifier le spectre en condensant les multiplets en singulet, ce qui permet d'augmenter la sensibilité car l'intensité de tous les multiplets a été concentrée sur un seul pic. La première expérience par transfert d'aimantation a été réalisée 4h (**Fig. 19-B**). On observe dans ce cas plus nettement la formation d'un pic. Cette technique a permis de réaliser plus d'enregistrements sur la même période de temps. Une seconde expérience a donc été réalisée pendant 18h et l'émergence d'un seul pic a été observée (**Fig. 19-C**). Cela a donc montré qu'il y a bien qu'un seul type de molécules contenant un  $^{29}\text{Si}$  dans la résine.



**Figure 19** - Expériences de RMN du solide  $^{29}\text{Si}$

Au vu du temps nécessaire pour réaliser ces RMN  $^{29}\text{Si}$  du solide, il n'a pas été possible d'ajouter un étalon pour évaluer la quantité de plateforme greffée sur la résine. De plus, pour évaluer de manière quantitative la présence d'un hétéroélément tel que le  $^{29}\text{Si}$ , il faut rajouter une séquence permettant de minimiser au maximum l'effet NOE. Pour le  $^{29}\text{Si}$ , l'intensité du signal est dépendant de son environnement chimique comme pour le  $^{13}\text{C}$ . L'intensité des pics est différente en fonction des protons présents autour, et il faudrait utiliser un  $^{29}\text{Si}$  possédant le même environnement chimique comme étalon. Cependant, lorsque l'on réalise l'acquisition d'un spectre RMN par transfert d'aimantation, il n'est pas possible de minimiser l'effet NOE car grâce à cet effet que l'acquisition est accomplie plus rapidement.

La RMN du liquide nous a donc permis de déduire qu'il n'y a pas de composés silylés en solution et que tous les noyaux  $^{29}\text{Si}$  sont supportés. De plus, la RMN du solide nous permet d'observer la présence d'un seul noyau  $^{29}\text{Si}$  au sein de la résine mais le taux de greffage n'a pas pu être évalué par cette méthode.

#### 4. Etape de bioconjugaison supportée

Une fois la plateforme Imid-SiFA greffée sur la résine, l'étape de bioconjugaison a été réalisée sur le support solide pour deux raisons. La première raison est que cela permet de moduler plus facilement la structure des radiotraceurs. La seconde raison est que les conditions identifiées comme étant les plus efficaces pour le greffage de la plateforme ne sont pas compatibles avec des structures biologiques complexes.

##### a. Optimisation de bioconjugaison en milieu homogène

Dans un premier temps, les différentes réactions d'optimisation ont été optimisées en milieu homogène, c'est-à-dire sur la plateforme non greffée. L'objectif a été d'identifier les conditions permettant un couplage par chimie "click" total, car une fois réalisée à partir du SiFA supporté, la présence de l'alcyne non "clické" pourrait former une impureté radioactive.

###### ❖ Préparation de la plateforme non supportée

Dans un premier temps, la plateforme **145** a été déprotégée dans un mélange méthanol et acide sulfurique à  $6,2 \text{ mol.L}^{-1}$  (Schéma 107). Le mélange a été chauffé pendant 24h à  $50^\circ\text{C}$ . Après purification, le composé déprotégé a été obtenu avec un rendement de 51%. Ensuite, la chaîne PEG **174** tosylée a été mise en présence du phénol libre avec du NaI et du  $^t\text{BuOK}$  dans le THF à température ambiante pendant 36h pour obtenir le composé **180** avec un rendement de 72%, celui-ci servant de composé modèle pour les essais de bioconjugaison.

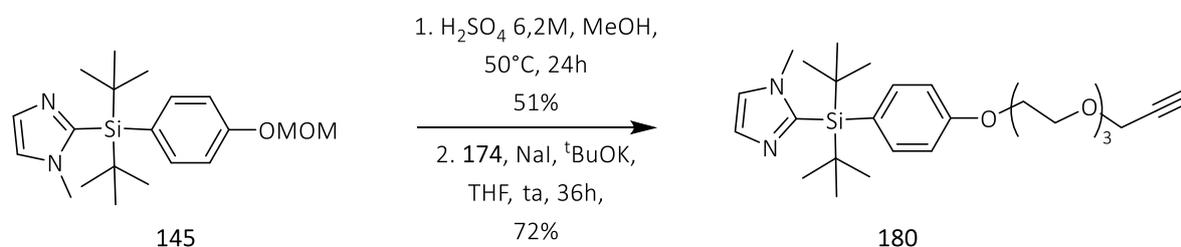


Schéma 107 - Préparation de la plateforme non supportée

❖ Différents essais de chimie "click" non supportée

Les réactions de chimie "click" ont été optimisées avec un azoture modèle : l'AZT. L'avantage principal d'effectuer les premiers essais en milieu homogène a été que le suivi de la réaction a été possible par RMN  $^1\text{H}$  en observant la disparition de l'alcyne **180** (Schéma 108).

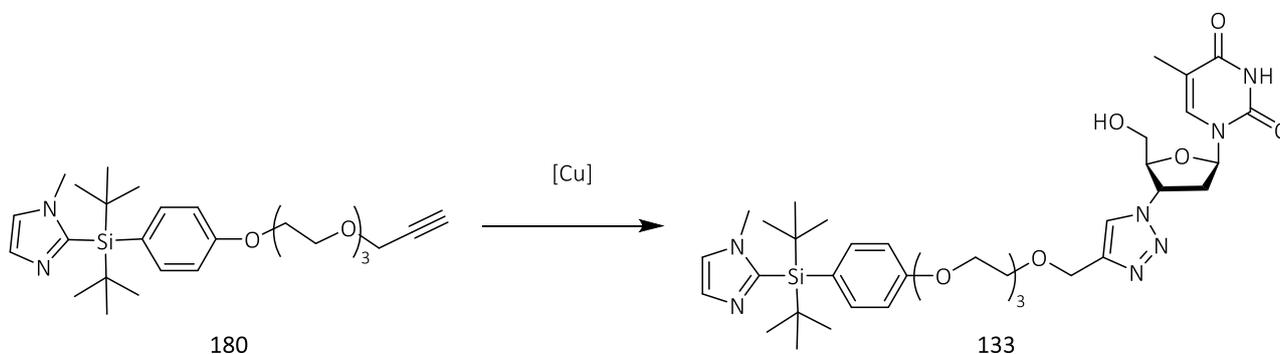


Schéma 108 - Réaction de CuAAC modèle permettant d'obtenir le composé **133**

De nombreuses conditions ont été testées, les premières étant les conditions initialement développées par Marion Tisseraud<sup>120</sup> lors de sa thèse. Comme on peut le constater, le taux de conversion de **180** en **133** a été alors uniquement de 45% (Tableau 12). Afin d'améliorer, ce taux de conversion, un complexe de cuivre (II) avec des ligands tris(benzyltriazolylméthyl)amine (TBTA) a été synthétisé par la méthode décrite dans la littérature.<sup>126</sup> Une nette augmentation du taux de conversion a alors été observée en utilisant ce complexe (en combinaison avec l'ascorbate de sodium pour réduire le Cu(II) en Cu(I)) en comparaison avec l'iodure de cuivre. Ce complexe a donc ensuite été utilisé pour mettre au point différents essais au micro-onde. Plusieurs températures ont été testées et il a été observé que la température augmentant, le temps de réaction nécessaire diminuait et le taux de conversion (déterminé par RMN  $^1\text{H}$ ) augmentait. En particulier, les deux essais à 150°C et 200°C (entrée 5 et 6, tableau 12) ont permis d'obtenir des conversions totales mais les rendements isolés après fluoration ont été uniquement de l'ordre de 18 à 20%, ce qui laisse supposer une dégradation des produits. Il est cependant intéressant de noter que le meilleur rendement isolé a été obtenu à 100°C (43%), ce qui laisse penser que la dégradation est limitée à cette température.

<sup>126</sup> Donnelly P. S., Zanatta S. D., Zammit S. C., White J. M., Williams S. J. 'Click' cycloaddition catalysts: copper(I) and copper(II) tris(triazolylmethyl)amine complexes, *Chem. Commun.*, **2008**, 2459–2461.

Tableau 12 – Optimisations des conditions de couplage pour la synthèse de 133

Essai	Conditions	Thermique ou Micro-onde	Conversion RMN de 131 par rapport à 171	Rendement
1	CuI, DIEA, DMF, 20h, 100°C	Thermique	45%	6%
2	[Cu(Cl(TBTA))]Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 20h, 100°C	Thermique	78%	10%
3	[Cu(Cl(TBTA))]Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 1h, 100°C	Micro-onde	57%	43%
4	[Cu(Cl(TBTA))]Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 30min, 120°C	Micro-onde	91-100%	6%
5	[Cu(Cl(TBTA))]Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 3min, 150°C	Micro-onde	100%	18%
6	[[Cu(Cl(TBTA))]Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 1min, 200°C	Micro-onde	100%	20%

### b. Optimisation de la réaction de bioconjugaison à partir de la plateforme Imid-SiFA supportée

Les essais ont ensuite été réalisés sur la résine PS-179 pour obtenir la plateforme PS-181 possédant un groupe AZT "clické" (Schéma 109).

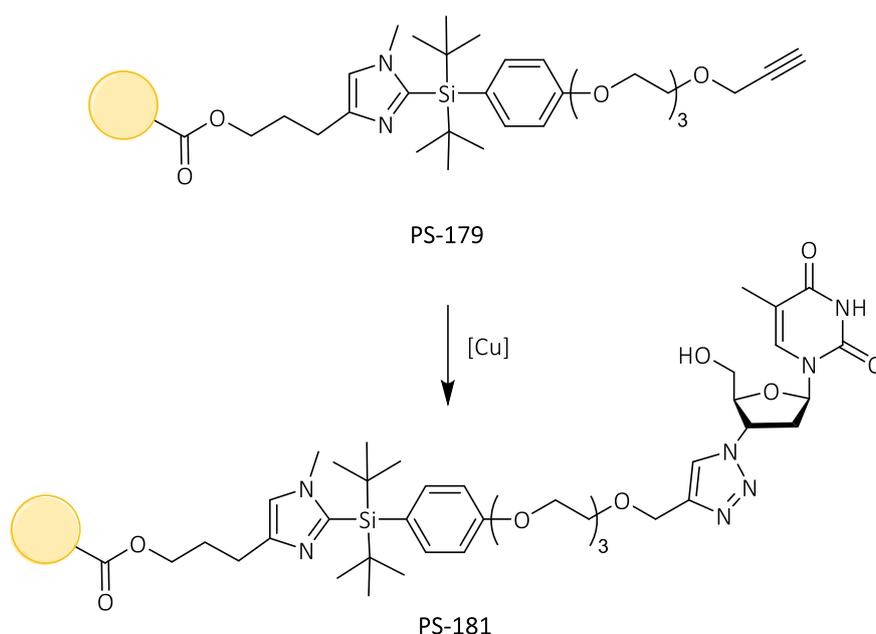


Schéma 109 - Réaction de CuAAC réalisée sur support solide

Les premiers essais ont été faits en condition thermique dans des tubes scellés (**Tableau 13**). Trois catalyseurs de cuivre ont été testés pour obtenir le composé **PS-181**. Afin de mesurer le taux de fonctionnalisation, un micro-clivage a été effectué dans les conditions décrites précédemment, c'est-à-dire avec une solution d'acide fluorhydrique à 0,1M et dans le THF à 70°C pendant 2h. Après purification, cela a ainsi permis de déterminer les quantités d'alcyne **178** et de composé "clické" **134** obtenues. Cependant, aucune des réactions réalisées en conditions thermiques n'ont permis d'obtenir uniquement le composé **134** (**Tableau 13**).

**Tableau 13** - Essais de CuAAC en conditions thermiques pour la synthèse de **134**

Essai	Conditions	Conversion RMN	Rendement 178	Rendement 134
1	CuI, DIEA, DMF, 20h, 100°C	70% d'AZT clické	21 %	30 %
2	CuI, TBTA, THF, 18h, 50°C	Dégradation du produit	-	-
3	CuBr(PPh <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , DMF, 18h, 50°C	0% d'AZT clické	100%	-
4	CuI, DIEA, TBTA, DMF, 18h, 100°C	60% d'AZT clické	17%	13%
5	[Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 20h, 100°C	Pas de produit récupéré	-	-

Suite aux différents essais sur la plateforme en milieu homogène, la réaction de couplage a donc été optimisée par un chauffage au micro-onde. Les deux premiers essais ont été mis au point en utilisant les conditions développées en homogène, qui ont montré le moins de dégradation, c'est-à-dire à 100°C (**Tableau 14**). Dans ce cas, il a été observé que le taux de conversion obtenu était similaire au taux de conversion observé en milieu homogène. La quantité d'AZT a donc été augmentée à 8 équivalents au lieu de 2 équivalents pour favoriser la réaction sans augmenter la température. Cela a permis d'obtenir un taux de conversion de 100% après 1h à 100°C au micro-onde et un rendement isolé de 54% de **134** sur les deux étapes.

**Tableau 14** - Conditions testées au micro-onde pour obtenir le polymère **PS-181**

Essai	Conditions	Nombre d'équivalent d'AZT utilisé	Conversion de 134 par rapport à 178 (RMN <sup>1</sup> H)
1	[Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 1h, 100°C	2 eq	80% d'AZT clické
2	[Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 1h, 100°C	<b>8 eq</b>	100% d'AZT clické

### c. Diversification des structures clickées

Une fois les conditions optimisées pour la réaction de CuAAC avec le composé modèle, différents composés ont également été "clickés" afin d'obtenir une bibliothèque de composés supportés.

#### ❖ Synthèse d'un précurseur supporté de dérivé d'oestradiol

L'azoture **182** dérivé d'oestradiol (Fig. 20) dont la synthèse a été décrite dans la thèse d'Alexis Tabey<sup>127</sup>, a ainsi été utilisé pour le couplage de chimie "click" avec le composé **PS-179** afin d'obtenir le précurseur supporté **PS-183** (Schéma 110). Comme précédemment, un micro-clivage pour obtenir le composé **184** a été fait avec une solution de HF à 0,1 M dans le THF afin de déterminer le taux de conversion du composé **PS-183**.

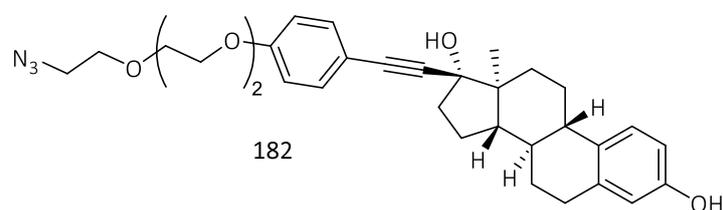


Figure 20 - Azoture **182**, dérivé d'oestradiol utilisé pour la réaction de chimie "click"

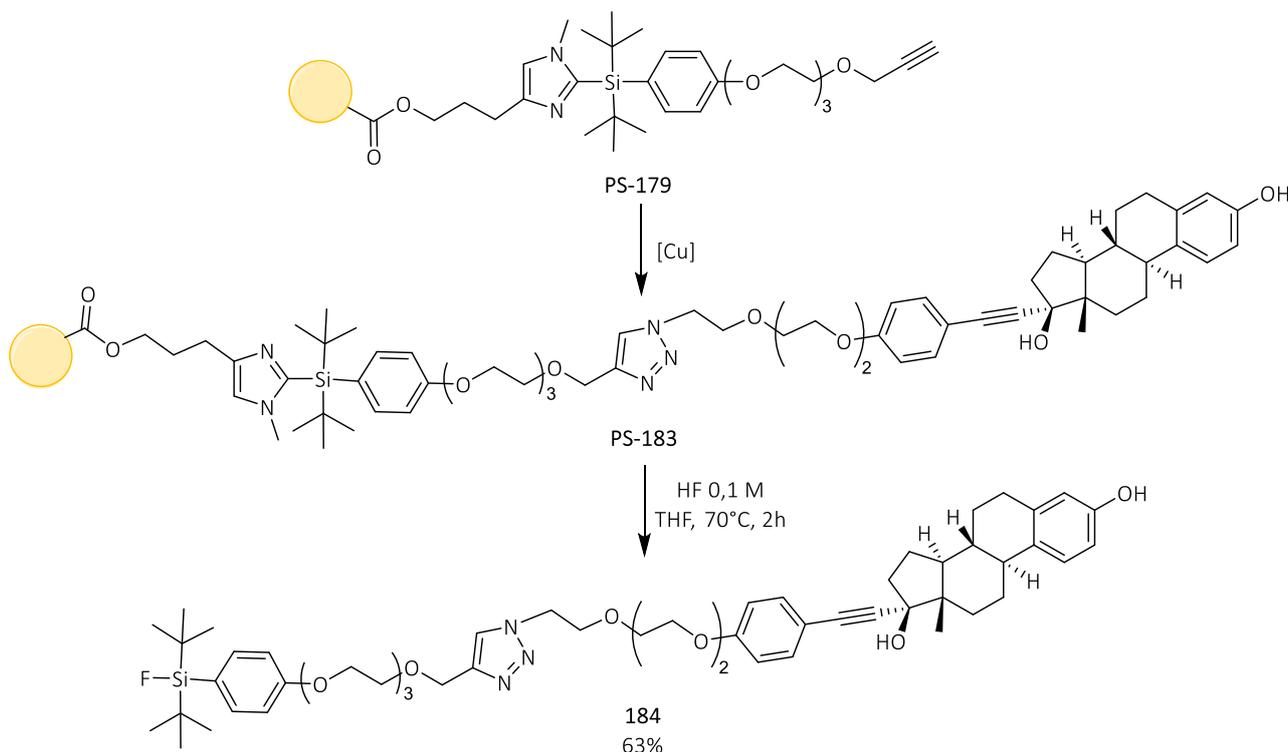


Schéma 110 - Synthèse par CuAAC puis fluoration du dérivé d'oestradiol **184**

<sup>127</sup> Alexis Tabey, Synthèse de nouveaux complexes aryl-palladium et aryl-or pour le marquage par du monoxyde de carbone de composés bioconjugués supportés et pour des réactions de couplages, 2019, Université de Bordeaux.

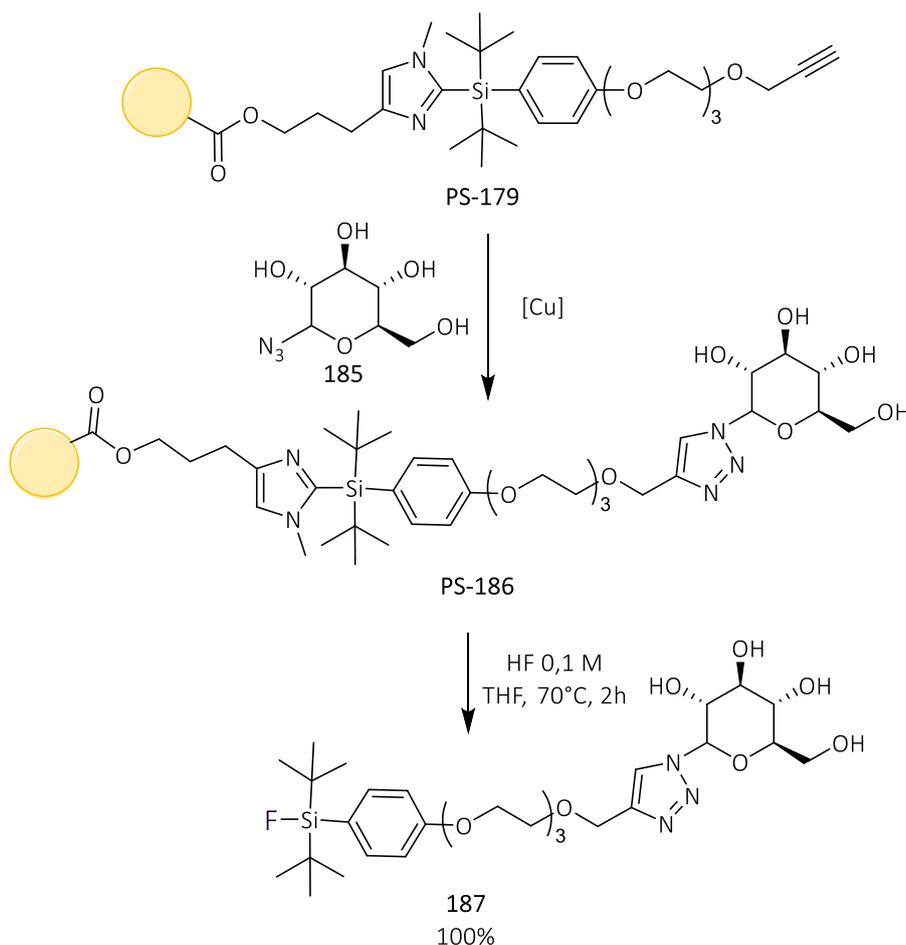
Deux essais ont été ainsi réalisés. Dans un premier temps, la quantité de **182** a légèrement été diminuée à 5,77 eq mais le taux de conversion n'a été que de 85% pour le dérivé d'œstradiol. Le nombre d'équivalent de **182** a donc été augmenté à 7 eq, ce qui a permis d'obtenir le composé **184** avec un taux de conversion de 100% et un rendement de 63% sur les deux étapes après fluoration.

**Tableau 15** - Conditions utilisées pour synthétiser le précurseur d'œstradiol **PS-183**

Essai	Conditions	Conversion RMN après fluoration
1	<b>174 (5,77 eq)</b> , [Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 1h, 100°C, $\mu$ -onde	85% de dérivé d'œstradiol 15% d'alcyne
2	<b>174 (7 eq)</b> , [Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 1h, 100°C, $\mu$ -onde	100% de dérivé d'œstradiol

#### ❖ Synthèse d'un précurseur supporté dérivé de glucose

Le dérivé de glucose supporté a été synthétisé à partir de **PS-179** et d'un glucose portant un azote en position 2 **185**, ce qui a conduit au précurseur supporté **PS-186** (Schéma 111).



**Schéma 111** - Synthèse d'un dérivé de glucose supporté

Dans un premier temps, les conditions optimisées au micro-onde ont été utilisées (**Tableau 16**). Avec ces conditions, le dérivé **187** n'a cependant pas été obtenu après fluoration. La réaction a donc été réalisée en conditions thermiques dans un tube scellé pendant 66h à 70°C. Dans ce cas, 100% de l'azoture dérivé de glucose **185** a été observé. Un second essai a été tenté en laissant la réaction réagir seulement 48h et le même résultat a été obtenu. Le rendement sur les deux étapes de couplage "click"/fluoration a été de 100% dans les conditions de l'essai 3.

**Tableau 16** – Essais pour synthétiser un précurseur supporté de dérivé de glucose

Essai	Conditions	Conversion RMN après fluoration
1	<b>185</b> (6,6 eq), [Cu(Cl)(TBTA)]Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 1h, 100°C, μ-onde	0% de dérivé de glucose 100% d'alcyne
2	<b>185</b> (8,9 eq), [Cu(Cl)(TBTA)]Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 66h, 70°C	100% de dérivé de glucose
3	<b>185</b> (8,9 eq), [Cu(Cl)(TBTA)]Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 48h, 70°C	100% de dérivé de glucose (100% de rdmt isolé de <b>187</b> )

#### ❖ Synthèse d'un précurseur supporté dérivé de la biotine

Un précurseur supporté dérivé de la biotine a été là encore synthétisé à partir de **PS-179** et d'un dérivé de biotine **188** portant un azoture *via* un espaceur, ce qui a permis d'obtenir le composé supporté **PS-189** (Schéma 112).

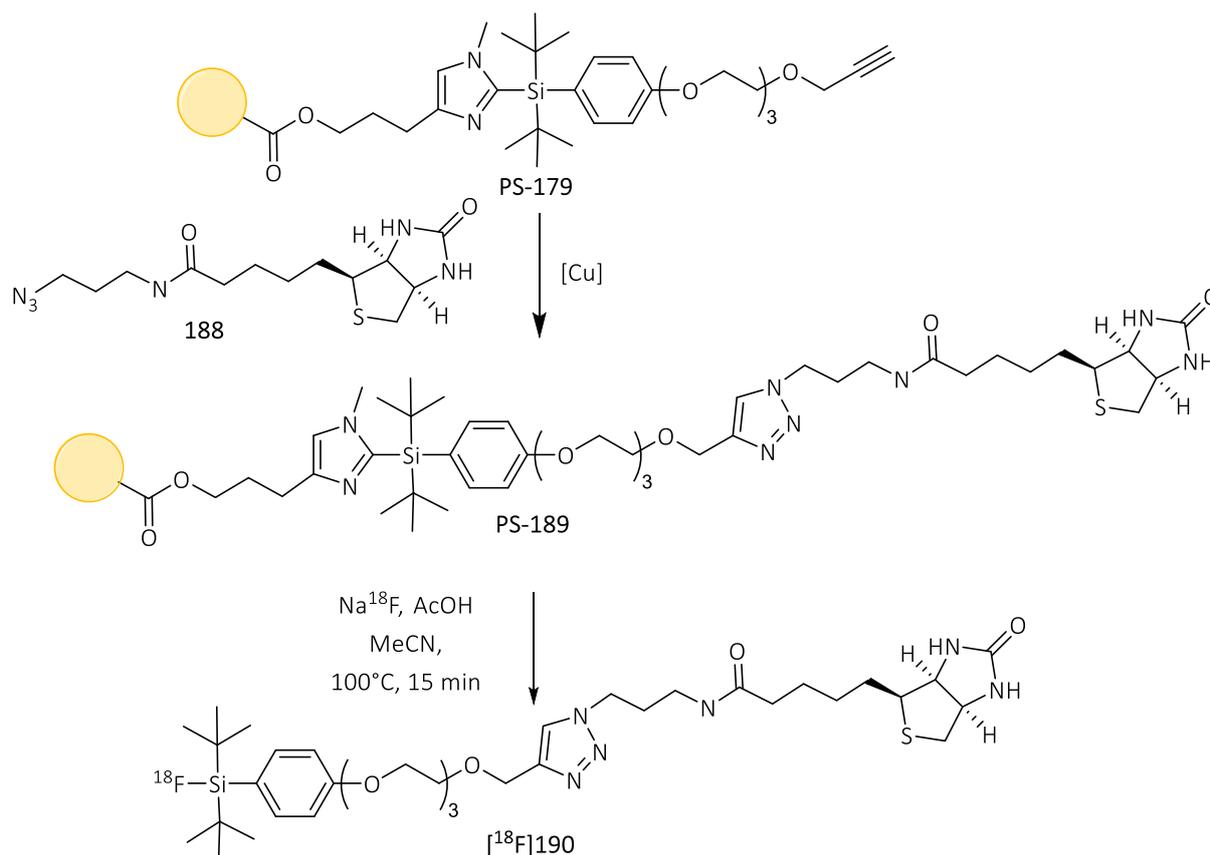


Schéma 112 - Synthèse d'un dérivé de biotine supporté

Comme pour le glucose, les conditions optimisées au micro-onde n'ont pas permis d'observer la réaction de chimie "click" avec le dérivé de biotine (Tableau 17). Le composé a donc été mis à réagir en conditions thermiques. Une conversion de 100% a été déterminée par micro-clivage et **190** a pu être isolé avec un rendement quantitatif pour les deux étapes après purification.

Tableau 17 - Essais pour synthétiser un précurseur supporté dérivé de la biotine

Essai	Conditions	Conversion après fluoration (déterminé par RMN $^1\text{H}$ )
1	<b>188</b> (7,2 eq), [Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 1h, 100°C, $\mu$ -onde	0% de dérivé de la biotine 100% d'alcyne
2	<b>188</b> (6 eq), [Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 66h, 70°C	100% de dérivé de la biotine
3	<b>188</b> (8,2 eq), [Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 48h, 70°C	100% de dérivé de la biotine

❖ Synthèse d'un précurseur supporté d'un dérivé de cRGD

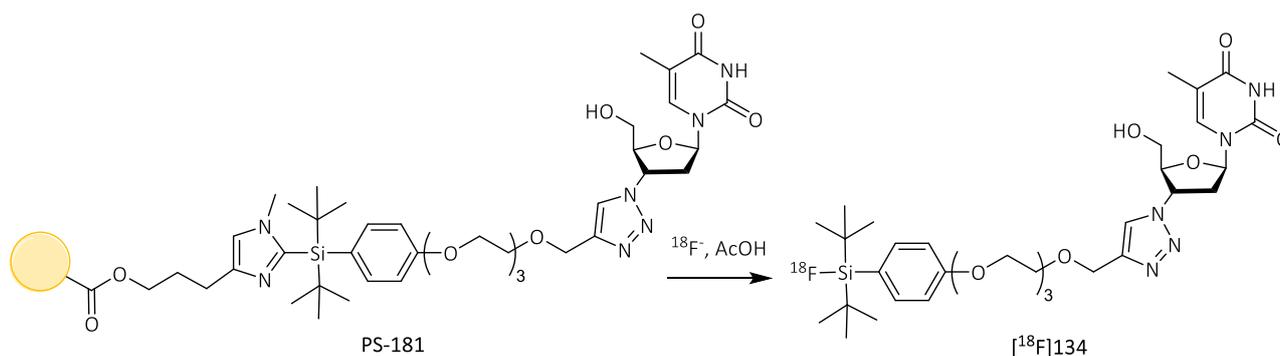
Les conditions mises au point pour les composés **PS-183**, **PS-186** et **PS-189** ont été utilisées avec un dérivé de cRGD portant un azoture mais aucune de ces conditions n'a permis d'obtenir le composé désiré. En effet, après chaque tentative, le composé **178** possédant un alcyne terminal a été récupéré exclusivement après fluoration des résines résultantes des tentatives de couplage par CuAAC.

Ces différents précurseurs supportés ont donc ensuite été engagés pour des radiomarquages avec le fluorure- $^{18}\text{F}$ .

### III. Optimisation de la Radiosynthèse

#### 1. Preuve de concept

Une synthèse supportée avait déjà été testée au cours de la thèse de Marion Tisseraud sur une plateforme **PS-181** en collaboration avec J. Schulz à Bordeaux (**Schéma 113**).<sup>120</sup>



**Schéma 113** - Radiomarquage testé lors de la thèse de Marion

Pour cette synthèse, il avait été décidé de faire un séchage azéotropique afin d'enlever l'eau du milieu réactionnel car le polystyrène utilisé pour supporter la résine avait tendance à se contracter en

**Tableau 18** - Paramètres utilisés pour la preuve de concept

Paramètres initiaux	
Quantité de matière	3-5 $\mu\text{mol}$
Masse de résine	15 mg de résine
Elution du fluor-18	$\text{K}_2\text{CO}_3/\text{K222}$
Solvant	THF
Séchage azéotropique	oui
Acide	HCl (10 eq)
Activité initiale	100 GBq
Température	100°C
Temps	30 min
RCC	1% (n=2)

présence d'eau. Cette première synthèse a été faite sur un module GE. Lors de la mise en place de la réaction, la résine a été placée dans un réacteur vers lequel le fluor-18 a été élué avec un mélange  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{K222}$  (le K222 était utilisé afin de mieux solubiliser le milieu après le séchage azéotropique et améliorer la nucléophilie du fluor-18).

Le module sur lequel a été testé cette réaction ne possédant qu'un seul réacteur, le séchage azéotropique a donc été fait au contact de la résine car il était impossible de charger la résine solide sans prendre le risque de boucher les tubulures. Le mélange d'acide chlorhydrique et de THF a été mis en contact avec la

résine déjà présente dans le réacteur et le fluor-18. La réaction a été chauffée à 100°C pendant 30 min (**Tableau 18**). Enfin, le milieu réactionnel a été analysé par HPLC et le radiochromatogramme a montré la présence du composé modèle  $[^{18}\text{F}]\mathbf{134}$  et de l'alcyne marqué  $[^{18}\text{F}]\mathbf{169}$  avec une conversion

radiochimique de 1% (n=2). Cette preuve de concept a donc montré qu'il était possible d'utiliser la plateforme supportée **PS-181** pour faire des radiomarquages au fluor-18.

## 2. Equipements utilisés et contraintes de la radiosynthèse

Les radiosynthèses effectuées au cours de cette thèse ont toutes été mises au point sur le site de Vitry-sur-Seine de Sanofi. Le site ne possédant pas de cyclotron, le fluor-18 est livré avant chaque expérience par le CEA. Le fluorure-18 est fabriqué par le bombardement d'eau lourde par des protons suivant la réaction nucléaire  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ . De façon générale, les lots produits correspondent à 20 GBq permettant ainsi d'effectuer les radiosynthèses avec 10 GBq en moyenne après le temps de transport du CEA. Afin d'éviter toute fuite de gaz radioactif, les hottes blindées se mettent automatiquement en dépression une fois fermées et l'air est extrait vers un sac de rétention. Des radiamètres permettent de suivre en temps réel l'éventuelle augmentation de l'activité dans le sac de rétention, ceci permettant ainsi de savoir si un gaz se forme au cours des réactions. Il est à noter qu'au cours de toutes les radiosynthèses réalisées pour ce projet aucun gaz radioactif n'a été détecté.



Figure 21 - Hotte blindée et module TRASIS

Les radiosynthèses sont entièrement automatisées sur des modules All-In-One développés par TRASIS. Ces modules permettent d'utiliser des cassettes modulables sur demande en fonction des besoins de l'expérience. Les différents programmes ont donc tous été adaptés à chaque expérience afin d'obtenir la séquence finale la plus optimisée. Sur ces modules, il est possible de contrôler à la fois la température des deux réacteurs, ainsi que la pression d'azote et le vide dans toute la cassette. De plus, un chauffe-cartouche est intégré. Il est également possible d'utiliser jusqu'à 5 seringues de

chargement/déchargement. Plusieurs radiamètres sont placés à des endroits stratégiques et déplaçables si besoin. De plus, un module de purification est intégré aux hottes blindées, permettant d'installer deux colonnes semi-préparatives en parallèles. La boucle d'injection des HPLC contient un volume maximal de 9mL.

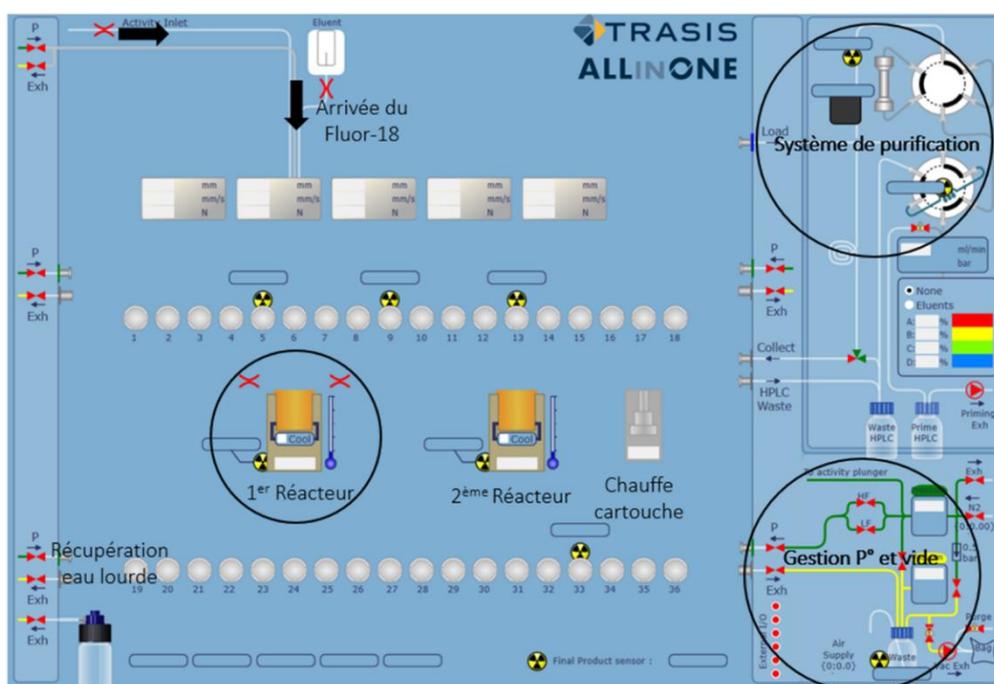


Figure 22 - Ecran de contrôle du module Trasis All-In-One

L'activité du fluorure-18 est mesurée en amont de la réaction dans des capintec<sup>TM</sup> présentes en dehors de la hotte blindée. Grâce à une logette externe, le fluor-18 toujours contenu dans l'eau lourde, est introduit dans la hotte blindée puis prélevé par une seringue de 20 mL. Son arrivée est observée par les radiamètres présents autour de la seringue de réception et par les caméras filmant l'intérieur de la hotte blindée. Toutes les cartouches QMA utilisées sont des cartouches QMA plus light (Waters). A la fin de la réaction, les produits récupérés sont ensuite analysés par HPLC possédant un détecteur UV et un détecteur de radioactivité.

### 3. La synthèse en Batch

Dans un premier temps, les précurseurs supportés ont été fluorés *via* une synthèse en "batch", c'est-à-dire que la résine est placée dans le réacteur 1 en suspension dans le solvant. Le précurseur utilisé a tout d'abord été le précurseur modèle **PS-181** avec un dérivé de l'AZT. Dans ces premiers essais, les lots de **PS-181** ayant seulement environ 80% de conversion pour l'étape de bioconjugaison ont été utilisés ce qui implique la présence du composé secondaire [ $^{18}\text{F}$ ]178 constitué d'un fluor-18 et d'un

alcyne terminal. Les rendements radiochimiques et les rendements d'activités ont été calculés dans ce cas en prenant le produit  $[^{18}\text{F}]\mathbf{178}$  en compte afin de déterminer l'efficacité globale de la réaction de fluoruration.

### a. Preuve de concept de la synthèse directe supportée

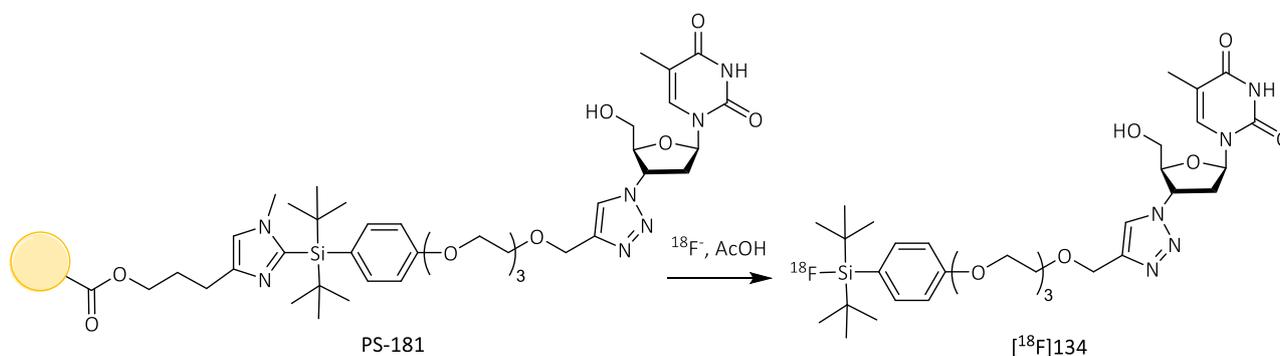


Schéma 114 - Réaction de radiofluoruration présentée dans cette partie

#### ❖ Essai de séchage azéotrope en double réacteur

Suite à la preuve de concept, une des hypothèses concernant la faible conversion radiochimique a été que l'étape de séchage azéotrope du fluor dans le réacteur contenant déjà la résine avait potentiellement dégradé les précurseurs greffés sur la résine.

Le système utilisé possédant maintenant deux réacteurs, il était possible de séparer les deux en effectuant le séchage azéotrope dans le réacteur 2 et en réalisant la radiofluoruration dans le réacteur 1 dans lequel la résine et l'acide ont déjà été placés.

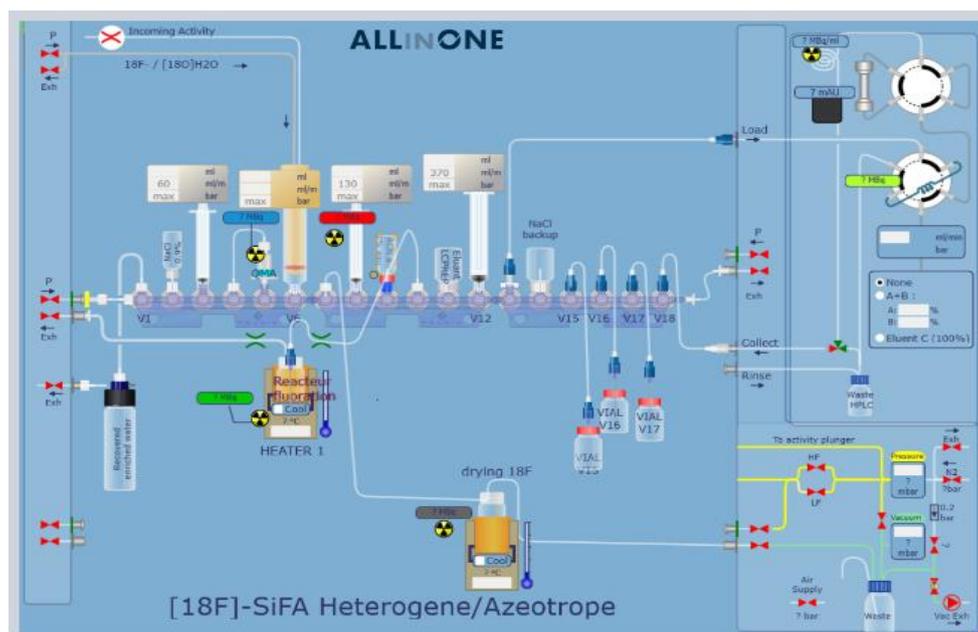


Figure 23 – “Layout” utilisé pour la séquence séchage azéotropique/ fluoration supportée en réacteurs séparés

Le fluor-18 a été élué vers le réacteur 2 afin de réaliser le séchage azéotropique. Cependant, le  $\text{Na}[^{18}\text{F}]$  obtenu n’a pu être solubilisé dans l’acétonitrile préparé. Un mélange d’acétonitrile contenant 1% d’eau a donc finalement été utilisé pour élué partiellement le sel vers le réacteur (YVX1.245). La réaction a ensuite été chauffée à  $100^\circ\text{C}$  pendant 15 min. Le contenu du réacteur a ensuite été analysé par HPLC et la présence du composé  $[^{18}\text{F}]\mathbf{134}$  désiré a été observée. Cela a donc montré que la présence d’une faible quantité d’eau n’était pas rédhibitoire pour la réaction de  $^{18}\text{F}$ -fluoration.

Suite à cela, une deuxième réaction a été testée et, le fluor-18 a été élué cette fois avec de l’acétonitrile contenant 5% d’eau (YVX1.246). Après purification par HPLC, le composé  $[^{18}\text{F}]\mathbf{134}$  a été obtenu avec un rendement radiochimique de 11% corrigé à partir de l’activité arrivée dans le réacteur 1 après le séchage azéotropique. Cependant, à cause du séchage azéotropique, la durée totale de la réaction a été de 70 min. Afin d’enlever cette étape et pour continuer à contrôler le volume d’eau présent dans l’acétonitrile, il a été décidé d’élué directement le fluorure-18 piégé sur la cartouche QMA avec le volume minimal de solution saline ( $300\mu\text{L}$ ).

#### ❖ Essai sans séchage azéotropique

Un premier essai de radiofluoration de la résine **PS-172** a donc été tenté sans séchage azéotropique, dans les conditions utilisées lors des radiofluorations mise en point sur la plateforme non supportée **133**. Ainsi, la cartouche de QMA a été éluée avec une solution saline à 0,9% vers le réacteur contenant au préalable la résine, l’acide acétique et le THF pour obtenir un mélange final eau/THF (50/50). Ce

mélange a ensuite été chauffé à  $100^\circ\text{C}$  pendant 15 min. Malheureusement, cet essai n'a pas permis d'obtenir le composé radiomarqué désiré.

Il a été supposé que le pourcentage d'eau était trop important. Un second essai avec 15% d'eau (YVX1.247), a alors été réalisé en utilisant un volume de  $300\mu\text{L}$  de solution saline à 0,9%, et 2,7 mL l'acétonitrile contenant l'acide acétique et la résine. La réaction a été chauffée à  $100^\circ\text{C}$  pendant 15 min et le composé souhaité a été obtenu mais n'a pas pu être collecté suite à un problème technique. Cependant, ce résultat a validé l'idée d'effectuer la radiosynthèse en utilisant un mélange acétonitrile/eau (85/15).

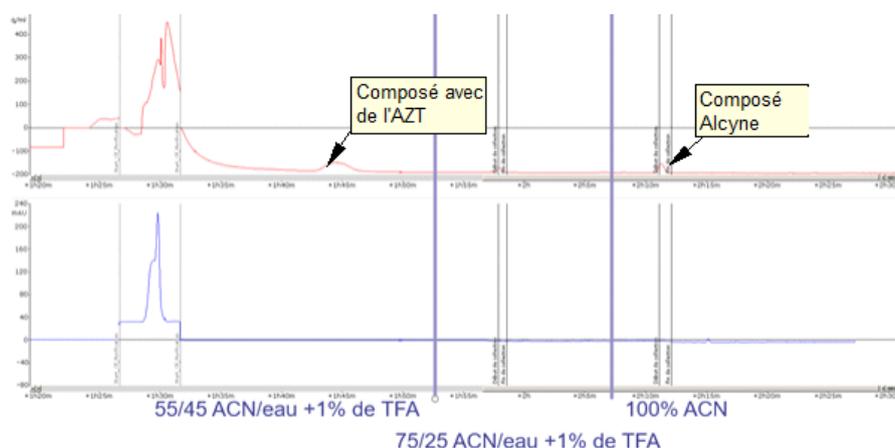


Figure 24 - Chromatogrammes de la purification par HPLC Semi-préparative

### b. Mise en place d'une séquence de marquage direct robuste et reproductible en batch

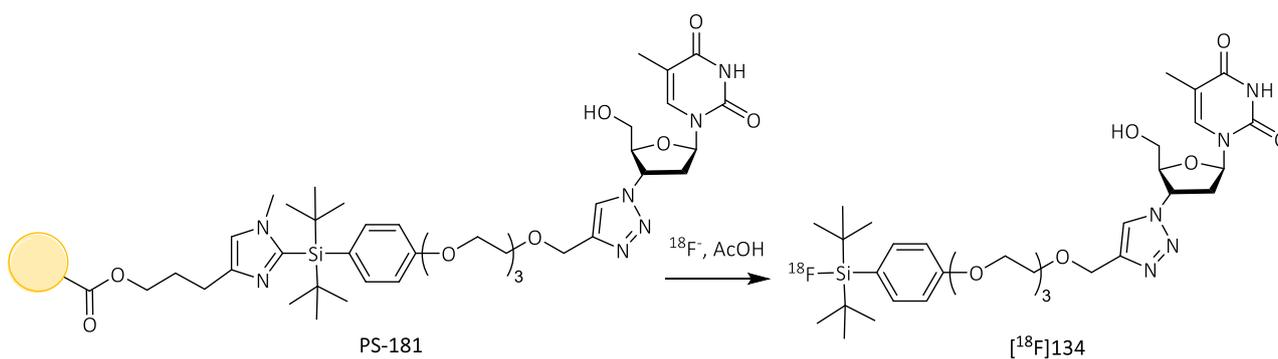


Schéma 115 - Réaction de radiofluoruration présentée dans cette partie

Dans les différents essais effectués, la résine portant le précurseur a été introduite avec l'acétonitrile et l'acide acétique dans le réacteur 1 en amont, et le fluor-18 a été directement élué de la QMA vers le réacteur avec une solution saline à 0,9%.

#### ❖ Mise en place de la méthode de purification

Dans un premier temps, il a été décidé d'optimiser la purification en se passant de l'HPLC semi-préparative. Cela correspondant à l'objectif principal de mise sur support solide, c'est-à-dire de faciliter l'étape de purification du radiotracer. En effet, la purification à l'aide d'un module semi-préparatif pose plusieurs problèmes :

- la préparation de la boucle d'injection ainsi que l'élution prend beaucoup plus de temps qu'une filtration,
- les conditions de purification doivent être déterminées en amont sur des HPLC analytiques, et il est possible qu'il y ait un écart entre les conditions définies en amont et leurs applications sur le module semi-préparatif,
- le volume dans lequel est récupéré le radiotracer est souvent très important et les solvants utilisés ne sont pas forcément biocompatibles, impliquant l'ajout d'une étape de formulation indispensable pour reconcentrer le produit obtenu et solubiliser le radiotracer dans un solvant injectable,
- la collecte de l'HPLC semi-préparative n'est généralement pas automatisée.

De plus, tant que l'étape de purification n'a pas été entièrement optimisée, les rendements radiochimiques obtenus sont alors sous- ou surestimés. En dehors de l'HPLC semi-préparative que l'on souhaite éviter, deux types de cartouches SPE seront évaluées les cartouches QMA et les cartouches C18.

Le "layout" a donc de nouveau été modifié afin d'ajouter les cartouches SPE dans le circuit pour purifier le composé désiré par dilution avec  $\text{H}_2\text{O}$  du milieu réactionnel si nécessaire et transfert sur la cartouche pour éliminer le  $^{18}\text{F}$ -excédentaire par filtration.

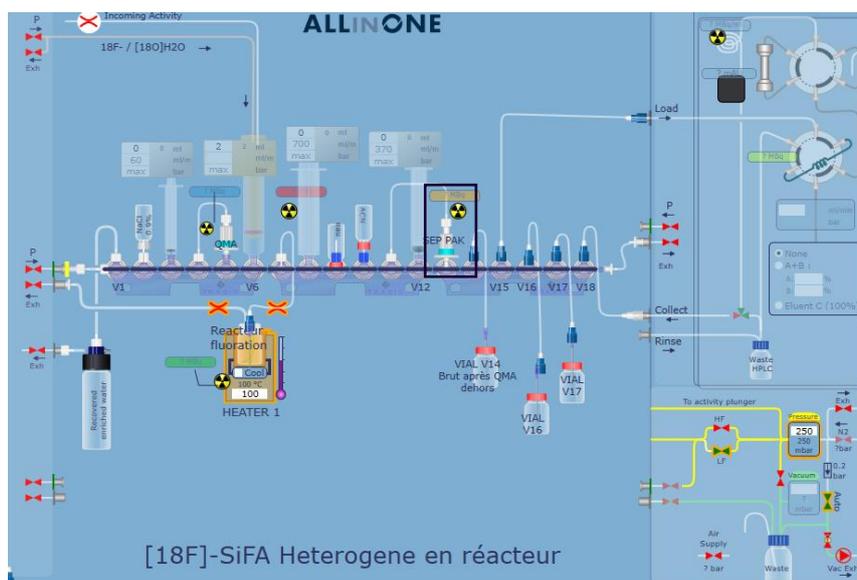
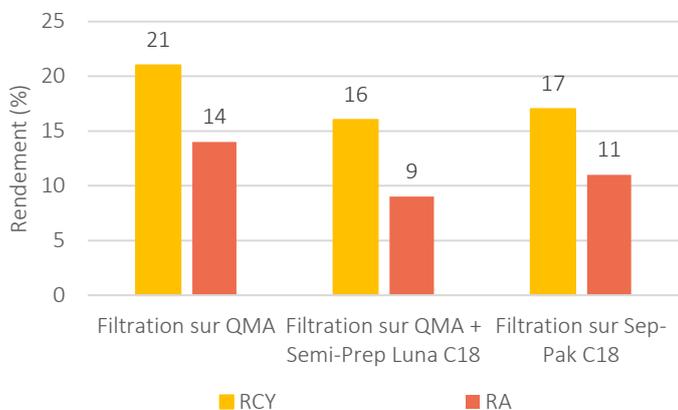


Figure 25 - "Layout" utilisé pour purifier le milieu réactionnel à l'aide d'une cartouche SPE

En effet, comme le précurseur est supporté, la seule impureté liquide théorique à enlever est le fluorure-18 qui n'a pas eu le temps de réagir pendant la réaction. Dans un premier essai, le milieu



réactionnel a donc été prélevé entièrement afin de le faire passer sur une cartouche QMA (YVX1.249) sur laquelle s'est fixée le fluorure-18 résiduel (Fig. 26). Cependant, après analyse du filtrat, la présence de nombreuses impuretés radioactives a été observée dans le mélange. La RCY mesurée après la filtration sur QMA a été déterminée à 21% avec une pureté radiochimique de 85%. Afin d'augmenter la RCP, le produit a été

Figure 26 - Différentes méthodes de purification

purifié une seconde fois par purification par HPLC semi-préparative permettant d'obtenir un RCP de 100%. Cependant, à l'issue de cette étape de purification, le rendement radiochimique a diminué de 5%. Enfin la purification par la filtration sur Sep-pak a permis d'obtenir une meilleure RCP (89%) et uniquement un produit non "clické" [<sup>18</sup>F]178. De façon intéressante, une fois que la résine utilisant 100% de composé "clické" a été employée, la pureté radiochimique mesurée a atteint 100%. Il est à noter que dans ce cas, une seconde élution de la résine par de l'acétonitrile a été nécessaire pour obtenir le produit désiré. Concernant les temps de synthèse, la purification par cartouche de QMA a été terminée au bout de 34 min, tandis que l'ajout d'une étape de purification par HPLC allonge la synthèse à 74 min. Après automatisation complète, la synthèse a duré uniquement 40 min (YVX1.276) ce qui est relativement avantageux en terme de gain d'activité.

Tableau 20 – Différentes méthodes de purification

Expérience	Conditions de purification	% de composé clické	Durée totale de réaction	Pureté	RCY
YVX1.249	QMA	80%	34 min	85%	21%
YVX1.249	QMA + HPLC sur Luna C18	80%	108 min	100%	14%
YVX1.250	Petite Sep-pak C18 (0,7 mL)	80%	72 min	89%	17%
YVX1.276	Grande Sep-pak C18 (1,6 mL)	100%	40 min	100%	15%

Les conditions de synthèses optimisées nécessitent donc l'utilisation d'une grande cartouche Sep-pak C18 (1,6 mL). Par la suite, tous les rendements radiochimiques ont été calculés après isolement du produit radiomarqué désiré après cette étape de purification sur grande cartouche Seppak C18.

#### ❖ Etude des différents paramètres

Suite au développement d'une méthode de purification rapide et efficace, les différents paramètres de la réaction ont été étudiés : le temps, la température, la quantité d'acide, la quantité de matière de la plateforme supportée et le solvant utilisé. Il est à noter que la résine de départ utilisée pour les essais était également celle "clickée" avec une conversion de seulement 80%.

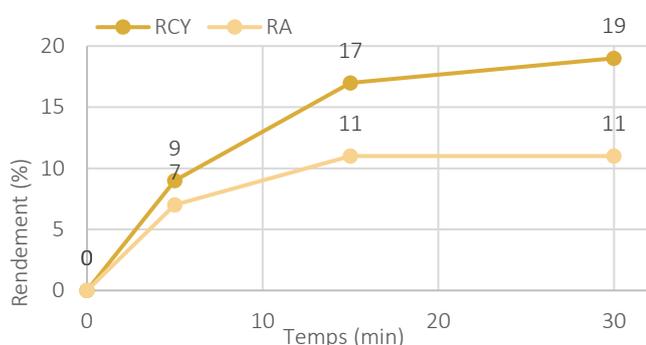


Figure 27 - Impact du temps

Deux températures ont ensuite été testées 50°C et 100°C (Fig. 28). Dans ce cas, une différence de 12% entre les deux RCY a été observée prouvant l'importance du chauffage. Cependant, dans l'hypothèse de marquage d'une structure biologique fragile, il pourrait être plus intéressant de chauffer 5 min à 100°C (RCY : 9%) que de chauffer 15 min à 50°C (RCY : 5%).

Tout d'abord, la radiosynthèse a été effectuée en utilisant trois temps de synthèse différents (5 min, 15 min, 30 min) (Fig. 27). Une réelle augmentation du RCY entre 5 et 15 min a été constatée (RCY doublé). Cependant, augmenter le temps de la radiosynthèse à 30 min a peu amélioré le RCY rendant le rendement d'activité identique. Le temps de radiosynthèse optimal employé par la suite était donc de 15 min.

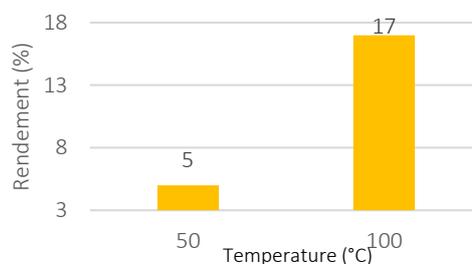
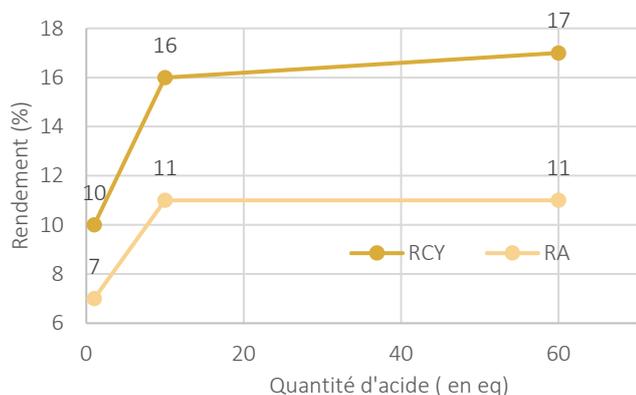


Figure 28 – Impact de la Température

L'impact de la quantité d'acide a également été évalué (**Fig. 29**). Les premiers essais ont été réalisés avec 60 eq d'acide acétique. En comparant avec seulement 10 eq d'acide acétique, on observe que la diminution de la quantité d'acide a peu d'impact. Un autre essai a également été tenté avec une résine pré-protonnée. Dans ce cas, la résine a été mélangée en amont avec 60 eq d'acide acétique dans l'acétonitrile pendant 2h à température ambiante, puis elle a été filtrée, lavée avec de

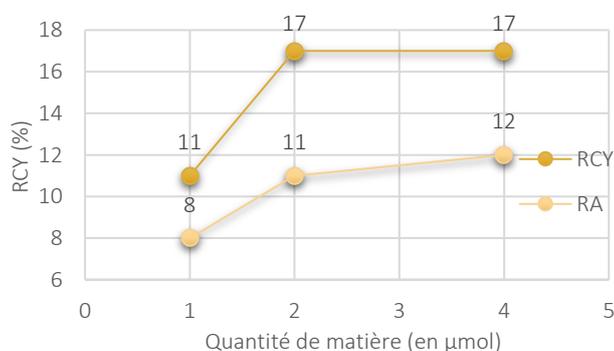


**Figure 29** – Impact de la quantité d'acide

l'acétonitrile et séchée avant la radiosynthèse. Lors de la radiosynthèse, la résine a été mise en suspension uniquement dans de l'acétonitrile pur, et un rendement radiochimique de 10% a été obtenu dans ce cas. Le rendement radiochimique de la radiosynthèse a donc légèrement diminué, mais cette expérience démontre qu'il est possible de pré-protonner la résine. Ce protocole peut être intéressant dans

le cas où la biomolécule serait sensible à l'acide acétique dans des conditions de température élevée.

Suite à cela, différentes quantités du précurseur supporté ont été testées (**Fig. 30**). Dans les essais précédents, 5 mg de résine ont été utilisés pour mettre au point les radiosynthèses, ce qui correspond



**Figure 30** – Impact de la quantité de matière

à 2 µmol de précurseur d'après la charge de la résine. La quantité de résine a ensuite été doublée à 10 mg (4 µmol de précurseur) et diminuée à 2,5 mg (1 µmol). Comme on peut le constater, lorsque la quantité de matière de précurseur était de 4 µmol, le rendement radiochimique était le même que pour 2 µmol, mais il a été observé qu'il y avait plus d'activité résiduelle dans le réacteur et la

pureté radiochimique a diminué à 71% dans ce cas. De plus, baisser la quantité de précurseur à 1 µmol a diminué le rendement radiochimique. La quantité de matière optimale utilisée pour les essais suivants a été de 2 µmol soit 5 mg de résine.

Enfin, le dernier paramètre évalué a été l'impact du solvant (**Fig. 31**). En effet, toutes les radiofluorations présentées dans la thèse de Marion Tisseraud ont été mise au point en homogène dans un mélange THF/eau (50/50), tandis que toutes les réactions ici ont été présentées avec un mélange acétonitrile/eau (85/15).<sup>120</sup> Un nouvel essai a donc été testé dans un mélange THF/eau (85/15), mais le rendement radiochimique a chuté de moitié avec ce mélange, démontrant ainsi que la fluoration est moins efficace dans le THF que dans l'acétonitrile.

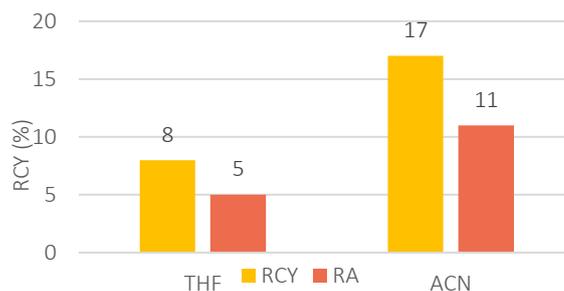


Figure 31 – Impact du solvant

Tableau 21 - Récapitulatif des réactions présentées dans cette partie

	YVX1.250	YVX1.251	YVX1.255	YVX1.256
Temps	15 min	30 min	15 min	15 min
Température	100°C	100°C	100°C	100°C
Quantité d'AcOH	60 eq	60 eq	60 eq	10 eq
Quantité de matière	5 mg (2,04 µmol)	5 mg (2,04 µmol)	10 mg (4,08 µmol)	5 mg (2,04 µmol)
Solvant	MeCN/eau (85/15)	MeCN/eau (85/15)	MeCN/eau (85/15)	MeCN/eau (85/15)
Rendement	17% dc (11% ndc)	19% dc (12% ndc)	14% dc (11% ndc)	16% dc (11% ndc)
Activité récupérée	755 MBq	940 MBq	880 MBq	1254 MBq

	YVX1.258	YVX1.260	YVX1.273	YVX1.275	YVX1.286
Temps	15 min	15 min	5 min	15 min	15 min
Température	100°C	100°C	100°C	50°C	100°C
Quantité d'AcOH	10 eq	10 eq	10 eq	10 eq	Pré-protonnée
Quantité de matière	5 mg (2,04 µmol)	2,5 mg (2,04 µmol)	5 mg (2,04 µmol)	5 mg (2,04 µmol)	5 mg (2,04 µmol)
Solvant	THF/eau (85/15)	MeCN/eau (85/15)	MeCN/eau (85/15)	MeCN/eau (85/15)	MeCN/eau (85/15)
Rendement	8% dc (5% ndc)	14% dc (11% ndc)	9% dc (7% ndc)	5% dc (4% ndc)	10% dc (7% ndc)
Activité récupérée	452 MBq	880 MBq	710 MBq	379 MBq	601 MBq

Les paramètres optimisés utilisés sont donc 5 mg de précurseur supporté **PS-181** (soit 2 µmol) avec une quantité d'acide acétique de 10 équivalents, à 100°C pendant 15 min dans un mélange eau/acétonitrile (15/85).

#### ❖ Ajout d'une étape de formulation

Le produit radiomarqué a été obtenu en solution dans l'acétonitrile. Avant d'envisager toute application biologique, il a donc fallu pouvoir le solubiliser dans un solvant biocompatible. Un protocole a donc été mis en place pour montrer qu'il était possible de formuler facilement le

composé  $^{18}\text{F}$ 134 après la radiosynthèse. Pour cela, lors de l'élution de la cartouche C18, l'acétonitrile contenant le composé a directement été transféré vers un vial d'eau. Une fois la totalité de l'acétonitrile élué dans le vial, un mélange eau/acétonitrile avec 88% d'eau a été obtenu. Le  $^{18}\text{F}$ 134 a ensuite été piégé par filtration sous vide (à -500 mbar) sur deux cartouches HLB positionnées l'une sur l'autre. Le résidu a ensuite été élué sous vide avec de l'éthanol (2 mL) vers un vial dans la logette de sortie. Cette étape de formulation permet de concentrer le radiotracer et de le mettre dans un solvant compatible avec le vivant. Il est à noter que l'élution directe de la cartouche Sep-pak C18 avec de l'éthanol a également été tentée, mais les différents essais ont conduit à une augmentation forte des impuretés radiomarquées dans le produit final.

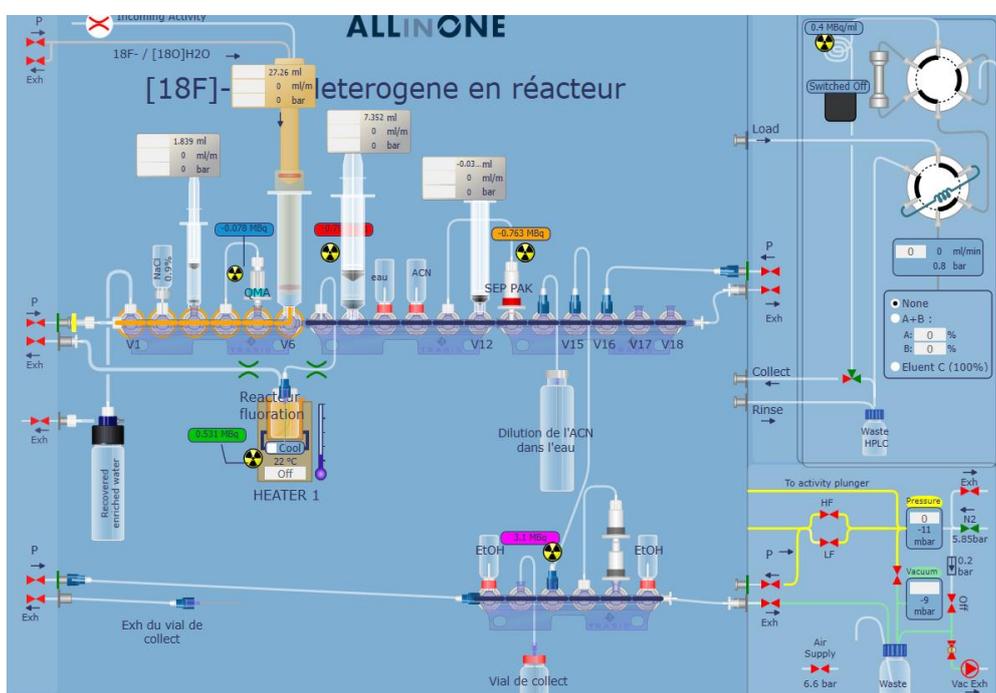


Figure 32 - "Layout" de la radiofluorination/formulation

Cette radiosynthèse a été reproduite quatre fois avec un précurseur **PS-181** avec 100% de bioconjugaison, permettant ainsi d'obtenir un rendement radiochimique moyen de  $12 \pm 3\%$  ( $n = 4$ ) avant formulation et de  $7 \pm 2\%$  ( $n = 4$ ) après formulation (RCP moyen de 97%) (Fig. 33). En comparant le rendement radiochimique avant et après l'étape de formulation, un écart de 5% a été observé. Il y avait donc des pertes, mais la quantité d'activité finale est restée suffisante pour potentiellement réaliser des injections *in vivo*. Il est à noter que l'étape de formulation prend entre 10 et 20 min s'additionnant aux 40 min nécessaires pour la radiosynthèse. L'équipe d'imagerie diluera par la suite le radiotracer dans une solution isotonique afin d'obtenir une solution injectable pour le petit animal.

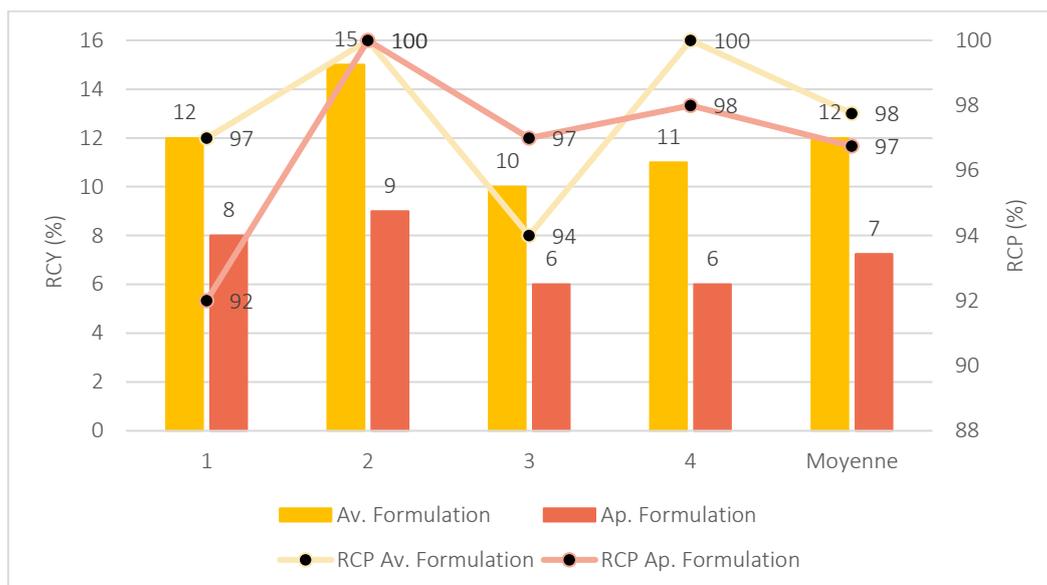


Figure 33 - RCY et RCP des radiosynthèses avec l'étape de formulation

### c. Comparaison avec une synthèse indirecte en batch

Dans un objectif de comparaison, un essai de radiosynthèse indirecte a été envisagée. L'objectif de cette séquence était de d'abord synthétiser le composé  $[^{18}\text{F}]169$  comportant un alcyne vrai à partir de la résine PS-179 dans le réacteur 1, puis de faire une réaction de chimie "click" avec de l'AZT dans le réacteur 2 (Schéma 116).

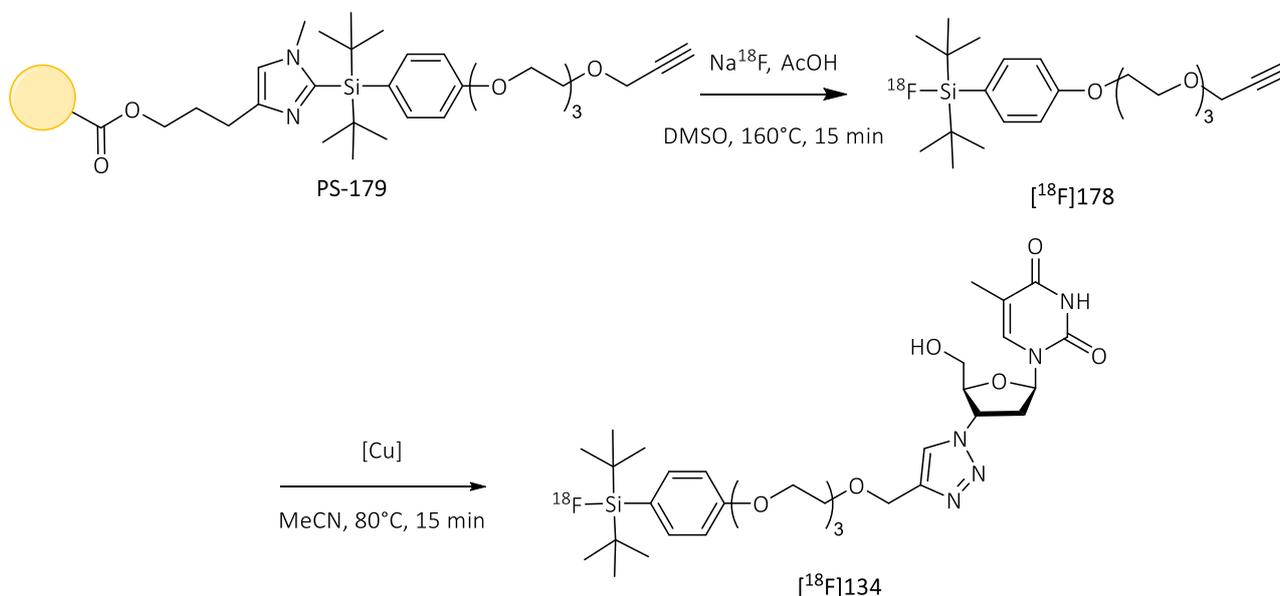


Schéma 116 - Radiofluoruration indirecte

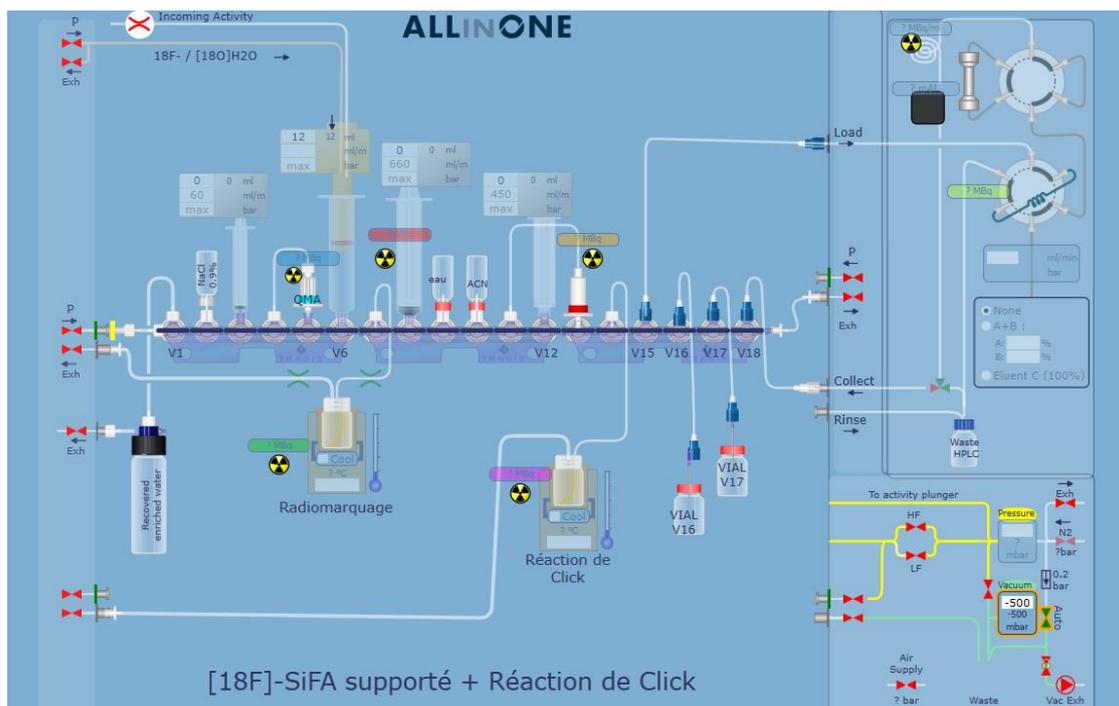


Figure 34 – “Layout” mis en place pour la radiosynthèse indirecte

La réaction de marquage de **PS-179** a donc été tentée à 100°C pendant 15 min à plusieurs reprises, mais le composé souhaité n’a jamais été obtenu dans ces conditions. L’alcyne semble moins réactif que le composé préalablement “clické” avec de l’AZT. La résine **PS-179** a donc été chauffée dans le DMSO à 160°C pendant 15 min ce qui a permis dans ce cas d’obtenir le composé  $^{18}\text{F}$ **169** avec un rendement radiochimique de 15% après purification sur une colonne Sep-pak C18. L’étape de chimie “click” a ensuite été réalisée dans le réacteur 2 préalablement chargé avec de la DIEA, du complexe de cuivre (II) Cu(TBTA), de l’ascorbate de sodium et de l’AZT. Le radiotracer  $^{18}\text{F}$ **178** en solution dans l’acétonitrile à la fin de la première étape a été transféré sous vide dans le réacteur 2. Celui-ci a été chauffé à 80°C pendant 15 min sous un léger flux d’azote afin d’agiter le milieu réactionnel. Enfin, ce dernier a été purifié par HPLC semi-préparative permettant d’obtenir le composé  $^{18}\text{F}$ **134** avec un rendement radiochimique de 16% pour la réaction de chimie “click”, soit un rendement radiochimique de 2% sur les deux étapes. Cette réaction étant une réaction multi-étapes, elle a duré au total 99 min soit 59 min de plus que la synthèse directe en batch développée précédemment. Cela a donc bien démontré l’intérêt de la radiosynthèse directe vis à vis d’une synthèse multi-étape.

#### 4. Marquage de la bibliothèque de précurseurs supportés

Après optimisation des conditions de marquage direct en “batch” du précurseur supporté dérivé de l’AZT, le transfert de ce protocole a été testé pour des structures différentes. Par souci d’évaluation

de la reproductibilité, chaque réaction a été reproduite au moins trois fois. Toutes les radiosynthèses présentées ici (sauf cas particulier précisé) sont effectuées à partir de 2  $\mu\text{mol}$  de précurseur en suspension avec 60 eq d'acide acétique dans un mélange acétonitrile/eau à (85/15) et chauffées à 100°C pendant 15 min.

❖ Radiosynthèse du dérivé de glucose [ $^{18}\text{F}$ ]187

La première résine utilisée a été la résine **PS-186** sur laquelle un dérivé de glucose contenant un azote a été "clické" (Schéma 117). La radiosynthèse a permis d'obtenir le radiotracteur [ $^{18}\text{F}$ ]187 avec un rendement moyen de  $17 \pm 2\%$  et une pureté radiochimique moyenne supérieure à 98% (n = 3) (Fig. 35).

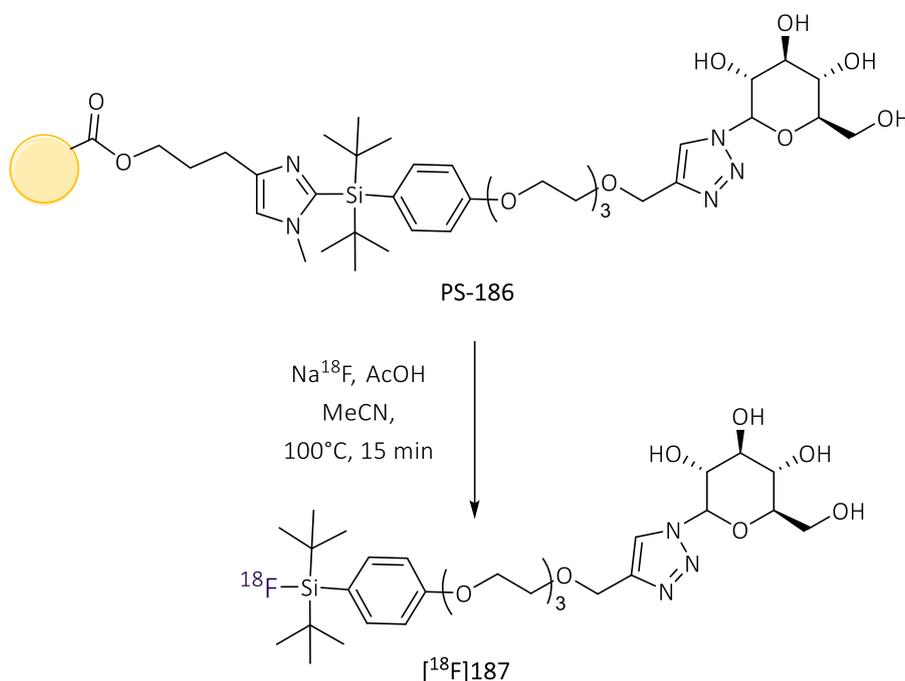


Schéma 117 - Radiofluoruration du dérivé de glucose supporté PS-186

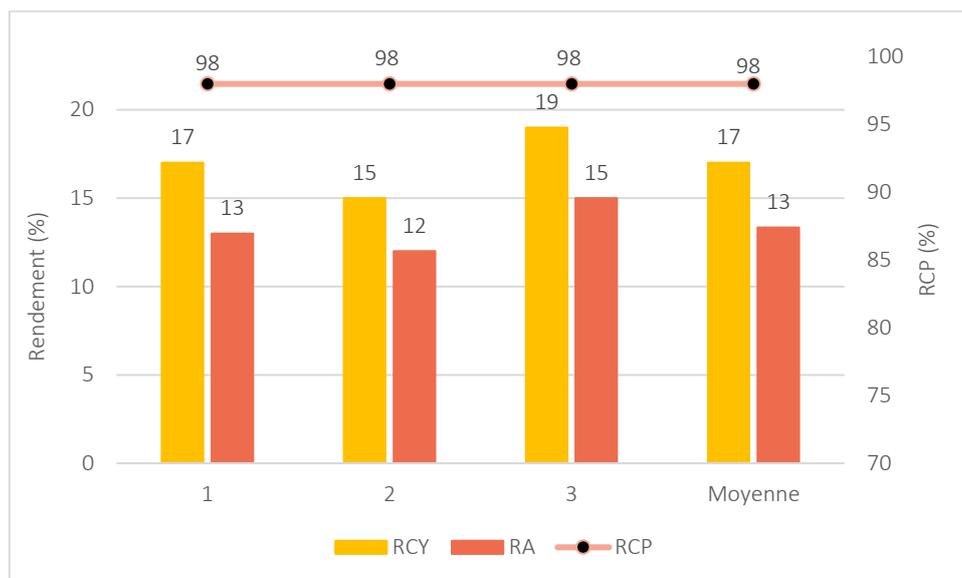


Figure 35 - Rendement radiochimique des radiosynthèses de  $[^{18}\text{F}]187$

Tableau 22 - Récapitulatif des radiofluorations de *PS-186*

	YVX1.362	YVX1.363	YVX1.364
Rendement	17% dc (13% ndc)	15% dc (12% ndc)	19% dc (15% ndc)
Activité récupérée	845 MBq	1269 MBq	1173 MBq
Pureté radiochimique	> 98%	> 98%	> 98%

#### ❖ Radiosynthèse du dérivé de biotine

La seconde résine utilisée a été la résine **PS-189** sur laquelle a été "clické" un dérivé de biotine contenant un azoture (**Schéma 118**). La radiosynthèse a permis d'obtenir le radiotracteur  $[^{18}\text{F}]190$  avec un rendement radiochimique moyen de  $13 \pm 1\%$  ( $n=3$ ) et une pureté radiochimique d'au minimum  $86 \pm 7\%$  ( $n=3$ ) (incertitude lié à la saturation de certains radiochromatogrammes) (**Fig. 36**).

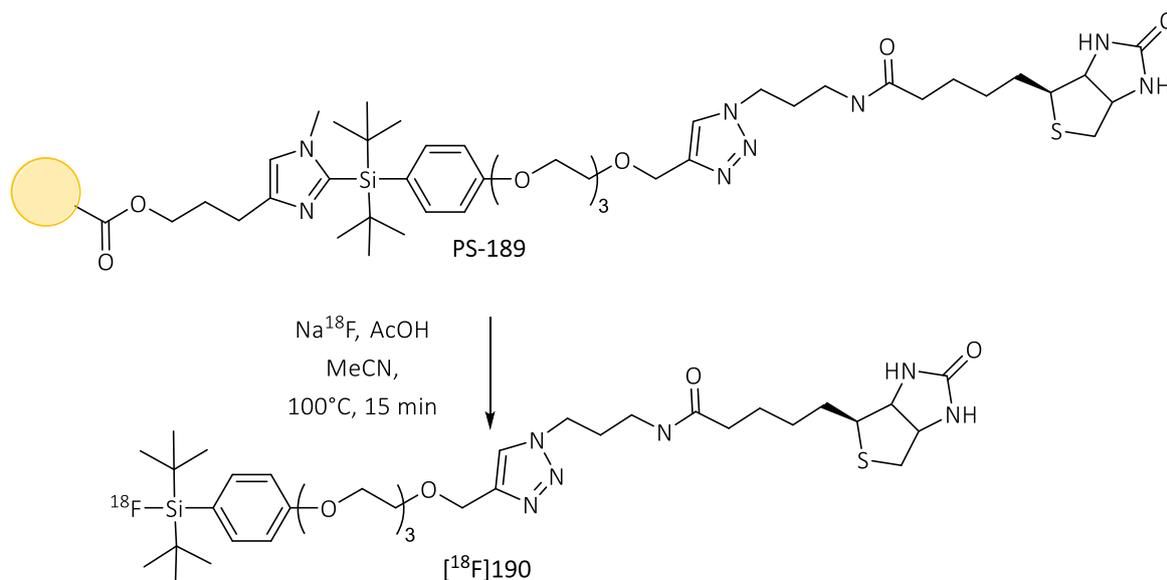


Schéma 118 - Radiofluoration du dérivé de glucose supporté PS-189

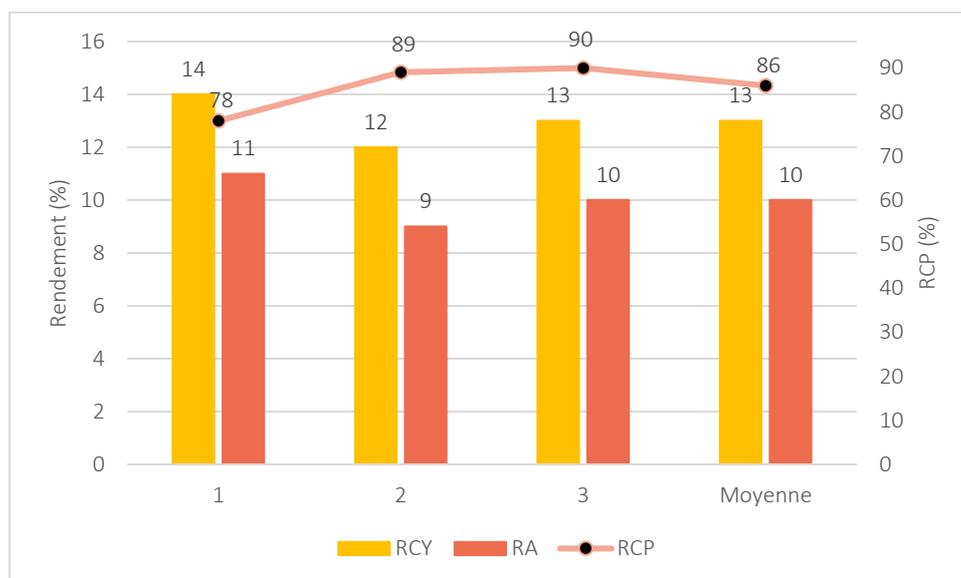


Figure 36 - Rendement radiochimique des radiosynthèses de  $[^{18}\text{F}]190$

	YVX1.377	YVX1.378	YVX1.379
Rendement	14% dc (11% ndc)	12% dc (9% ndc)	13% dc (10% ndc)
Activité récupérée	973 MBq	752 MBq	860 MBq
Pureté radiochimique	100%	100%	100%

Si on compare avec la radiosynthèse du composé  $[^{18}\text{F}]178$ , le rendement radiochimique moyen est donc un peu plus faible dans ce cas.

#### ❖ Radiosynthèse du dérivé d'œstradiol $[^{18}\text{F}]184$

La troisième et dernière résine utilisée a été la résine PS-183 sur laquelle un dérivé d'œstradiol contenant un azoture a été "clické" (Schéma 119). Le composé  $[^{18}\text{F}]184$  a ainsi été obtenu avec un

rendement radiochimique moyen issu des trois radiosynthèses de  $9 \pm 4 \%$  ( $n=3$ ) et une pureté radiochimique moyenne de  $71 \pm 11 \%$  ( $n=3$ ) (Fig. 37).

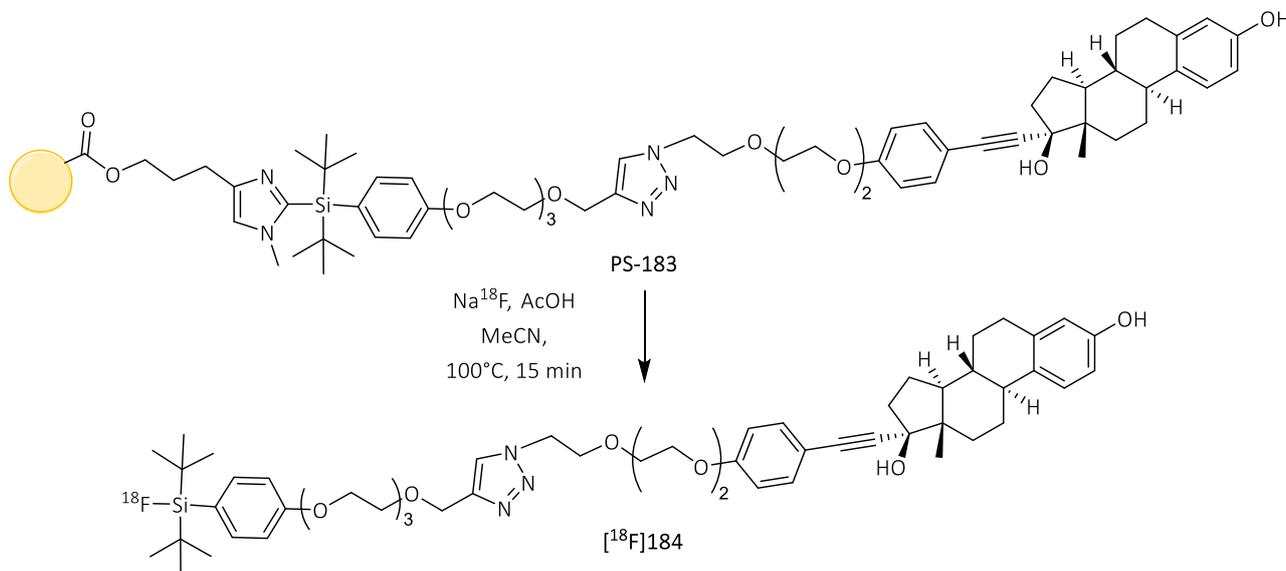


Schéma 119 - Radiofluoration du dérivé de glucose supporté PS-183

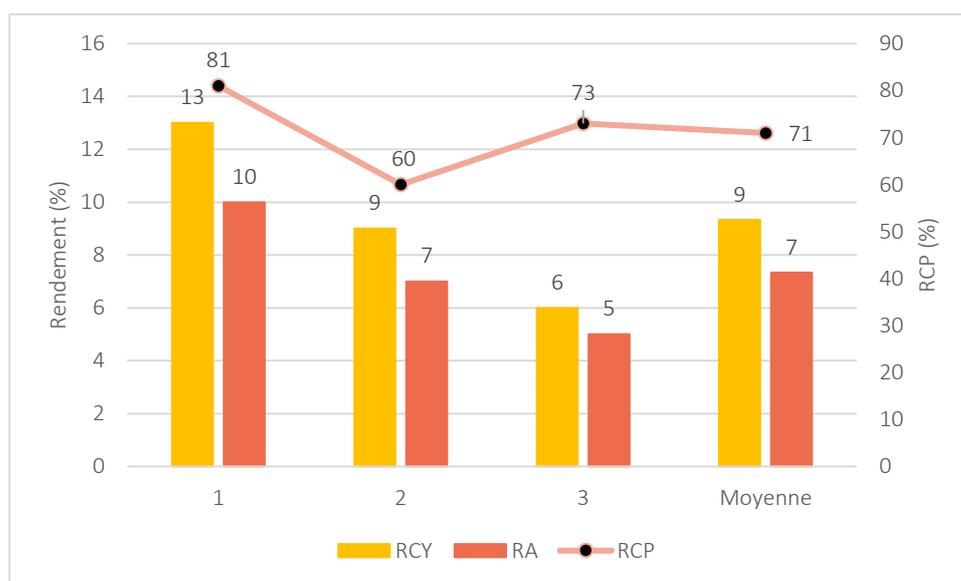


Figure 37 - Rendement radiochimique des radiosynthèses de  $[^{18}\text{F}]184$

Comparé aux deux autres radiotraceurs, le rendement radiochimique a plus fortement diminué, avec une perte de 8% entre le meilleur rendement radiochimique moyen et le plus bas. Face à ces différents résultats, il semblerait donc que plus le bioconjugué a été lié à une biomolécule hydrophile (tel que le dérivé de glucose et le dérivé d'AZT), plus le précurseur supporté sera réactif pour la radiofluoration dans ces conditions. A l'inverse, l'augmentation de la lipophilie du radiotraceur va diminuer sa réactivité sur support solide ce qui pourrait être lié à des interactions hydrophobes avec

le support polystyrène favorisant des repliements de chaînes. Une dernière réaction sur la résine **PS-183** a été faite à  $70^\circ\text{C}$  pour vérifier si les impuretés observées à  $100^\circ\text{C}$  étaient toujours présentes. Pour cette réaction, le rendement radiochimique a été de 5%, et la pureté radiochimique a également fortement diminuée à 37%. Cette impureté semblerait donc être majoritaire à plus basse température.

**Tableau 23** - Récapitulatif des réactions réalisées avec la résine **PS-183**

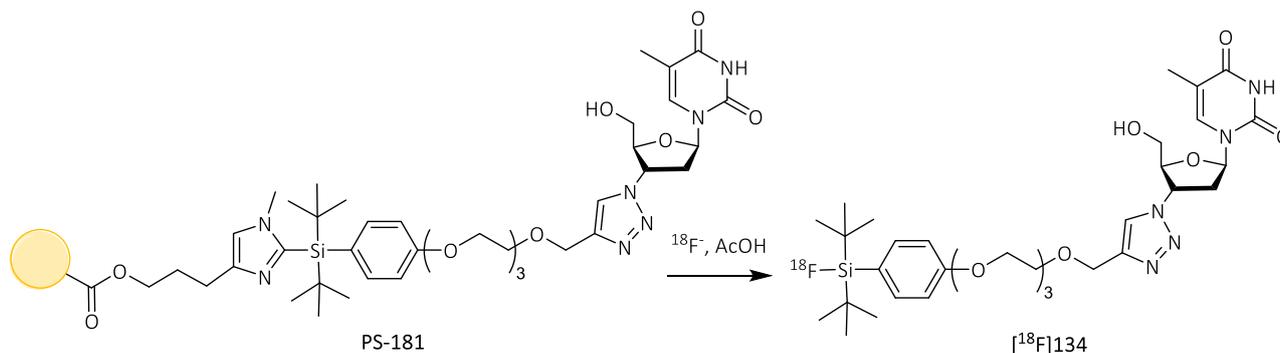
	YVX1.367	YVX1.375	YVX1.376	YVX1.380
Température	$100^\circ\text{C}$	$100^\circ\text{C}$	$100^\circ\text{C}$	$70^\circ\text{C}$
Rendement	13% dc (10% ndc)	9% dc (7% ndc)	6% dc (5% ndc)	5% dc (4% ndc)
Activité récupérée	1183 MBq	1100 MBq	524 MBq	976 MBq
Pureté radiochimique	81%	60%	72%	36%

#### ❖ Etude des impuretés présentes

L'impureté observée a été détectée pour le marquage du composé œstradiol, mais aussi pour un autre composé (qui sera décrit plus tard). Cela porte à croire qu'elle serait issue d'une fluoration d'un composé présent dans la résine à l'origine. Après plusieurs analyses des substrats après décroissance, une masse molaire récurrente de  $281 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  apparaît mais la structure exacte n'a pas pu être formellement identifiée.

## 5. Radiomarquage en flux avec une cartouche

Suite au développement prometteur de la radiosynthèse directe en "batch", une radiosynthèse à partir du précurseur conditionné en cartouche a été envisagée. L'objectif de cette partie a été de développer une cartouche modulable jetable et/ou réutilisable. L'utilisation d'une cartouche en "kit" a permis en particulier de faciliter la préparation et l'installation des réactifs sur la cassette, limitant au maximum les risques de contamination et problèmes de reproductibilité.



**Schéma 120** - Radiofluoruration du précurseur **PS-181** en flux conditionné dans une cartouche

❖ Choix du polymère et positionnement de la cartouche



Figure 38 -  
Cartouche  
métallique

Les premiers essais ont été mis au point dans une cartouche métallique (20 mm x 4 mm) sur laquelle des tubulures ont été adaptées afin de pouvoir placer la cartouche sur les cassettes du synthétiseur. Pour la préparation en cartouche, le précurseur AZT **PS-181** (5 mg) a été utilisé comme modèle. Afin de compléter le volume restant de la cartouche un autre polymère ou le contenu d'une cartouche SPE a été ajouté. Le volume mort étant de 300 $\mu\text{L}$ , un mélange d'acétonitrile et d'acide acétique à 0,4% a été introduit avant la réaction pour imprégner la cartouche. L'imprégnation a eu lieu avant la fermeture de la hotte blindée afin de

vérifier que le système ne fuyait pas. Le débit utilisé ( $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) a été le débit maximal pouvant être utilisé sans appréhender de problèmes de connections des tubulures. Une fois l'imprégnation de la cartouche effectuée, la hotte a été fermée et l'étape de purification et de concentration du fluor-18 sur la cartouche QMA a été réalisée. La solution de  $\text{Na}[^{18}\text{F}]\text{F}$  a ensuite été éluée directement vers la cartouche. Afin de s'assurer que toute l'activité est entrée dans la cartouche, le processus a été suivi entièrement par caméra. Pour vérifier qu'il n'y a pas d'activité perdue, la vanne de sortie de la cartouche a été ouverte sur une poubelle externe permettant de mesurer l'activité sortante.

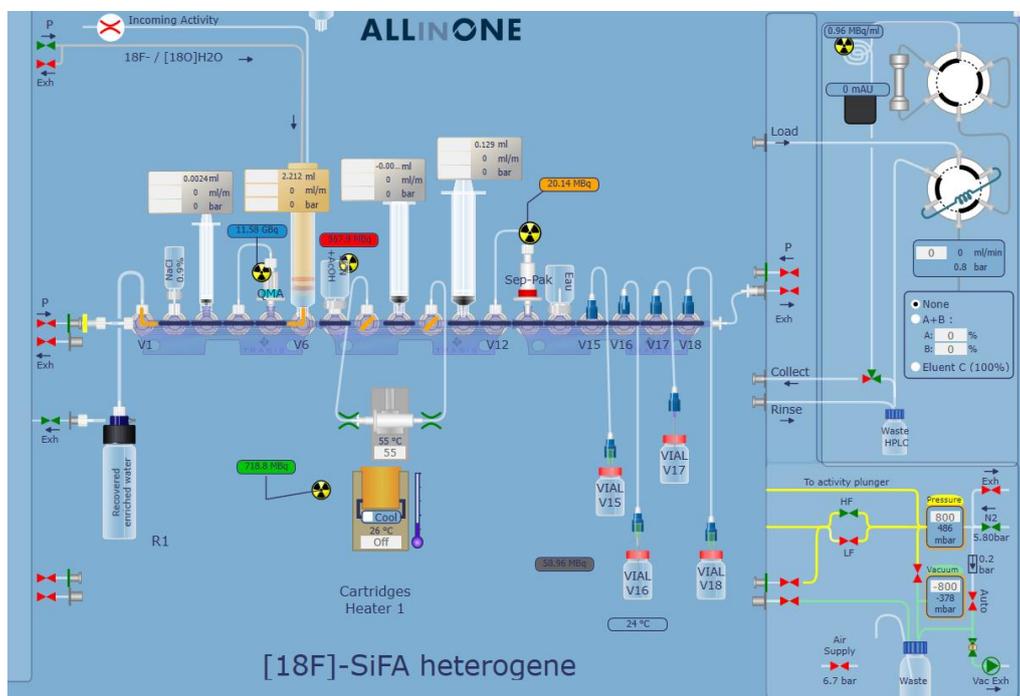


Figure 39 – "Layout pour la synthèse sur cartouche"

Il est à noter que l'activité présente dans la cartouche a été très difficile à quantifier malgré différents essais de positionnement (vertical ou horizontal) près des radiamètres. Il a donc été décidé de

calculer les rendements radiochimiques à partir de l'activité fixé sur la QMA, ce qui correspondrait à une baisse moyenne d'environ 2% pour les rendements radiochimiques obtenus en batch. Les radiosynthèses ont été réalisées dans la cartouche en chauffant celle-ci pendant 15 min au chauffe-cartouche. Ensuite, celle-ci a été éluée et lavée avec différents mélanges d'acétonitrile et d'eau puis le mélange a été transféré sur une cartouche Sep-pak C18 afin de purifier le radiotraceur.

La première radiosynthèse en cartouche a été faite en complétant la cartouche avec le polystyrène utilisé pour supporter la résine "quenchée" avec du méthanol, c'est-à-dire possédant des fonctions résiduelles de type esters (YVX1.263). Dans cette synthèse, le composé  $[^{18}\text{F}]\mathbf{134}$  a été purifié en deux fractions différentes, permettant d'obtenir un rendement radiochimique total de 5%. Là encore la présence de nombreuses impuretés confirmerait l'hypothèse selon laquelle certaines impuretés seraient dues à la résine polystyrène.

Deux réactions ont alors été mises en place en complétant la cartouche avec de la QMA afin de piéger le  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  dans la cartouche. Le positionnement de la cartouche ayant été soit horizontal ou vertical. Les rendements radiochimiques obtenus ont été respectivement de 6% et 4%. Cependant, lors du lavage de la cartouche avec de l'eau ou un mélange d'acétonitrile/eau (50/50), celle-ci s'est bouchée ce qui a fait augmenter la pression et provoqué la déconnection des tubulures de la cartouche ceci étant probablement dû à la silice contenue dans le support QMA. Malgré ce problème technique, les rendements radiochimiques et les puretés radiochimiques ont été très bons comparés à un remplissage de polystyrène.

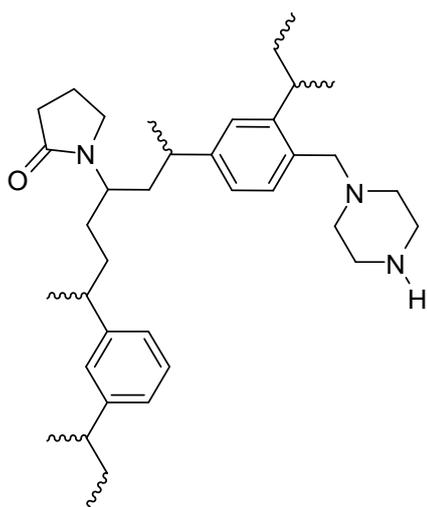


Figure 40 - Résine WAX

Suite à cela, une résine de type WAX a été utilisée pour compléter la cartouche. La résine WAX est une résine possédant des propriétés intéressantes à la fois capable de réaliser des échanges d'anions faible si la solution a un pKa d'environ 6 mais également de piéger des acides forts grâce au motif pipérazine. Le rendement radiochimique de cette réaction a été de 4%, et une pureté radiochimique de 63% a été mesurée.

Enfin, la dernière résine testée a été la résine contenue dans les Sep-pak C18. Lors du lavage de la cartouche, la pression dans les tubulures a également augmenté et les tubulures se sont déconnectées. De plus, le filtrat obtenu après purification a été

composé majoritairement d'impuretés avec seulement 5% de  $[^{18}\text{F}]\mathbf{134}$ , ce qui conduit à obtenir un

rendement radiochimique de  $^{18}\text{F}$ 134 inférieur à 1%. On peut supposer que si le composé  $^{18}\text{F}$ 134 a été formé, une partie est restée sur la résine expliquant la présence de traces de  $^{18}\text{F}$ 134.

**Tableau 24** - Récapitulatif des réactions présentées sur cartouche

	YVX1.263	YVX1.266	YVX1.282	YVX1.282bis	YVX1.287
Résine pour compléter	Polystyrène	QMA	QMA	WAX	C18 s/ silice
Placement de la cartouche	horizontale	horizontale	verticale	verticale	verticale
Rendement	5% dc (3% ndc)	6% dc (4% ndc)	4% dc (3% ndc)	4% dc (3% ndc)	>1% dc (>1% ndc)
Activité récupérée	F1 : 300 MBq F2 : 162 MBq	341 MBq	442 MBq	297 MBq	217 MBq
Pureté radiochimique	F1 : 50% , F2 : 100%	100%	100%	63%	5%

Suite à ces essais, la résine WAX a finalement été choisie pour essayer de mettre au point une synthèse en flux pour éviter les problèmes techniques qui empêcheraient le bon fonctionnement du flux dans la cartouche.

#### ❖ Radiosynthèse en flux

Contrairement aux expériences précédentes où la cartouche était chauffée après le chargement avec la totalité de la solution d'éluion du  $\text{Na}^{18}\text{F}$ F, des essais ont été effectués en diluant cette solution et en la faisant passer au fur et à mesure dans la cartouche chauffée à  $100^\circ\text{C}$ . Dans ce cas, le "layout" de la synthèse sur cartouche en flux n'a pas été beaucoup modifié par rapport à celui dessiné pour la synthèse en cartouche statique. Le flux au sein de la cartouche a été obtenu grâce aux mouvements simultanés des seringues 3 et 4, la seringue 3 poussant le mélange de solvant contenant l'acide acétique et le  $\text{Na}^{18}\text{F}$ F vers la seringue 4. Le vial en V7 contenait soit 4,1 mL, soit 3,7 mL d'une solution d'acétonitrile à 0,4% d'acide acétique dans lequel a été élué dans un premier temps la solution saline à 0,9% (300  $\mu\text{L}$ ) contenant le  $\text{Na}^{18}\text{F}$ F issu de la QMA. Dans la première synthèse, le mélange contenait donc 7% d'eau tandis que dans la seconde synthèse le mélange contenait 8% d'eau. Les proportions de solvants organique/aqueux étaient donc deux fois plus faibles que pour la synthèse en "batch". Le mélange radioactif dilué a ensuite été prélevé par la seringue 3, puis a été transféré vers la seringue 4 en passant par la cartouche (chauffée à  $100^\circ\text{C}$ ) avec un léger débit de  $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , correspondant à un transfert d'environ 15min.

Les deux synthèses ont permis d'obtenir des rendements radiochimiques similaires de 6% et 7% respectivement, ce qui est supérieur aux rendements obtenus lors des synthèses statiques en cartouche. De façon intéressante, les puretés radiochimiques étaient excellentes (100%) ce qui a montré l'amélioration par rapport au chauffage statique.

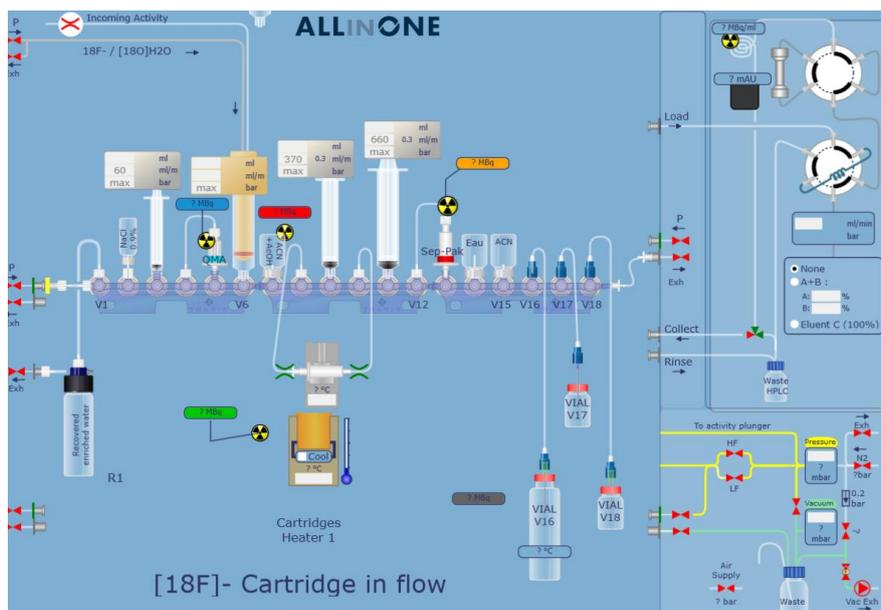


Figure 41 – “Layout” de la synthèse en flux

Bien qu’ayant démontré la preuve de concept, il serait maintenant très intéressant de mettre en place la synthèse avec des débits plus importants afin de diminuer le temps global de marquage ou de faire plusieurs passages/cycles sur la cartouche. Cependant, le dispositif fabriqué par nos soins ne nous a pas permis de réaliser cet essai.

Tableau 25 - Récapitulatif des réactions présentées en flux sur la cartouche

	YVX1.289	YVX1.294
Résine pour compléter	WAX	WAX
Placement de la cartouche	verticale	verticale
Volume MeCN+0,4% d’AcOH	4,1 mL	3,7mL
Flux	0,3 mL.min <sup>-1</sup>	0,3 mL.min <sup>-1</sup>
Rendement	6% dc (4% ndc)	7% dc (5% ndc)
Activité récupérée	292 MBq	504 MBq
Pureté radiochimique	100%	100%

### ❖ Développement d’une cartouche imprimée en 3D

Afin d’espérer améliorer les rendements radiochimiques de la synthèse en flux par une augmentation du débit du flux, une cartouche fabriquée par impression 3D a été imaginée. L’objectif a été de fabriquer une cartouche possédant le même volume interne (300µL), adaptable aux lieux de la cassette afin d’éviter les déconnexions lors de l’augmentation du débit.

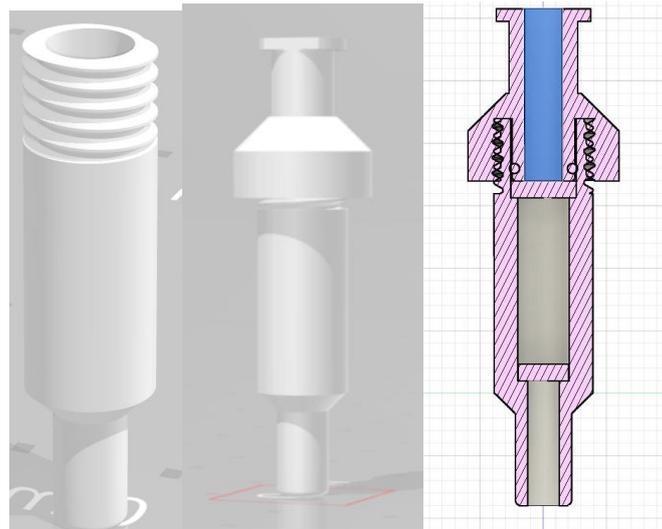


Figure 42 - Plan de la cartouche en 3D

Des plans 3D de la cartouche ont été dessinés par Thierry Dabin (responsable des projets robotiques impliquant l'imprimante 3D chez Sanofi). Une de nos contraintes a été également d'avoir un matériau capable de supporter des températures d'au moins  $100^{\circ}\text{C}$  afin de pouvoir la chauffer avec le chauffe-cartouche. Dans un premier temps, les cartouches ont été imprimées avec du carbone, matériaux résistant à des températures supérieures à  $100^{\circ}\text{C}$  sans se déformer. Cependant le matériau était friable et la cartouche fuyait au niveau des connections. Celui-ci a été changé par du PETG (copolymère de polyéthylène téréphtalate et de glycol) qui contre toute attente était résistant à  $100^{\circ}\text{C}$ . Malheureusement après plusieurs prototypes, les fuites au niveau du luer n'ont pas été réglées.

Finalement, la récupération d'une cartouche OASIS ouverte, puis remplie avec un mélange WAX et résine **PS-181** et resoudée a permis de supporter des flux allant jusqu'à  $10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Cependant, cette radiosynthèse en flux n'a pas pu être testée pour l'instant.

## Conclusion

Au cours de ce chapitre, une nouvelle plateforme imid-SiFA a donc été synthétisée et greffée avec succès sur une résine polystyrène. Des intermédiaires imid-SiFA ont pu être cristallisés pour la première fois, permettant d'observer la structure de ces molécules par diffractions des rayons X. Les différentes étapes de synthèses ont été optimisées et différentes expériences RMN ont été entreprises afin d'étudier l'étape de greffage de la plateforme sur deux résines différentes. Les réactions de bioconjugaison sur support solide ont également été optimisées pour obtenir une bibliothèque de précurseurs supportés.

Dans un premier temps, un protocole de radiosynthèse en "batch" a été optimisé ce qui a donné le produit conjugué AZT marqué avec des rendements radiochimiques reproductibles et de bonnes puretés radiochimiques. La robustesse de cette séquence synthétique en "batch" a pu être démontrée grâce au transfert de la méthode développée pour les autres structures. La diversification des structures biologiques montre également que les biomolécules plus hydrophiles ont permis d'obtenir de meilleurs rendements. Bien que ces résultats sembleraient donc prometteurs pour le radiomarquage direct de bioconjugués dérivés de peptides, un précurseur supporté dérivé d'un peptide n'a pas pu être obtenu pour l'instant.

Enfin, des essais de radiosynthèse en cartouche ont montré la possibilité de réaliser des radiosynthèses en statique ou en flux. L'augmentation du flux étant potentiellement un paramètre clé pour obtenir de meilleurs rendements radiochimiques, l'utilisation de cartouche de type OASIS reconditionnée permettrait de s'approcher de l'objectif de "kit" jetable et modulable.

Pour finir, les structures possédant un espaceur au niveau du groupement imidazole n'ont pas pu être greffées sur résine par manque de temps. Il serait tout de même intéressant de voir l'effet de cet espaceur entre la résine et la plateforme. En effet, celui-ci pourrait potentiellement améliorer la mobilité de la plateforme à l'interface solide-liquide ce qui devrait conduire à l'amélioration des rendements radiochimiques.





# Chapitre 3 :

Vers une application des Imid-SiFA  
supportés pour l'immuno-oncologie





# I. Introduction à l'immuno-oncologie

## 1. Qu'est-ce que l'immuno-oncologie ?

L'immuno-thérapie a été utilisée pour la première fois en 1890 par le Dr. Coley. Ce chirurgien a développé la "Toxine de Coley", qui avait selon lui la propriété de réduire la taille de cellules cancéreuses inopérables, ces travaux n'ont pas été publiés avant 1954.<sup>128</sup> Dans les années 60, les premiers patients soignés par immuno-thérapie ont été guéris en utilisant des immuno-stimulants extraits de bactéries, notamment du *bacillus* Calmette-Guérin (BCG). L'idée de développer une thérapie stimulant le système immunitaire vient également de l'observation de la régression spontanée des cellules cancéreuses humaines greffées sur des souris. Suite à cela, une meilleure compréhension du système immunitaire a permis de développer les premiers traitements. De nombreux tests cliniques ont été réalisés, mais il faudra attendre 1987 pour que le premier traitement soit validé par la FDA.<sup>129</sup>

L'immuno-oncologie désigne la stimulation artificielle permettant au système immunitaire d'un patient de réapprendre à identifier et détruire les cellules cancéreuses. Le système immunitaire étant un système complexe, sept étapes cycliques doivent avoir lieu sans obstacle pour que l'immuno-thérapie fonctionne (**Fig. 43**) :<sup>130</sup>

1. Libération dans l'environnement proche de l'antigène associé à la tumeur après la mort cellulaire,
2. Reconnaissance, assimilation et traitement de l'antigène par les cellules présentatrices d'antigène (CPA),
3. Activation des cellules T naïves en lymphocytes T cytotoxiques grâce à la présentation de l'antigène par les CPA,
4. Acheminement des cellules T cytotoxique (CTC) vers le lieu de la tumeur à l'aide des vaisseaux sanguins,

---

<sup>128</sup> Weber J. S., Immuno-oncology Comes of Age—Introduction, *Seminars in Oncology*, **2014**, 41, 5, Suppl 5, S1-S2.

<sup>129</sup> Kirkwood J. M., Butterfield L. H., Tarhini A. A., Zarour H., Kalinski P., Ferrone S. Immunotherapy of Cancer in 2012, *Ca. Cancer J. Clin.*, **2012**, 62, 309-335.

<sup>130</sup> Zhou B., Liu J., Lin M., Zhu J., Chen W. R. Recent advances in immunotherapy, immunoadjuvant, and nanomaterial-based combination immunotherapy. *Coordination Chemistry Reviews*, **2021**, 442, 214009.

5. Infiltration au sein de la tumeur des CTC,
6. Reconnaissance de la cellule tumorale grâce aux récepteurs des CTC,
7. Destruction des cellules tumorales par les CTC et production de lymphocytes T mémoire spécifiques.

Ces sept étapes clés sont essentielles pour qu'un traitement en immunothérapie soit efficace et l'ordre ne peut être changé sans risquer des effets secondaires et l'inaction du traitement.

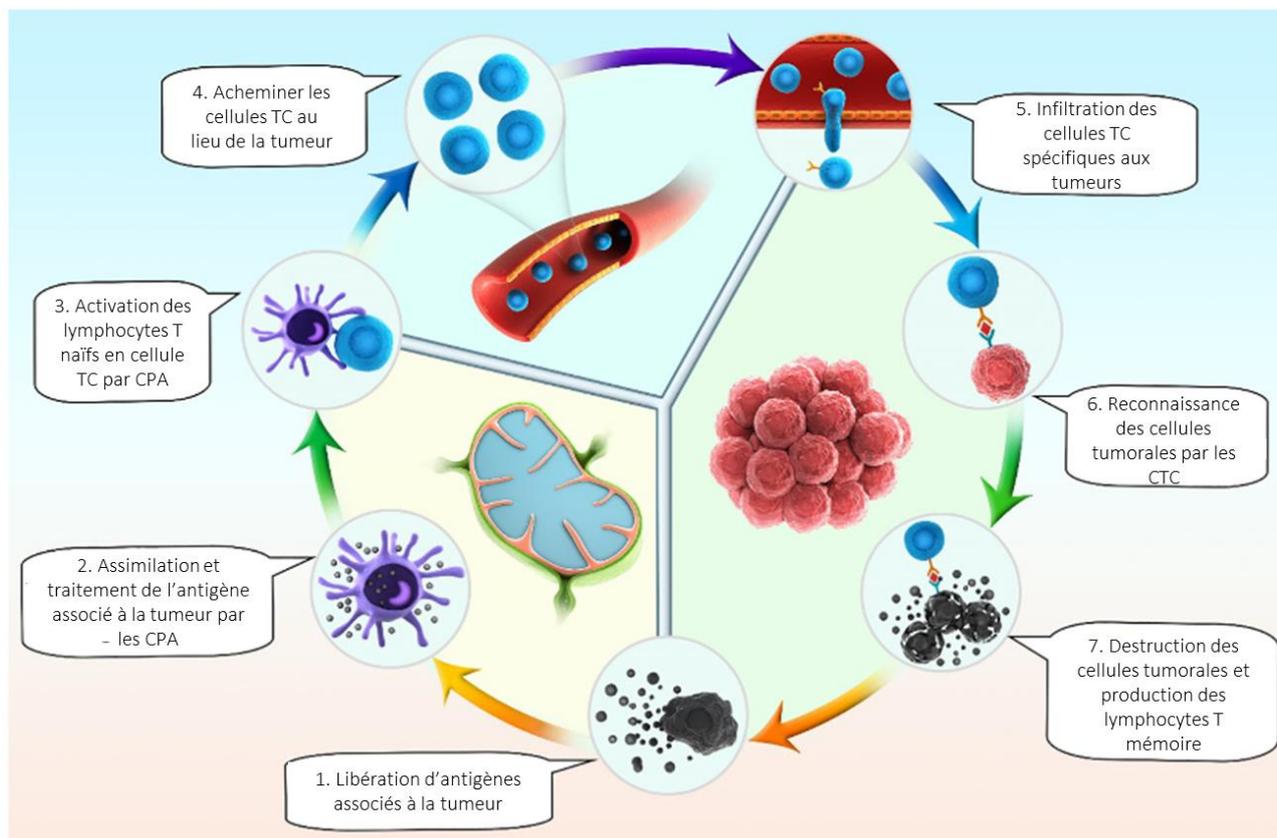


Figure 43 - Cycle du système immunitaire

La plupart des cellules cancéreuses ont des processus permettant d'éviter ou de retarder une de ces étapes, rendant impossible la reconnaissance par le système immunitaire et donc toute défense contre le développement de ces cellules. L'immuno-thérapie consiste donc à réinstaurer une des étapes défectueuses dans ce cycle afin de rendre le système immunitaire de nouveau efficace face à une tumeur. Il existe actuellement 5 approches différentes en immuno-oncologie.<sup>131</sup>

1. Les thérapies utilisant les cytokines (protéines stimulants le système immunitaire naturellement) sont les premières à avoir été développées, mais elles sont peu sélectives et peuvent provoquer

<sup>131</sup> Antonia S. J., Larkin J., Ascierto P. A. Immuno-oncology Combinations: A Review of Clinical Experience and Future Prospects. *Clin. Cancer Res.*, 2014, 20, 6258-6268.

des effets secondaires très dangereux tel que le syndrome de libération des cytokines voir des maladies auto-immunes.

2. Les thérapies bloquant les "checkpoints", c'est-à-dire bloquant les récepteurs utilisés par les cellules cancéreuses pour empêcher l'activation des cellules T. La réponse immunitaire est limitée dans les tumeurs solides. Cette technique possède le moins d'effet secondaire si le patient répond correctement au traitement.
3. Les vaccins peuvent également stimuler la réponse immunitaire contre un type de cancer en utilisant des antigènes spécifiques de ces cellules cancéreuses. Cette technique est très spécifique mais encore peu utilisée à cause de problèmes de formulation. La réponse immunitaire d'un vaccin peut être stimulée par un immuno-adjuvant.
4. Les petites molécules sont également utilisées en immuno-thérapie : les inhibiteurs d'enzymes immunosuppressives utilisées par les cellules cancéreuses pour ne pas être reconnues par le système immunitaire (par exemple indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO), enzyme immunosuppressive surexprimée dans de nombreuses cellules malignes<sup>132</sup>). La toxicité est dépendante de la dose, mais ces petites molécules peuvent plus facilement être combinées avec un autre type de thérapie.
5. Les "CAR T-cells", le nom vient de "Chimeric Antigen Receptor T-cells" désignent des cellules immunitaires T modifiées en laboratoire pour reconnaître les cellules cancéreuses. Cette technique est complexe à mettre en place car il faut prélever les cellules T naïves du patient pour les modifier génétiquement et les réinjecter ensuite au patient. Cette technologie possède une forte spécificité et des effets à long terme bénéfiques. Cependant, elle peut provoquer une sur-production de cytokines. De plus, l'effet est également limité en cas de tumeurs solides.

Ces différentes approches sont plus efficaces si elles sont combinées entre elles ou avec d'autres types de thérapies comme la chimiothérapie, la radiothérapie, la photothérapie, ...

---

<sup>132</sup> Yentz S., Smith D. Indoleamine 2,3-Dioxygenase (IDO) Inhibition as a Strategy to Augment Cancer Immunotherapy. *BioDrugs*, **2018**, 32, 311–317.

De plus, lors des différents essais cliniques réalisés au cours de ces dernières années, il a été mis en évidence que tous les patients ne répondent pas obligatoirement à ce type de traitement, mais que cette stratégie est efficace pour seulement 10 à 50% des patients en fonction du type de cancer.<sup>133</sup> L'imagerie médicale est un outil important en oncologie, permettant à la fois d'évaluer le stade de développement d'un cancer pour affiner le diagnostic initial, ou dans le cadre des suivis de traitement.<sup>134</sup> Dans un premier temps, l'efficacité thérapeutique a été mesurée grâce à l'imagerie anatomique tel que la TDM ou l'IRM. Ces techniques d'imagerie doivent suivre la méthode RECIST (Evaluation de la réponse tumorale des tumeurs solides) mise en place au début des années 2000 pour remplacer le protocole datant de 1979 de l'OMS.<sup>135</sup> L'IRM et la TDM sont ainsi capables de donner une information sur l'évolution de la taille de la tumeur, mais nécessitent un certain temps de traitement entre deux mesures. L'imagerie TEP, quant à elle donne des informations sur les propriétés biochimiques des cellules cancéreuses (notamment la métabolisation et le taux de prolifération des cellules). Les bouleversements des processus biochimiques sont observables beaucoup plus tôt. L'efficacité d'un traitement peut donc être évaluée à un stade plus précoce grâce à l'imagerie TEP, afin de discriminer les patients répondants ou non au traitement.

## 2. Utilisation de radiotraceurs "classiques"

La recherche pour promouvoir des traitements en immuno-oncologie a explosé ces dernières années, et les outils en imagerie ont également dû s'adapter à ce nouveau domaine de recherche. Dans un premier temps, il est très intéressant de voir comment les radiotraceurs existants ont été évalués pour pouvoir faire des suivis de traitement.

Par exemple, une étude comparative a été faite entre le [<sup>18</sup>F]FDG et le [<sup>18</sup>F]FAC (1-(2'-déoxy-2'-<sup>18</sup>F-fluoroarabinofuranosyl) cytosine), l'objectif étant de suivre deux voies métaboliques différentes :

---

<sup>133</sup> Taefehshokr S., Parhizkar A., Hayati S., Mousapour M., Mahmoudpour A., Eleid L., Rahmanpour D., Fattahi S., Shabani H., Taefehshokr N. Cancer Immunotherapy: Challenges and Limitations. *Pathology - Research and Practice*, **2022**, 229, 153723.

<sup>134</sup> Reddy S., Robinson M. K. Immuni-Positron Emission Tomography in Cancer Models, *Seminars in Nuclear Medicine*, **2010**, 40, 182-189.

<sup>135</sup> Culine L., Belda-Mathieu E., Berneur-Morisseau C. "Les Critères D'évaluation de la Réponse Tumorale des Tumeurs Solides." Dans *Mémento de la recherche biomédicale portant sur un médicament à usage humain*, Paris, Springer, **2011**, ISBN : 978-2-8178-0238-1.

1. L'utilisation de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG permet de suivre, la dégradation du glucose pour libérer de l'énergie (glycolyse).
2. La voie de sauvetage des nucléotides est mise en évidence en utilisant le [ $^{18}\text{F}$ ]FAC, permettant la visualisation de la dégradation d'ARN et d'ADN qui libèrent des débris moléculaires recyclés pour former des nucléotides.

Il a été montré que l'accumulation du [ $^{18}\text{F}$ ]FDG a principalement lieu dans les cellules du système immunitaire inné, tandis que le [ $^{18}\text{F}$ ]FAC a tendance à s'accumuler au niveau des cellules du système immunitaire adaptatif.<sup>136</sup> On peut donc utiliser les radiotraceurs développés précédemment pour suivre le système immunitaire. Les zones subissant une réponse inflammatoire et les traitements utilisant des médiateurs de l'inflammation peuvent être suivi par [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, tandis que la prolifération des lymphocytes B et T peut être suivie dans les ganglions, moelle osseuse, etc, par le [ $^{18}\text{F}$ ]FAC.

Malheureusement, pour réaliser un suivi de traitement en immuno-oncologie ces deux radiotraceurs ne sont pas adaptés. En effet, les cellules cancéreuses ont un taux de glycolyse aussi élevé que les cellules du système immunitaire inné empêchant toute utilisation pour évaluer la réponse inflammatoire au sein de la tumeur. De même, les lymphocytes T ne se multiplient pas au sein de la tumeur, donc l'utilisation de [ $^{18}\text{F}$ ]FAC ne permet pas d'évaluer le taux d'infiltration des lymphocytes T. De nombreuses études utilisant des radiotraceurs possédant déjà des AMM ont également été effectuées, mais elles ont mis en lumière la nécessité de développer de nouveaux radiotraceurs plus adaptés au suivi des traitements par immuno-oncologie. Des nouveaux outils ont ainsi émergé ces dernières années.

---

<sup>136</sup> Nair-Gill E., Wiltzius S. M., Wei X. X., Cheng D., Riedinger M., Radu C. G., Witte O. N. PET probes for distinct metabolic pathways have different cell specificities during immune responses in mice. *J Clin Invest.*, **2010**, 120, 2005-2015.

## II. Marquage des nanobodies par stratégie indirecte

### 1. Les nanobodies

#### a. Qu'est ce qu'un nanobody ?

Pour définir un nanobody, il faut dans un premier temps, donner la définition d'un anticorps. Les anticorps sont des protéines produites par les globules blancs (ou lymphocytes B) qui permettent au corps humain de s'immuniser face à l'invasion d'un corps étranger. L'anticorps est fabriqué afin de reconnaître un antigène spécifique présent sur l'agent immunogène. En effet, le paratope de l'anticorps est capable de reconnaître l'épitope de l'antigène. Une fois la reconnaissance effective, les cellules du système immunitaire adaptées sont capables de se fixer sur la partie constante de l'anticorps permettant le rapprochement de la celle-ci avec l'agent pathogène et le déclenchement de la réponse immunitaire.

Les anticorps sont des protéines, dont la taille est comprise entre 12 et 15 nm et la masse est d'environ 150 kDa (**Fig. 44**).<sup>137</sup> Ils sont constitués de deux chaînes légères constantes et de deux chaînes plus lourdes liées entre elles par des ponts disulfures, formant une structure appelée immunoglobuline G (IgG). La chaîne lourde est constituée de trois parties constantes appelées CH1, CH2 et CH3, et d'une partie variable (VH). La partie légère est constituée d'une partie constante (CL) et d'une partie variable (VL). C'est la partie variable qui reconnaît un antigène. La taille importante de ces protéines implique une circulation lente *in vivo* avec un temps de demi-vie biologique de plusieurs jours qui les rend peu compatibles avec des radioéléments de demi-vie de quelques heures. Pour résoudre ce problème, le développement de fragments de plus en plus petits mais toujours sélectifs a explosé, permettant de développer une diversité synthétique de fragments d'anticorps de tailles et de formes différentes. Par exemple, un Fab désigne un fragment capable de se lier avec un antigène (fragment antigen-binding), un Fv est un fragment constitué des deux domaines variables

---

<sup>137</sup> Steeland S., Vandenbroucke R. E., Libert C. Nanobodies as therapeutics: big opportunities for small antibodies. *Drug Discov. Today*, **2016**, 21, 1076-1113.

et un ScFv (Single chain variable fragment) désigne les deux domaines variables (VL et VH) liés par un peptide synthétique.

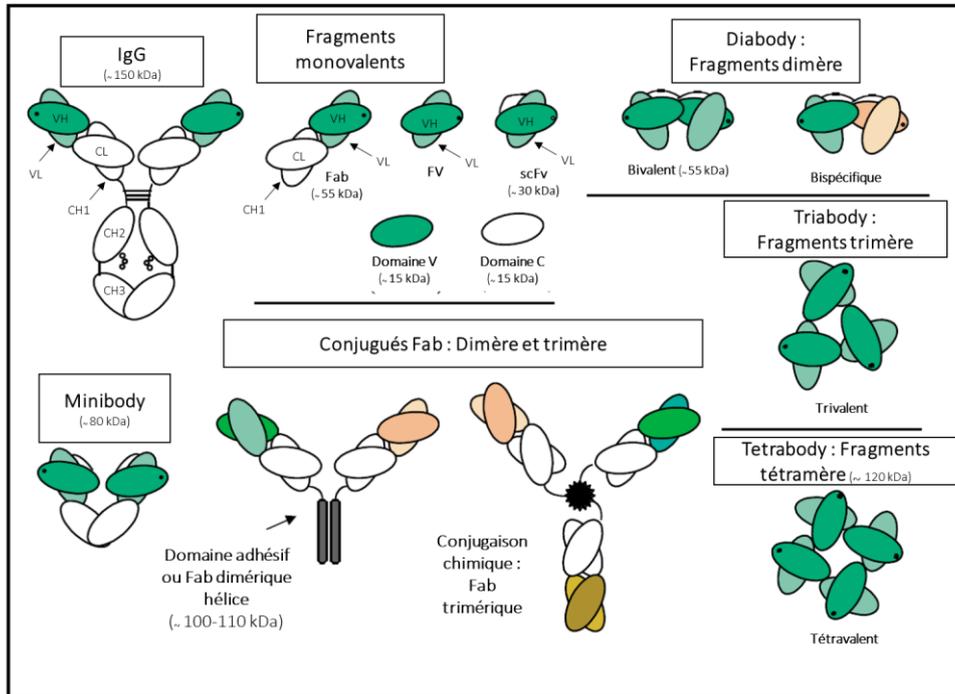


Figure 44 - Anticorps et fragments d'anticorps développés

Dans les années 90, des chercheurs ont découvert qu'en plus des anticorps IgG classiques, les camélidés possèdent également des anticorps plus petits contenant uniquement les deux chaînes lourdes (heavy-chain-only antibodies, HcAbs) avec deux domaines constants CH2 et CH3, et un domaine variable (VHH) (Fig. 45).<sup>138</sup> C'est ce domaine variable VHH qui est appelé nanobody (Nb), sa masse est aux alentours de 15 kDa en moyenne, soit 10 fois plus petite qu'un IgG.

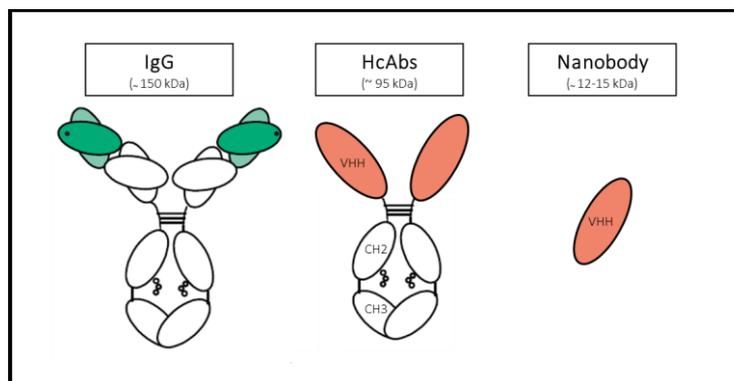


Figure 45 - Anticorps Ig G, HcAbs et Nanobody

<sup>138</sup> Hamers-Casterman C., Atarhouch T., Muyldermans S., Robinson G., Hamers C., Songa E. B., Bendahman N., Hamers R. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature*, **1993**, 363, 446-448.

Les nanobodies sont plus stables que les fragments d'anticorps, plus spécifiques et possèdent de meilleures affinités de reconnaissance. De plus, ils sont plus résistants à la température et peuvent être manipulés plus facilement car ils sont constitués d'une unique chaîne. Ils possèdent également une meilleure pénétration des tissus, biodistribution et clairance sanguine. Enfin, les nanobodies sont plus faciles à fonctionnaliser sans impacter la reconnaissance de l'antigène car ils sont constitués d'une seule chaîne évitant la présence de ponts disulfures.<sup>139</sup>

L'utilisation d'un Nb par l'imagerie moléculaire est très intéressante car :<sup>140</sup>

- sa petite taille permet d'accéder à des épitopes moins accessibles pour un Ig G classique,
- sa stabilité est meilleure et il peut se replier correctement après une exposition à des températures plus élevées, des pH différents ou certaines protéases,
- il possède une meilleure solubilité et est moins sujet à la formation d'aggrégats,
- il démontre une immunogénicité plus faible,
- il présente un faible temps de demi-vie biologique et une bonne clairance sanguine modulable si trop rapide.

### b. Marquage d'anticorps et de nanobodies

La taille du nanobody ou du fragment d'anticorps permet de connaître globalement la pharmacocinétique de celui-ci. Plus le fragment d'anticorps ou le nanobody est petit, moins il restera dans le système sanguin, ce qui permettra donc d'utiliser un émetteur radioactif avec un temps de demi-vie plus court (Fig. 46).

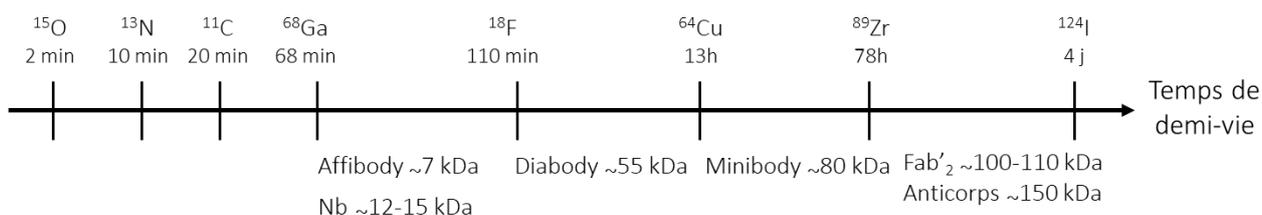


Figure 46 – Choix des radionucléides en fonction de la taille des fragments d'anticorps

<sup>139</sup> Liu W., Song H., Chen Q., Yu J., Xian M., Nian R., Feng D. Recent Advances in the Selection and Identification of Antigen-specific Nanobodies. *Molecular Immunology*, **2018**, 96, 37-47.

<sup>140</sup> Barakat S., Berksoz M., Zahedimaram P., Piepoli S., Erman B. Nanobodies as molecular imaging probes. *Free Radical Biology and Medicine*, **2022**, 182, 260–275.

Pour des questions de simplicité du marquage, les Nbs sont principalement marqués par du  $^{89}\text{Zr}$ , mais de nouvelles techniques sont développées afin d'utiliser le  $^{18}\text{F}$  et le  $^{68}\text{Ga}$ , ces éléments permettant ainsi d'avoir une plus faible exposition aux radiations pour le patient.

On peut voir qu'il existe des protéines encore plus petites que les Nbs : ce sont les affibodies® (~ 7 kDa). Ils ont été inspirés de l'épitope de protéine A présente sur les *Staphylococcus aureus*, c'est-à-dire l'antigène qui permet aux IgG de reconnaître la bactérie.

#### ❖ Marquage au zirconium-89

Le temps de demi-vie du  $^{89}\text{Zr}$  étant long, ce radionucléide est principalement utilisé dans les essais pré-cliniques et quelques essais cliniques. Il existe de nombreux exemples de Nbs marqués au  $^{89}\text{Zr}$  par chélation, ces expériences utilisant principalement une cage DFO (desferrioxamine B) (**Schéma 121**).<sup>141</sup> Les rendements radiochimiques n'ont pas été donnés ici mais la pureté radiochimique est généralement supérieure à 99%.

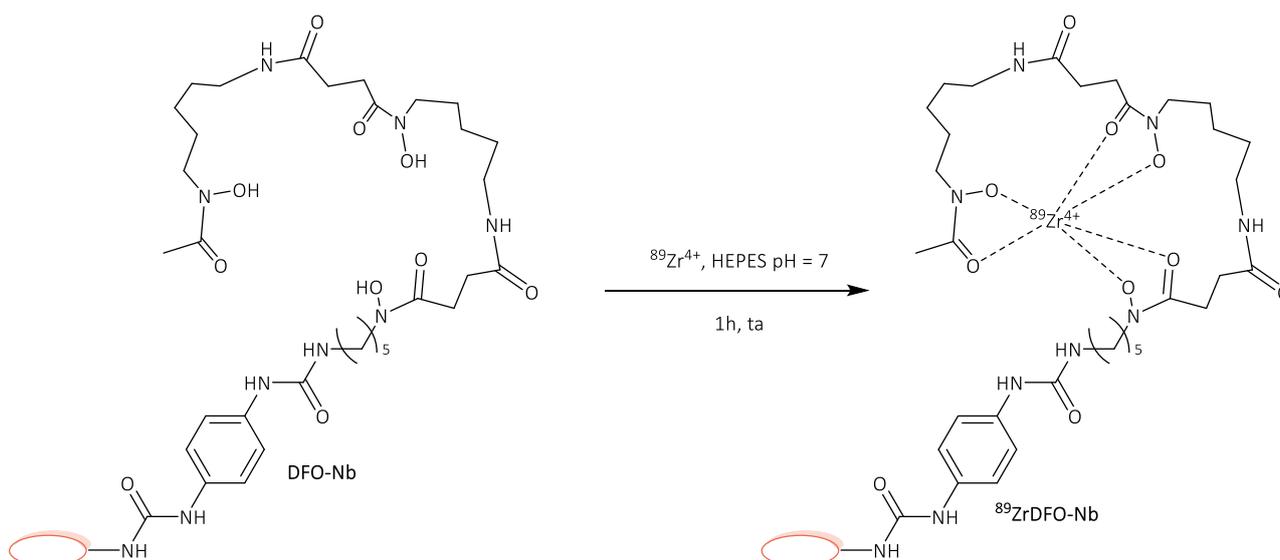


Schéma 121 - Cage DFO pour  $^{89}\text{Zr}$

Cependant, cette chélation donne des conjugués moins stables que dans le cas de l'utilisation de liaisons covalentes (comme pour le fluor-18).

<sup>141</sup> Lesniak W. G., Chu C., Jablonska A., Azad B. B., Zwaenepoel O., Zawadzki M., Lisok A., Pomper M. G., Walczak P., Gettemans J., Janowski M. PET imaging of distinct brain uptake of a nanobody and similarly-sized PAMAM dendrimers after intra-arterial administration. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **2019**, 46, 1940–1951.

### ❖ Marquage au gallium-68

Principalement utilisé pour des peptides à cause de son temps de demi-vie court, le marquage au gallium-68 a également été utilisé par réaction de chélation directe comme pour le  $^{89}\text{Zr}$ . La cage utilisée dans ce cas a été une cage NOTA, mais il existe dans la littérature une grande diversité de motifs pour fixer le  $^{68}\text{Ga}$  (contrairement au  $^{89}\text{Zr}$ ) (Schéma 122).<sup>142,143</sup>

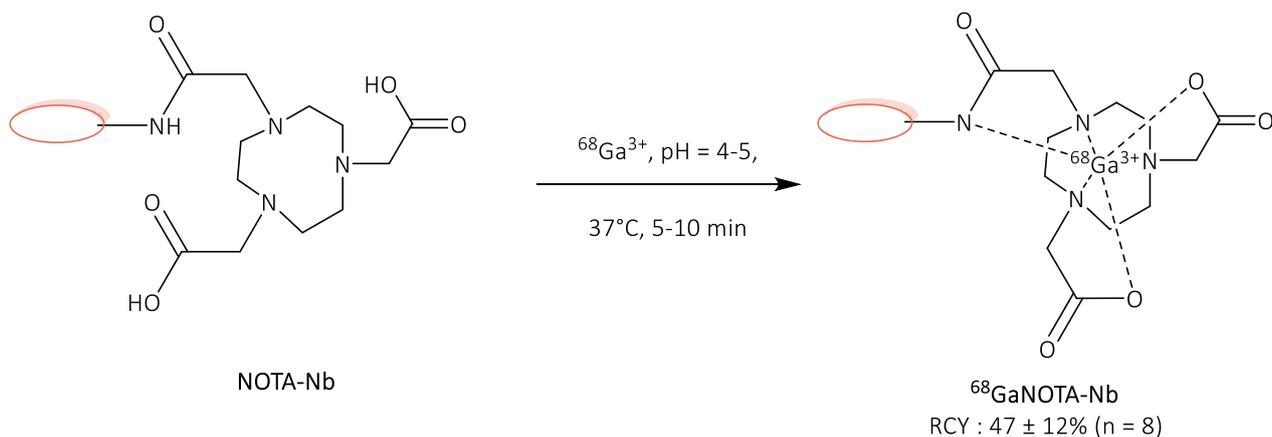


Schéma 122 - Marquage par chélation en utilisant du  $^{68}\text{Ga}$

### ❖ Marquage au fluor-18

Il existe deux types de marquage utilisant le fluor-18 :

- le marquage par chélation grâce à un complexe aluminium-fluor-18,
- le marquage indirect *via* la formation d'une liaison covalente.

Dans le cas du marquage *via* un complexe aluminium-fluor-18, celui-ci s'est développé car il existe de nombreuses cages potentielles permettant la liaison à un Nb. Par exemple, la cage RESCA permet de réaliser la réaction de chélation à température ambiante pendant 12 min, contrairement à certaines structures où il est nécessaire de chauffer (Schéma 123). La réaction a lieu en deux étapes : la première consiste à échanger un chlorure par un fluor-18 sur le chlorure d'aluminium (III)  $\text{AlCl}_3$ , puis de complexer le produit par la cage RESCA préalablement bioconjuguée.<sup>144</sup> Le rendement d'activité

<sup>142</sup> Wang C., Chen Y., Hou Y. N., Liu Q., Zhang D., Zhao H., Zhang Y., An S., Li L., Hou J., Huang G., Liu J., Zhao Y. J., Wei W. ImmunoPET imaging of multiple myeloma with [ $^{68}\text{Ga}$ ] Ga-NOTA-Nb1053. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **2021**, 48, 2749–2760.

<sup>143</sup> Wadas T. J., Wong E. H., Weisman G. R., Anderson C. J. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium, and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease. *Chem. Rev.*, **2010**, 110, 2858–2902.

<sup>144</sup> Cleeren F., Lecina J., Bridoux J., Devoogdt N., Tshibangu T., Xavier C., Bormans G. Direct fluorine-18 labeling of heat-sensitive biomolecules for positron emission tomography imaging using the  $\text{Al}^{18}\text{F}$ -RESCA method. *Nature Protocols*, **2018**, 13, 2330-2347.

de la réaction a été compris entre 35 et 55%, et la pureté radiochimique était supérieure à 98% dans tous les cas.

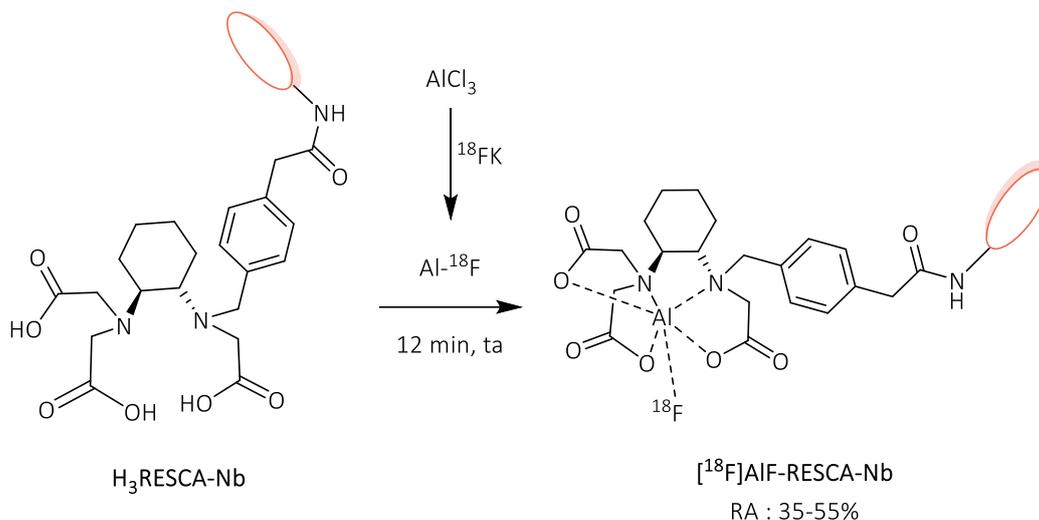


Schéma 123 - Marquage d'un Nb avec un complexe aluminium-fluor-18

Concernant le marquage de Nb à l'aide de groupements prosthétiques, il existe peu d'exemples car il faut que ceux-ci soient solubles dans le milieu PBS dans lequel a lieu la réaction de couplage. Un premier exemple a été le marquage d'un affibody® spécifique de récepteur HER2 (surexprimé dans les cancers du sein) en utilisant le  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FBEM}$  ( $[\text{}^{18}\text{F}]\text{fluorobenzamide}$ ) éthyl maléimide) (Schéma 124).<sup>145</sup>

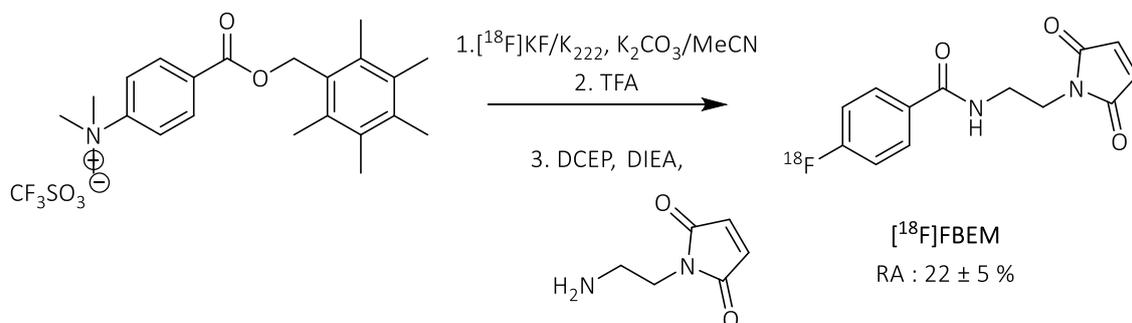


Schéma 124 - Synthèse de  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FBEM}$

Le groupement prosthétique a ensuite été couplé avec l'affibody® à l'aide d'une réaction de couplage maléimide-thiol (Schéma 125). Le rendement radiochimique global de la réaction de marquage a été de 11%. Il est à noter que cette réaction n'a pas été automatisée.

<sup>145</sup> Kisewetter D. O., Krämer-Marek G., Ma Y., Capala J. Radiolabeling of HER2-specific Affibody® molecule with F-18. *Journal of Fluorine Chemistry*, **2008**, 129, 799–806.

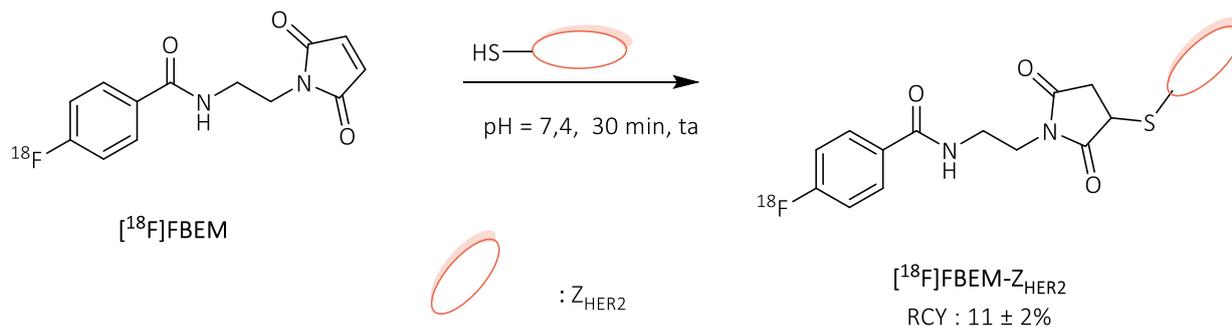


Schéma 125 - Couplage entre l'affibody et le  $[^{18}\text{F}]\text{FBEM}$

Un second exemple a utilisé un autre GP à base de pyridine qui a permis d'obtenir un Nb marqué *via* une conjugaison de chimie "click" de type SPAAC (Schéma 126).<sup>146</sup> Dans un premier temps, le GP a été marqué à l'aide d'une réaction de  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  à 120°C dans le DMSO pendant 14 min. Ensuite, la réaction de couplage a été réalisée dans une solution de PBS à 45°C pendant 45 min, ce protocole permettant d'obtenir le Nb marqué désiré avec un rendement d'activité de 9 à 10%.

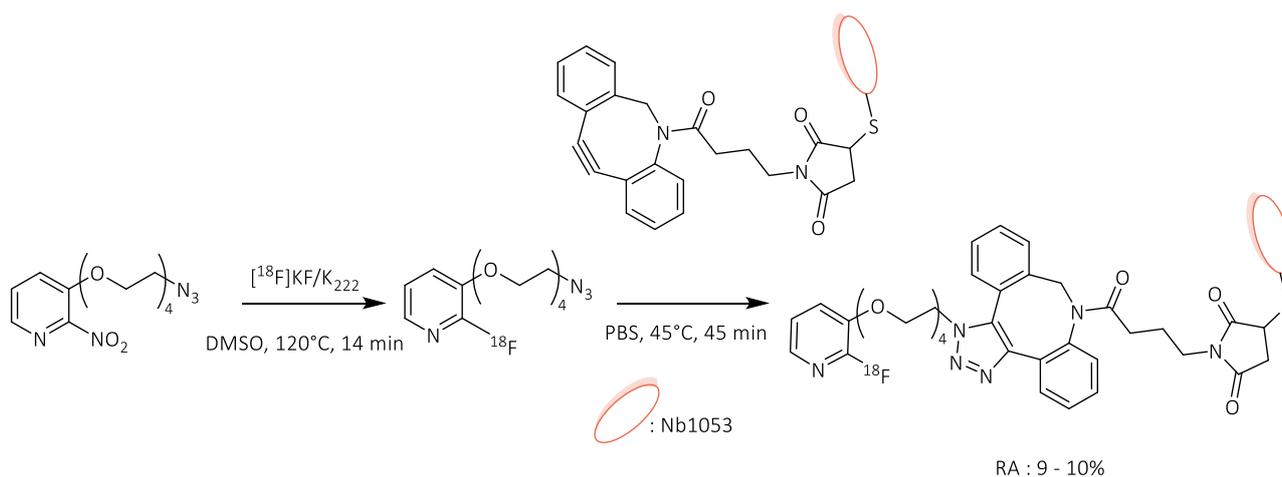


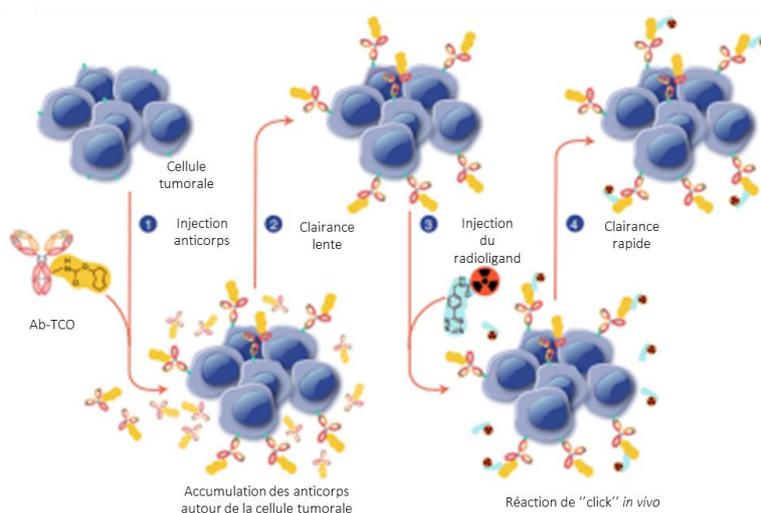
Schéma 126 - Marquage d'un Nb à l'aide d'une réaction de type SPAAC

Il est important de noter que bien que les réactions de chélation soient plus faciles à mettre en œuvre, les radiométaux ont tendance à se décomplexer plus facilement du traceur en milieu biologique que par un marquage avec un radioélément covalent. Cette perte du radiométal crée donc des bruits de fond qui peuvent diminuer la résolution de l'image finale. Le marquage par liaison covalente reste donc à privilégier dans la mesure du possible.

<sup>146</sup> Weijun W., Zhang D., Wang C., Zhang Y., An S., Chen Y., Huang G., Liu J. Annotating CD38 Expression in Multiple Myeloma with  $[^{18}\text{F}]\text{F-Nb1053}$ . *Molecular Pharmaceutics*, **2022**, 19,10, 3502-3510.

### c. Pré-targeting d'anticorps

Afin de réaliser le radiomarquage de fragments d'anticorps ou d'anticorps avec des éléments de plus courtes durées de vies tel que le fluor-18 ou le carbone-11, il est possible d'utiliser une méthode par pré-targeting. Dans cette stratégie, l'anticorps ou le fragment d'anticorps (possédant une fonctionnalité pouvant réagir de façon bio-orthogonale) est injecté en intraveineuse en amont. Une fois la cible atteinte, un composé radiomarqué capable de réaliser la réaction bio-orthogonale avec l'anticorps est alors injecté (**Fig. 47**). Les deux composés réagissent entre eux *in vivo*. Cette technique permet donc de visualiser des structures possédant des temps de demi-vie biologique important par rapport au fluor-18 ou au carbone-11. Cependant, il faut que le composé marqué rencontre l'anticorps injecté. Cette technique peut donc être utilisée uniquement pour les anticorps restant à la surface des cellules.



**Figure 47** - Les différentes étapes du pré-targeting

La réaction bio-orthogonale la plus utilisée est la IEDDA, mais il existe d'autres d'exemples. Ces exemples décrits utilisent des réactions de chélation  $^{18}\text{F-Al}^{147}$ ,  $^{68}\text{Ga}^{148}$  ou  $^{64}\text{Cu}^{149}$  ou du marquage

<sup>147</sup> Meyer J.-P., Houghton J. L., Kozlowski P., Abdel-Atti D., Reiner T., Pillarsetty N. V., Scholz W. W., Zeglis B. M., Lewis J. S.  $^{18}\text{F}$ -Based Pretargeted PET Imaging Based on Bioorthogonal Diels–Alder Click Chemistry. *Bioconjug Chem.*, **2016**, 27, 298-301.

<sup>148</sup> Summer D., Mayr S., Petrik M., Rangger C., Schoeler K., Vieider L., Matuszczak B., Decristoforo C. Pretargeted Imaging with Gallium-68—Improving the Binding Capability by Increasing the Number of Tetrazine Motifs. *Pharmaceuticals*, **2018**, 11, 102.

<sup>149</sup> Cook B. E., Adumeau P., Membreno R., Carnazza K. E., Brand C., Reiner T., Agnew B. J., Lewis J. S., Zeglis B. M. Pretargeted PET Imaging Using a Site-Specifically Labeled Immunoconjugate. *Bioconjugate Chem.*, **2016**, 27, 1789–1795.

covalent avec le  $^{11}\text{C}^{150}$  (Schéma 127). Dans tous les cas, c'est la Tz qui est marquée mais rarement le TCO pour des raisons de solubilité.

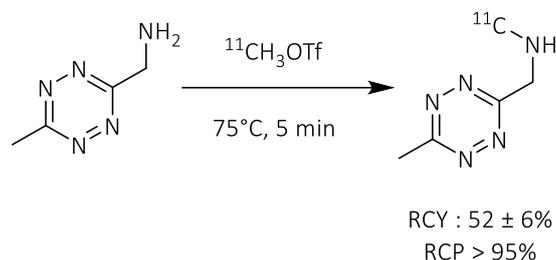


Schéma 127 - Tz avec un  $^{11}\text{C}$  pour le marquage d'anticorps via une stratégie de "pré-targeting"

D'autres réactions bio-orthogonales ont également été utilisées comme l'interaction de la streptavidine (protéine de 53 kDa issue des bactéries *Streptomyces avidinii*), cette reconnaissance se faisant grâce à une très bonne affinité avec la biotine. Trois différents marquages ont par exemple été mis en place.<sup>151</sup>

Dans le premier cas, le radioélément a été installé sur la streptavidine puis sur la biotine. Cependant la présence de biotine dans le sang a posé des problèmes dans les deux cas. Il a donc été décidé de mettre une biotine à la fois sur l'anticorps et sur le radioélément, puis d'injecter une streptavidine capable de se lier à plusieurs biotines. Cela a permis de diminuer la quantité de biotine dans le sang et d'obtenir la ligation avec l'anticorps. Cette dernière expérience a donné les meilleurs résultats *in vivo*, mais malheureusement les patients ont commencé à créer des anticorps contre la streptavidine, rendant cette expérience de "pré-targeting" réalisable une seule fois.

Des anticorps bispécifiques ont également été utilisés, ceux-ci utilisant un Nb pour reconnaître l'anticorps injecté en amont, mais cette stratégie n'a pas diminué la complexité du marquage. Enfin, la dernière réaction a utilisé l'appariement d'oligo-nucléotides complémentaires. Cependant de nombreux problèmes de solubilité, de dégradation et de temps de demi-vie biologique incompatible ont été mis en évidence. Ainsi, les réactions les plus prometteuses pour le "pré-targeting" restent donc les couplages bio-orthogonaux de type IEDDA et SPAAC.

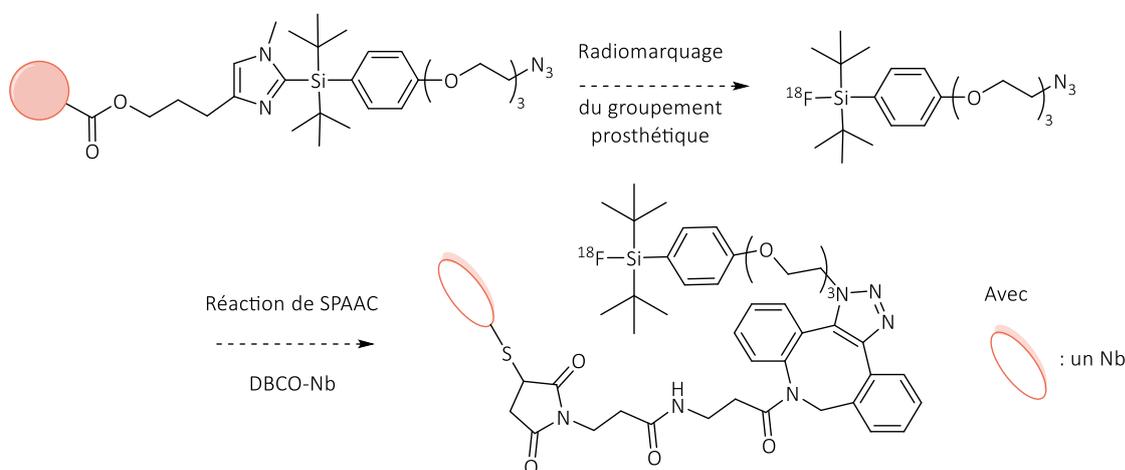
<sup>150</sup> Denk C., Svatunek D., Mairinger S., Stanek J., Filip T., Matscheko, D., Kuntner C., Wanek T., Mikula H. Design, Synthesis, and Evaluation of a Low-Molecular-Weight  $^{11}\text{C}$ -Labeled Tetrazine for Pretargeted PET Imaging Applying Bioorthogonal in Vivo Click Chemistry. *Bioconjugate Chem.*, **2016**, 27, 1707–1712.

<sup>151</sup> Altai M., Membreno R., Cook B., Tolmachev V., Zeglis B., M. Pretargeted Imaging and Therapy. *J. Nucl. Med.*, **2017**, 58, 1553-1559.

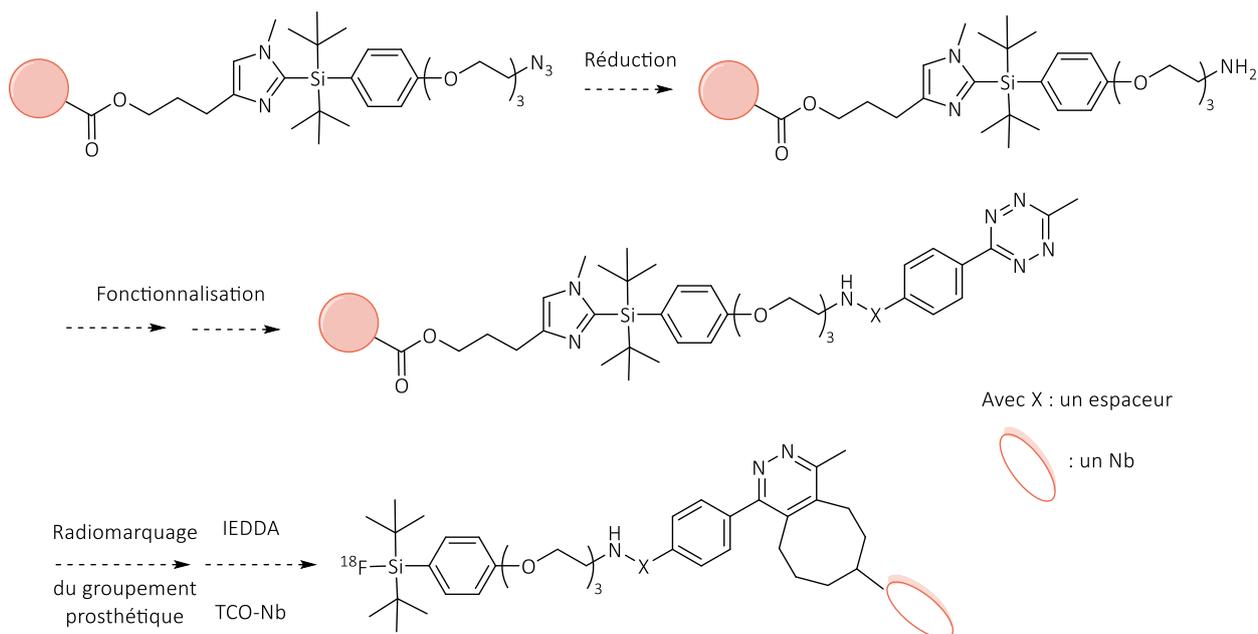
## 2. Synthèse de la nouvelle plateforme Imid-SiFA

Bien qu'une méthode de radiosynthèse directe ait été efficacement développée dans le chapitre précédent, les conditions de greffage et de marquage (solvant, température de chauffage, réaction de bioconjugaison,...) employées pour envisager un marquage direct de ce type de structure sont à priori incompatibles. Il a donc été décidé de mettre au point une méthode de marquage indirect des Nbs. Dans un premier temps, la plateforme a ainsi été modifiée pour présenter un azoture terminal ou une Tz terminale afin d'effectuer des réactions de SPAAC et d'IEDDA dans la seconde étape de bioconjugaison (**Schéma 128**).

Marquage indirect par réaction de SPAAC



Marquage indirect par IEDDA



**Schéma 128** - Différentes stratégies envisagées pour le radiomarquage indirect de Nbs

❖ Plateforme Imid-SiFA supportée présentant un azoture

Afin d'obtenir une plateforme contenant un azoture, la voie de synthèse a été modifiée juste avant le greffage. Pour ce faire une chaîne PEG contenant un azoture et un groupement tosylo a été synthétisée par ditosylation du triéthylène glycol dans le dichlorométhane en présence de chlorure de tosylo et de triéthylamine et agitation à température ambiante pendant 2 jours. Le composé ditosylé **191** a ainsi été obtenu avec un rendement de 72%, puis il a été mis en présence de NaN<sub>3</sub> (0,6 eq) dans du DMF à température ambiante pendant 18h. Le composé désiré **192** a ainsi été obtenu avec un rendement de 93% (Schéma 129).

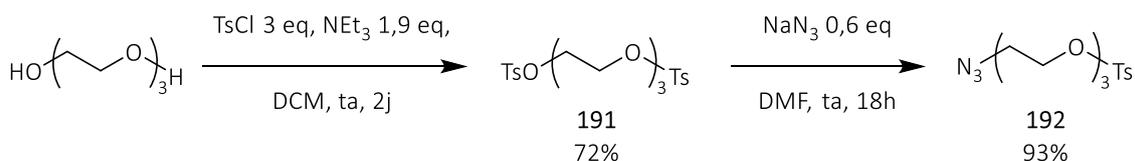


Schéma 129 - Fonctionnalisation de la chaîne PEG par un azoture

Une fois le dérivé de chaîne PEG **192** obtenu, celui-ci a été mis en présence de **168** dans le THF avec du *tert*-butylate de potassium à température ambiante. L'agitation du mélange pendant 3 jours a permis d'obtenir la plateforme Imid-SiFA **193** avec un rendement de 48% (Schéma 130).

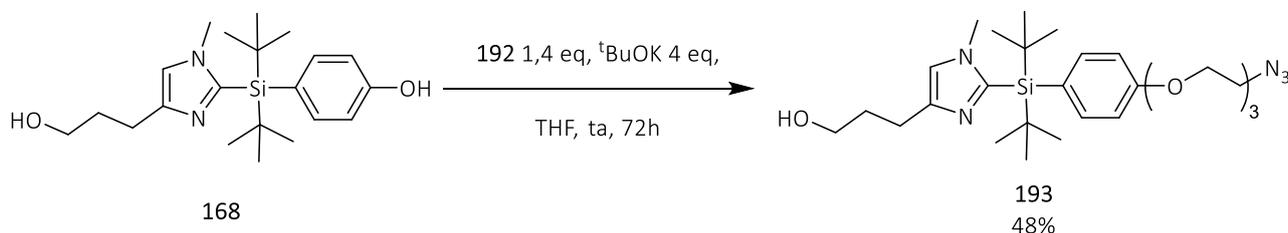


Schéma 130 - Synthèse de la plateforme **193** portant un azoture terminal

Celle-ci a ensuite été greffée sur une résine en suivant le protocole développé précédemment, c'est-à-dire en présence de billes de polystyrène PS-Cl, de DMAP et de Et<sub>3</sub>N dans le toluène à 110°C pendant 3 jours, ce qui a permis d'obtenir la résine **PS-194** à 0,4 mmol/g (Schéma 131).

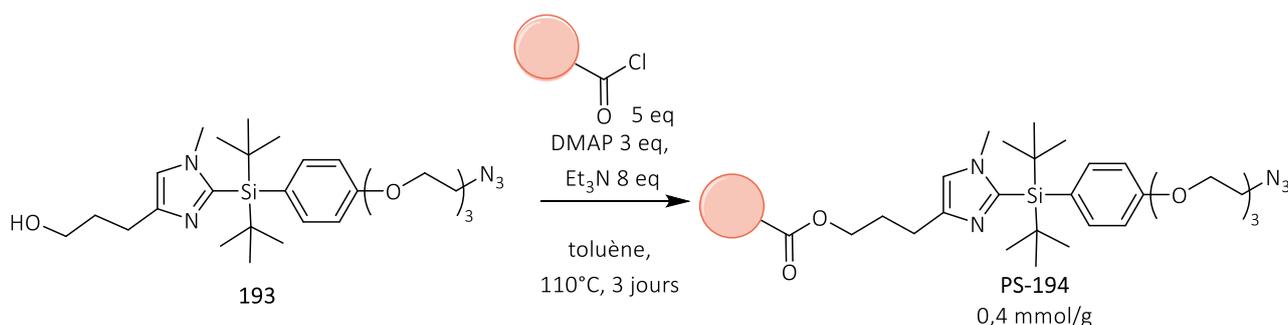
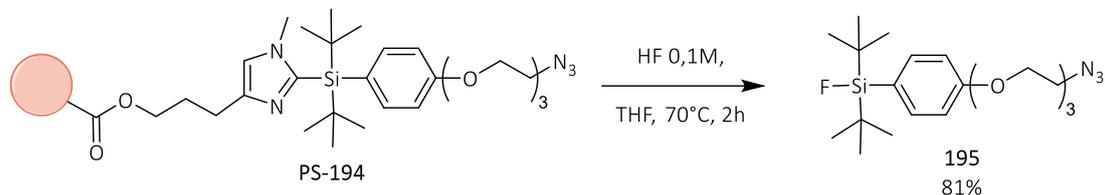


Schéma 131 - Greffage de la nouvelle plateforme Imid-SiFA **193** sur des billes de polystyrène

Une fluoration d'un échantillon de la résine obtenue a été fait afin de vérifier le greffage du composé sur la résine (**Schéma 132**). La fluoration a été réalisée avec 30% d'une solution de HF à 0,1 M dans le THF, ce qui a donné le composé **195** avec un rendement sur les deux étapes de 81%.

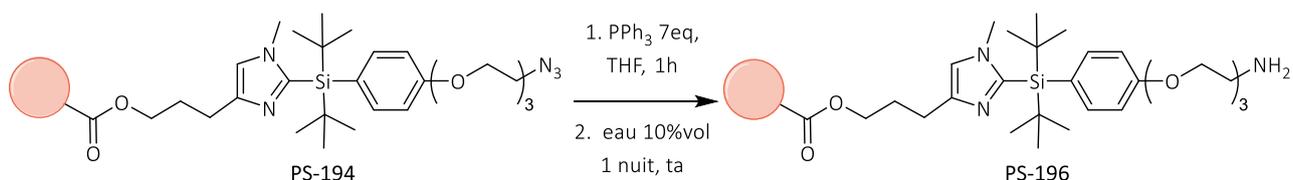


**Schéma 132** - Micro-clivage de la résine pour obtenir le produit **195**

Cette première résine **PS-194** permettra de mettre au point une synthèse indirecte de radiofluoration avec des Nbs à l'aide d'une réaction de chimie "click" SPAAC.

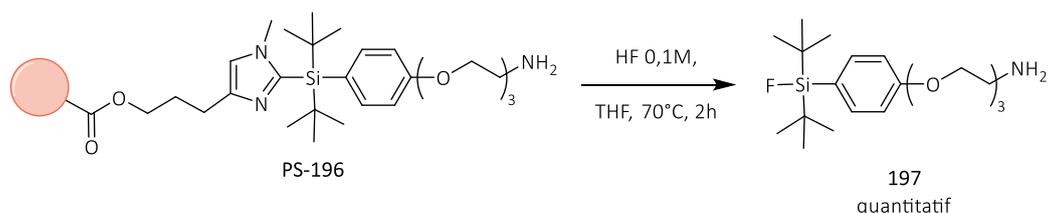
#### ❖ Plateforme Imid-SiFA possédant une tétrazine

A cause de la présence de cuivre lors de la réaction de couplage qui pourrait dégrader la Tz, la résine **PS-179** n'a pas été utilisée pour fonctionnaliser la plateforme. Il a donc été décidé de réduire la résine **PS-194** à l'aide d'une réaction de réduction de Staudinger pour transformer l'azoture en amine (**Schéma 133**). Cette réduction a été faite par de la triphénylphosphine dans le THF (9 mL) pendant 1h à température ambiante, puis de l'eau (1 mL) a été ajoutée au milieu réactionnel. La formation de diazote est très rapide, mais la réaction a été laissée à température ambiante toute la nuit pour assurer une conversion totale.



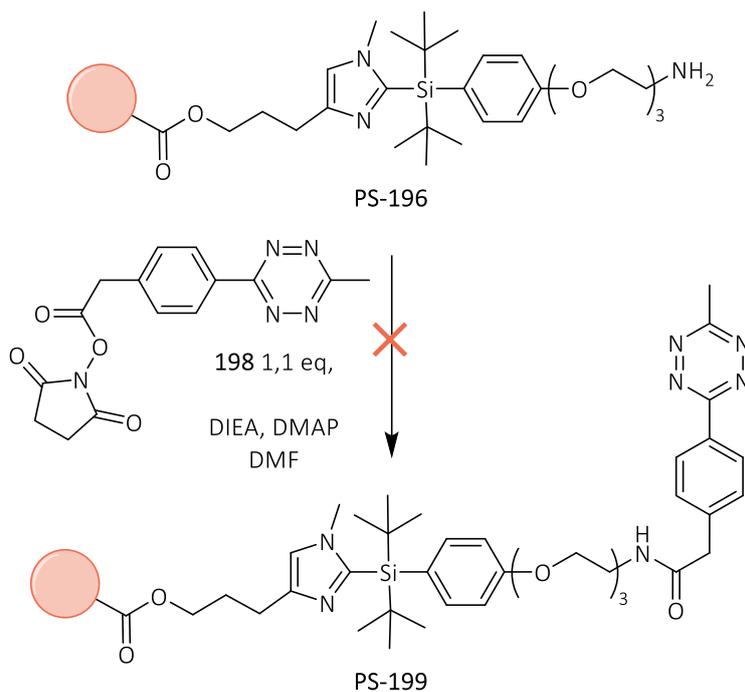
**Schéma 133** - Réduction de l'azoture supporté **PS-194** grâce à une réduction de Staudinger

Un micro-clivage a été ensuite effectué afin de vérifier que tous les azotures ont bien été réduits. La réaction de fluoration a été reproduite dans les mêmes conditions que précédemment, permettant d'obtenir le composé **197** quantitativement (**Schéma 134**).



**Schéma 134** - Réaction de fluoration permettant d'obtenir **197**

Une fois **PS-196** obtenue, celle-ci a été mise en réaction avec un ester activé portant une Tz **198** (composé présentant une coloration violette-rose intense) en présence de DMAP et DIEA dans le DMF (**Schéma 135**). La réaction a été agitée pendant une journée à température ambiante, cependant l'intensité du milieu réactionnel n'ayant pas diminué, celui-ci a été chauffé pendant 2 jours à 50°C. Ensuite, un micro-clivage a été effectué après filtration de la résine résultante, mais seul le composé **197** a été récupéré.



**Schéma 135** - Tentative de fonctionnalisation de la plateforme Imid-SiFA supportée **PS-196** à l'aide d'une Tz **198**

Un nouvel espaceur permettant de coupler deux amines a été envisagé et la résine **PS-196** a été mise en réaction avec le 1,4-phénylène de diisothiocyanate (PIDTC). Dans un premier temps, la benzylamine a été utilisée afin d'évaluer la faisabilité de cette stratégie (**Schéma 136**). Afin d'essayer d'optimiser cette réaction, la température de réaction et le nombre d'équivalents ont été modifiés (**Tableau 26**). Cependant, dans la plupart des essais une conversion incomplète conduisant au mélange de **201** et de **197** a été observé et le chauffage à 130°C n'a conduit qu'à l'apparition de produits de dégradation. Il est à noter que les essais ont été mis au point sur des petites quantités (maximum 40  $\mu\text{mol}$ ), et les produits ont été uniquement analysés par spectrométrie de masse afin de détecter une disparition du composé **197**.

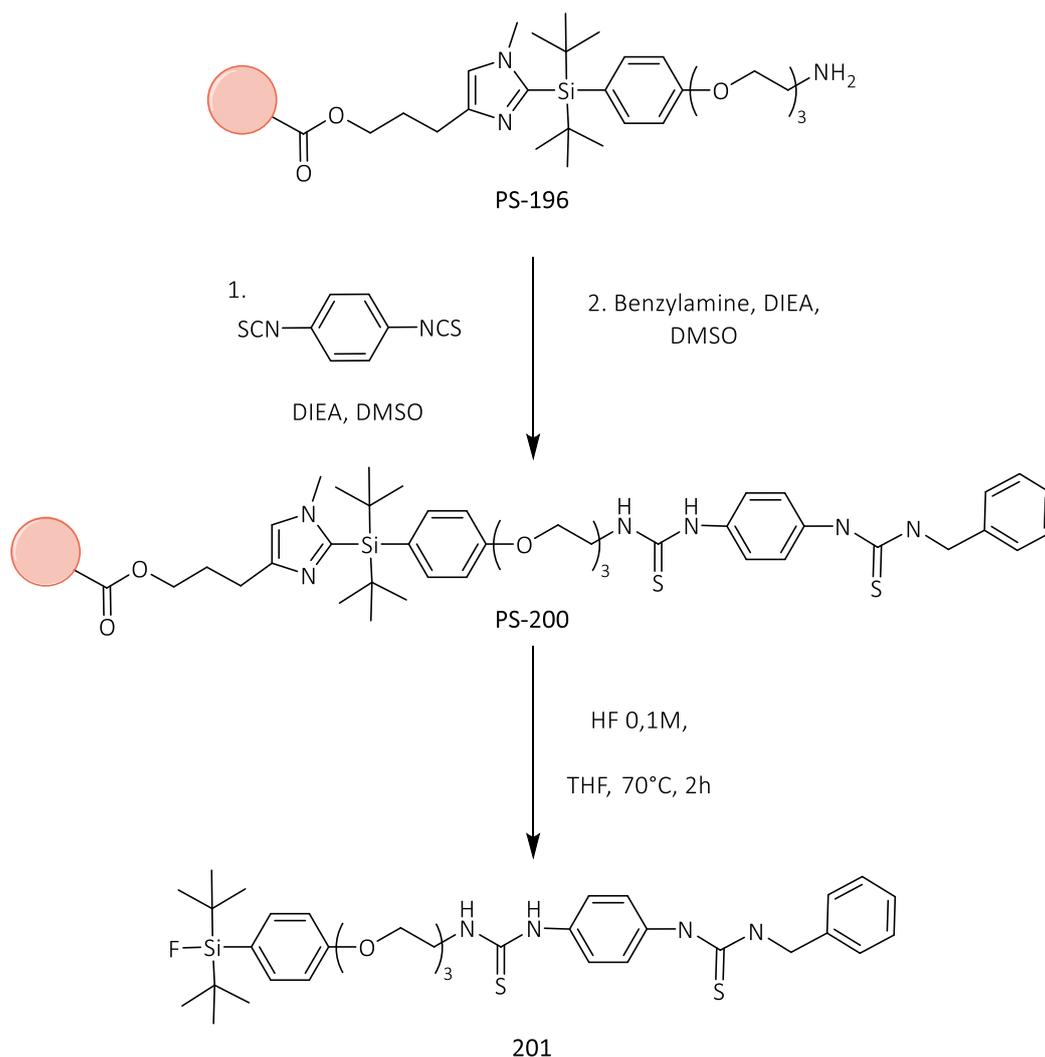


Schéma 136 - Essais de conjugaison via la formation d'un produit bis-thiourée

Tableau 26 - Essais d'une réaction modèle sélective des amines

Essais	Conditions	Résultats
1	1. PIDTC <b>7 eq</b> , DIEA 15eq, DMSO, <b>ta</b> , 18h 2. Benzylamine 7 eq, DIEA 15eq, DMSO, <b>ta</b> , 18h	Présence en masse de <b>201</b> et <b>197</b>
2	1. PIDTC <b>20 eq</b> , DIEA 15eq, DMSO, <b>ta</b> , 18h 2. Benzylamine 7 eq, DIEA 15eq, DMSO, <b>ta</b> , 18h	Présence en masse de <b>201</b> et <b>197</b>
3	1. PIDTC <b>13 eq</b> , DIEA 15eq, DMSO, <b>70°C</b> , 18h 2. Benzylamine 7 eq, DIEA 15eq, DMSO, <b>ta</b> , 18h	Présence en masse de <b>201</b> et <b>197</b>
4	1. PIDTC <b>7 eq</b> , DIEA 15eq, DMSO, <b>100°C</b> , 18h 2. Benzylamine 3 eq, DIEA 15eq, DMSO, <b>ta</b> , 18h	Présence en masse de <b>201</b> et <b>197</b>
5	1. PIDTC <b>7 eq</b> , DIEA 15eq, DMSO, <b>130°C</b> , 18h 2. Benzylamine 3 eq, DIEA 15eq, DMSO, <b>ta</b> , 18h	Produits de dégradation

Bien que cette réaction ne soit pas totale, un essai a été tenté avec l'amine Tz **202** (Schéma 137). Suite à cette réaction de conjugaison, la résine s'est colorée en rose (même couleur que **202**), mais le composé **204** n'a pas pu être obtenu malgré plusieurs essais de micro-clivage. Il a donc été supposé que les conditions de la fluoruration n'étaient pas compatibles avec la Tz. Une tentative de couplage d'IEDDA a été testé en mélangeant la résine obtenue avec un dérivé de TCO. Cependant, bien que la couleur rose de la résine ait disparu après l'ajout du TCO, seuls des produits de dégradation non identifiables ont été observés en spectrométrie de masse après fluoruration.

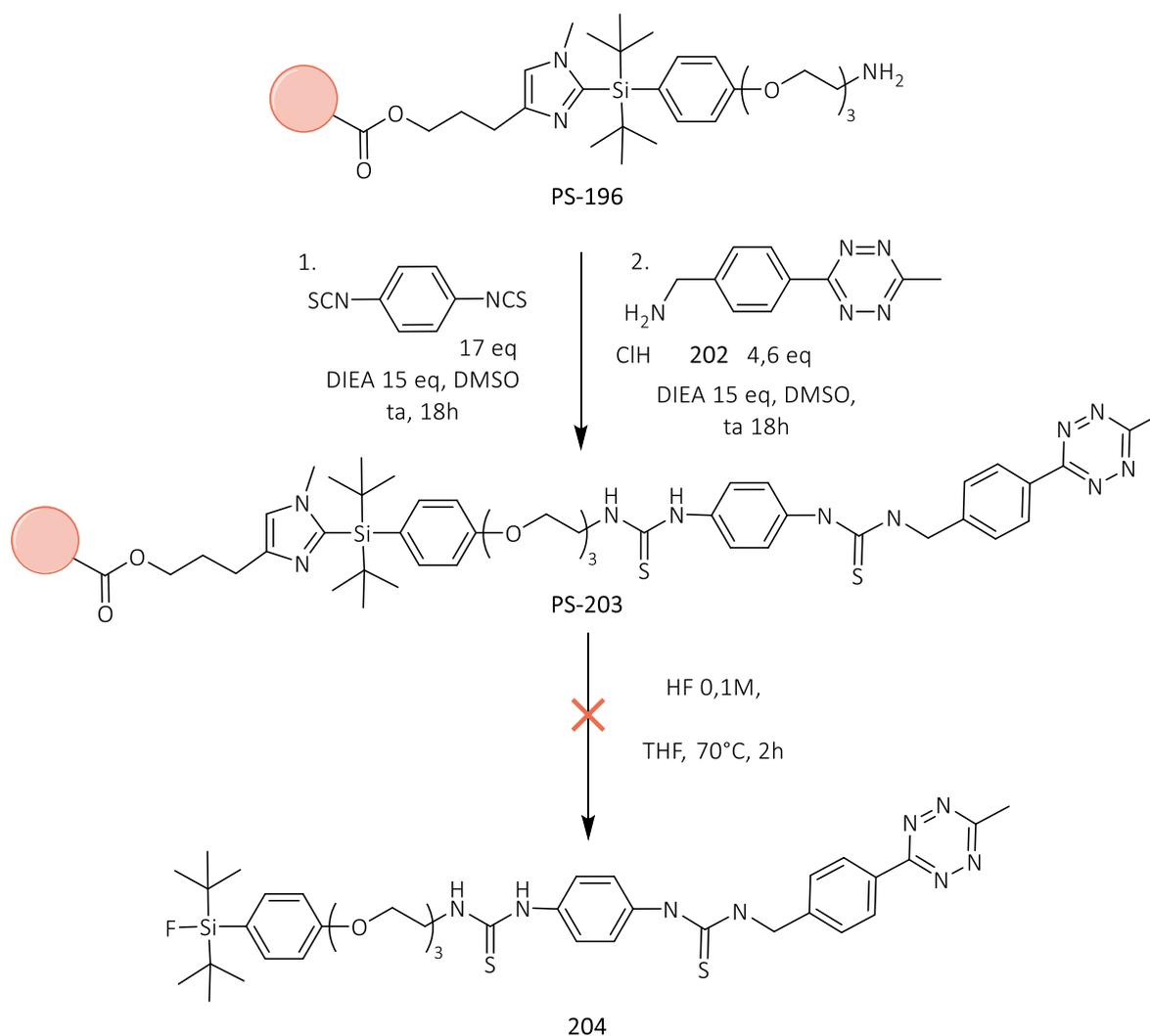
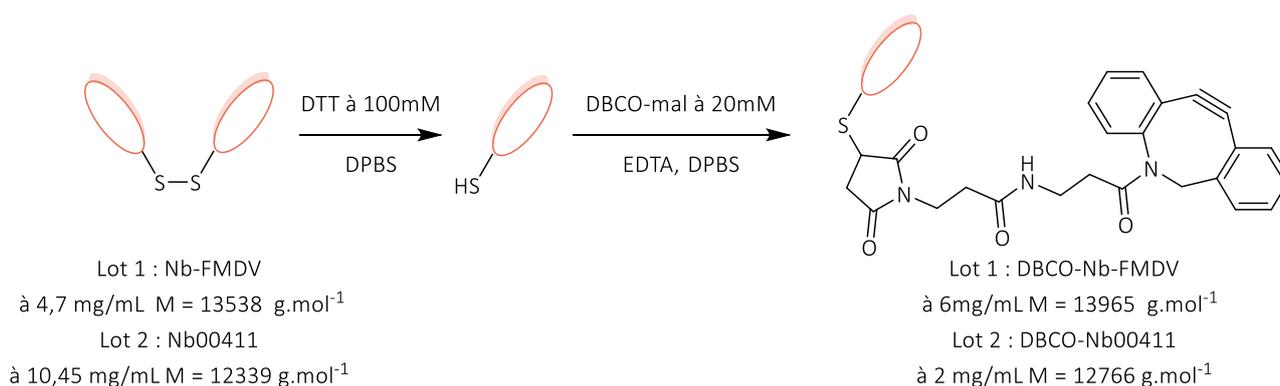


Schéma 137 - Tentative de synthèse d'un précurseur Imid-SiFA supporté possédant un groupe phényl-Tz

### ❖ Préparation des Nbs

Face à l'échec de la fonctionnalisation de la résine à l'aide d'une fonction Tz, la bioconjugaison d'un Nb avec un **DBCO-maléimide** a été effectuée (**Schéma 138**). Les Nbs utilisés sont tous des Nbs modèles, c'est-à-dire qu'ils ne possèdent aucune affinité avec un quelconque récepteur biologique ciblé pour des raisons thérapeutiques. Les Nbs doivent toujours être manipulés en solution et les réactions sur ceux-ci sont suivies par concentration. Les étapes de purifications ont été réalisées par exclusion stérique sur des gels polysaccharidiques de filtration par gravité de type Sephadex appelés NAP<sup>TM</sup>-5 ou NAP<sup>TM</sup>-10. La différence entre les deux colonnes est uniquement liée au volume maximal qui peut être déposé sur les colonnes.

Les Nbs ont été conservés sous forme d'un dimère lié par un pont disulfure, ce qui permet leur stabilisation. La première étape a consisté à réduire le pont disulfure à l'aide dithiothréitol (DTT) dans le PBS. La réaction a été suivie par HPLC, permettant également de déterminer la concentration du Nb. Lorsque le Nb est totalement réduit, celui-ci est purifié sur des NAP<sup>TM</sup>-5 ou NAP<sup>TM</sup>-10 en utilisant du PBS en présence d'EDTA (acide éthylènediaminetétraacétique) permettant de stabiliser le thiol. Les Nbs ont ensuite été mis en présence de **DBCO-maléimide (DBCO-mal)**, donnant ainsi le **DBCO-Nb** avec des rendements moyens de 90%. Les Nbs ont été purifiés en utilisant des NAP<sup>TM</sup>-10, et ont ensuite été reconcentrés par centrifugation sur des filtres retenant les molécules avec une masse molaire supérieure à 10 kDa (Amicon® 4). La concentration finale des Nbs utilisés a été évaluée par nanodrop, spectrophotomètre où seulement 1-2 µL de solutions sont nécessaire pour évaluer la concentration d'une solution pouvant être comprise entre 6 ng.µL<sup>-1</sup> et 15 000 ng.µL<sup>-1</sup>.



**Schéma 138** - Fonctionnalisation des Nbs FMDV et Nb00411 avec un DBCO-maléimide

Après avoir été effectuée sur le Nb-FMDV, la réaction a également été faite une seconde fois sur un autre Nb (Nb00411) avec une concentration initiale et une masse molaire différente.

### 3. Radiomarquage indirect de Nb

Dans un premier temps, la radiosynthèse du groupement prosthétique [ $^{18}\text{F}$ ]195 a été mise au point. Une fois maîtrisée, différents protocoles ont été envisagés pour faire réagir ce GP avec le Nb.

#### a. Mise au point de la radiosynthèse du GP [ $^{18}\text{F}$ ]195

Tout d'abord, la radiosynthèse du groupement prosthétique a été optimisée en suivant les conditions mise au point dans le chapitre 2 (Schéma 139).

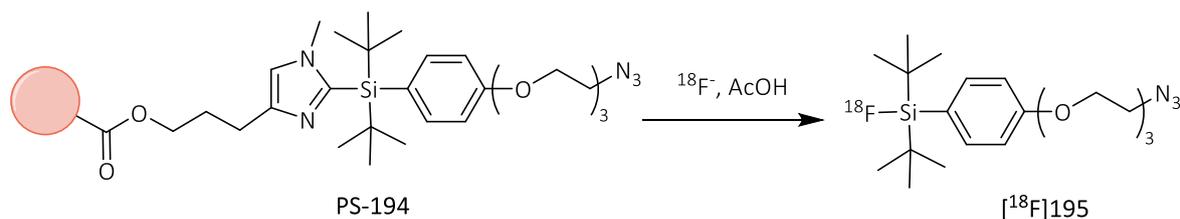


Schéma 139 - Réaction de radiofluoration du composé [ $^{18}\text{F}$ ]195

La réaction de marquage a été testée à 70°C et 100°C dans l'acétonitrile. Les rendements radiochimiques ont été de respectivement 9% et 8%, c'est-à-dire de l'ordre de grandeur de ceux mesurés pour le dérivé d'œstradiol [ $^{18}\text{F}$ ]184 (Fig. 48). Pour améliorer le rendement, il a donc été décidé d'augmenter le chauffage et de remplacer le solvant par du DMSO. Dans un premier temps, une réaction de contrôle a été réalisée à 100°C, celle-ci permettant d'obtenir le composé désiré avec un rendement radiochimique de 11%, légèrement supérieur à la valeur obtenue avec l'acétonitrile (8%). La réaction de radiofluoration a donc été tentée à 130°C et 160°C, permettant d'obtenir [ $^{18}\text{F}$ ]195 avec des rendements radiochimiques de 22% et 24% respectivement. Ainsi augmenter la température a permis une nette amélioration du rendement radiochimique. De plus, il est à noter que le changement de solvant a permis d'obtenir une pureté radiochimique supérieure passant de 67% en moyenne avec de l'acétonitrile à 82% en moyenne avec du DMSO.

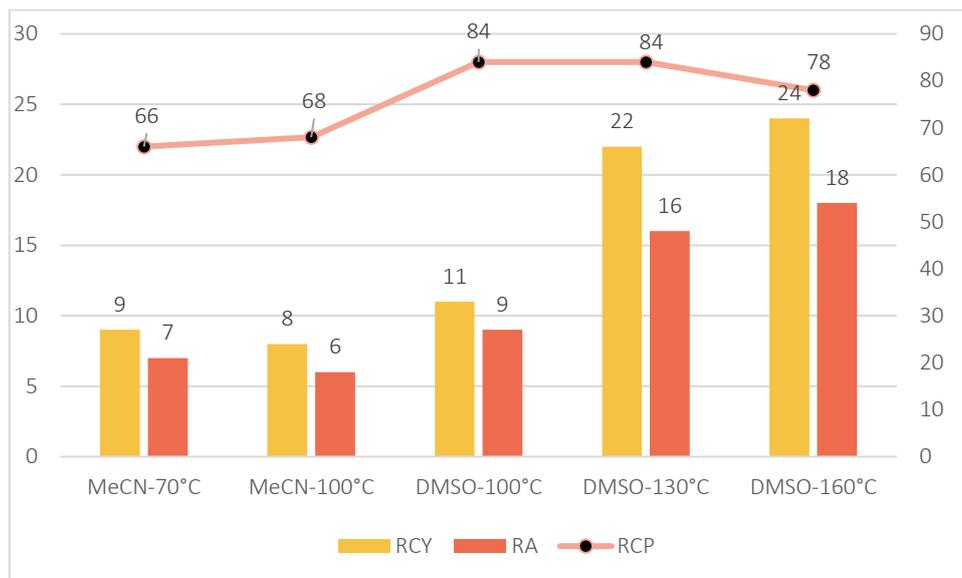


Figure 48 - Rendements et puretés radiochimiques de  $[^{18}\text{F}]195$  en fonction de la température et du solvant

Les conditions sélectionnées par la suite ont donc été un chauffage à 160°C pendant 15 min dans un mélange DMSO/eau à (85/15) en présence de 60 eq d'acide acétique et 2µmol de résine en suspension.

Tableau 27 - Tableau récapitulatif des réactions d'optimisation de  $[^{18}\text{F}]195$

	YVX1.381	YVX1.393	YVX1.396	YVX1.399	YVX1.403
Température	70°C	100°C	100°C	130°C	160°C
Solvant	Acétonitrile	Acétonitrile	DMSO	DMSO	DMSO
Rendement	9% dc (7% ndc)	8% dc (6% ndc)	11% dc (9% ndc)	22% dc (16% ndc)	24% dc (18% ndc)
Activité récupérée	851 MBq	587 MBq	876 MBq	1717 MBq	2090 MBq
Pureté radiochimique	66%	68%	84%	84%	78%

### b. Tests de différents protocoles de couplage avec le Nb

Une fois la radiosynthèse de  $[^{18}\text{F}]195$  optimisée, différents protocoles ont été mis en place afin de tenter de le coupler au DBCO-Nb pour obtenir le composé  $[^{18}\text{F}]205$  (Schéma 140). Une fois les Nbs fonctionnalisés, ceux-ci ont été concentrés dans quelques centaines de µL. Il est à noter que l'un des problèmes liés à l'automatisation du protocole de radiomarquage indirect concerne principalement les volumes morts de la cassette, des tubulures, et des aiguilles utilisées lors de cette synthèse. Le second problème concerne le phénomène d'adsorption des Nbs sur les surfaces plastiques. Il faut donc minimiser les aller-retour des Nbs dans les tubulures après injection dans le réacteur. Enfin, une

dernière limite est liée au fait que l'ajout de solvant organique en trop grande quantité peut faire précipiter le Nb (stable et soluble en tampon PBS). En effet, ce phénomène est irréversible et a été observé lors de différentes réactions pour certains Nb. Il est à noter que les réactions où le Nb a précipité ne seront pas détaillées ici.

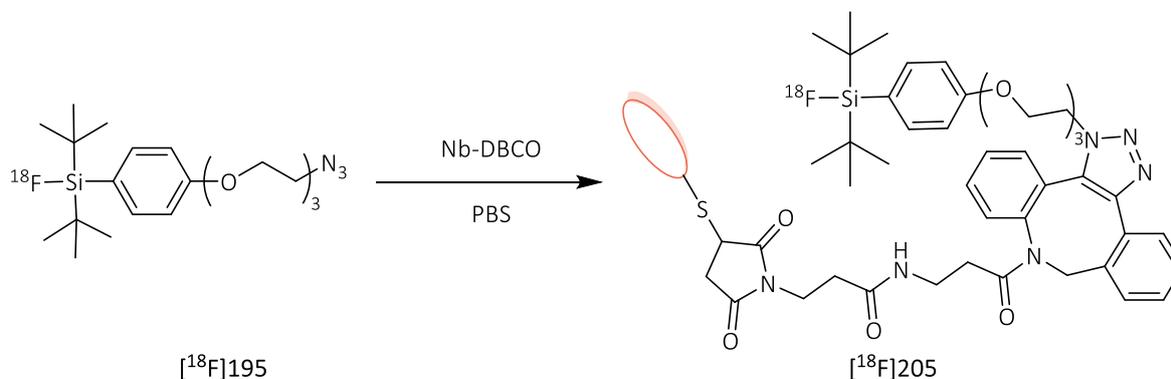


Schéma 140 - Radiomarquage indirect de Nb

#### ❖ Séchage azéotropique dans le réacteur 2

Dans un premier temps, la radiosynthèse du groupement prosthétique  $[^{18}\text{F}]195$  a été reproduite comme décrite précédemment, mais à la suite de la purification le  $[^{18}\text{F}]195$  a été directement élué de la cartouche C18 vers le réacteur 2. Un séchage du groupement prosthétique a été ensuite mis en place et le réacteur a été refroidi à 37°C. Dans une première expérience, le **DBCO-Nb-FMDV** (à 1,5mg/mL) présent dans un Eppendorf scellé (en V17) a été transféré sous vide vers ce réacteur. Le milieu réactionnel a alors été agité avec un léger flux d'azote pendant 60 min, mais le composé  $[^{18}\text{F}]205$  n'a pas été détecté par radio HPLC après prélèvement du brut. Dans une seconde expérience, un mélange PBS/DMSO (86/14) (350µL) a été injecté dans le réacteur et puis transféré sous vide *via* la logette de sortie vers l'Eppendorf scellé contenant le **DBCO-Nb-FMDV** (72µL à 6 mg/mL soit 422 µL à 1mg/mL avec 12% de DMSO après réception du contenu du réacteur 2). La réaction de bioconjugaison est donc réalisée dans la logette externe blindée par agitation au thermomixer.

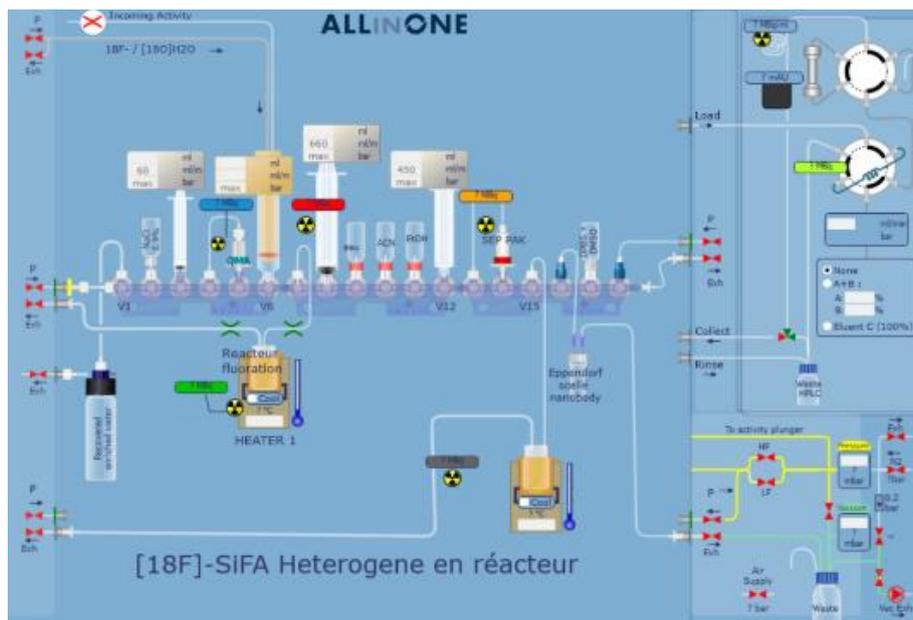


Figure 49 - Premier "layout" mis en place pour la radiosynthèse indirecte d'un Nb

Comme on peut le voir sur le graphique A (Fig. 50), après 20 min de réaction la courbe UV du milieu réactionnel (en vert) montre un épaulement confirmant la présence de deux réactifs initiaux. Il semblerait donc que le Nb ne se soit pas dégradé. Le graphique B montre quant à lui que le couplage entre  $[^{18}\text{F}]\text{195}$  et le DBCO-Nb-FMDV n'a pas eu lieu (Fig. 50). En effet, on peut observer que la courbe verte correspondant à la trace radio du mélange DBCO-Nb-FMDV /  $[^{18}\text{F}]\text{195}$  comporte un seul et unique pic radio décalé par rapport au chromatogramme UV du DBCO-Nb-FMDV (ici en bleu). Lors des deux radiosynthèses, le même résultat a été obtenu, c'est-à-dire l'absence de couplage entre le Nb et le  $[^{18}\text{F}]\text{195}$  également confirmée par CCM sur papier filtre.

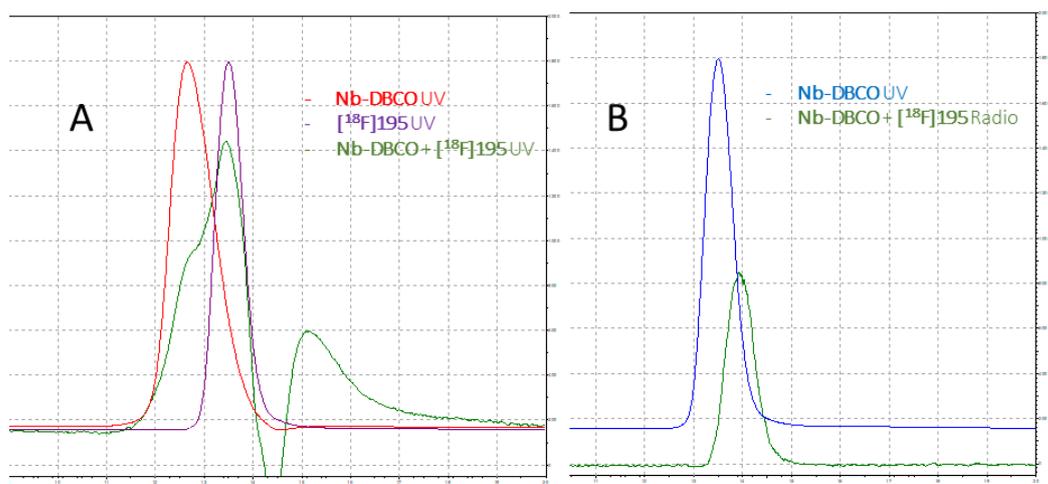


Figure 50 - Chromatogramme et radiochromatogramme de la radiosynthèse du premier essai de radiomarquage indirect d'un Nb

La précipitation du **DBCO-Nb-FMDV** n'ayant pas été observée, une analyse par HRMS a été effectuée après décroissance (t+2jours). Dans ce cas, la formation exclusive du composé **[<sup>18</sup>O]206** a été observée, indiquant que la réaction de SPAAC a eu lieu de manière totale (avec un ratio groupement prosthétique-Nb de 1) mais que cette réaction est trop lente par rapport au temps de demi-vie du fluor-18 (**Fig. 187**). Ces résultats ont tout de même confirmé que ce radiomarquage est possible, mais que les conditions de réactions devraient être modifiées pour accélérer cette réaction, par exemple en concentrant le milieu.

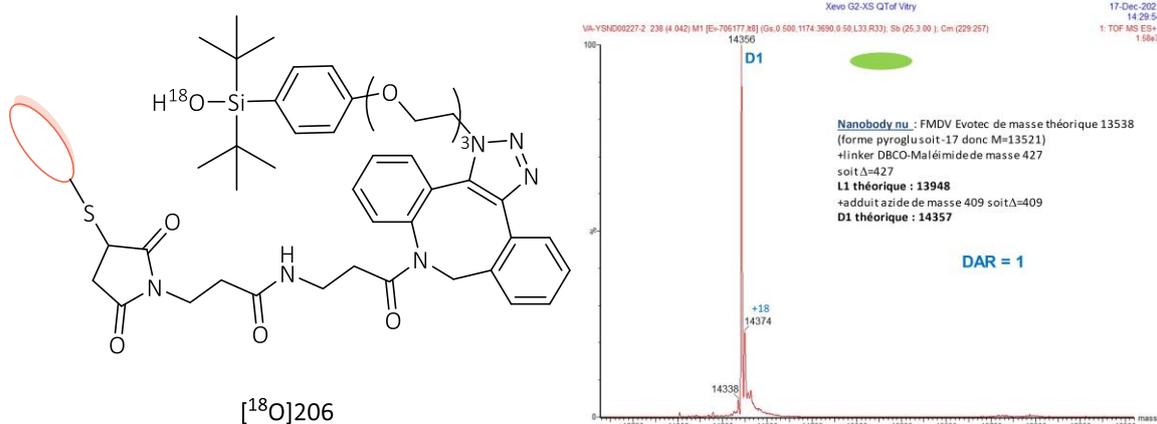


Figure 51 - Composé détecté systématiquement en masse après décroissance

#### ❖ Elution inversée vers le réacteur 2

Afin d'utiliser moins de solvant organique pour la purification *via* la cartouche C18, le groupement prosthétique **[<sup>18</sup>F]195** a été élué en sens inverse du dépôt avec seulement 1mL d'acétonitrile (contre 2,5 mL précédemment). De plus, cela permet de gagner du temps sur le séchage azéotropique et d'élué moins d'impureté (**Fig. 53**).

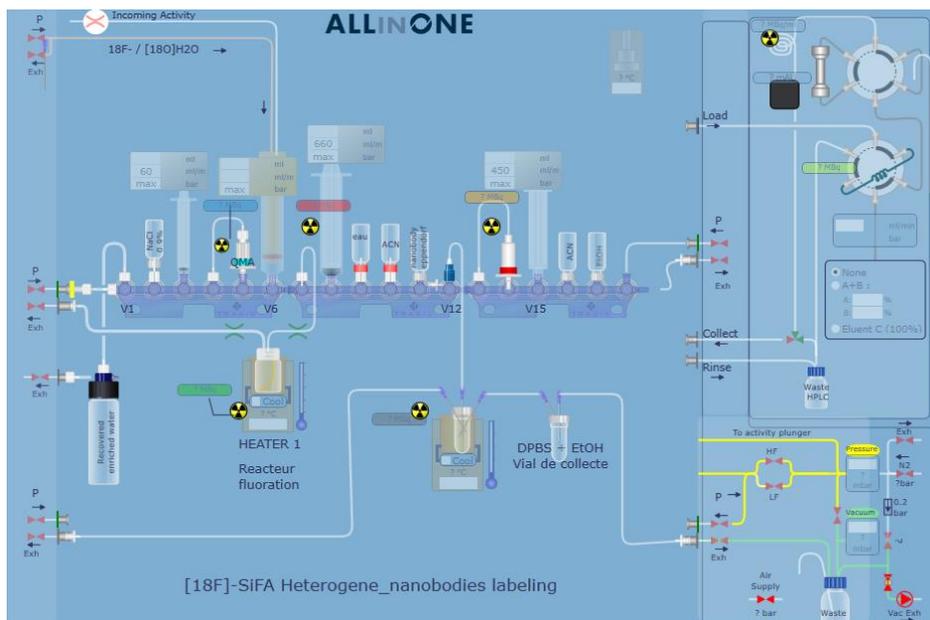


Figure 52 - Nouveau "layout" permettant l'élution en sens inverse de  $[^{18}\text{F}]195$  vers le réacteur 2

Après l'élution inverse, le séchage azéotropique a été effectué dans le réacteur 2 puis le Nb (à 1,5 mg/mL) a été transféré sous vide jusqu'au réacteur 2. Le mélange a été incubé pendant 20 min à température ambiante puis le milieu réactionnel a été transféré sous vide vers l'eppendorf scellé. Cependant, seulement 12,1 MBq ont été retrouvés dans cet Eppendorf, cette activité correspondant uniquement au groupement prosthétique marqué  $[^{18}\text{F}]195$ . Une grande partie du Nb semble également avoir été perdue dans les tubulures.

Suite à cet échec, il a été décidé de ne plus réaliser la réaction de bioconjugaison dans l'automate de synthèse et un nouveau "layout" a été mis en place (Fig. 53). Lors de ce nouveau protocole, l'élution inverse vers R2 a été conservée ainsi que le séchage azéotropique, puis de l'éthanol en voie 15 a été utilisé pour éluer le groupement prosthétique en dehors de la hotte blindée. Ainsi, différents Eppendorfs ont été chargés manuellement en dehors de la hotte blindée et ont été placés dans un agitateur orbitalaire placé dans la seconde hotte blindée. Le remplacement de l'acétonitrile par l'éthanol a été opéré car en théorie les Nbs peuvent supporter une proportion plus importante d'éthanol avant précipitation.

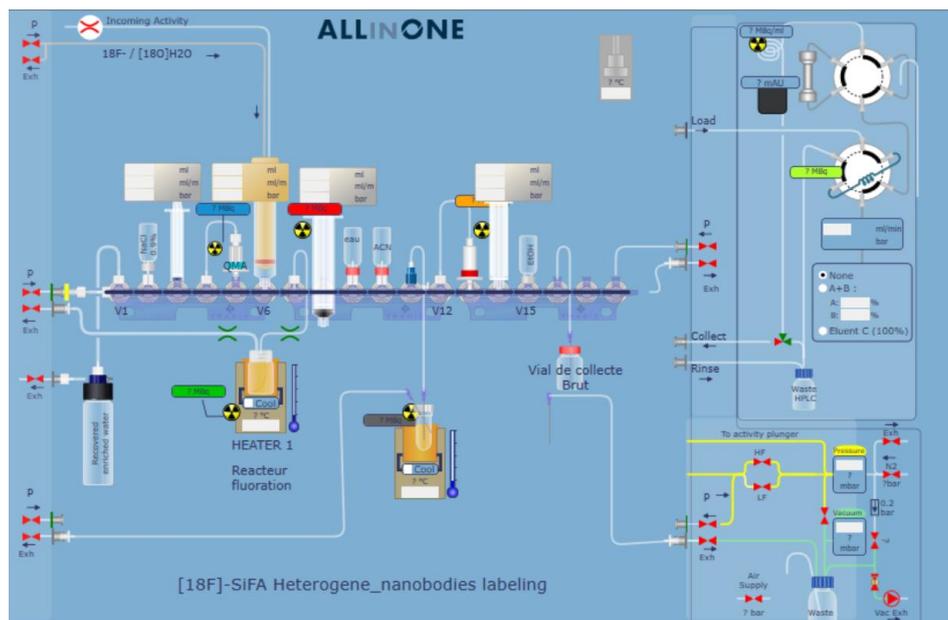


Figure 53 - Dernier "layout" mis en place pour la radiomarquage de Nb

Lors du premier essai, 2 mL d'éthanol ont été utilisés pour éluer le  $[^{18}\text{F}]\text{195}$  de la hotte blindée, permettant ainsi de récupérer 1,38 mL contenant 812 MBq (soit 588 MBq/mL) (Tableau 28). Deux lots ont été préparés dans deux eppendorfs différents contenant  $[^{18}\text{F}]\text{195}$  et le DBCO-Nb00411 et les milieux réactionnels ont été agités pendant environ 75 min.

Tableau 28 – Paramètres des deux lots préparés

Lot	Quantité de DBCO-Nb00411	Quantité de $[^{18}\text{F}]\text{195}$	Proportion H <sub>2</sub> O/EtOH	Après environ 75 min
1	200 µL à 1 mg/mL	200 µL soit 104,7 MBq à 13h09	50/50	66 MBq à 14h24
2	200 µL à 1 mg/mL	100 µL soit 50,4 MBq à 13h13	67/33	31 MBq à 14h30

Ils ont ensuite été analysés par chromatographie par exclusion stérique (SEC), une méthode qui permet de séparer les molécules par taille, c'est-à-dire des plus grosses aux plus petites. Les deux essais ont donné le même type de radiochromatogramme possédant deux pics radio proches l'un de l'autre, suggérant que le radiomarquage a eu lieu (Fig. 55). En effet, le premier pic correspond à priori au  $[^{18}\text{F}]\text{205}$  tandis que le second correspond à  $[^{18}\text{F}]\text{195}$ .

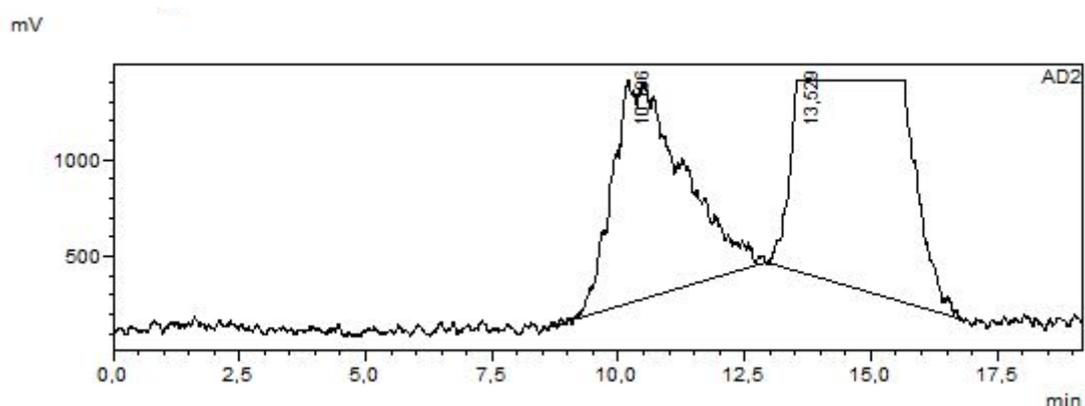


Figure 54 - Radiochromatogramme SEC du lot 1

La réaction a été reproduite une seconde fois en utilisant cette fois uniquement 1mL d’éthanol pour laver le réacteur 2 après le séchage azéotropique permettant de récupérer 336 MBq d’activité dans 700µL (soit 480 MBq/mL). Cette fois 3 lots de  $[^{18}\text{F}]\text{205-Nb00411}$  ont été produits, en faisant varier pour chacun le volume d’éthanol solubilisant le groupement prosthétique  $[^{18}\text{F}]\text{195}$  (Tableau 29).

Tableau 29 - Différents lots de Nbs dans cet essai

Lot	Quantité de Nb	Quantité de $[^{18}\text{F}]\text{195}$	Proportion H <sub>2</sub> O/EtOH	Après environ 60 min
1	400 µL à 2 mg/mL	100 µL soit 41 MBq à 12h53	80/20	27,1 MBq à 13h59
2	385 µL à 2 mg/mL	100 µL soit 42,6 MBq à 12h55	79/21	28,5 MBq à 14h02
3	280 µL à 2 mg/mL	100 µL soit 41,9 MBq à 12h56	74/26	29 MBq à 13h57

Ces essais ont donné les mêmes radiochromatogrammes que précédemment. Le lot 1 a donc été purifié par NAP<sup>TM</sup>-5 pour tenter d’évaluer la quantité de Nb marqué. En effet, ce rendement n’a pas pu être évalué par HPLC SEC car les radiochromatogrammes obtenus ont systématiquement été saturés par le groupement prosthétique. De plus, la tubulure entre le détecteur UV et le détecteur de radioactivité est en plastique non traité contre l’adsorption des Nbs et les Nbs peuvent donc être potentiellement adsorbés sur cette tubulure, ce qui rend la quantité de Nb mesurée incertaine.

Tableau 30 - Purification du lot 1 sur NAP<sup>TM</sup>-5

Heure	Mesuré par la Capintec <sup>TM</sup>	Activité en MBq	
14h47	Eppendorf	19	Avant la purification
14h56	Filtrat	0,5	Après la purification
	Nap <sup>TM</sup> -5	6,13	
	Eppendorf	10	

Après purification, il a été observé qu'une grande quantité de l'activité est restée sur l'Eppendorf dans lequel l'incubation a eu lieu, tandis que l'activité restée sur la NAP<sup>TM</sup>-5 correspond à priori au groupement prosthétique [<sup>18</sup>F]195. L'activité récupérée dans le filtrat correspond au Nb marqué. En effet, l'analyse du radiochromatogramme montre un seul pic radio traînant ne correspondant pas à celui du groupement prosthétique et caractéristique des Nbs s'adsorbant sur des tubulures en plastique.

Il semble donc possible de marquer des Nbs avec un groupement posthétique SiFA possédant un azoture par chimie "click" azoture-cyclooctène promue par tension de cycle (SPAAC). Cependant, la cinétique de cette réaction n'est à priori pas compatible avec le temps de demi-vie du fluor-18. Il serait donc utile d'explorer une autre réaction de chimie "click" promue par tension de cycle tel que la SPANC entre une nitroène et un alcyne possédant une cinétique de réaction plus avantageuse, ou bien une réaction de type IEDDA avec des précurseurs qui seraient stables dans les conditions de fluoration.

Enfin, une autre approche basée sur l'utilisation de la microfluidique pourrait être intéressante pour mettre au point une réaction en flux entièrement automatisée avec de petits volumes. Trois réacteurs en microfluidiques ont été mis au point ces dernières années pour le radiomarquage et l'utilisation de cette technique de radiosynthèse sera amenée à se développer dans les années à venir.<sup>152</sup>

---

<sup>152</sup> Husamelden E., Xu Y., Tian M., Jin C., Zhang H., Yu K., He Q. Recent Advances in Microfluidic Devices for the Radiosynthesis of PET-imaging Probes. *Chemistry an Asian Journal*, **2022**, E202200579.

## III. Synthèse directe : Marqueur de la Granzyme B

En parallèle de la stratégie indirecte de marquage de Nb, il a été envisagé dans le cadre de l'étude de processus liés à l'immuno-oncologie de marquer des peptides marqueurs de la granzyme B.

### 1. La granzyme B

#### ❖ Qu'est ce que la granzyme B ?

Les granzymes sont des protéines appartenant à la famille des protéases utilisées par les lymphocytes T cytotoxiques pour détruire la cible de ces cellules en induisant l'apoptose (mort programmée de la cellule). Elles sont présentes dans les granules cytotoxiques à la surface des CTC. Pour ce faire, elles sont directement injectées par les lymphocytes T au sein du cytoplasme de la cellule à détruire grâce à des enzymes appelées perforine, possédant la capacité de se polymériser, cela leur permettant de former un canal à travers la membrane plasmique des cellules. La granzyme B a alors la capacité d'activer les caspases présentes sous forme de proenzyme dans le cytoplasme. Une fois activée, le mécanisme d'apoptose se met alors en place.

Il est donc intéressant de noter que la granzyme B se trouve toujours dans une membrane, que ce soit dans la granule cytotoxique des CTC ou dans la cellule cible, son temps de demi-vie extracellulaire étant de 14 jours. La présence de la granzyme B en dehors de toutes cellules signifie donc que la cellule cible a été détruite, et donc qu'une réponse immunitaire adaptative ciblée et spécifique a été mise en place dans les environs où se trouve la granzyme B. Disposer d'un marqueur spécifique de la granzyme B « libre » serait un atout pour faire des suivis de traitement par immuno-oncologie en permettant ainsi de savoir si le patient a développé une réponse immunitaire liée au traitement.

#### ❖ Les différents marqueurs existants de la granzyme B

Afin d'identifier spécifiquement la granzyme B, il faut d'abord trouver une molécule possédant une bonne affinité pour cette protéine. Une séquence peptique pour reconnaître la granzyme B chez la souris a ainsi été identifiée par l'équipe de Larimer (NH<sub>2</sub>)Ile-Glu-Phe-Asp(CHO). Cette séquence peptidique est particulière car elle est constituée d'un aldéhyde terminal et non d'un acide carboxylique, permettant ainsi de réaliser une liaison covalente avec la sérine du site actif. Elle a pu

être marquée avec du  $^{68}\text{Ga}$  par chélation sur un groupement NOTA, conduisant au bioconjugué marqué [ $^{68}\text{Ga}$ ]207 (Fig. 191).<sup>153,154</sup> Une autre équipe à Singapour a utilisé le même précurseur, mais le marquage a été effectué par un complexe d'aluminium-fluor-18 au lieu du gallium-68.<sup>155</sup>

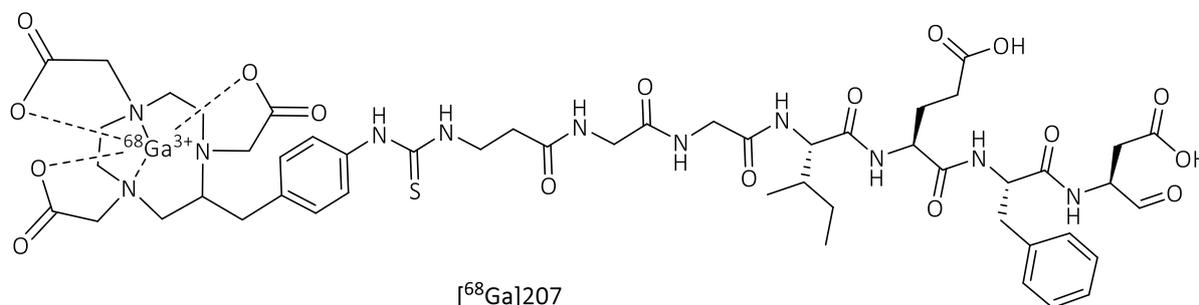


Figure 55 - Marqueur de la granzyme B contenant un complexe  $^{68}\text{Ga}$

Des souris possédant des tumeurs greffées ont été traitées avec par des inhibiteurs de "checkpoint" pendant 12 jours. Le groupe Larimer a montré qu'au sein des souris utilisées, deux groupes pouvaient être identifiés après injection du radiomarqueur [ $^{68}\text{Ga}$ ]207. Le groupe "High-uptake", dans lequel une grande accumulation du marqueur a été observée avec un ratio tumeur/sang (TBR) de  $1,90 \pm 0,55$ , et un groupe "Low-uptake" avec un TBR de  $0,89 \pm 0,19$  (TBR du groupe de contrôle similaire de  $0,95 \pm 0,20$ ). Il est à noter que ces expériences ont été mises en place avant de pouvoir observer une diminution du volume des tumeurs. Après plusieurs jours de traitement, les souris étant dans le groupe "High-uptake" ont présenté des diminutions du volume tumoral, ce qui n'a pas été le cas pour les souris appartenant au groupe "Low-uptake".

Ces résultats sont très encourageants pour réaliser un suivi de traitement, car il serait ainsi possible de discriminer les patients ne répondant pas au traitement sans faux-positif dès 12 jours de traitement, sans attendre une possible régression de la taille tumorale. De plus, la pharmacocinétique du peptide [ $^{68}\text{Ga}$ ]207 étant rapide, ce test peut être renouvelé plusieurs fois sur le même patient au cours de la période de traitement.

<sup>153</sup> Larimer B. M., Wehrenberg-Klee E., Dubois F., Mehta A., Kalomeris T., Flaherty K., Boland G., Mahmood U. Granzyme B PET Imaging as a Predictive Biomarker of Immunotherapy Response. *Cancer Res.*, **2017**, 77, 2318-2327.

<sup>154</sup> Larimer B. M., Bloch E., Nesti S., Austin E. E., Wehrenberg-Klee E., Boland G., Mahmood U. The Effectiveness of Checkpoint Inhibitor Combinations and Administration Timing Can Be Measured by Granzyme B PET Imaging. *Clin Cancer Res.*, **2019**, 25, 1196-1205.

<sup>155</sup> Goggi J. L., Hartimath S. V., Xuan T. Y., Khanapur S., Jieu B., Chin H. X., Ramasamy B., Cheng P., Rong T. J., Fong Y. F., Yuen T. Y., Msallam R., Chacko A.-M., Renia L., Johannes C., Hwang Y. Y., Robins E. G. Granzyme B PET Imaging of Combined Chemotherapy and Immune Checkpoint Inhibitor Therapy in Colon Cancer. *Mol. Imaging Biol.*, **2021**, 23, 714-723.

## 2. Synthèse du peptide bioconjugué marqueur de la granzyme B

Suite à ces résultats très prometteurs, il serait intéressant de mettre au point un radiotracteur marqueur de la granzyme B en utilisant la plateforme Imid-SiFA supportée. Ceci permettra d'obtenir un radiotracteur peptidique possédant un fluor-18 lié de manière covalente à l'aide d'une radiosynthèse directe.

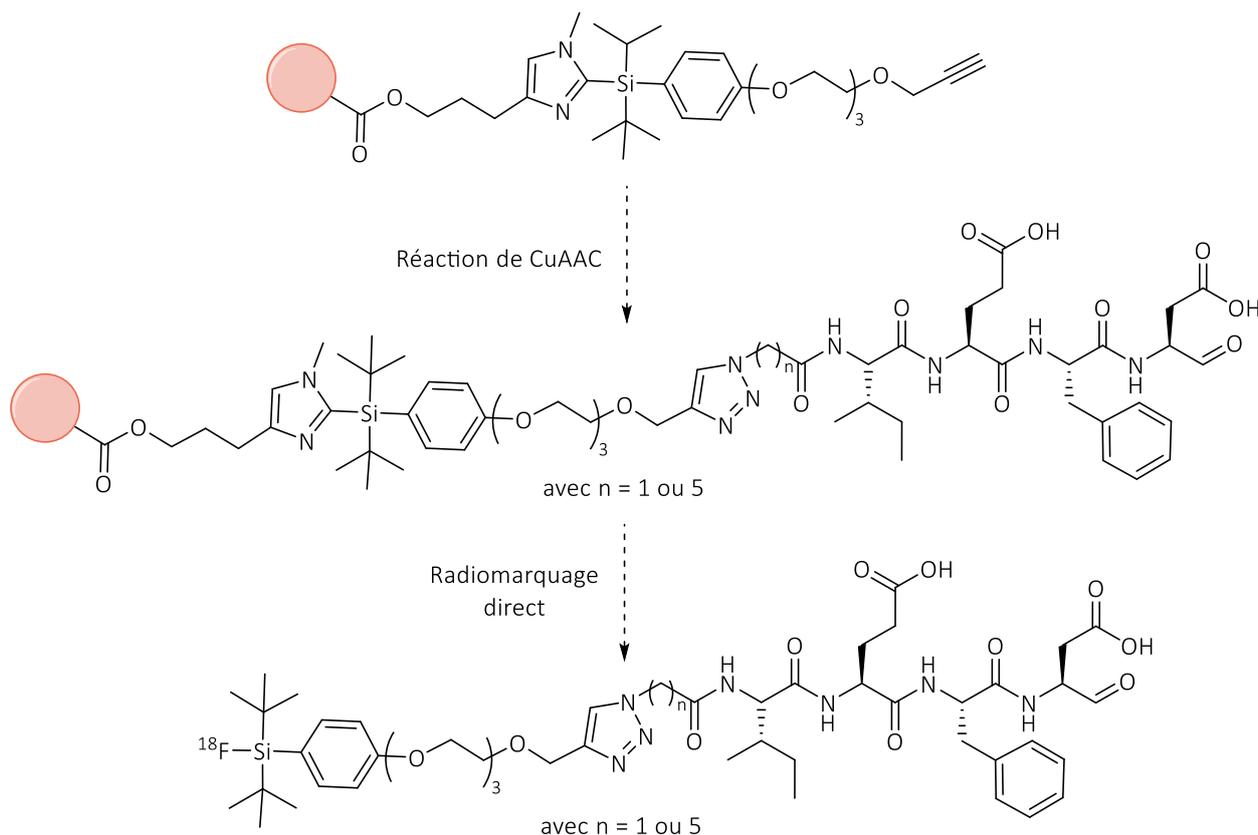


Schéma 141 - Radiomarquage direct d'un peptide marqueur de la granzyme B

### ❖ Réaction de bioconjugaison utilisant un couplage de CuAAC

Il a été envisagé, dans un premier temps, de coupler le peptide avec la plateforme Imid-SiFA **PS-179** contenant un alcyne, en ajoutant un azoture au bout de la chaîne N-terminale afin de réaliser une réaction de CuAAC. Deux types d'acides carboxyliques contenant des azotures ont été envisagés.

Le premier acide carboxylique envisagé est un dérivé de la glycine, tandis que le second est composé d'une chaîne carbonée plus longue (6 carbones au total). Le dérivé de glycine **208** a été synthétisé à partir de l'acide bromoacétique substitué par de l'azoture de sodium dans l'eau à température

ambiante. Après acidification du milieu et extraction le composé **208** a été obtenu avec un rendement de 88% (Schéma 142).

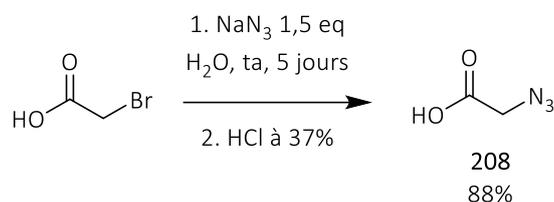


Schéma 142 - Synthèse du dérivé de glycine **208**

Le second acide carboxylique (moins réactif que l'acide bromoacétique) contenant un azoture **209**, a été synthétisé à partir de l'acide 6-bromohexanoïque et les conditions de réaction ont du être adaptées. Toujours en présence d'azoture de sodium, celui-ci a été mis en réaction dans le DMF à 85°C pendant 18h, permettant ainsi d'obtenir **209** avec un rendement de 91% (Schéma 143). Il a également été envisagé de synthétiser l'ester activé correspondant en utilisant l'*N*-hydroxysuccinimide (NHS) et de l'hydrochlorure de *N*-éthylcarbodiimide (EDC.HCl) comme agent de couplage. La réaction a été effectuée dans le dichlorométhane à température ambiante pendant 24h, et a donné **210** avec un rendement de 80%.

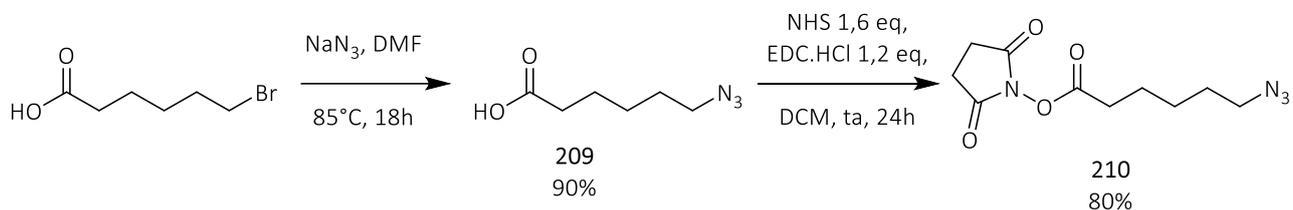


Schéma 143 - Synthèse de l'ester activé **210**

Le peptide marqueur de la granzyme B possédant un aldéhyde terminal a été synthétisé sur support solide. Pour ce faire, la résine Novasyn® TG (Fig. 56) sur laquelle un acide aspartique protégé par un *tert*-butyle a déjà été greffé, a été employée. En fin de séquence, l'hydrolyse acide de l'oxazolidine permettra d'obtenir l'aldéhyde terminal désiré.

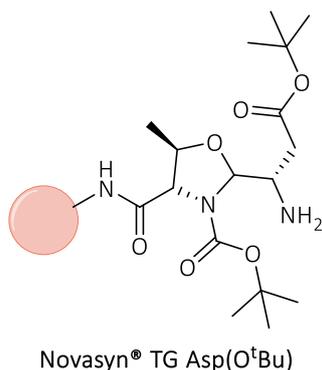


Figure 56 - Résine Novasyn® TG Asp(O<sup>t</sup>Bu)

Le précurseur a été introduit dans le synthétiseur de peptide automatisé. La séquence souhaitée (NH<sub>2</sub>)Ile-Glu-Phe-Asp(CHO) a été obtenue en utilisant le *N,N'*-Diisopropylcarbodiimide (DIC) comme agent de couplage et le cyano(hydroxyimino)acétate d'éthyle (ou oxyma pure®) comme activateur afin d'éviter l'épimérisation des acides aminés. La déprotection du groupement protecteur FMOC a été réalisée par une solution de pipéridine à 20% dans le DMF. Une fois la synthèse sur support solide de **Nv-210** réalisée, le composé **208** a été couplé directement sur la résine (**Schéma 144**).

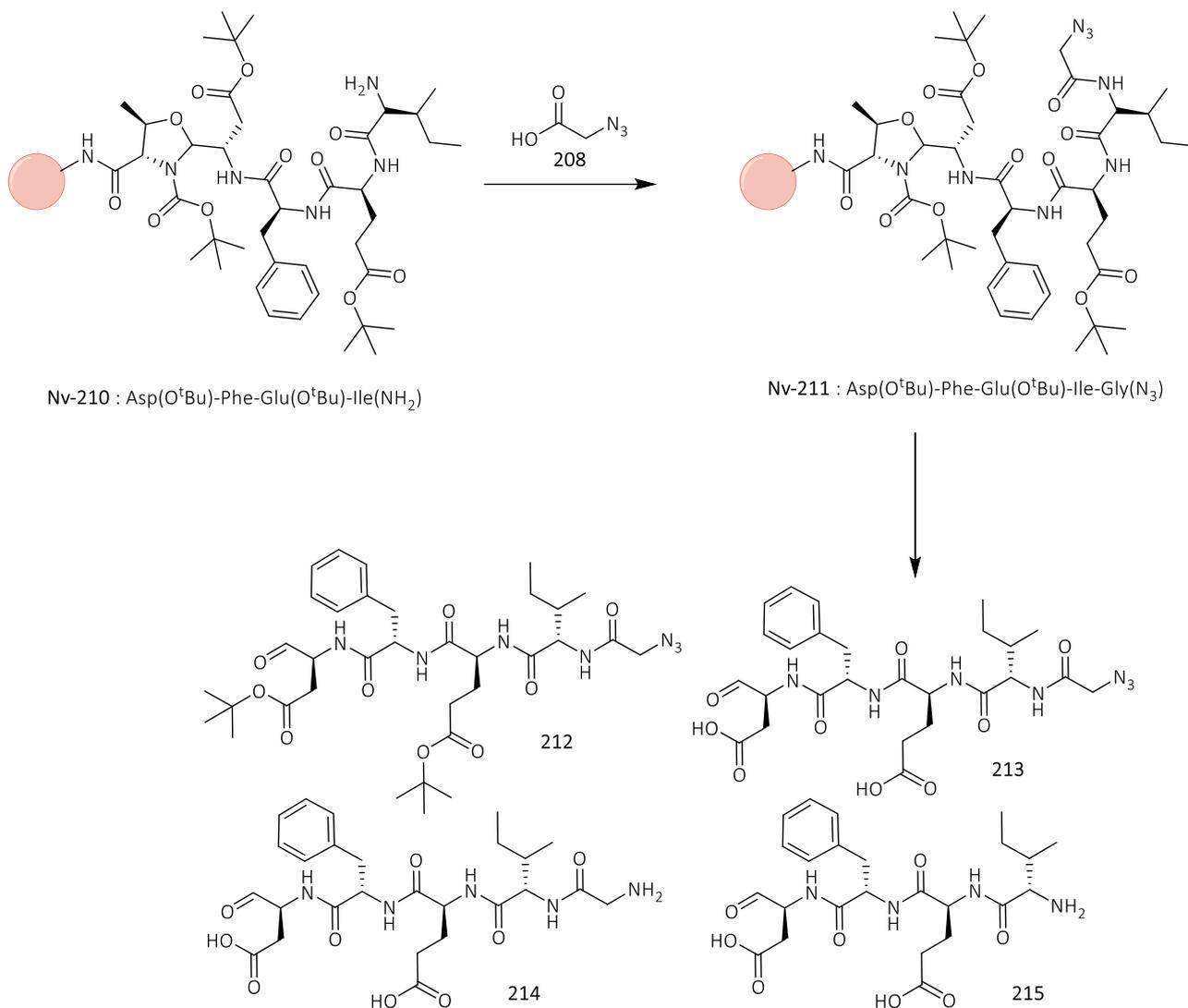


Schéma 144 - Couplage de la Glycine-N<sub>3</sub> et clivage du peptide de la résine

Le précurseur supporté **Nv-211** a été obtenu par réaction de l'hexafluorophosphate de (diméthylamino)-*N,N*-diméthyl(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]pyridin-3-yloxy)méthaniminium (HATU), et de la DIEA, avec **208** dans le DMF dans une seringue contenant un fritté et placée sur un balancier. Différents protocoles de couplage (pseudo)peptidique et différentes tentatives de clivage du peptide de la résine ont été testés (**Tableau 31**).

La méthode classique de déprotection/clivage utilisée au laboratoire a été employée en deux étapes : ajout de TFA pur et agitation pendant 30 min à température ambiante pour permettre la déprotection des *tert*-butyles, puis le clivage du peptide par un mélange acétonitrile/eau (60/40) avec 0,1% de TFA.

Dans un premier temps, il a été envisagé de récupérer le peptide protégé **212** car il avait été montré précédemment que plus le partenaire présentant l'azoture était hydrophile, moins la réaction de couplage par CuAAC était efficace. Cependant, l'utilisation de la solution clivante n'a pas permis d'obtenir le peptide désiré. La séquence complète déprotection/clivage a été utilisée mais le peptide obtenu a été déterminé en masse comme correspondant à la séquence du marqueur non fonctionnalisé **215**.

La réaction de couplage peptidique a donc été agitée à température ambiante pendant 3 jours. Après la réaction classique déprotection/clivage, le composé **214** a été détecté par spectrométrie de masse correspondant au clivage du peptide désiré accompagné d'une réduction de l'azoture. Une dernière solution de clivage AcOH/eau/DCM/MeOH (10/80/5/5) a été envisagée. En effet, elle a été décrite dans la littérature comme capable de cliver un peptide de la résine Novasyn® TG sans le déprotéger.<sup>156</sup> Cependant, aucun composé n'a été récupéré lors de cet essai.

Tableau 31 - Différentes conditions de clivage de la résine utilisée

Essais	Couplage sur la résine	Clivage/Déprotection	Résultats
1	HATU(5eq), DIEA, <b>208</b> (5eq), DMF, <b>2 fois 1h</b>	ACN/eau (60/40) avec 0,1% deTFA	Pas de clivage
2	HATU(5eq), DIEA, <b>208</b> (5eq), DMF, <b>2 fois 1h</b>	TFA pur (déprotection) puis ACN/eau avec 0,1% de TFA	100% de <b>215</b> (Rdt : 20%)
3	HATU(5eq), DIEA, <b>208</b> (5eq), DMF, <b>3 jours</b>	TFA pur (déprotection) puis ACN/eau (60/40) avec 0,1% de TFA	100% de <b>214</b>
4	HATU(5eq), DIEA, <b>208</b> (5eq), DMF, <b>2 jours</b>	AcOH/eau/DCM/MeOH (10/80/5/5)	Pas de clivage

Les essais sur l'azoture supporté **Nv-211** ayant été infructueux, l'ester activé **210** a été engagé dans la réaction de couplage pseudo-peptidique avec le composé **215**. Il a ainsi permis d'obtenir l'azoture **216** avec un rendement de 88% (Schéma 145).

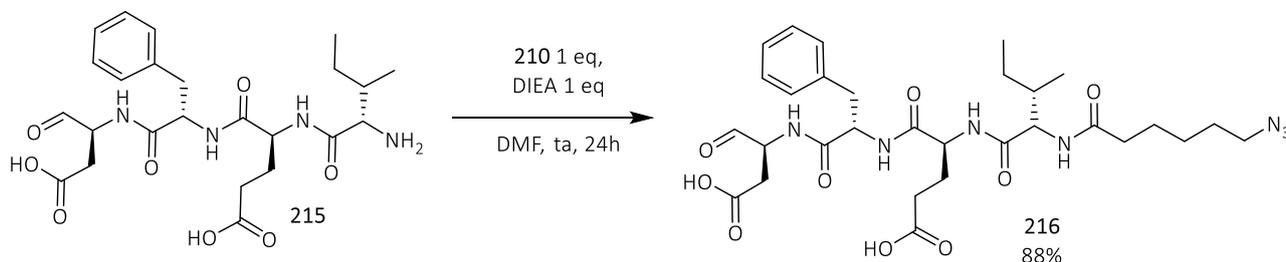


Schéma 145 - Synthèse de l'azoture **216**

<sup>156</sup> Sorg G., Thern B., Mader O., Rademann J., Jung G. Progress in the preparation of peptide aldehydes via polymer supported IBX oxidation and scavenging by threonyl resin. *J. Peptide Sci*, **2005**, 11: 142–152.

Suite à l'obtention du composé **216**, la bioconjugaison par chimie "click" a été testée avec la résine **PS-179** dans l'espoir d'obtenir le composé **PS-217** (Figure 57). Celle-ci a été mise en présence de **216** (8 eq), de (CuCl[*TBTA*])Cl.1,5 H<sub>2</sub>O (0,9 eq) d'ascorbate de sodium (0,1 eq) et de DIEA (4 eq) dans le DMF et agité pendant 3 jours à 70°C, mais malheureusement le composé souhaité n'a pas été obtenu. L'Imid-SiFA-alcyne **178** est le seul produit observé en spectrométrie de masse après fluoration.

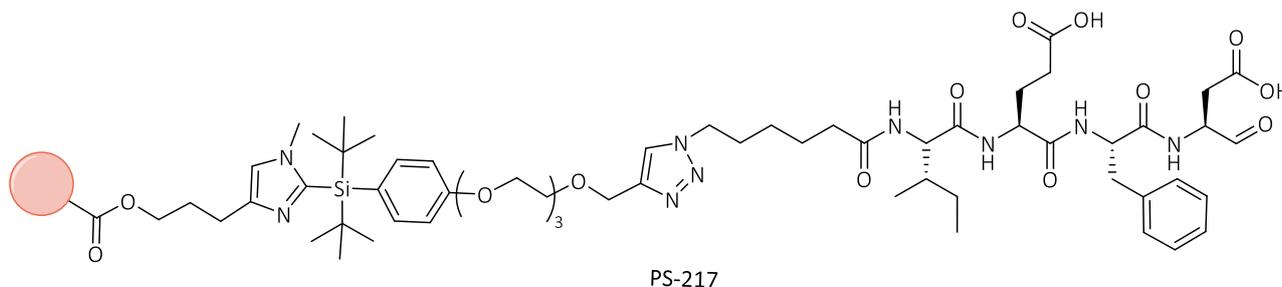


Figure 57 - Résine PS-217

Afin d'obtenir le composé désiré, la synthèse supportée a été repensée afin d'obtenir un peptide dont les fonctions carboxyliques sur les chaînes latérales seraient encore protégées. En effet, il a été observé précédemment que les composés plus lipophiles ont été plus faciles à "clicker". Dans ce cas, une résine classique de type Trityle a été utilisée, la réaction de clivage ne permettant pas d'obtenir directement le composé avec un aldéhyde terminal. Le premier acide aminé lié à la résine Trityl est donc la phénylalanine qui servira à coupler l'acide aspartique avec l'aldéhyde dans un second temps (Schéma 146). La quantité de phénylalanine accrochée sur la résine a été calculée par micro-clivage du groupement FMOC en mesurant à l'aide d'un spectromètre UV l'absorbance lié au résidu fluorène.

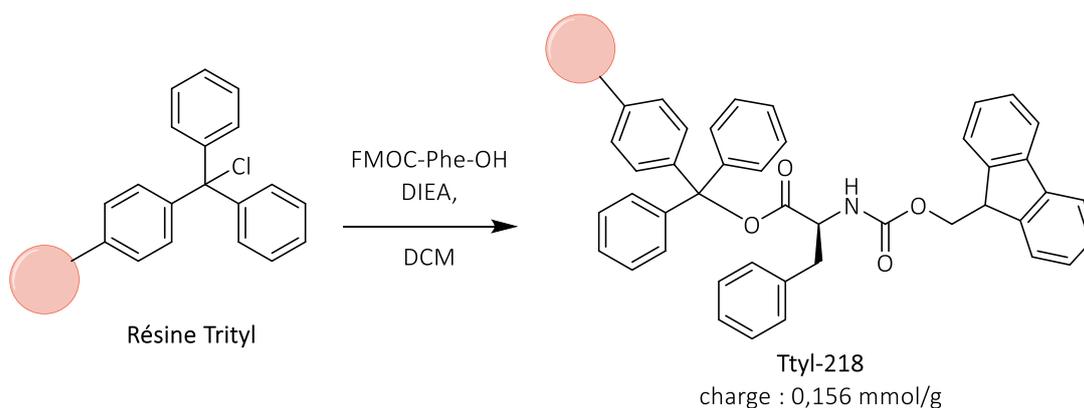


Schéma 146 - Greffage de la phénylalanine sur la résine Trityl

La résine **Ttyl-218** a ensuite été utilisée pour coupler les deux acides aminés restants, c'est-à-dire l'acide glutamique et l'isoleucine ainsi que l'ester activé **210** pour obtenir le composé **219** (Schéma 147). La synthèse a été réalisée dans une seringue en utilisant cette fois un mélange DIC et HOBT

(Hydroxybenzotriazole) comme activateur avant l'ajout de l'acide aminé suivant, et le groupement Fmoc a été déprotégé en présence de pipéridine à 20% dans le DMF. La réaction de clivage de la résine est plus douce (effectuée par une solution de 1,1,1,3,3,3-héxafluoro-2-propanol (HFIP) à 20% dans le dichlorométhane) et permet en général d'obtenir des rendements quantitatifs donc supérieurs à ceux obtenus avec la résine **Novasyn® TG** (rendements moyens autour de 20-25%).

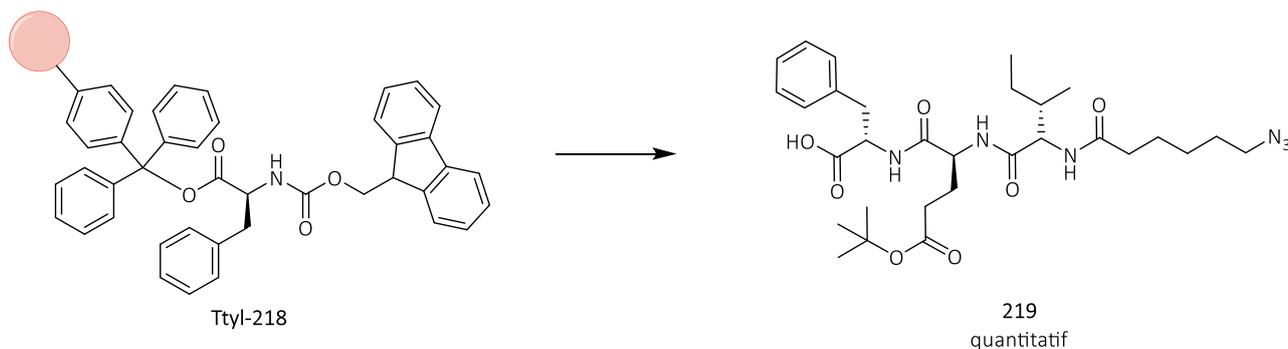


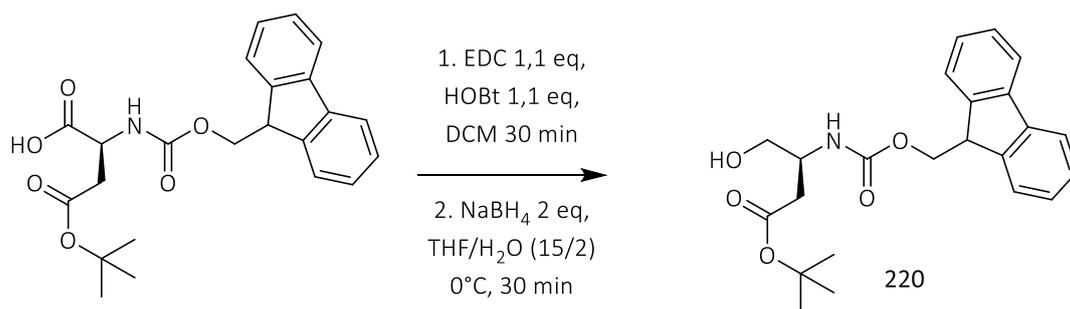
Schéma 147 - Synthèse du peptide **219** sur résine Trityl

Deux couplages de ce peptide avec **PS-179** par chimie "click" CuAAC ont été tentées (conditions décrites dans le **tableau 32**) mais les réactions n'ont pas conduit aux produits désirés. En effet, l'alcyne **178** a été obtenu à chaque micro-clivage par fluoration dont l'objectif est de déterminer le taux de conversion de l'étape de bioconjugaison.

Tableau 32 - Conditions utilisées pour "clicker" **219** sur **PS-179**

Essai	Réactifs	Après fluoration
1	<b>219</b> (8,8 eq), [Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 20h, 70°C	Alcyne <b>178</b>
2	<b>219</b> (6,4 eq), [Cu(Cl(TBTA))Cl 1.5 H <sub>2</sub> O, DIEA, Sodium ascorbate, DMF, 3 jours, 70°C	Alcyne <b>178</b>

En parallèle, la réduction puis l'oxydation sélective en aldéhyde de l'acide aspartique protégé ont été étudiées. La réduction a été mise au point en deux étapes (**Schéma 148**). La première étape consiste à créer un ester activé *via* l'utilisation d'HOBt puis, après évaporation du milieu réactionnel, de réduire cet ester activé en alcool à l'aide de borohydrure de sodium. Cette séquence a permis d'obtenir le composé **220** avec un rendement de 69%. Cette réaction a pu être ensuite réalisée à l'échelle multigramme avec des rendements du même ordre de grandeur.



**Schéma 148** - Réduction de l'acide carboxylique de l'acide aspartique en alcool

La réaction d'oxydation de l'alcool **220** en aldéhyde **221** a été testée avec deux oxydants différents (**Tableau 33**) (**Schéma 149**). Une première tentative a été réalisée avec de l'acide 2-iodoxybenzoïque (IBX) supporté, plus facile à manipuler et permettant d'éviter la formation d'aggrégats rendant l'IBX non réactif. Cependant, la réaction n'a pas fonctionné et le produit de départ a été entièrement récupéré. La réaction a ensuite été testée avec le périodinane de Dess-Martin (DMP). La qualité du réactif a eu un fort impact sur la réaction. En effet, lorsque la réaction a été réalisée avec un lot de DMP déjà ouvert, le rendement de la réaction a été de 75% après 24h, tandis que l'utilisation d'un lot de DMP neuf a permis d'obtenir un rendement quantitatif après 20 min de réaction.

**Tableau 33** - Différents oxydants sélectifs de l'alcool en aldéhyde

Essai	Réactifs	Résultats
1	IBX-supporté, 3 eq DMSO, ta, 24h	<b>220</b> 100%
2	DMP (déjà ouvert) 2 eq, NaHCO <sub>3</sub> 5eq, ta 24h	<b>221</b> 75%
3	DMP (neuf) 2 eq, ta, 20min	<b>221</b> 100%

Une fois l'étape d'oxydation mise au point, l'amine protégée par un groupement fmoc est déprotégée en présence de pipéridine dans l'acétonitrile pendant 1h à température ambiante. L'étape de déprotection a été totale, le protocole de purification a été plus compliqué à mettre en place. En effet, l'aldéhyde terminal n'est pas très stable et la présence d'une amine libre complique l'étape de purification. L'utilisation d'une cartouche SPE de type C18 a permis d'enlever une grande partie du 9-méthylène-fluorène, mais des traces de ce résidu ont encore été obtenues après ce traitement.

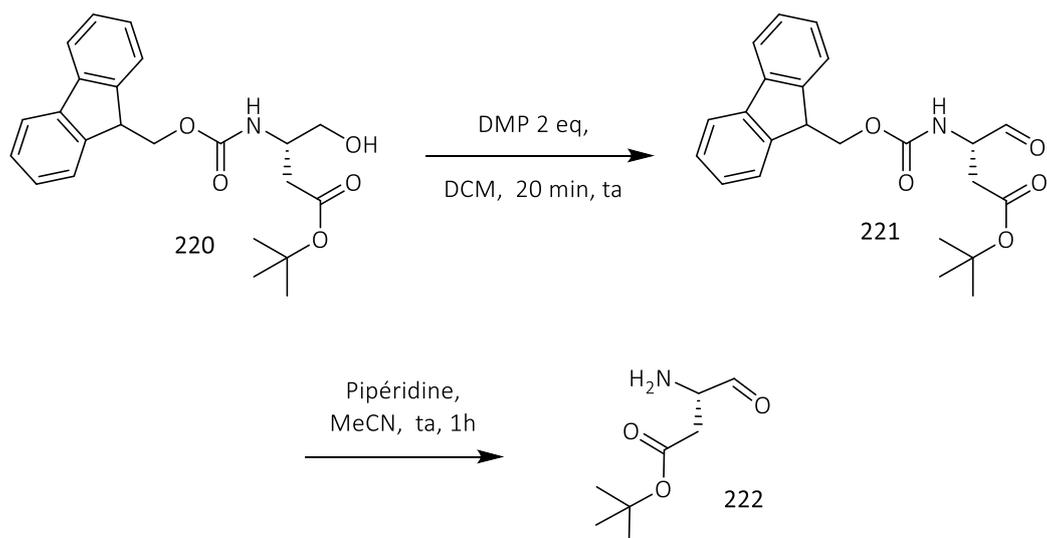


Schéma 149 - Oxydation et déprotection de l'acide aspartique possédant un aldéhyde terminal

Afin d'obtenir un aldéhyde terminal, il serait peut-être plus simple de déprotéger en amont l'acide aminé pour obtenir **224** (Schéma 150), puis de coupler celui-ci sur la résine constituée de la plateforme Imid-SiFA portant déjà la première partie du peptide **PS-223**. Cette séquence synthétique permettrait ainsi de réaliser l'oxydation de l'alcool en aldéhyde sur support solide suivi par l'étape de déprotection permettant d'obtenir le précurseur supporté **PS-226** sans risquer la dégradation de l'aldéhyde.

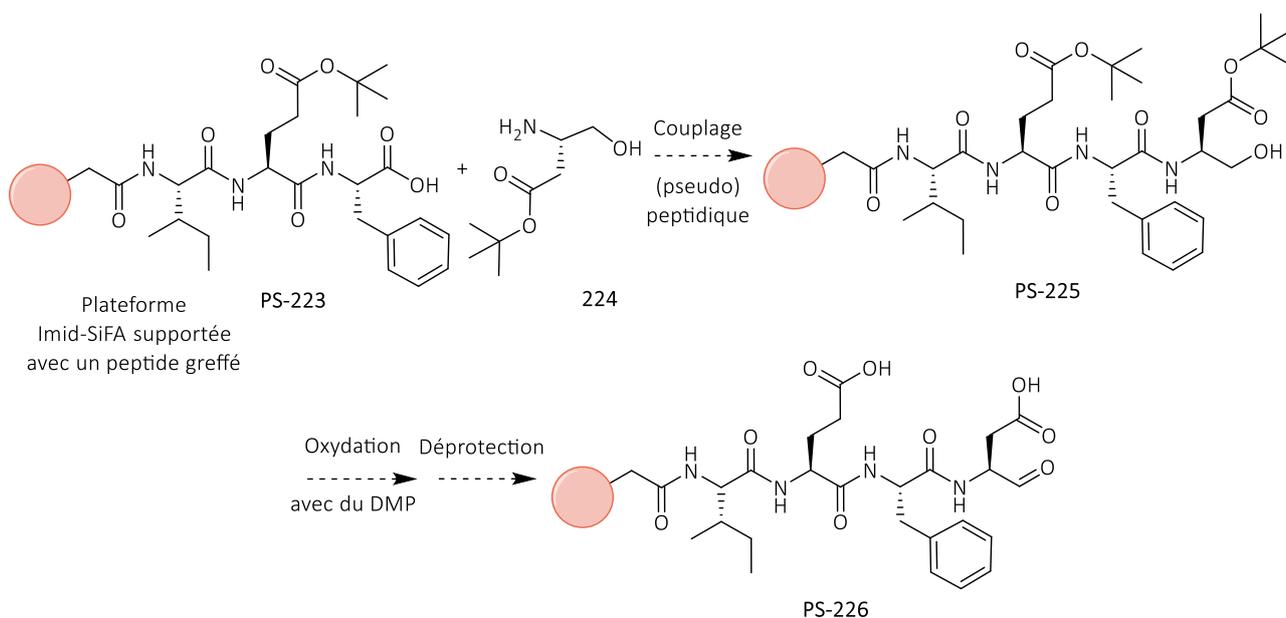


Schéma 150 - Schéma réactionnel envisagé pour obtenir un aldéhyde terminal sur un marqueur peptidique

Finalement, le marqueur de la granzyme B n'a malheureusement pas été obtenu malgré les différentes voies de synthèses explorées. Cependant, il serait intéressant de continuer à étudier des réactions spécifiques des amines pour pouvoir obtenir des précurseurs supportés de marqueur peptidique. Par exemple, le PIDTC pourrait être une alternative intéressante pour ce type de réaction car il permet de coupler deux fonctions amines entre elles.

## IV. Vers la synthèse d'une sonde bimodale

Enfin, il a été envisagé de développer un précurseur supporté Imid-SiFA détectable par imagerie optique, qui permettrait de faciliter le développement de traceurs. En effet, les sondes bimodales sont utiles notamment lors de la mise en place *ex vivo* puis *in vivo* de nouveaux traceurs. La fluorescence permet de réaliser des tests cellulaires pour tester les constantes de dissociation des marqueurs, celles-ci étant inchangées lors de l'utilisation de cette sonde *in vivo* avec un radioélément.

### 1. Qu'est-ce qu'une sonde bimodale IO/TEP ?

#### a. L'imagerie optique et les sondes bimodales

##### ❖ L'imagerie optique par fluorescence

L'imagerie optique (IO) rassemble les techniques d'imagerie utilisant les différentes propriétés de la lumière. L'une des techniques les plus utilisées est l'imagerie optique par fluorescence utilisant la propriété de certaines molécules organiques, inorganiques ou organométalliques à émettre des photons par le phénomène de photoluminescence. Dans ce cas, lorsque le composé absorbe un photon, celui-ci passe dans un état excité, puis la molécule se désexcite de manière radiative en émettant un photon possédant une énergie plus basse. Il existe deux catégories de luminescence, la fluorescence et la phosphorescence. La fluorescence est une relaxation radiative dite permise car sans changement de multiplicité de spin, contrairement à la phosphorescence nécessitant une conversion intersystème pour avoir lieu. La fluorescence a une durée de vie plus courte que la phosphorescence, ce qui permet un temps d'analyse de l'ordre de la seconde pour l'IO. De plus, elle possède la meilleure résolution spatiale pour une technique d'imagerie, de l'ordre du nanomètre.

L'IO par fluorescence nécessite donc l'utilisation d'une sonde fluorescente capable de se lier à la cible biologique à observer. Le fluorophore doit posséder en particulier plusieurs propriétés pour être pleinement utilisable :

- Un rendement quantique de fluorescence proche de 1 (rapport entre le nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés).
- Une bande ou raie d'absorption et d'émission en dehors de la fenêtre d'auto-fluorescence biologique, c'est-à-dire principalement de 650 nm à 900nm.

- Un phénomène de fluorescence possible dans un milieu biologique, la fluorescence dépend de nombreux paramètres comme le solvant, la pression, la température, le pH,...
- Le fluorophore doit également être fonctionnalisable sans interférer avec ses capacités de fluorescence.

Cependant, cette technique d'imagerie est limitée par la pénétration de la lumière dans les tissus, rendant à la fois impossible d'induire et d'observer la fluorescence à des profondeurs supérieures à quelques centimètres. L'IO est notamment utilisée pour les endoscopies ou les biopsies optiques, mais surtout en chirurgie guidée. Elle permet par exemple de mettre en avant grâce à la fluorescence les tissus que le chirurgien doit enlever (cellules cancéreuses) ou alors une partie d'un organe à éviter (thyroïde).

#### ❖ Une sonde bimodale IO/TEP

En temps normal, l'imagerie TEP est déjà combinée avec une imagerie morphologique permettant de corréler les images anatomiques et les images des radiotraceurs injectés afin de savoir dans quelle partie précisément se trouve les cellules ciblées mais ce n'est pas la seule association d'imagerie possible.

Une sonde bimodale IO/TEP est une sonde permettant d'allier deux types d'imagerie fonctionnelle avec une seule sonde (à l'isotope près). Elle nécessite donc un fluorophore pour l'IO, un groupement porteur du radionucléide pour l'imagerie TEP et un vecteur permettant la reconnaissance *in vivo*. L'intérêt de combiner deux imageries fonctionnelles se retrouve dans trois applications majeures<sup>157</sup> :

- La première application est liée aux études *in vitro*, car elles permettent de réaliser plus rapidement un "screening" d'échantillons biologiques possédant un biomarqueur spécifique.
- La seconde application concerne la partie *in vivo*, l'objectif étant de faire passer un scanner TEP au patient afin de localiser précisément toutes les cellules cancéreuses et de vérifier que la maladie ne s'est pas étendue. Ensuite, le chirurgien pourra opérer et enlever uniquement les cellules malades fluorescentes.
- La dernière possibilité est l'application *ex vivo*. En effet, les sondes bimodales permettent de cibler précisément le lieu où la biopsie doit être faite grâce à la fluorescence résiduelle.

Il existe 3 manières différentes de construire une sonde bimodale (**Fig. 58**) :

---

<sup>157</sup> Ariztia J., Solmont K., Pellegrini Moïse N., Specklin S., Heck M. P., Lamandé-Langle S., Kuhnast B. PET/Fluorescence Imaging: An Overview of the Chemical Strategies to Build Dual Imaging Tools. *Bioconjugate Chem.*, **2022**, 33, 24–52.

- Le double marquage désigne la ligation des deux sondes IO/TEP différentes sur la biomolécule. Cette technique est souvent utilisée pour les anticorps, mais les risques principaux sont de diminuer les propriétés optiques du fluorophore si celui-ci est trop proche de l'anticorps et d'obtenir un marquage peu homogène.<sup>158</sup>
- La sonde bimodale monomoléculaire désigne l'utilisation d'un espaceur chimique capable d'être trifonctionnalisable. Ce genre de structure nécessite d'importants travaux en terme de synthèse mais permet d'obtenir un ratio précis de chaque constituant.
- Les nano-objets permettent de développer des agents bimodaux divers permettant également de faire prédominer une sonde ou une autre si nécessaire, utilisant principalement des radiométaux.

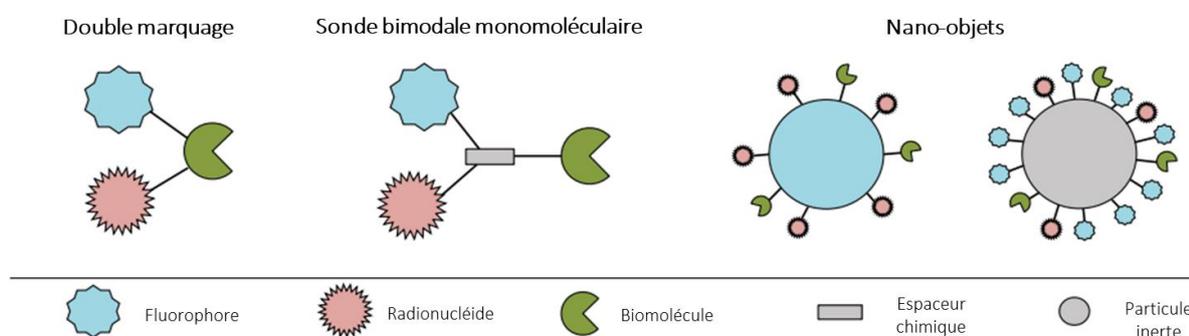


Figure 58 - Stratégie de design d'une sonde bimodale IO/TEP

## b. Sondes bimodales IO/TEP existantes

Ces dernières années, de nombreuses sondes bimodales IO/TEP ont été développées utilisant des fluorophores. Il existe principalement deux grandes familles de fluorophores utilisées actuellement, les dérivés de cyanines et les bodipy.

### ❖ Les cyanines :

Les cyanines sont les fluorophores les plus utilisés car le vert d'indocyanine est l'un des seuls fluorophores proches infrarouge (NIR : near infrared) possédant actuellement une AMM (Fig. 59). Comme expliqué précédemment, l'absorption et l'excitation du fluorophore doit se trouver en dehors de la fenêtre d'absorbance du vivant. Le vert d'indocyanine avec une longueur d'onde

<sup>158</sup> Adumeau P., Raavé R., Boswinkel M., Heskamp S., Wessels H. J. C. T., van Gool A. J., Moreau M., Bernhard C., Da Costa L., Goncalves V., Denat F. Site-Specific, Platform-Based Conjugation Strategy for the Synthesis of Dual-Labeled Immunoconjugates for Bimodal PET/NIRF Imaging of HER2-Positive Tumors. *Bioconjugate Chem.*, **2022**, 33, 3, 530–540.

d'excitation ( $\lambda_{\text{excitation}}$ ) à 795 nm et une longueur d'onde d'émission ( $\lambda_{\text{émission}}$ ) à 813 nm se situe au centre de cette catégorie. Le rendement quantique de fluorescence est plutôt faible dans l'eau.

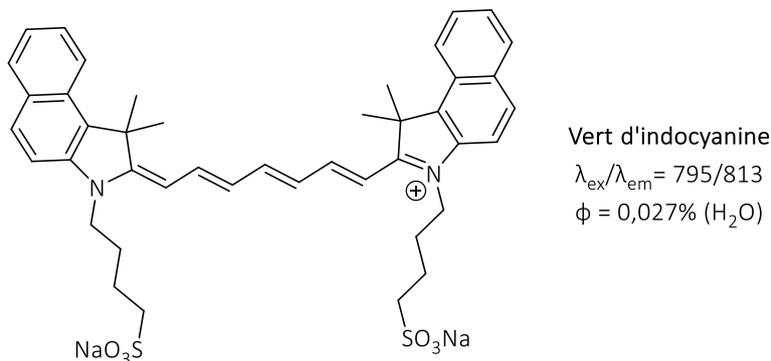


Figure 59 - Vert d'indocyanine possédant une AMM

Il existe de nombreux dérivés de cyanines utilisés pour la construction de sondes bimodales. Par exemple, le composé [<sup>64</sup>Cu]227 a été synthétisé dans l'objectif de faire de la chirurgie guidée par fluorescence couplée à l'imagerie TEP. Cette stratégie a ainsi permis de vérifier en amont que le peptide s'était bien accumulé autour de la cellule cancéreuse (Fig. 60).<sup>159</sup> Le radiomarquage utilisé dans ce cas est une chélation du cuivre-64 par un groupement DOTA. Les trois parties de la molécule ont été greffées sur une cystéine placée en bout de chaîne N-terminale du peptide. Un couplage pseudo-peptidique avec le dérivé de cyanine et un couplage maléimide-thiol avec le chélateur DOTA a ainsi donné la structure finale du précurseur radiomarquable.

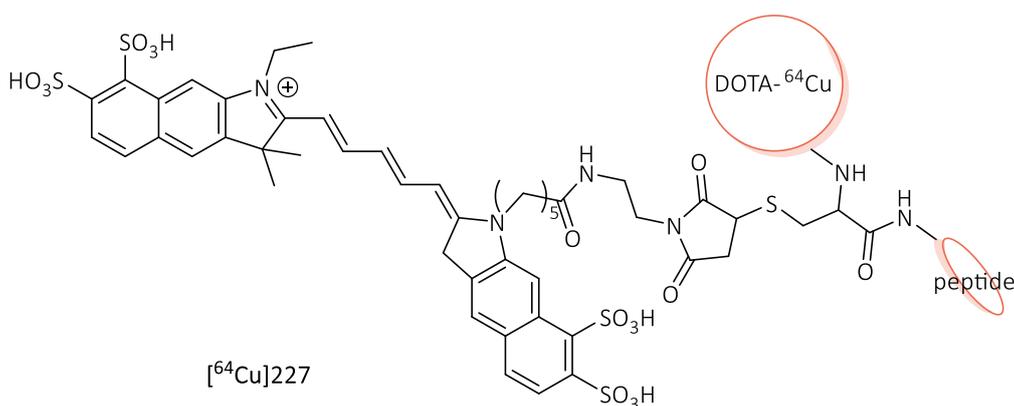


Figure 60 - Sonde bimodale IO/TEP à base de cyanine-DOTA-<sup>64</sup>Cu

<sup>159</sup> Deng H., Wang H., Wang M., Li Z., Wu Z. Synthesis and Evaluation of <sup>64</sup>Cu-DOTA-NT-Cy5.5 as a Dual-Modality PET/Fluorescence Probe to Image Neurotensin Receptor-Positive Tumor. *Mol. Pharmaceutics*, **2015**, 12, 3054–3061.

La sonde bimodale [ $^{18}\text{F}$ ]228 a également été développée pour faire de la chirurgie guidée (Fig. 61).<sup>160</sup> Dans ce cas, le radiomarquage a été réalisé par échange isotopique sur la fonction R-BF $_3^-$  et la cyanine fonctionnalisée par la plateforme trifluoroborate d'un côté et le marqueur du PSMA de l'autre.

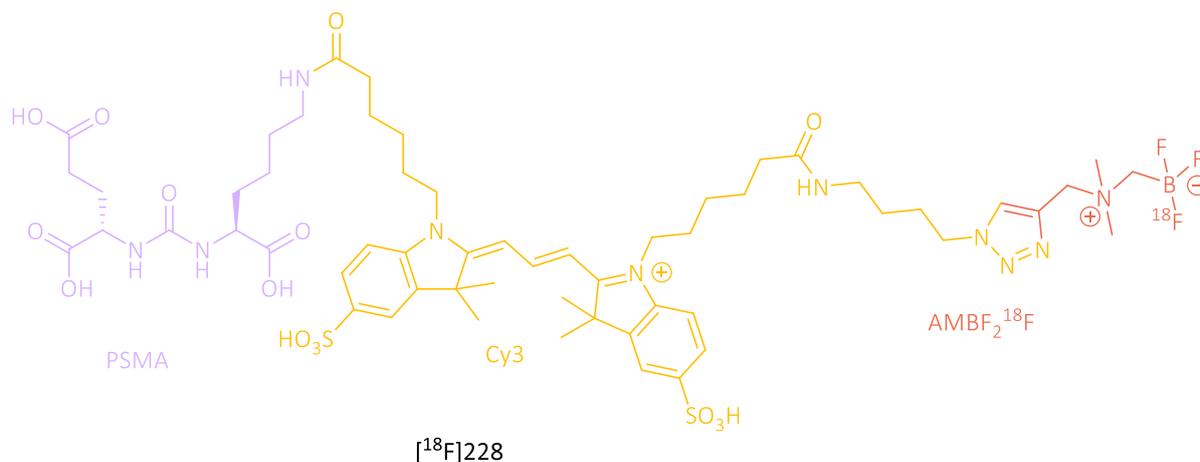


Figure 61 - Sonde bimodale IO/TEP contenant une Cy3

#### ❖ Les BODIPY et aza-BODIPY

La deuxième famille de fluorophore la plus utilisée pour mettre au point des sondes bimodales est composée de dérivés de 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacène (BODIPY). Ils ont pour avantage d'être facilement modulables structurellement pour conjuguer les biomolécules cibles ou de modifier les propriétés optiques du fluorophore. Ils ont de très bons rendements quantiques de fluorescence, mais les longueurs d'ondes d'absorbance et d'émission (déplacement de Stokes) sont proches, et dans les longueurs d'ondes de la gamme d'absorbance et d'émission de l'hémoglobine présente dans le sang si la conjugaison du noyau initial n'est pas étendue.

Par exemple, le composé [ $^{18}\text{F}$ ]229<sup>161</sup> a été radiomarqué par un échange isotopique, mais d'autres stratégies impliquant des groupements partants sur les atomes de bore ont été développées afin d'améliorer l'activité molaire.

<sup>160</sup> Guo H., Kommedi H., Vedvyas Y., McCloskey J. E., Zhang W., Chen N., Nurili F., Wu A. P., Sayman H. B., Akin O., Rodriguez E. A., Aras O., Jin M. M., Ting R. A fluorescent, [ $^{18}\text{F}$ ]-Positron-Emitting agent for imaging prostate-specific membrane antigen allows genetic reporting in adoptively transferred, genetically modified cells. *ACS Chem. Biol.*, **2019**, 14, 1449-1459.

<sup>161</sup> Paulus A., Desai P., Carney B., Carlucci G., Reiner T., Brand C., Weber W. A. Development of a clickable bimodal fluorescent/PET probe for in vivo imaging. *EJNMMI Res.*, **2015**, 5.

Récemment, des BODIPY bioconjugués ont également pu être marqués par du  $[^{13}\text{C}]\text{CO}$  comme modèle d'un marquage au carbone-11. Le composé  $[^{13}\text{C}]\text{230}$  a été marqué en utilisant du carbone-13 mais l'objectif est de mettre au point la synthèse de ce composé pour le carbone-11 (Fig. 62).<sup>162</sup> De façon intéressante, Le rendement quantique de fluorescence dans l'acétonitrile est bien meilleur que le rendement quantique du vert d'indocyanine.

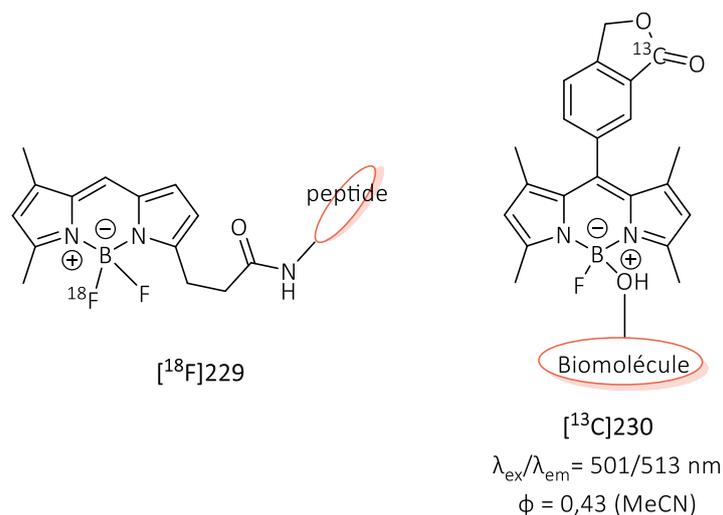


Figure 62 - Fluorophores dérivés de BODIPY

Parmi les modifications possibles de ce noyau, le remplacement du carbone en position méso par un azote a permis d'obtenir les dérivés aza-BODIPY qui ont des rendements quantiques de fluorescence aussi bon que ceux des BODIPY mais leurs longueurs d'ondes d'absorbance et d'émission se situent dans le NIR (650 nm-850 nm). Ces fluorophores ont donc été sélectionnés pour la suite de l'étude afin d'obtenir une sonde bimodale IO/TEP supportée à base d'Imid-SiFA.

## 2. Vers la synthèse d'une sonde bimodale à partir d'un précurseur Imid-SiFA supporté

### ❖ Objectif

L'objectif de ce nouveau projet est donc de synthétiser une sonde bimodale IO/TEP supportée permettant, après une étape de bioconjugaison par IEDDA, d'obtenir le radiotracer suivant par radiomarquage direct (Fig. 63).

<sup>162</sup> Thifanie Christine, Synthèse et propriétés de nouvelles structures à base de BODIPY pour l'imagerie bimodale TEP/IO et la génération d'102, Université de Bordeaux, 2020.

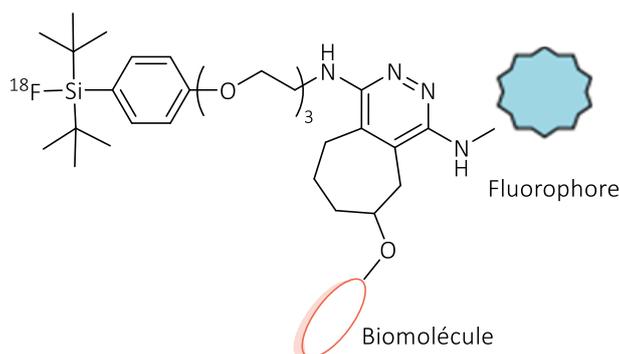


Figure 63 - Sonde bimodale obtenue par radiofluoruration directe

#### ❖ Choix des fluorophores

Concernant le choix des fluorophores, deux fluorophores à base d'aza-BODIPY déjà décrits dans la littérature ont été sélectionnés (Fig. 64). Le premier fluorophore **232** choisi est un aza-bodipy possédant des atomes de fluor-19 sur le bore et fonctionnalisable sur les phénols.<sup>163</sup> Cependant, la présence de fluor-19 pourrait poser problème pour l'étape de radiofluoruration par compétition entre l'échange isotopique et la substitution nucléophile sur l'Imid-SiFA. Le second fluorophore **233** est un aza-bodipy fonctionnalisé sur l'atome de bore ce qui permettrait d'éliminer tout risque d'échange isotopique sur l'atome de bore.<sup>164</sup> Deux rendements quantiques de fluorescence ont été mesurés, le premier dans le PBS est de 0,07 et le second dans le DMSO de 0,32. Une forte diminution du rendement quantique de fluorescence est observée lors du changement de solvant

<sup>163</sup> Tasior M., O'Shea D. F. BF<sub>2</sub>-Chelated Tetraarylazadipyromethenes as NIR Fluorochromes. *Bioconjugate Chem.*, **2010**, 21, 1130–1133.

<sup>164</sup> Pliquett J., Dubois A., Racœur C., Mabrouk N., Amor S., Lescure R., Bettaïeb A., Collin B., Bernhard C., Denat F., Bellaye P. S., Paul C., Bodio E., Goze C. A Promising Family of Fluorescent Water-Soluble aza-BODIPY Dyes for in Vivo Molecular Imaging. *Bioconjugate Chem.*, **2019**, 30, 1061–1066.

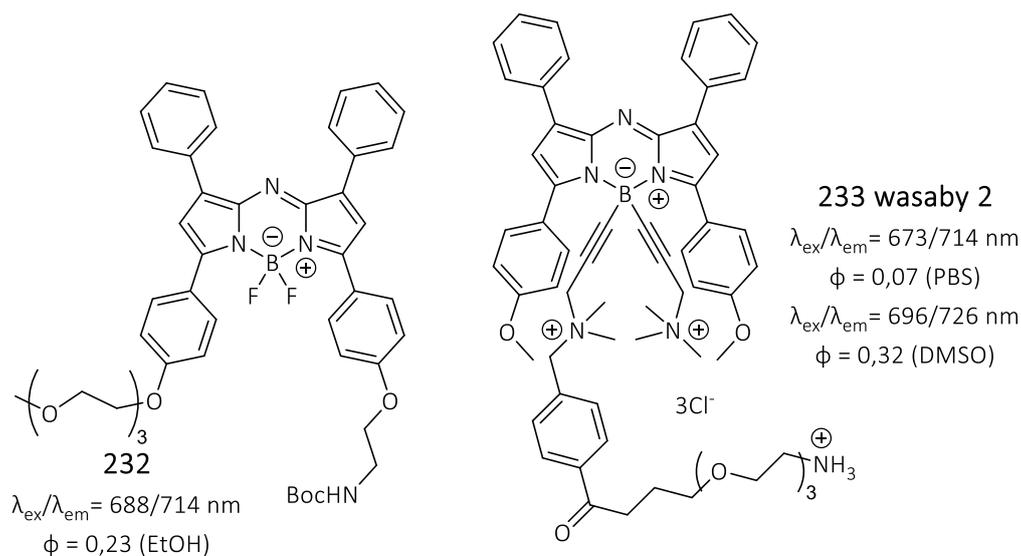


Figure 64 - Choix des fluorophores

#### ❖ Synthèse des fluorophores

La synthèse des fluorophores a donc été reproduite à partir de la littérature. Le phénol **234** a été dans un premier temps protégé avec un groupement MOM avec un rendement de 98% (**Schéma 151**).

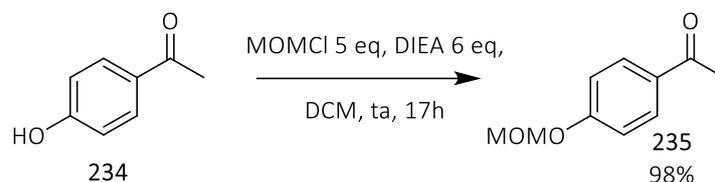


Schéma 151 - Protection du phénol de la benzophénone **234**

Ensuite, le composé **235** a été mis en présence de benzaldéhyde, de KOH dans le méthanol afin de réaliser une condensation de Knoevenagel. Celle-ci a permis d'obtenir le composé **238** avec un rendement de 100% après 2h (**Schéma 152**). En parallèle, la benzophénone méthylée **236** a été mis dans les mêmes conditions afin d'obtenir le composé **237** avec un rendement de 99%.

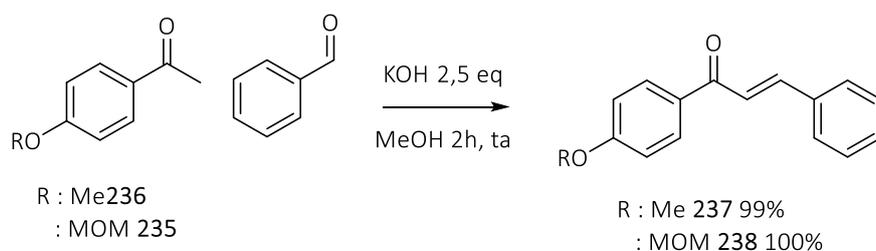


Schéma 152 - Réactions de condensation de Knoevenagel

Une addition nucléophile de nitrométhane sur les précurseurs **237** et **238** a ensuite été réalisée en présence de diéthylamine dans le méthanol à reflux pendant 24h, permettant d'obtenir les intermédiaires **239** et **240** avec des rendements respectifs de 98% et de 82% (Schéma 153).

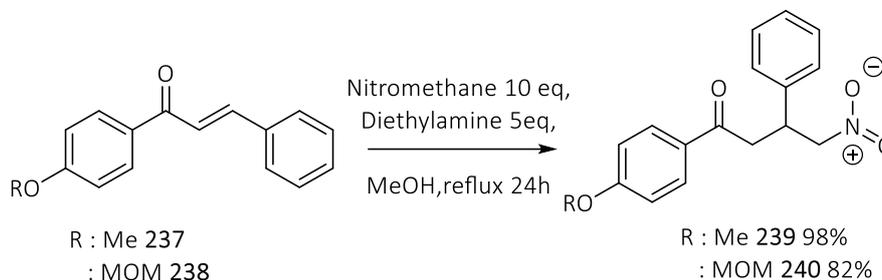


Schéma 153 - Addition nucléophile du nitrométhane sur **237** et **238**

Les composés **239** et **240** ont été mis en présence d'acétate d'ammonium dans de l'éthanol à reflux pendant 24h. La nouvelle réaction de condensation a alors conduit à la formation des produits **241** et **242** avec des rendements de 49% et 48% (Schéma 154).

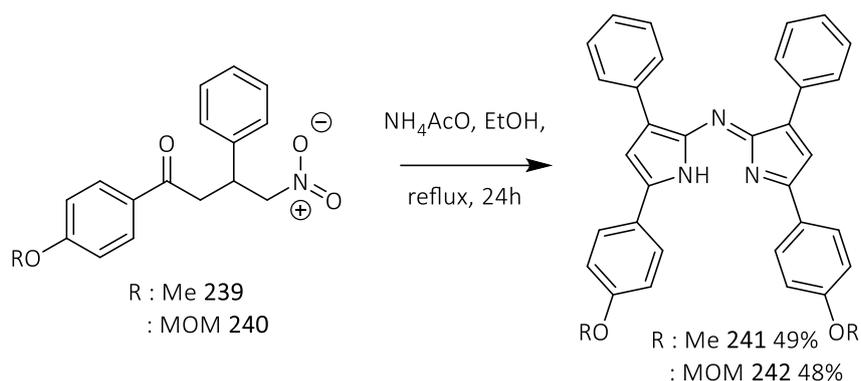


Schéma 154 - Réaction de condensation

Malheureusement, le composé **242** n'a pas pu être engagé dans la suite des réactions par manque de temps. En revanche, le composé **241** a pu être engagé dans la formation du noyau aza-BODIPY par traitement avec  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ , en présence de DIEA dans le dichlorométhane à température ambiante pendant 20h. Le composé désiré **243** a ainsi été obtenu avec un rendement de 99% (Schéma 155).

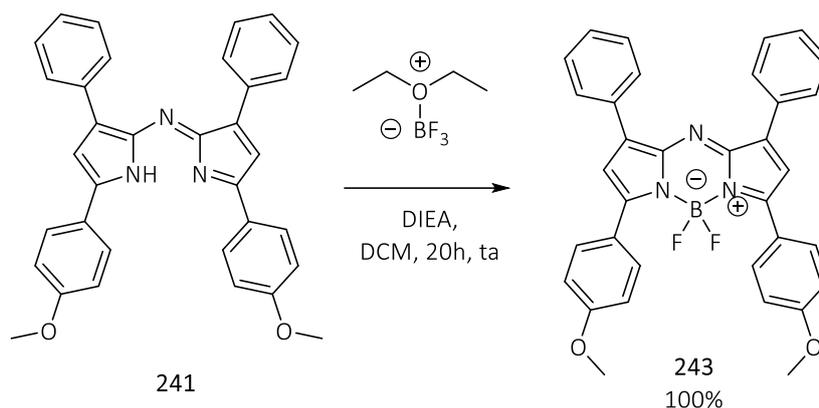


Schéma 155 – Synthèse du noyau aza-BODIPY

Enfin, la réaction avec un alcyne de magnésium préformé par mélange du 3-diméthylamino-1-propyne et du MeMgCl a permis d'obtenir le composé **244** avec un rendement de 44% (Schéma 155).

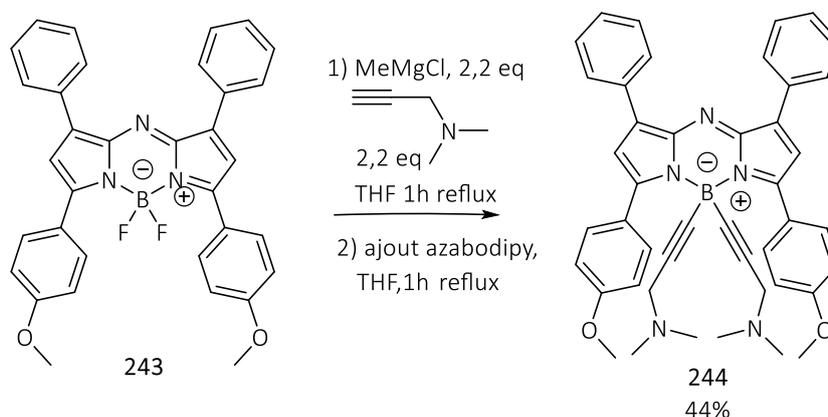


Schéma 156 - Substitution des fluorures par des alcynes

Là encore, la suite de la synthèse du fluorophore visé n'a pas pu être terminée par manque de temps (quaternarisation séquentielle des amines).

#### ❖ Choix de la méthode de couplage

La stratégie choisie pour coupler le fluorophore, l'Imid-SiFA supporté et la biomolécule s'est portée sur l'utilisation de la dichlorotétrazine décrite pour des applications similaires.<sup>165</sup> En effet, les atomes de chlores présents peuvent être substitués par des fonctions thiols ou amines, et la fonction tétrazine peut réagir avec un TCO *via* une IEDDA. Cette technique a permis par exemple d'obtenir la sonde bimodale **245** (Fig. 65).

<sup>165</sup> Canovas C., Moreau M., Bernhard C., Oudot A., Guillemin M., Denat F., Goncalves V. Site-Specific Dual Labeling of Proteins on Cysteine Residues with Chlorotetrazines. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 10646–10650.

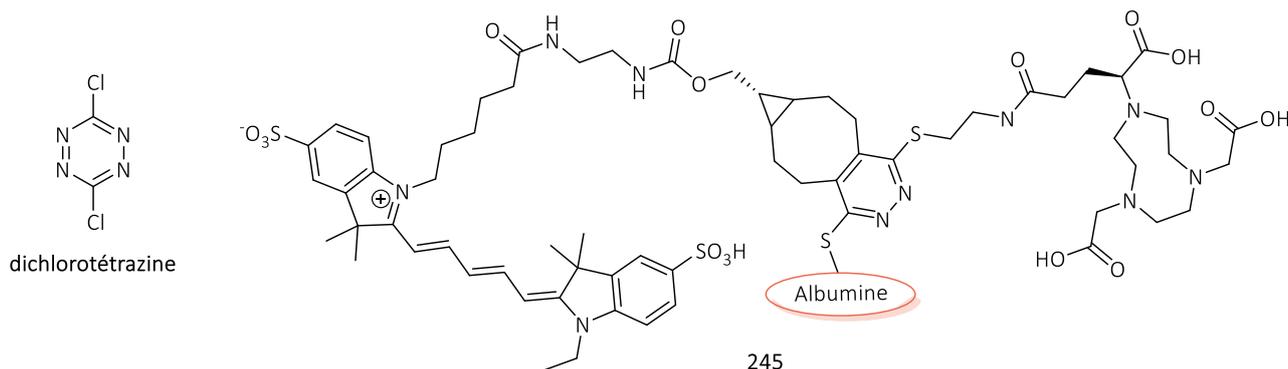


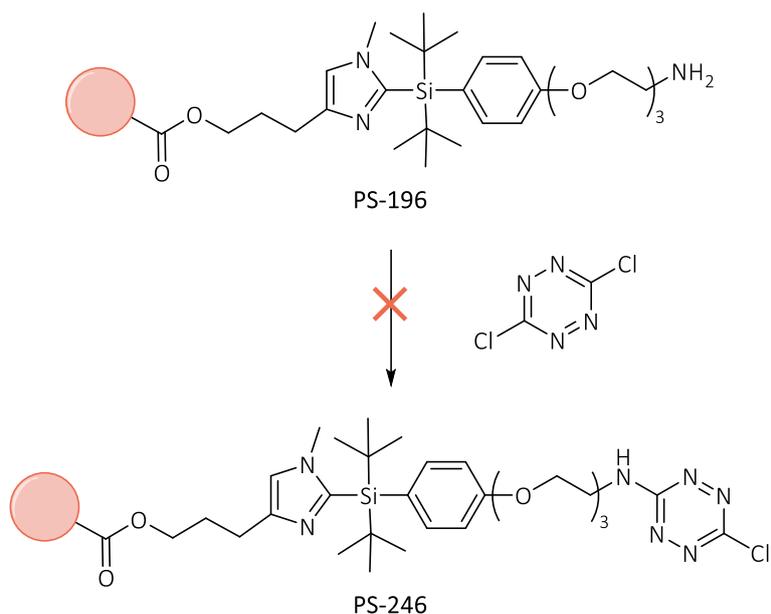
Figure 65 - Exemple de sonde bimodale IO/TEP synthétisée à partir de la dichlorotétrazine

#### ❖ Greffage de la dichlorotétrazine sur le support solide

En parallèle, afin de pouvoir lier le fluorophore sur la résine, la résine **PS-196** (avec le résidu amine) a été mise en présence de dichlorotétrazine dans le DMF (**Schéma 157**). La réaction a été agitée pendant 4 jours à température ambiante, puis la résine a été fluorée. Un composé de masse molaire de  $646 \text{ g.mol}^{-1}$  a alors été détecté, mais ne correspondant donc pas au composé souhaité (**Tableau 34**). La réaction a été de nouveau tentée en chauffant le milieu à  $50^\circ\text{C}$  pendant 11 jours mais le produit désiré n'a pas été observé après fluoration. Il est à noter que la plateforme Imid-SiFA fluorée avec l'amine terminale n'a pas non plus été récupérée.

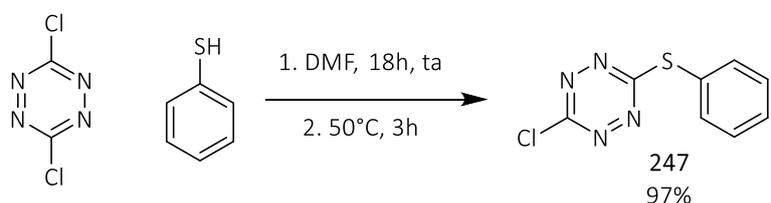
Tableau 34 - Conditions utilisées pour faire la substitution nucléophile

Test	Conditions de greffage	Masse observée après fluoration
1	4 jours, ta	M=646g.mol <sup>-1</sup> ?
2	11 jours, 50°C	M=441g.mol <sup>-1</sup> ? M=646g.mol <sup>-1</sup> ?



**Schéma 157** – Tentative de substitution nucléophile de la dichlorotétrazine sur l'amine terminale de **PS-196**

Suite à cela, la dichlorotétrazine a été monosubstituée avec du thiophénol dans le DMF, permettant ainsi d'obtenir le composé **247** avec un rendement de 64% (**Schéma 158**).



**Schéma 158** - Monosubstitution de la chlorotétrazine avec un thiophénol

Le composé **247** a ensuite été mis en présence de la résine **PS-196**. La réaction a été réalisée dans un premier temps dans le DMF à 80°C, mais dans ce cas seul le composé silylé fluoré possédant une amine terminale a été observé (**Schéma 159**). Deux autres essais ont été réalisés en changeant le solvant et en chauffant plus fort mais ils n'ont pas permis non plus d'obtenir le composé souhaité (**Tableau 35**).

**Tableau 35** - Conditions utilisées afin de réaliser la substitution sur le composé **247** par l'amine de la résine **PS-196**

Test	Conditions	Fluoration
1	DMF 80°C, 3 jours	Produit de départ
2	DIEA, DCM, 70°C, 3 jours	Produit de départ
3	DIEA, DCE, 90°C, 4 jours	Produit de départ

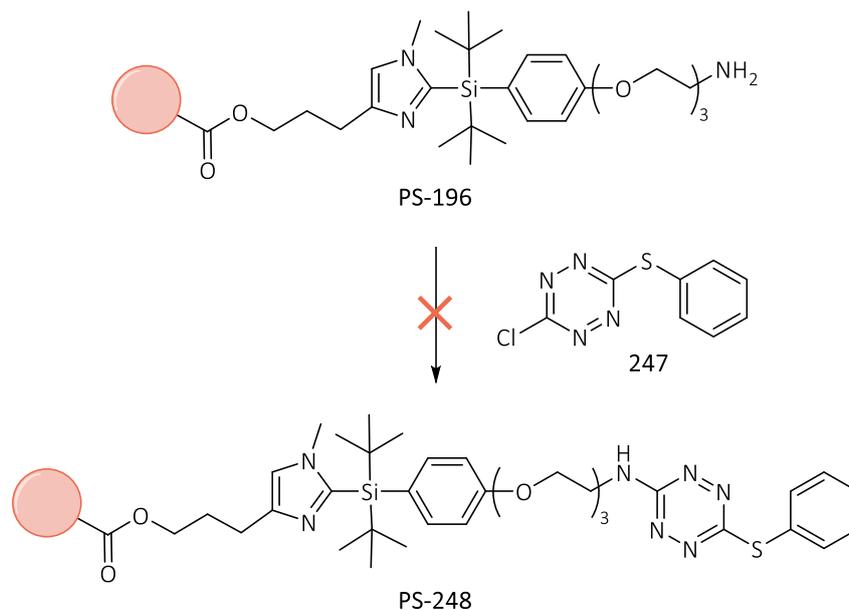


Schéma 159 - Tentative de substitution du composé **246** sur la résine **PS-196**

Finalement, la stratégie utilisant la dichlorotétrazine n'a donc pas été utilisable pour coupler la partie SiFA avec un fluorophore. Il faudra donc essayer de modifier la plateforme en amont pour avoir potentiellement un thiol terminal, plus réactif avec la dichlorotétrazine qu'une amine ou bien changer entièrement la stratégie de couplage.

# Conclusion

Différentes tentatives d'application des précurseurs Imid-SiFA supportés, développés dans le chapitre 2, ont été présentées au cours de ce chapitre.

Tout d'abord, le marquage indirect de nanobodies a été envisagé en utilisant une réaction de conjugaison bio-orthogonale de type SPAAC. La synthèse d'une plateforme Imid-SiFA possédant un azoture a été réalisée et la radiosynthèse du groupement prosthétique a pu être optimisée avec succès, permettant d'obtenir des rendements radiochimiques jusqu'à 24%. Cependant, les contraintes liées à la chimie du fluor-18 et la manipulation des nanobodies ont ajouté des difficultés non négligeables pour atteindre l'automatisation de cette radiosynthèse indirecte. En effet, la réaction de chimie "click" choisie s'est montrée trop lente dans les conditions utilisées. Des améliorations devront donc être apportées pour rendre cette réaction applicable à des études pré-cliniques. Par exemple, l'utilisation d'un autre type de précurseur capable de réaliser une réaction bio-orthogonale plus rapide, ou bien l'utilisation de la micro-fluidique pourraient être des pistes de réflexion intéressantes à développer.

Ensuite, la préparation d'un bioconjugué Imid-SiFA supporté avec un peptide marqueur de la granzyme B a été testée sans succès. Ici, la problématique a été la sensibilité du substrat dès l'étape de greffage. Des tentatives utilisant différentes réactions spécifiques des amines ont été testées, mais pour l'instant, les conditions envisagées n'ont pas permis d'obtenir le précurseur désiré. D'autres réactions de bioconjugaison sur la résine devront donc être explorées afin de trouver une réaction efficace et reproductible qui permettra de développer une nouvelle gamme de radiotraceurs peptidiques.

Enfin, le développement d'une plateforme supportée IO/TEP est une stratégie possédant de nombreux avantages. Cependant, là encore, la méthode de couplage des différentes parties de la molécule finale doit être revue et étudiée afin de trouver une manière efficace de synthétiser cette plateforme. La synthèse d'une nouvelle plateforme pourrait être envisagée afin de mettre en place cet outil.

# Conclusion générale

Les objectifs de cette thèse étaient la synthèse d'une plateforme silylée acceptrice de fluorure-18 (SiFA) supportée permettant de faciliter l'automatisation de la radiosynthèse et l'application de cette plateforme à différentes structures.

Dans un premier temps, la synthèse de la plateforme a été optimisée avec succès, permettant d'obtenir une plateforme supportée pouvant être synthétisée à une échelle multigramme. Le greffage de la plateforme sur du polystyrène a ensuite permis d'obtenir la plateforme **PS-179** pouvant être bioconjuguée directement sur support solide. Différentes structures ont pu être "clickées" sur la résine par réaction de CuAAC, conduisant aux résines **PS-181**, **PS-183**, **PS-186** et **PS-189** possédant des biomolécules aux propriétés physico-chimiques et biologiques différentes (respectivement AZT, œstradiol, glucose et biotine). L'étape de bioconjugaison doit cependant être adaptée aux différentes structures pour optimiser le taux de conversion. Par la suite, l'étude des conditions de réaction de fluoration directe (quantité de précurseur, solvant, température, temps) a été réalisée sur la résine modèle **PS-181**. Ce qui a permis de déterminer les paramètres optimisés suivants : élution directe du fluor-18 avec une solution saline à 0,9% de la QMA vers le réacteur contenant 5 mg de précurseur supporté (soit 2  $\mu\text{mol}$ ) avec une quantité d'acide acétique de 10 équivalents et chauffage à 100°C pendant 15 min dans un mélange eau/acétonitrile (15/85). La radiosynthèse du composé modèle dérivé de l'AZT a pu être entièrement automatisée avec une durée totale moyenne de 55 min, incluant une étape de purification sur SPE et une étape de formulation. Le rendement radiochimique moyen obtenu a été de  $12 \pm 3 \%$  ( $n = 4$ ) avant formulation et de  $7 \pm 2 \%$  ( $n = 4$ ) après formulation (RCP moyen de 97%).<sup>166</sup> Le protocole mis en place pour la résine **PS-181** a été reproduit à l'identique pour les trois autres résines afin de comparer les rendements radiochimiques. Ces expériences ont montré que le rendement radiochimique était du même ordre de grandeur que le composé modèle, mais semble dépendant de l'hydrophilie du précurseur. Cependant, la diminution de la réactivité de la plateforme entraîne la diminution de la pureté radiochimique, à priori liée à la formation d'impuretés potentiellement issues de la composition/fabrication de la résine.

Dans un second temps, différentes applications à l'immuno-oncologie ont été tentées.

---

<sup>166</sup> Steffann M., Tisseraud M., Bluet G., Roy S., Aubert C., Fouquet E., Hermange P. Last-step F-fluorination of Supported 2-(aryl-di-*tert*-butylsilyl)-*N*-methyl-imidazole Conjugates for Applications in Positron Emission Tomography, *Chem. Comm.*, **2022**, 58, 9140-9143.

Une première stratégie d'utilisation de la nouvelle plateforme pour marquer des Nbs par radiomarquage indirect a d'abord été testée. En effet, la synthèse du groupement prosthétique a été optimisée grâce au changement de solvant (DMSO) et à l'augmentation de la température (160°C) de radiomarquage, permettant ainsi d'obtenir des rendements radiochimiques de 24%. La bioconjugaison par chimie « click » a ensuite été réalisée. Il a été observé à plusieurs reprises la formation du Nanobody radiomarqué, celui-ci a même pu être isolé. Cependant, la cinétique de réaction SPAAC ne semble pas assez rapide, et il serait donc intéressant de tester une autre réaction de chimie "click". D'autre part, l'automatisation du radiomarquage n'a pu être achevée à cause des contraintes liées à la stabilité des Nbs. L'étude de l'approche microfluidique pourrait sans doute être une solution.

La seconde stratégie concernant les applications à l'immuno-oncologie était le radiomarquage direct d'un marqueur peptidique de la granzyme B. Cependant, les différents essais de bioconjugaison du peptide cible n'ont pas été concluants, que celui-ci soit protégé ou non. Ces difficultés de synthèses nécessiteront sûrement des fonctionnalisations différentes de la plateforme Imid-SIFA ou du peptide afin d'améliorer la réaction entre ces deux entités.

Enfin, le radiomarquage supporté d'une sonde bimodale IO/TEP a été envisagé car à l'heure actuelle, aucun précurseur supporté de sonde bimodale n'a encore été développé. Cependant, tous les essais réalisés n'ont pas permis d'obtenir notre sonde bimodale. La mise en place d'un tel outil nécessiterait un nouveau design de la stratégie de synthèse afin d'assembler avec succès les trois blocs de ce type de sonde. Cela permettrait d'obtenir une résine encore plus polyvalente et de multiplier les applications de cette plateforme supportée.

# Références bibliographiques

1. Guillaumont R., "Avant-propos" dans Radiochimie et Chimie sous rayonnement, *L'Actualité Chimique*, **2021**, n°460-461.
2. Brown R. J. C. Recent developments in solid-phase organic synthesis. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1998**, 3293–3320.
3. Zimmermann R., *La Médecine Nucléaire*, France, Ed. EDP Sciences, **2006**, ISBN : 2-86883-865-0.
4. Pallardy G., Pallardy M.-J., "Histoire abrégée du radiodiagnostic et de l'imagerie médicale" dans *Histoire des sciences médicales*, **2007**, 41 (1), pp.34-40.
5. Coenen H.H. *et al.* Consensus nomenclature rules for radiopharmaceutical chemistry — Setting the record straight *Nuclear Medicine and Biology* **2017**, 55, v–xi.
6. Long N. (ed.), Wong W.-T. (ed.) *The chemistry of molecular imaging*, Wiley, **2015**, ISBN : 978-1-118-09327-6.
7. Chen K., Chen X. Design and development of Molecular Imaging Probes. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2010**, 10, 1227-1236.
8. Li Z., Conti P.S. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2010**, 62, 1031–1051.
9. Miller, P. W.; Long, N. J.; Vilar, R.; Gee, A. D. Synthesis of  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{15}\text{O}$ , and  $^{13}\text{N}$  Radiolabels for Positron Emission Tomography. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 8998–9033.
10. Coenen H. H. "Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions." Dans *The driving force of molecular imaging*. Schubiger P. A (éd.), Lehmann L. (éd.), Friebe M. (éd.), Heidelberg, Springer, **2007**, ISBN : 3-540-32623-5.
11. Ido, T.; Wan, C.-N.; Casella, V.; Fowler, J. S.; Wolf, A. P.; Reivich, M.; Kuhl, D. E. Labeled 2-Deoxy-D-Glucose Analogs.  $^{18}\text{F}$ -Labeled 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose, 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Mannose and  $^{14}\text{C}$ -2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1978**, 14 (2), 175–183.
12. Kiesewetter D. O., Kilbourn M. K., Landvatter S. W., Heiman D. F., Katzenellenbogen J. A., Welch M. J. Preparation of four fluorine-18-labeled estrogens and their selective uptakes in target tissues of immature rats. *J. Nucl. Med.* **1984**, 25, 1212-1221.
13. Ametamey S. M., Honer M., Schubiger P. A. Molecular Imaging with PET, *Chemical Reviews*, **2008**, 108, 5.
14. Jamous M., Tamma M. J., Gourni E., Waser B., Reubi J.C., Maecke H. R., Mansi R. PEG spacers of different length influence the biological profile of bombesin-based radiolabeled antagonists. *Nuclear Medicine and Biology*, **2014**, 41, 464–470.
15. Meller J., Sahlmann C.-O., Scheel A. K.  $^{18}\text{F}$ -FDG PET and PET/CT in Fever of Unknown Origin, *J. Nucl. Med.*, **2007**, 48, 1, 35-45.
16. Pretze M., Wängler C., Wängler B.  $^{16}\text{C}$ -[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-L-DOPA: A Well-Established Neurotracer with Expanding Application Spectrum and Strongly Improved Radiosyntheses, *BioMed Research International*, **2014**, Vol. 2014, Article ID 674063.
17. Fimau G., Chirakal R., Garnett E. S. Aromatic Radiofluorination with [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorine Gas: 6-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluoro-L-Dopa, *J. Nucl. Med.*, **1984**, 25, 1228-1233.

18. Chirakal R., Firnau G., Garnett E. S. High yield synthesis of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-L-dopa, *J. Nucl. Med.*, **1986**, 27, 3, 417–421.
19. Diksic M., Farrokhzad S., New synthesis of fluorine-18- labeled 6-fluoro-L-dopa by cleaving the carbon-silicon bond with fluorine, *J. Nucl. Med.*, **1985**, 26, 1314–1318.
20. Luxen A., Perlmutter M., Bida G. T. *et al.*, Remote, semiautomated production of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-L-dopa for human studies with PET, *Applied Radiation and Isotopes*, **1990**, 41, 275– 281.
21. Fuchtnner F., Zessin J., Mäding P., Wüst, Aspects of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-L-DOPA preparation, *Nuklearmedizin*, **2008**, 47, 62–64.
22. Seebach D., Methods of Reactivity Umpolung, *Angew. Chem. Int.*, **1979**, 18, 4, 239–258.
23. Lee E., Kamlet A. S., Powers D. C., Neumann C. N., Boursalian G. B., Furuya T., Choi D. C., Hooker J. M., Ritter T., A Fluoride-derived electrophilic Late-Stage Fluorination reagent for PET imaging, *Science*, **2011**, 334, 639.
24. Lee E., Hooker J. M., Ritter T. Nickel-mediated oxidative fluorination for PET with aqueous [<sup>18</sup>F] fluoride. *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 17456–17458.
25. Cortés González M. A., Nordeman P., Bermejo Gómez, Meyer D. N., Antoni G., Schouc M., Szabo K. J. [<sup>18</sup>F]fluoro-benziodoxole: a no-carrier-added electrophilic fluorinating reagent. Rapid, simple radiosynthesis, purification and application for fluorine-18 labelling, *Chem. Commun.*, **2018**, 54, 4286-4289.
26. Ulmer A., Brunner C., Arnold A. M., Pöthig A., Gulder T. A Fluorination/aryl migration/Cyclization Cascade for the Metal-Free Synthesis of Fluorobenzoxazepines, *Chem. – Eur. J.*, **2016**, 22, 3660.
27. Hamacher, K.; Coenen, H. H.; Stöcklin, G. Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2-[<sup>18</sup>F]-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution, *J. Nucl. Med.* **1986**, 27 (2), 235–238.
28. Jacobson O., Kiesewetter D. O., Chen X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes, *Bioconjugate Chem.*, **2015**, 26, 1–18.
29. Tredwell M., Gouverneur V. <sup>18</sup>F Labeling of Arenes, *Angew. Int. Ed. Chem.*, **2012**, 51, 11426-22437.
30. Narayanam M. K., Ma G., Champagne P. A., Houk K. N., Murphy J. M. Synthesis of [<sup>18</sup>F]Fluoroarenes by Nucleophilic Radiofluorination of *N*-Arylsydnone, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2017**, 56, 42, 13006–13010.
31. N. N. Ryzhikov, N. Seneca, R. N. Krasikova, N. A. Gomzina, E. Shchukin, O. S. Fedorova, D. A. Vassiliev, B. Gulyás, H. Hall, I. Savic, C. Halldin. Preparation of highly specific radioactivity [<sup>18</sup>F]flumazenil and its evaluation in cynomolgus monkey by positron emission tomography, *Nucl. Med. Biol.* **2005**, 32, 109.
32. Kahane P., Landré E. La zone épileptogène The epileptogenic zone, *Neurochirurgie*, **2008**, 54, 265–271.
33. Bouvet V. , Wuest M., Jans H.-S., Janzen N., Genady A. R., Valliant J. F., Benard F., Wuest F. Automated synthesis of [<sup>18</sup>F]DCFPyL via direct radiofluorination and validation in preclinical prostate cancer models, *EJNMMI Research*, **2016**, 6, 40.

34. Balz G., Schiemann G. Über aromatische Fluorverbindungen, I.: Ein neues Verfahren zu ihrer Darstellung, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, **1927**, 60, 5, 1186–1190.
35. Wallach, O. Ueber das Verhalten einiger Diazo- und Diazoamidverbindungen, *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, **1886**, 235, 3, 233–255.
36. Argentini M., Wiese C., Weinreich R. Syntheses of 5-fluoro-D/L-dopa and [<sup>18</sup>F]5-fluoro-L-dopa, *Journal of Fluorine Chemistry*, **1994**, 68, 141–144.
37. Kilbourn M. R., Welch M. J., Dence C. S., Tewson T. J., Saji H., Maeda M. Carrier-added and no-carrier-added syntheses of [<sup>18</sup>F]spiroperidol and [<sup>18</sup>F]haloperidol, *The Int. Journal of Applied Radiation and Isotopes* **1984**, 35 (7), 591–598.
38. Handel H., Pasquini M. A., Pierre J. L. Effets de cryptands et activation de bases : réduction des halogénures de phényle par l'hydrure de potassium, *Tetrahedron* **1980**, 36 (22), 3205–3208.
39. Fry S. E., Pient N. J., Effects of Molten Salts on Reactions. Nucleophilic Aromatic Substitution by Halide Ions in Molten Dodecyltributylphosphonium Salts, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 6400–6402.
40. Neumann C. N., Hooker J. M., Ritter T. Concerted nucleophilic aromatic substitution with <sup>19</sup>F<sup>-</sup> and <sup>18</sup>F<sup>-</sup>, *Nature*, **2016**, 534, 7607, 369–373.
41. Maisonia-Besset A., Serre A., Ouadi A., Schmitt S., Canitrot D., Léal F., Miot-Noirault E., Brasse D., Marchand P., Chezal J.-M. Base/Cryptand/Metal-Free Automated Nucleophilic Radiofluorination of [<sup>18</sup>F]FDOPA from Iodonium Salts: Importance of Hydrogen Carbonate Counterion, *European Journal of Organic Chemistry* **2018**, 2018, 48, 7058–7065.
42. Kuik W.-J., Kema I. P., Brouwers A. H., Zijlma R., Neumann K. D., Rudi A.J.O. Dierckx R. A. J. O., DiMagno S. G., Elsinga P. H. In Vivo Biodistribution of No-Carrier-Added 6-<sup>18</sup>F-Fluoro-3, 4-Dihydroxy-L-Phenylalanine (<sup>18</sup>F-DOPA), Produced by a New Nucleophilic Substitution Approach, Compared with Carrier-Added <sup>18</sup>F-DOPA, Prepared by Conventional Electrophilic Substitution, *J. Nucl. Med.*, **2015**, 56, 106–112.
43. N. Satyamurthy and J. R. Barrio, Patent, WO 2010/117435 A2, **2010**.
44. Cardinale, J.; Ermert, J.; Humpert, S.; Coenen, H. H. Iodonium ylides for one-step, no-carrier-added radiofluorination of electron rich arenes, exemplified with 4-([<sup>18</sup>F]fluorophenoxy)-phenylmethyl)piperidine NET and SERT ligands, *RSC Adv.* **2014**, 4, 33, 17293–17299.
45. Rotstein B. H., Wang L., Liu R. Y., Patteson J., Kwan E. E., Vasdev N., Liang S. H. Mechanistic studies and radiofluorination of structurally diverse pharmaceuticals with spirocyclic iodonium(III) ylides, *Chem. Sci.*, **2016**, 7, 4407–4417.
46. Bienvenu A., Barthelemy A., Boichut S., Marquet B., Billard T., Langlois B. R., Synthesis of 4-Fluorophenols from 4-tert-Butylphenols and Fluoride Sources Under Oxidative Conditions, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2002**, 67 (10), 1467–1478.
47. Gao Z., Lim Y. H., Tredwell M., Li L., Verhoog S., Hopkinson M., Kaluza W., Collier T. L., Passchier J., Huiban M., Gouverneur V., Metal-Free Oxidative Fluorination of Phenols with [<sup>18</sup>F]Fluoride, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51 (27), 6733–6737.

48. Ryzhikov N. N., Gomzina N. A., Fedorova O. S., Vasil'ev D. A., Kostikov A. P., Krasikova R. N. Preparation of [<sup>18</sup>F]Flumazenil, a Potential Radioligand for PET Imaging of Central Benzodiazepine Receptors, by isotope exchange, *Radiochemistry*, **2004**, 46, 3, 290–294.
49. Liu Z., Pourghasian M., Radtke M. A., Lau J., Pan J., Dias G. M., Yapp D., Lin K.-S., Bénard F., Perrin D. M. 226An Organotrifluoroborate for Broadly Applicable One-Step <sup>18</sup>F labeling, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 11876–11880.
50. Zheng Q., XU H., Wang H., Han Du W.-G., Wang N., Xiong H., Gu Y., Noodleman L., Sharpless K. B., Yang G., Wu P. Sulfur [<sup>18</sup>F]Fluoride Exchange Click Chemistry Enabled Ultrafast Late-Stage Radiosynthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**.
51. Monzittu F. M., Khan I., Levason W., Luthra S. K., McRobbie G. Rapid Aqueous Late-Stage Radiolabelling of [GaF<sub>3</sub>(BnMe<sub>2</sub>-tacn)] by <sup>18</sup>F/<sup>19</sup>F Isotopic Exchange: Towards New PET Imaging Probes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 6658–6661.
52. Lefebvre C., Fortier L., Hoffmann N. Électricité et lumière en synthèse organique : l'électrophotocatalyse. *L'Actualité Chimique, Société chimique de France*, **2020**. hal-02885211.
53. Bui T. T., Kim H.-K. Recent Advances in Photo-mediated Radiofluorination, *Chem. Asian J.*, **2021**, 16, 2155–2167.
54. Nodwell M. B., Yang H., Čolovic M., Yuan Z., Merkens H., Martin R. E., Bénard F., Schaffer P., Britton R. <sup>18</sup>F-Fluorination of Unactivated C–H Bonds in Branched Aliphatic Amino Acids: Direct Synthesis of Oncological Positron Emission Tomography Imaging Agents, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 3595–3598.
55. Yuan Z., Nodwell M. B., Yang H., Malik N., Merkens H., Benard F., Martin R. E., Schaffer P., Britton R., Site-Selective, Late-Stage C–H <sup>18</sup>F-Fluorination on Unprotected Peptides for Positron Emission Tomography Imaging, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 12733–12736; *Angew. Chem.* 2018, 130, 12915–12918.
56. Webb E. W., Park J. B., Cole E. L., Donnelly D. J., Bonacorsi S. J., Ewing W. R., Doyle A. G. Nucleophilic (Radio)Fluorination of Redox-Active Esters via RadicalPolar Crossover Enabled by Photoredox Catalysis, *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142, 9493–9500.
57. Tay N. E., Chen W., Levens A., Pistrutto V. A., Huang Z., Wu Z., Li Z., Nicewicz D. A. <sup>19</sup>F- and <sup>18</sup>F-arene deoxyfluorination via organic photoredox-catalysed polarity-reversed nucleophilic aromatic substitution, *Nat. Catal.*, 2020, 3, 734–742.
58. Sadeghi S., Liang V., Cheung S., Woo S., Wu C., Ly J., Deng Y., Eddings M., van Dam R. M. Reusable electrochemical cell for rapid separation of [<sup>18</sup>F]fluoride from [<sup>18</sup>O]water for flow-through synthesis of <sup>18</sup>F-labeled tracers, *Applied Radiation and Isotopes*, **2013**, 75, 85–94.
59. Allison N., Balandeh M., Holloway T., Gomez A., Rios A., Waldmann C. M., Lebedev A., Sadeghi S. Electrochemical no-Vcarrier-added radiofluorination of thioethers, *Journal of Fluorine Chemistry*, **2022**, 257–258, **109988**.
60. Kienzle G. J., Reischl G., Machulla H.-J. Electrochemical radiofluorination. 3. Direct labeling of phenylalanine derivatives with [<sup>18</sup>F]fluoride after anodic oxidation, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2005**, 48, 259–273.
61. He Q., Wang Y., Alfeazi I., Sadeghi S. Electrochemical nucleophilic synthesis of di-tert-butyl-(4-[<sup>18</sup>F]fluoro-1,2-phenylene)-dicarbonate, *Applied Radiation and Isotopes*, **2014**, 92, 52–57.

62. Lebedev A., Jiao J., Yang F., Allison N., Herschman H., Sadeghi S. Radiochemistry on electrodes: Synthesis of an <sup>18</sup>F-labelled and in vivo stable COX-2 inhibitor, *PLoS ONE*, **2017**, 12, 5, e0176606.
63. Hernández-Valdés D., Sadeghi S. Electrochemical Radiofluorination of Small Molecules: New Advances, *Chem. Rec.*, **2021**, 21, 2397–2410.
64. Martarello L., Schaffrath C., Deng H., Gee A. D., Lockhart A., O'Hagan, D. The First Enzymatic Method for C–<sup>18</sup>F Bond Formation: The Synthesis of 5'-[<sup>18</sup>F]-Fluoro-5'-Deoxyadenosine for Imaging with PET, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2003**, 46, 13, 1181–1189.
65. Thompson S., Zhang Q., Onega M., McMahon S., Fleming I., Ashworth S., Naismith J. H., Passchier J., O'Hagan D. A Localized Tolerance in the Substrate Specificity of the Fluorinase Enzyme Enables “Last-Step” <sup>18</sup>F Fluorination of a RGD Peptide under Ambient Aqueous Conditions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 34, 8913–8918.
66. Zhang Q., Dall'Angelo S., Fleming I. N., Schweiger L. F., Zanda M., O'Hagan D. Last-Step Enzymatic [<sup>18</sup>F]-Fluorination of Cysteine-Tethered RGD Peptides Using Modified Barbas Linkers. *Chem. – Eur. J.* **2016**, 22 (31), 10998–11004.
67. Lowe P. T., Dall'Angelo S., Fleming I. N., Piras M., Zanda M., O'Hagan D. Enzymatic radiosynthesis of a <sup>18</sup>F-Glu-Ureido-Lys ligand for the prostate-specific membrane antigen (PSMA), *Org. Biomol. Chem.*, **2019**, 17, 1480–1486.
68. Horti A., Redmond D. E., Soufer R. No-carrier-added (NCA) synthesis of 6-[<sup>18</sup>F]fluoroL-DOPA using 3,5,6,7,8,8a-hexahydro-7,7,8a-trimethyl- [6s - (6a, 8a, 8a p ) ] - 6,8 -methanolo-2H - 1,4 - benzoxazin-2-one, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, **1995**, 36, 5, 409-423.
69. Wagner F. M., Ermert J., Coenen H. H., Three-Step, “One-Pot” Radiosynthesis of 6-Fluoro-3,4-Dihydroxy-L-Phenylalanine by Isotopic Exchange, *J. Nucl. Med.*, 2009, 50, 10, 1724-1729.
70. Libert L. C., Franci X., Plenevaux A. R., Ooi T., Maruoka K., Luxen A. J., Lemaire C. F. Production at the Curie Level of No-Carrier-Added 6-<sup>18</sup>F-Fluoro-L-Dopa, *J. Nucl. Med.*, **2013**, 54, 7, 1154-1161.
71. Vaidyanathan G., Zalutsky M. R. Labeling Proteins with Fluorine- <sup>18</sup> Using N-Succinimidyl 4-[<sup>18</sup>F]Fluorobenzoate, *Nucl. Med. Biol.*, **1992**, 19, 3, 275-281.
72. Wester H.-J., Hamacher K., Stscklin G. A Comparative Study of N.C.A. Fluorine-<sup>18</sup> Labeling of Proteins via Acylation and Photochemical Conjugation, *Nucl. Med. Biol.*, **1996**, 23, 365-372.
73. Wu Z., Li L., Liu S., Yakushijin F., Yakushijin K., Horne D., Conti P. S., Li Z., Kandeel F., Shively J. E. Facile Preparation of a Thiol-Reactive <sup>18</sup>F-Labeling Agent and Synthesis of <sup>18</sup>F-DEG-VS-NT for PET Imaging of a Neurotensin Receptor-Positive Tumor, *J. Nucl. Med.*, **2014**, 55, 1178-1184.
74. Cavani M., Bier D., Holschbach M., Coenen H. H. Efficient synthesis of [<sup>18</sup>F]FPyME: A new approach for the preparation of maleimide-containing prosthetic groups for the conjugation with thiols, *J. Labelled Compd Radiopharm.*, **2017**, 60, 1, 87–92.
75. Cai W., Zhang X., Wu Y., Chen X. A thiol-reactive <sup>18</sup>F-labeling agent, N-[2-(4-<sup>18</sup>F-fluorobenzamido)ethyl]maleimide, and synthesis of RGD peptide-based tracer for PET imaging of alpha  $\alpha$  $\beta$ 3 integrin expression, *J. Nucl. Med.*, **2006**, 47, 7, 1172-1180.
76. Berndt M., Pietzsch J., Wuest F. Labeling of low-density lipoproteins using the <sup>18</sup>F-labeled thiol-reactive reagent N-[6-(4-[<sup>18</sup>F]fluorobenzylidene)aminoxyhexyl]maleimide, *Nucl. Med. Biol.*, **2007**, 34, 1, 5–15.

77. Jeon J., Shen B., Xiong L., Miao Z., Lee K. H., Rao J., Chin F. T. Efficient Method for Site-Specific  $^{18}\text{F}$ -Labeling of Biomolecules Using the Rapid Condensation Reaction between 2-Cyanobenzothiazole and Cysteine, *Bioconjugate Chem.*, **2012**, 23, 1902–1908.
78. Marik J., Sutcliffe J.L. Click for PET: rapid preparation of [ $^{18}\text{F}$ ]fluoropeptides using CuI catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition, *Tet. Let.*, **2006**, 47, 6681-6684.
79. Devaraj N.K., Keliher E.J., Thurber G.M., Nahrendorf M. Weissleder R.  $^{18}\text{F}$  Labeled Nanoparticles for in vivo PET-CT, *Imaging. Bioconj. Chem.*, **2009**, 20, 397-401.
80. Smith G., Glaser M., Perumal M., Nguyen Q.-D., Shan B., Årstad E., Aboagye E.O. Design, Synthesis, and Biological Characterization of a Caspase 3/7 Selective Isatin Labeled with 2- [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroethylazide, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 8057-8067.
81. Collet C., Maskali F., Clément A., Chrétien F., Poussier S., Karcher G., Marie P.-Y., Chapleur Y., Lamandé-Langle S. Development of 6- [ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-carbohydratebased prosthetic groups and their conjugation to peptides via click chemistry, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2016**, 59, 54–62.
82. Kuhnast B., Hinnen F., Tavitian B., Dolle F. [ $^{18}\text{F}$ ]FPyKYNE, a fluoropyridine-based alkyne reagent designed for the fluorine-18 labelling of macromolecules using click chemistry, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2008**, 51, 336-42.
83. Thonon D., Kech C., Paris J., Lemaire C., Luxen A. New Strategy for the Preparation of Clickable Peptides and Labeling with 1- (Azidomethyl)-4- [ $^{18}\text{F}$ ]fluorobenzene for PET, *Bioconj. Chem.*, **2009**, 20, 817-23.
84. Bouvet V., Wuest M., Wuest F. Copper-free click chemistry with the short-lived positron emitter fluorine-18. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2011**, 9, 21, 7393-7399.
85. Campbell-Verduyn L., Mirfeizi L., Schoonen A., Dierckx R., Elsinga P., Feringa B. Strain-Promoted Copper-Free "Click" Chemistry for  $^{18}\text{F}$  Radiolabeling of Bombesin, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, 50, 47, 11117-11120.
86. Selvaraj R., Giglio B., Liu S., Wang H., Wang M., Yuan H., Chintala S. R., Yap L.-P., Conti P. S., Fox J. M., Li, Z. Improved Metabolic Stability for  $^{18}\text{F}$  PET Probes Rapidly Constructed via Tetrazine trans-Cyclooctene Ligation. *Bioconjugate Chem.*, **2015**, 26, 3, 435-442.
87. Wu Z., Liu S., Hassink M., Nair I., Park R., Li L., Todorov I., Fox J. M., Li Z., Shively J. E., Conti P. S., Kandeel F. Development and evaluation of  $^{18}\text{F}$ -TTCO-Cys40-exendin- 4: A PET probe for imaging transplanted islets, *J. Nucl. Med.*, **2013**, 54, 2, 244-251.
88. Gao Z., Gouverneur V., Davis B. Enhanced Aqueous Suzuki–Miyaura Coupling Allows Site-Specific Polypeptide  $^{18}\text{F}$ -Labeling. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 37, 13612-13615.
89. Way J., Bergman C., Wuest F. Sonogashira cross-coupling reaction with 4- [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroiodobenzene for rapid  $^{18}\text{F}$ -labelling of peptides. *Chem. Comm.*, **2015**, 51, 18, 3838-3841.
90. Way J., Wuest F. Automated radiosynthesis of no-carrier-added 4- [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroiodobenzene: A versatile building block in  $^{18}\text{F}$  radiochemistry. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2014**, 57, 2, 104-109.
91. Fu Y., Helbert H., Simeth N. A., Crespi S., Spoelstra G.B., van Dijn J. M., van Oosten M., Nazario L. R., van der Born D., Luurtsema G., Szymanski W., Elsinga P. H., Feringa B. L. Ultrafast Photoclick Reaction for Selective  $^{18}\text{F}$ -Positron Emission Tomography Tracer Synthesis in Flow. *Journal of the American Chemical Society*. 2021;143(27):10041–7.

92. Mamat C., Franke M., Peppel T., Köckerling M., Steinbach J. Synthesis, structure determination, and (radio-)fluorination of novel functionalized phosphanes suitable for the traceless Staudinger ligation. *Tetrahedron*, **2011**, 67, 4521–4529.
93. Glaser M., Morrison M., Solbakken M., Arukwe J., Karlsen H., Wiggen U., Champion S., Kindberg G. M., Cuthbertson A. Radiosynthesis and Biodistribution of Cyclic RGD Peptides Conjugated with Novel [<sup>18</sup>F]Fluorinated Aldehyde-Containing Prosthetic Groups. *Bioconj. chem.*, **2008**, 19, 951–957.
94. Al-Momani E., Israel I., Buck A. K., Samnick S. Improved synthesis of [<sup>18</sup>F]FS-PTAD as a new tyrosine-specific prosthetic group for radiofluorination of biomolecules, *Applied radiation and isotopes*, **2015**, 104, 136–142.
95. Ghiassian S., Yu L., Gobbo P., Nazemi A., Romagnoli T., Luo W., Luyt L. G., Workentin M. S. Nitron-Modified Gold Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Potential as <sup>18</sup>F-Labeled Positron Emission Tomography Probes via I-SPANC, *ACS Omega*, **2019**, 4, 19106–19115.
96. Toorongian S. A., Mulholland G. K., Jewett D. M., Bachelor M. A., Kilbourn M. R. Routine Production of 2-Deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluoro-D-Glucose by Direct Nucleophilic Exchange on a Quaternary 4-Aminopyridinium Resin, *Int. J. Rad. Appl. Instrum. B.*, **1990**, 17, 3, 273–279.
97. Ohsaki K., Endo Y., Yamazaki S., Tomoi M., Iwata R. Polymer-Supported Catalysts for Efficient on-Column Preparation of 2-Deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluoro-D-Glucose. *Appl. Radiat. Isot.*, **1998**, 49, 4, 373–378.
98. Mathiessen B., Jensen A. T. I., Zhuravlev F. Homogeneous Nucleophilic Radiofluorination and Fluorination with Phosphazene Hydrofluorides, *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 7796 – 7805.
99. Mathiessen B., Zhuravlev F. Automated Solid-Phase Radiofluorination Using Polymer-Supported Phosphazenes, *Molecules*, **2013**, 18, 10531-10547.
100. Zhou D., Chu W., Peng X., McConathy J., Mach R. H., Katzenellenbogen J.A. Facile purification and click labeling with 2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl azide using solid phase extraction cartridges, *Tetrahedron Letters*, **2015**, 56, 952–954.
101. Szajek L.P., Channing M.A., Eckelman W.C. Automated Synthesis of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro- L-DOPA Using Modified Polystyrene Supports with Bound 6-mercuric DOPA Precursors, *Applied Radiation and Isotopes*, **1998**, 49, 7, 795-804.
102. Bouvet D., Brown G., Brown R., Champion S. M., Devenish A., Gibson A. M. R., Hu Y., Jackson A., Khan I., Ma N., Millot N., Wadsworth H., Brady F., Luthra S.K. The Radiosynthesis of [2-<sup>18</sup>F] Fluorodeoxyglucose Using a Resin Bound Precursor, *Academic Radiology*, **2005**, 12, 1, S59-S60.
103. Brown L. J., Ma N., Bouvet D. R., Champion S., Gibson A. M., Hu Y., Jackson A., Khan I., Millot N., Topley A. C., Wadsworth H., Wynn D., Brown R. C. D. Synthesis of the positron-emitting radiotracer [<sup>18</sup>F]-2-fluoro-2-deoxy-Dglucose from resin-bound perfluoroalkylsulfonates, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 564–575.
104. Riss P., Kuschel S., & Aigbirhio F. No carrier-added nucleophilic aromatic radiofluorination using solid phase supported arenediazonium sulfonates and 1-(aryldiazenyl)piperazines, *Tetrahedron Letters*, **2012**, 53, 14, 1717-1719.

105. Edwards R., de Vries W., Westwell A. D., Daniels S., Wirth T. Solid-Supported Iodonium Salts for Fluorinations, *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, 6909–6916.
106. Richard M., Specklin S., Roche M., Hinnen F., Kuhnast B. Original synthesis of radiolabeling precursors for batch and on resin one-step/late-stage radiofluorination of peptides, *Chem. Commun.*, **2020**, 56, 2507–2510.
107. Pretze M., Mosch B., Bergmann R., Steinbach J., Pietzsch J., Mamat C. Radiofluorination and first radiopharmacological characterization of a SWLAY peptidebased ligand targeting EphA2, *J. Label Compd. Radiopharm*, **2014**, 57 660–665.
108. Gens T.A., Wethongton J.A., Brosi A.R. The exchange of F<sup>18</sup> between metallic fluorides and silicon tetrafluorid, *J. Phys. Chem.*, **1958**, 62, 1593.
109. Höhne A., Yu L., Mu L., Reiher M., Voigtmann U., Klar U., Graham K., Schubiger P. A., Ametamey S. M. Organofluorosilanes as Model Compounds for <sup>18</sup>F-Labeled Silicon-Based PET Tracers and Their Hydrolytic Stability: Experimental Data and Theoretical Calculations (PET=Positron Emission Tomography), *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15, 3736-743.
110. Dialer L. O., Selivanova S. V., Müller C. J., Müller A., Stellfeld T., Graham K., Dinkelborg L. M., Krämer S. D., Schibli R., Reiher M., Ametamey S. M. Studies toward the Development of New Silicon-Containing Building Blocks for the Direct <sup>18</sup>F-Labeling of Peptides, *J. Med. Chem.*, **2013**, 56, 19, 7552–7563.
111. Schirmmacher E., Wängler B., Cypryk M., Bradtmöller G., Schäfer M., Eisenhut M., Jurkschat K., Schirmmacher R. Synthesis of p-(Di-tert-butyl[<sup>18</sup>F]fluorosilyl)benzaldehyde ([<sup>18</sup>F]SiFA-A) with High Specific Activity by Isotopic Exchange: A Convenient Labeling Synthone for the <sup>18</sup>F-Labeling of N-amino-oxy Derivatized Peptides, *Bioconjugate chem.*, **2007**, 18, 6, 2085–2089.
112. Rosa-Neto P., Wängler B., Iovkova L., Boening G., Reader A., Jurkschat K., Schirmmacher E. [<sup>18</sup>F]SiFA-isothiocyanate: A New Highly Effective Radioactive Labeling Agent for Lysine-Containing Proteins, *Chembiochem : A European Journal of Chemical Biology*, **2009**, 10, 8, 1321-324.
113. Schirmmacher R., Bradtmöller G., Schirmmacher E., Thews O., Tillmanns J., Siessmeier T., Buchholz H. G., Bartenstein P., Wängler B., Niemeyer C. M., Jurkschat K. <sup>18</sup>F-Labeling of Peptides by means of an Organosilicon-Based Fluoride Acceptor, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 36, 6047–6050.
114. Gower-Fry L., Kronemann T., Dorian A., Pu Y., Jaworski C., Wängler C., Bartenstein P., Beyer L., Lindner S., Jurkschat K., Wängler B., Bailey J. J., Schirmmacher R. Recent Advances in the Clinical Translation of Silicon Fluoride Acceptor (SiFA) <sup>18</sup>F-Radiopharmaceuticals, *Pharmaceuticals*, **2021**, 14, 701.
115. Amigues E., Schulz J., Szlosek-Pinaud M., Fernandez P., Silvente-Poirot S., Brillouet S., Courbon F., Fouquet E. [<sup>18</sup>F]Si-RiboRGD: From Design and Synthesis to the Imaging of αβ3 Integrins in Melanoma Tumors. *ChemPlusChem*, **2012**, 77, 345-349.
116. Hazari P. P., Schulz J., Vimont D., Chadha N., Allard M., Szlosek-Pinaud M., Fouquet E. A New SiF-Dipropargyl Glycerol Scaffold as a Versatile Prosthetic Group to Design Dimeric Radioligands: Synthesis of the [<sup>18</sup>F]BMPPSiF Tracer to Image Serotonin Receptors. *ChemMedChem*, **2014**, 9, 337–349.

117. Balentova E., Collet C., Lamandé-Langle S., Chrétien F., Thonon D., Aerts J., Lemaire C., Luxen A., Chapleur Y. Synthesis and hydrolytic stability of novel 3-[<sup>18</sup>F]fluoroethoxybis (1-methylethyl)silyl]propanamine-based prosthetic groups, *J. Fluorine Chem.*, **2011**, 132, 250–257.
118. Tisseraud M., Schulz J., Vimont D., Berlande M., Fernandez P., Hermange P., Fouquet E. Highly hindered 2-(aryl-di-tert-butylsilyl)-N-methyl-imidazoles: a new tool for the aqueous <sup>19</sup>F- and <sup>18</sup>F-fluorination of biomolecule-based structures, *Chem. Commun.*, **2018**, 54, 5098–5101.
119. Yasui N. I. Facile Preparation of Ortho-Fluorophenols from Non-Aromatic Precursors and Investigation of Applications to Fluorine-18 Labeling II. Resin-Supported Silyl Ester Precursors for Kit-like Radiolabeling with Fluorine-18, University of Illinois: Urbana, **2015**.
120. Kramer C. S., Greiner L., Kopka K., Schäfer M. Fluorination of silyl prosthetic groups by fuorine mediated silyl ether linker cleavage: a concept study with conditions applicable in radiofluorination, *EJNMMI*, **2022**, 7, 15.
121. Brown R. S., Slebocka-Tilk H., Buschek J. M., Ulan J. G. Hydrolyses of 2-Trimethylsilyl N<sup>1</sup>-Heterocycles. Involvement of Zwitterions in the Hydrolysis of 2-(Trimethylsilyl)-Af-methylimidazole, 2-(Trimethylsilyl)pyridine, and 2-((Trimethylsilyl)methyl)-N-methylimidazole, *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 5979-5984.
122. Marion Tisseraud, Développement de plateformes moléculaires silylées supportée pour une fluoration facilitée de biomolécules, Université de Bordeaux, 2018.
123. Qian X., Bergnes G., Newlander K., Fitch D., Dhanak D. Certain Chemical Entities, Compositions, and Methods, U.S. Patent, WO2007056143 (A2), 18 Mai 2007.
124. Look G. C., Holmes C. P., Chinn J. P., Gallop M. A. Methods for Combinatorial Organic Synthesis: The Use of Fast <sup>13</sup>C NMR Analysis for Gel Phase Reaction Monitoring, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 7588-7590.
125. Kim D. W., Chi D. Y. Polymer-Supported Ionic Liquids: Imidazolium Salts as Catalysts for Nucleophilic Substitution Reactions Including Fluorinations, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 4, 483–485.
126. Donnelly P. S., Zanatta S. D., Zammit S. C., White J. M., Williams S. J. ‘Click’ cycloaddition catalysts: copper(I) and copper(II) tris(triazolylmethyl)amine complexes, *Chem. Commun.*, **2008**, 2459–2461.
127. Alexis Tabey, Synthèse de nouveaux complexes aryl-palladium et aryl-or pour le marquage par du monoxyde de carbone de composés bioconjugués supportés et pour des réactions de couplages, 2019, Université de Bordeaux.
128. Weber J. S., Immuno-oncology Comes of Age—Introduction, *Seminars in Oncology*, **2014**, 41, 5, Suppl 5, S1-S2.
129. Kirkwood J. M., Butterfield L. H., Tarhini A. A., Zarour H., Kalinski P., Ferrone S. Immunotherapy of Cancer in 2012, *Ca. Cancer J. Clin.*, **2012**, 62, 309-335.
130. Zhou B., Liu J., Lin M., Zhu J., Chen W. R. Recent advances in immunotherapy, immunoadjuvant, and nanomaterial-based combination immunotherapy. *Coordination Chemistry Reviews*, **2021**, 442, 214009.

131. Antonia S. J., Larkin J., Ascierto P. A. Immuno-oncology Combinations: A Review of Clinical Experience and Future Prospects. *Clin. Cancer Res.*, **2014**, *20*, 6258-6268.
132. Yentz S., Smith D. Indoleamine 2,3-Dioxygenase (IDO) Inhibition as a Strategy to Augment Cancer Immunotherapy. *BioDrugs*, **2018**, *32*, 311–317.
133. Taefehshokr S., Parhizkar A., Hayati S., Mousapour M., Mahmoudpour A., Eleid L., Rahmanpour D., Fattahi S., Shabani H., Taefehshokr N. Cancer Immunotherapy: Challenges and Limitations. *Pathology - Research and Practice*, **2022**, *229*, 153723.
134. Reddy S., Robinson M. K. Immuni-Positron Emission Tomography in Cancer Models, *Seminars in Nuclear Medicine*, **2010**, *40*, 182-189.
135. Culine L., Belda-Mathieu E., Berneur-Morisseau C. "Les Critères D'évaluation de la Réponse Tumorale des Tumeurs Solides." Dans *Mémento de la recherche biomédicale portant sur un médicament à usage humain*, Paris, Springer, **2011**, ISBN : 978-2-8178-0238-1.
136. Nair-Gill E., Wiltzius S. M., Wei X. X., Cheng D., Riedinger M., Radu C. G., Witte O. N. PET probes for distinct metabolic pathways have different cell specificities during immune responses in mice. *J Clin Invest.*, **2010**, *120*, 2005-2015.
137. Steeland S., Vandenbroucke R. E., Libert C. Nanobodies as therapeutics: big opportunities for small antibodies. *Drug Discov. Today*, **2016**, *21*, 1076-1113.
138. Hamers-Casterman C., Atarhouch T., Muyldermans S., Robinson G., Hamers C., Songa E. B., Bendahman N., Hamers R. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature*, **1993**, *363*, 446-448.
139. Liu W., Song H., Chen Q., Yu J., Xian M., Nian R., Feng D. Recent Advances in the Selection and Identification of Antigen-specific Nanobodies. *Molecular Immunology*, **2018**, *96*, 37-47.
140. Barakat S., Berksoz M., Zahedimaram P., Piepoli S., Erman B. Nanobodies as molecular imaging probes. *Free Radical Biology and Medicine*, **2022**, *182*, 260–275.
141. Lesniak W. G., Chu C., Jablonska A., Azad B. B., Zwaenepoel O., Zawadzki M., Lisok A., Pomper M. G., Walczak P., Gettemans J., Janowski M. PET imaging of distinct brain uptake of a nanobody and similarly-sized PAMAM dendrimers after intra-arterial administration. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **2019**, *46*, 1940–1951.
142. Wang C., Chen Y., Hou Y. N., Liu Q., Zhang D., Zhao H., Zhang Y., An S., Li L., Hou J., Huang G., Liu J., Zhao Y. J., Wei W. ImmunoPET imaging of multiple myeloma with [<sup>68</sup>Ga] Ga-NOTA-Nb1053. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **2021**, *48*, 2749–2760.
143. Wadas T. J., Wong E. H., Weisman G. R., Anderson C. J. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium, and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease. *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 2858–2902.
144. Cleeren F., Lecina J., Bridoux J., Devoogdt N., Tshibangu T., Xavier C., Bormans G. Direct fluorine-18 labeling of heat-sensitive biomolecules for positron emission tomography imaging using the Al<sup>18</sup>F-RESCA method. *Nature Protocols*, **2018**, *13*, 2330-2347.
145. Kisewetter D. O., Krämer-Marek G., Ma Y., Capala J. Radiolabeling of HER2-specific Affibody<sup>®</sup> molecule with F-18. *Journal of Fluorine Chemistry*, **2008**, *129*, 799–806.

146. Weijun W., Zhang D., Wang C., Zhang Y., An S., Chen Y., Huang G., Liu J. Annotating CD38 Expression in Multiple Myeloma with [<sup>18</sup>F]F-Nb1053. *Molecular Pharmaceutics*, **2021**, 19, 10, 3502-3510.
147. Meyer J.-P., Houghton J. L., Kozlowski P., Abdel-Atti D., Reiner T., Pillarsetty N. V., Scholz W. W., Zeglis B. M., Lewis J. S. <sup>18</sup>F-Based Pretargeted PET Imaging Based on Bioorthogonal Diels–Alder Click Chemistry. *Bioconjug Chem.*, **2016**, 27, 298-301.
148. Summer D., Mayr S., Petrik M., Rangger C., Schoeler K., Vieider L., Matuszczak B., Decristoforo C. Pretargeted Imaging with Gallium-68—Improving the Binding Capability by Increasing the Number of Tetrazine Motifs. *Pharmaceutics*, **2018**, 11, 102 .
149. Cook B. E., Adumeau P., Membreno R., Carnazza K. E., Brand C., Reiner T., Agnew B. J., Lewis J. S., Zeglis B. M. Pretargeted PET Imaging Using a Site-Specifically Labeled Immunoconjugate. *Bioconjugate Chem.*, **2016**, 27, 1789–1795.
150. Denk C., Svatunek D., Mairinger S., Stanek J., Filip T., Matscheko, D., Kuntner C., Wanek T., Mikula H. Design, Synthesis, and Evaluation of a Low-Molecular-Weight <sup>11</sup>C-Labeled Tetrazine for Pretargeted PET Imaging Applying Bioorthogonal in Vivo Click Chemistry. *Bioconjugate Chem.*, **2016**, 27, 1707–1712.
151. Altai M., Membreno R., Cook B., Tolmachev V., Zeglis B., M. Pretargeted Imaging and Therapy. *J. Nucl. Med.*, **2017**, 58, 1553-1559.
152. Husamelden E., Xu Y., Tian M., Jin C., Zhang H., Yu K., He Q. Recent Advances in Microfluidic Devices for the Radiosynthesis of PET-imaging Probes. *Chemistry an Asian Journal*, **2022**, E202200579.
153. Larimer B. M., Wehrenberg-Klee E., Dubois F., Mehta A., Kalomeris T., Flaherty K., Boland G., Mahmood U. Granzyme B PET Imaging as a Predictive Biomarker of Immunotherapy Response. *Cancer Res.*, **2017**, 77, 2318-2327.
154. Larimer B. M., Bloch E., Nesti S., Austin E. E., Wehrenberg-Klee E., Boland G., Mahmood U. The Effectiveness of Checkpoint Inhibitor Combinations and Administration Timing Can Be Measured by Granzyme B PET Imaging. *Clin Cancer Res.*, **2019**, 25, 1196-1205.
155. Goggi J. L., Hartimath S. V., Xuan T. Y., Khanapur S., Jieu B., Chin H. X., Ramasamy B., Cheng P., Rong T. J., Fong Y. F., Yuen T. Y., Msallam R., Chacko A.-M., Renia L., Johannes C., Hwang Y. Y., Robins E. G. Granzyme B PET Imaging of Combined Chemotherapy and Immune Checkpoint Inhibitor Therapy in Colon Cancer. *Mol. Imaging Biol.*, 2021, 23, 714-723.
156. Sorg G., Thern B., Mader O., Rademann J., Jung G. Progress in the preparation of peptide aldehydes via polymer supported IBX oxidation and scavenging by threonyl resin. *J. Peptide Sci*, **2005**, 11: 142–152.
157. Ariztia J., Solmont K., Pellegrini Moïse N., Specklin S., Heck M. P., Lamandé-Langle S., Kuhnast B. PET/Fluorescence Imaging: An Overview of the Chemical Strategies to Build Dual Imaging Tools. *Bioconjugate Chem.*, **2022**, 33, 24–52.
158. Adumeau P., Raavé R., Boswinkel M., Heskamp S., Wessels H. J. C. T., van Gool A. J., Moreau M., Bernhard C., Da Costa L., Goncalves V., Denat F. Site-Specific, Platform-Based Conjugation Strategy for the Synthesis of Dual-Labeled Immunoconjugates for Bimodal PET/NIRF Imaging of HER2-Positive Tumors. *Bioconjugate Chem.*, **2022**, 33, 3, 530–540.

159. Deng H., Wang H., Wang M., Li Z., Wu Z. Synthesis and Evaluation of  $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-NT-Cy5.5 as a Dual-Modality PET/ Fluorescence Probe to Image Neurotensin Receptor-Positive Tumor. *Mol. Pharmaceutics*, **2015**, 12, 3054–3061.
160. Guo H., Kommidi H., Vedvyas Y., McCloskey J. E., Zhang W., Chen N., Nurili F., Wu A. P., Sayman H. B., Akin O., Rodriguez E. A., Aras O., Jin M. M., Ting R. A fluorescent, [ $^{18}\text{F}$ ]-Positron-Emitting agent for imaging prostate-specific membrane antigen allows genetic reporting in adoptively transferred, genetically modified cells. *ACS Chem. Biol.*, **2019**, 14, 1449-1459.
161. Paulus A., Desai P., Carney B., Carlucci G., Reiner T., Brand C., Weber W. A. Development of a clickable bimodal fluorescent/PET probe for in vivo imaging. *EJNMMI Res.*, **2015**, 5.
162. Thifanie Christine, Synthèse et propriétés de nouvelles structures à base de BODIPY pour l'imagerie bimodale TEP/IO et la génération d' $^1\text{O}_2$ , Université de Bordeaux, 2020.
163. Tasiar M., O'Shea D. F.  $\text{BF}_2$ -Chelated Tetraarylazadipyromethenes as NIR Fluorochromes. *Bioconjugate Chem.*, **2010**, 21, 1130–1133.
164. Pliquett J., Dubois A., Racoer C., Mabrouk N., Amor S., Lescure R., Bettaïeb A., Collin B., Bernhard C., Denat F., Bellaye P. S., Paul C., Bodio E., Goze C. A Promising Family of Fluorescent Water-Soluble aza-BODIPY Dyes for in Vivo Molecular Imaging. *Bioconjugate Chem.*, **2019**, 30, 1061–1066.
165. Canovas C., Moreau M., Bernhard C., Oudot A., Guillemin M., Denat F., Goncalves V. Site-Specific Dual Labeling of Proteins on Cysteine Residues with Chlorotetrazines. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 10646 –10650.
166. Steffann M., Tisseraud M., Bluet G., Roy S., Aubert C., Fouquet E., Hermange P. Last-step F-fluorination of Supported 2-(aryl-di-*tert*-butylsilyl)-*N*-methyl-imidazole Conjugates for Applications in Positron Emission Tomography, *Chem. Comm.*, **2022**, 58, 9140-9143.
167. Sheldrick G. M. *Acta Crystallographica Section A*. 2008, **64**, 112-122.
168. Donnelly P. S., Zanatta S. D., Zammit S. C., White J. M., Williams S. J. "Click" cycloaddition catalysts: copper(I) and copper(II) tris(triazolylmethyl)amine complexes. *Chem. Commun.*, **2008**, 2459–2461.
169. Tabey A., Audrain H., Fouquet E., Hermange P. Bioconjugated arylpalladium complexes on solid supports for a convenient last-step synthesis of  $^{11}\text{C}$ -labelled tracers for positron emission tomography. *Chem. Commun.*, **2019**, 55, 7587-7590.

# Table des illustrations

Figure 1 - Représentation des différentes méthodes de désintégration .....	22
Figure 2 - Structures de molécules marquées avec un faible poids moléculaire .....	28
Figure 3 - Synthèse de radiotraceurs bioconjugués .....	29
Figure 4 - Diagramme orbitalaire d'une excitation photochimique et mécanisme en catalyse photoredox en synthèse organique .....	51
Figure 5 - Diagramme orbitalaire d'une excitation électrochimique et mécanisme en électrocatalyse en synthèse organique .....	55
Figure 6 - Différents GP capable de réaliser de CuAAC .....	68
Figure 7 - Exemples de structures utilisant une réaction de type SPAAC .....	69
Figure 8 - Autres résines contenant un ammonium et un phosphonium .....	76
Figure 9 - Corrélation entre la stabilité des structures silylés in vivo et l'encombrement .....	85
Figure 10 - Synthèse automatisée de [ <sup>18</sup> F]134 .....	93
Figure 11 – Plateforme type .....	100
Figure 12 - Design de la plateforme Imid-SiFA supportée.....	101
Figure 13 - Comparaison des spectres RMN <sup>1</sup> H du méthylimidazole et des bruts de réaction .....	105
Figure 14 – Représentation des HOMO et LUMO de <b>154</b> .....	111
Figure 15 – Structure de <b>155.HCl</b> obtenue par analyse de diffraction des rayons X.....	112
Figure 16 - Structure de <b>168</b> obtenue par diffraction des rayons X.....	120
Figure 17 - Les deux polymères utilisés pour tenter de supporter la plateforme .....	122
Figure 18 - Expérience DOSY pour évaluer le greffage de la plateforme <b>175</b> sur la résine tentagel .	124
Figure 19 - Expériences de RMN du solide <sup>29</sup> Si .....	127
Figure 20 - Azoture <b>182</b> , dérivé d'oestradiol utilisé pour la réaction de chimie "click" .....	132
Figure 21 - Hotte blindée et module TRASIS .....	138
Figure 22 - Ecran de contrôle du module Trasis All-In-One .....	139
Figure 23 – "Layout" utilisé pour la séquence séchage azéotropique/ fluoration supportée en réacteurs séparés .....	141
Figure 24 - Chromatogrammes de la purification par HPLC Semi-préparative .....	142
Figure 25 - "Layout" utilisé pour purifier le milieu réactionnel à l'aide d'une cartouche SPE .....	144
Figure 26 - Différentes méthodes de purification.....	144

Figure 27 - Impact du temps .....	145
Figure 28 – Impact de la Température .....	145
Figure 29 – Impact de la quantité d'acide .....	146
Figure 30 – Impact de la quantité de matière .....	146
Figure 31 – Impact du solvant.....	147
Figure 32 - "Layout" de la radiofluoration/formulation.....	148
Figure 33 - RCY et RCP des radiosynthèses avec l'étape de formulation .....	149
Figure 34 – "Layout" mis en place pour la radiosynthèse indirecte .....	150
Figure 35 - Rendement radiochimique des radiosynthèses de [ <sup>18</sup> F]187.....	152
Figure 36 - Rendement radiochimique des radiosynthèses de [ <sup>18</sup> F]190.....	153
Figure 37 - Rendement radiochimique des radiosynthèses de [ <sup>18</sup> F]184.....	154
Figure 38 - Cartouche métallique.....	156
Figure 39 – "Layout pour la synthèse sur cartouche .....	156
Figure 40 - Résine WAX.....	157
Figure 41 – "Layout" de la synthèse en flux.....	159
Figure 42 - Plan de la cartouche en 3D.....	160
Figure 43 - Cycle du système immunitaire.....	166
Figure 44 - Anticorps et fragments d'anticorps développés .....	171
Figure 45 - Anticorps Ig G, HcAbs et Nanobody .....	171
Figure 46 – Choix des radionucléides en fonction de la taille des fragements d'anticorps.....	172
Figure 47 - Les différentes étapes du pré-targeting.....	177
Figure 48 - Rendements et puretés radiochimiques de [ <sup>18</sup> F]195 en fonction de la température et du solvant.....	187
Figure 49 - Premier "layout" mis en place pour la radiosynthèse indirecte d'un Nb.....	189
Figure 50 - Chromatogramme et radiochromatogramme de la radiosynthèse du premier essai de radiomarquage indirect d'un Nb.....	189
Figure 51 - Composé détecté systématiquement en masse après décroissance.....	190
Figure 52 - Nouveau "layout" permettant l'élution en sens inverse de [ <sup>18</sup> F]195 vers le réacteur 2...	191
Figure 53 - Dernier "layout" mis en place pour la radiomarquage de Nb .....	192
Figure 54 - Radiochromatogramme SEC du lot 1 .....	193
Figure 55 - Marqueur de la granzyme B contenant un complexe <sup>68</sup> Ga.....	196
Figure 56 - Résine Novasyn® TG Asp(O <sup>t</sup> Bu) .....	199

Figure 57 - Résine <i>PS-217</i> .....	202
Figure 58 - Stratégie de design d'une sonde bimodale IO/TEP.....	209
Figure 59 - Vert d'indocyanine possédant une AMM.....	210
Figure 60 - Sonde bimodale IO/TEP à base de cyanine-DOTA- <sup>64</sup> Cu.....	210
Figure 61 - Sonde bimodale IO/TEP contenant une Cy3 .....	211
Figure 62 - Fluorophores dérivés de BODIPY .....	212
Figure 63 - Sonde bimodale obtenue par radiofluoration directe .....	213
Figure 64 - Choix des fluorophores.....	214
Figure 65 - Exemple de sonde bimodale IO/TEP synthétisée à partir de la dichlorotétrazine .....	217
Schéma 1- Première synthèse décrite du [ <sup>18</sup> F]FDG utilisant du difluor-18 électrophile .....	31
Schéma 2 - Synthèse électrophile aromatique du [ <sup>18</sup> F]fluoro-L-Dopa .....	32
Schéma 3 - Synthèse de la 6-[ <sup>18</sup> F]-Fluorodopamine à partir de différents organométalliques.....	33
Schéma 4 - Complexe de palladium avec inversion de polarité.....	34
Schéma 5 - Synthèse du réactif d'iode hypervalent .....	35
Schéma 6 - Réaction électrophile de fluorocyclisation.....	35
Schéma 7 - Synthèse du [ <sup>18</sup> F]FDG à partir d'un ion fluorure-18.....	36
Schéma 8 - Mécanisme de S <sub>N</sub> Ar .....	37
Schéma 9 - Synthèse directe du [ <sup>18</sup> F]flumazenil avec un précurseur contenant une fonction nitro ....	38
Schéma 10 - Synthèse directe d'un dérivé de ligand du PSMA marqué grace à une réaction de S <sub>N</sub> Ar	39
Schéma 11 - Mécanisme de la réaction de Balz-Schiemann.....	40
Schéma 12 - Radiomarquage direct de la [ <sup>18</sup> F]5-fluoro-L-dopa utilisant une réaction de Balz-Schiemann .....	41
Schéma 13 - Mécanisme de la réaction de Wallach .....	41
Schéma 14 - Synthèse de la [ <sup>18</sup> F]halopéridol en utilisant la réaction de Wallach .....	42
Schéma 15 - Mécanisme de S <sub>N</sub> Ar concertée.....	42
Schéma 16 - Déoxyfluoration des phénols.....	43
Schéma 17 - Synthèse du [ <sup>18</sup> F]-5-fluorobenzofurazane par déoxyfluoration.....	43
Schéma 18 - Synthèse du précurseur constitué d'un sel de diaryliodonium .....	44
Schéma 19 - Synthèse de la [ <sup>18</sup> F]-6-Fluoro-L-dopa en passant par un sels de diaryliodonium .....	45
Schéma 20 - Fluoration des ylures de iodonium spiro.....	46
Schéma 21 - Réaction utilisant un mécanisme "umpolung" de phénol et de N-arylsulfonamide.....	47
Schéma 22 - IEX par S <sub>N</sub> Ar sur le [ <sup>18</sup> F]FMZ.....	48

Schéma 23 - IEX sur une liaison B-F .....	49
Schéma 24 - IEx en utilisant des SuFEx .....	50
Schéma 25 - IEX sur complexe à partir de Ga .....	50
Schéma 26 - Fluoration au fluor-18 directe par photochimie.....	52
Schéma 27 - Décarboxylation photocatalysée .....	53
Schéma 28 - Radiofluoration photo-aromatique activée par des acridiums .....	54
Schéma 29 - Activation C-H en $\alpha$ d'un thio-éther par électrocatalyse .....	56
Schéma 30 - Radiofluoration aromatique électrocatalysée d'un dérivé de la phénylalanine .....	57
Schéma 31 - Radiofluoration aromatique électrocatalysée régiosélective .....	57
Schéma 32 - Radiofluoration non régiosélective électrocatalysée .....	57
Schéma 33 - Radiofluoration enzymatique.....	59
Schéma 34 - Synthèse multi-étape utilisant une lactone chirale pour obtenir $[^{18}\text{F}]\text{5}$ .....	61
Schéma 35 - Synthèse multi-étape par IEX de la 6- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-L-dopamine}$ .....	62
Schéma 36 - Synthèse multi-étape en partie supportée de la 6- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-L-Dopamine}$ .....	63
Schéma 37 - Synthèse de GP réagissant avec les amines .....	65
Schéma 38 - Synthèses de GP pouvant réagir avec des thiols par une réaction thiol-Michael.....	66
Schéma 39 - Réaction de condensation avec une cystéine terminale .....	67
Schéma 40 - CuAAC.....	67
Schéma 41 - Synthèse du $[^{18}\text{F}]\text{SFB-DBCO}$ .....	69
Schéma 42 - Marquage d'un TCO .....	70
Schéma 43 - Réaction d'IEDDA avec un TCO marqué .....	70
Schéma 44 - Marquage du groupe prosthétique contenant un acide boronique .....	71
Schéma 45 - Couplage de Suzuki.....	71
Schéma 46 - Synthèse du $[^{18}\text{F}]\text{fluoroiodophényl}$ .....	72
Schéma 47 - Réaction de couplage de Sonogashira avec un dérivé de la bombésine dans l'eau .....	72
Schéma 48 - Réaction photocatalysée formant une azépine à partir d'une amine.....	73
Schéma 49 - Réaction de bioconjugaison par photoclick.....	74
Schéma 50 - Synthèse supportée du $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ grâce à une résine capable de piéger un fluorure.....	76
Schéma 51 - Résine contenant un phosphazène .....	77
Schéma 52 - Synthèse de sur une cartouche HLB.....	77
Schéma 53 - Synthèse électrophile supportée de 6- $[^{18}\text{F}]\text{fluoro-L-dopa}$ .....	78
Schéma 54 - Synthèse supportée de $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ .....	79

Schéma 55 - Réaction de Wallach supportée .....	80
Schéma 56 - Synthèse supportée à partir d'un sel d'iodonium .....	80
Schéma 57 - Radiofluoruration sur sels d'ammonium supporté .....	81
Schéma 58 - Synthèse indirecte supportée .....	83
Schéma 59 - Mécanisme d'hydrolyse de la liaison Si-F .....	84
Schéma 60 - Mécanisme de dégradation d'un fluorosilane contenant un amide en beta .....	85
Schéma 61 - Synthèse par IEX de [ <sup>18</sup> F]SiFA-p-CHO .....	86
Schéma 62 - GP SiFA permettant de faire des acylations d'amine .....	86
Schéma 63 - GP contenant un thiol .....	87
Schéma 64 - GP SiFA contenant un maléimide .....	87
Schéma 65 - Synthèse directe grâce à une réaction d'IEX .....	88
Schéma 66 - Différents groupements partants permettant des réactions de radiofluoruration .....	89
Schéma 67 - Marquage d'un dérivé du cRGD contenant un Si-H .....	89
Schéma 68 - Marquage d'un radioligand dimérique constitué d'un groupement partant Si-H .....	90
Schéma 69 - Marquage direct d'un éther silylé développé par l'équipe de Chapleur .....	91
Schéma 70 - Marquage d'un éther silylé constitué d'un éther couronne .....	91
Schéma 71 - Radiofluoruration d'un composé Imidazole-silylé modèle .....	92
Schéma 72 - Conditions optimisées pour la radiosynthèse directe de SiFA-cRGD .....	93
Schéma 73 - Synthèse supportée de SiFA contenant un dérivé d'oestradiol .....	94
Schéma 74 - Marquage supporté d'un dérivé de cRGD .....	94
Schéma 75 - Marquage supporté indirect de cRGD .....	95
Schéma 76 - Réactivité d'un imidazole triméthyl-silane en présence d'anions fluorures et hydroxydes .....	101
Schéma 77 - Réaction modèle .....	102
Schéma 78 - Réaction de protection du 4-bromophénol .....	103
Schéma 79 - Synthèse de la plateforme, 1 <sup>er</sup> protocole .....	103
Schéma 80 - Réaction permettant d'optimiser la synthèse de l'organolithié <b>146</b> .....	104
Schéma 81 - Réactions tests pour la formation de l'organolithien <b>147</b> .....	105
Schéma 82 - Synthèse plateforme, nouveau protocole .....	107
Schéma 83 - Substitution symétrique permettant d'obtenir le composé diimidazole <b>151</b> .....	107
Schéma 84 - Tentative de désymétrisation de <b>151</b> .....	108
Schéma 85 - Valorisation du composé <b>143</b> .....	109

Schéma 86 - Essai d'iodation de <b>152</b> .....	110
Schéma 87 – Réaction optimisée de diiodation de <b>145</b> .....	110
Schéma 88 - Réaction de déiodation .....	111
Schéma 89 - Différents produits obtenus dans des conditions différentes d'iodation .....	112
Schéma 90 - Couplage de Sonogashira.....	113
Schéma 91 - Etape de protection de l'alcool propargylique avec un groupement benzyl .....	113
Schéma 92 - Protection avec un groupement MOM de l'alcool propargylique.....	113
Schéma 93 - Synthèse des alcynes pégylés <b>161</b> et <b>162</b> .....	114
Schéma 94 - Couplage de Sonogashira avec l'alcyne <b>158</b> .....	114
Schéma 95 - Couplage de Sonogashira avec l'alcyne <b>159</b> .....	115
Schéma 96 - Couplage de Sonogashira avec l'alcyne <b>161</b> .....	115
Schéma 97 - Couplage de Sonogashira avec l'alcyne <b>162</b> .....	116
Schéma 98 - Réaction d'hydrogénation et de déprotection de <b>163</b> .....	117
Schéma 99 - Différents composés obtenus par Hydrogénation à l'aide du H-cube .....	117
Schéma 100 - Hydrogénation de <b>165</b> au H-cube.....	118
Schéma 101 - Hydrogénation et déprotection du composé <b>166</b> .....	119
Schéma 102 - Réaction de tosylation de <b>160</b> .....	120
Schéma 103 - Ajout d'une chaîne PEG sur la plateforme <b>168</b> .....	121
Schéma 104 - Ajout d'une chaîne PEG sur la plateforme <b>173</b> .....	121
Schéma 105 - Tentative de greffage de la résine <b>175</b> sur une résine tentagel.....	122
Schéma 106 - Réaction de micro-clivage permettant de déterminer si la plateforme a été greffée sur la résine.....	123
Schéma 107 - Préparation de la plateforme non supportée.....	128
Schéma 108 - Réaction de CuAAC modèle permettant d'obtenir le composé <b>133</b> .....	129
Schéma 109 - Réaction de CuAAC réalisée sur support solide.....	130
Schéma 110 - Synthèse par CuAAC puis fluoration du dérivé d'œstradiol <b>184</b> .....	132
Schéma 111 - Synthèse d'un dérivé de glucose supporté .....	133
Schéma 112 - Synthèse d'un dérivé de biotine supporté .....	135
Schéma 113 - Radiomarquage testé lors de la thèse de Marion.....	137
Schéma 114 - Réaction de radiofluoration présentée dans cette partie.....	140
Schéma 115 - Réaction de radiofluoration présentée dans cette partie.....	142
Schéma 116 - Radiofluoration indirecte .....	149

Schéma 117 - Radiofluoration du dérivé de glucose supporté <b>PS-186</b> .....	151
Schéma 118 - Radiofluoration du dérivé de glucose supporté <b>PS-189</b> .....	153
Schéma 119 - Radiofluoration du dérivé de glucose supporté <b>PS-183</b> .....	154
Schéma 120 - Radiofluoration du précurseur <b>PS-181</b> en flux conditionné dans une cartouche .....	155
Schéma 121 - Cage DFO pour $^{89}\text{Zr}$ .....	173
Schéma 122 - Marquage par chélation en utilisant du $^{68}\text{Ga}$ .....	174
Schéma 123 - Marquage d'un Nb avec un complexe aluminium-fluor-18.....	175
Schéma 124 - Synthèse de $^{18}\text{F}$ FBEM .....	175
Schéma 125 - Couplage entre l'affibody et le $^{18}\text{F}$ FBEM .....	176
Schéma 126 - Marquage d'un Nb à l'aide d'une réaction de type SPAAC.....	176
Schéma 127 - Tz avec un $^{11}\text{C}$ pour le marquage d'anticorps via une stratégie de "pré-targeting" ..	178
Schéma 128 - Différentes stratégies envisagées pour le radiomarquage indirect de Nbs .....	179
Schéma 129 - Fonctionnalisation de la chaîne PEG par un azoture .....	180
Schéma 130 - Synthèse de la plateforme <b>193</b> portant un azoture terminal .....	180
Schéma 131 - Greffage de la nouvelle plateforme Imid-SiFA <b>193</b> sur des billes de polystyrène .....	180
Schéma 132 - Micro-clivage de la résine pour obtenir le produit <b>195</b> .....	181
Schéma 133 - Réduction de l'azoture supporté <b>PS-194</b> grâce à une réduction de Staudinger .....	181
Schéma 134 - Réaction de fluoration permettant d'obtenir <b>197</b> .....	181
Schéma 135 - Tentative de fonctionnalisation de la plateforme Imid-SiFA supportée <b>PS-196</b> à l'aide d'une Tz <b>198</b> .....	182
Schéma 136 - Essais de conjugaison via la formation d'un produit bis-thiourée .....	183
Schéma 137 - Tentative de synthèse d'un précurseur Imid-SiFA supporté possédant un groupe phényl-Tz .....	184
Schéma 138 - Fonctionnalisation des Nbs FMDV et Nb00411 avec un DBCO-maléimide .....	185
Schéma 139 - Réaction de radiofluoration du composé $^{18}\text{F}$ 195.....	186
Schéma 140 - Radiomarquage indirect de Nb.....	188
Schéma 141 - Radiomarquage direct d'un peptide marqueur de la granzyme B.....	197
Schéma 142 - Synthèse du dérivé de glycine <b>208</b> .....	198
Schéma 143 - Synthèse de l'ester activé <b>210</b> .....	198
Schéma 144 - Couplage de la Glycine- $\text{N}_3$ et clivage du peptide de la résine .....	200
Schéma 145 - Synthèse de l'azoture <b>216</b> .....	201
Schéma 146 - Greffage de la phénylalanine sur la résine Trityl .....	202

Schéma 147 - Synthèse du peptide <b>219</b> sur résine Trityl.....	203
Schéma 148 - Réduction de l'acide carboxylique de l'acide aspartique en alcool .....	204
Schéma 149 - Oxydation et déprotection de l'acide aspartique possédant un aldéhyde terminal....	205
Schéma 150 - Schéma réactionnel envisagé pour obtenir un aldéhyde terminal sur un marqueur peptidique .....	205
Schéma 151 - Protection du phénol de la benzophénone <b>234</b> .....	214
Schéma 152 - Réactions de condensation de Knoevenagel .....	214
Schéma 153 - Addition nucléophile du nitrométhane sur <b>237</b> et <b>238</b> .....	215
Schéma 154 - Réaction de condensation.....	215
Schéma 155 – Synthèse du noyau aza-BODIPY .....	216
Schéma 156 - Substitution des fluors par des alcynes .....	216
Schéma 157 – Tentative de substitution nucléophile de la dichlorotétrazine sur l'amine terminale de PS-196 .....	218
Schéma 158 - Monosubstitution de la chlorotétrazine avec un thiophénol .....	218
Schéma 159 - Tentative de substitution du composé <b>246</b> sur la résine PS-196.....	219
Tableau 1 - Comparaison des techniques d'imageries les plus utilisées .....	24
Tableau 2 - Caractéristiques des principaux émetteurs $\beta^+$ utilisés en imagerie TEP .....	26
Tableau 3 - Essais de formation de l'organolithien <b>142</b> .....	104
Tableau 4 - Essais d'optimisation de la synthèse de l'organolithien <b>147</b> .....	106
Tableau 5 - Tentatives de désymétrisation de <b>151</b> .....	108
Tableau 6 -Essais d'iodation de <b>143</b> .....	109
Tableau 7 – Essais de conditions pour faire une réaction sélective de monoiodation sur <b>145</b> .....	112
Tableau 8 – Différentes conditions utilisées pour Hydrogéner <b>163</b> avec le H-cube.....	118
Tableau 9 - Conditions utilisées pour l'hydrogénation de <b>165</b> .....	119
Tableau 10 – Essais de greffage .....	125
Tableau 11 - Quantité de composé fluoré <b>178</b> récupérée par filtration après la séquence greffage/fluoration.....	125
Tableau 12 – Optimisations des conditions de couplage pour la synthèse de <b>133</b> .....	130
Tableau 13 - Essais de CuAAC en conditions thermiques pour la synthèse de <b>134</b> .....	131
Tableau 14 - Conditions testées au micro-onde pour obtenir le polymère PS-181.....	131
Tableau 15 - Conditions utilisées pour synthétiser le précurseur d'œstradiol PS-183 .....	133

Tableau 16 – Essais pour synthétiser un précurseur supporté de dérivé de glucose .....	134
Tableau 17 - Essais pour synthétiser un précurseur supporté dérivé de la biotine .....	135
Tableau 18 - Paramètres utilisés pour la preuve de concept .....	137
Tableau 19 - Paramètres utilisés pour la preuve de concept .....	137
Tableau 20 – Différentes méthodes de purification .....	144
Tableau 21 - Récapitulatif des réactions présentées dans cette partie .....	147
Tableau 22 - Récapitulatif des radiofluorations de <b>PS-186</b> .....	152
Tableau 23 - Récapitulatif des réactions réalisées avec la résine <b>PS-183</b> .....	155
Tableau 24 - Récapitulatif des réactions présentées sur cartouche .....	158
Tableau 25 - Récapitulatif des réactions présentées en flux sur la cartouche .....	159
Tableau 26 - Essais d'une réaction modèle sélective des amines .....	183
Tableau 27 - Tableau récapitulatif des réactions d'optimisation de [ <sup>18</sup> F] <b>195</b> .....	187
Tableau 28 – Paramètres des deux lots préparés .....	192
Tableau 29 - Différents lots de Nbs dans cet essai .....	193
Tableau 30 - Purification du lot 1 sur NAP <sup>TM</sup> -5 .....	193
Tableau 31 - Différentes conditions de clivage de la résine utilisée .....	201
Tableau 32 - Conditions utilisées pour "clicker" <b>219</b> sur <b>PS-179</b> .....	203
Tableau 33 - Différents oxydants sélectifs de l'alcool en aldéhyde .....	204
Tableau 34 - Conditions utilisées pour faire la substitution nucléophile .....	217
Tableau 35 - Conditions utilisées afin de réaliser la substitution sur le composé <b>247</b> par l'amine de la résine <b>PS-196</b> .....	218



- 

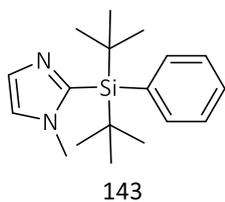
# Partie expérimentale

-



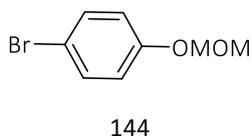
# Généralités

All commercial materials were used without further purification, unless indicated.  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR were recorded on BRUKER AVANCE I 300 Mhz ( $^1\text{H}$ : 300MHz,  $^{13}\text{C}$ : 75.3MHz,  $^{19}\text{F}$ : 282.3 MHz,  $^{29}\text{Si}$ : 59.6 MHz), BRUKER AVANCE II 400 Mhz ( $^1\text{H}$ : 400MHz,  $^{13}\text{C}$ : 100.2 MHz,  $^{19}\text{F}$ : 376.3 MHz,  $^{29}\text{Si}$ : 79.5 MHz) or BRUKER AVANCE III 600 Mhz ( $^1\text{H}$ : 600MHz,  $^{13}\text{C}$ : 150.3 MHz,  $^{19}\text{F}$ : 564.5 MHz,  $^{29}\text{Si}$ : 119.2 MHz) spectrometers. The chemical shifts for the NMR spectra are reported in ppm relative to the solvent residual peak. Coupling constants J are reported in hertz (Hz). The following abbreviations are used for the multiplicities: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; qt, quintet; st, sextet; m, multiplet; br, broad; dd, doublet of doublet. Yields refer to isolated material determined to be pure by NMR spectroscopy and thin-layer chromatography (TLC), unless specified in the text. Analytical TLC was performed on Fluka Silica Gel 60 F254. High resolution mass spectra were performed by the CESAMO (Talence, France) and were recorded on Qq-TOF tandem mass spectrometer (API Q-STAR Pulsari, Applied Biosystems). Experiments under microwave irradiation were performed using a Biotage Initiator 2.5. UPLC coupled with mass were performed on an ACQUITY UPLC<sup>®</sup> using a Column ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C18 (1.7 $\mu\text{m}$ , 2.1 x 50mm) heated at 60°C. Samples were eluted with a flow of 0.5 mL/min using the following program: 10% of B (0 min)  $\rightarrow$  10% of B (0.1 min)  $\rightarrow$  100% of B (4.5 min)  $\rightarrow$  100% of B (5 min)  $\rightarrow$  10% of B (5.2 min)  $\rightarrow$  10% of B (6 min) with A =  $\text{H}_2\text{O}$  + HCOOC 0.1% and B = MeCN + HCOOC 0.1%. The PDA detector was a SQD and the mass detector was a NOISE NRVP-B (INPUT : DC 12V 500 mA). The mass programm was done in  $\text{ES}^+$  and  $\text{ES}^-$ , using m/z : 100-1000 or 200-2000, scan time 0.2, cone voltage 30 V, from 0 to 6 min.

**2-(Di-*tert*-butyl(phenyl)silyl)-1-methyl-1H-imidazole 143 (YVX1.009)**

Under nitrogen, *n*-butyllithium solution (1.76M in hexane, 0.50 mL, 0.800 mmol, 1.2 mol/L, 1.1 eq) was added to a solution of 1-methylimidazole (62 mg, 0.747 mmol, 1eq) in dry THF (2 mL) at -80°C. Then, di-*tert*-butylsilylanediyl bis(trifluoromethanesulfonate) (374.94  $\mu$ L, 1.12 mmol, 1.5 eq) was added to the mixture followed by phenyllithium (786,92  $\mu$ L, 1,50 mmol, 2 eq). The mixture was stirred for 24h while being allowed to slowly return to rt. Then, the crude reaction mixture was concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/EtOAc: 90/10; R<sub>f</sub> = 0.5) to obtain compound **143** (47 mg, 21%) as white powder.

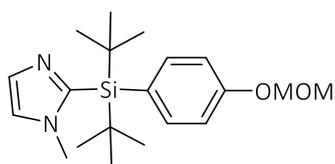
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (ppm) 7.62 (d, 2H, J = 7.61 Hz), 7.40-7.34 (m, 3H), 7.32 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 3.40 (s, 3H), 1.16 (s, 18H). HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> calculated 301.2094, found 301.2104.

**1-Bromo-4-(methoxymethoxy) benzene 144 (YVX1.018)**

Under nitrogen, 4-bromophenol (2g, 11 mmol, 1eq) was dissolved in 15 mL of dry dichloromethane. DIEA (2.15 mL, 12.33 mmol, 1.1 eq) then chloromethyl methyl ether (1.2 mL, 15.80 mmol, 1.4 eq) were added at 0°C. Then the mixture

was stirred at room temperature for 48h. The reaction was quenched with an aqueous saturated solution of ammonium chloride (10 mL). The aqueous layer was extracted three times with dichloromethane (3 x 10 mL), and the combined organic layer were washed with brine (10 mL), dried over magnesium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (Cyclohexane/DCM : 80/20 ; R<sub>f</sub> = 0.3) to give **144** (2.22 g, 10.2 mmol, 91%) as a colorless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (ppm) 7.38 (d, 2H, J = 9.0 Hz), 6.93 (d, 2H, J = 9.0 Hz), 5.14 (s, 2H), 3.46 (s, 3H) ; <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (ppm) 156.4, 132.3 (2C), 118.2 (2C), 114.3, 94.5, 56.2 ; HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>BrO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> calculated 215.97859, found 215.97850.

**2-(Di-*tert*-butyl(4-(methoxymethoxy)phenyl)silyl)-1-methyl-1*H*-imidazole 145 (YVX1.151)**

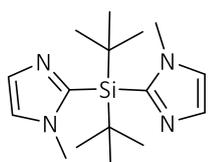
145

In a first flask (**flask 1**) under nitrogen, 1-methylimidazole (78 mg, 0.95 mmol, 1eq) was dissolved in dry THF (0.5 mL) and a *n*-butyllithium solution (1.2M in hexane, 0.87 mL, 1.05 mmol, 1.2 mol/L, 1.1 eq) was added at -80°C. Then, the reaction mixture was stirred at rt for 10 min.

At the same time, **144** (315 mg, 1.45 mmol, 1.5eq) was dissolved in dry THF (1 mL) in a second flask under nitrogen (**flask 2**), and a *n*-butyllithium solution (1.2M in hexane, 2.2 mL, 2.64 mmol, 2.7eq) was added at -80°C. The reaction mixture was stirred at -80°C for 30 min and then 10 min at rt.

In a third flask (**flask 3**) under nitrogen, di-*tert*-butylsilylanediyl bis(trifluoromethanesulfonate) (203 mg, 1.56 mmol, 1.7eq) was dissolved in dry THF (2.5 mL) at room temperature and then cooled to -80°C. The reaction mixture of **flask 1** was slowly added by syringe in **flask 3** at -80°C before adding consecutively the reaction mixture of **flask 2** by syringe into **flask 3** at -80°C. The mixture of **flask 3** was stirred for 16h while being allowed to slowly return to room temperature. Then, the crude reaction mixture was concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/EtOAc: 90/10; R<sub>f</sub> = 0.3) to obtain compound **145** (115 mg, 34%) as a brown powder.

<sup>1</sup>H NMR analysis was in accordance to the data previously reported:<sup>119</sup> <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.53 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.99 (d, *J* = 1 Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.42 (s, 3H), 1.15 (s, 18H).

**ditert-butyl-bis(1-methylimidazol-2-yl)silane 151 (YVX1.196)**

151

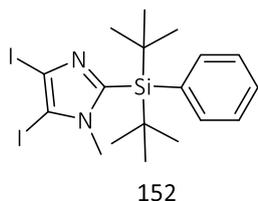
In a first flask (**flask 1**) under nitrogen, 1-methylimidazole (146 mg, 1.76 mmol, 2.3eq) was dissolved in dry THF (1 mL) and a *n*-butyllithium solution (1.4 mL, 1.7 mmol, 1.19 mol/L, 2.2 eq) was added at -80°C. Then, the reaction mixture was stirred for 5 min at room temperature .

In a second flask (**flask 2**) under nitrogen, di-*tert*-butylsilylanediyl bis(trifluoromethanesulfonate) (355 mg, 0.78 mmol, 1eq) was dissolved in dry THF (1.5 mL) at room temperature and then cooled to -80°C. The reaction mixture of **flask 1** was slowly added by syringe in **flask 2** at -80°C and stirred for 18h while being allowed to slowly return to room temperature.

Then, the crude reaction mixture was concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/EtOAc: 70/30 -> 60/40) to obtain compound **151** (199 mg, 84%) as a white powder.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.31 (d,  $J=0.9\text{Hz}$ , 2H), 7.02 (d,  $J = 0.9 \text{ Hz}$ , 9 2H), 3.44 (s, 6H), 1.19 (s, 18H) ;  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 147.5 (2C), 130.9 (2C), 123.3 (2C), 34.7 (2C), 29.2 (2C), 21.6 (6C) ;  $^{29}\text{Si}$  NMR (59 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) -17,53 ; HRMS (ESI/TOF $^-$ ) :  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{Si}$  [M+H] calculated 305.2156 found 305.2146.

### 2-(di-tert-butyl(phenyl)silyl)-4,5-diiodo-1-methyl-1H-imidazole 152 (YVX1.015)

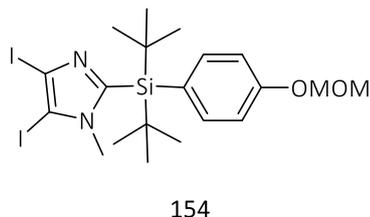


Under nitrogen, **143** (30 mg, 0.100 mmol, 1 eq) was dissolved in acetonitrile (1 mL), and *N*-iodosuccinimide (47 mg, 0.200 mmol, 2 eq) was added at room temperature. The reaction was stirred for 24h at 60°C. The reaction was stopped by adding a solution of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  at 10% (10 mL). The aqueous phase

was extracted with DCM (3 x 5 mL). The combined organic phases are then washed with brine, dried with  $\text{MgSO}_4$  and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : 50/50 ;  $R_f = 0.8$  ) to give **152** (25 mg, 45%) as a white powder.

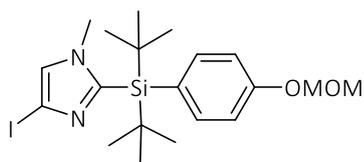
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 7.57 (d,  $J = 7.14 \text{ Hz}$ , 2H), 7.40-7.33 (m, 3H), 3.38 (s, 3H), 1.41 (s, 18H). HRMS (ESI/TOF $^-$ ) :  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{I}_2\text{Si}$  [M+H] $^+$  calculated 553.0027 found 553.0028.

### 2-(Di-tert-butyl(4-(methoxymethoxy)phenyl)silyl)-4,5-diiodo-1-methyl-1H-imidazole 154 (YVX1.094)



Under nitrogen, **145** (273 mg, 0.76 mmol, 1 eq,) was dissolved in acetonitrile (3 mL), and *N*-iodosuccinimide (513 mg, 2.28 mmol, 3 eq,) was added at room temperature. The reaction was stirred for 24h at 60°C. Then, the solvent was removed under reduced pressure and the

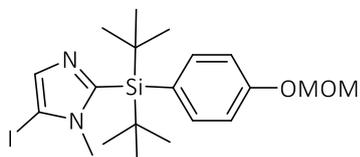
residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : 50/50 ;  $R_f = 0.4$  ) to give **154** (377 mg, 81%) as a yellow powder.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.50 (d,  $J = 8.5 \text{ Hz}$ , 2H), 7.04 (d,  $J = 8.7 \text{ Hz}$ , 2H), 5.21 (s, 2H), 3.51 (s, 3H), 3.41 (s, 3H), 1.13 (s, 18H) ;  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 158.5, 154.6, 137.6 (2C), 126.0, 115.7 (2C), 97.5, 94.3, 86.6, 56.4, 40.2, 29.4 (6C), 20.9 (2C) ;  $^{29}\text{Si}$  NMR (59 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) -5.24 ; HRMS (ESI/TOF $^+$ ) :  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{SiI}_2$  [M+Na] $^+$  calculated 635.0058, found 635.0081.

**2-(Di-tert-butyl(4-(methoxymethoxy)phenyl)silyl)-4-iodo-1-methyl-1H-imidazole 155 (YVX1.010)**

155

Under nitrogen, **154** (135 mg, 0.22 mmol, 1 eq,) was dissolved in dry THF (4 mL), a solution of ethylmagnesium bromide in Et<sub>2</sub>O (3.0 M, 81 μL, 0.24 mmol, 1.1 eq,) was added at 0°C. The reaction was stirred 30 min at 0°C. Saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 mL) was added to quench the reaction and the aqueous layer was extracted three times with ethyl acetate (3x 20 mL). The combined organic layers were washed with brine (20 mL) and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 50/50 ; R<sub>f</sub> = 0.3) to give **155** (103 mg, 96%) as a yellow oil.

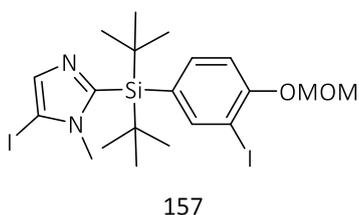
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.50 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.04 (s, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.20 (s, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 1.14 (s, 18H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 158.4, 151.4, 137.6 (2C), 128.4, 126.5, 115.6 (2C), 94.3, 83.6, 56.3, 36.6, 29.4 (6C), 20.8 (2C); <sup>29</sup>Si NMR (59 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) -6.83; HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup> calculated 509.1091, found 509.1108.

**2-(di-tert-butyl(4-(methoxymethoxy)phenyl)silyl)-5-iodo-1-methyl-1H-imidazole 156 (YVX1.086)**

156

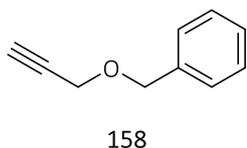
Under nitrogen, *n*-butyllithium solution (1.6M in hexane, 0.100 mL, 0.160 mmol, 1.6 mol/L, 2.8 eq) was added **145** (20 mg, 0.057 mmol, 1 eq,) in THF (0.3 mL) at 0°C. The mixture was stirred at rt for 30 min. Then, iodine (13 mg, 0.051 mmol, 0.9 eq) in THF (100 μL) was added at 0°C. The reaction was stirred for 1h at room temperature. The reaction was stopped by adding a solution of Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> at 10% (20 mL). The aqueous phase was extracted with EtOAc (3 x 7 mL). The combined organic phases are then washed with brine, dried with MgSO<sub>4</sub> and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 50/50) to give **156** (2 mg, 7%) and **157** (2mg, 6%) as a white powder.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.51 (d, *J* = 8.65 Hz, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.67 Hz, 2H), 5.20 (s, 2H), 3.51 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 1.15 (s, 18H); HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> calculated 487.1272, found 487.1271.

**2-(di-tert-butyl(3-iodo-4-(methoxymethoxy)phenyl)silyl)-5-iodo-1-methyl-1H-imidazole** **157****(YVX1.085)**

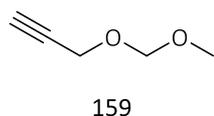
Under nitrogen, *n*-butyllithium solution (1.6M in hexane, 0.100 mL, 0.160 mmol, 1.6 mol/L, 2.67 eq) was added **145** (21 mg, 0.06 mmol, 1 eq) in THF (0.3 mL) at 0°C. The mixture was stirred at rt for 30 min. Then, iodine (50 mg, 0.197 mmol, 3.3 eq) in THF (100  $\mu$ L) was added at 0°C. The reaction was stirred for 1h at room temperature. The reaction was stopped by adding a solution of Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> at 10% (20 mL). The aqueous phase was extracted with EtOAc (3 x 7 mL). The combined organic phases are then washed with brine, dried with MgSO<sub>4</sub> and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 50/50) to give **157** (14.5 mg, 33%) as a white powder.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (ppm) 7.96 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.48 (dd, *J* = 8.21 Hz, 1.63 Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.08 (d, *J* = 8.21 Hz, 1H), 5.27 (s, 2H), 3.53 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 1.14 (s, 18H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (ppm) 146.8.4, 140.3, 137.3 (2C), 114.2 (2C), 94.8, 87.6, 56.6, 38.7, 29.2 (6C), 20.8 (2C), 1.03 (2C); <sup>29</sup>Si NMR (59 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (ppm) -21.95 ; HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>I<sub>2</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> calculated 613.0239, found 613.0235.

**1-((Prop-2-ynyl)oxy)methyl)benzene 158 (YVX1.043)**

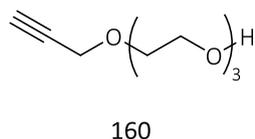
Under nitrogen, sodium hydride (0.518 g, 19.42 mmol, 1.1 eq) was added by portion at 0°C to a solution of propargyl alcohol (1.04 mL, 17.66 mmol) in dry THF (20 mL). The mixture was stirred at 0°C for 30 min then benzyl bromide (2.36 mL, 19.42 mmol, 1.1 eq) was added dropwise. The reaction mixture was warmed to room temperature and stirred at room temperature for 16h. The reaction was quenched with aqueous solution of HCl (1M) (10 mL), the aqueous layer was extracted three times with ethyl acetate (3x 20 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate then the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (Cyclohexane/DCM : 80/20) to give **158** (1.83 g, 71%) as colourless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (ppm) 7.38-7.29 (m, 5H), 4.62 (s, 2H), 4.18 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 2.47 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H) ; <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (ppm) 137.4, 128.6 (2C), 128.3 (2C), 128.1, 79.8, 74.7, 71.8, 57.2 ; HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O [M]<sup>+</sup> calculated 146.07316, found 146.07286.

**3-(methoxymethoxy)prop-1-yne 159 (YVX1.134)**

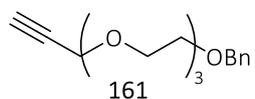
Under nitrogen, potassium tert-butoxide (5.06 g, 42.8 mmol, 1.9 eq) was added to a solution of prop-2-yn-1-ol (1.3 mL, 22 mmol, 1eq) in dry THF (70mL). The mixture was stirred for 30 min at 0°C. Chloromethyl methyl ether (3.76 mL, 49.5 mmol, 2.3 eq) was added to the mixture at 0°C dropwise and stirred for 20h while being allowed to slowly return to room temperature. The solvent was removed under reduced pressure to give **159** (456 mg, 20%) as a yellow oil.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 4.71 (s, 2H), 4.22 (d,  $J = 2.43$  Hz, 2H), 3.38 (s, 3H), 1.86 (t,  $J = 3.66$ Hz, 1H).

**2-(2-(2-(Prop-2-ynyloxy) ethoxy) ethoxy) ethanol 160 (YVX1.002)**

Under nitrogen, triethylene glycol (5.38 mL, 40 mmol, 2eq) was added to a solution of potassium tert-butoxide (2.22 g, 20 mmol, 1 eq) in 80 mL of dry THF and the mixture was stirred for 30 min at room temperature. Propargyl bromide (1.5 mL, 20 mmol, 1 eq) was added and the mixture was stirred at room temperature for 24h. The reaction was filtered on celite and washed with ethyl acetate (2 x 10 mL). The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (EtOAc : 100% ;  $R_f = 0.5$  ) to give **160** (3.12 g, 83 %) as a colorless oil.

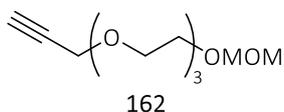
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 4.18 (d, 2H,  $J = 2.4$  Hz), 3.72-3.57 (m, 12H), 2.42 (t, 1H,  $J = 2.4$  Hz) ;  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 79.6, 74.7, 72.6, 70.7, 70.4, 70.4, 69.2, 61.8, 58.5.

**2-[2-(2-prop-2-ynoxyethoxy)ethoxy]ethoxymethylbenzene 161 (YVX1.097)**

Under nitrogen, sodium hydride (38 mg, 1.27 mmol, 80%, 1eq) was added to a solution of **160** (2.38 mg, 1.26 mmol, 1 eq) in dry THF (3 mL) at 0°C and the mixture was stirred for 30 min at room temperature. Benzyl bromide (243 mg, 1.42 mmol, 1.1 eq) was added at 0°C and the mixture was stirred at room temperature for 16h.

A solution of HCl (1 M, 10 mL) was added slowly. The aqueous phase was extracted with EtOAc (3 x 5 mL). The organic phase was dried with  $\text{MgSO}_4$  and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (EtOAc/Cyclohexane: 10/90) to give **161** (3.12 g, 83 %) as a colorless oil.

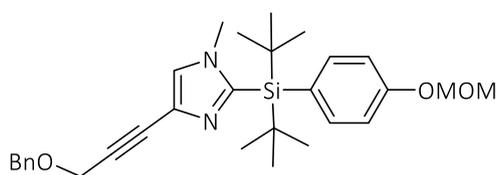
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.38-7.27 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.19 (d,  $J = 2.38$  Hz, 2H), 3.70-3.61 (m, 12H), 2.41 (t,  $J = 2.38$  Hz, 1H).

**3-[2-[2-[2-(methoxymethoxy)ethoxy]ethoxy]ethoxy]prop-1-yne **162** (YVX1.227)**

Under nitrogen, DIEA (0.8 mL, 5 mmol, 0.9 eq) was added to a solution of **160** (1 g, 5. mmol, 1 eq) in dry DCM (20 mL) at 0°C and the mixture was stirred for 30 min at 0°C. Chloromethyl methyl ether (0.8 mL, 10.5 mmol, 2 eq) was added at 0°C dropwise and the mixture was stirred at room temperature for 5 days.

The reaction was stopped by adding H<sub>2</sub>O (20 mL). Then, the aqueous phase was extracted with DCM (3 x 7 mL). The organic phases were combined, washed with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (2x 10 mL) and brine (2 x 10 mL), dried with MgSO<sub>4</sub> and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (EtOAc/Cyclohexane: 70/30) to give **162** (610 mg, 49%) as a colorless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 4.65 (s, 2H), 4.19 (d, J = 2.39 Hz, 2H), 3.69-3.66 (m, 12H), 3.36 (s, 3H), 2.41 (t, J = 2.38 Hz, 1H) ; <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 96.6, 79.7, 74.5, 70.63, 70.59, 70.54, 70.44, 69.1, 66.8, 58.4, 55.2.

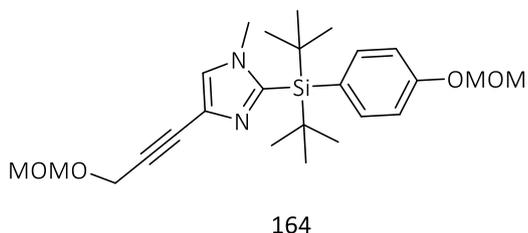
**2-(Di-*tert*-butyl(4-(methoxymethoxy)phenyl)silyl)-4--(3-(benzyloxy)prop-1-ynyl)-1-methyl-1H-imidazole **163** (YVX1.035)****163**

Under nitrogen, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (15.7 mg, 13.6 μmol, 0.05 eq.), CuI (2.3 mg, 12 μmol, 0.1 eq.) and **155** (60 mg, 0.12 mmol, 1 eq.) were dissolved in dry DMF (2.5 mL). Triethylamine (0.6 mmol, 5 eq, 83.6 μL) and **158** (52.6 mg, 0.36 mmol, 3 eq.) were added at room temperature. The reaction mixture

was stirred at 80°C for 3h then water (20 mL) was added. The aqueous layer was extracted three times with diethyl ether (3x 20 mL), the combined organic layers were washed with brine (20 mL) and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 20/80 ; R<sub>f</sub> = 0.7) to give **163** (53.3 mg, 88%) as a colourless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.51 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.40-7.30 (m, 5H), 7.19 (s, 1H), 7.04 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 5.21 (s, 2H), 4.68 (s, 2H), 4.42 (s, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 1.16 (s, 18H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 158.4, 149.3, 137.6 (2C), 128.5 (2C), 128.3 (2C), 127.9, 127.8, 126.6, 124.9, 115.5 (2C), 94.3, 84.9, 81.5, 71.7, 58.4, 56.3, 36.8, 29.4 (6C), 20.7 (2C); <sup>29</sup>Si NMR (59 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) -6.58; HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>30</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> calculated 505.2880, found 505.2896.

**3-[2-[ditert-butyl-[4-(methoxymethoxy)phenyl]silyl]-1-methyl-imidazol-4-yl]prop-2-yn-1-ol** **164**  
**(YVX1.172)**

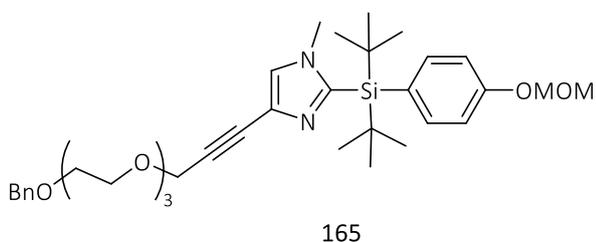


Under nitrogen, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (19.7 mg, 17 μmol, 0.1 eq.), CuI (19.5 mg, 102 μmol, 0.1 eq.) and **155** (70 mg, 0.144 mmol, 1.4 eq.) were dissolved in dry DMF (2.5 mL). Triethylamine (0.15 mL, 1.1 mmol, 7.7 eq.) and **159** (80 mg, 0.799 mmol, 5.5 eq.) were added at room temperature. The reaction

mixture was stirred at 80°C for 16h then water (20 mL) was added. The aqueous layer was extracted three times with diethyl ether (3x 10 mL), the combined organic layers were washed with brine (10 mL, 5 mL, 3 mL) and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/EtOAc : 80/20) to give **164** (37 mg, 62%) as a colourless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.50 (d, *J* = 8.68 Hz, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.65 Hz, 2H), 5.21 (s, 2H), 4.78 (s, 2H), 3.51 (s, 6H), 3.42 (s, 2H), 3.37 (s, 3H), 1.15 (s, 18H).

**[4-[3-[2-[2-(2-benzyloxyethoxy)ethoxy]prop-1-ynyl]-1-methyl-imidazol-2-yl]-ditert-butyl-[4-(methoxymethoxy)phenyl]silane** **165** (YVX1.122)



Under nitrogen, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (13.7 mg, 11.9 μmol, 0.05 eq.), CuI (6.1 mg, 32 μmol, 0.1 eq.) and **155** (112.6 mg, 0.231 mmol, 1 eq.) were dissolved in dry DMF (2.5 mL). Triethylamine (0.65 mL, 4.7 mmol, 20 eq.) and **161** (165 mg, 0.59 mmol, 2.5 eq.) were added at

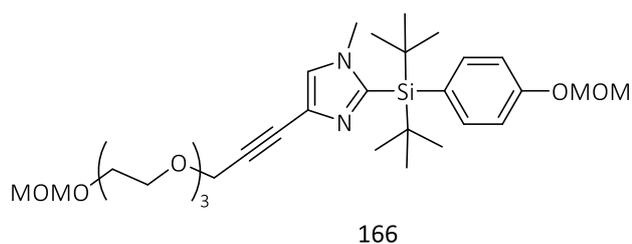
room temperature. The reaction mixture was stirred at 80°C for 2 days.

The reaction was filtered on celite and the volume was extended with diethyl ether (20 mL), the organic layers was washed with brine (20 mL, 10 mL x 2, 5 mL) and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/EtOAc : 80/20 -> 70/30 -> 50/50) to give **165** (83.6 mg, 57%) as a colourless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.49 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.33-7.26 (m, 5H) , 7.15 (s, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.18 (s, 2H), 4.56 (s, 2H), 4.42 (s, 2H), 3.77-3.74 (m, 2H), 3.71-3.60 (m, 10H), 3.49 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 1.15 (s, 18H) ; <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 158.3, 149.1, 138.3, 137.5 (2C),

128.4 (2C), 127.8 (2C), 127.7 (2C), 127.6, 126.5, 124.8, 115.5 (2C), 94.2, 84.8, 81.5, 73.3, 70.7 (2C), 70.5, 69.5, 69.1, 59.5, 56.2, 36.7, 29.3 (6C), 20.6 (2C);  $^{29}\text{Si}$  NMR (59 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) -6,63 ; HRMS (ESI/TOF) :  $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_6\text{N}_2\text{Si}$  [M+H] calculated 637.3667, found 637.3648 ; [M+Na] calculated 659.3487, found 659.3466.

**ditert-butyl-[4-[3-[2-[2-[2-(methoxymethoxy)ethoxy]ethoxy]ethoxy]prop-1-ynyl]-1-methyl-imidazol-2-yl]-[4-(methoxymethoxy)phenyl]silane 166 (YVX1.146)**



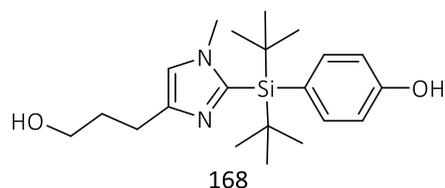
Under nitrogen,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (12.14 mg, 10.5  $\mu\text{mol}$ , 0.1 eq.),  $\text{CuI}$  (8.5 mg, 45  $\mu\text{mol}$ , 0.5 eq.) and **155** (45 mg, 92.5  $\mu\text{mol}$ , 1 eq.) were dissolved in dry DMF (2.5 mL). Triethylamine (0.1 mL, 0.7 mmol, 7.6 eq.) and **162** (100 mg, 0.431 mmol, 4.7 eq.)

were added at room temperature. The reaction mixture was stirred at 80°C for 36h.

The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/EtOAc : 20/80 ;  $R_f$  = 0.64) to give **166** (40.4 mg, 74%) as a colourless oil.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.49 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.02 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 5.20 (s, 2H), 4.66 (s, 2H), 4.43 (s, 2H), 3.79-3.76 (m, 2H), 3.71-3.67 (m, 10H), 3.50 (s, 3H), 3.36 (s, 6H), 1.14 (s, 18H) ;  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) , 137.5 (2C), 127.8 (2C), 115.5 (2C), 96.6, 94.2, 70.7 (2C), 70.6, 69.15, 66.8, 59.5, 56.2, 55.2, 37.1, 29.3 (6C), 20.6 (2C).  $^{29}\text{Si}$  NMR (59 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 54.89.

**4-(Di-tert-butyl(4-(3-hydroxypropyl)-1-methyl-1H-imidazol-2-yl)silyl)phenol 168**



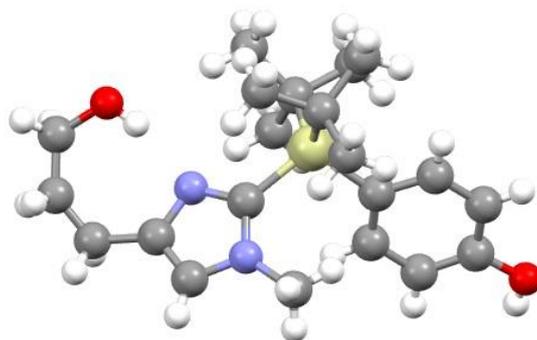
10% Palladium on carbon (69.5 mg, 50% w/w,) and acetic acid (80  $\mu\text{L}$ , 1.4 mmol, 10 eq) were added to a solution of **163** (69.5 mg, 0.14 mmol, 1 eq.) in methanol (4 mL). The reaction mixture was placed under hydrogen atmosphere and stirred at room

temperature for 16h. The crude reaction was filtered on celite and washed with methanol (20 mL). The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in methanol (4 mL) and an aqueous solution of sulfuric acid (6.2M, 0.22 mL, 1.4 mmol, 10 eq.) was added, and the reaction mixture was stirred at 50°C for 5h. Then, a saturated aqueous solution of  $\text{NaHCO}_3$  (40 mL) was added. The mixture was extracted with ethyl acetate (3x 20 mL), the combined layers were dried over

magnesium sulfate, the solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH : 95/5) to give **168** (34.8 mg, 66%) as a white amorphous solid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7.62 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.09 (s, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.84 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.57 (s, 3H), 2.91 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.07 (m, 2H), 1.32 (s, 18H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, MeOD) : δ (ppm) 159.9, 148.7, 144.2, 138.7 (2C), 124.6, 121.7, 116.0 (2C), 62.8, 37.2, 33.3, 29.9 (6C), 25.5, 21.40 (2C); <sup>29</sup>Si NMR (59 MHz, MeOD) : δ (ppm) -6.66; HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> calculated 375.2462, found 375.2465.

Monocrystals of this compound were obtained by slow evaporation from an EtOAc/toluene mixture. Crystallographic data was acquired at CESAMO (UMR 5255) on a Bruker APEX 2 DUO. A single crystal was mounted and immersed in a stream of nitrogen gas [*T* = 150(2) K]. Data were collected, using a microfocus sealed tube of Mo K<sub>α</sub> radiation (*k* = 0.71073 Å) on a KappaCCD diffractometer. Data collection and cell refinement were performed using APEX2 2013.10-0 (Bruker AXS Inc.), and SAINT v8.34A (Bruker AXS Inc.). Data reduction was performed using SAINT v8.34A (Bruker AXS Inc.). Correction for absorption was performed using multi-scan integration as included in SADABS V2012/1 (Bruker AXS). Structure solutions were found by charge flipping methods (SUPERFLIP (Palatinus & Chapuis, 2007) EDMA (Palatinus et al., 2012)) and refined with (SHELXL).<sup>167</sup> Crystallographic data for this structure has been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication no. CCDC 2169890. Copies of the data can be obtained, free of charge, on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK, (fax: +44-(0)1223-336033 or e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk)

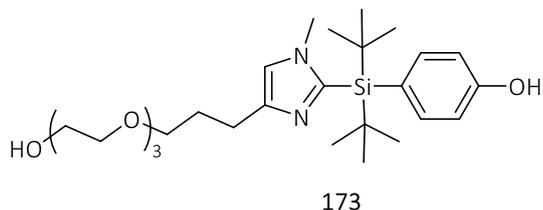


*Mercury drawing of the crystalline structure of 168 obtained by X-Ray diffraction analysis*

---

<sup>167</sup> G. M. Sheldrick *Acta Crystallographica Section A*. 2008, **64**, 112-122.

**ditert-butyl-[4-[3-[2-[2-[2-(methoxymethoxy)ethoxy]ethoxy]ethoxy]propyl]-1-methyl-imidazol-2-yl]-[4-(methoxymethoxy)phenyl]silane 173 (YVX1.152)**



Hydrogenation made on a H-cube Miniplus, ThalesNano.

A solution at 0.01 mol/L of **166** (34.7 mg, 58.7 mmol) diluted in ethanol (5 mL) was eluted to a cartridge of palladium on carbon at 50°C with global pressure of the

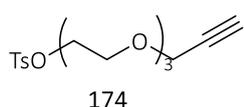
system of 40 bar at 1mL/min. The solvent was removed under reduced pressure.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.38 (d, *J* = 8.46 Hz, 2H), 7.37 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.37 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.71-3.56 (m, 15H), 3.55 (t, *J* = 7.15, 2H), 2.32 (t, *J* = 7.35, 2H), 1.98 (q, *J* = 6.40 Hz, 2H), 1.19 (s, 18H).

The residu was diluted in methanol (1.5 mL) and a solution of sulfuric acid (0.04 mL, 2.28 mol/l) was added. The reaction was stirred at 60°C for 3h. The reaction was stopped by adding a saturated solution of HCO<sub>3</sub> and the solvents were removed under reduced pressur to give **173** (20 mg, 87%) as a colourless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 7.53 (d, *J* = 8.61 Hz, 2H), 7.02 (d, *J* = 8.56 Hz, 2H), 6.67 (s, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.66 (s, 2H), 3.68-3.64 (m, 12H), 3.05 (t, *J* = 6.94, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.35 (s, 6H), 2.64 (t, *J* = 7.42, 2H), 1.97 (q, *J* = 7.21 Hz, 2H), 1.13 (s, 18H) HRMS (ESI/TOF) : C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>Si [M+H] calculated 636. found 637.3648.

**2-(2-(2-(Prop-2-ynyloxy)ethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate 174**

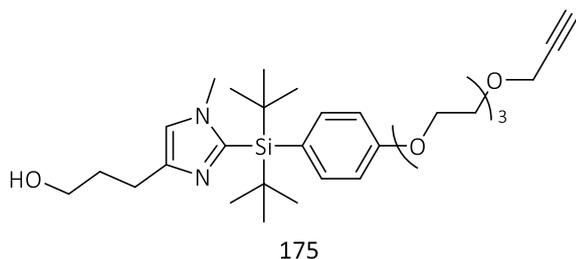


Under argon, triethylamine (1.74 mL, 12.5 mmol, 2.5 eq) was added to solution of **160** (0.94 g, 5 mmol, 1 eq) and trimethylamine hydrochloride (47.8 mg, 0.5

mmol, 0.1 eq) in 6 mL of dry acetonitrile at room temperature. Then, a solution of p-toluenesulfonyl chloride (1.90 g 10 mmol, 2 eq) in dry acetonitrile (6 mL) was added to the mixture at 0°C and stirred at room temperature for 24h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (Cyclohexane/EtOAc : 70/30 ; R<sub>f</sub> = 0.4) to give **174** (80%) as colorless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.80 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.34 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz), 4.19 ppm (d, 2H, *J* = 2.3 Hz), 4.17-4.14 (m, 2H), 3.70-3.59 (m, 10H), 2.44 (s, 3H), 2.42 (t, 1H, *J* = 2.3 Hz) ; <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 144.9, 133.2, 129.9 (2C), 128.1 (2C), 79.8, 74.7, 70.9, 70.7, 70.6, 69.4, 69.2, 68.8, 58.5, 21.8.

**3-(2-((4-(2-(2-(2-(Prop-2-ynoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)di-tert-butylsilyl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl)propan-1-ol 175**

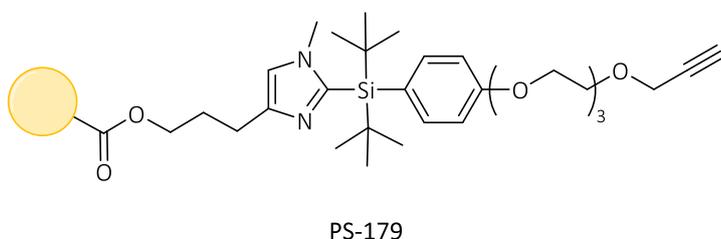


Potassium *tert*-butoxide (84.2 mg, 0.75 mmol, 1.5 eq) and a solution of **168** (257 mg, 0.75 mmol, 1.5 eq) in dry THF (9 mL) were added to a solution of **174** (161 mg, 0.5 mmol, 1eq) in dry THF (9 mL) at room temperature. The reaction mixture was stirred at

room temperature for 72h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Ethyl Acetate : 80/20) to give **175** as a colorless oil (218 mg, 80 %).

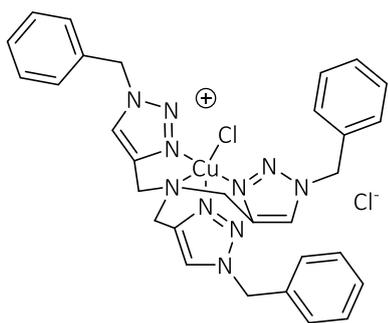
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.45 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.65 (s, 1H), 4.13 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 4.08 (m, 2H), 3.81 (m, 2H), 3.73-3.66 (m, 4H), 3.63 (m, 6H), 3.26 (s, 3H), 2.75 (m, 2H), 2.35 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 1.80 (m, 2H), 1.07 (s, 18H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 159.7, 147.5, 142.7, 137.4 (2C), 125.3, 120.2, 114.0 (2C), 79.6, 74.5, 70.8, 70.7, 70.5, 69.7, 69.1, 67.1, 62.6, 58.4, 36.7, 31.4, 29.3 (6C), 25.6, 20.5 (2C) ; <sup>29</sup>Si NMR (59 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) -6.78 ; HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>30</sub>H<sub>47</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> calculated 545.3405, found 545.3418.

**Polystyrene resin-Imidazole-SiFA-Alcyne PS-179**



In sealed reactor of 10 mL, **175** (19 mg, 34.9 μmol, 1 eq) was dissolved in toluene (2.5 mL) in the presence of benzoyl chloride polymer bound (2.1mmol/g, 100.3 mg, 150.5 μmol, 5eq).

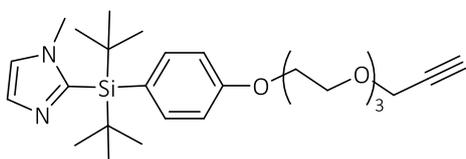
Triethylamine (50 μl, 358.72 μmol, 10 eq) and dimethylaminopyridine (10.3 mg, 84.31 μmol, 2.4 eq) were added to the reaction mixture. The reaction was stirred at 110°C for 3 days and the disappearance in the solution of **173** was monitored by TLC. After allowing the reaction mixture to cool at rt, the polymer was filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed consecutively with methanol, water, dichloromethane and methanol. After drying under reduced pressure, polymer **PS-179** was recovered (92.7mg) and used without further treatment (theoretical loading: ≈0.36 mmol/g).

**[Cu(Cl(TBTA))Cl]·1.5H<sub>2</sub>O**

**[Cu(Cl(TBTA))Cl]·1.5H<sub>2</sub>O** was synthesized following a reported procedure with a 69% yield.<sup>168</sup> The spectral data was in accordance with the literature.

**HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>)** : [C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>ClCu<sup>II</sup>N<sub>10</sub>]<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> calculated 628.1634, found 628.1631. [C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>Cu<sup>II</sup>N<sub>10</sub>]<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> calculated 593.1945, found 593.1941.

**2-(di-tert-butyl(4-(2-(2-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)silyl)-1-methyl-1H-imidazole 180 (YVX1.090 + YVX1.091)**



180

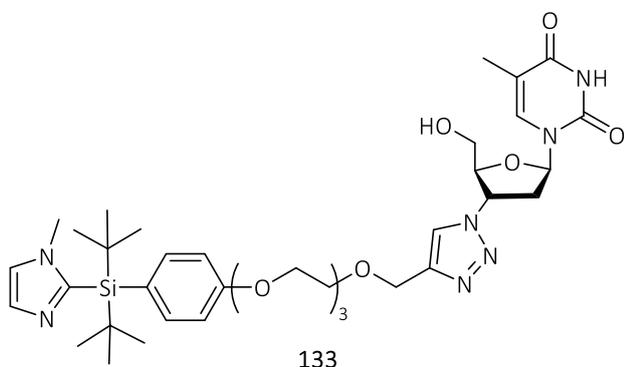
In round bottom flask, an aqueous solution of sulfuric acid (6 mL, 37.2 mmol, 6.2M, 70 eq,) was added into a solution of **145** (195.6 mg, 542.5 μmol, 1eq) in methanol (12 mL), and the reaction mixture was stirred at 50°C for 24h. Then, a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> (40 mL) was added. The mixture was extracted with dichloromethane (3x 15 mL), the combined layers were dried over magnesium sulfate, the solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (EtOAc/Cyclohexane : 70/30) to give a deprotected intermediate (87 mg, 51%) as a white amorphous solid.

Potassium *tert*-butoxide (82 mg, 0.716 mmol, 2.6 eq) and a solution of the deprotected intermediate (87 mg, 275 μmol, 1 eq) in dry THF (10 mL) were added to a solution of **174** (138 mg, 403.3 μmol, 1.5 eq) in dry THF (9 mL) at room temperature. The reaction mixture was stirred at room temperature for 48h. . Then, a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> (40 mL) was added. The mixture was extracted with EtOAc (3x 15 mL), the combined layers were dried over magnesium sulfate, the solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (EtOAc/dichloromethane : 20/80) to give a **180** (96 mg, 72%) as a white amorphous solid.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** : δ (ppm) 7.52 (d, 2H, J = 8.3 Hz), 7.31 (d, 1H, J = 1 Hz), 6.99 (d, 1H, J = 1 Hz), 6.92 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 4.2 (d, 2H, J = 2.5Hz), 4.16-4.13 (m, 2H), 3.89-3.98 (m, 2H), 3.76-3.67 (m, 8H), 3.40 (s, 3H), 2.41 (t, 1H, J = 2.4 Hz), 1.14 (s, 18H).

<sup>168</sup> Donnelly P. S., Zanatta S. D., Zammit S. C., White J. M., Williams S. J. "Click" cycloaddition catalysts: copper(I) and copper(II) tris(triazolylmethyl)amine complexes. *Chem. Commun.*, **2008**, 2459–2461.

**1-[(2R,4R)-4-[4-[2-[2-[2-[4-[ditert-butyl-(1-methylimidazol-2-yl)silyl]phenoxy]ethoxy]ethoxy]ethoxymethyl]triazol-1-yl]-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl]-5-methyl-pyrimidine-2,4-dione 133 (YVX1.117)**



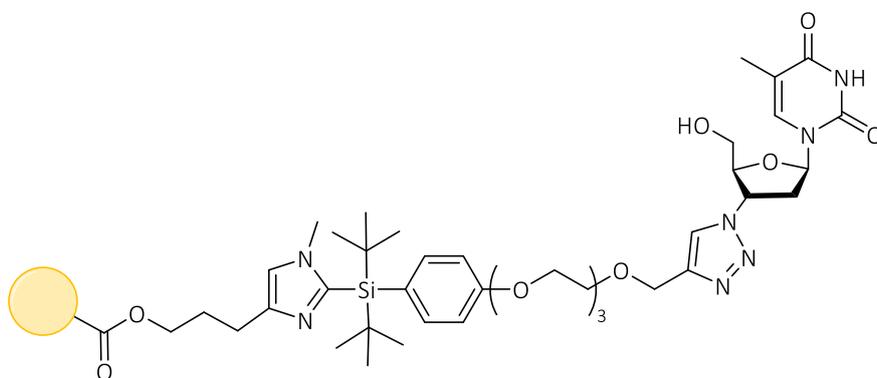
In sealed reactor of 5 mL, **180** (19.4 mg, 40  $\mu\text{mol}$ , 1 eq),  $[\text{Cu}(\text{Cl}(\text{TBTA}))\text{Cl}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}]$  (18.2 mg, 27  $\mu\text{mol}$ , 0.7 eq) and (+)-sodium L-ascorbate (10 mg, 50  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq) were dissolved in DMF (1 mL). *N,N*-Diisopropylethylamine (40  $\mu\text{L}$ , 240  $\mu\text{mol}$ , 6 eq) and zidovudine (AZT) (14 mg, 54  $\mu\text{mol}$ , 1.4 eq) were added in the reaction mixture. The reaction was

heated at 200°C for 1min using micro-wave irradiation (30 W). After allowing the reaction mixture to cool at rt.

The volume was extended by the addition of EtOAc (25mL). The organic phase was washed with brine (20 mL, 10 mL, 2x 5 mL, 3 mL), dried with  $\text{MgSO}_4$  and concentrated under reduced pressure. A preparative plaque of silica was used to purify **133** using dichloromethane/methanol (95/5) to give **133** (6 mg, 8 $\mu\text{mol}$ , 20%).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.75 (s, 1H), 7.52 (d, 1H,  $J = 0.8$  Hz), 7.50 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz), 7.31 (d, 1H,  $J = 1$  Hz), 7.0 (d, 1H,  $J = 0.9$  Hz), 6.9 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz), 6.25 (t, 1H,  $J = 6.6$  Hz), 5.43-5.39 (m, 1H), 4.68 (s, 2H), 4.40-4.38 (m, 1H), 4.15-4.13 (m, 2H), 3.97 (dd, 1H,  $J = 12.4$  et 2.4 Hz), 3.87-3.85 (m, 2H), 3.77-3.66 (m, 9H), 3.42 (s, 3H), 2.92-2.88 (m, 2H), 1.9 (d, 3H,  $J = 1.1$  Hz), 1.13 (s, 18H).

**Polystyrene resin-Imidazole-SiFA-Thymidine PS-181 (YVX1.243)**

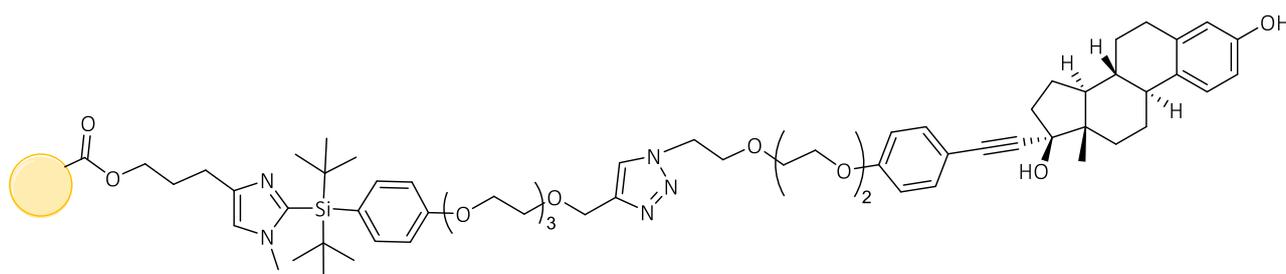


PS-181



the reaction mixture. The reaction was heated at 70°C for 48h. After allowing the reaction mixture to cool at rt, the polymer was filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed consecutively with DMF, water, acetonitrile and methanol. After drying under reduced pressure, polymer **PS-189** was recovered (188 mg) and used without further treatment (theoretical loading:  $\approx 0.32$  mmol/g).

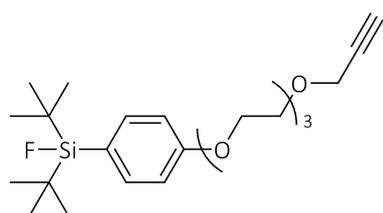
#### Polystyrene resin-Imidazole-SiFA-Estradiol PS-183 (YVX1.305)



PS-183

In sealed reactor of 5 mL, **PS-179** (218 mg, 81  $\mu$ mol, 1 eq), [Cu(Cl(TBTA)]Cl  $\cdot$  1.5H<sub>2</sub>O (29.7 mg, 44.7  $\mu$ mol, 0.55 eq) and (+)-sodium L-ascorbate (77 mg, 389  $\mu$ mol, 4.8 eq) were dissolved in DMF (4.0 mL). *N,N*-Diisopropylethylamine (120  $\mu$ L, 689  $\mu$ mol, 8.5 eq) and **182**<sup>169</sup> (308 mg, 564  $\mu$ mol, 7eq) were added in the reaction mixture. The reaction was heated at 100°C for 1h using micro-wave irradiation (30 W). After allowing the reaction mixture to cool at rt, the polymer was filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed consecutively with DMF, water, acetonitrile and methanol. After drying under reduced pressure, polymer **PS-183** was recovered (220 mg) and used without further treatment (theoretical loading:  $\approx 0.30$  mmol/g).

#### (4-(2-(2-(2-(Prop-2-ynyloxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)di-tert-butylfluorosilane 178



178

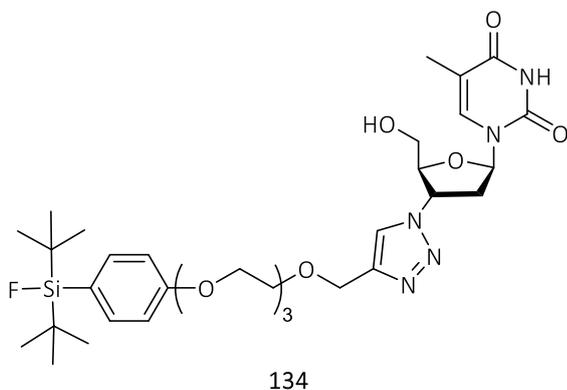
In a sealed reactor of 5 mL, polymer **PS-179** (24.4 mg,  $\approx 8.8$   $\mu$ mol) was suspended in dry THF (0.8 mL) and a solution of aqueous hydrofluoric acid (0.1M, 110  $\mu$ L, 11  $\mu$ mol, 1.3 eq) was added. The mixture was heated at 70°C for 2 h. The resin beads were filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed with dichloromethane. The

169 Tabey A., Audrain H., Fouquet E., Hermange P. Bioconjugated arylpalladium complexes on solid supports for a convenient last-step synthesis of <sup>11</sup>C-labelled tracers for positron emission tomography. *Chem. Commun.*, **2019**, 55, 7587-7590.

combined organic fractions were evaporated under reduced pressure to give **178** (4 mg, 9.43  $\mu\text{mol}$ , quantitative) as a white amorphous solid.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.50 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 6.93 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 4.20 (m, 2H), 4.15 (m, 2H), 3.87 (m, 2H), 3.77-3.67 (m, 8H), 2.42 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 1.04 (d,  $J = 1.1$  Hz, 18H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 159.8, 135.9 (2C), 127.1, 113.9 (2C), 74.6, 71.0, 70.8, 70.6, 69.9, 69.3, 67.2, 58.6, 29.8 (6C), 28.2, 20.5 (2C);  $^{29}\text{Si NMR}$  (59 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 14.3 (d,  $J = 296$  Hz) ;  $^{19}\text{F NMR}$  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) -188.72 ; HRMS (ESI/TOF $^+$ ) :  $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{O}_4\text{SiF}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculated 447.2337, found 447.2339.

**3'-Deoxy-3'-[4-((2-(2-(2-(4-(di-tert-butylfluorosilyl)phenoxy)ethoxy) ethoxy)ethoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-thymidine 134 (YVX1.244)**



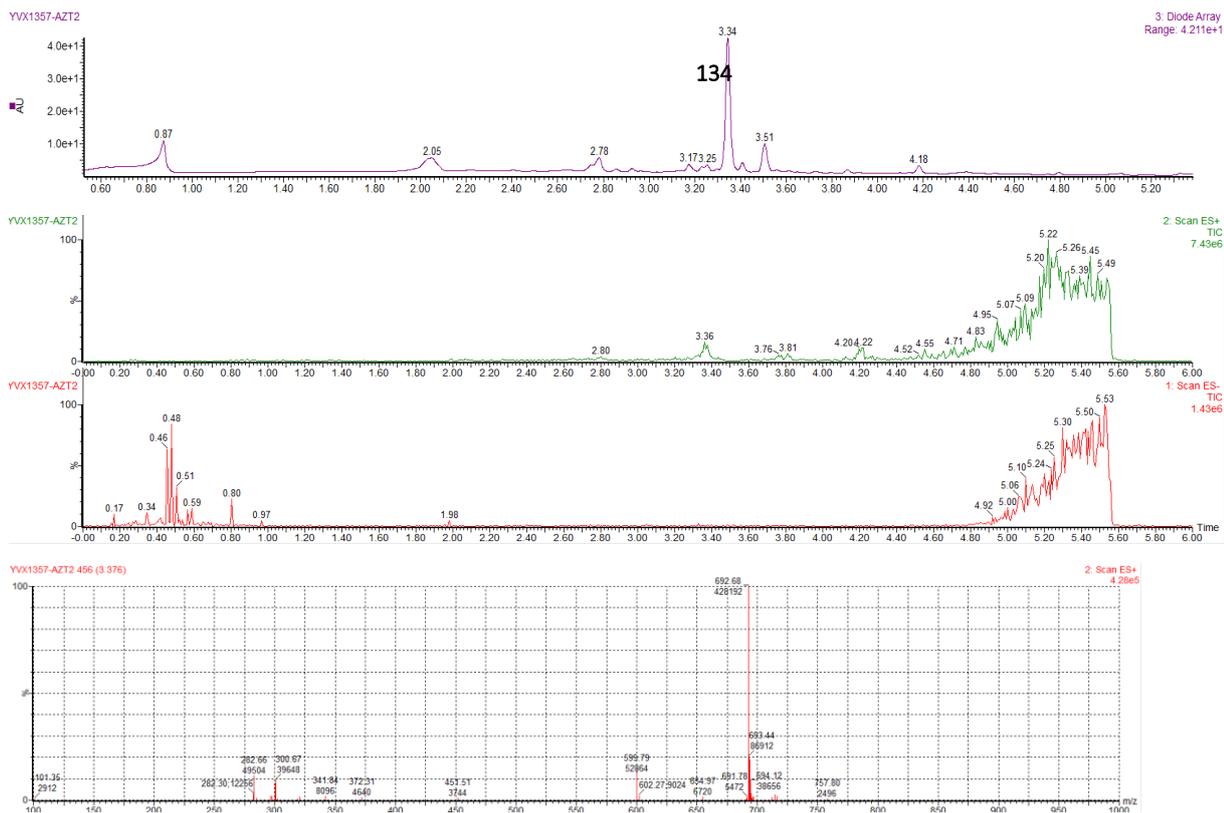
In a sealed reactor of 5 mL, polymer **PS-181** (16 mg,  $\approx 5.4$   $\mu\text{mol}$ ) was suspended in dry THF (0.8 mL) and a solution of aqueous hydrofluoric acid (0.1M, 110  $\mu\text{L}$ , 11  $\mu\text{mol}$ , 2.0 eq) was added. The mixture was heated at 70°C for 2 h. The resin beads were filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed with dichloromethane. The combined organic fractions

were evaporated under reduced pressure to give **134** (2.0 mg, 2.9  $\mu\text{mol}$ , 54%) as a white amorphous solid.  $^1\text{H NMR}$  analysis was in accordance to the data previously reported<sup>119</sup> and no traces of **178** was detected in the product.

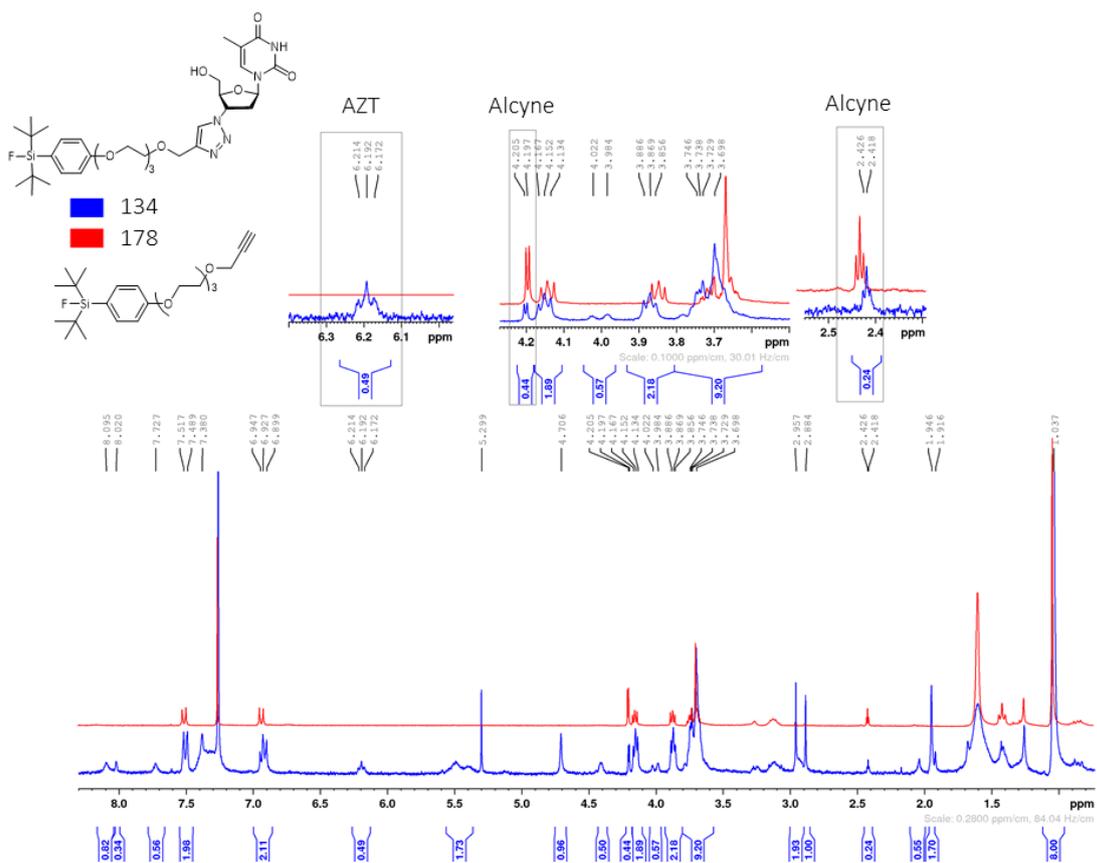
The sample purity was analysed by **analytical UPLC/mass**:  $t_{11a} = 3.34$  min,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  found = 692.68. (Column ACQUITY UPLC $^{\text{®}}$  BEH C18 (1.7 $\mu\text{m}$ , 2.1 x 50mm) heated at 60°C with A =  $\text{H}_2\text{O}$  +  $\text{HCOOC}$  0.1% and B = MeCN +  $\text{HCOOC}$  0.1% as eluents (0.5 mL/min, program: 10% of B (0 min)  $\rightarrow$  10% of B (0.1 min)  $\rightarrow$  100% of B (4.5 min)  $\rightarrow$  100% of B (5 min)  $\rightarrow$  10% of B (5.2 min)  $\rightarrow$  10% of B (6 min)).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 8.10 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.51 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.37 (s, 1H), 6.92 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 6.19 (t,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 5.39 (d,  $J = 6.1$ , 1H), 4.70 (s, 2H), 4.41 (d,  $J = 5.3$  Hz, 1H), 4.15 (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H), 4.01 (d,  $J = 13.8$  Hz, 1H), 3.87 (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H), 3.76-3.66 (m, 9H), 3.49 (s, 1H), 2.96-2.88 (m, 2H), 1.95 (d,  $J = 0.9$  Hz, 3H), 1.03 (d,  $J = 0.9$  Hz, 18H).

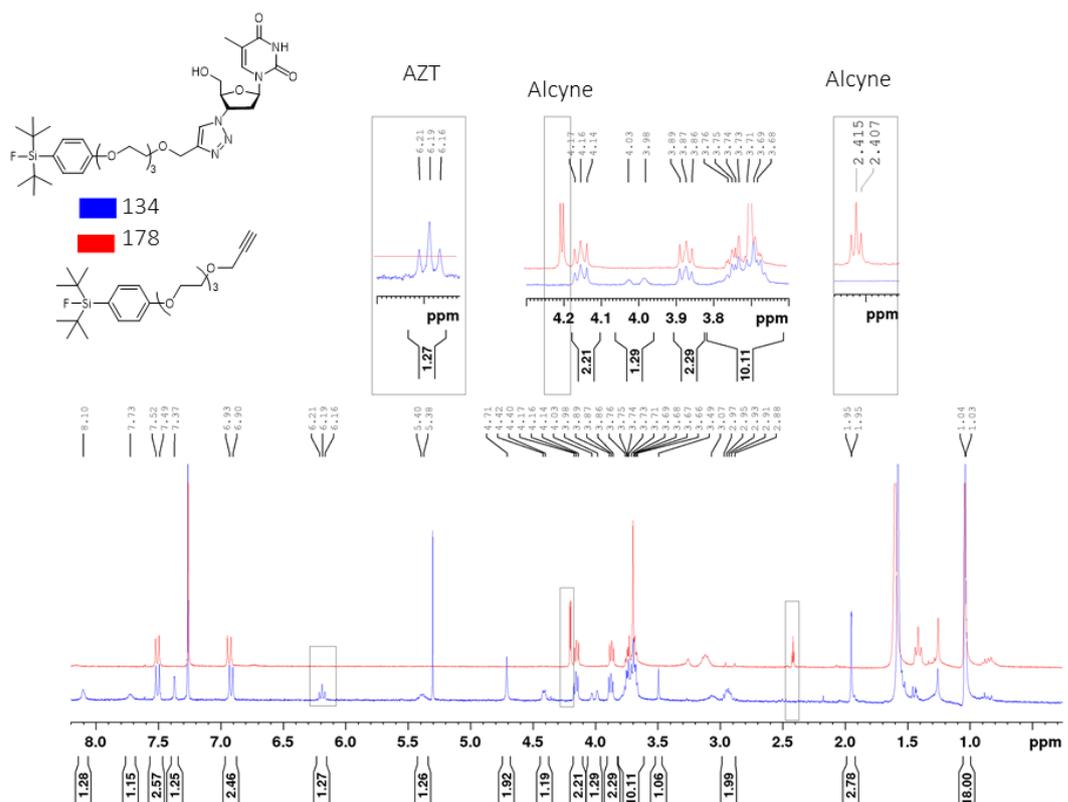
# Partie expérimentale



Analytic UPLC/mass chromatograms of 134

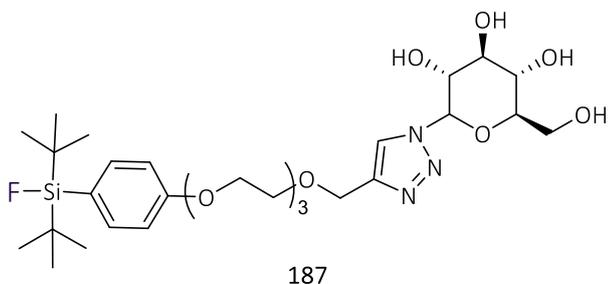


Polystyrene containing 80% of "clicked" AZT



Polystyren containing 100% of "clicked" AZT

**$\beta$ -D-1-Deoxy-1-[4-((2-(2-(2-(4-(di-tert-butylfluorosilyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-glucopyranose 187 (YVX1.310)**



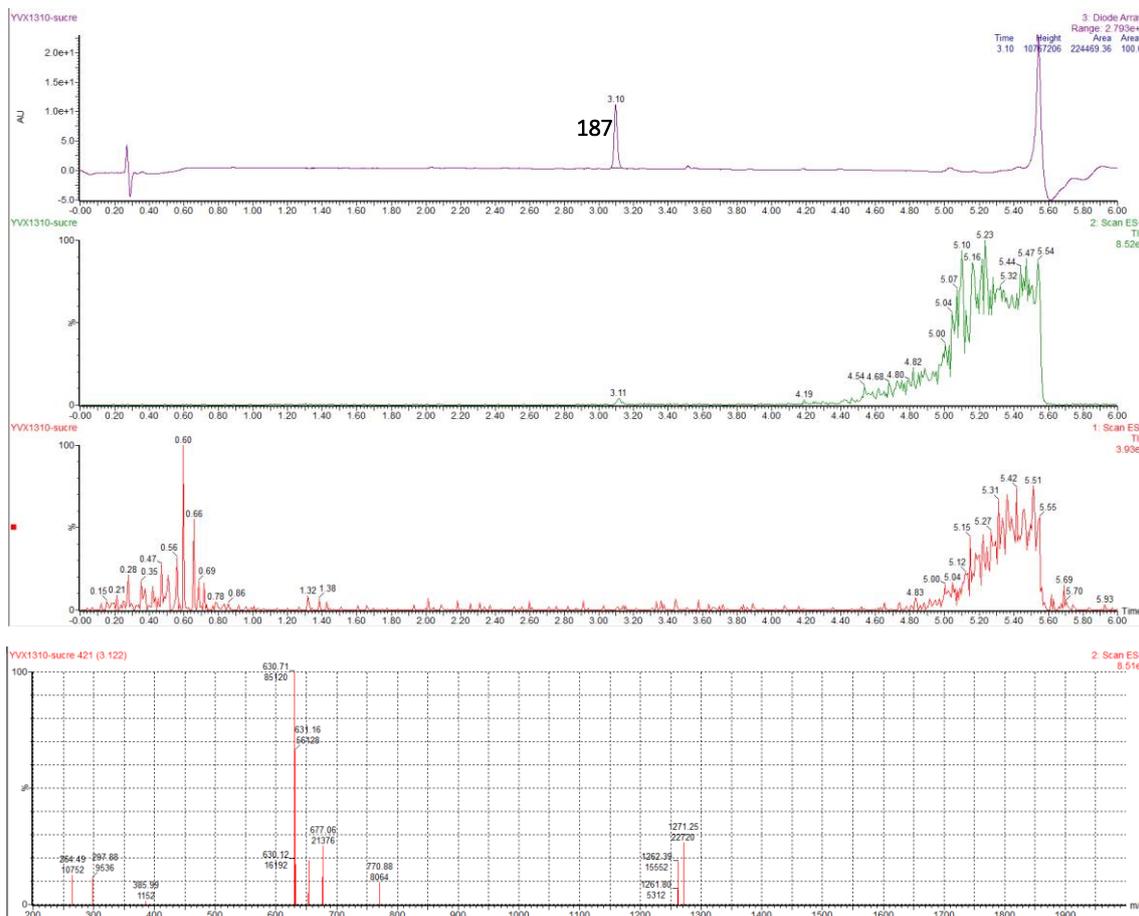
In a sealed reactor of 5 mL, polymer **PS-186** (31.6 mg,  $\approx 10.7 \mu\text{mol}$ ) was suspended in dry THF (0.5 mL) and a solution of aqueous hydrofluoric acid (0.1M, 200  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{mol}$ , 1.9 eq) was added. The mixture was heated at 70°C for 2 h. The resin beads were filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed with

dichloromethane. The combined organic fractions were evaporated under reduced pressure to give **187** (7.6 mg, 12  $\mu\text{mol}$ , 100%) as a white amorphous solid.

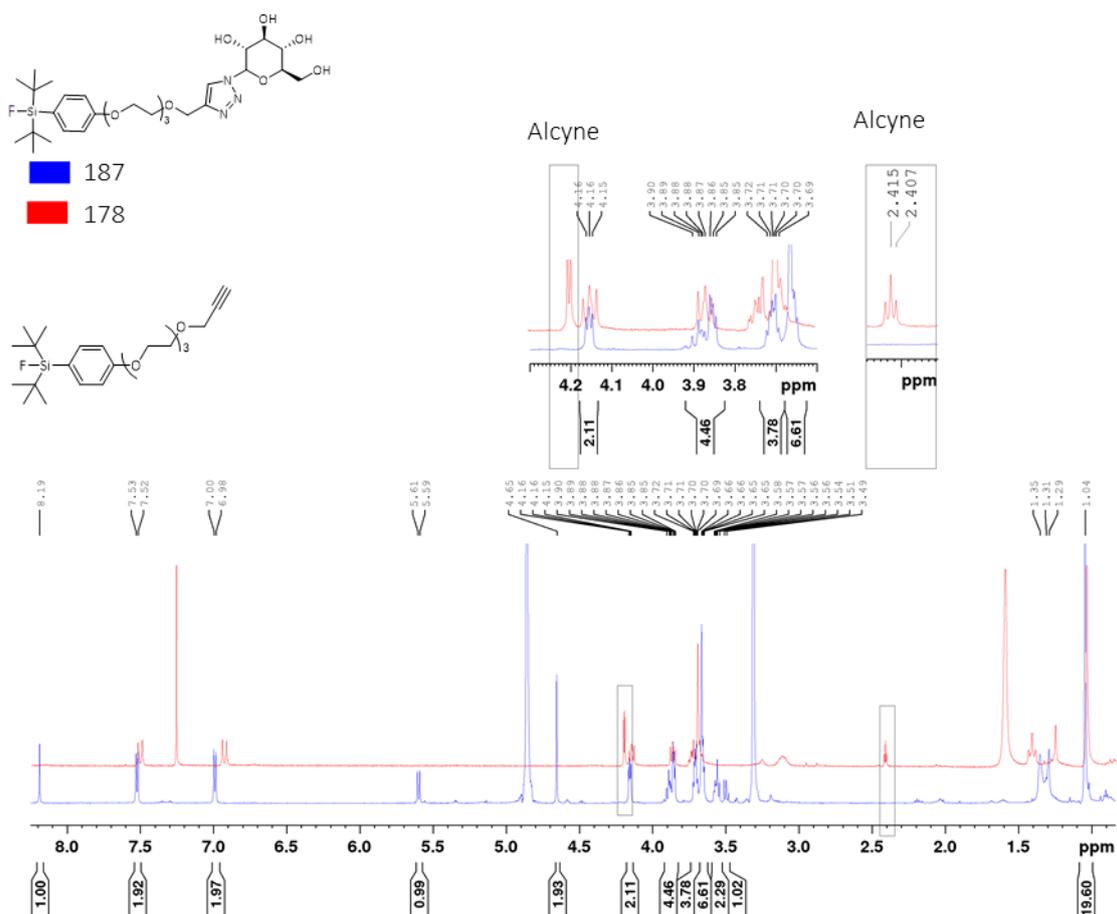
$^1\text{H}$  NMR analysis was in accordance to the data previously reported<sup>119</sup> and no traces of **178** was detected in the product. The sample purity was analysed by analytical UPLC/mass:  $t_{11a} = 3.10$  min,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  found = 630.71. (Column ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7 $\mu\text{m}$ , 2.1 x 50mm) heated at 60°C with A = H<sub>2</sub>O + HCOOC 0.1% and B = MeCN + HCOOC 0.1% as eluents (0.5 mL/min, program: 10% of B (0 min)  $\rightarrow$  10% of B (0.1 min)  $\rightarrow$  100% of B (4.5 min)  $\rightarrow$  100% of B (5 min)  $\rightarrow$  10% of B (5.2 min)  $\rightarrow$  10% of B (6 min));  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, MeOD) :  $\delta$  (ppm) 8.18 (s, 1H), 7.52 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 6.99 (d,  $J = 8.5$

## Partie expérimentale

Hz, 2H), 5.60 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 4.65 (s, 2H), 4.16 (t,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 3.92-3.85 (m, 4H), 3.73-3.64 (m, 8H), 3.56-3.48 (m, 3H), 1.04 (d,  $J = 1.1$  Hz, 18H).

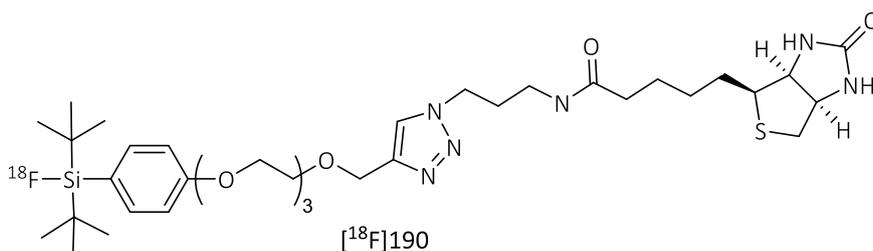


Analytic UPLC/mass chromatograms of **187**



Polystyrene containing 100% of "clicked" glucose derivatives

**N-[3-(4-((2-(2-(2-(4-(di-tert-butylfluorosilyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)propanyl]-biotinamide 190 (YBX1.311)**



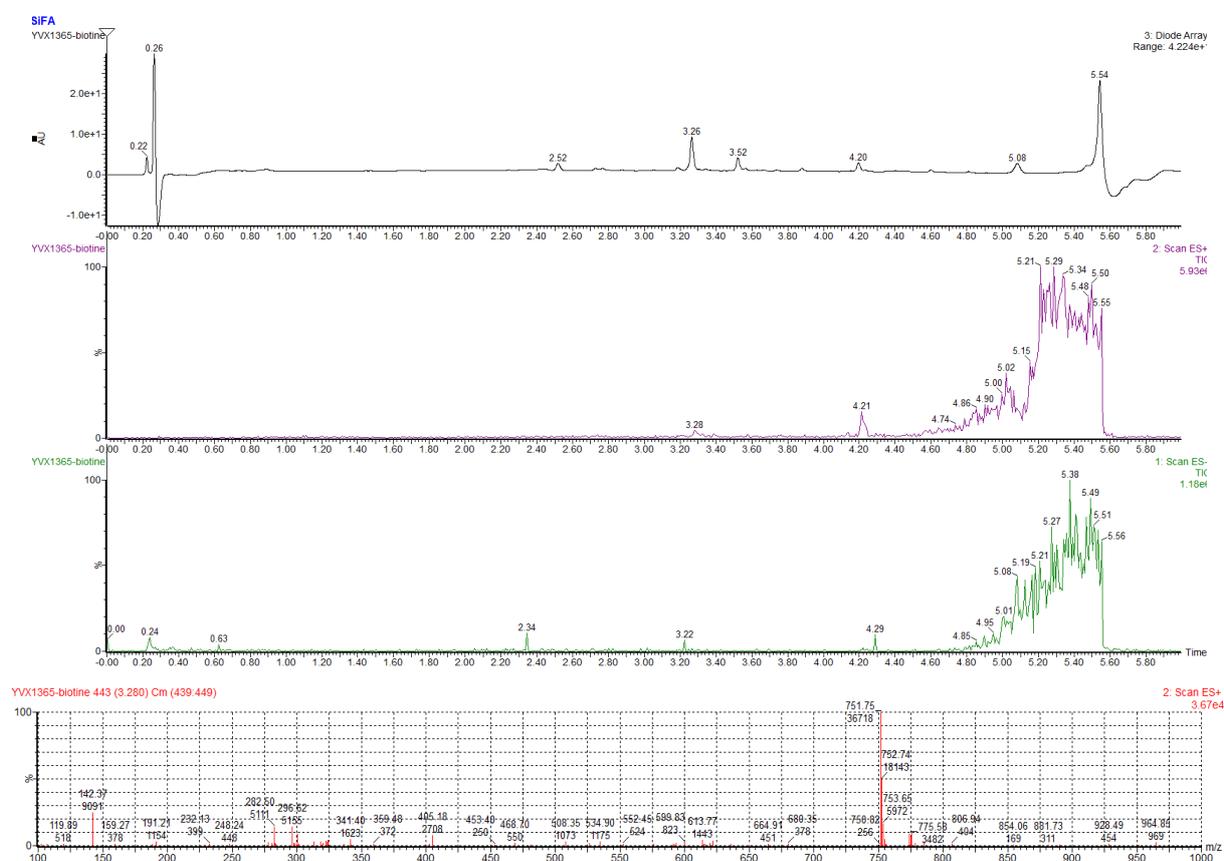
In a sealed reactor of 5 mL, polymer **PS-189** (19.0 mg,  $\approx 6.1 \mu\text{mol}$ ) was suspended in dry THF (0.5 mL) and a solution of aqueous hydrofluoric acid (0.1M, 200  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{mol}$ , 3.3 eq) was added. The mixture was heated at 70°C for 2 h. The resin beads were filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed with dichloromethane. The combined organic fractions were evaporated under reduced pressure to give **190** (5.0 mg, 6.6  $\mu\text{mol}$ , 100%) as a white amorphous solid.

<sup>1</sup>H NMR analysis was in accordance to the data previously reported<sup>119</sup> and no traces of **178** was detected in the product. The sample purity was analysed by **analytical UPLC/mass**:  $t_{11a} = 3.26 \text{ min}$ ,

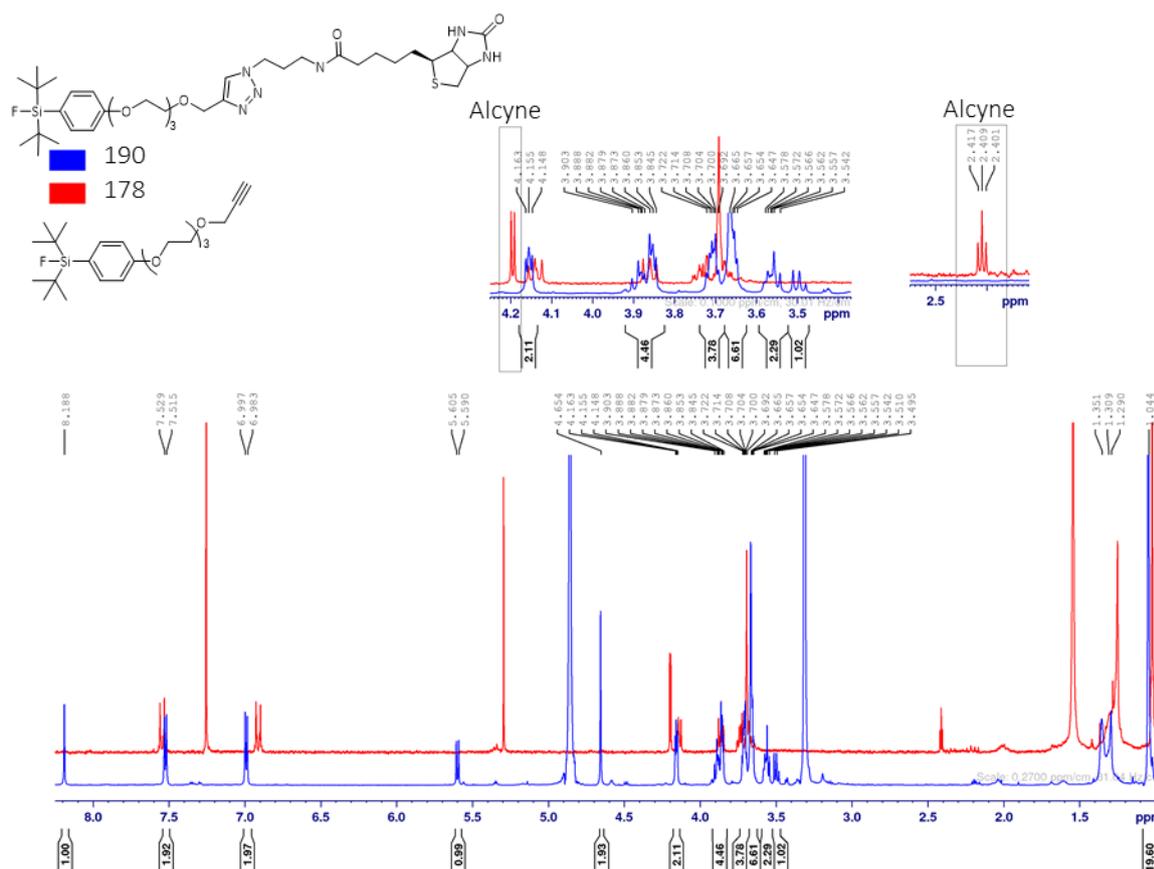
## Partie expérimentale

[M+H]<sup>+</sup> found = 751.75. (Column ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7µm, 2.1 x 50mm) heated at 60°C with A = H<sub>2</sub>O + HCOOC 0.1% and B = MeCN + HCOOC 0.1% as eluents (0.5 mL/min, program: 10% of B (0 min) → 10% of B (0.1 min) → 100% of B (4.5 min) → 100% of B (5 min) → 10% of B (5.2 min) → 10% of B (6 min)).

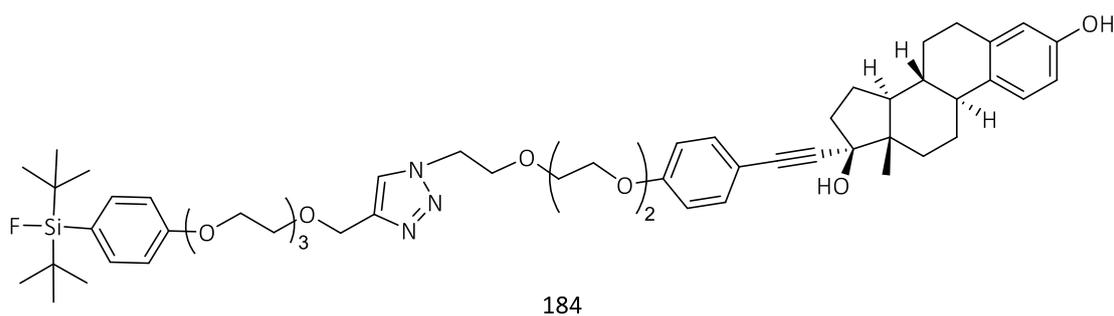
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOD) : 8.04 (s, 1H), 7.52 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 4.62 (s, 2H), 4.48 (dd, *J* = 4.6 Hz, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.42 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 4.30 (dd, *J* = 4.3 Hz, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.16 (t, *J* = 3.1 Hz, 2H), 3.85 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.71-3.66 (m, 8H), 3.20 (t, *J* = 3.9 Hz, 3H), 2.90 (dd, *J* = 12.8 Hz, *J* = 4.9 Hz, 1H), 2.69 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 2.21 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.09 (qt, *J* = 6.6 Hz, 3H), 1.45 (q, *J* = 1.5 Hz, 2H), 1.04 (d, *J* = 1.0 Hz, 18H).



Analytic UPLC/mass chromatograms of **190**



**17-(4-((2-(2-(2-(4-(di-tert-butylfluorosilyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)methyl))-1H-1,2,3-triazol-1-yl)ethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)ethynyl)-estradiol 184 (YVX1.307)**

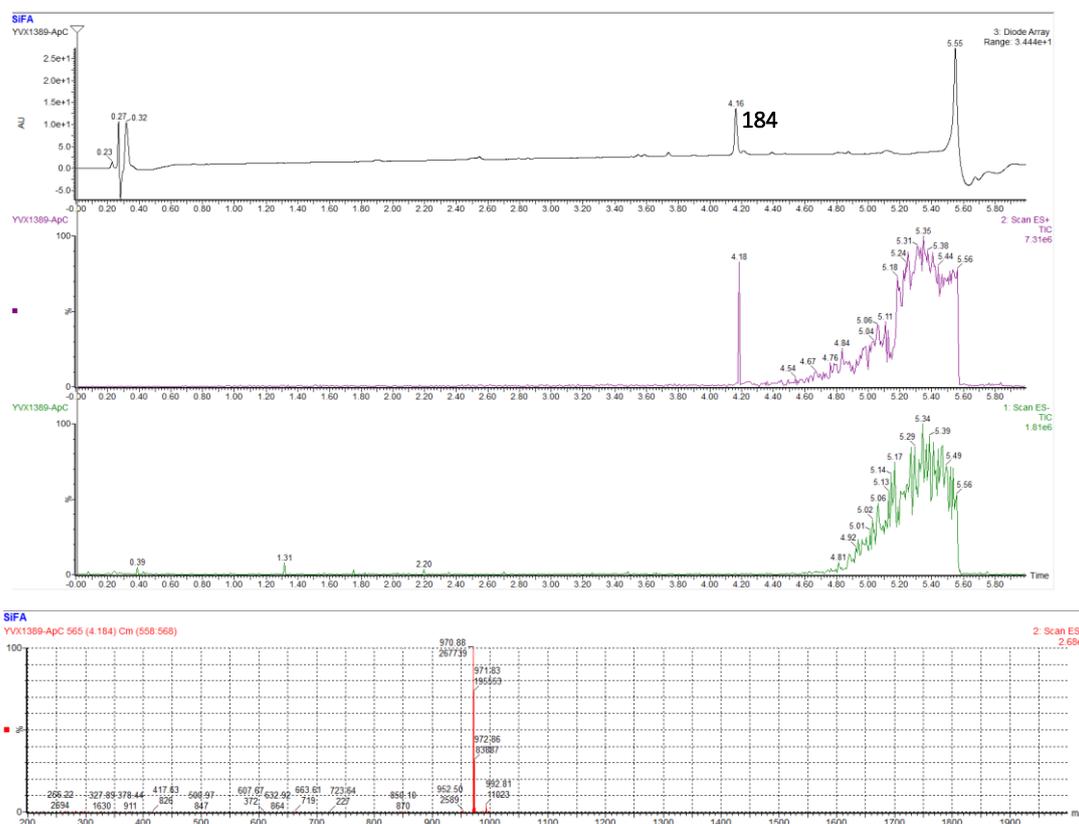


In a sealed reactor of 5 mL, polymer **PS-183** (38.3 mg,  $\approx 11.5 \mu\text{mol}$ ) was suspended in dry THF (0.5 mL) and a solution of aqueous hydrofluoric acid (0.1M, 200  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{mol}$ , 1.7 eq) was added. The mixture was heated at 70°C for 2 h. The resin beads were filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed with dichloromethane. The combined organic fractions were evaporated under reduced pressure to give **184** (7.0 mg, 7.2  $\mu\text{mol}$ , 63%) as a colorless oil.

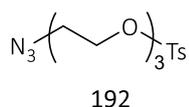
## Partie expérimentale

No traces of **178** was detected in the product by  $^1\text{H}$  NMR analysis. The sample purity was analysed by analytical UPLC/mass:  $t_{11a} = 4.16$  min,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  found = 970.88. (Column ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7 $\mu\text{m}$ , 2.1 x 50mm) heated at 60°C with A =  $\text{H}_2\text{O}$  +  $\text{HCOOC}$  0.1% and B = MeCN +  $\text{HCOOC}$  0.1% as eluents (0.5 mL/min, program: 10% of B (0 min)  $\rightarrow$  10% of B (0.1 min)  $\rightarrow$  100% of B (4.5 min)  $\rightarrow$  100% of B (5 min)  $\rightarrow$  10% of B (5.2 min)  $\rightarrow$  10% of B (6 min)).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.49 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.16 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 6.84 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 6.62 (dd,  $J = 8.3$ ,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.55 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 4.67 (slarge, 1H), 4.42 (dd,  $J = 10.3$  Hz,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 4.29 (d,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 4.13-4.10 (m, 4H), 3.87-3.61 (m, 12H), 2.75 (dd,  $J = 17.9$  Hz,  $J = 4.20$  Hz, 1H), 2.41-2.34 (m, 2H), 2.29-2.18 (m, 1H), 2.10-2.06 (m, 2H), 1.98-1.74 (m, 13H), 1.50-1.41 (m, 3H), 1.36-1.32 (m, 2H), 1.03 (s, 18H), 0.92 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (150.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 159.9, 158.6, 153.3, 138.2, 135.4 (d,  $J = 4.0$  Hz, 2C), 133.1(2C), 132.6, 127.8, 126.5, 124.6 (d,  $J = 12.1$  Hz, 2C), 115.4, 115.2, 114.5 (2C), 113.9(2C), 112.7, 91.5, 85.6, 80.3, 75.6, 70.7, 70.6, 70.5, 70.5, 69.8, 69.6, 69.2, 67.6, 67.4, 67.0, 49.7, 47.6, 43.6, 39.4, 39.0, 37.7, 33.0, 29.6, 27.9, 27.3 (6C), 27.2, 26.5, 22.9, 20.3 (d,  $J = 12.5$  Hz, 2C), 12.9;  $^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 188.66;  $^{29}\text{Si}$  NMR (59 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 14.39 (d,  $J = 296.6$  Hz); HRMS (ESI/TOF) :  $\text{C}_{55}\text{H}_{76}\text{O}_9\text{N}_3\text{F}_1\text{Si}_1$   $[\text{M}+\text{Na}]$  calculated 992.52271 found 992.52420.





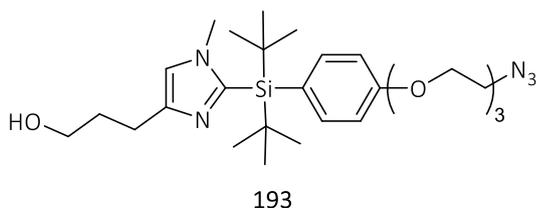
**2-[2-(2-azidoethoxy)ethoxy]ethyl 4-methylbenzenesulfonate 192 (YVX1.345)**

Under argon, sodium azide (134 mL, 2.05 mmol, 0.6 eq) was added to solution of **191** (1.59 g, 3.47 mmol, 1 eq) in DMF (100 mL) and stirred at rt (30°C) for 20h. The reaction was quenched with brine (100 mL). The aqueous phase was extracted with

DCM (3 x 30 mL) and dried over magnesium sulfate.

The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (Cyclohexane/EA : 70/30) to give **192** (1.06 g, 93%) as a colorless oil.

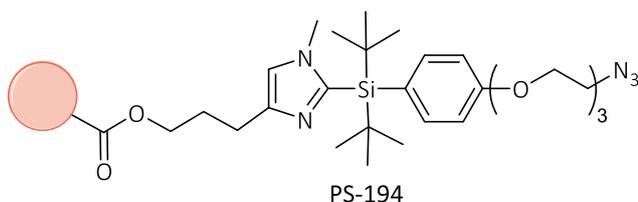
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.81-7.78 (d, 2H,  $J = 8.33$  Hz), 7.35-7.32 (d, 2H,  $J = 8.54$  Hz), 4.17-4.14 (t, 2H,  $J = 4.86$  Hz), 3.71-3.57 (m, 8H), 3.37-3.34 (t, 2H,  $J = 5.22$  Hz), 2.44 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 144.8, 133.0, 129.8 (2C), 128.0 (2C), 70.8, 70.6, 70.1, 69.8, 69.2, 68.8, 50.7.

**3-[2-[[4-[2-[2-(2-Azidoethoxy)ethoxy]ethoxy]phenyl]-ditert-butyl-silyl]-1-methyl-imidazol-4-yl]propan-1-ol 193 (YVX1.455)**

Potassium *tert*-butoxide (260 mg, 2.31 mmol, 1.7 eq) and a solution of **192** (640 mg, 1.95 mmol, 1.5 eq) were added to a solution of **174** (500 mg, 1.34 mmol, 1 eq) in dry THF (12 mL) at room temperature. The reaction

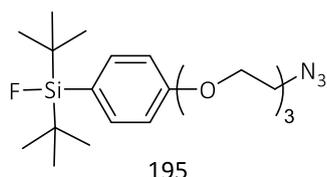
mixture was stirred at room temperature for 3 days. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography on silica gel (Cyclohexane/EtOAc : 20/80) to give **193** as a colorless oil (364 mg, 48 %).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.52 (d,  $J = 8.68$  Hz, 2H), 6.92 (d,  $J = 8.68$  Hz, 2H), 6.70 (s, 1H), 4.15 (t,  $J = 4.82$  Hz, 2H), 3.88 (t,  $J = 4.81$  Hz, 2H), 3.78-3.67 (m, 8H), 3.38 (t,  $J = 5.06$  Hz, 2H), 3.31 (s, 3H), 2.79 (t,  $J = 6.14$  Hz, 1H), 1.80 (q,  $J = 5.80$  Hz, 2H), 1.13 (s, 18H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 159.7, 147.6, 143.0, 137.5 (2C), 125.6, 120.0, 114.0 (2C), 72.6, 71.0, 70.5, 69.8, 67.2, 62.6, 61.6, 36.5, 31.6, 29.4 (6C), 25.8, 20.6 (2C).

**Polystyrene resin-Imidazole-SiFA-azide PS-194 (YVX1.458)**

In sealed reactor of 10 mL, **193** (243 mg, 458  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) was dissolved in toluene (15 mL) in the presence of benzoyl chloride polymer bound (1.043 g, 2.1 mmol/g, 2.2 mmol, 5eq).

Triethylamine (460  $\mu\text{l}$ , 3.3 mmol, 7 eq) and DMAP (163 mg, 1.3 mmol, 2.8 eq) were added to the reaction mixture. The reaction was stirred at 110°C for 3 days and the disappearance in the solution of **193** was monitored by TLC. After allowing the reaction mixture to cool at rt, the polymer was filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed consecutively with methanol, water, dichloromethane and methanol. After drying under reduced pressure, polymer **PS-194** was recovered (780 mg) and used without further treatment (theoretical loading:  $\approx 0.44$  mmol/g).

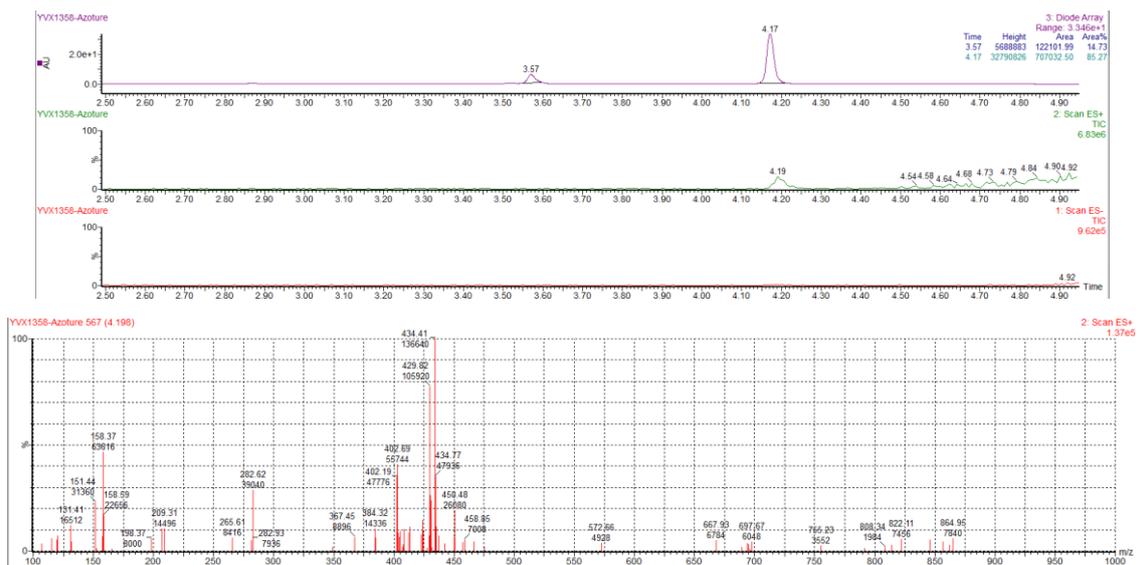
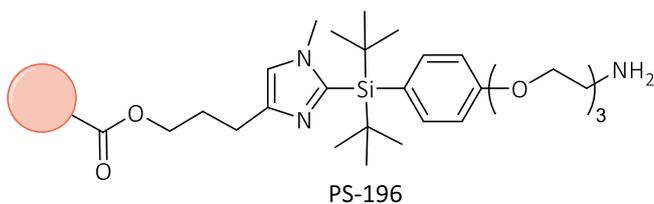
**(4-(2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)di-tert-butylfluorosilane 195 (YVX1.358)**

In a sealed reactor of 5 mL, polymer **PS-194** (78.6 mg,  $\approx 29.5$   $\mu\text{mol}$ ) was suspended in dry THF (0.5 mL) and a solution of aqueous hydrofluoric acid (0.1M, 200  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{mol}$ , 1.7 eq) was added. The mixture was heated at 70°C for 2 h. The resin beads were filtered on a sintered glass filter

(porosity 4) and washed with dichloromethane. The combined organic fractions were evaporated under reduced pressure to give **195** (10 mg, 24.3  $\mu\text{mol}$ , 82%) as a white powder.

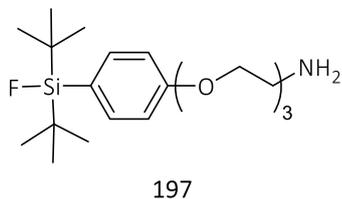
No traces of **178** was detected in the product by  $^1\text{H}$  NMR analysis. The sample purity was analysed by **analytical UPLC/mass**:  $t_{11a} = 4.17$  min,  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  found = 429.82,  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  found = 434.41. (Column ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7 $\mu\text{m}$ , 2.1 x 50mm) heated at 60°C with A =  $\text{H}_2\text{O}$  +  $\text{HCOOC}$  0.1% and B =  $\text{MeCN}$  +  $\text{HCOOC}$  0.1% as eluents (0.5 mL/min, program: 10% of B (0 min)  $\rightarrow$  10% of B (0.1 min)  $\rightarrow$  100% of B (4.5 min)  $\rightarrow$  100% of B (5 min)  $\rightarrow$  10% of B (5.2 min)  $\rightarrow$  10% of B (6 min)).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 7.51 (d,  $J = 8.46$  Hz, 2H), 6.93 (d,  $J = 8.56$  Hz, 2H), 4.15 (t,  $J = 4.86$  Hz, 2H), 3.87 (t,  $J = 4.86$  Hz, 2H), 3.78-3.60 (m, 7H), 3.37 (t,  $J = 5.07$  Hz, 1H), 1.04 (d,  $J = 1.11$  Hz, 18H) ;  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 160.0, 135.5 (d,  $J = 4.18$  Hz, 2C), 124.7 (d,  $J = 13.94$  Hz, 1C), 114.0 (2C), 71.5, 71.0, 70.9, 70.8, 70.7, 70.2, 69.9, 67.1, 50.8, 42.8, 27.4 (6C) (d,  $J = 0.76$  Hz, 6C), 20.4 (d,  $J = 12.52$  Hz, 2C);  $^{29}\text{Si}$  NMR (59 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 14.4 (d,  $J = 297$  Hz) ;  $^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) -188.70.

Analytic UPLC/mass chromatograms of **195****Polystyrene resin-Imidazole-SiFA-azide PS-194 (YVX1.458)**

In a sealed reactor of 5 mL, polymer **PS-194** (548 mg,  $\approx 219 \mu\text{mol}$ ) was suspended in dry THF (10 mL) and triphenylphosphine (393 mg, 1.5 mmol, 7 eq) was added at 0°C. The mixture was

stirred at rt for 1h. Then, H<sub>2</sub>O (1 mL) was added to the mixture and the reaction was stirred at rt for 24h. The resin beads were filtered on a sintered glass filter (porosity 4) and washed with THF and dichloromethane. After drying under reduced pressure, polymer **PS-196** was recovered (504 mg) and used without further treatment (theoretical loading:  $\approx 0.40 \text{ mmol/g}$ ).

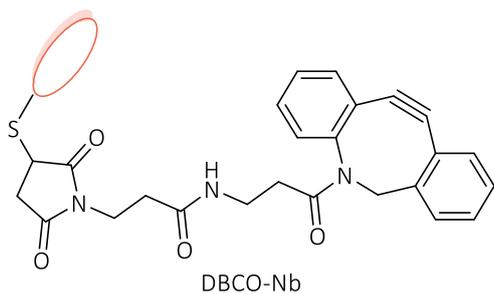
**2-(2-(2-(4-(di-tert-butylfluorosilyl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethan-1-amine 197 (YVX1.471)**

In a sealed reactor of 5 mL, polymer **PS-194** (20.4 mg,  $\approx 8.16 \mu\text{mol}$ ) was suspended in dry THF (0.5 mL) and a solution of aqueous hydrofluoric acid (0.1M, 200  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{mol}$ , 1.7 eq) was added. The mixture was heated at 70°C for 2 h. The resin beads were filtered on a sintered glass filter

(porosity 4) and washed with dichloromethane. The combined organic fractions were evaporated under reduced pressure to give **195** (3.5 mg, 9  $\mu\text{mol}$ , quantitaf) as a white powder.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 7.53 (d,  $J = 9.06 \text{ Hz}$ , 2H), 6.96 (d,  $J = 8.56 \text{ Hz}$ , 2H), 4.17 (t,  $J = 4.86 \text{ Hz}$ , 2H), 3.90 (t,  $J = 4.85 \text{ Hz}$ , 2H), 3.78-3.65 (m, 5H), 3.55 (t,  $J = 5.22 \text{ Hz}$ , 2H), 2.89 (t,  $J = 5.23 \text{ Hz}$ , 1H), 1.07 (d,  $J = 1.00 \text{ Hz}$ , 18H); HRMS (ESI/TOF<sup>+</sup>) : C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>NSi [M+H]<sup>+</sup> calculated 386.2521, found 386.2513.

**Nb-FMDV-DBCO (YVX1.405)**



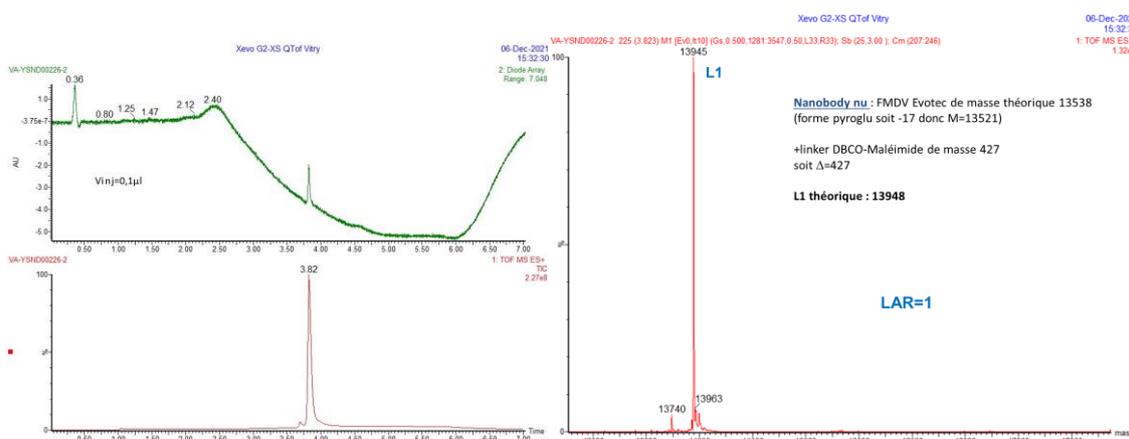
In an eppendorf DTT (53.3  $\mu\text{L}$ ,  $0.1 \text{ mol.L}^{-1}$ , 7.7 mg diluted into 500  $\mu\text{L}$ ) was added to a solution of Nb<sub>2</sub> (500  $\mu\text{L}$  - 20  $\mu\text{L}$  for SEC analysis at  $4.7 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) in PBS. The reaction was stirred in a thermomixer at 25°C for 2h30 at 300 rpm. The mixture was purified on a NAP<sup>TM</sup>-10 preconditioned with a solution of EDTA (5mM) in PBS (10 mL) with The mixture (533.3  $\mu\text{L}$ )

was deposited the colonne and eluted with a solution of EDTA (5 mM) in PBS to elute the reduced Nb in (851  $\mu\text{L}$ ). The concentration was evaluated at (2.00 mg/mL in 851  $\mu\text{L}$ ) with SEC.

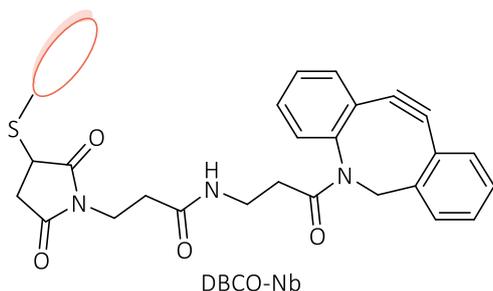
*Evaluation of the concentration by SEC*

Sample	Monomer	Dimer
1 <sup>st</sup>	27733766	65755553 = 4.7 mg/mL
2 <sup>nd</sup>	28221498	
Average	27977632 = 2.00 mg/mL	

DBCO-maleimide (9.4  $\mu\text{L}$ ,  $0.02 \text{ mol.L}^{-1}$ ) was added into the reduced Nb-SH (851  $\mu\text{L}$ , 2.00 mg/mL). The mixture was put into the fridge for 3 days in static after this time the HRMS returned with a LAR = 0.96. The mixture was stirred at 25°C for 1h in the Thermomixer at 300 rpm. The HRMS returned with a LAR = 1. The mixture was purified on a NAP<sup>TM</sup>-10 preconditioned with PBS (10 mL). The eluted Nb was concentrated by centrifugation at 7500 G for 20 min into an AMICON to obtain Nb-FMDV-DBCO (272 $\mu\text{L}$  at 6 mg/mL evaluate by nanodrops, 93%).



*Evaluation of the rate of DBCO clicked on Nb-FMDV-SH by HRMS*

**DBCO-Nb00411 (YVX1.560)**

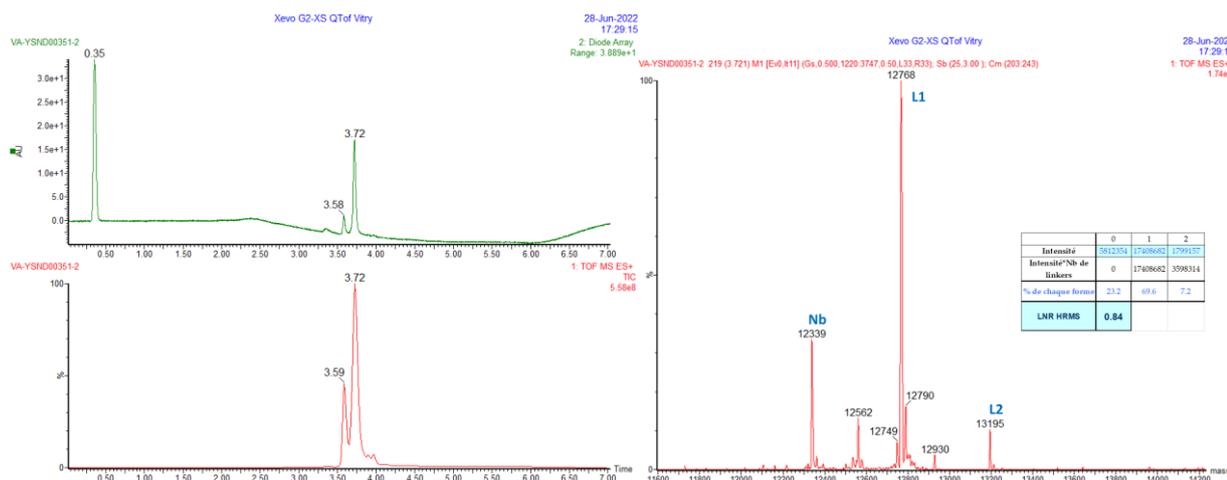
In an eppendorf DTT (53.3  $\mu\text{L}$ ,  $0.1 \text{ mol.L}^{-1}$  7.7 mg diluted into 500  $\mu\text{L}$ ) was added to a solution of Nb<sub>2</sub> (250  $\mu\text{L}$  at 10.45 mg/mL diluted with 250  $\mu\text{L}$  of PBS - 20  $\mu\text{L}$  for SEC analysis at 5.23 mg .mL<sup>-1</sup>) in PBS. The reaction was stirred in a thermomixer at 25°C for 3h at 300 rpm. The mixture was purified on a NAP<sup>TM</sup>-10 preconditioned with a solution of

EDTA (5mM) in PBS (10 mL) with The mixture (533.3  $\mu\text{L}$ ) was deposited the colonne and eluted with a solution of EDTA (5 mM) in PBS to elute the reduced Nb in (851  $\mu\text{L}$ ). The concentration was evaluated at (2.00 mg/mL in 851  $\mu\text{L}$ ) with SEC.

DBCO-maleimide (9.4  $\mu\text{L}$ ,  $0.02 \text{ mol.L}^{-1}$ ) was added into the reduced Nb-SH (851  $\mu\text{L}$ , 2.00 mg/mL). The mixture was stirred at 25°C for 24h in the Thermomixer at 300 rpm, the HRMS returned with a LAR = 0.84. The mixture was stirred 18h at 300 rpm at 25°C. The mixture was purified on a HiTRAP by centrifugation preconditioned with PBS (10 mL). The eluted Nb was concentrated by centrifugation at 7500 G for 20 min into an AMICON to obtain Nb-FMDV-DBCO (1060  $\mu\text{L}$  at 2 mg/mL evaluate by nanodrops, 78%).

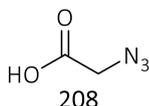
YVX1560			
Dimère		Aire	[] (mg/mL)
	HPLC 1	78819195	
	HPLC 2	78967504	
	HPLC 3	79101458	
	Moyenne	78962719	10,45
Monomère	HPLC 1	34122191	4,51576263
	HPLC 2	33984553	4,49754749
	Moyenne	34053372	4,50665506
Purif mono	HPLC 1	14494326	
	HPLC 2	12002415	
	Moyenne	13248370,5	1,75330173

*Evaluation of the concentration by SEC*



Evaluation of the rate of DBCO clicked on Nb00411-SH by HRMS

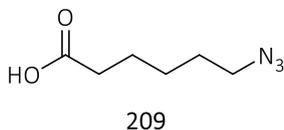
### 2-Azidoacetic acid **208** (YVX.1.052)



In round bottom flask, sodium azide (702 mg, 10.7 mmol, 1.5 eq) was added into a solution of bromoacetic acid (1 g, 7.12 mmol, 1 eq) in water (12 mL) at 0°C. The reaction mixture was stirred at rt for 5 days. Then, an aqueous solution of HCl (37%) (5 mL) was added in order to reach pH 1 or 2. The mixture was extracted with methyl *tert*-butyl ether (3x 50 mL), the combined layers were washed with water (1x 20 mL) and brine (2 x 20 mL) and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure to give **208** (635 mg, 88%) as a colorless liquid.

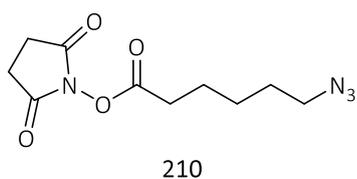
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 3.98 (s, 2H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 173.66, 50.02 ; HRMS (ESI $^-$ ) :  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{N}_3$  [M] calculated 101.0225, [M-H] $^-$  found 100.01508.

### 6-Azidohexanoic acid **209** (YVX1.331)



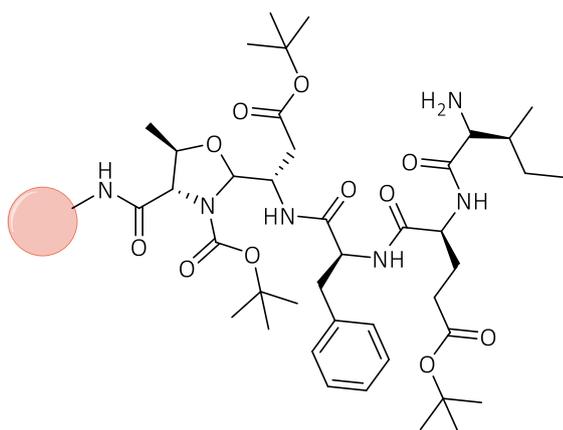
In round bottom flask, 6-bromohexanoic acid (1.8 g, 9.2 mmol, 1 eq) was added into a solution of sodium azide (1.7 g, 26 mmol, 2.8 eq) in DMF (15 mL). The reaction mixture was stirred at 85°C for 20 hours. Then, an aqueous solution of HCl (1M) (100 mL) was added to the reaction. The mixture was extracted with DCM (3x 30 mL), the combined layers were dried over magnesium sulfate and filtrated. The solvent was removed under reduced pressure to give **209** (1.32 mg, 91%) as a colorless liquid.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 3.28 (t,  $J$  = 6.80 Hz, 2H), 2.36 (t,  $J$  = 7.36 Hz, 2H), 1.64 (q,  $J$  = 7.33 Hz, 4H), 1.43 (m, 2H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 179.4, 51.30, 33.87, 28.6, 26.3, 24.3 ; HRMS (ESI/TOF $^-$ ) :  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_3$  [M+H] calculated 156.0778 156.0777.

**(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl) 6-azidohexanoate 210 (YVX1.333)**

In round bottom flask, *N*-hydroxysuccinimide (1.6 g, 14 mmol, 1. eq) and EDC. HCl (1.9 g, 9.7 mmol, 1.2 eq) were added into a solution of **209** (1.32 g, 8.4 mmol, 1 eq) in DCM (100 mL). The reaction mixture was stirred at rt for 24 hours. The solvent was removed under reduced pressure and a solution of Et<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O (3/1) (200mL) was used to dissolve the residue. The organic layer was washed with H<sub>2</sub>O (5 x 50 mL), dried over magnesium sulfate, filtrated and concentrated to give **210** (1.71 g, 80%) as a colorless liquid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 3.29 (t, *J* = 6.73 Hz, 2H), 2.84 (s, 4H), 2.63 (t, *J* = 7.34 Hz, 2H), 1.78 (q, *J* = 7.51 Hz, 2H), 1.64 (q, *J* = 6.89 Hz, 2H), 1.50 (m, 2H); HRMS (ESI/TOF<sup>-</sup>) : C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub> [M+Na] calculated 277.0907 found 277.0908.

**Novasyn® TG – Asp- Phe – Glu-Ile Nv-210 (YVX1.369)**

Nv-210 : Asp(O<sup>t</sup>Bu)-Phe-Glu(O<sup>t</sup>Bu)-Ile(NH<sub>2</sub>)

A solid phase peptidic synthesis was done using a CEM liberty blue with a microwave. Three amino acids solutions at 0.2 mol.L<sup>-1</sup> were done :

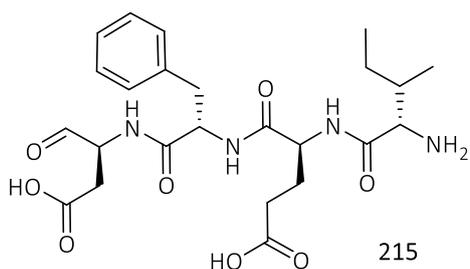
1. Fmoc-Phe-OH (3.1g, 7.9 mmol) in DMF (40 mL),
2. Fmoc-Glu(O<sup>t</sup>Bu)-OH (3.4 8 mmol) in DMF (40 mL)
3. Fmoc-Ile-OH (2.82 g, 7.9 mmo) in DMF (40 mL)

A solution containing the activator DIC (3.1 mL, 20 mmol) was done in DMF (20 mL), a solution containing the base Oxyma pure (5.87 g, 40 mmol) was done in

DMF (40 mL) and the last solution used for deprotection was a solution of piperidine at 20 % in DMF (120 mL). Each solution was put in the right entry. The Novasyn® TG-Asp-OH (539 mg, 0.2 mmol.g<sup>-1</sup>) was swelled with DCM (3 x 30 min) and put into the reactor. The automatic synthesis started with DMF (15 mL) to swell the resin. Then for 0.1mmol this cycle was repeated 6 times :

- Deprotection piperidine (10 mL)
- Resin washed with DMF (4 x 7mL)
- Coupling reaction with amino acid (5 mL), activator (2 mL), base (1 mL) and DMF (2 mL).
- Resin washed with DMF (2 x 7mL)

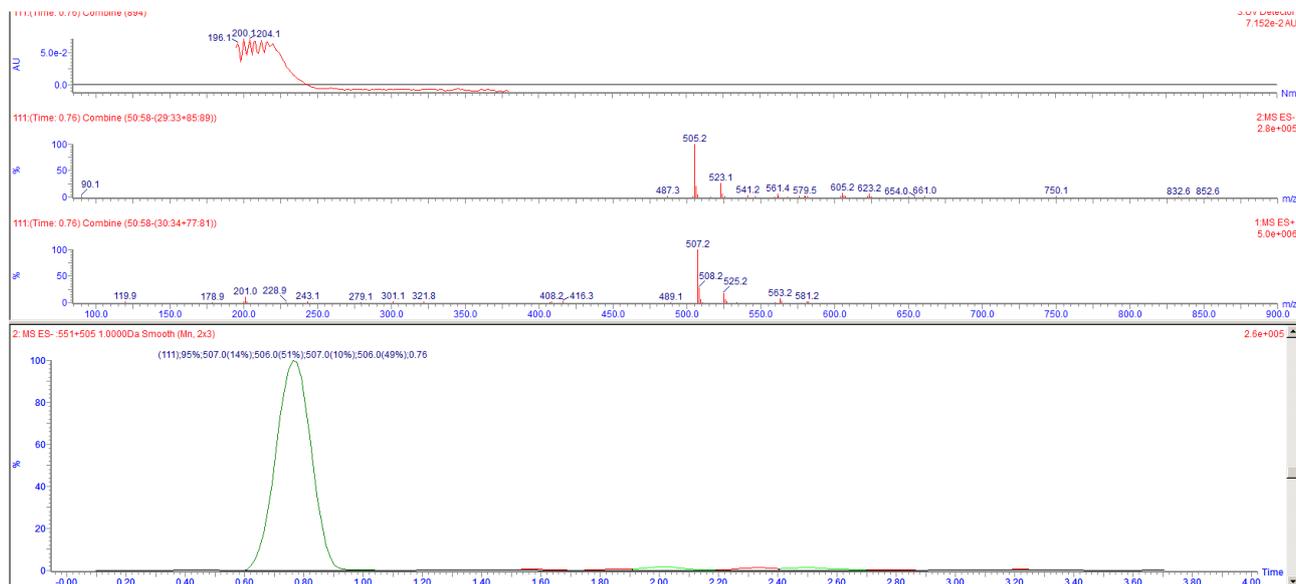


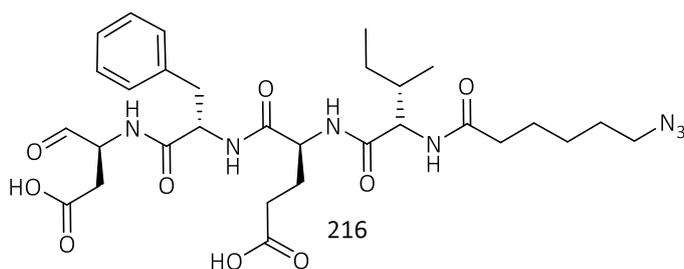
**(CHO)-Asp-Phe-Glu-Ile 215 (YVX1.372)**

In syringe with a sinter **Nv-210** (0.5 mmol) was swelled with DMF (3 x 10 mL x 10 min). TFA (2 x 7 mL x 30 min) was retrieved into the syringe. The resin was washed with DMF (3 x 6 mL) and MeCN (3 x 6 mL). The peptide was cleaved with MeCN/H<sub>2</sub>O (60/40) + 0.1% of TFA (2 x 7 mL x 30 min). The

solvent was removed under reduced pressure and the liquide was frozen and lyophilised. The residu was purified on a preparative HPLC using as a column a C18 Xselect peptide CSH 250x30 mm, 5µm with A = H<sub>2</sub>O + HCOOC 0.1% and B = MeCN + HCOOC 0.1% as eluents (0.5 mL/min, program: 95% of B (0 min) → 95% of B (3 min) → 5% of B (18 min) → 5% of B (22 min) → 95% of B (22.1 min). 20 injections of 1 mL was made to give **215** (42 mg, 20%) as a white powder.

The sample purity was analysed by **analytical UPLC/mass**:  $t_{11a} = 0.76$  min,  $[M+H]^+$  found = 507.2  $[M-H]^-$  found = 505.2 (Column ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7µm, 2.1 x 50mm) heated at 60°C with A = H<sub>2</sub>O + HCOOC 0.1% and B = MeCN + HCOOC 0.1% as eluents (0.5 mL/min, program: 10% of B (0 min) → 10% of B (0.1 min) → 100% of B (4.5 min) → 100% of B (5 min) → 10% of B (5.2 min) → 10% of B (6 min)).

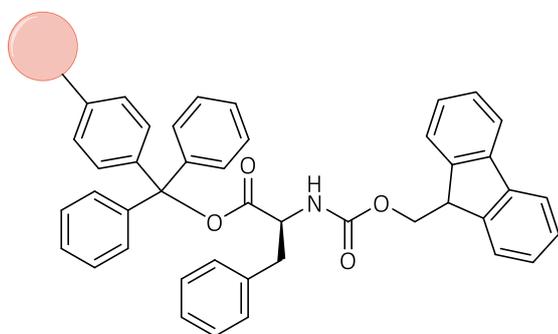


**(CHO)-Asp-Phe-Glu-Ile-6-azidohexanamide 216 (YVX1.334)**

In round bottom flask, **210** (90 mg, 0.354mmol, 1 eq) and diisopropylethylamine (60  $\mu$ L, 0.3 mmol, 0.9 eq) were added into a solution of **215** (169 mg, 0.34 mmol, 1 eq) in DMF (15 mL). The reaction mixture was

stirred at rt for 24 hours. The solvent was removed under reduced pressure to give **216** (193 mg, 88%) as a white powder.

**HRMS (ESI/TOF)** :  $C_{30}H_{43}O_9N_7$  [M-H] calculated 644.3049 found 644.3044.

**Trytl-Phe-FMOC Ttyl-218 (YVX1.398)**

Ttyl-218  
charge : 0,156 mmol/g

In a syringe with a sinter, a trityl resin (2.53 g, 1.0-1.6 mmol.g<sup>-1</sup>, 100-200 mesh) was swelled with DCM (3 x 10 mL) for 10 min each times.

A solution of FMOC -Phe-OH (1.32 g, 3.34 mmol) was dissolved with DIEA (1.5 mL) in DCM (7.5 mL). The syringe was shaken for 24 hours. The resin was rinsed with DCM (3 times), MeOH (3 times) and DCM (3 times)

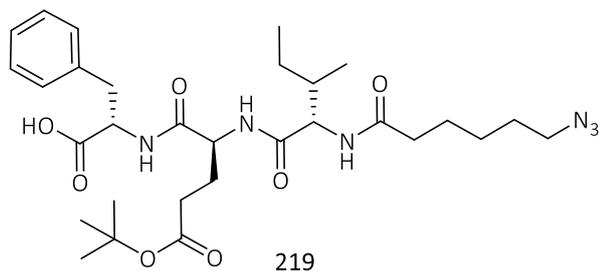
and dried under vacuum for 3 days to obtain **Ttyl-218** (2.737 g).

**Calculation of the loading of the resin (by using an UV spectrometer)**

Two small amount of the dried resin was weighed : A (15.1 mg) and B (22.6 mg) and was put into two different syringe with a sinter. A deprotection solution of piperidine at 20% in DMF was retrieved into the syringe. The syringe was shaken for 20 min.

After 20 min, the two deprotected solutions (100  $\mu$ L) were diluted with DMF (10 mL). The solution of piperidine at 20% was used as a reference and 4 measures were made using a UV spectrometer at 301 nm to obtain A1 = 0.1748, A2 = 0.1744, B1 = 0.2836, B2 = 0.2834. The loading was calculated usign this equation : **Loading (mmol/g) = 101 x Abs / 7.8 x m(weighed) to obtain A1 = 0.150 mmol/g and A2 = 0.149 mmol/g : average Loading (A) = 0.150 mmol/g and B1 = 0.162 mmol/g and B2 = 0.162 mmol/g average loading (B) = 0.162 mmol/g.** The final loading was calculated to be **0.156 mmol/g**.

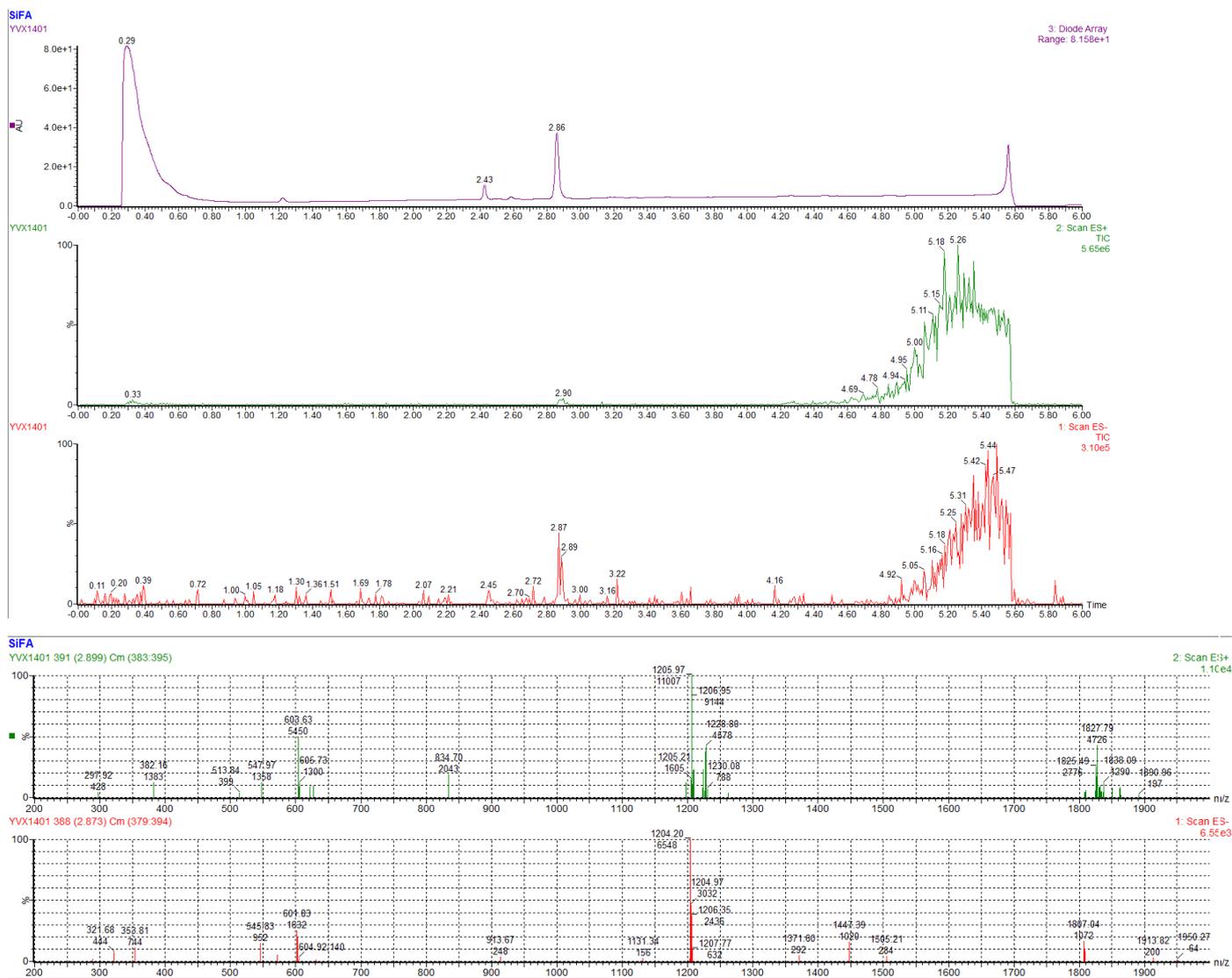
**2-[[2-[[2-(6-azidohexanoylamino)-3-methyl-pentanoyl]amino]-5-tert-butoxy-5-oxo-pentanoyl]amino]-3-phenyl-propanoic acid 219 (YVX1.401)**



In a syringe with a sinter, **Ttyl-218** (2.25 g, 0.156 mmol.g<sup>-1</sup>, 352 μmol) was swelled with DCM (3 x 10 mL) for 10 min each times. A solution of piperidine at 20% in DMF (15 mL) was used to deprotect **Ttyl-218**, shaken for 1h30 and washed with a solution of piperidine at 20% in DMF (2 x 15 mL x 15 min). The syringe was washed with DMF (3 x 15 mL x 10 min). EDC.HCl (406 mg, 2.12 mmol, 6 eq) and HOBT (323 mg, 2.39 mmol, 7 eq) were diluted in DMF (4 mL). The solution was retrieved with the syringe and another solution of Fmoc-Glu(O<sup>t</sup>Bu)-OH at 0.2 mol/L (12 mL, 11 eq) was also retrieved. The syringe was shaken for 3h at rt. The syringe was washed with DMF (3 x 15 mL x 10 min). The deprotection solution of piperidine at 20% in DMF (3 x 15 mL x 15 min) was retrieved. The syringe was washed with DMF (3 x 15 mL x 10 min). EDC.HCl (380 mg, 1.98 mmol, 6 eq) and HOBT (323 mg, 2.39 mmol, 7 eq) were diluted in DMF (2 mL). The solution was retrieved with the syringe and another solution of Fmoc-Ile-OH at 0.2 mol/L (12 mL, 11 eq) was also retrieved. The syringe was shaken for overnight at rt. The syringe was washed with DMF (3 x 15 mL x 10 min). The deprotection solution of piperidine at 20% in DMF (3 x 15 mL x 15 min) was retrieved. The syringe was washed with DMF (3 x 15 mL x 10 min). A solution of 210 (508 mg, 1.9 mmol, 5 eq) with DIEA (0,34 mL, 0.34 mmol, 1 eq) in DMF (15 mL) was retrieved and the syringe was shaken for 24 hours. The syringe was washed with DMF (3 x 15 mL x 10 min) and DCM (3 x 15 mL x 10 min). A micro-clivage was made to control the peptide by analytical UPLC/mass and the all peptide was cleaved using a solution of HFIP at 20 mol/L in DCM (3 x 15 mL x 10 min). The combined organic layers were concentrated under pressure and the residue was purified by HPLC preparative on a silica column : DCM (5min) -> DCM/MeOH 95/5 (5 min) -> DCM/MeOH 95/5 (5 min) -> DCM/MeOH 90/10 (10 min) -> DCM/MeOH 90/10 (10 min) to obtain 219 b(256 mg, quantitative).

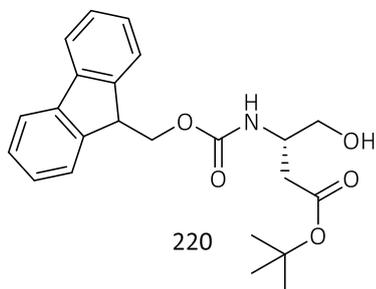
The sample purity was analysed by **analytical UPLC/mass**: t<sub>11a</sub> = 2.86 min, [M+H]<sup>+</sup> calculated = 603.3462, found = 603.63 [M-H]<sup>-</sup> found = 601.83 (Column ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7μm, 2.1 x 50mm) heated at 60°C with A = H<sub>2</sub>O + HCOOC 0.1% and B = MeCN + HCOOC 0.1% as eluents (0.5 mL/min, program: 10% of B (0 min) → 10% of B (0.1 min) → 100% of B (4.5 min) → 100% of B (5 min) → 10% of B (5.2 min) → 10% of B (6 min)).

## Partie expérimentale



Analytic UPLC/mass chromatograms of **219**

### Tert-butyl (3S)-3-(9H-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-4-hydroxy-butanoate **220** (YVX1.400)



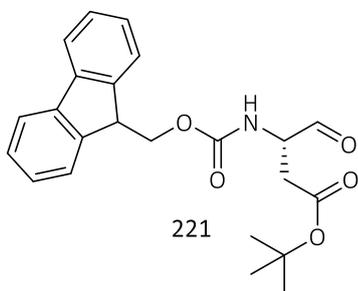
In round bottom flask, HOBt (170 mg, 1.26 mmol, 1.1 eq) and EDC·HCl (225 mg, 1.5 mmol, 1.3 eq) were added into a solution of Fmoc-Asp-(O<sup>t</sup>Bu)-OH (470 mg, 1.14 mmol, 1 eq) in DCM (15 mL). The reaction mixture was stirred at rt for 30 min. The solvent was removed under reduced pressure.

The residue was dissolved with THF (15 mL). Sodium borohydride (77.7 mg, 2.01 mmol, 1.8 eq) and water (2 mL, 111 mmol, 100eq) were added at 0°C. The reaction mixture was stirred at 0°C for 30 min.

The reaction was quenched with MeOH (5 mL). The organic layer was extended with EtOAc (25 mL), washed with a solution of citric acid at 10% (2 x 10 mL), a saturated solution of HCO<sub>3</sub>Na (2 x 10 mL), a solution of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> at 0.2 mol.L<sup>-1</sup> (2 x 10 mL) and brine (2 x 10 mL), dried over magnesium sulfate, filtrated and concentrated to give **220** (312.6 mg, 69%) as a white powder.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.85 (d, *J* = 7.30 Hz, 2H), 7.67 (d, *J* = 7.37 Hz, 2H), 7.40 (t, *J* = 7.30 Hz, 2H), 7.30 (t, *J* = 7.30 Hz, 2H), 6.32 (s, 1H), 4.40-4.25 (m, 3H), 4.10-3.98 (m, 1H), 3.92 (t, *J* = 7.16 Hz, 1H), 3.65-3.48 (m, 2H), 2.60 (dd, *J* = 6.24 Hz, 16.80 Hz, 1H), 2.41 (dd, *J* = 6.30 Hz, 16.80 Hz, 1H), 1.40 (s, 9H).

### Tert-butyl (3S)-3-(9H-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-4-oxo-butanoate 221 (YVX1. 442)



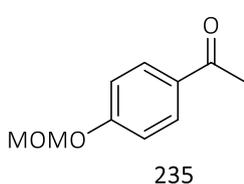
In round bottom flask, Dess-Martin periodinane (102 mg, 0.23 mmol, 1.8 eq) was added into a solution of **220** (50.8 mg, 0.13 mmol, 1 eq) in DCM (2 mL). The reaction mixture was stirred at rt for 20 min.

The reaction was extended with DCM (2 mL), quenched with a saturated solution of Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (10 mL) and H<sub>2</sub>O (10 mL) and stirred for 20 min. The mixture extracted with DCM (3 x 4 mL) and concentrated

under reduced pressure to give **221** (312.6 mg, quantitative) as a white powder.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 9.62 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 7.51 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 7.37 Hz, 2H), 7.35 (dt, *J* = 7.19 Hz, 26.61 Hz, 4H), 5.88 (d, *J* = 7.72 Hz, 1H), 4.43-4.36 (m, 3H), 4.21 (t, *J* = 7.16 Hz), 2.95 (qd, *J* = 4.69 Hz, 23.05 Hz, 2H), 1.45 (s, 9H).

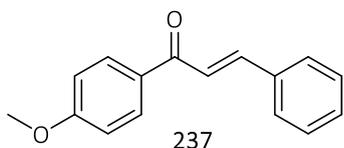
### 1-(4-(Methoxymethoxy)phenyl)ethan-1-one 235



In round bottom flask, chloromethyl ether (2.8 mL, 36.8 mmol, 5 eq) and DIEA (5.3 mL, 46.2 mmol, 6 eq) were added to a solution of 4-hydroxyacetophenone (1.03 g, 7.4 mmol, 1 eq) in dichloromethane (20 mL). The mixture was stirred at room temperature during 1h. The solvent was evaporated under reduced

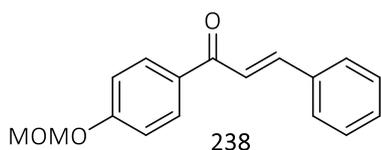
pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography using Cyclohexane/EtOAc (9/1) to give **235** (1.30 g, 98%) a white solid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.93 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.07 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 5.23 (s, 2H), 3.48 (s, 3H), 2.55 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 197.2, 161.6, 131.6, 131.0, 127.2, 116.3, 116.2, 94.6, 56.7, 26.8.

**(E)-1-(4-methoxyphenyl)-3-phenyl-prop-2-en-1-one 237 (YVX1.499)**

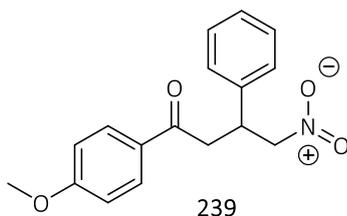
In round bottom flask, benzaldehyde (0.38 mL, 3.69 mmol, 1 eq) and potassium hydroxyde (495 mg, 8.84 mmol, 2.5 eq) were added to a solution of 4'-methoxyacetophenone (533.2 mg, 3.54 mmol, 1 eq) in methanol (5 mL). The mixture was stirred at rt during 2h. The precipitate was filtrated, washed with cold MeOH and diluted into DCM. The solvent was evaporated under reduced pressure to give **237** (837 mg, 99%) a white solid.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 8.07 (d,  $J = 8.98$  Hz, 2H), 7.83 (d,  $J = 15.64$  Hz, 2H), 7.66 (m, 2H), 7.57 (d,  $J = 15.67$  Hz, 1H), 7.44 (m, 3H), 7.01 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 3.92 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 188.9, 163.6, 144.0, 131.0 (2C), 130.5, 129.1 (2C), 128.5 (2C), 128.4, 127.3, 122.0, 114.0 (2C), 55.6.

**(E)-1-(4-(methoxymethoxy)phenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one 238 (YVX1.500)**

In round bottom flask, benzaldehyde (0.15 mL, 1.47 mmol, 1 eq) and potassium hydroxyde (260 mg, 4.64 mmol, 3 eq) were added to a solution of **235** (265 mg, 1.47 mmol, 1 eq) in methanol (3 mL). The mixture was stirred at rt during 2h. The precipitate was filtrated, washed with cold MeOH and diluted into DCM. The solvent was evaporated under reduced pressure to give **238** (394.4 mg, 100%) a white solid.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 8.04 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 7.84 (d,  $J = 15$  Hz, 2H), 7.68 (q,  $J = 9$  Hz,  $J = 3$  Hz, 1H), 7.56 (q,  $J = 18$  Hz, 1H), 7.44 (q,  $J = 9$  Hz,  $J = 3$  Hz, 2H), 7.16 (d,  $J = 12$  Hz, 2H), 5.29 (s, 2H), 3.53 (s, 3H)  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 190.2, 161.6, 144.7, 135.6, 131.3, 131.0 (2C), 129.5 (2C), 129.0 (2C), 122.5, 116.4 (2C), 94.7, 56.9.

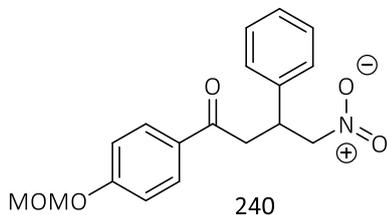
**1-(4-methoxyphenyl)-4-nitro-3-phenylbutan-1-one 239 (YVX1.501)**

In round bottom flask, nitromethane (1.6 mL, 29.5 mmol, 9 eq) and diethylamine (1,6 mL, 14.9 mmol, 5 eq) were added to a solution of **237** (837 mg, 3.32 mmol, 1 eq) in methanol (5 mL). The mixture was heated at reflux overnight. The solvent was evaporated under reduced pressure to give **239** (1.2 g, 98%) a white solid.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.92 (d,  $J = 8.88$  Hz, 2H), 7.32 (m, 5H), 7.09 (d,  $J = 8.88$  Hz, 2H), 4.85 (dd,  $J = 12.46$  Hz, 6.51 Hz, 1H), 4.65 (dd,  $J = 12.45$  Hz, 8.07 Hz, 1H), 4.21 (q, 7.14 Hz, 1H) 3.87 (s,

3H), 3.39 (dd,  $J = 7.57$  Hz, 3.71 Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 195.4, 163.6, 139.4, 130.5 (2C), 129.6, 129.2 (2C), 127.9, 127.6 (2C), 114.0 (2C), 79.7, 55.6, 41.3, 39.5.

### 1-(4-(methoxymethoxy)phenyl)-4-nitro-3-phenylbutan-1-one 240 (YVX1.502)

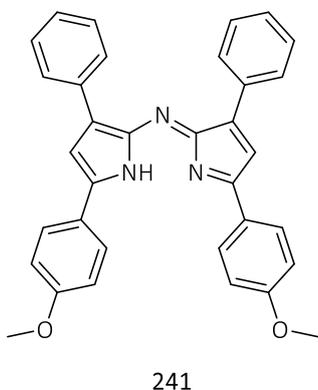


In round bottom flask, nitromethane (1.4 mL, 27.8 mmol, 19 eq) and diethylamine (1.4 mL, 13 mmol, 9 eq) were added to a solution of **238** (394 mg, 1.47 mmol, 1 eq) in methanol (4 mL). The mixture was heated at reflux overnight. The solvent was evaporated under

reduced pressure to give **240** (400 g, 82%) a white solid.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 7.93 (d,  $J = 8.89$  Hz, 2H), 7.32 (m, 5H), 6.95 (d,  $J = 8.88$  Hz, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.85 (dd,  $J = 12.47$  Hz, 6.53 Hz, 1H), 4.65 (dd,  $J = 12.47$  Hz, 8.02 Hz, 1H), 4.24 (q, 7.11 Hz, 1H), 3.50 (s, 3H), 2.82 (q,  $J = 7.18$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 195.7, 161.6, 139.5, 130.7 (2C), 130.5, 129.2 (2C), 128.0, 127.7, 126.8, 116.0, 115.9, 94.3, 84.8, 56.1, 43.8, 39.6.

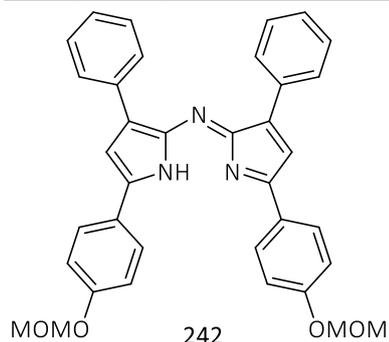
### (Z)-5-(4-methoxyphenyl)-N-(5-(4-methoxyphenyl)-3-phenyl-1H-pyrrol-2-yl)-3-phenyl-2H-pyrrol-2-imine 241 (YVX1.456)



In round bottom flask, ammonium acetate (7.5 g, 96 mmol) was added to a solution of **239** (1.45 g, 4.8 mmol) in ethanol (30 mL). The mixture was heated at reflux 2 days. The solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted in  $\text{H}_2\text{O}$  (200 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (3 x 70 mL). The organic phase was dried over magnesium sulfate, filtrated and concentrated to give **241** (1.2 g, 49%) a dark blue solid.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) 8.06 (d,  $J = 8.47$  Hz, 4H), 7.90 (d,  $J = 8.88$  Hz, 4H), 7.50-7.37 (m, 12H), 3.89 (s, 6H).

**(Z)-5-(4-(methoxymethoxy)phenyl)-N-(5-(4-(methoxymethoxy)phenyl)-3-phenyl-1H-pyrrol-2-yl)-3-phenyl-2H-pyrrol-2-imine 242 (YVX1.505)**

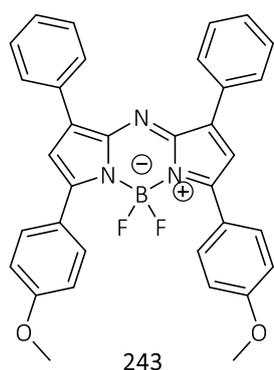


In round bottom flask, ammonium acetate (4.8 g, 61 mmol) was added to a solution of **240** (894 g, 2.69 mmol) in ethanol (30 mL). The mixture was heated at reflux 2 days. The solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted in H<sub>2</sub>O (200 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (3 x 70 mL). The organic phase was dried over magnesium sulfate, filtrated and concentrated

to give **242** (730 mg, 48%) a dark blue solid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 8.05-7.78 (m, 10H), 7.56-7.40 (m, 8H), 6.06 (s large, 2H), 5.28 (s, 4H), 3.42 (s, 6H).

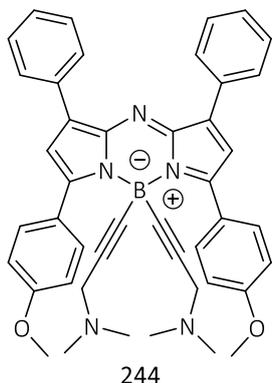
**5,5-difluoro-3,7-bis(4-methoxyphenyl)-1,9-diphenyl-5H-4|4,5|4-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,5,2]triazaborinine 243 (YV1.429)**



In round bottom flask, boron trifluoride diethyl etherate (2.4 mL, 9.0 mmol, 46%, 8 eq) and DIEA (1 mL, 5.74 mmol, 5 eq) were added to a solution of **241** (558 mg, 1.1 mmol, 1 eq) in DCM (50 mL). The mixture was stirred at rt for 20h. The reaction was quenched by adding few drops of ethanol. The solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography using DCM (100%) to give **243** (610 mg, 100%) a dark green solid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO) : δ (ppm) 8.18 (t, *J* = 7.22 Hz, 8H), 7.63 (s, 2H), 7.55 (t, *J* = 6.61 Hz, 4H), 7.48 (d, *J* = 7.24 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 9.15 Hz, 4H), 3.89 (s, 6H).

**3,3'-(3,7-bis(4-methoxyphenyl)-1,9-diphenyl-5H-4H,5H-dipyrrolo[1,2-c:2',1'f][1,3,5,2]triazaborinine-5,5-diyl)bis(N,N-dimethylprop-2-yn-1-amine) 244 (YVX1.430)**

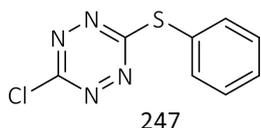


In round bottom flask, methylmagnesium chloride (0.77 mL, 2.31 mmol, 3mol.L<sup>-1</sup>, 2 eq) was added to a solution of 1-dimethylamino-2-propyne (1 mL, 7.5 mmol, 7 eq) in THF (3 mL). The mixture was heated at reflux for 1h. Then a solution of **243** (610 mg, 1.09 mmol, 1 eq) in THF (15 mL) was added and the reaction was heated at reflux for 1h. The reaction was quenched by adding ethanol (5mL). The solvent was evaporated under reduced pressure.

The residue was dissolved with EtOAc (150 mL). The organic phase was washed with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (3 x 50mL), dried over magnesium sulfate and filtrated. The crude product was purified by silica gel chromatography using AcOEt (100%) then DCM/MeOH (80/20) to give **244** (331 mg, 44%) a dark green solid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 8.31 (d, *J* = 9 Hz, 4H), 8.06 (d, *J* = 8.29 Hz, 4H), 7.46-7.39 (m, 6H), 6.98 (d, *J* = 9.31 Hz, 4H), 6.98 (s, 2H), 3.87 (s, 6H), 3.05 (s, 4H), 2.09 (s, 10H), 2.06 (s, 2H) ; <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 161.3, 157.6, 143.2, 142.1, 132.6, 132.6, 129.2, 129.0, 128.5, 125.1, 119.3, 113.4, 60.4, 55.5, 48.4, 43.2.

**3-chloro-6-(phenylthio)-1,2,4,5-tetrazine 247 (YVX1.511)**



In round bottom flask, thiophenol (100 μL, 0.96 mmol, 1 eq) was added to a solution of dichlorotetrazine (158.4 mg, 1.01 mmol, 1 eq) in DMF (900 μL). The mixture was stirred at room temperature during 24h. The volume of the

reaction was extended with brine (50 mL). The reaction was extracted with EtOAc (25 mL, 10 mL, 5mL). The combined organic layers were washed with brine (40 mL, 30 mL, 20 mL, 10 mL), dried over magnesium sulfate and filtrated. The solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography using Cyclohexane/EtOAc (70/30) to give **247** (205.7 mg, 97%) a fluorescent orange-pink solid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ (ppm) 7.70-7.63 (m, 2H), 7.54-7.45 (m, 3H) ; <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 176.7, 166.1, 135.6 (2C), 130.9, 130.1 (2C), 129.9.

## Généralités sur la radiosynthèse

No-carrier added [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoride was produced by the CEA in Paris via the  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  nuclear reaction, and directly delivered as a  $\text{H}_2[^{18}\text{O}]\text{O}$  solution (2-5mL). All radiosyntheses were performed in a lead-shielded Trasis hotcell<sup>®</sup> H2000 using an automated TRASIS PET Tracer synthesizer (AllinOne<sup>®</sup> module with 36 actuators, up to 5 syringe drivers, 2 heaters and a cartridge heater). The pressures of nitrogen and vacuum were monitored in real time. The AllinOne<sup>®</sup> module is equipped with a built-in HPLC with DAD and radioactivity detectors. The synthesizer was controlled using the Trasis Supervision<sup>®</sup> software version 2.30. Before each radiosynthesis, careful control of electronics and cassette was performed in order to avoid remote and leak issues. The purification was performed on C18 Sep-Pak cartridge (Waters) pre-conditioned according the following procedure: 100% A->20% B (5mL) -> 20% B (2mL) -> 40% B (2 mL) -> 60% B (2 mL) -> 80% B (2mL)-> 100% B (2 mL) with A = acetonitrile and B =  $\text{H}_2\text{O}$ . The radiochemical purity was determined using an analytical radio-HPLC equipped with a Shimadzu pump ( LC-20A), a 20 $\mu\text{L}$  injection loop (SIL-20AC) and a Luna C18 column (5 $\mu\text{m}$ , 250x4.6mm) inside a column oven (CTO-20AC). The detection was performed using a UV detector with variable wavelength from Shimadzu (SPD-20A) and a gamma detector from Raytest. A Capintech INC CRC<sup>®</sup> 25PET Dose calibrator was used to measure the activity.

### General batch procedure

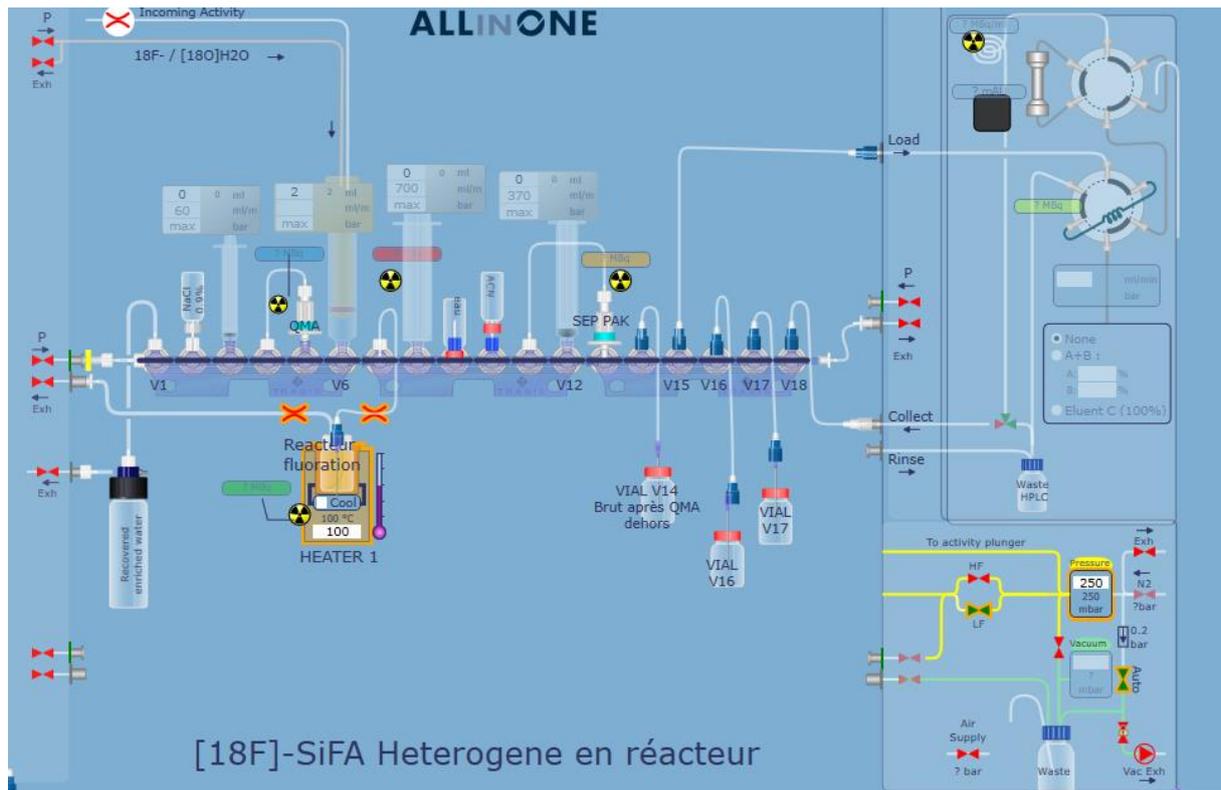
The grafted polymer **PS-181**, **PS-183**, **PS-186**, or **PS-189** (2.5mg/ 5mg/ 10mg  $\approx$  0.34 mmol/g) was added in the reactor (R1) with acetic acid (10 eq/60 eq/preprotonated resin) in (Acetonitrile/THF/DMSO) (1.7 mL). Then, [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoride was automatically transferred into the synthesizer using the syringe 2 and trapped by passing the solution through an anion-exchange resin cartridge (Sep-Pak QMA light, Waters). Release of [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoride from QMA cartridge was achieved with an aqueous solution of NaCl (0.9% w/w, 400  $\mu\text{L}$ ) by using syringe 1 to the reaction vial (R1) previously loaded (only 300  $\mu\text{L}$  of this solution could be transferred effectively in R1 due to the dead volume of the system). The pinches of the reactor were closed and the resulting mixture was allowed to react from 50°C to 100 °C for 5 min to 30 min. The mixture was cooled at 40°C and homogenized by nitrogen bubbling at low flow for 1 min (400 mbar concomitant with a vacuum at -40 mbar).

If the purification was done by an HPLC semi-preparative the content was injected into the loading loop and the compound was injected into the HPLC column.

If the compound was purified using a cartridge SPE, syringe 3 was used to collect the content of the reactor. The reactor was washed by adding 2 mL of a 1:1 mixture of acetonitrile and H<sub>2</sub>O (using syringe 4). The content was homogenized by N<sub>2</sub> bubbling for 1 min (nitrogen pressure set at 400 mbar in low flow (LF) concomitant with a vacuum set at -40 mbar). The content of the vial was collected using syringe 3. The reactor was washed a third time with H<sub>2</sub>O (4mL), homogenized by N<sub>2</sub> bubbling for 1 min as previously described and collected using syringe 3. The full content of syringe 3 (containing 66% of H<sub>2</sub>O) was eluted on the C18 Sep-Pak cartridge at 3mL/min until emptiness. Then, the cartridge was washed with H<sub>2</sub>O (4mL) at 3mL/min using syringe 4. Finally, the product was eluted at 1mL/min from the C18 Sep-Pak cartridge using acetonitrile (4mL, from syringe 4) to the collecting vial (valve 14) placed outside of the fumehood.

The radiochemical yield (RCY) was calculated from the decay-corrected activity inside the collecting vial divided by activity in the reaction vial R1 before the fluorination (at the time where fluoride-18 was fully eluted from the QMA to R1) and multiplied by the radiochemical purity (RCP).

# Partie expérimentale

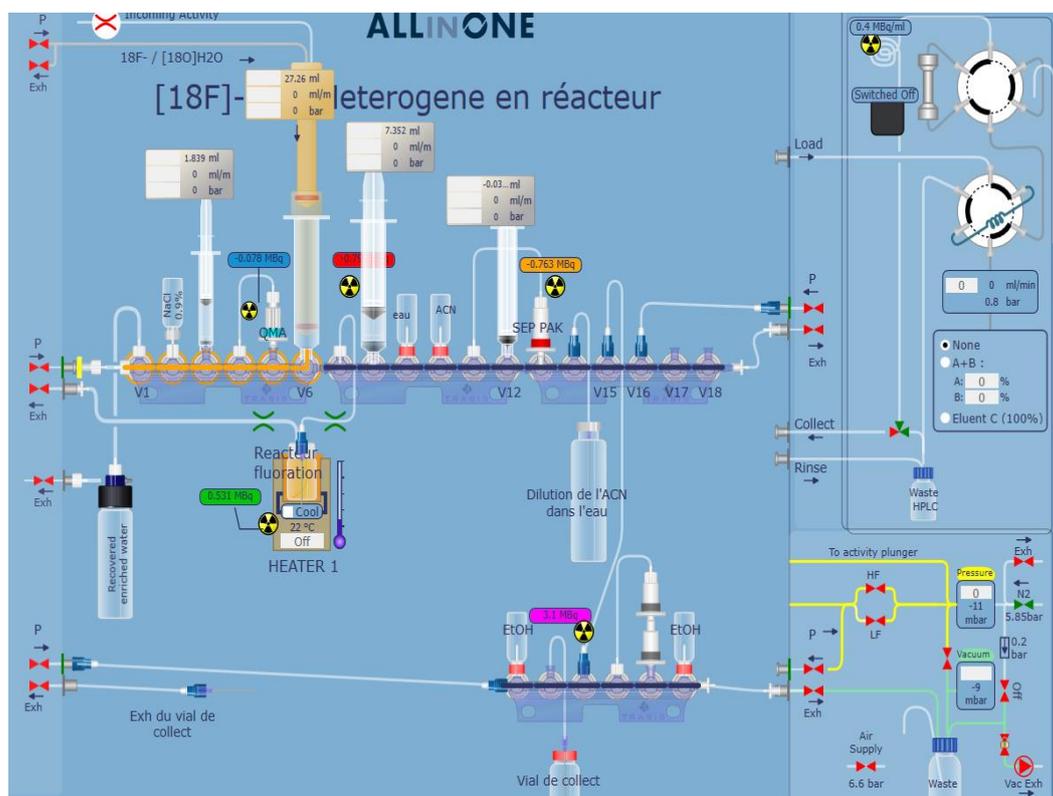


Layout of the cassette for the general batch procedure

### Formulation procedure

The formulation was realised by putting 2 HLB cartridges (Waters) conditioned in advance by using methanol (20mL) then air (20mL) and H<sub>2</sub>O (10mL). Inside of the collecting vial in valve 14, H<sub>2</sub>O (24 mL) was added in order to fix the compound onto the HLB cartridge.

The reaction was realised by following **the general batch procedure**. The final product was eluted at 1mL/min from the cartridge by using acetonitrile (4mL) from syringe 4 to valve 14. The collecting vial was composed of 88% of H<sub>2</sub>O (24 mL of H<sub>2</sub>O + 4 mL of acetonitrile). The compound was fixed on the two HLB by emptying the collecting vial under vacuum (-500 mbar). The cassette was cleaned from actuators 31 to 36 with ethanol (3 mL) placed on valve 31. The final compound was eluted from HLB cartridge by using ethanol (3 mL) placed on valve 36 to a collecting vial (valve 32) placed outside of the fumehood by using vacuum (-500 mbar).

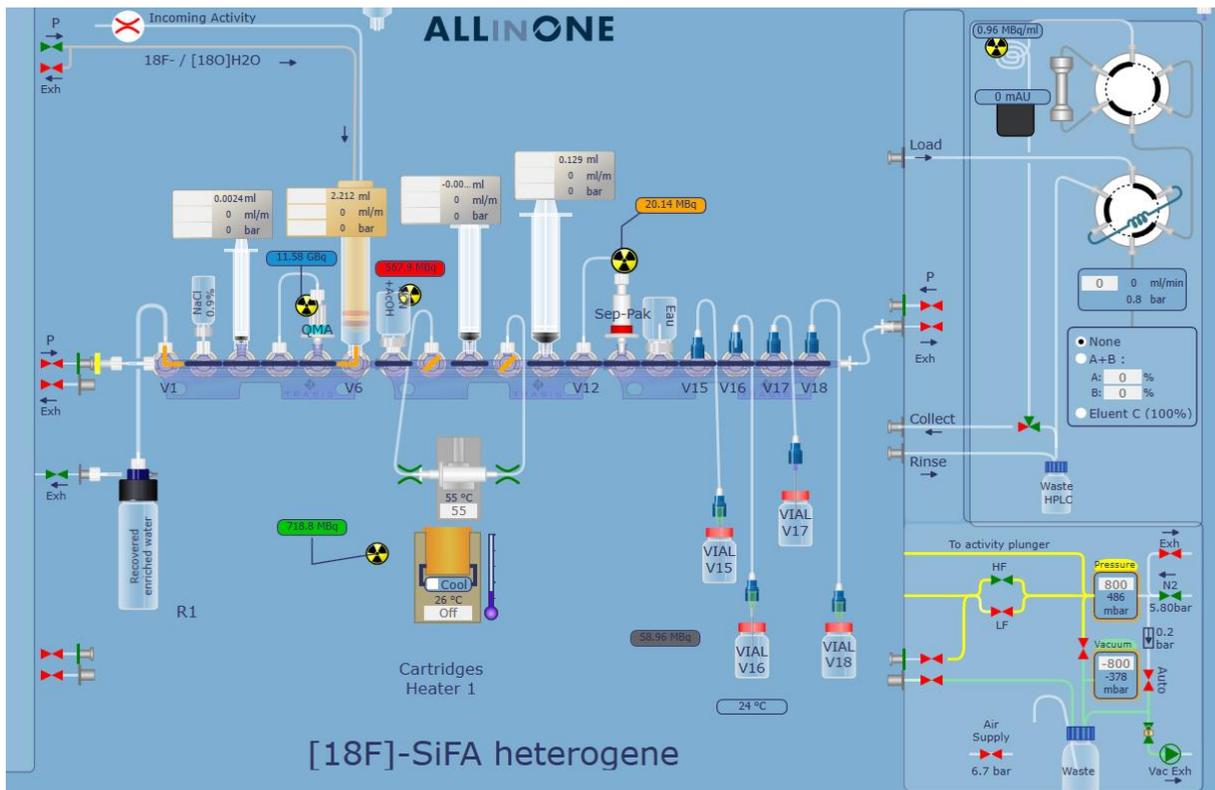


Layout of the cassette for the formulation procedure

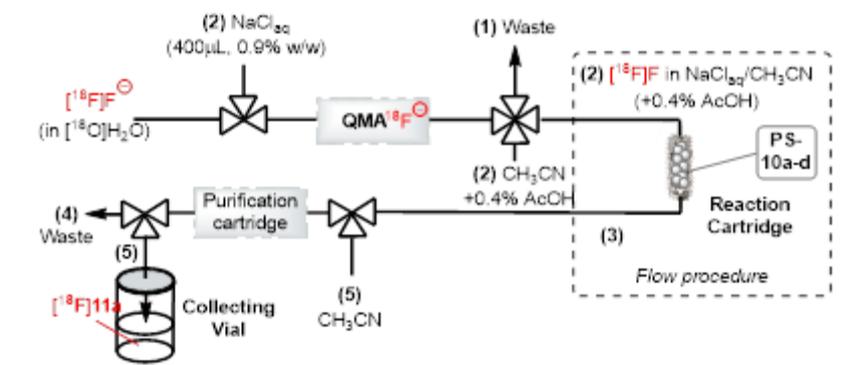
### Cartridge procedure

Polymer **PS-181** (5mg,  $\approx 0.34$  mmol/g Imid-SiFA grafted, 100% conversion for the CuAAC conjugation step) was mixed the commercial polymer **Polystyrene quenched with methanol/QMA/Oasis WAX/ C18 grafted on silica** and the mixture was packed inside a “metallic cartridge” (Empty stainless steel HPLC column, 20x4mm). A mixture of acetic acid (0.4 mL) in acetonitrile (100 mL) was used to impregnate the cartridge on valve V9 at 1mL/min. The impregnation was performed before closing the fumehood check the absence of leaking from the cartridge. The cartridge was heated in advance at 50°C with the cartridge heater. Then, [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoride was introduced into syringe 2 by using a needle on the left of the hot cell. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoride was trapped on an anion-exchange resin cartridge (Sep-Pak QMA light, Waters). The cartridge was eluted with an aqueous solution of NaCl (0.9% w/w, 400  $\mu\text{L}$ ) by using syringe 1 and the resulting saline solution was transferred to the cartridge. The solution of Na[ $^{18}\text{F}$ ] was pushed at the end with  $\text{N}_2$  until all the liquid goes to the cartridge. The cartridge was heated at 100°C for 15min. The cartridge was washed with acetonitrile (+0,4% of acetic acid) (1 mL) from syringe 3 to syringe 4 at 3 mL/min. A mixture acetonitrile/  $\text{H}_2\text{O}$  (50/50) (2 mL) was used to wash the cartridge at 3mL/min from syringe 3 to syringe 4. Water (4 mL) was used to wash the cartridge at 3mL/min from syringe 3 to syringe 4. The content of syringe 4 at 69% of  $\text{H}_2\text{O}$  was eluted on the C18 cartridge at 3mL/min to vial 16. The C18 cartridge was washed with  $\text{H}_2\text{O}$  (4mL) at 3mL/min using syringe 4 collected in vial 15. The product was eluted at 1mL/min from the C18 cartridge by using acetonitrile (4mL) from syringe 4 to a collecting vial 16 placed outside of the fumehood.

Partie expérimentale

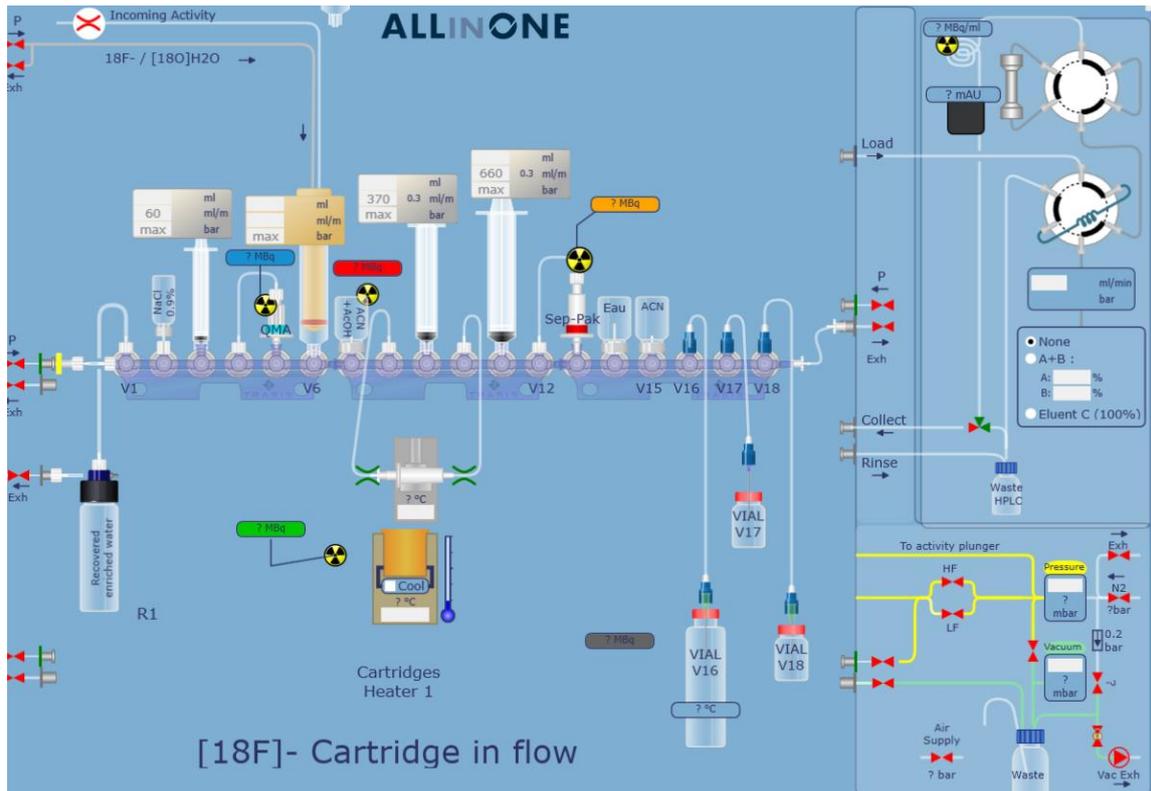


Layout of the cassette for the cartridge procedure

Cartridge in flow procedure

Polymer **PS-181** (5mg,  $\approx 0.34$  mmol/g Imid-SiFA grafted, 100% conversion for the CuAAC conjugation step) was mixed the commercial **polymer Oasis WAX** (100 mg, 60  $\mu\text{m}$ , 80  $\text{\AA}$ ) and the mixture was packed inside a “metallic cartridge” (Empty stainless steel HPLC column, 20x4mm). A mixture of acetic acid (0.4 mL) in acetonitrile (100 mL) was used to impregnate the cartridge on valve V9 at 1mL/min. The impregnation was performed before closing the fumehood check the absence of leaking from the cartridge. The cartridge was heated in advance at 100°C with the cartridge heater. Then,  $^{18}\text{F}$ Fluoride was introduced into syringe 2 by using a needle on the left of the hot cell.  $^{18}\text{F}$ Fluoride was trapped on an anion-exchange resin cartridge (Sep-Pak QMA light, Waters). The cartridge was eluted with an aqueous solution of NaCl (0.9% w/w, 400  $\mu\text{L}$ ) by using syringe 1 and the resulting saline solution was transferred to the syringe 3. The mixture at 0.4% of acetic acid in **acetonitrile (3.7 or 4.1 mL)** was retrieved from valve 7 into syringe 3. Firstly, 1.3 mL of the overall content of syringe 3 mixture was pushed into the inlet of the cartridge at 1mL/min (as a dead volume of 1.3 mL was calculated between the cartridge and the syringe). Then, the reaction was performed in flow by transferring the content of syringe 3 at 0.3 mL/min over 15-16 min to syringe 4 through the reaction cartridge until emptiness. After this transfer, the cartridge was washed with acetonitrile + 0.4% of acetic acid (1mL) from syringe 3 to syringe 4 at 3 mL/min. Water (11 mL) was taken from vial 14 to syringe 4. The content of syringe 4 (containing 68% of  $\text{H}_2\text{O}$ ) was eluted on the C18 cartridge at 3mL/min to vial 16. Then, the cartridge was washed with  $\text{H}_2\text{O}$  (4mL) at 3mL/min using syringe 4 collected in vial 16 and finally, product  $^{18}\text{F}$ **11a** was eluted at 1mL/min from the purification cartridge by using acetonitrile (4mL) from syringe 4 to a collecting vial 17 placed outside of the fumehood.

# Partie expérimentale



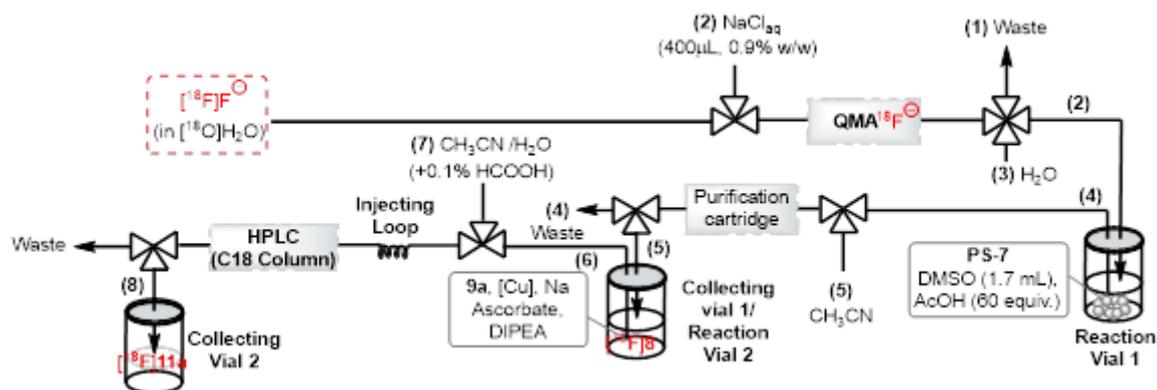
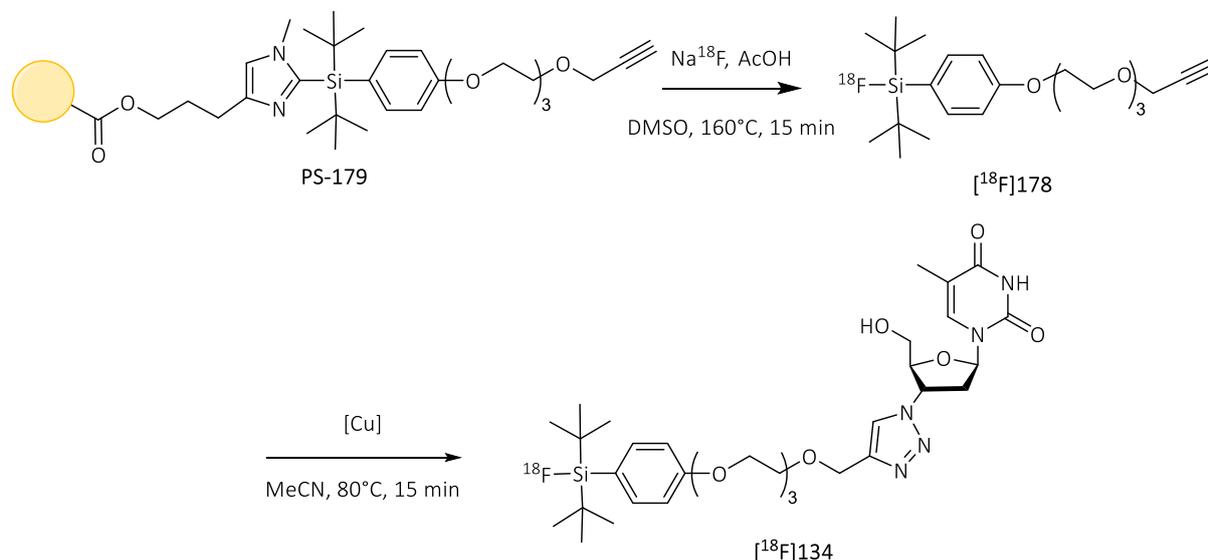
Layout of the cassette for the cartridge procedure



Cartridge used for the synthesis in cartridge

**Synthesis of [<sup>18</sup>F]134 via an indirect synthesis**

For comparison, an indirect synthesis was performed by radiofluorination of **PS-179** followed by CuAAC click reaction of the resulting [<sup>18</sup>F]134 with AZT.

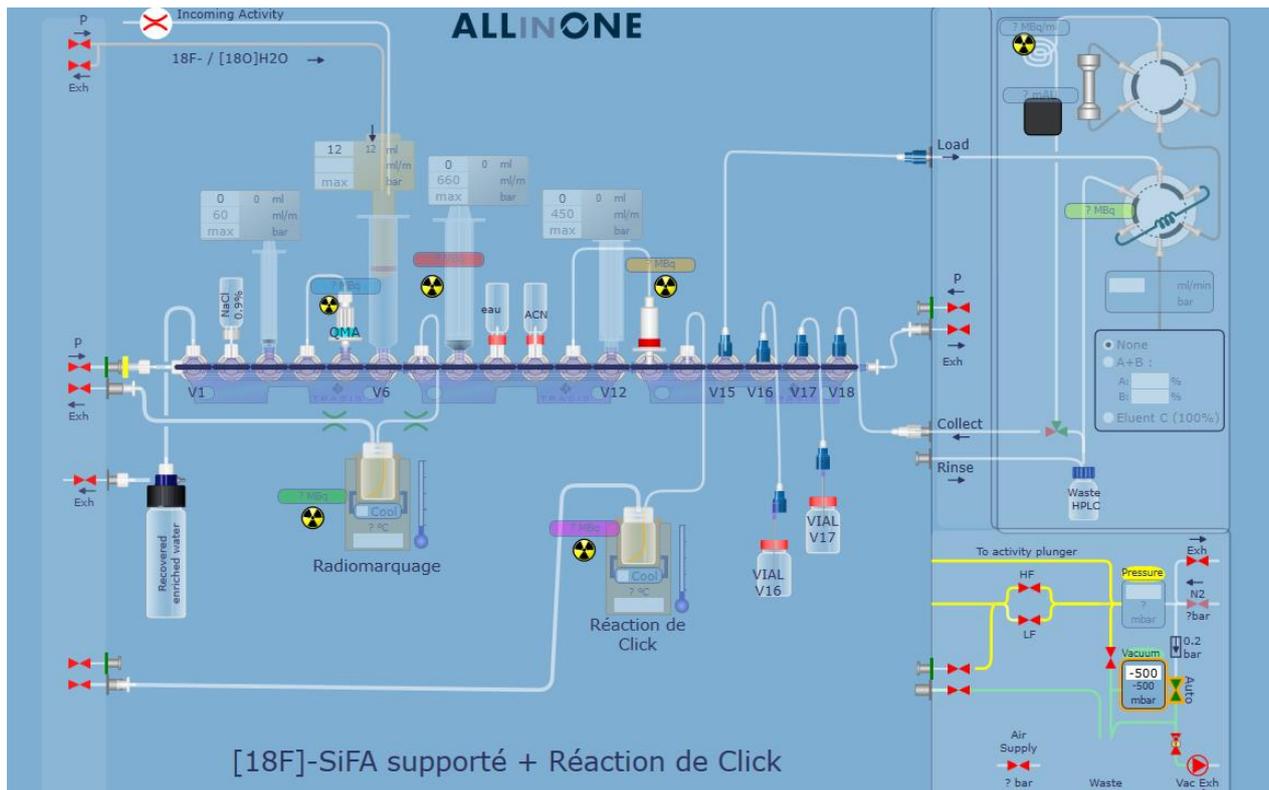


Polymer **PS-179** (5mg,  $\approx 0.36$  mmol/g ImidSiFA grafted) was added in the reaction vial 1 (reactor R1) with acetic acid (60 eq) in DMSO (1.7 mL). Then, [<sup>18</sup>F]Fluoride was introduced into syringe 2 by using a needle on the left of the hot cell. [<sup>18</sup>F]Fluoride was trapped on an anion-exchange resin cartridge (Sep-Pak QMA light, Waters). The cartridge was eluted with an aqueous solution of NaCl (0.9% w/w, 400  $\mu$ L) by using syringe 1 and the resulting saline solution was transferred to the reaction vial R1 previously loaded (only 300 $\mu$ L of this solution could be transferred effectively in R1 due to the dead volume of the system). The pinch of the reactor was closed and the resulting mixture was allowed to react at **160°C** for **15 min**. After this time, the mixture was cooled at 40°C and bubbled for 1 min with N<sub>2</sub> to stir and homogenize the reaction (nitrogen pressure set at 400mbar in low flow (LF) concomitant with a vacuum set at -40 mbar). Then, syringe 3 was used to collect the content of the reactor. The reactor was washed by adding 2 mL of a 1:1 mixture of acetonitrile and H<sub>2</sub>O (using

syringe 4). The content was homogenized by N<sub>2</sub> bubbling for 1 min (nitrogen pressure set at 400 mbar in low flow (LF) concomitant with a vacuum set at -40 mbar). The content of the vial was collected using syringe 3. The reactor was washed a third time with H<sub>2</sub>O (4mL), homogenized by N<sub>2</sub> bubbling for 1 min as previously described and collected using syringe 3. The full content of syringe 3 (containing 66% of H<sub>2</sub>O) was eluted on the C18 Sep-Pak cartridge at 3mL/min until emptiness. Then, the cartridge was washed with H<sub>2</sub>O (4mL) at 3mL/min using syringe 4. Finally, product [<sup>18</sup>F]178 was eluted at 1mL/min from the C18 Sep-Pak cartridge using acetonitrile (4mL, from syringe 4) to collecting vial 1 (C1, valve 16) placed outside of the fumehood to measure the yield after the first step of radiolabelling.

The second step was the CuAAC Click reaction with AZT in reaction vial 2 (R2) loaded with AZT (zidovudine) (2 mg, 7.5µmol), sodium ascorbate (2 mg, 10 µmol), [CuCl(TBTA)]Cl (1 mg, 0.35 µmol) and diisopropylethylamine (7µL, 5.2 mg, 40µmol) before the beginning of the synthesis. <sup>18</sup>F-Fluorinated compound [<sup>18</sup>F]178 in acetonitrile (4 mL) was added to reactor 2 (R2) by using the vacuum from V16 in collecting vial 1 at -500 mbar. The reaction was heated at 80°C for 15 min while bubbling using nitrogen pressure set at 100mbar in low flow (LF) with a vacuum set at -50 mbar to stirr the reaction. The content of R2 was collected by using syringe 4. The reactor was washed with acetonitrile (4mL) and collected by using syringe 4. The injection loop was loaded by the content of syringe 4 at 2 mL/min. The purification of the final compound [<sup>18</sup>F]134 was performed by the preparative HPLC integrated to the synthesizer (column: Luna C18 (5 µm, 100 Å, 250x10mm) using a mixture of acetonitrile/ H<sub>2</sub>O (65/35) + 0.1% of formic acid as eluent (isocratic). Two fractions were collected in V17 in two different collecting vial C2 and C3. The first fraction in C2 corresponded to the desired [<sup>18</sup>F]134 (tR =12 min) and the second fraction in C3 corresponded to the unreacted <sup>18</sup>F-SiFA-alkyne [<sup>18</sup>F]178 (tR =19 min). Analytical HPLC of each fraction were realized using a flow rate of 1mL/min with the following program: 80% of B (13 min) -> 95% of B (2min) -> 95% of B (3min) -> 80% of B (2 min). (A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = acetonitrile+ 0,1% of Trifluoroacetic acid, tR radio [<sup>18</sup>F]134 = 6.48 min, tR radio [<sup>18</sup>F]178 = 17.20 min).

# Partie expérimentale



Layout of the cassette for the indirect synthesis procedure

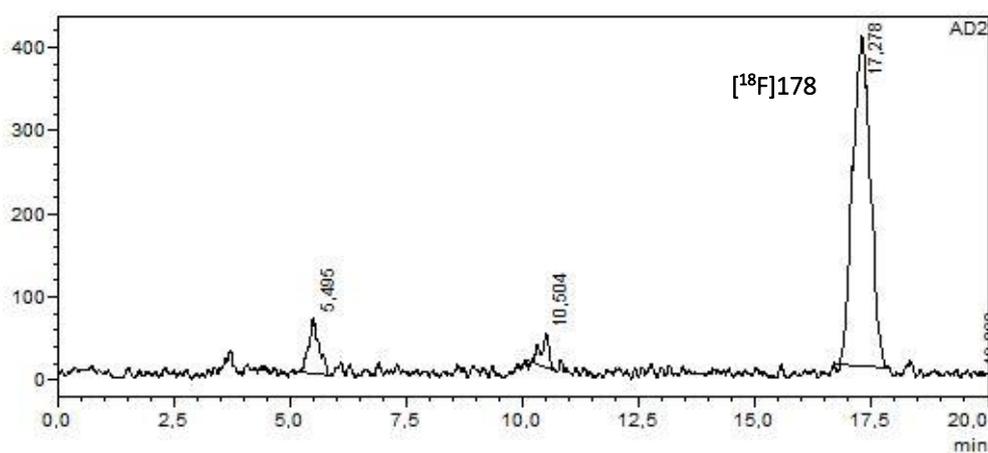
Experiment		YVX1.491	
	Activity fixed on QMA	10.28 GBq	
t = 0 min	Activity eluted in R1	9.18 GBq	Radiolabelling
t = 21 min	Activity in R1 (end of fluorination)	7.8 GBq	
t = 44 min	Activity in the collecting vial	1037 MBq	
	t <sub>R</sub> radio detection	17.23 min	
	Radiochemical purity	88%	
	Activity yield	11 %	
	Radiochemical yield	15 %	
t = 88 min	Activity collected in the first fraction (t <sub>R</sub> =12 min) [ <sup>18</sup> F]134	126 MBq	Click reaction
	t <sub>R</sub> radio detection	17.23 min	
	Radiochemical purity	<98%	
t = 99 min	Activity collected in the second fraction (t <sub>R</sub> =19 min) <b>[<sup>18</sup>F]178</b>	232 MBq	
	t <sub>R</sub> radio detection	6.48 min	
	Radiochemical purity	<98%	
	Activity yield for 1 step	12 %	
	Radiochemical yield for 1 step	16 %	
	Activity yield for the 2 steps	1%	
	Radiochemical yield for the 2 steps	2%	

## &lt;Sample Information&gt;

Sample Name : V16 Brut R1 1MBq 11h58  
 Sample ID : Brut R1 bis  
 Data Filename : batch 31032022 bis\_31032022\_V16 Brut R1 1MBq 11h58\_Brut R1 bis\_001.lcd  
 Method Filename : grad 80-95 1mlmin 20minrun Alcyne.lcm  
 Batch Filename : batch 31032022 bis.lcb  
 Vial # : 1-76  
 Injection Volume : 0,5 uL  
 Date Acquired : 31/03/2022 16:50:49  
 Date Processed : 31/03/2022 17:10:51  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

## &lt;Chromatogram&gt;

mV



## &lt;Peak Table&gt;

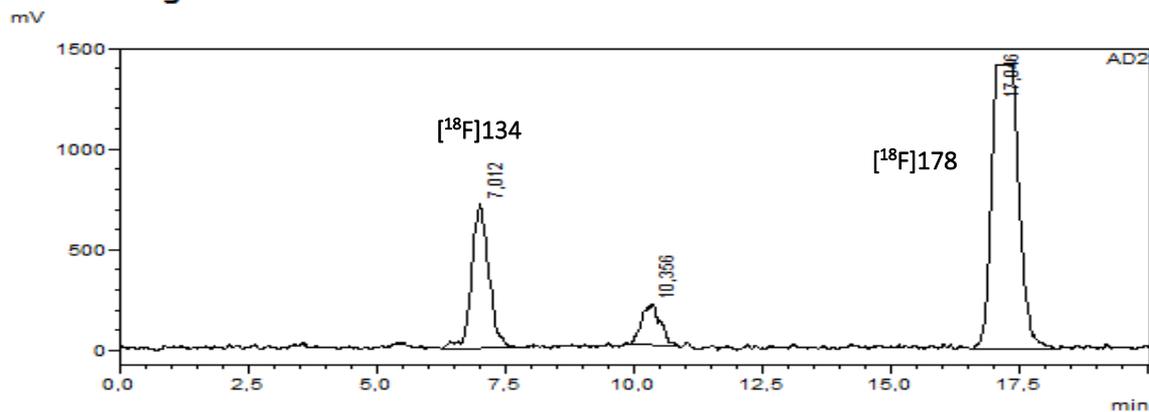
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	5,495	1002607	65980	8,407		M	
2	10,504	413114	39510	3,464		M	
3	17,278	10491957	396770	87,976		M	
4	19,862	18242	5566	0,153			
Total		11925919	507826				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [ $^{18}\text{F}$ ]178 after the first reaction

<Sample Information>

Sample Name : V16 Brut R2 1.7MBq 12h52  
 Sample ID : Brut R2  
 Data Filename : batch 31032022\_31032022\_V16 Brut R2 1.7MBq 12h52\_Brut R2\_004.lcd  
 Method Filename : grad 80-95 1mlmin 20minrun Alcyne.lcm  
 Batch Filename : batch 31032022.lcb  
 Vial # : 1-79  
 Injection Volume : 0,5 uL  
 Date Acquired : 31/03/2022 14:07:51  
 Date Processed : 31/03/2022 14:27:53  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

<Chromatogram>



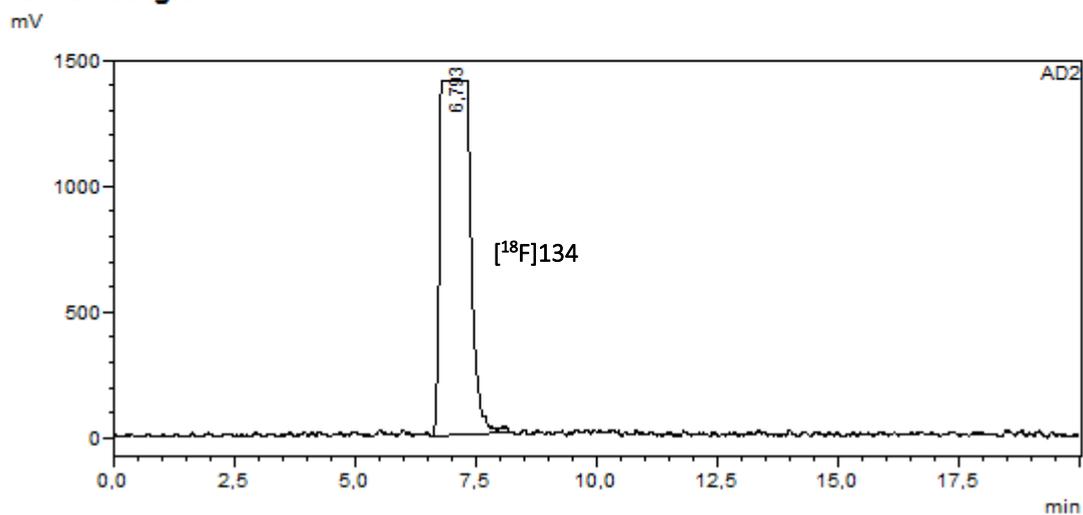
Peak Start	Peak End	Ret. Time	Height	Area	Area%
6,292	7,783	7,012	715232	16436064	22,577
9,833	10,875	10,356	207691	5220707	7,171
16,542	18,267	17,046	1405411	51144512	70,252
			2328334	72801283	100,000

Analytic Radio HPLC chromatogram of the crude of the Click reaction

**<Sample Information>**

Sample Name	: V17 pic 12min 2.4MBq 12h43	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: AZT pur	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 31032022_31032022_V17 pic 12min 2.4MBq 12h43_AZT pur_002.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 80-95 1mlmin 20minrun Alcyne.lcm		
Batch Filename	: batch 31032022.lcb		
Vial #	: 1-77		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 31/03/2022 13:23:06		
Date Processed	: 31/03/2022 13:43:08		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

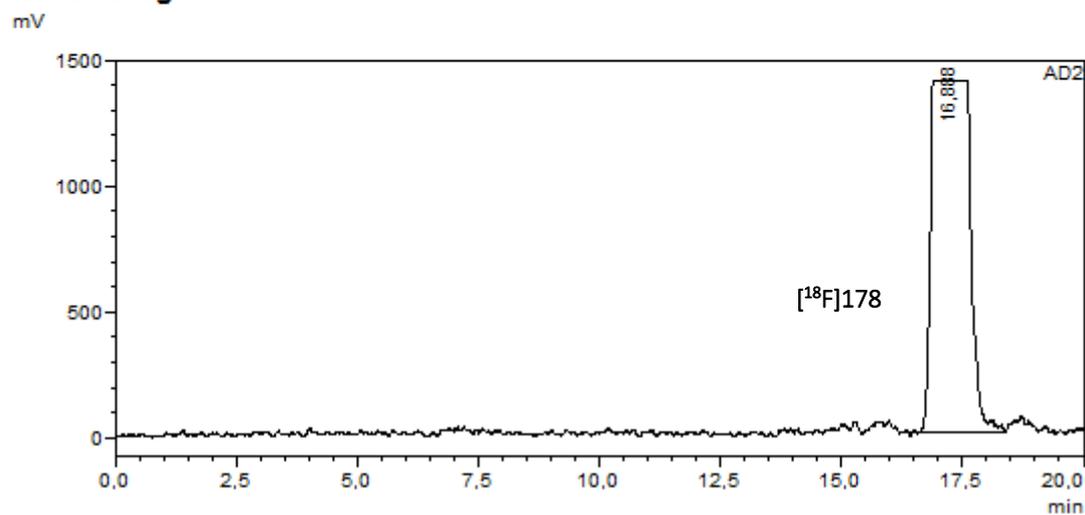
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	6,793	60048603	1404690	100,000		M	

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]\mathbf{134}$  after HPLC purification  
 ( $t_R$  PrepHPLC = 12 min)

**<Sample Information>**

Sample Name : V17 pic 19min 2.6MBq 12h48  
 Sample ID : Alcyne  
 Data Filename : batch 31032022\_31032022\_V17 pic 19min 2.6MBq 12h48\_Alcyne\_003.lcd  
 Method Filename : grad 80-95 1mlmin 20minrun Alcyne.lcm  
 Batch Filename : batch 31032022.lcb  
 Vial# : 1-78  
 Injection Volume : 0,5 uL  
 Date Acquired : 31/03/2022 13:45:29  
 Date Processed : 31/03/2022 14:05:31  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

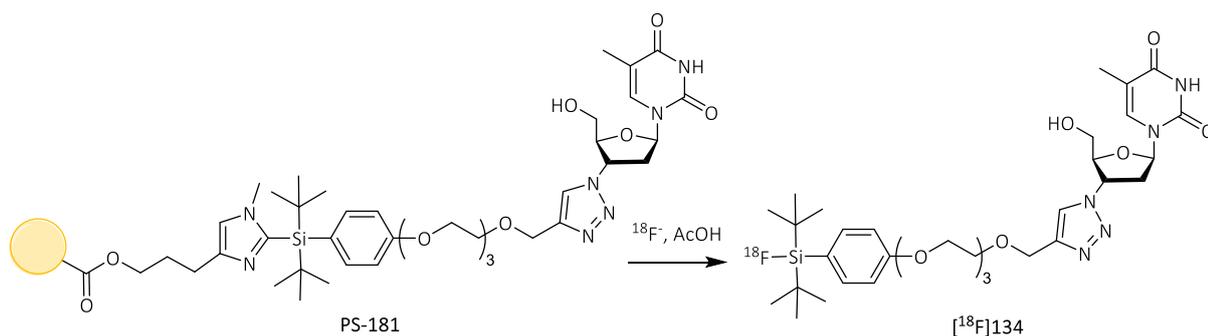
**<Chromatogram>**



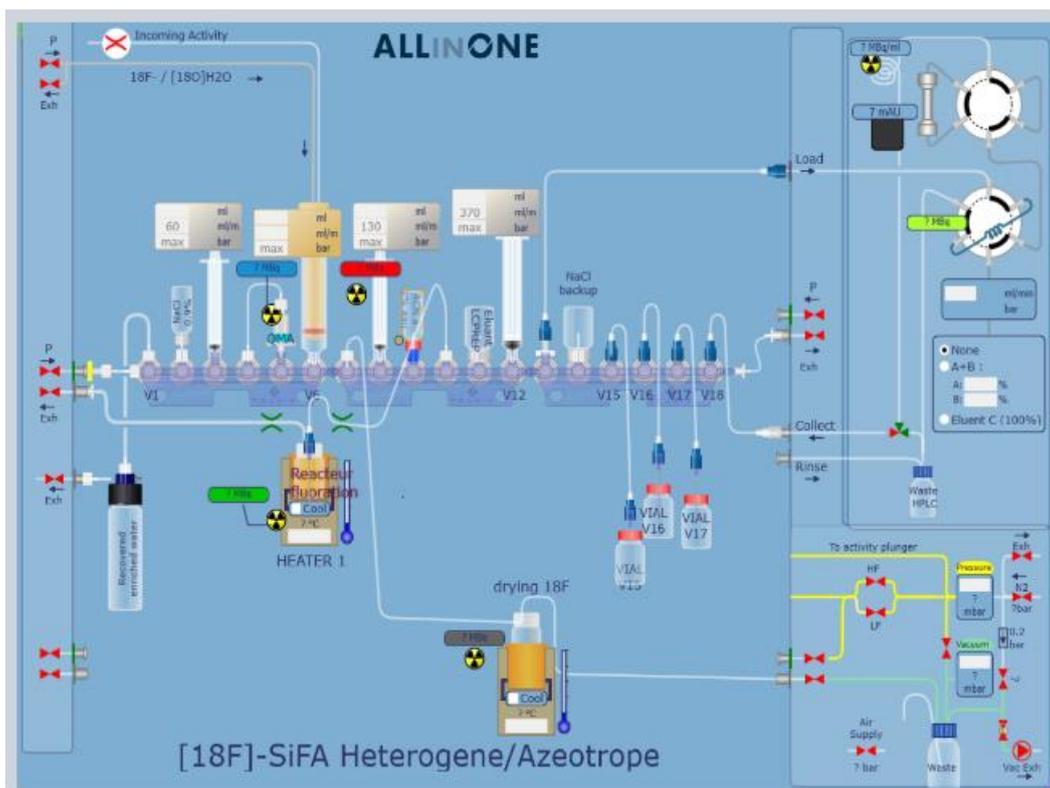
**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	16,888	76079180	1393989	100,000		M	

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]178$  after HPLC purification  
 ( $t_R$  PrepHPLC = 19 min)

**Synthesis of [<sup>18</sup>F]134 by using an azeotropic drying : proof of concept**

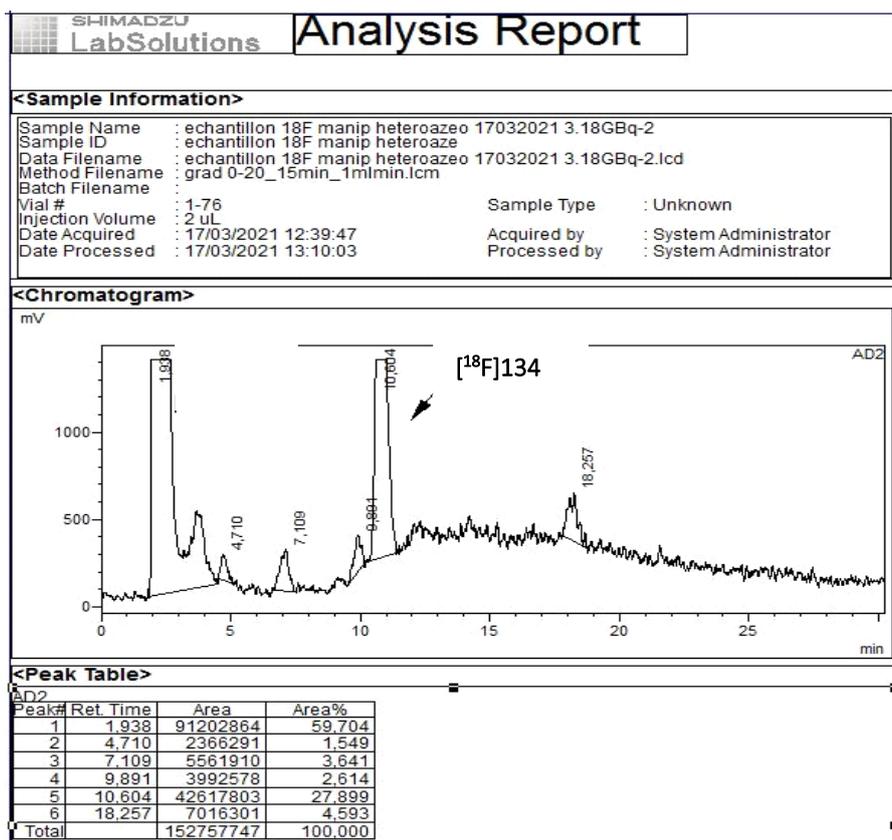
Polymer **PS-181** (5mg, 2.04 μmol, ≈0.41 mmol/g ImidSiFA grafted, ≈80% conversion for the CuAAC conjugation step) was added in the reaction vial (reactor R1) with **acetic acid (60 eq)** in **acetonitrile** (1.7 mL). Then, [<sup>18</sup>F]Fluoride was introduced into syringe 2 by using a needle on the left of the hot cell. [<sup>18</sup>F]Fluoride was trapped on an anion-exchange resin cartridge (Sep-Pak QMA light, Waters). The cartridge was eluted with an aqueous solution of NaCl (0.9% w/w, 400 μL) by using syringe 1 and the resulting saline solution was transferred to the reaction vial R2. The azeotropic drying was made inside the reactor 2 following this programm : 115°C, N<sub>2</sub> : 100 mbar LF, vacuum : -40 mbar, 80 s -> 125°C, N<sub>2</sub> : 100 mbar LF, vacuum : -40 mbar, 160 s -> 125°C, N<sub>2</sub> : 100 mbar LF, vacuum : -70 mbar, 20 s -> 110°C, N<sub>2</sub> : 800 mbar LF, vacuum : -1000 mbar, 100 s -> 95°C, N<sub>2</sub> : 500 mbar HF, vacuum : -1000 mbar, 110 s -> 95°C, N<sub>2</sub> : 1000 mbar HF, vacuum : -1000 mbar, 15 s -> 70°C, N<sub>2</sub> : 100 mbar LF, vacuum : -40 mbar. Then, the solvent was added to elute the content of reactor with acetonitrile with 1 or 5% of H<sub>2</sub>O to reactor 1 previously loaded. The pinches of the reactor were closed and the resulting mixture was allowed to react at **100°C** for **15min**. After this time, the mixture was cooled at 40°C and the content of the reactor 1 was eluted to the loop in order to purify [<sup>18</sup>F]134 using an HPLC semi-preparative set up (column : Kromasil C18).



Layout for the procedure containing an azeotropic drying

The following fluorination of **PS-181** (80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile with an estimation of 1% of H<sub>2</sub>O using the azeotropic drying procedure without the purification step. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min using the following programm: 70% of B (11 min) -> 75% of B (5 min) -> 75% of B (15 min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. (t<sub>R</sub> UV detection : 134 9.90 min at 230 nm, 178 30.50 min at 230 nm), (first synthesis of the desired radioproduct).

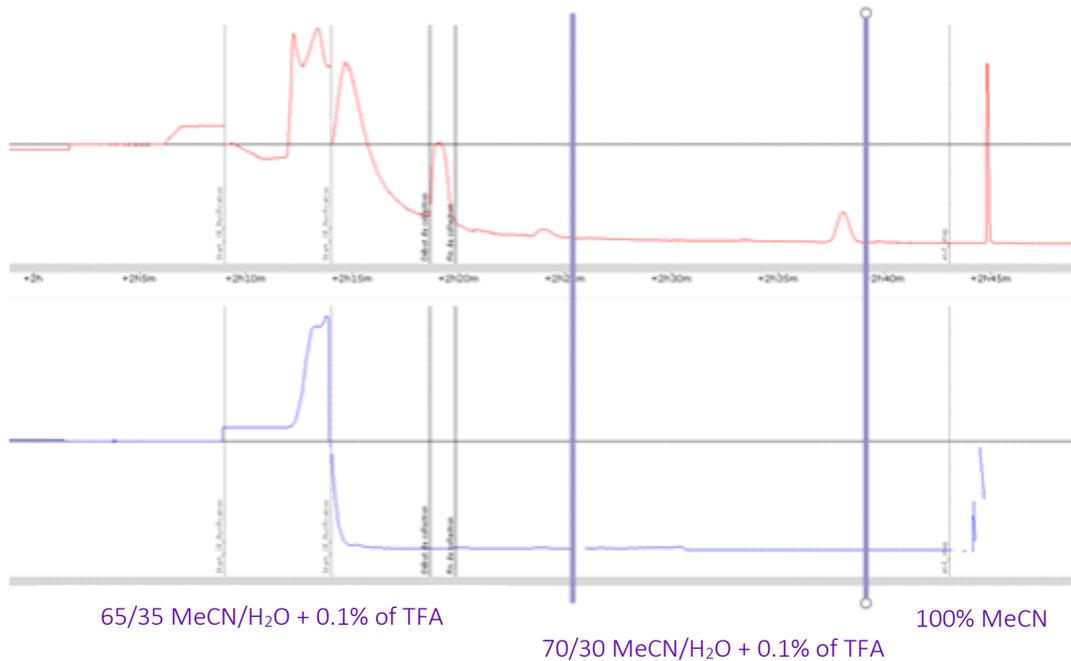
Experiment		YVX1.245
	Activity fixed on QMA	9.46 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R2	6.88 GBq
	Activity at the end of the drying step	6.3 GBq
t = 18 min	Activity received in R1 from R2 (1% of H <sub>2</sub> O)	1.56 GBq
t = 34 min	Activity in R1 (end of fluorination)	1.37 GBq
	t <sub>R</sub> radio detection 134	10.60 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	28%



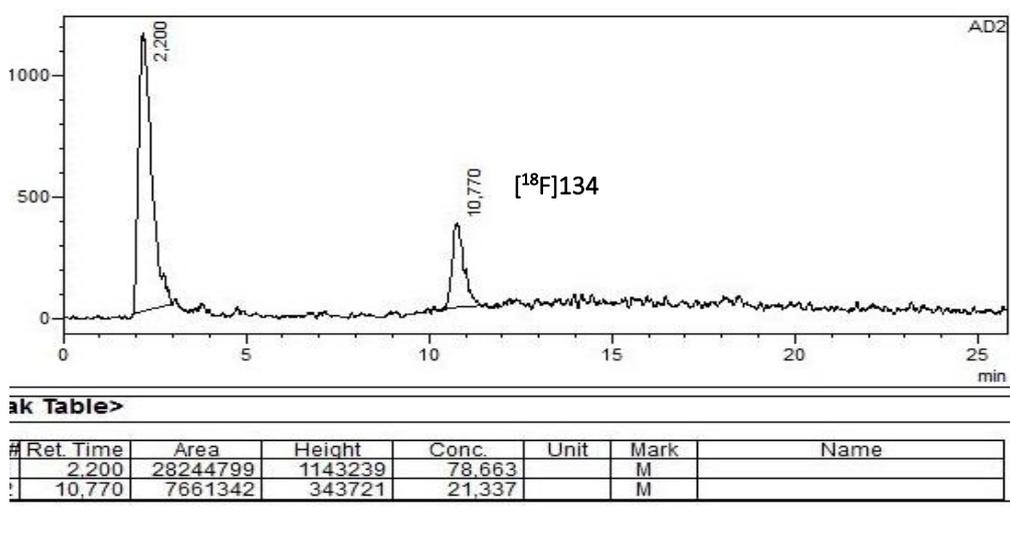
Analytic Radio HPLC chromatogram of the crude mixture

The following fluorination of **PS-181** (80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile with 5% of H<sub>2</sub>O at 100°C for 15min using **the azeotropic drying procedure** followed by a purification using a HPLC semi-preparative column Kromasil C18. The mixture was eluted with a mixture 65/35 MeCN/ H<sub>2</sub>O +0,1% of TFA. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min using the following programm: 70% of B (11 min) -> 75% of B (5 min) -> 75% of B (15 min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. (t<sub>R</sub> UV detection : 134 9.90 min at 230 nm, 178 30.50 min at 230 nm).

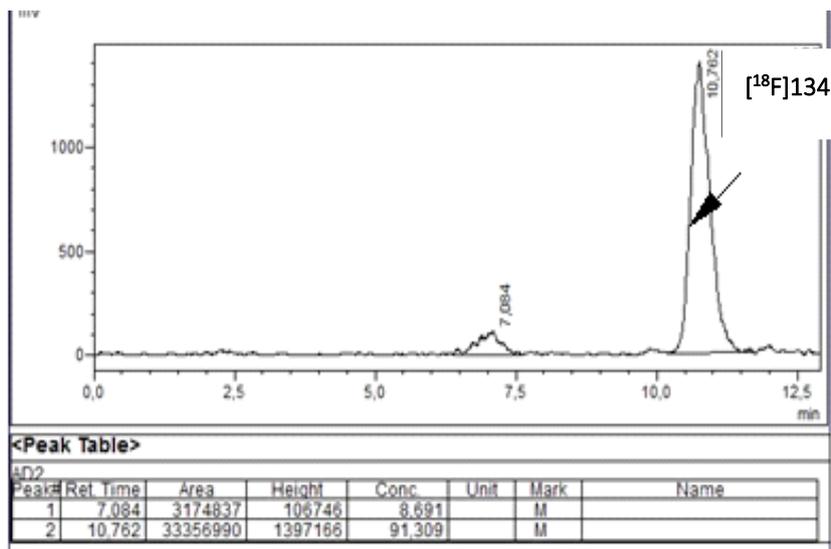
	Experiment	YVX1.246
	Activity fixed on QMA	9.35 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R2	7.63 GBq
t = 11 min	Activity at the end of the drying step	7.4 GBq
t = 23 min	Activity received in R1 from R2 (5% of H <sub>2</sub> O)	2.5 GBq
t = 43 min	Activity in R1 (end of fluorination)	2.2 GBq
t = 70 min	Activity collecting in vial F1 [ <sup>18</sup> F]134	181 MBq
	t <sub>R</sub> radio detection [ <sup>18</sup> F]134	10.76 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	91%
	Radiochemical Yield non decay corrected after the drying step	7 %
	Radiochemical Yield of [ <sup>18</sup> F]134 decay corrected after the drying step	11%
	Radiochemical Yield of [ <sup>18</sup> F]134 decay corrected before the drying step	12%



Radiochromatogram and chromatogram UV of the Semi-Preparative purification



Analytic Radio HPLC chromatogram of the crude

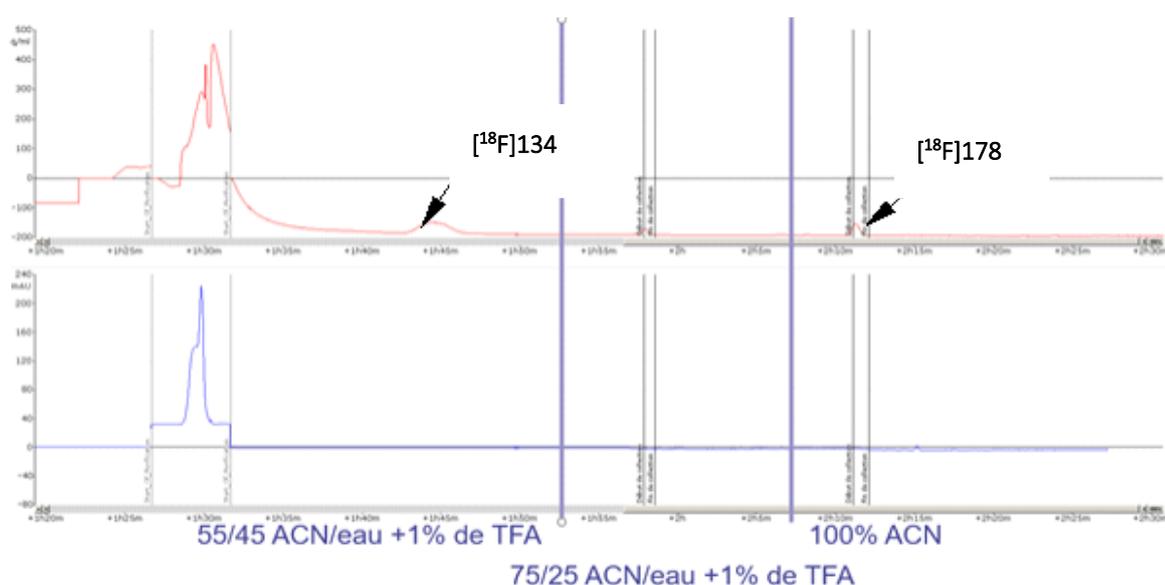


Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]134$  after HPLC purification

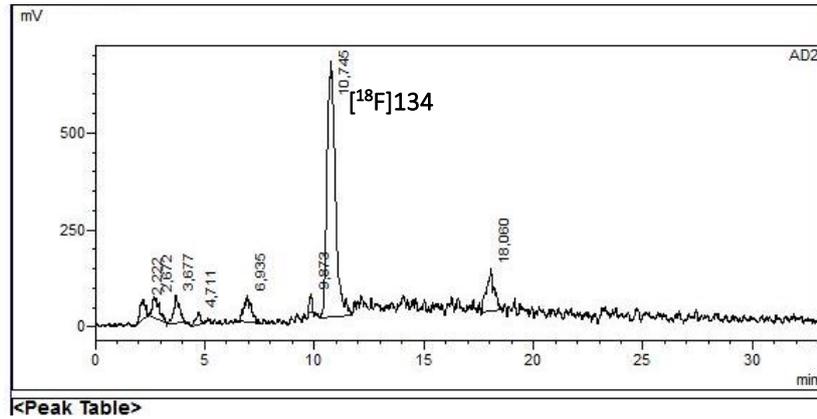
**The general batch procedure**

The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 2.04  $\mu$ mol, 80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) using **the general batch procedure** followed by a purification using a HPLC semi-preparative column Luna C18. The mixture was eluted with a mixture 65/35 MeCN/ H<sub>2</sub>O +0,1% of TFA. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. ( $t_R$  UV detection : **134** 9.90 min at 230 nm, **178** 30.50 min at 230 nm). Only the alkyne was collected.

	Experiment	YVX1.247
	Activity fixed on QMA	8.66 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	7.68 GBq
t = 17 min	Activity in R1 (end of fluorination)	6.92 GBq
t = 93 min	Activity collecting in vial F2 [ <b><sup>18</sup>F178</b>	21.7 MBq
	$t_R$ radio detection <b>134</b>	10.74 min
	Radiochemical purity [ <b><sup>18</sup>F134</b>	80%
	Radiochemical Yield of [ <b><sup>18</sup>F178 dc</b>	0.5%
	Radiochemical Yield total ndc	0.2%



Radiochromatogram and UV chromatogram Semi-Preparative purification



*Analytic Radio HPLC chromatogram of the crude*

## Partie expérimentale

The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 2.04  $\mu\text{mol}$ , 80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) using the general batch procedure with a QMA cartridge followed by a purification using a HPLC semi-preparative column Luna C18. The mixture was eluted with a mixture 65/35 MeCN/ H<sub>2</sub>O +0,1% of TFA. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. ( $t_R$  UV detection : **134** 9.90 min at 230 nm, **178** 30.50 min at 230 nm).

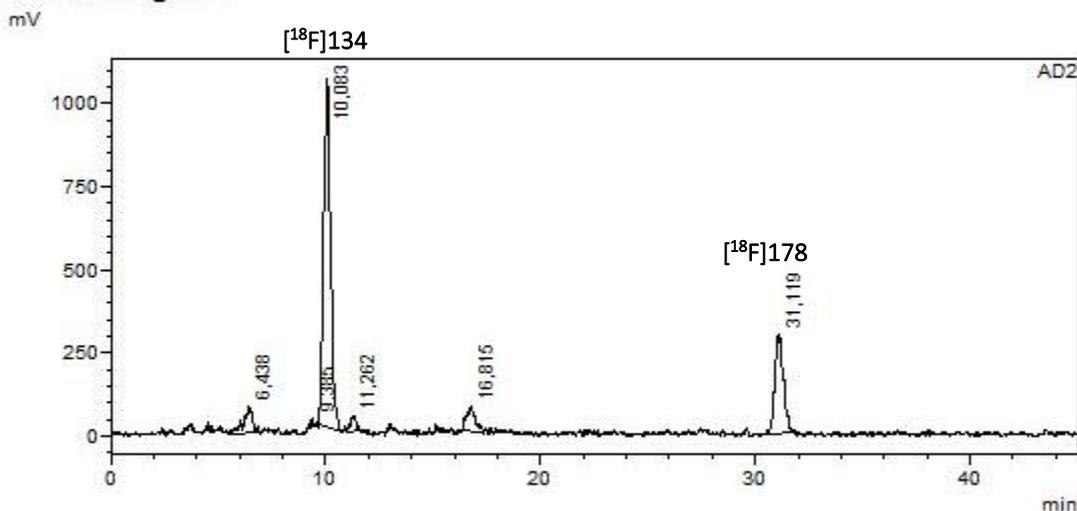
	Experiment	YVX1.249
	Activity fixed on QMA	10.9 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	8.9 GBq
t = 19 min	Activity in R1 (end of fluorination)	7.64 GBq
t = 34 min	Activity in the collecting vial QMA1 et 2	1500 MBq
	Pourcentage of [ <sup>18</sup> F]134 and [ <sup>18</sup> F]178	85%
	Activity Yield	14%
	Radiochemical Yield	21%
t = 94 min	Activity collecting in vial F1 [ <sup>18</sup> F]134	597 MBq*
t = 108 min	Activity collecting in vial F2 [ <sup>18</sup> F]178	166 MBg
	$t_R$ radio detection <b>134</b>	10.08 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	95%
	Radiochemical yield of [ <sup>18</sup> F]134 dc	12%
	$t_R$ radio detection [ <sup>18</sup> F]178	31.12 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]178	100%
	Radiochemical yield of [ <sup>18</sup> F]178 dc	4%
	Total activity yield	9%**
	Total radiochemical yield	16%

\*Activity collected was 209 MBq but according to the peak, only 35% of the peak has been collected.

\*\* Sum of both activity collected without any (despite different collecting times)

Sample Name : QMA2  
 Sample ID : QMA2  
 Data Filename : batch 25032021 bis\_25032021\_QMA2\_QMA2\_004.lcd  
 Method Filename : grad 70-75-95 1mlmin.lcm  
 Batch Filename : batch 25032021 bis.lcb  
 Vial # : 1-47  
 Injection Volume : 1 uL  
 Date Acquired : 25/03/2021 15:32:03  
 Date Processed : 25/03/2021 16:17:07  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

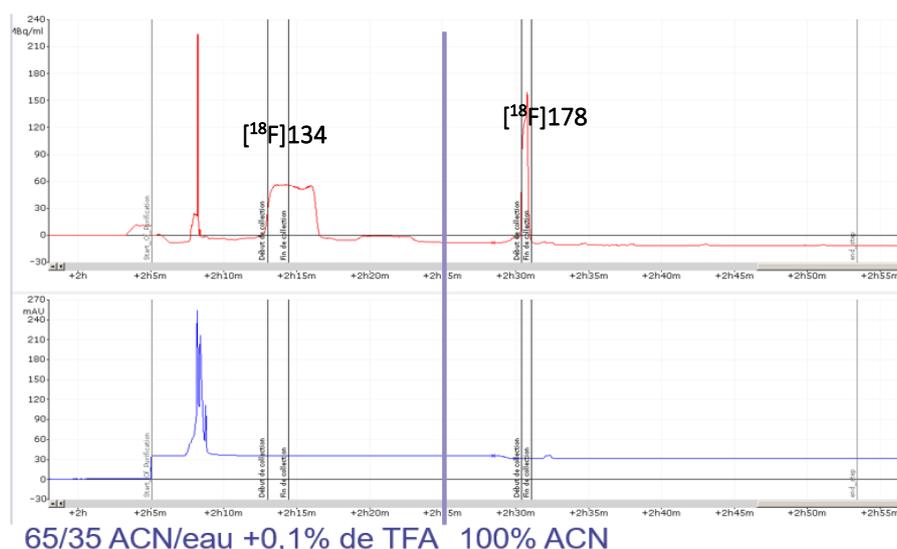
<Chromatogram>



<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	6,438	2348179	80799	6,367		M	
2	9,385	206212	24705	0,559		M	
3	10,083	23166272	1044038	62,819		M	
4	11,262	895194	48407	2,427		M	
5	16,815	1966316	74252	5,332		M	
6	31,119	8295916	294512	22,496		M	
Total		36878088	1566714				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]134$  after the purification on QMA

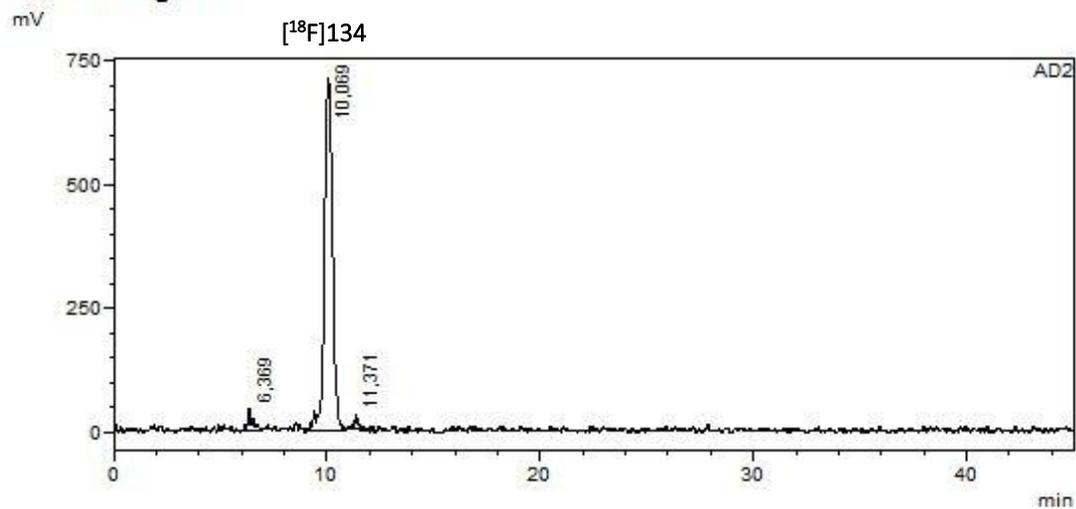


Radiochromatogram and chromatogram UV of the semi-preparative purification

<Sample Information>

Sample Name	: F1Prep 1	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: F1Prep 1	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 25032021 bis_25032021_F1Prep 1_F1Prep 1_005.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 25032021 bis.lcb		
Vial #	: 1-48		
Injection Volume	: 1 uL		
Date Acquired	: 25/03/2021 16:17:35		
Date Processed	: 25/03/2021 17:02:36		

<Chromatogram>



<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	6.369	724884	45450	3,677		M	
2	10.069	18798260	710215	95,344		M	
3	11.371	193173	27083	0,980		M	
Total		19716317	782748				

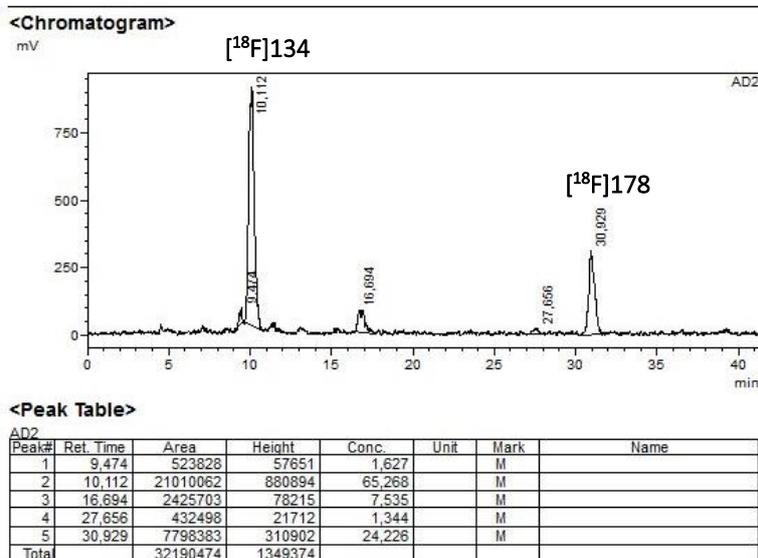
Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]134$  after semi-preparative purification

## Partie expérimentale

The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 2.04  $\mu\text{mol}$ , 80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) using the general batch procedure and a small seppak C18. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. ( $t_R$  UV detection : **134** 9.90 min at 230 nm, **178** 30.50 min at 230 nm).

	Experiment	YVX1.250
	Activity fixed on QMA	9.8 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	7.0 GBq
t = 19 min	Activity in R1 (end of fluorination)	6.2 GBq
t = 72 min	Activity in the collecting vial	755 MBq
	$t_R$ radio detection <b>134</b>	10.11 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F] <b>134</b>	65%
	$t_R$ radio detection [ <sup>18</sup> F] <b>178</b>	30.93 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F] <b>178</b>	24%
	Activity Yield	11%
	Radiochemical Yield	17%

Sample Name : V17.1 Pas saturé  
 Sample ID : V17.1  
 Data Filename : batch 26032021\_26032021\_V17.1 Pas saturé\_V17.1\_004.lcd  
 Method Filename : grad 70-75-95 1mlmin.lcm  
 Batch Filename : batch 26032021.lcb  
 Vial # : 1-63  
 Injection Volume : 0,5  $\mu\text{L}$   
 Date Acquired : 26/03/2021 14:23:00  
 Date Processed : 26/03/2021 15:04:18  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator



Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]**134** after the purification on Seppak C18

## Partie expérimentale

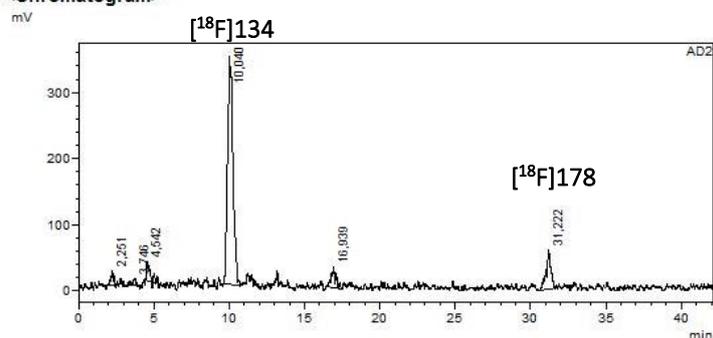
The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 2.04  $\mu\text{mol}$ , 80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 30 min with acetic acid (60eq) using the general batch procedure. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. ( $t_R$  UV detection : **134** 9.90 min at 230 nm, **178** 30.50 min at 230 nm).

	Experiment	YVX1.251
	Activity fixed on QMA	8.8 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	7.39 GBq
t = 24 min	Activity in R1 (end of fluorination)	5.82 GBq
t = 66 min	Activity in the collecting vial	940 MBq
	$t_R$ radio detection [ <sup>18</sup> F]134	10.04 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	76 %
	$t_R$ radio detection [ <sup>18</sup> F]178	31.22 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]178	11 %
	Activity Yield	12 %
	Radiochemical Yield	19 %

### <Sample Information>

Sample Name : V16 C18 nnsat  
 Sample ID : V16 C18 nnsat  
 Data Filename : batch\_30032021\_V16 C18 nnsat\_V16 C18 nnsat\_006.lcd  
 Method Filename : grad\_70-75-95\_1min.lcm  
 Batch Filename : batch\_30032021.lcb  
 Vial # : 1-31  
 Injection Volume : 1  $\mu\text{L}$   
 Date Acquired : 30/03/2021 16:23:53  
 Date Processed : 30/03/2021 17:06:00  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

### <Chromatogram>



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2.251	217943	20080	1.961		M	
2	3.746	129655	10124	1.167		M	
3	4.542	441331	28467	3.971		M	
4	10.040	8423774	343554	75.792		M	
5	16.939	630822	31623	5.676		M	
6	31.222	1270862	59827	11.434		M	
Total		11114387	493675				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]134 after the purification on Seppak C18

## Partie expérimentale

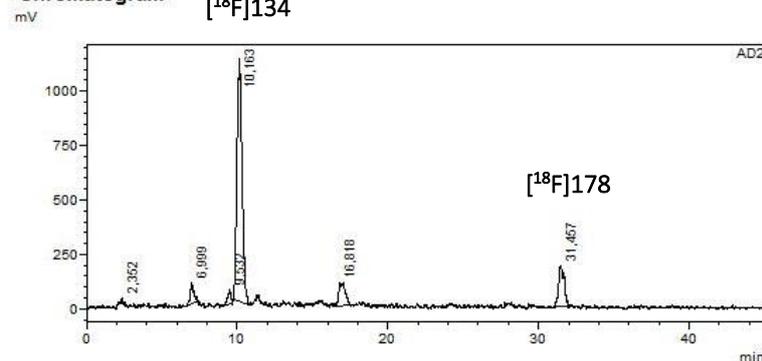
The following fluorination of **PS-181** (10 mg, 4.08  $\mu\text{mol}$ , 80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) using the general batch procedure. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = ME CN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. (t<sub>R</sub> UV detection : **134** 9.90 min at 230 nm, **178** 30.50 min at 230 nm).

Experiment		YVX1.255
	Activity fixed on QMA	11.6 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	10.07 GBq
t = 18 min	Activity in R1 (end of fluorination)	8.9 GBq
t = 61 min	Activity in the collecting vial	1.473 GBq
	t <sub>R</sub> radio detection [ <sup>18</sup> F]134	10.16 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	71 %
	t <sub>R</sub> radio detection [ <sup>18</sup> F]178	31.46 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]178	13 %
	Activity yield	12 %
	Radiochemical yield	17 %

### <Sample Information>

Sample Name	: V16	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V16	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 02042021_02042021_V16_V16_004.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 02042021.lcb		
Vial #	: 1-31		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 02/04/2021 14:36:04		
Date Processed	: 02/04/2021 15:21:06		

### <Chromatogram>



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2.352	280397	26818	0.756		M	
2	6.999	1596300	94808	4.303		M	
3	9.532	898161	62193	2.421		M	
4	10.163	26225569	1112539	70.691		M	
5	16.818	3254540	111236	8.773		M	
6	31.457	4844058	188883	13.057		M	
Total		37099026	1596476				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]134 after the purification on Seppak C18

## Partie expérimentale

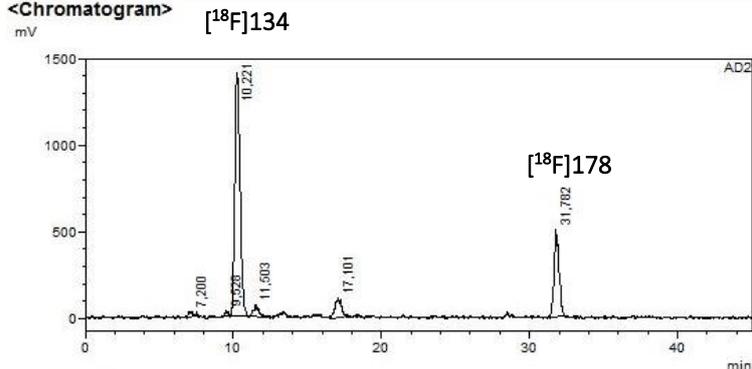
The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 2.04  $\mu\text{mol}$ , 80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (10eq) using the general batch procedure. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MECN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. (t<sub>R</sub> UV detection : 134 9.90 min at 230 nm, 178 30.50 min at 230 nm).

Experiment		YVX1.256
	Activity fixed on QMA	11.56 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	10.15 GBq
t = 16 min	Activity in R1 (end of fluorination)	9.4 GBq
t = 63 min	Activity in the collecting vial	1.254 GBq
	t <sub>R</sub> radio detection [ <sup>18</sup> F]134	10.22 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	67 %
	t <sub>R</sub> radio detection [ <sup>18</sup> F]178	31.78 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]178	22 %
	Radiochemical Yield	11%
	Radiochemical Yield decay corrected	16 %

### <Sample Information>

Sample Name : V16 1 lavage SEPPAK  
 Sample ID : V16  
 Data Filename : batch 06042021\_06042021\_V16 1 lavage SEPPAK\_V16\_001.lcd  
 Method Filename : grad 70-75-95 1minmin.lcm  
 Batch Filename : batch 06042021.lcb  
 Vial # : 1-61  
 Injection Volume : 1  $\mu\text{L}$   
 Date Acquired : 06/04/2021 12:03:06  
 Date Processed : 06/04/2021 12:48:09  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

### <Chromatogram>



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	7.200	569626	27372	1.102		M	
2	9.528	457666	33407	0.885		M	
3	10.221	34594062	1402375	66.921		M	
4	11.503	1344998	63511	2.602		M	
5	17.101	3257368	113688	6.301		M	
6	31.782	11470336	504477	22.189		M	
Total		51694055	2144830				

Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18

## Partie expérimentale

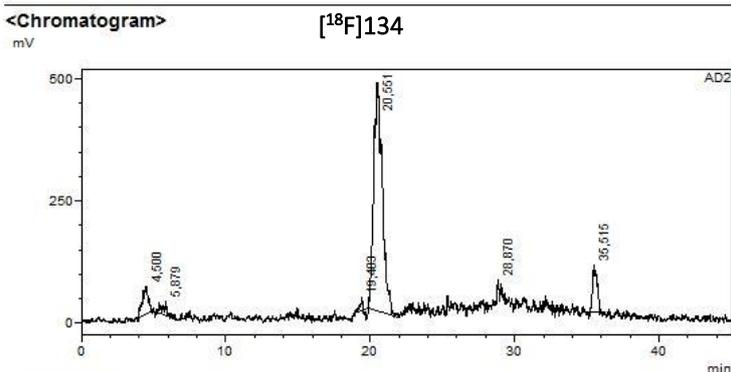
The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 2.04  $\mu\text{mol}$ , 80% of “clicked” AZT) was performed in tetrahydrofuran at 100°C for 15min with acetic acid (10eq) using **the general batch procedure**. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 0.5mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. (t<sub>R</sub> UV detection : 134 9.90 min at 230 nm, 178 30.50 min at 230 nm).

Experiment		YVX1.258
	Activity fixed on QMA	7.75 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	7.60 GBq
t = 17 min	Activity in R1 (end of fluorination)	6.32 GBq
t = 60 min	Activity in the collecting vial	452 MBq
	t <sub>R</sub> radio detection [ <sup>18</sup> F]134	20.55 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	81 %
	t <sub>R</sub> radio detection [ <sup>18</sup> F]178	35.52 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]178	8 %
	Activity yield	5 %
	Radiochemical yield	8 %

### <Sample Information>

Sample Name : V16 1 lavage SEPPAK  
 Sample ID : V16  
 Data Filename : batch 07042021\_07042021\_V16 1 lavage SEPPAK\_V16\_001.lcd  
 Method Filename : grad 70-75-95 1ml/min.lcm  
 Batch Filename : batch 07042021.lcb  
 Vial# : 1-1  
 Injection Volume : 0,5 uL  
 Date Acquired : 07/04/2021 11:53:40  
 Date Processed : 07/04/2021 12:38:42  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

### <Chromatogram>



### <Peak Table>

AD2	Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
	1	4.500	1579997	55322	6.598		M	
	2	5.879	730030	28646	3.049		M	
	3	19.403	92754	28430	0.387		M	
	4	20.551	19447564	466484	81.211		M	
	5	28.870	134283	19156	0.561		M	
	6	35.515	1962270	97150	8.194		M	
	Total		23946899	695190				

Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18

## Partie expérimentale

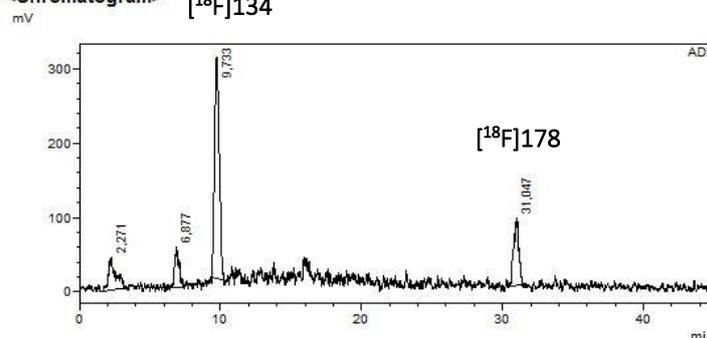
The following fluorination of **PS-181** (2.5 mg, 1.02  $\mu\text{mol}$ , 80% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (10eq) using **the general batch procedure**. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. ( $t_R$  UV detection : 134 9.90 min at 230 nm, 178 30.50 min at 230 nm).

	Experiment	YVX1.260
	Activity fixed on QMA	8.2 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	8.05 GBq
t = 20 min	Activity in R1 (end of fluorination)	7.05 GBq
t = 60 min	Activity in the collecting vial	796 MBq
	$t_R$ radio detection [ <sup>18</sup> F]134	9.73 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	58 %
	$t_R$ radio detection [ <sup>18</sup> F]178	31.05 min
	Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]178	19 %
	Activity yield	8 %
	Radiochemical yield	11 %

### <Sample Information>

Sample Name : V16 1 lavage SEPPAK  
 Sample ID : V16  
 Data Filename : batch 09042021\_09042021\_V16 1 lavage SEPPAK\_V16\_001.lcd  
 Method Filename : grad 70-75-95 1mlmin.lcm  
 Batch Filename : batch 09042021.lcb  
 Vial # : 1-31  
 Injection Volume : 0,5 uL  
 Date Acquired : 09/04/2021 12:00:13  
 Date Processed : 09/04/2021 12:45:17  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

### <Chromatogram> [<sup>18</sup>F]134



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2,271	1540647	43765	12,916		M	
2	6,877	1109458	54079	9,301		M	
3	9,733	6965676	297339	58,399		M	
4	31,047	2311997	90797	19,383		M	
Total		11927778	485979				

Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18

## Partie expérimentale

The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 1.89  $\mu\text{mol}$ , 100% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 5min with acetic acid (10eq) using the general batch procedure. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid.

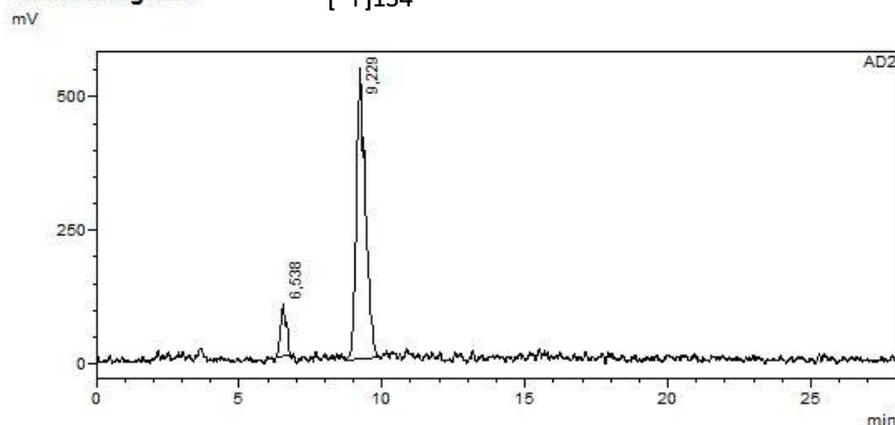
Experiment		YVX1.273
	Activity fixed on QMA	11.26 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	10.2 GBq
t = 8 min	Activity in R1 (end of fluorination)	9.6 GBq
t = 36 min	Activity in the collecting vial	710 MBq
	t <sub>R</sub> radio detection	9.23 min
	Radiochemical purity	90%
	Activity yield	7 %
	Radiochemical yield	9 %

### <Sample Information>

Sample Name	: V15 1 lavage SEPPAK non sat	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V15 0.9MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 27042021_27042021_V15 1 lavage SEPPAK non sat_V15 0.9MBq_006.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm		
Batch Filename	: batch 27042021.lcb		
Vial #	: 1-1		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 27/04/2021 14:28:05		
Date Processed	: 27/04/2021 14:56:08		

### <Chromatogram>

[<sup>18</sup>F]134



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	6,538	1339040	97303	10,024		M	
2	9,229	12019333	542683	89,976		M	
Total		13358374	639986				

Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18

## Partie expérimentale

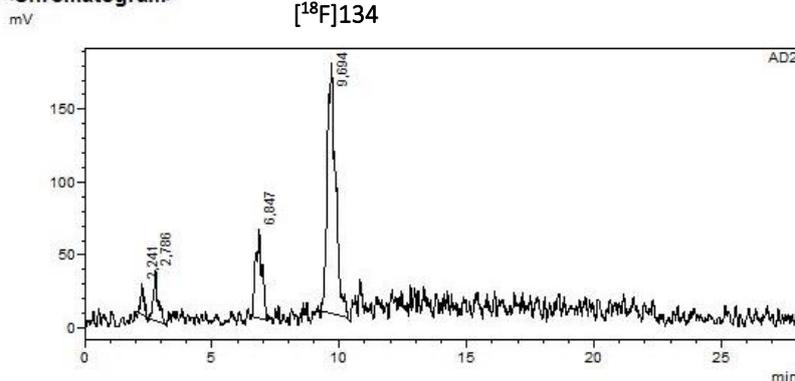
The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 1.89  $\mu\text{mol}$ , 100% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 50°C for 15min with acetic acid (10eq) using the general batch procedure. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid.

Experiment		YVX1.275
	Activity fixed on QMA	10.85 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	10.09 GBq
t = 16 min	Activity in R1 (end of fluorination)	9.3 GBq
t = 40 min	Activity in the collecting vial	379 MBq
	t <sub>R</sub> radio detection	9.69 min
	Radiochemical purity	70%
	Activity yield	4%
	Radiochemical Yield decay corrected	5%

### <Sample Information>

Sample Name	: V15 1 lavage SEPPAK	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V15 0.15MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 28042021_28042021_V15 1 lavage SEPPAK_V15 0.15MBq_001.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm		
Batch Filename	: batch 28042021.lcb		
Vial #	: 1-1		
Injection Volume	: 2 $\mu\text{L}$		
Date Acquired	: 28/04/2021 11:48:17		
Date Processed	: 28/04/2021 12:16:20		

### <Chromatogram>



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2.241	173748	21608	3.127		M	
2	2.786	456858	34727	8.222		M	
3	6.847	1039586	61163	18.709		M	
4	9.694	3886426	171474	69.942		M	
Total		5556818	288971				

Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18

The following fluorination of **PS-181** (5 mg, 2.04  $\mu$ mol, 80% of “clicked” AZT) already preprotonated resin (mixed with acetic acid, washed and) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min using **the formulation procedure**. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min)-> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of Trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of Trifluoroacetic acid. ( $t_R$  UV detection : 134 9.90 min at 230 nm, 178 30.50 min at 230 nm). The formulation step was realised using the formulation procedure with only one HLB cartridge.

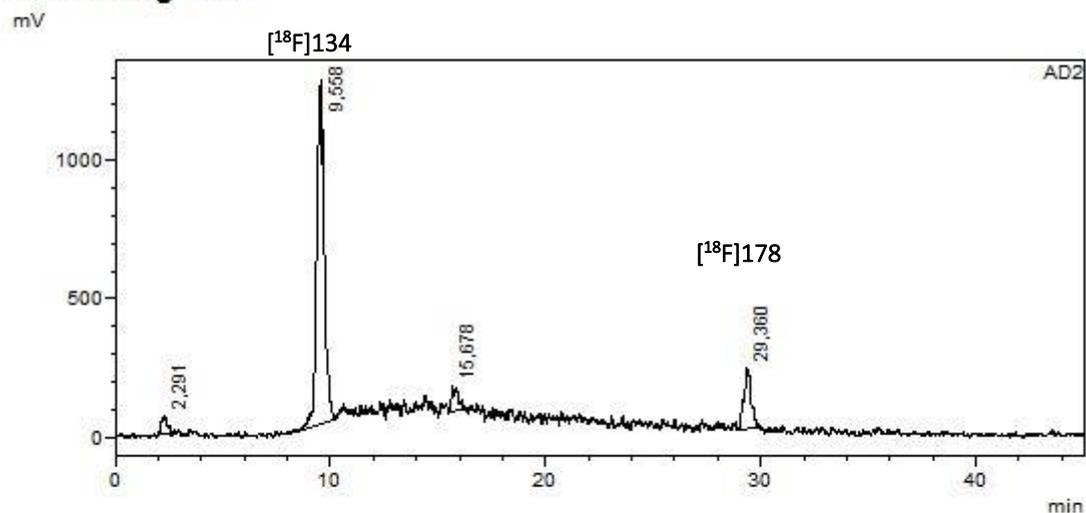
		Experiment	YVX1.286	
		Activity fixed on QMA	8.57 GBq	
t = 0 min	Activity eluted in R1		8.1 GBq	
t = 16 min	Activity in R1 (end of fluorination)		7.34 GBq	
t = 40 min	Activity in the collecting vial		601 MBq	
		$t_R$ radio detection [ <sup>18</sup> F]134	9.56 min	
		Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]134	79%	
		$t_R$ radio detection [ <sup>18</sup> F]178	29.36 min	
		Radiochemical purity [ <sup>18</sup> F]178	13 %	
		Radiochemical purity	92%	
		Activity yield	7%	
		Radiochemical yield	10%	
t = 51 min	Activity in the collecting vial		143 MBq	
		Radiochemical purity	[ <sup>18</sup> F]134	82%
			[ <sup>18</sup> F]178	12%
		Activity yield	2%	
		Radiochemical yield	2%	

Formulation step

**<Sample Information>**

Sample Name	: V14 elution Seppak	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 0.7MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 18052021_18052021_V14 elution Seppak_V14 0.7MBq_002.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 18052021.lcb		
Vial #	: 1-62		
Injection Volume	: 2 uL		
Date Acquired	: 18/05/2021 12:43:03		
Date Processed	: 18/05/2021 13:28:05		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

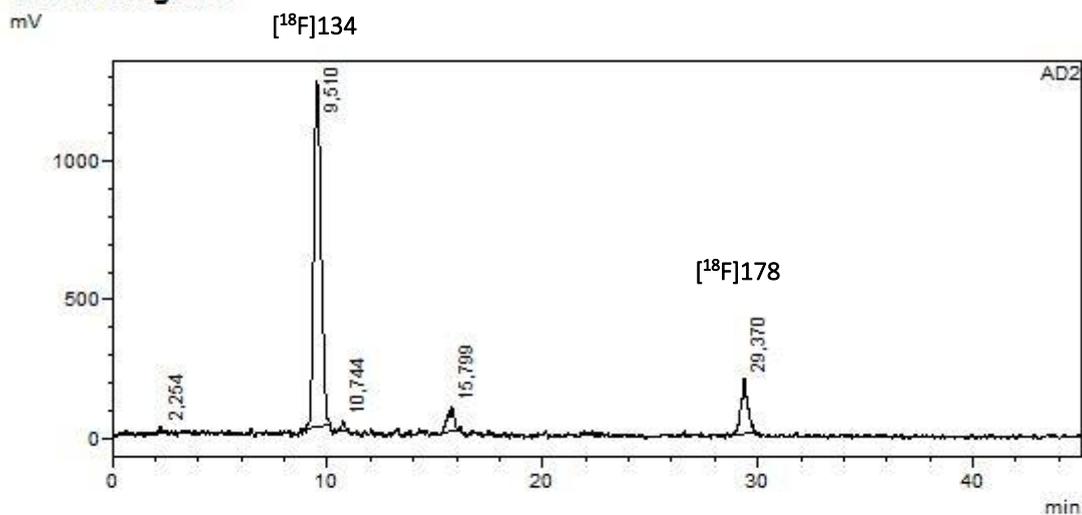
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2,291	1279428	65662	3,386		M	
2	9,558	29666109	1240511	78,519		M	
3	15,678	1803667	93483	4,774		M	
4	29,360	5032799	218966	13,321		M	
Total		37782003	1618622				

*Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18*

**<Sample Information>**

Sample Name	: V32 Formulation	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V32 0.5MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 18052021_18052021_V32 Formulation_V32 0.5MBq_003.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 18052021.lcb		
Vial #	: 1-61		
Injection Volume	: 1 uL		
Date Acquired	: 18/05/2021 13:28:33		
Date Processed	: 18/05/2021 14:13:35		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2,254	180640	23447	0,501		M	
2	9,510	29441109	1241591	81,634		M	
3	10,744	323983	31493	0,898		M	
4	15,799	1810893	82177	5,021		M	
5	29,370	4308023	200576	11,945		M	
<b>Total</b>		<b>36064649</b>	<b>1579284</b>				

*Analytic Radio HPLC chromatogram after formulation*

## Partie expérimentale

The following fluorinations of **PS-181** (5 mg) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min using **the formulation procedure**. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 75% of B (4min) -> 75% of B (20min) -> 95% of B (5min) -> 95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% de trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% de trifluoroacetic acid ( $t_R$  UV detection : 6.64 min at 230 nm).

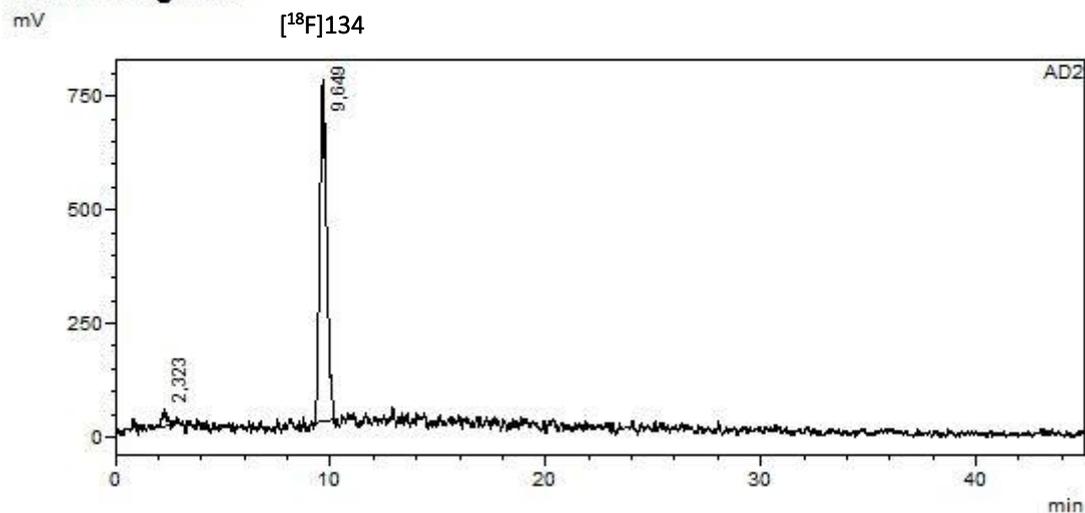
The polymer used was fully “clicked” with the AZT compound. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 95% of B (9 min) -> 95% of B (5 min)-> 70% of B (3 min) avec A = H<sub>2</sub>O + 0,1% de trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% de trifluoroacetic acid ( $t_R$  UV detection : 6.64 min at 230 nm).

	Experiment	YVX1.262	YVX1.276	YVX1.277	YVX1.281	
	Quantity of <b>PS-181</b> (μmol)	2.04	1.89	1.89	1.89	
	% of “clicked” AZT	80%	100%	100%	100%	
	Acetic acid	60 eq	10eq	10 eq	10 eq	
	Activity fixed on QMA	9.29 GBq	11.25 GBq	10.25 GBq	10.39 GBq	
t = 0 min	Activity eluted in R1	8.9 GBq	10.4 GBq	9.6 GBq	9.95 GBq	
	Activity in R1 (end of fluorination)	7.8 GBq (19 min)	9.31 GBq (17 min)	8.66 GBq (17 min)	8.7 GBq (18 min)	
	Activity in the collecting vial	780 MBq (54 min)	1.181 GBq (40 min)	742 MBq (40 min)	849 GBq (41 min)	
	$t_R$ radio detection	9.65 min	9.03 min	9.06 min	9.03 min	
	Radiochemical purity	<92%	<98%	<96%	<97%	96%
	Radiochemical Yield	9%	11%	8%	9%	9 ± 2
	Radiochemical Yield decay corrected	12%	15%	10%	11%	12 ± 3
Formulation Step	Activity in the collecting vial	438 MBq (128 min)	630 MBq (61 min)	374 MBq (58 min)	410 MBq (51 min)	
	Radiochemical purity	<97%	<98%	<97%	<97%	97%
	Radiochemical Yield	5%	6%	4%	4%	5 ± 1
	Radiochemical Yield decay corrected	8%	9%	6%	6%	7 ± 2

**<Sample Information>**

Sample Name	: V14 Après Seppak1µL	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 13042021_13042021_V14 Après Seppak1µL_V14_002.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 13042021.lcb		
Vial #	: 1-61		
Injection Volume	: 1 µL		
Date Acquired	: 13/04/2021 12:35:17		
Date Processed	: 13/04/2021 13:20:19		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

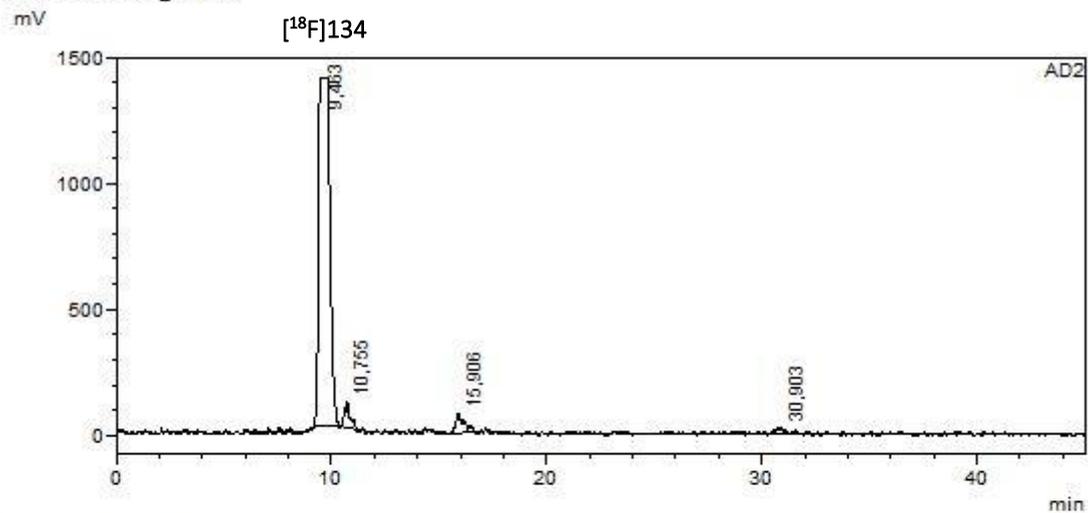
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2.323	488299	35838	2.866		M	
2	9.649	16546526	753009	97.134		M	
Total		17034825	788847				

*Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18 (YVX1.262)*

**<Sample Information>**

Sample Name	: V32 Après formulation	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V32	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 13042021_13042021_V32 Après formulation_V32_003.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 13042021.lcb		
Vial #	: 1-62		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 13/04/2021 13:20:47		
Date Processed	: 13/04/2021 14:05:49		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

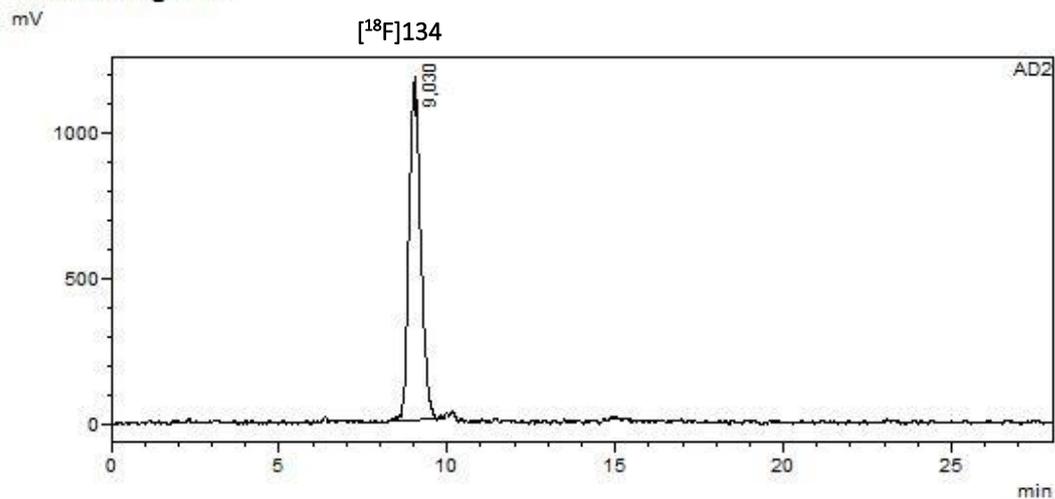
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	9,463	49847768	1376992	91,628		M	
2	10,755	1812354	103251	3,331		M	
3	15,906	2132759	77547	3,920		M	
4	30,903	609683	26029	1,121		M	
<b>Total</b>		<b>54402563</b>	<b>1583819</b>				

Analytic Radio HPLC chromatogram after the formulation (YVX1.262)

**<Sample Information>**

Sample Name	: V14 Pré-Formulation	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 0.2MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 29042021_29042021_V14 Pré-Formulation_V14 0.2MBq_002.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm		
Batch Filename	: batch 29042021.lcb		
Vial #	: 1-2		
Injection Volume	: 2 uL		
Date Acquired	: 29/04/2021 12:11:04		
Date Processed	: 29/04/2021 12:39:06		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

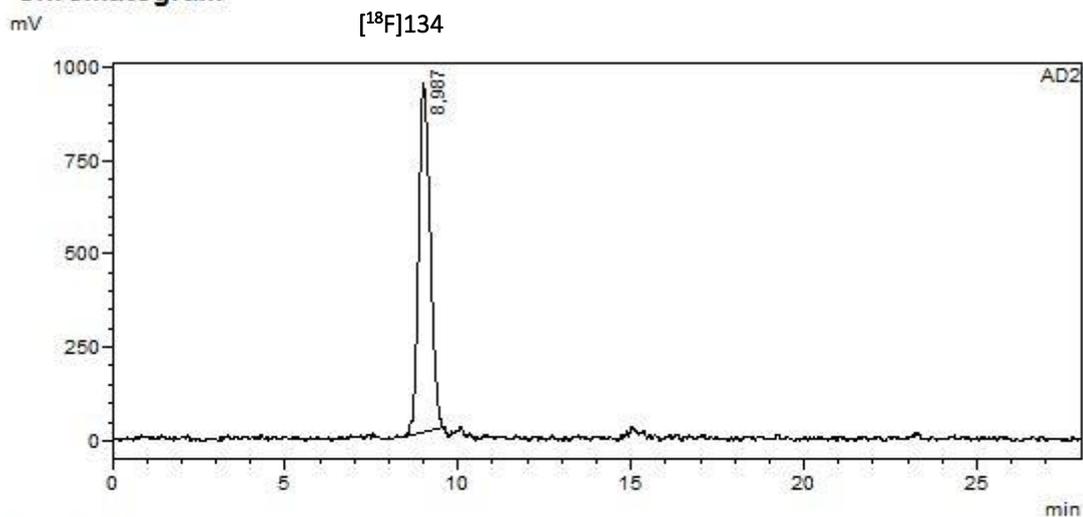
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	9.030	28231396	1171137	100,000		M	
Total		28231396	1171137				

*Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18 (YVX1.276)*

**<Sample Information>**

Sample Name	: V32 Formulation	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V32 0.2MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 29042021_29042021_V32 Formulation_V32 0.2MBq_003.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm		
Batch Filename	: batch 29042021.lcb		
Vial #	: 1-1		
Injection Volume	: 1 uL		
Date Acquired	: 29/04/2021 12:39:34		
Date Processed	: 29/04/2021 13:07:37		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

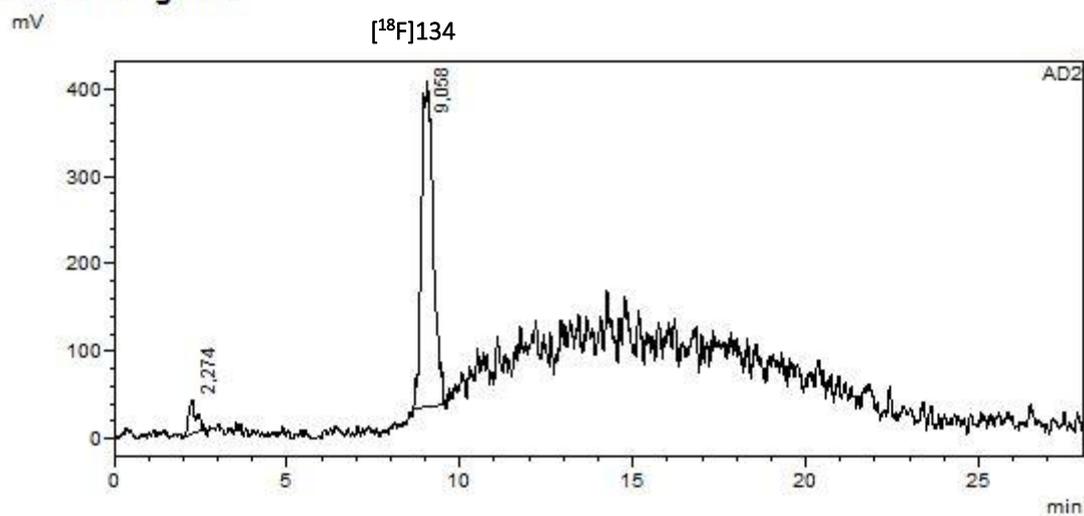
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	8,987	21821443	932763	100,000		M	
Total		21821443	932763				

*Analytic Radio HPLC chromatogram after the formulation step (YVX1.276)*

**<Sample Information>**

Sample Name : V14 Pré-Formulation  
 Sample ID : V14 0.4MBq  
 Data Filename : batch 30042021\_30042021\_V14 Pré-Formulation\_V14 0.4MBq\_002.lcd  
 Method Filename : grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm  
 Batch Filename : batch 30042021.lcb  
 Vial # : 1-32  
 Injection Volume : 2 uL  
 Date Acquired : 30/04/2021 12:18:18  
 Date Processed : 30/04/2021 12:46:21  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

AD2

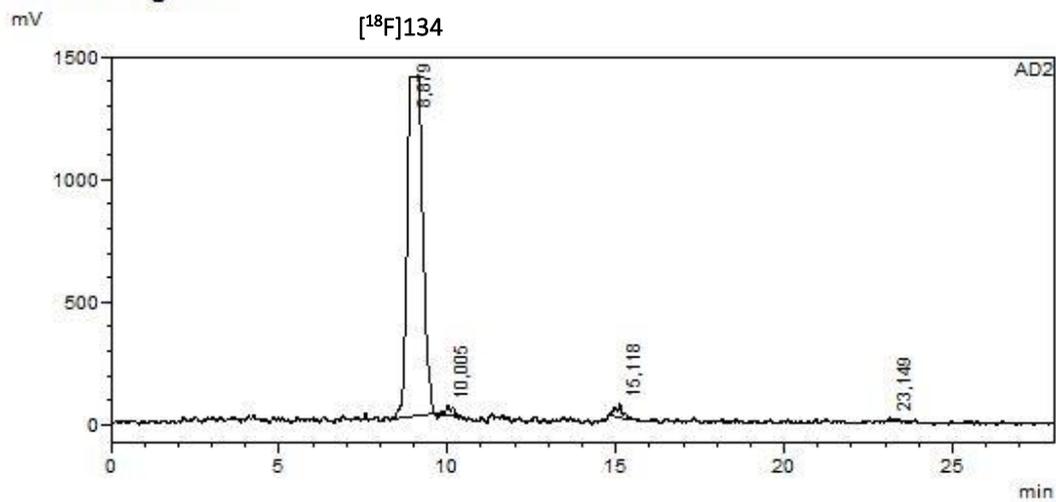
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2,274	556692	38132	5,969		M	
2	9,058	8769942	370564	94,031		M	
Total		9326635	408696				

*Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18 (YVX1.277)*

**<Sample Information>**

Sample Name	: V32 Formulation	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V32 1.6MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 30042021_30042021_V32 Formulation_V32 1.6MBq_004.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm		
Batch Filename	: batch 30042021.lcb		
Vial #	: 1-31		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 30/04/2021 13:15:17		
Date Processed	: 30/04/2021 13:43:19		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

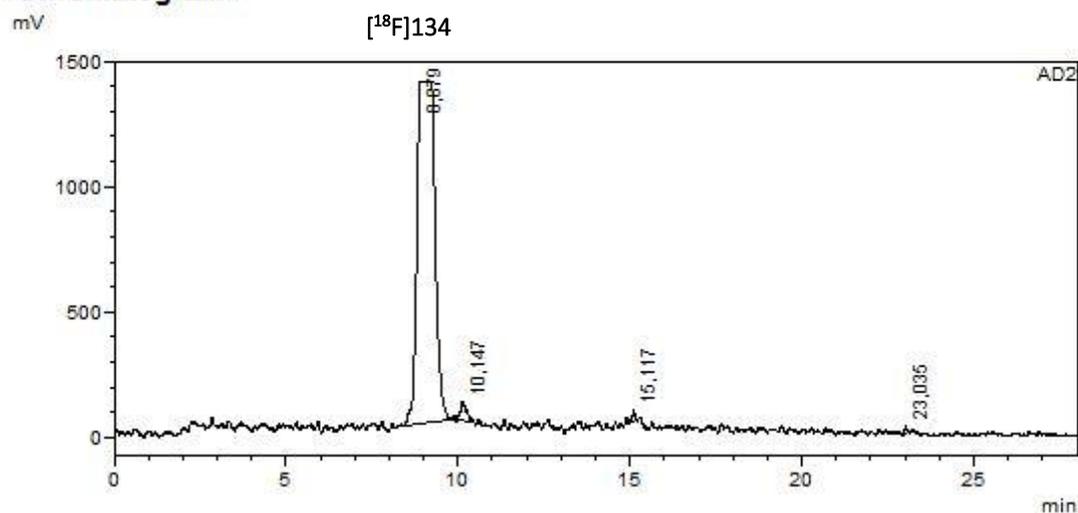
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	8,879	44209335	1384383	97,280		M	
2	10,005	429487	40272	0,945		M	
3	15,118	797779	53496	1,755		M	
4	23,149	9072	12676	0,020		M	
<b>Total</b>		<b>45445673</b>	<b>1490828</b>				

*Analytic Radio HPLC chromatogram after the formulation step (YVX1.277)*

**<Sample Information>**

Sample Name	: V14 Pré-Formulation	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 1.2MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 04052021_V14 Pré-Formulation_V14 1.2MBq_003.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm		
Batch Filename	: batch 04052021.lcb		
Vial #	: 1-62		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 04/05/2021 11:37:03		
Date Processed	: 04/05/2021 12:05:04		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

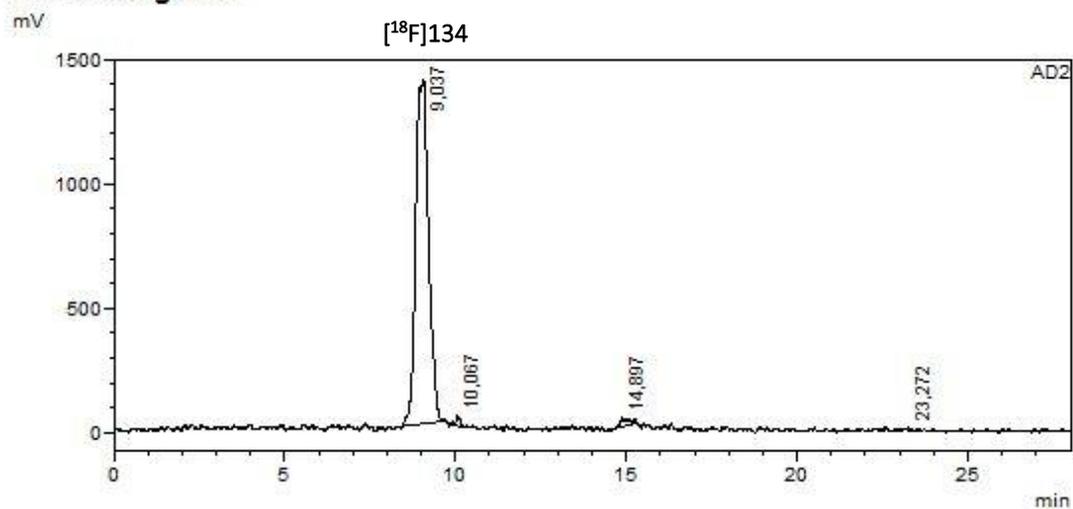
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	8,879	48558245	1362393	97,433		M	
2	10,147	830266	74103	1,666		M	
3	15,117	339421	48688	0,681		M	
4	23,035	109841	28972	0,220		M	
Total		49837772	1514155				

*Analytic Radio HPLC chromatogram after the purification on Seppak C18 (YVX1.281)*

**<Sample Information>**

Sample Name	: V32 Formulation	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V32 0.2MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 04052021_04052021_V32 Formulation_V32 0.2MBq_004.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm		
Batch Filename	: batch 04052021.lcb		
Vial #	: 1-61		
Injection Volume	: 1 uL		
Date Acquired	: 04/05/2021 12:05:32		
Date Processed	: 04/05/2021 12:33:34		

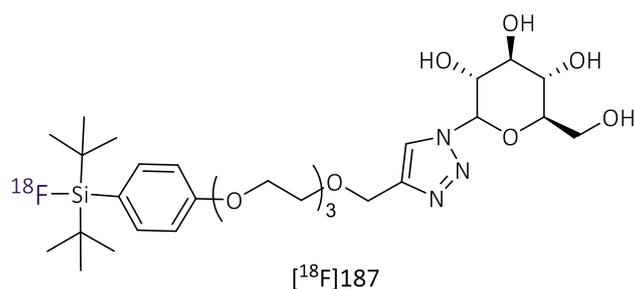
**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	9,037	36206331	1377187	97,581		M	
2	10,067	367189	39927	0,990		M	
3	14,897	507332	34425	1,367		M	
4	23,272	23065	8984	0,062		M	
Total		37103917	1460523				

Analytic Radio HPLC chromatogram after the formulation step (YVX1.281)

**$^{18}\text{F}$ -SiFA-Glucose derivative : [ $^{18}\text{F}$ ]187**

The following fluorinations of **PS-186** (5 mg, 1.89  $\mu\text{mol}$ , 100% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) using the general batch procedure. The analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of formic acid and B = MeCN + 0,1% of formic acid. ( $t_{\text{R}}$  UV detection : 6.64 min at 230 nm).

Experiment		YVX1.362	YVX1.363	YVX1.364	
	Activity fixed on QMA	6.61 GBq	11. 26 GBq	7.75 GBq	
t = 0 min	Activity eluted in R1	6.54 GBq	10.94 GBq	7.80 GBq	
	Activity in R1 (end of fluorination)	5.82 GBq (17 min)	9.51 GBq (19 min)	7.15 GBq (17 min)	
	Activity in the collecting vial	845 MBq (40 min)	1269 MBq (45 min)	1173 MBq (39 min)	
	$t_{\text{R}}$ radio detection	6.04 min (sat)	7.09 min	7.07 min	
	Radiochemical purity	<98%	<98%	<98%	<98%
	Radiochemical Yield	13 %	12 %	15%	13 $\pm$ 2
	Radiochemical Yield decay corrected	17 %	15 %	19%	17 $\pm$ 2

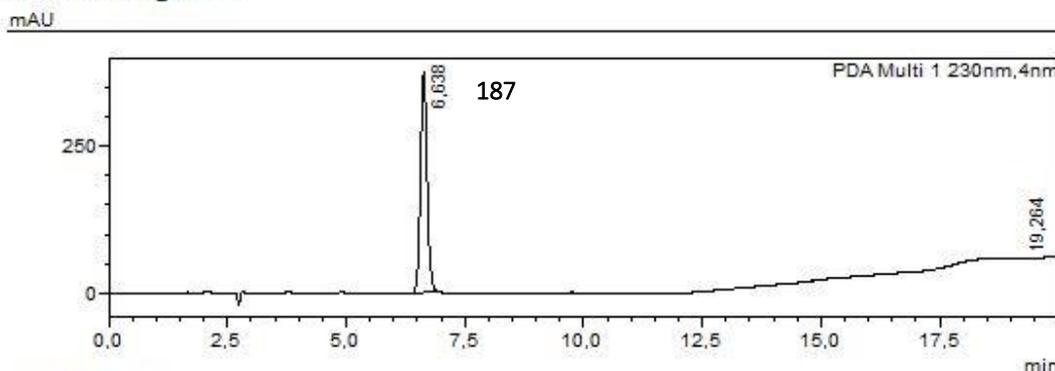


# Analysis Report

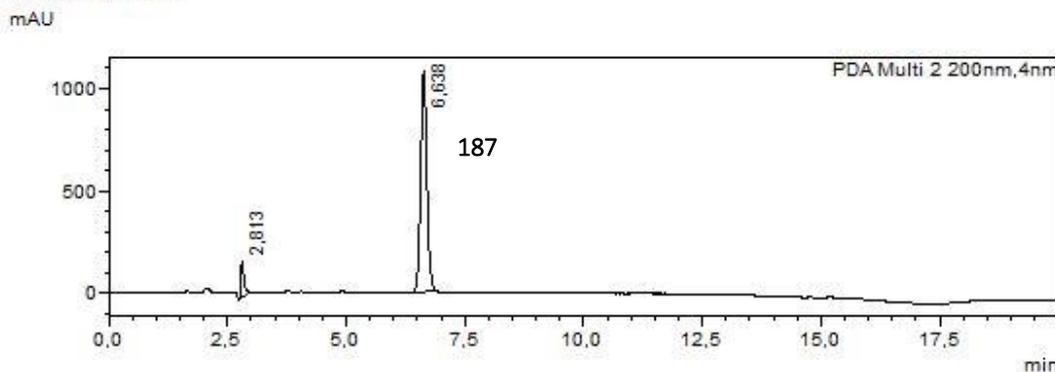
## <Sample Information>

Sample Name	: Ref sucre	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Ref sucre		
Data Filename	: Ref sucre.lcd		
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 20minrun sucre.lcm		
Batch Filename	:		
Vial #	: 1-61		
Injection Volume	: 5 uL	Acquired by	: System Administrator
Date Acquired	: 30/09/2021 10:24:25	Processed by	: System Administrator
Date Processed	: 30/09/2021 10:44:28		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>



PDA Ch1 230nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,638	3708957	374727	0,000
2	19,264	7028	614	0,000
Total		3715985	375341	

PDA Ch2 200nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	2,813	818526	176968	0,000
2	6,638	10178248	1081875	0,000
Total		10996774	1258843	

Chromatogramm UV of **187** reference

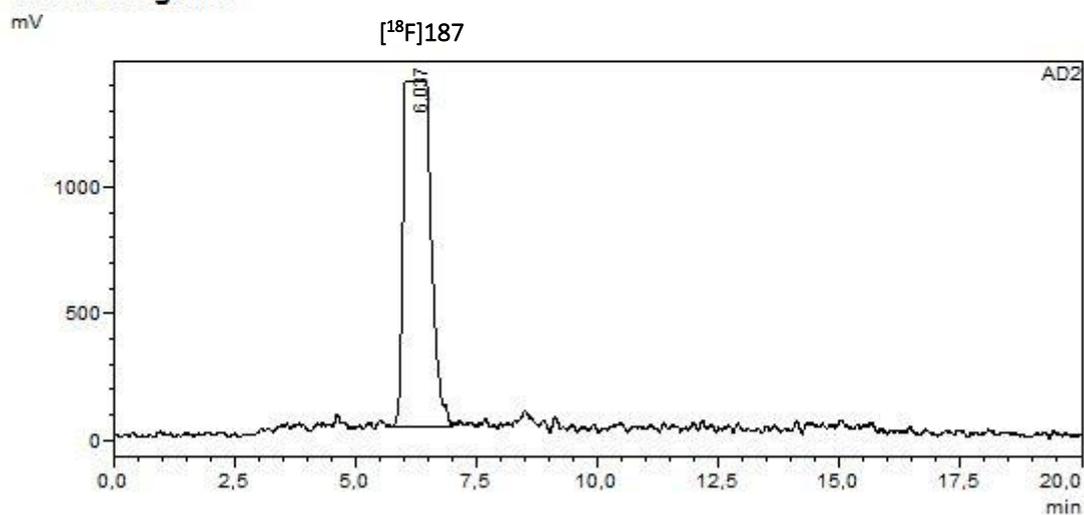


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: V14 bis	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: 0.8MBq		
Data Filename	: batch 30092021_30092021_V14 bis_0.8MBq_002.lcd		
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 20minrun sucre.lcm		
Batch Filename	: batch 30092021.lcb		
Vial #	: 1-4		
Injection Volume	: 1 uL	Acquired by	: System Administrator
Date Acquired	: 30/09/2021 13:02:26	Processed by	: System Administrator
Date Processed	: 30/09/2021 13:22:28		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	6,037	52856138	1361284	100,000		M	
Total		52856138	1361284				

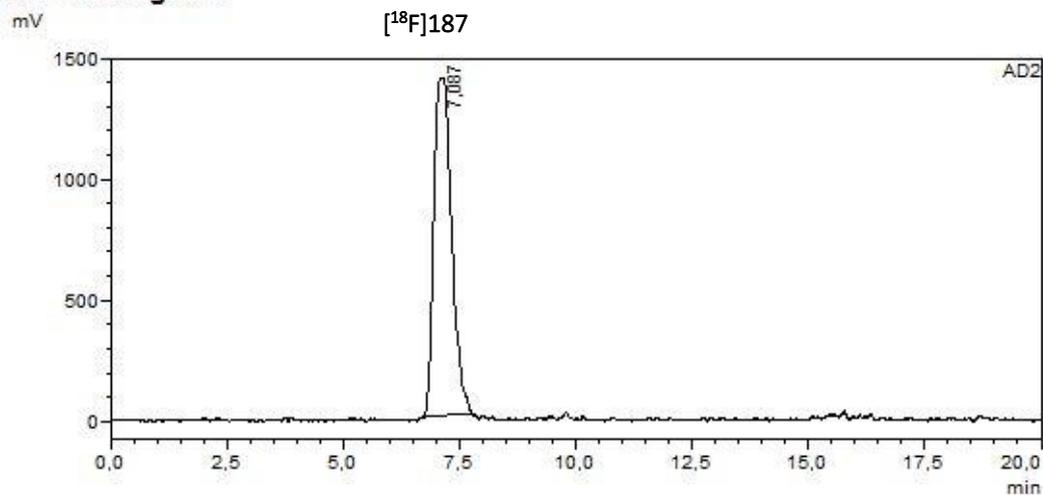
Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]187$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.362)

SHIMADZU LabSolutions Analysis Report

<Sample Information>

Sample Name : V14 0.4 MBq 11h21 non sat  
 Sample ID : V14 0.4 MBq 11h21 non sat  
 Data Filename : V14 0.4 MBq 11h21 non sat.lcd  
 Method Filename : grad 70-95 1mlmin 20minrun sucre.lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-62  
 Injection Volume : 1 uL  
 Date Acquired : 01/10/2021 13:59:03  
 Date Processed : 01/10/2021 14:19:05  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

<Chromatogram>



<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	7,087	37280902	1390513	100,000		M	
Total		37280902	1390513				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]\text{187}$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.363)

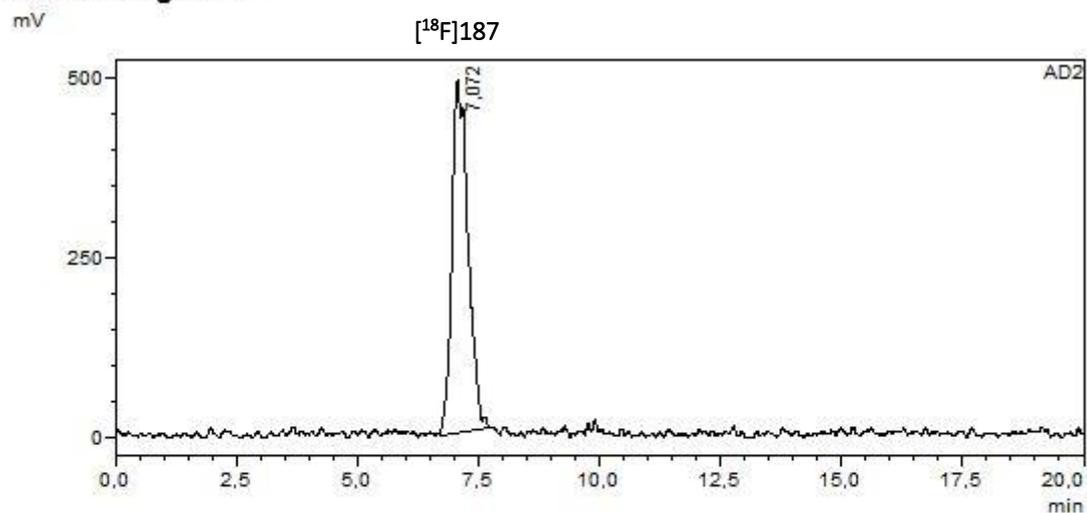


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: V14 0.2MBq 11h46	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 0.2MBq 11h46	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: V14 0.2MBq 11h46.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 20minrun sucre.lcm		
Batch Filename	:		
Vial #	: 1-62		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 05/10/2021 11:47:45		
Date Processed	: 05/10/2021 12:07:47		

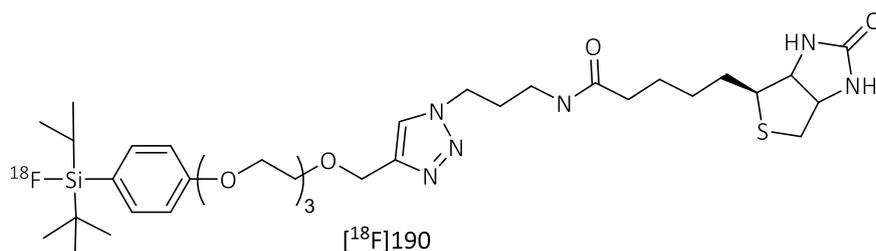
## <Chromatogram>



## <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	7,072	11419055	488664	100,000		M	
Total		11419055	488664				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]\text{187}$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.364)

**$^{18}\text{F}$ -SiFA-Biotine derivative : [ $^{18}\text{F}$ ]190**

The following fluorinations of **PS-189** (5 mg, 1.89  $\mu\text{mol}$ , 100% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) using the general batch procedure. For the first reaction, the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 75% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 75% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of formic acid et B = MeCN + 0,1% of formic acid. ( $t_R$  UV detection : 7.03 min at 230 nm).

For the second and the third reaction, the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of formic acid and B = MeCN + 0,1% of formic acid. ( $t_R$  UV detection : 8.89 min at 230 nm).

	Experiment	YVX1.377	YVX1.378	YVX1.379	
	Activity fixed on QMA	10.00 GBq	9.08 GBq	9.3 GBq	
t = 0 min	Activity eluted in R1	9.20 GBq	8.20 GBq	8.55 GBq	
	Activity in R1 (end of fluorination)	8.02 GBq (17 min)	7.2 GBq (16 min)	7.50 GBq (18 min)	
	Activity in the collecting vial	973 MBq (40 min)	752 MBq (42 min)	860 MBq (40 min)	
	$t_R$ radio detection	6.90 min	7.93 min	8.02 min	
	Radiochemical purity	<90%	<90%	<90%	100
	Radiochemical Yield	11%	9%	10%	10 $\pm$ 1
	Radiochemical Yield decay corrected	14%	12%	13%	13 $\pm$ 1

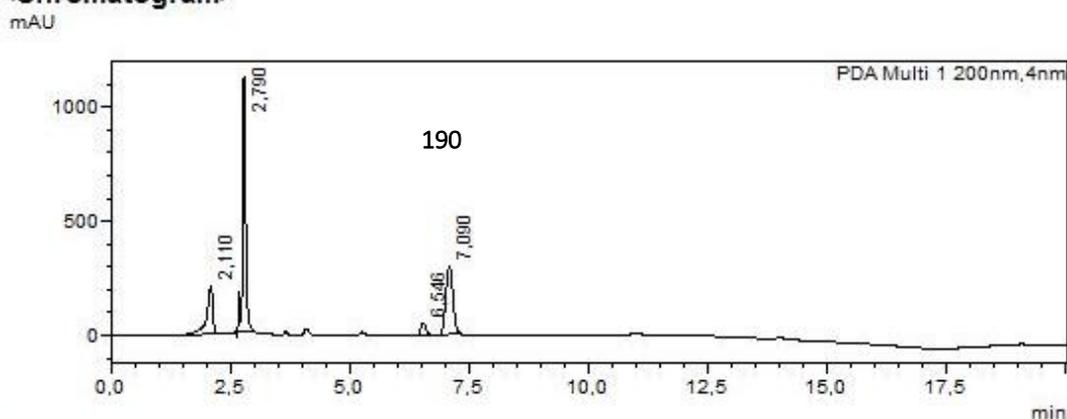


# Analysis Report

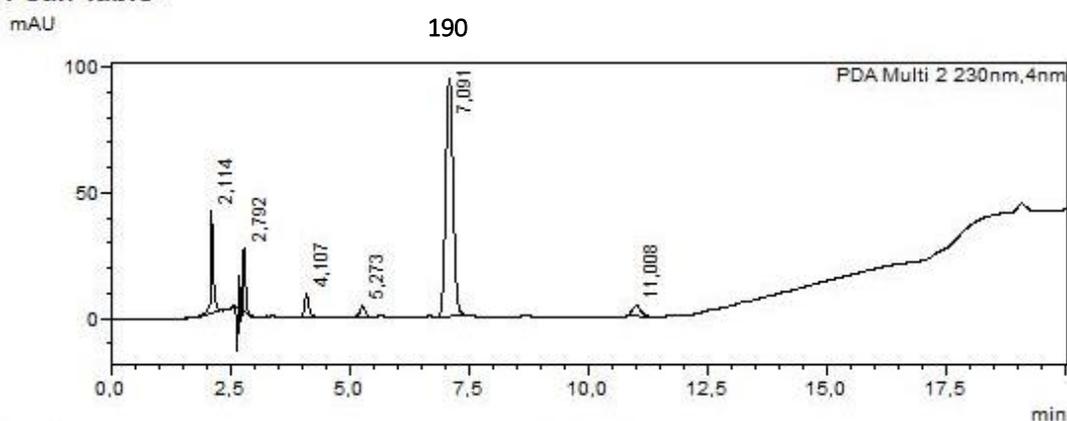
## <Sample Information>

Sample Name	: Ref biotine	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Ref biotine	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: Ref biotine.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 20minrun Biotine.lcm		
Batch Filename	:		
Vial #	: 1-61		
Injection Volume	: 10 uL		
Date Acquired	: 15/10/2021 10:47:24		
Date Processed	: 15/10/2021 11:07:26		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>



PDA Ch1 200nm					PDA Ch2 230nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%	Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	2,110	1674114	211591	16,228	1	2,114	132429	40676	9,931
2	2,790	5242763	1113450	50,820	2	2,792	77565	25151	5,817
3	6,546	391822	55531	3,798	3	4,107	58965	9073	4,422
4	7,090	3007683	295492	29,154	4	5,273	34660	4251	2,599
Total		10316382	1676064	100,000	5	7,091	976703	94203	73,244
					6	11,008	53168	4049	3,987
					Total		1333490	177402	100,000

Chromatogramm UV of 190 reference

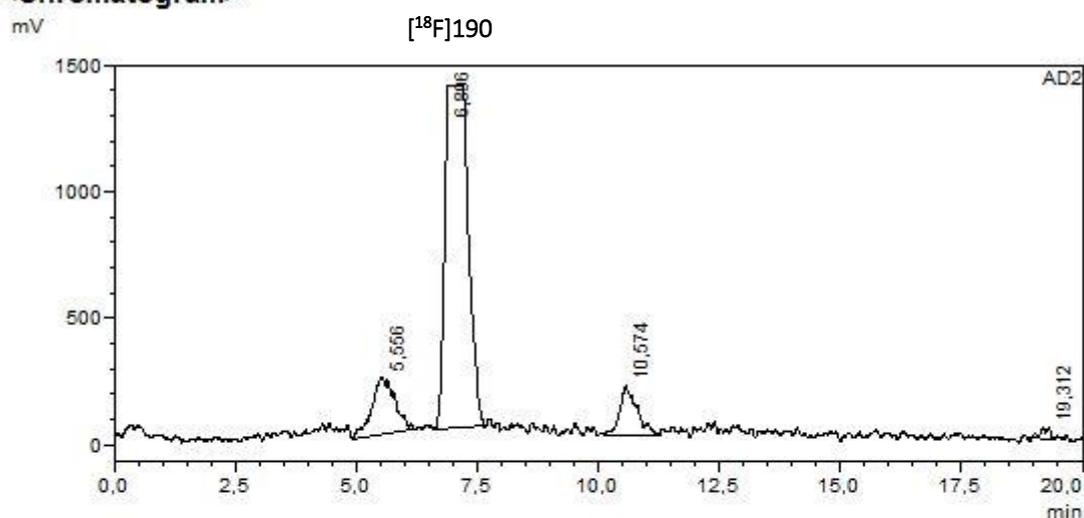


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: V14 0.2MBq 11h28 75	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 75/methode biotine	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 15102021_15102021_V14 0.2MBq 11h28 75_V14 75\$methode biotine_002.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 20minrun Biotine.lcm		
Batch Filename	: batch 15102021.lcb		
Vial #	: 1-63		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 15/10/2021 12:14:51		
Date Processed	: 15/10/2021 12:34:53		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	5,556	7519649	222039	13,037		M	
2	6,896	44897722	1350733	77,840		M	
3	10,574	4654771	191779	8,070		M	
4	19,312	607595	49096	1,053		M	
Total		57679737	1813647				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]\text{190}$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.377)

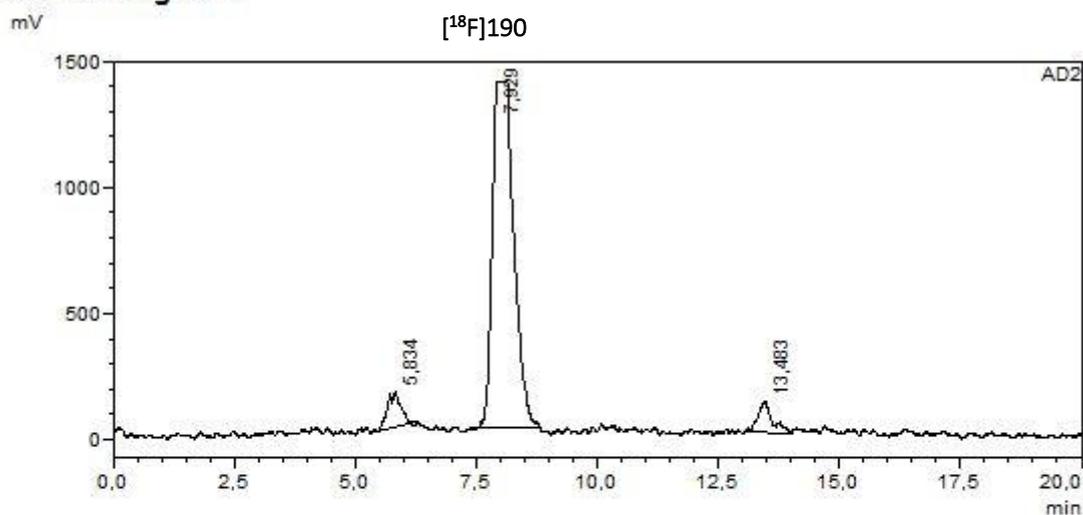


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: V14 0.1MBq 11h44 4	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 70/methode sucre	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 19102021_19102021_V14 0.1MBq 11h44 4_V14 70\$methode sucre_004.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 20minrun sucre.lcm		
Batch Filename	: batch 19102021.lcb		
Vial #	: 1-92		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 19/10/2021 13:10:18		
Date Processed	: 19/10/2021 13:30:20		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>

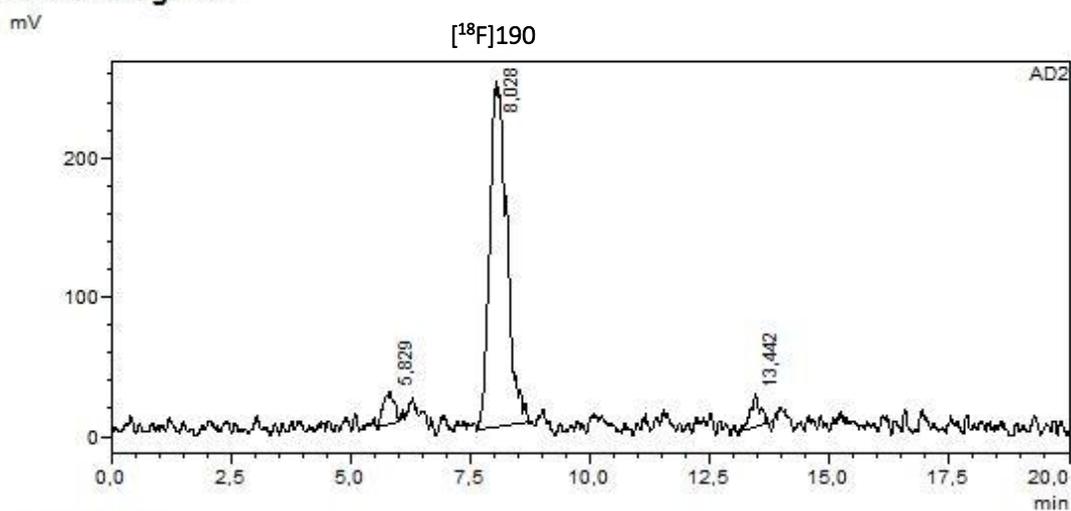
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	5,834	2684579	142954	5,724		M	
2	7,929	41690838	1368537	88,894		M	
3	13,483	2524014	124909	5,382		M	
Total		46899432	1636400				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]\text{190}$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.378)

## &lt;Sample Information&gt;

Sample Name : V14 0.0MBq 11h49  
 Sample ID : V14 70/methode sucre  
 Data Filename : batch 20102021\_20102021\_V14 0.0MBq 11h49\_V14 70\$methode sucre\_001.lcd  
 Method Filename : grad 70-95 1mlmin 20minrun sucre.lcm  
 Batch Filename : batch 20102021.lcb  
 Vial # : 1-47  
 Injection Volume : 0,5 uL  
 Date Acquired : 20/10/2021 12:11:15  
 Date Processed : 20/10/2021 12:31:17  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

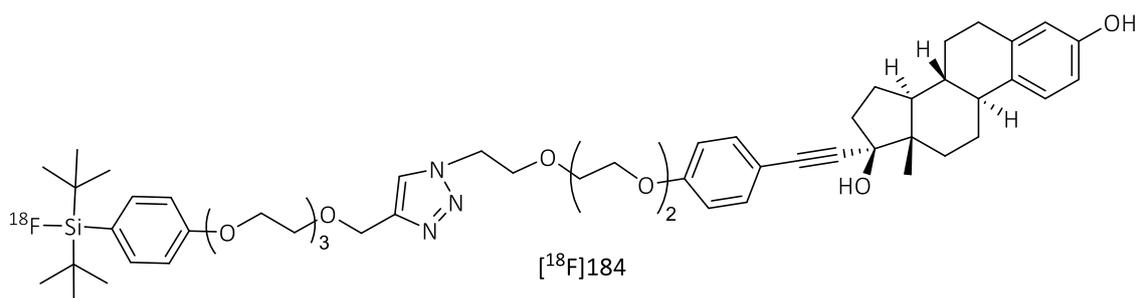
## &lt;Chromatogram&gt;



## &lt;Peak Table&gt;

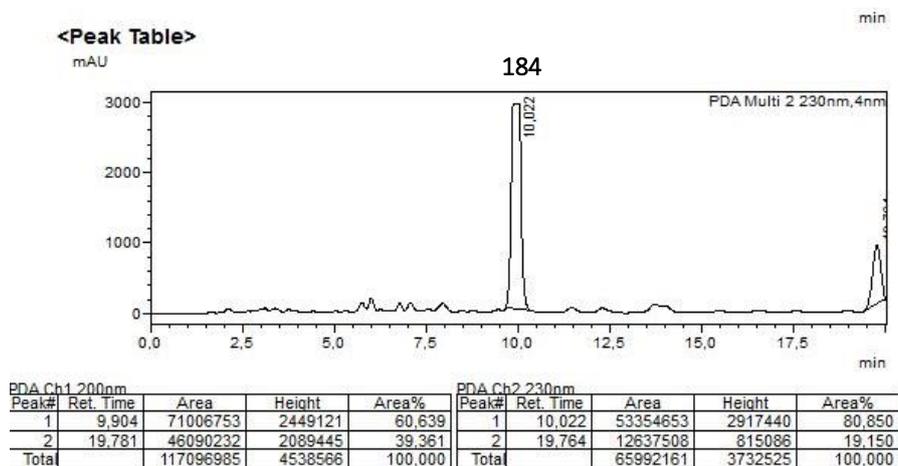
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	5,829	357165	22115	5,328		M	
2	8,028	6028292	246903	89,932		M	
3	13,442	317685	23898	4,739		M	
Total		6703143	292916				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]190 after the purification on Seppak C18 (YVX1.379)

**$^{18}\text{F}$ -SiFA-Oestradiol derivative : [ $^{18}\text{F}$ ]184**

The following fluorination of **PS-183** (5 mg, 1.86  $\mu\text{mol}$ , 100% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) using the general batch procedure. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 90% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 90% of B (3 min) with A =  $\text{H}_2\text{O}$  + 0,1% of formic acid and B = MeCN + 0,1% of formic acid. ( $t_{\text{R}}$  UV detection : 10.02 min at 230 nm).

	Experiment	YVX1.367	YVX1.375	YVX1.376	
	Activity fixed on QMA	10.16 GBq	10.81 GBq	8.69 GBq	
t = 0 min	Activity eluted in R1	9.49 GBq	9.96 GBq	7.90 GBq	
	Activity in R1 (end of fluorination)	8.24 GBq (16 min)	8.94 GBq (16min)	7.00 GBq (17 min)	
	Activity in the collecting vial	1183 MBq (43 min)	1100 MBq (41min)	524 MBq (40 min)	
	$t_{\text{R}}$ radio detection	10.10 min	10.08 min	9.57 min	
	Radiochemical purity	81%	60%	72%	71 $\pm$ 11
	Activity yield	10%	7%	5%	7 $\pm$ 3
	Radiochemical yield	13%	9%	6%	9 $\pm$ 4



Chromatogram UV of reference 184

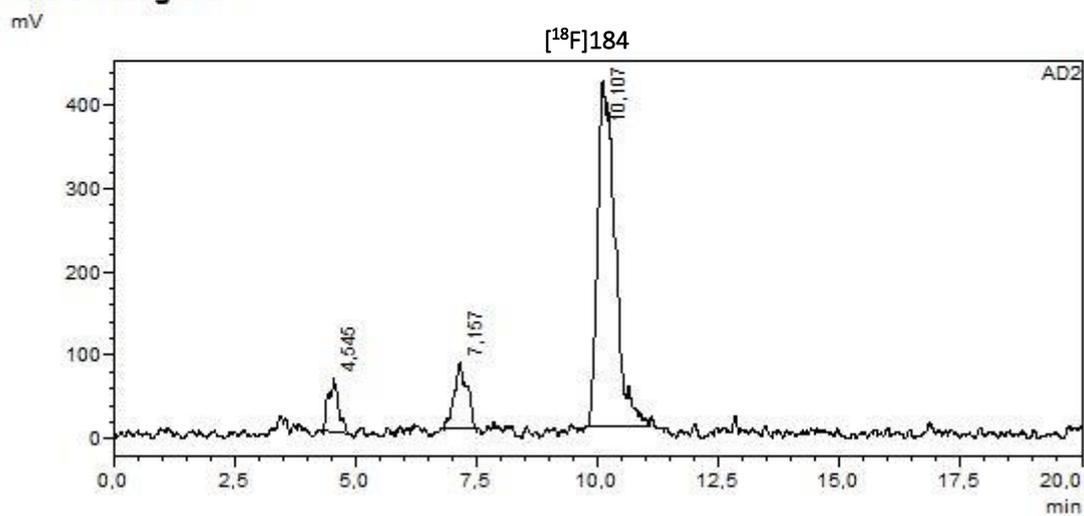
SHIMADZU LabSolutions Analysis Report

<Sample Information>

Sample Name : V14 0.1 MBq 11h51  
 Sample ID : V14 0.1 MBq 11h51  
 Data Filename : V14 0.1 MBq 11h51.lcd  
 Method Filename : grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-16  
 Injection Volume : 1 uL  
 Date Acquired : 07/10/2021 11:54:23  
 Date Processed : 07/10/2021 12:14:25

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

<Chromatogram>



<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	4,545	932668	64233	7,273		M	
2	7,157	1464953	79140	11,424		M	
3	10,107	10426098	414189	81,303		M	
Total		12823719	557562				

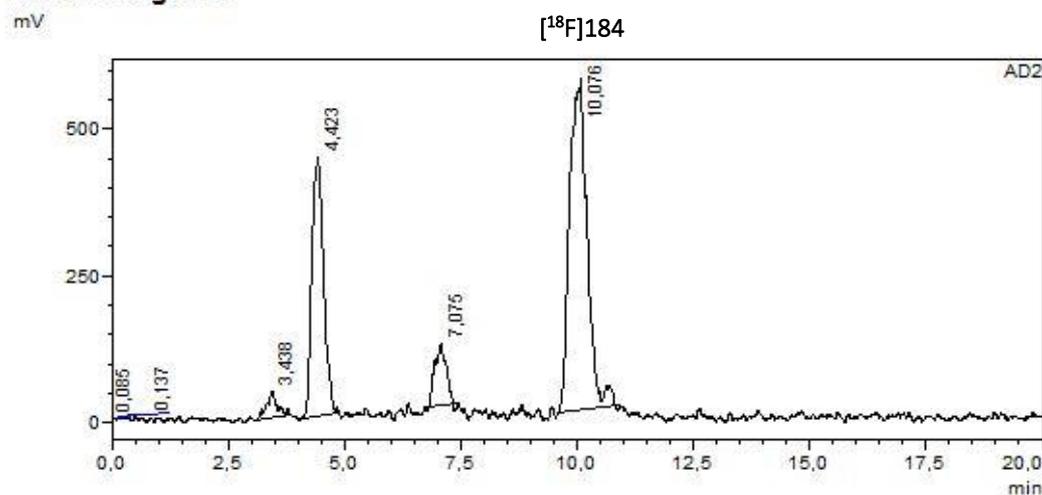
Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]184 after the purification on Seppak C18 (YVX1.367)

**SHIMADZU LabSolutions Analysis Report**

**<Sample Information>**

Sample Name	: V14 0.3 MBq 11h54	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 0.3 MBq 11h54	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: V14 0.3 MBq 11h54.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm		
Batch Filename	:		
Vial #	: 1-77		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 13/10/2021 11:57:06		
Date Processed	: 13/10/2021 12:17:07		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	0,085	4529	2255	0,018			
2	0,137	8541	4161	0,034		V	
3	3,438	716337	44614	2,861		M	
4	4,423	7678390	441316	30,670		M	
5	7,075	1715648	103150	6,853		M	
6	10,076	14912429	564389	59,564		M	
<b>Total</b>		<b>25035875</b>	<b>1159885</b>				

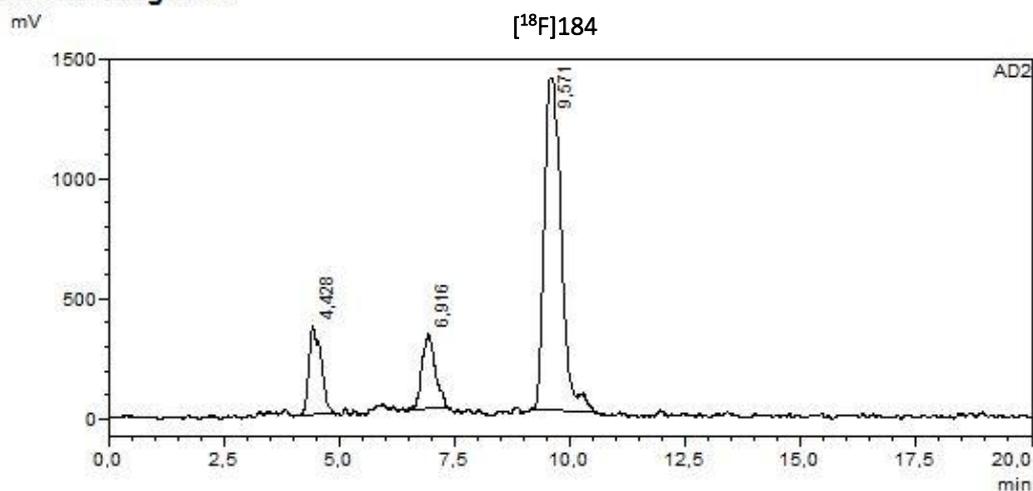
Analytic Radio HPLC chromatogram of **[18F]184** after the purification on Seppak C18 (YVX1.375)

SHIMADZU LabSolutions **Analysis Report**

**<Sample Information>**

Sample Name	: V14 0.1MBq a 11h46	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 0.1MBq a 11h46	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: V14 0.1MBq a 11h46.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm		
Batch Filename			
Vial #	: 1-79		
Injection Volume	: 1 uL		
Date Acquired	: 14/10/2021 11:48:09		
Date Processed	: 14/10/2021 12:08:11		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	4.428	6849039	373340	14,171		M	
2	6.916	6280275	313160	12,994		M	
3	9.571	35202362	1374857	72,835		M	
Total		48331676	2061357				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]\mathbf{184}$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.376)

## Partie expérimentale

The fluorination of **PS-183** (5 mg, 1.86  $\mu\text{mol}$ , 100% of “clicked” AZT) was performed in acetonitrile at 70°C for 15min with acetic acid (60eq) using the general batch procedure. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 90% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 90% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of formic acid and B = MeCN + 0,1% of formic acid. ( $t_R$  radio detection : 9.09min).

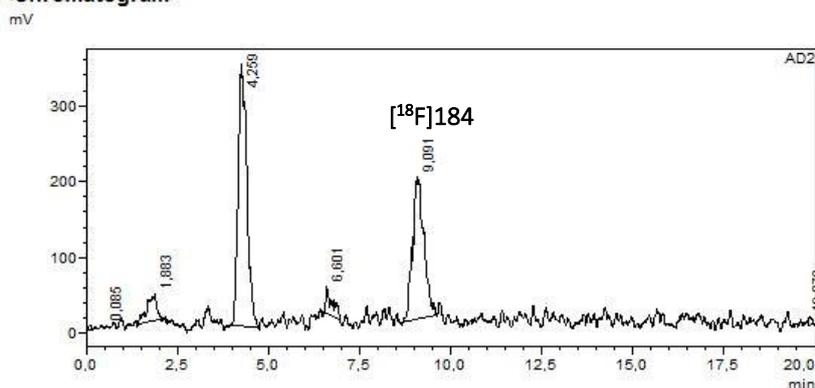
	Experiment	YVX1.380
	Activity fixed on QMA	10.74 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	10.1 GBq
t = 17 min	Activity in R1 (end of fluorination)	8.97 GBq
t = 40 min	Activity in the collecting vial	976 MBq
	Radiochemical purity	37%
	Activity yield	4%
	Radiochemical yield	5%

## SHIMADZU LabSolutions Analysis Report

### <Sample Information>

Sample Name	: V14 0.1MBq 11h38 1	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 22102021_22102021_V14 0.1MBq 11h38 1_V14_001.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm		
Batch Filename	: batch 22102021.lcb		
Vial #	: 1-16		
Injection Volume	: 0,5 uL		
Date Acquired	: 22/10/2021 12:00:35		
Date Processed	: 22/10/2021 12:20:37		

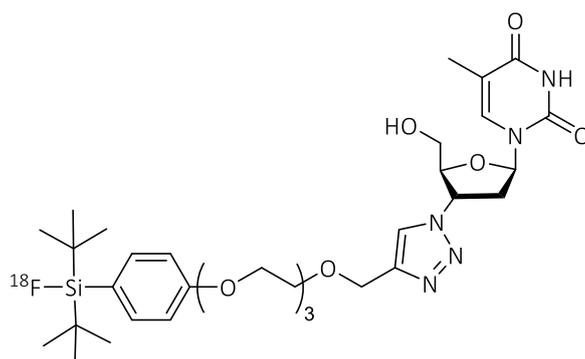
### <Chromatogram>



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	0,085	27749	5758	0,254			
2	1,883	627745	35165	5,755		M	
3	4,259	5685575	343739	52,122		M	
4	6,601	429006	36302	3,933		M	
5	9,091	4078434	186695	37,388		M	
6	19,873	59788	9335	0,548			
Total		10908298	616994				

Analytic Radio HPLC chromatogram of **[<sup>18</sup>F]184** after the purification on Seppak C18 (YVX1.380)

**Synthesis of [<sup>18</sup>F]134 with the cartridge procedure**[<sup>18</sup>F]134

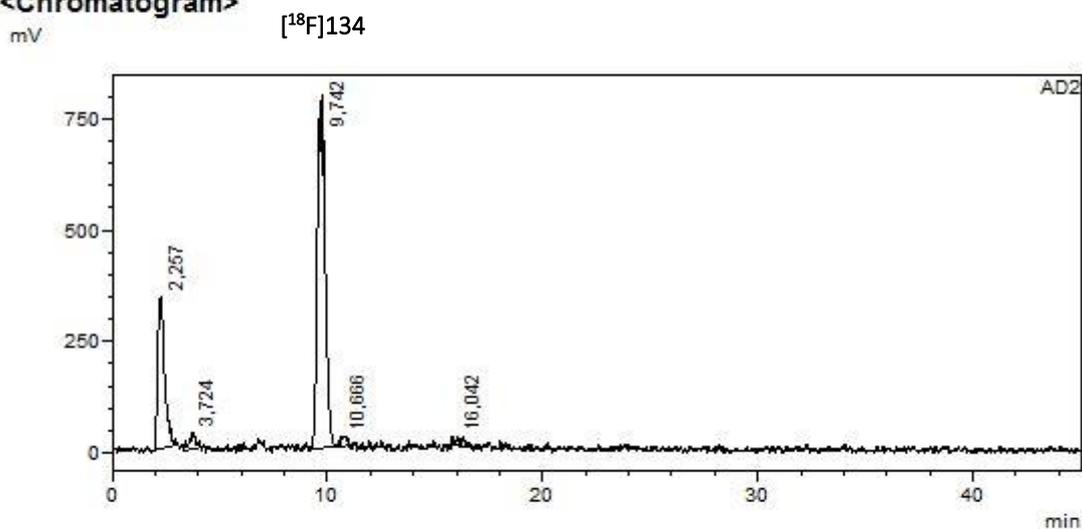
The fluorination of **PS-181** (5 mg, 2 μmol, 100% of “clicked” AZT) mixed with the same polystyrene quenched with methanol (120 mg) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) and a cartridge in horizontal position using **the cartridge procedure**. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 75% of B (4min) ->75% of B (15min)-> 95% of B (5 min) -> 95% of B (5 min) -> 70% of B (1 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of trifluoroacetic acid. (t<sub>R</sub> radio detection : 9.09min).

	Experiment	YVX1.263
t = 0 min	Activity fixed on QMA	8.7 GBq
t = 44 min	Activity in the collecting vial	300 MBq
	t <sub>R</sub> radio detection	9.74 min
	Radiochemical purity	68 %
	Radiochemical Yield	3%
	Radiochemical Yield decay corrected	4%

**<Sample Information>**

Sample Name	: V17 1 lavage SEPPAK bis	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V17 0.5MBq bis	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 14042021 bis_14042021_V17 1 lavage SEPPAK bis_V17 0.5MBq bis_001.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 14042021 bis.lcb		
Vial #	: 1-1		
Injection Volume	: 1 uL		
Date Acquired	: 14/04/2021 14:47:57		
Date Processed	: 14/04/2021 15:32:59		

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

AD2

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2,257	7696161	341857	26,813		M	
2	3,724	670839	34902	2,337		M	
3	9,742	19515498	790849	67,991		M	
4	10,666	337890	22393	1,177		M	
5	16,042	482569	22760	1,681		M	
<b>Total</b>		<b>28702957</b>	<b>1212762</b>				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]134 after the purification on Seppak C18 (YVX1.263)

The fluorination of **PS-181** (5 mg, 2  $\mu$ mol, 100% of “clicked” AZT) mixed with QMA (100 mg) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) and a cartridge in horizontal position using the cartridge procedure. The H<sub>2</sub>O needed for the purification was directly taken with syringe 4 (tubing were disconnected during the H<sub>2</sub>O washing due to overpressure).

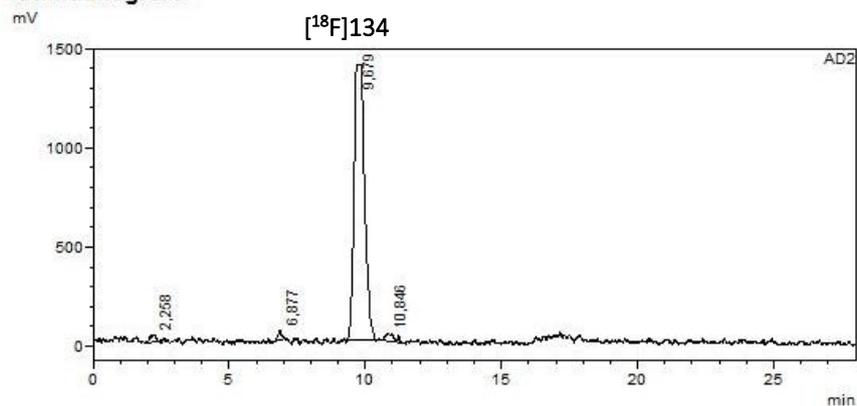
For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 75% of B (4min) ->75% of B (15min)-> 95% of B (5 min) -> 95% of B (5 min) -> 70% of B (1 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of trifluoroacetic acid. (t<sub>R</sub> radio detection : 9.09min).

	Experiment	YVX1.266
t = 0 min	Activity fixed on QMA	8.4 GBq
t = 53 min	Activity in the collecting vial	341 MBq
	t <sub>R</sub> radio detection	9.68 min
	Radiochemical purity	<95%
	Radiochemical Yield	4%
	Radiochemical Yield decay corrected	6%

<Sample Information>

Sample Name : V17 1 lavage SEPPAKbis  
 Sample ID : V17 2MBq bis  
 Data Filename : batch 16042021 bis\_16042021\_V17 1 lavage SEPPAKbis\_V17 2MBq bis\_004.lcd  
 Method Filename : grad 70-95 1minin 28minrun.lcm  
 Batch Filename : batch 16042021 bis.lcb  
 Vial# : 1-31  
 Injection Volume : 0.5 uL  
 Date Acquired : 16/04/2021 14:52:45  
 Date Processed : 16/04/2021 15:20:48  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

<Chromatogram>



<Peak Table>

AD2	Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
	1	2.258	547570	37040	1.403		M	
	2	6.877	545093	53226	1.397		M	
	3	9.679	36979361	1382955	94.775		M	
	4	10.846	945881	38181	2.424		M	
	Total		39017906	1511402				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]134 after the purification on Seppak C18 (YVX1.266)

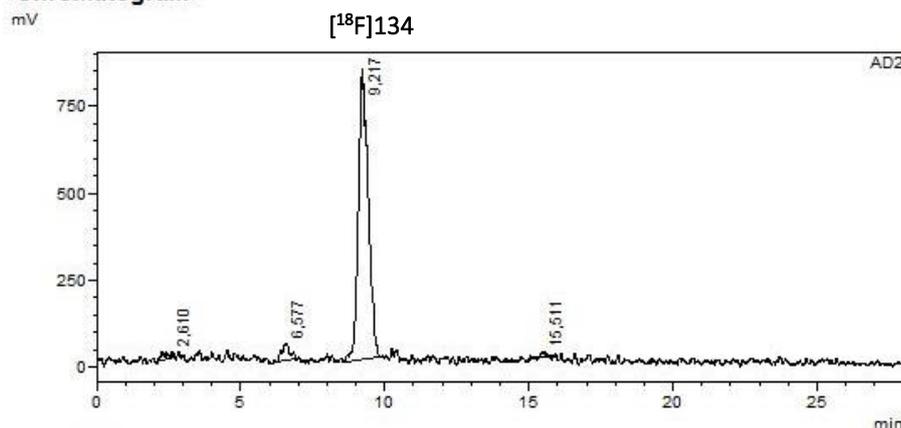
The fluorination of **PS-181** (5 mg, 2  $\mu$ mol, 100% of “clicked” AZT) mixed with QMA (100 mg) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) and a cartridge in vertical position using the cartridge procedure. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 75% of B (4min) ->75% of B (15min)-> 95% of B (5 min) -> 95% of B (5 min) -> 70% of B (1 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of trifluoroacetic acid et B = MeCN + 0,1% of trifluoroacetic acid. ( $t_R$  radio detection : 9.09min).

	Experiment	YVX1.268
t = 0 min	Activity fixed on QMA	8.55 GBq
t = 62 min	Activity in the collecting vial	74.7 MBq
	$t_R$ radio detection	9.22 min
	Radiochemical purity	93%
	Radiochemical Yield	1%
	Radiochemical Yield decay corrected	2%

## &lt;Sample Information&gt;

Sample Name : V17 1 lavage SEPPAKbis  
 Sample ID : V17 0.8MBq bis  
 Data Filename : batch 20042021\_20042021\_V17 1 lavage SEPPAKbis\_V17 0.8MBq bis\_004.lcd  
 Method Filename : grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm  
 Batch Filename : batch 20042021.lcb  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 0,5 uL  
 Date Acquired : 20/04/2021 13:34:30  
 Date Processed : 20/04/2021 14:02:32  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

## &lt;Chromatogram&gt;



## &lt;Peak Table&gt;

AD2	Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
	1	2,610	448051	18488	2,085		M	
	2	6,577	920438	49737	4,284		M	
	3	9,217	19913079	830840	92,686		M	
	4	15,511	202928	15717	0,945		M	
	Total		21484496	914782				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]134 after the purification on Seppak C18 (YVX1.268)

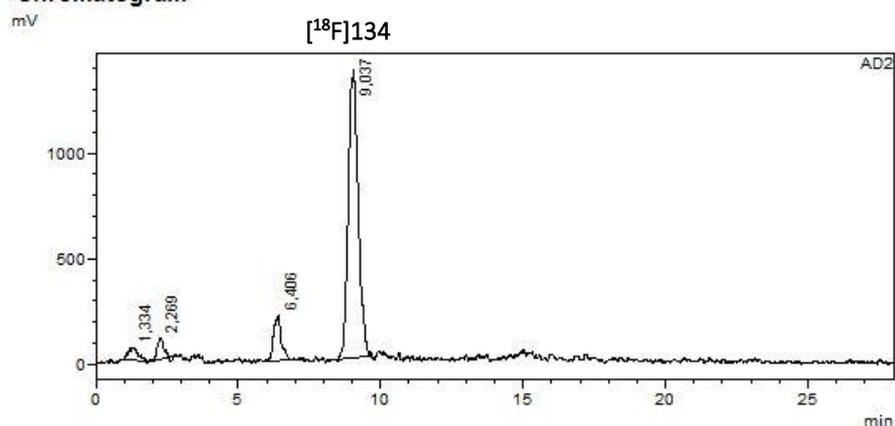
The fluorination of **PS-181** (5 mg, 2  $\mu$ mol, 100% of “clicked” AZT) mixed with QMA (100 mg) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) and a cartridge in vertical position using **the cartridge procedure**. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 95% of B (9 min) -> 95% of B (5 min) -> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of trifluoroacetic acid. ( $t_R$  radio detection : 9.09min).

	Experiment	YVX1.282
t = 0 min	Activity fixed on QMA	11.5 GBq
t = 54 min	Activity in the collecting vial	442 MBq
	$t_R$ radio detection	9.04 min
	Radiochemical purity	82%
	Radiochemical Yield	3%
	Radiochemical Yield decay corrected	4%

<Sample Information>

Sample Name : V17 1 lavage SEPPAKbis  
 Sample ID : V17 2.7MBq bis  
 Data Filename : batch 05052021\_05052021\_V17 1 lavage SEPPAKbis\_V17 2.7MBq bis\_004.lcd  
 Method Filename : grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm  
 Batch Filename : batch 05052021.lcb  
 Vial# : 1-1  
 Injection Volume : 0,5 uL  
 Date Acquired : 05/05/2021 12:58:49  
 Date Processed : 05/05/2021 13:26:51  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

<Chromatogram>



<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	1,334	1491062	60328	3,719		M	
2	2,269	1462836	100580	3,649		M	
3	6,406	4093712	214402	10,211		M	
4	9,037	33042203	1361036	82,420		M	
Total		40089812	1736346				

Analytic Radio HPLC chromatogram of **[<sup>18</sup>F]134** after the purification on Seppak C18 (YVX1.282)

## Partie expérimentale

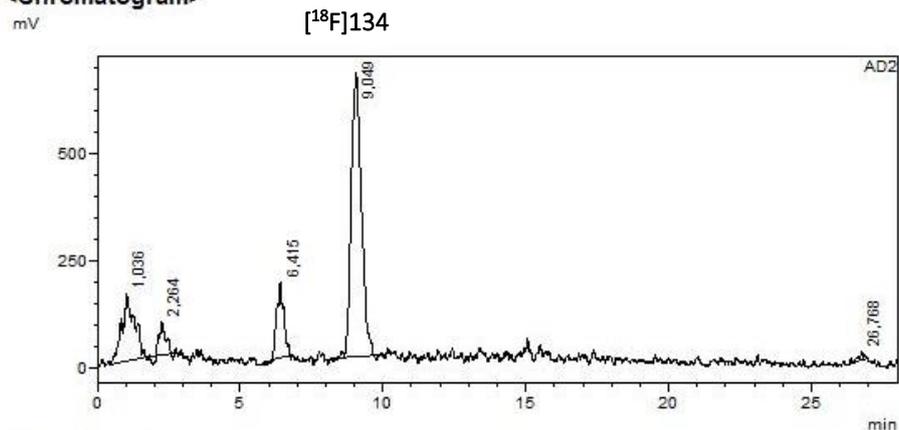
The fluorination of **PS-181** (5 mg, 2  $\mu$ mol, 100% of “clicked” AZT ) mixed with WAX (100 mg) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) and a cartridge in vertical position using **the cartridge procedure**. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 95% of B (9 min) -> 95% of B (5 min) -> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of trifluoroacetic acid. ( $t_R$  radio detection : 9.09min).

	Experiment	YVX1.282 bis
t = 0 min	Activity fixed on QMA	6.9 GBq
t = 63 min	Activity in the collecting vial	297 MBq
	$t_R$ radio detection	9.05 min
	Radiochemical purity	63%
	Radiochemical Yield	3%
	Radiochemical Yield decay corrected	4%

### <Sample Information>

Sample Name	: V17 1 lavage SEPPAKbis	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V17 1.4MBq bis	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 07052021_07052021_V17 1 lavage SEPPAKbis_V17 1.4MBq bis_004.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-95 1mlmin 28minrun.lcm		
Batch Filename	: batch 07052021.lcb		
Vial #	: 1-31		
Injection Volume	: 0.5 uL		
Date Acquired	: 07/05/2021 12:15:16		
Date Processed	: 07/05/2021 12:43:18		

### <Chromatogram>



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	1,036	4818642	156533	18,912		M	
2	2,264	1099355	76503	4,315		M	
3	6,415	3068652	179221	12,044		M	
4	9,049	16256321	662792	63,802		M	
5	26,768	236540	18176	0,928		M	
Total		25479510	1093225				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]134 after the purification on Seppak C18 (YVX1.282 bis)

## Partie expérimentale

The fluorination of **PS-181** (5 mg, 2  $\mu$ mol, 100% of “clicked” AZT) mixed with C18 grafted on Silica (100 mg) was performed in acetonitrile at 100°C for 15min with acetic acid (60eq) and a cartridge in vertical position using the cartridge procedure. The H<sub>2</sub>O needed for the purification was directly taken with syringe 4 (tubing were disconnected during the H<sub>2</sub>O washing due to overpressure).

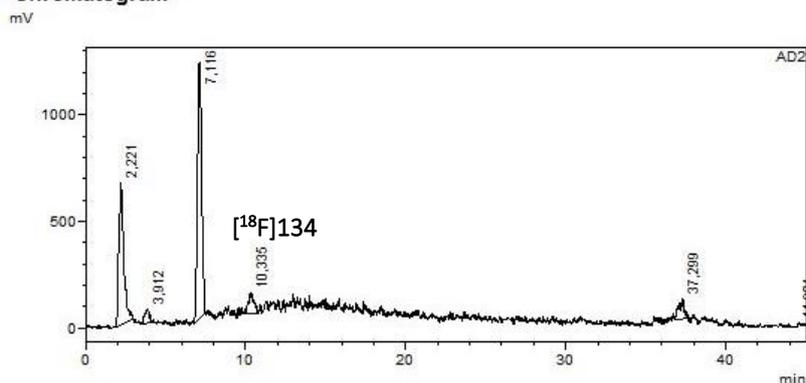
For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 95% of B (9 min) -> 95% of B (5 min) -> 70% of B (3 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of trifluoroacetic acid. (t<sub>R</sub> radio detection : 9.09min).

	Experiment	YVX1.287
t = 0 min	Activity fixed on QMA	9.4 GBq
t = 68 min	Activity in the collecting vial	219 MBq
	t <sub>R</sub> radio detection	9.12 min
	Radiochemical purity	Trace
	Radiochemical Yield	
	Radiochemical Yield decay corrected	

### <Sample Information>

Sample Name	: V17 1 lavage SEPPAK	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V17 1.3MBq	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 19052021_19052021_V17 1 lavage SEPPAK_V17 1.3MBq_001.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 19052021.lcb		
Vial #	: 1-1		
Injection Volume	: 2 uL		
Date Acquired	: 19/05/2021 12:34:10		
Date Processed	: 19/05/2021 13:19:13		

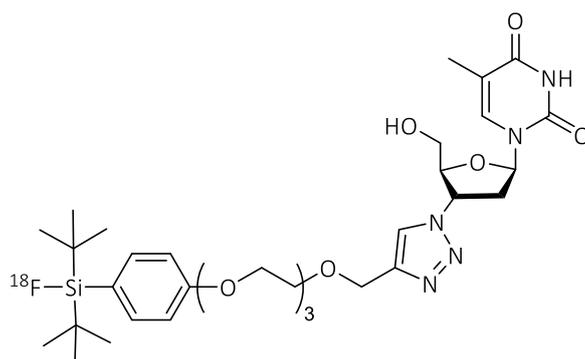
### <Chromatogram>



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2,221	14102500	667106	33,779		M	
2	3,912	1385506	65453	3,319		M	
3	7,116	21842547	1198684	52,318		M	
4	10,335	2287066	96896	5,478		M	
5	37,299	2093160	95122	5,014		M	
6	44,901	38858	8566	0,093			
Total		41749636	2131827				

Analytic Radio HPLC chromatogram of **[<sup>18</sup>F]134** after the purification on Seppak C18 (YVX1.287)

**Synthesis in flow [<sup>18</sup>F]134 :**[<sup>18</sup>F]134

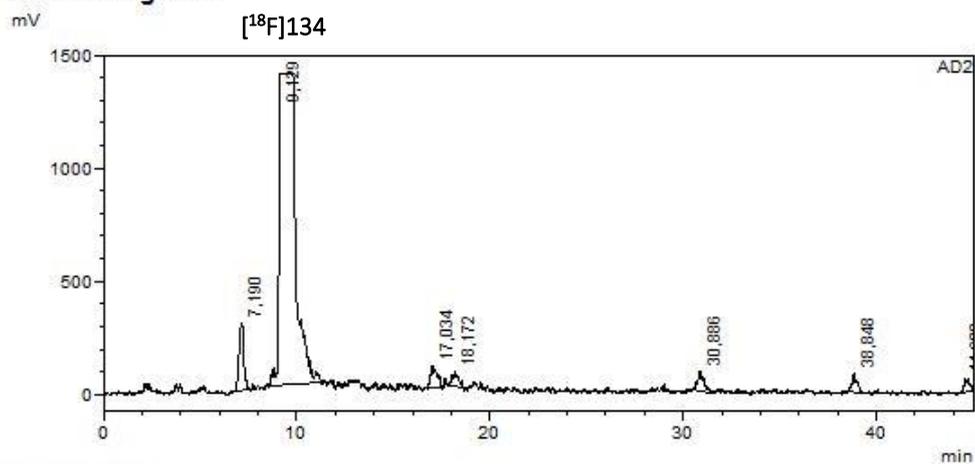
The fluorination of **PS-181** (5 mg, 1.86  $\mu$ mol, 100 % of “clicked” AZT) was performed at 100°C for 16 min at 0.3 mL/min with acetonitrile(+ 0.4% of acetic acid) (4.1 mL) + 300  $\mu$ L of Na[<sup>18</sup>F] in H<sub>2</sub>O using **the cartridge in flow procedure**. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 75% of B (4min) ->75% of B (15min)- > 95% of B (5 min) -> 95% of B (5 min) -> 70% of B (1 min) with A = H<sub>2</sub>O + 0,1% of trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of trifluoroacetic acid. ( $t_R$  radio detection : 9.09min).

	Experiment	YVX1.289
t = 0 min	Activity fixed on QMA	7.71 GBq
t = 62 min	Activity in the collecting vial	292 MBq
	$t_R$ radio detection	9.12 min
	Radiochemical purity	<85%
	Radiochemical Yield	4%
	Radiochemical Yield decay corrected	6%

**<Sample Information>**

Sample Name : V17 1 lavage SEPPAK  
 Sample ID : V17 2MBq  
 Data Filename : batch 02062021\_02062021\_V17 1 lavage SEPPAK\_V17 2MBq\_001.lcd  
 Method Filename : grad 70-75-95 1mlmin.lcm  
 Batch Filename : batch 02062021.lcb  
 Vial# : 1-1  
 Injection Volume : 1 uL  
 Date Acquired : 02/06/2021 12:06:06  
 Date Processed : 02/06/2021 12:51:08  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	7.190	5231744	298828	5.551		M	
2	9.129	80665856	1371793	85.588		M	
3	17.034	2325366	98554	2.467		M	
4	18.172	1493279	69024	1.584		M	
5	30.886	1905728	88062	2.022		M	
6	38.848	1481647	82447	1.572		M	
7	44.608	1145128	60531	1.215		M	
<b>Total</b>		<b>94248748</b>	<b>2069239</b>				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]\text{134}$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.289)

## Partie expérimentale

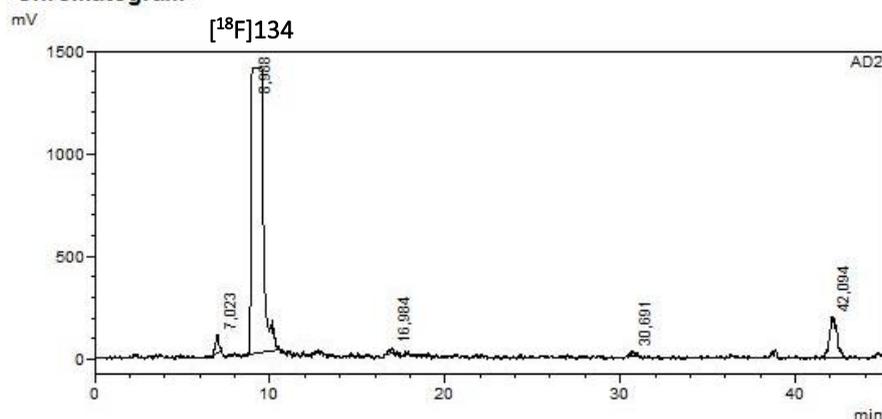
The fluorination of **PS-181** (5 mg, 1.86  $\mu\text{mol}$ , 100 % of “clicked” AZT) was performed at 100°C for 15 min at 0.3 mL/min with acetonitrile(+ 0.4% of acetic acid) (3.7 mL) + 300  $\mu\text{L}$  of  $\text{Na}^{[18\text{F}]}$  in  $\text{H}_2\text{O}$  using **the cartridge in flow procedure**. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 70% of B (11 min) -> 75% of B (4min) ->75% of B (15min)-> 95% of B (5 min) -> 95% of B (5 min) -> 70% of B (1 min) with A =  $\text{H}_2\text{O}$  + 0,1% of trifluoroacetic acid and B = MeCN + 0,1% of trifluoroacetic acid. ( $t_{\text{R}}$  radio detection : 9.09min).

	Experiment	YVX1.294
t = 0 min	Activity fixed on QMA	10.1 GBq
t = 51 min	Activity in the collecting vial	504 MBq
	$t_{\text{R}}$ radio detection	8.99 min
	Radiochemical purity	<89%
	Radiochemical Yield	5%
	Radiochemical Yield decay corrected	7%

### <Sample Information>

Sample Name	: V17 1 lavage SEPPAKbis	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V17 2MBq bis	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 02062021_02062021_V17 1 lavage SEPPAKbis _V17 2MBq bis_004.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 70-75-95 1mlmin.lcm		
Batch Filename	: batch 02062021.lcb		
Vial #	: 1-1		
Injection Volume	: 1 $\mu\text{L}$		
Date Acquired	: 02/06/2021 14:22:35		
Date Processed	: 02/06/2021 15:07:38		

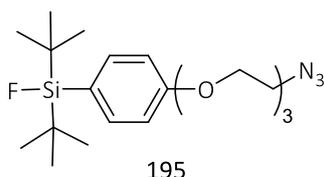
### <Chromatogram>



### <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	7,023	1167049	89489	1,628		M	
2	8,988	64007831	1390166	89,293		M	
3	16,984	353231	27585	0,493		M	
4	30,691	398546	25040	0,556		M	
5	42,094	5756648	196364	8,031		M	
Total		71683304	1728643				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18\text{F}}]\mathbf{134}$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.294)

**[<sup>18</sup>F]195 : Optimisation of the radiosynthesis of the prosthetic group**

The following fluorination of **PS-194** (5 mg, 1.88  $\mu$ mol) were performed for 15min with acetic acid (60 eq) using **the general batch procedure**. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 90% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 90% of B (3 min) with A = water + 0,1% of formic acid et B = MeCN + 0,1% of formic acid. ( $t_R$  UV detection : 9.92 min at 230 nm).

	<b>Experiment</b>	<b>YVX1.381</b>	<b>YVX1.393</b>	<b>YVX1.396</b>	<b>YVX1.399</b>	<b>YVX1.403</b>
	Activity fixed on QMA	9.03 GBq	6.94 GBq	9.30 GBq	9.6 GBq	9.68 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	8.24 GBq	6.30 GBq	8.60 GBq	8.75 GBq	8.91 GBq
	Solvent	MeCN	MeCN	DMSO	DMSO	DMSO
	Temperature	70°C	100°C	100°C	130°C	160°C
	Activity in R1 (end of fluorination)	7.40 GBq (17 min)	5.40 GBq (16min)	7.56 GBq (18 min)	7.79 GBq (19 min)	7.82 GBq (17 min)
	Activity in the collecting vial	851MBq (41 min)	587 MBq (39 min)	876 MBq (42 min)	1717 MBq (43 min)	2090 MBq (44 min)
	$t_R$ radio detection	9.81 min	10.17 min	10.11 min	9.73 min	10.19 min
	Radiochemical purity	67%	68%	84%	84%	78%
	Activity yield	7%	6%	9%	16%	18%
	Radiochemical yield	9%	8%	11%	22%	24%



# Analysis Report

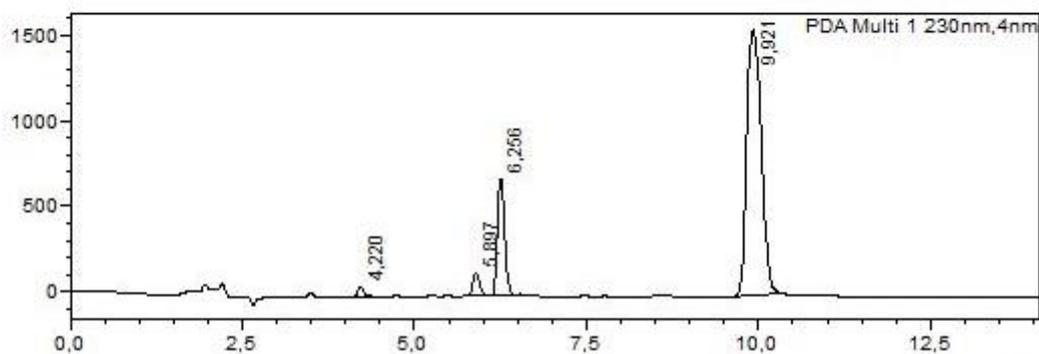
## <Sample Information>

Sample Name : Ref azoture prog oes  
 Sample ID : Ref azoture prog oes  
 Data Filename : Ref azoture prog oes.lcd  
 Method Filename : grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-61 Sample Type : Unknown  
 Injection Volume : 10 uL  
 Date Acquired : 26/10/2021 11:28:23 Acquired by : System Administrator  
 Date Processed : 26/10/2021 11:42:30 Processed by : System Administrator

## <Chromatogram>

mAU

[<sup>18</sup>F]195



PDA Ch1 230nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	4,220	315198	56109	1,085
2	5,897	923216	130497	3,178
3	6,256	4973463	679644	17,119
4	9,921	22840849	1548773	78,619
Total		29052726	2415023	100,000

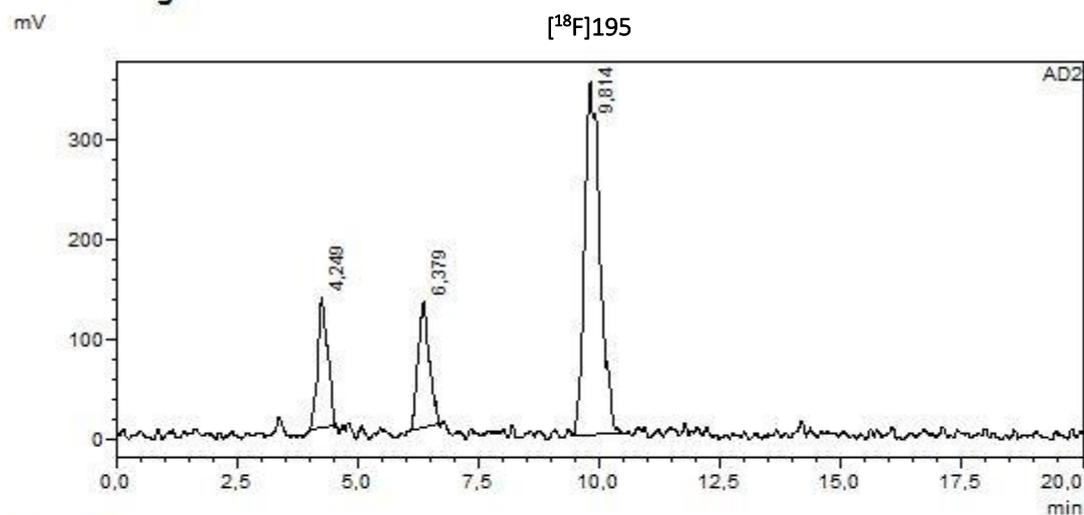
Chromatogramm UV of reference 195

**SHIMADZU LabSolutions Analysis Report**

**<Sample Information>**

Sample Name : V14 0.2MBq 11h41 1  
 Sample ID : V14  
 Data Filename : batch 26102021\_26102021\_V14 0.2MBq 11h41 1\_V14\_001.lcd  
 Method Filename : grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm  
 Batch Filename : batch 26102021.lcb  
 Vial # : 1-76  
 Injection Volume : 1 uL  
 Date Acquired : 26/10/2021 12:05:28  
 Date Processed : 26/10/2021 12:25:29  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	4,249	1861480	130001	15,811		M	
2	6,379	2047100	126433	17,388		M	
3	9,814	7864573	352801	66,801		M	
<b>Total</b>		<b>11773154</b>	<b>609236</b>				

Analytic Radio HPLC chromatogram of  $[^{18}\text{F}]195$  after the purification on Seppak C18 (YVX1.381)

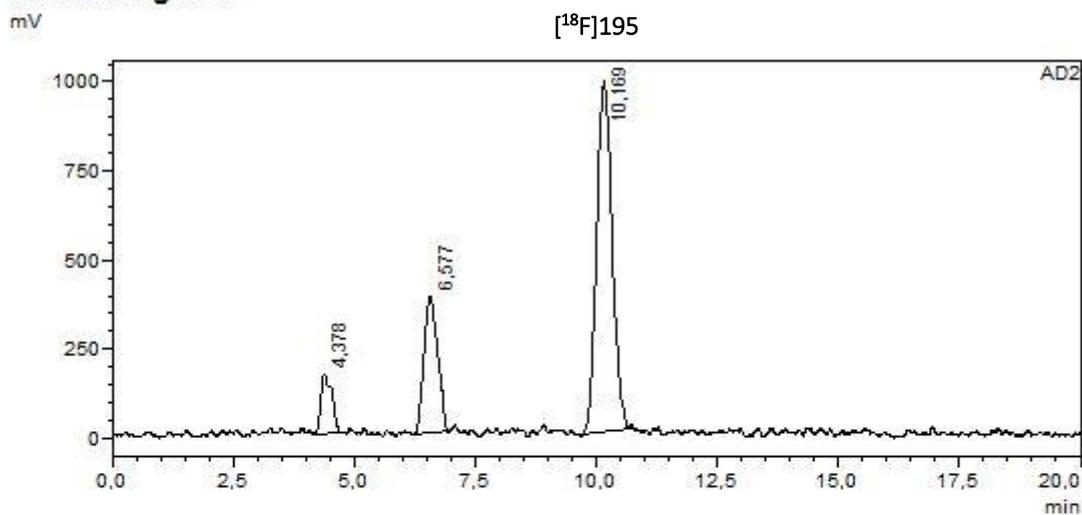


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: V14 0.1MBq 11h43	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14		
Data Filename	: batch 16112021_16112021_V14 0.1MBq 11h43_V14_001.lcd		
Method Filename	: grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm		
Batch Filename	: batch 16112021.lcb		
Vial #	: 1-46		
Injection Volume	: 0.5 uL	Acquired by	: System Administrator
Date Acquired	: 16/11/2021 12:11:10	Processed by	: System Administrator
Date Processed	: 16/11/2021 12:31:12		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	4,378	2614415	166106	8,177		M	
2	6,577	7471643	380287	23,369		M	
3	10,169	21886041	981486	68,454		M	
Total		31972100	1527878				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]195 after the purification on Seppak C18 (YVX1.393)

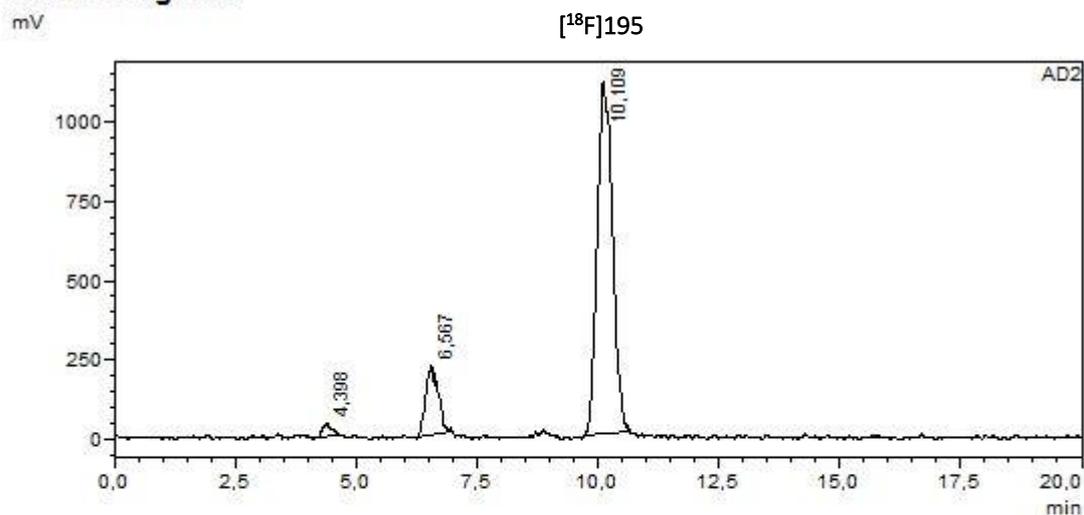


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: V14 0.7MBq 11h48	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 0.7MBq 11h48	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: V14 0.7MBq 11h48.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm		
Batch Filename	:		
Vial #	: 1-61		
Injection Volume	: 0.2 uL		
Date Acquired	: 19/11/2021 11:50:16		
Date Processed	: 19/11/2021 12:10:19		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	4,398	524790	43045	1,808		M	
2	6,567	4011756	218666	13,824		M	
3	10,109	24483529	1107194	84,368		M	
Total		29020075	1368905				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]195 after the purification on Seppak C18 (YVX1.396)

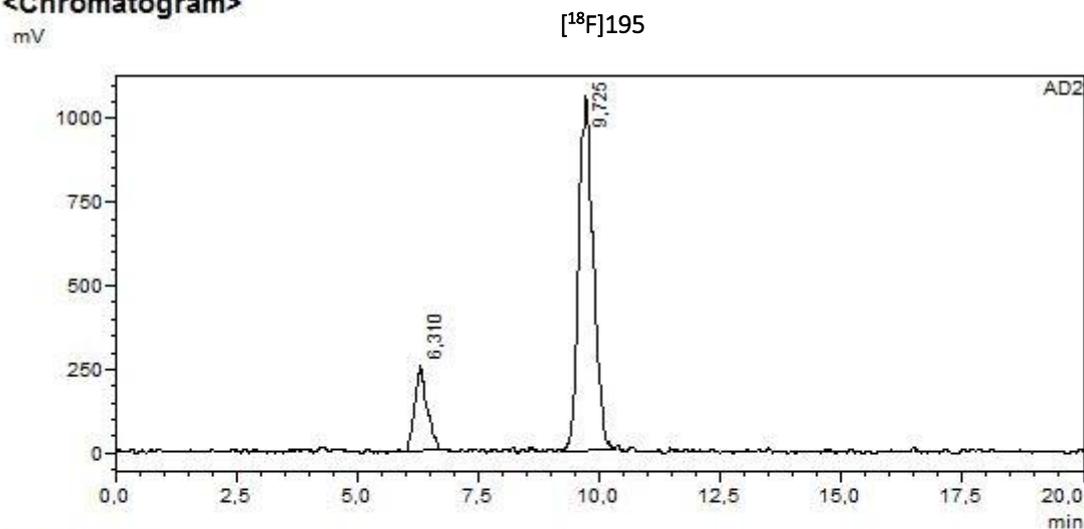


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: V14 0.16MBq 11h48	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: batch 23112021_23112021_V14 0.16MBq 11h48_V14_001.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm		
Batch Filename	: batch 23112021.lcb		
Vial #	: 1-32		
Injection Volume	: 1 uL		
Date Acquired	: 23/11/2021 12:10:20		
Date Processed	: 23/11/2021 12:30:21		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	6,310	4364387	249818	16,381		M	
2	9,725	22278493	1055713	83,619		M	
Total		26642881	1305531				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]195 after the purification on Seppak C18 (YVX1.399)

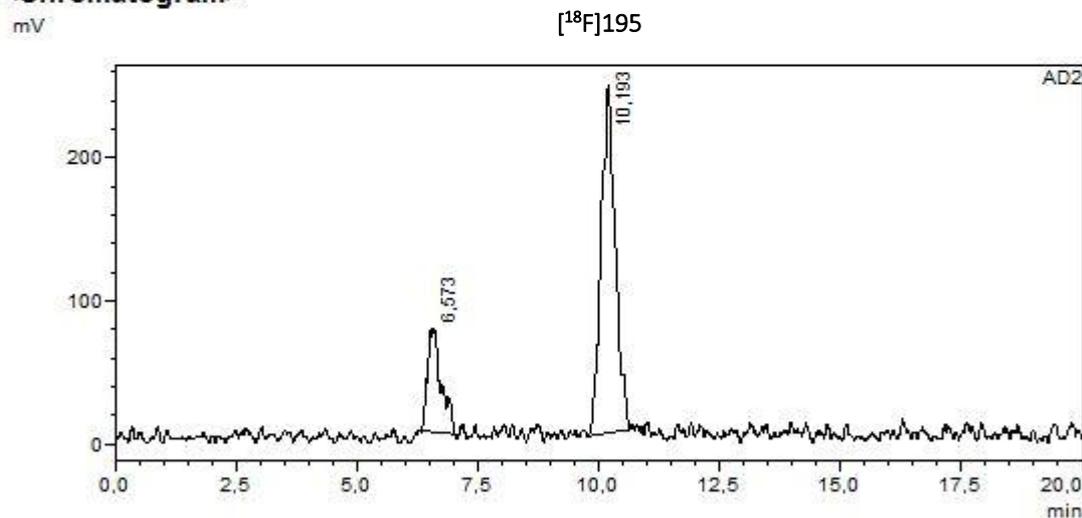


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: V14 0.3MBq 11h28	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: V14 0.3MBq 11h28	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: V14 0.3MBq 11h28.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: grad 90-95 1mlmin 20minrun oestradiol.lcm		
Batch Filename	:		
Vial #	: 1-93		
Injection Volume	: 0,2 uL		
Date Acquired	: 01/12/2021 11:31:48		
Date Processed	: 01/12/2021 11:51:50		

## <Chromatogram>

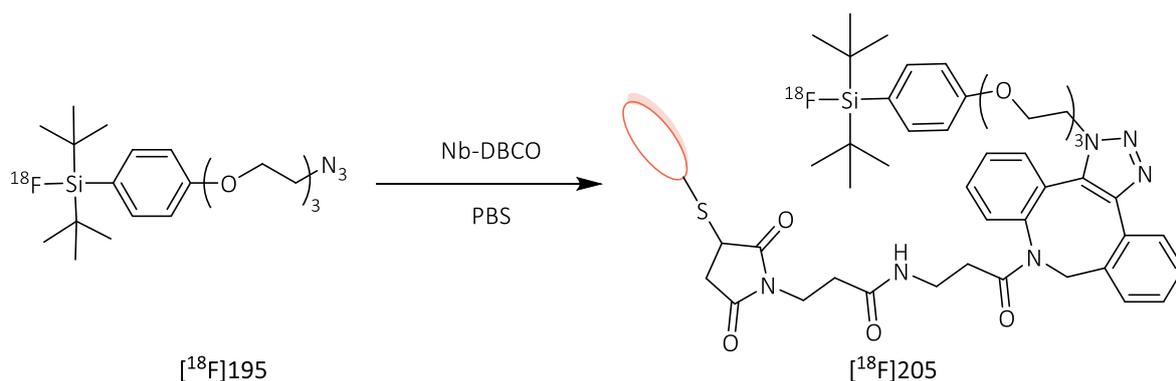


## <Peak Table>

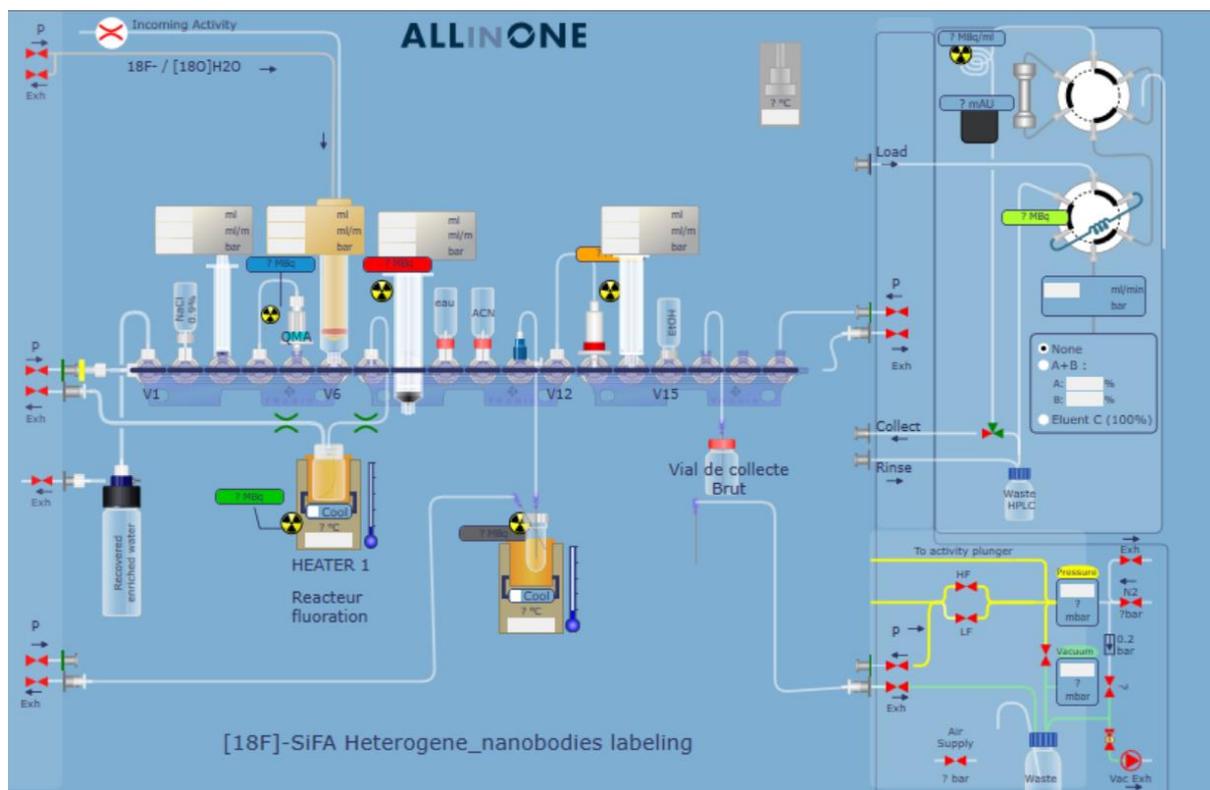
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	6,573	1406515	71985	22,112		M	
2	10,193	4954261	242357	77,888		M	
Total		6360776	314342				

Analytic Radio HPLC chromatogram of [<sup>18</sup>F]195 after the purification on Seppak C18 (YVX1.403)

**Drying procedure to radiolabel Nanobodies**



The reaction was realised by following the general batch procedure in DMSO at 160°C. The final product was eluted at 1mL/min from the cartridge by using acetonitrile (2 mL) from syringe 5 (V14) to R2 (valve 11) through the Sep-pak cartridge (V13 -> V12). Then, the solvent inside R2 was evaporated at 100°C for (10-15) min at 100°C under N<sub>2</sub> pressure (400 mbar, LF) and vacuum (-40 mbar). Then, ethanol (1mL) was added into the reactor to cool it down and to elute [<sup>18</sup>F]195 outside of the fumehood.



*Layout of the cassette for the drying*

## Partie expérimentale

---

The following fluorination of **PS-194** (5 mg, 1.88  $\mu\text{mol}$ ) were performed for 15min with acetic acid (60 eq) in DMSO at 160°C using Drying procedure to radiolabel Nanobodies. After 10 min of drying, ethanol (1 mL) was added to elute [ $^{18}\text{F}$ ]**195** outside of the fumehood. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 90% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 90% of B (3 min) with A = water + 0,1% of formic acid and B = MeCN + 0,1% of formic acid. ( $t_R$  UV detection : 9.92 min at 230 nm).

	Experiment	YVX1.558
	Activity fixed on QMA	12.66 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	10.86 GBq
t = 17 min	Activity in R1 (end of fluorination)	9.46 GBq
t = 44 min	Activity collected in R2 [ $^{18}\text{F}$ ] <b>195</b>	2766 MBq
t = 63 min	Activity collected outside of the fumehood with ethanol (1 mL)	812 MBq

The collected activity (812 MBq) was retrieved in 1.38 mL, which means that after the 10 min of drying there were still a bit of acetonitrile inside the R2. (588 MBq/mL). The Nbs was divided into two different samples.

Test	Quantity of Nbs	Quantity of [ $^{18}\text{F}$ ] <b>195</b>	Proportion H <sub>2</sub> O/EtOH	After 75 min
1	200 $\mu\text{L}$ at 1 mg/mL	200 $\mu\text{L}$ , 104,7 MBq at 13h09	50/50	66 MBq at 14h24
2	200 $\mu\text{L}$ at 1 mg/mL	100 $\mu\text{L}$ , 50,4 MBq at 13h13	67/33	31 MBq at 14h30

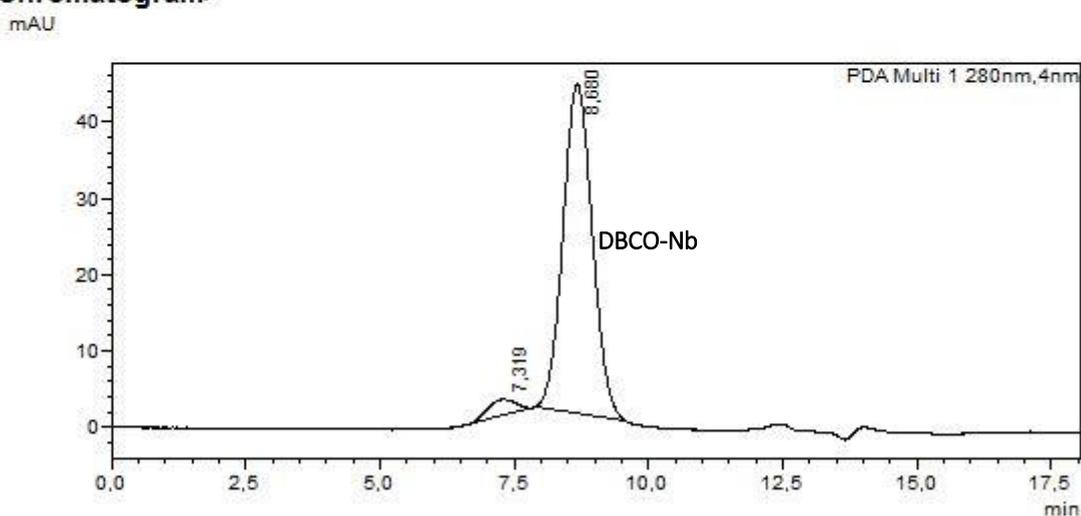


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name	: NbMa-DBCO AGBF00067.1-1	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: projet 18F-SiFA N3-DBCO	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: NbMa-DBCO AGBF00067.1-1.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: meth analyse SEC superdex 5-150.lcm		
Batch Filename	:		
Vial #	: 1-4		
Injection Volume	: 5 uL		
Date Acquired	: 23/06/2022 15:22:00		
Date Processed	: 23/06/2022 15:40:04		

## <Chromatogram>



## <Peak Table>

PDA Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	7.319	70050	1985	4.094
2	8.680	1640865	43142	95.906
Total		1710915	45128	100.000

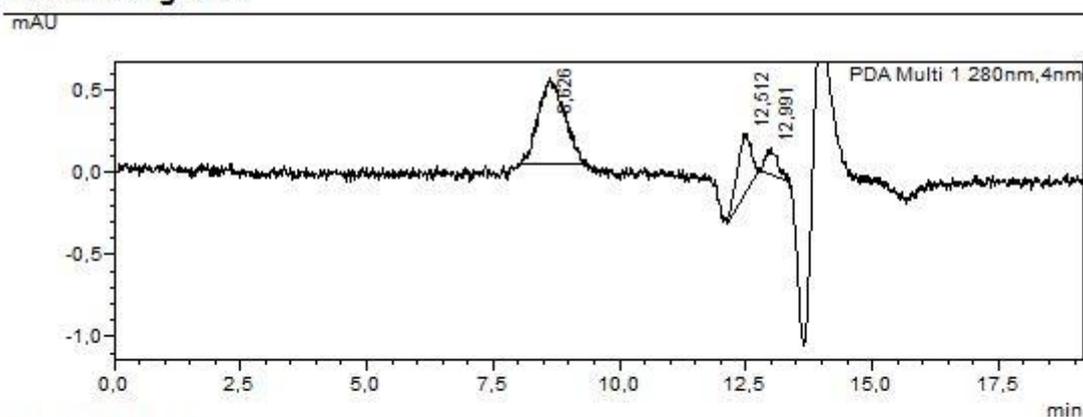
Analytic UV SEC chromatogram of *DBCO-Nb* (YVX1.558)

**SHIMADZU LabSolutions Analysis Report**

**<Sample Information>**

Sample Name : NBDBCO-18F-SIFAN3\_lot1-dilution x6\_1  
 Sample ID : projet 18F-SIFA N3-DBCO  
 Data Filename : NBDBCO-18F-SIFAN3\_lot1-dilution x6\_1.lcd  
 Method Filename : meth analyse SEC superdex 5-150.lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-2  
 Injection Volume : 5 uL  
 Date Acquired : 23/06/2022 16:44:19  
 Date Processed : 23/06/2022 17:03:32  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

**<Chromatogram>**

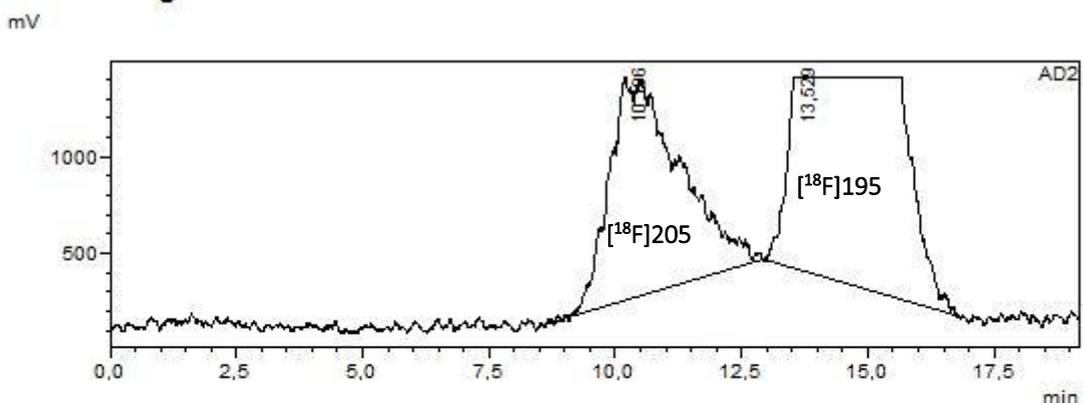


**<Peak Table>**

PDA Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	8,626	18443	523	65,465
2	12,512	6992	349	24,820
3	12,991	2737	169	9,715
Total		28173	1040	100,000

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

AD2

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	10,196	111555587	1159008	39,454
2	13,529	171191741	993651	60,546
Total		282747328	2152659	100,000

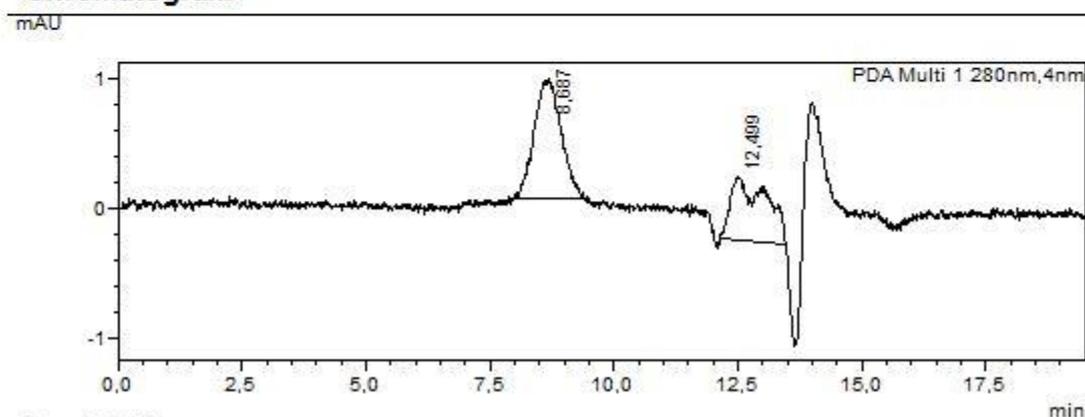
Analytic UV and radio SEC chromatogram of **Test 1** crude (YVX1.558)

**SHIMADZU LabSolutions Analysis Report**

**<Sample Information>**

Sample Name : NBDBCO-18F-SiFAN3\_lot2-dilution x6\_2  
 Sample ID : projet 18F-SiFA N3-DBCO  
 Data Filename : NBDBCO-18F-SiFAN3\_lot2-dilution x6\_2.lcd  
 Method Filename : meth analyse SEC superdex 5-150.lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-3  
 Injection Volume : 5 uL  
 Date Acquired : 23/06/2022 16:23:19  
 Date Processed : 23/06/2022 16:42:51  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

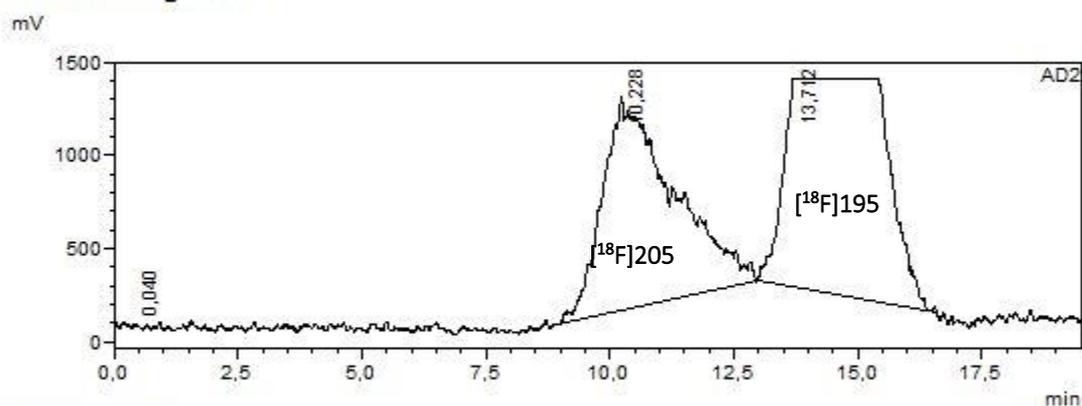
**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	8,687	35164	926	59,095
2	12,499	24341	491	40,905
<b>Total</b>		<b>59505</b>	<b>1417</b>	<b>100,000</b>

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	0,040	24174	14277	0,009
2	10,228	112712749	1141653	40,744
3	13,712	163902597	1122330	59,248
<b>Total</b>		<b>276639520</b>	<b>2278260</b>	<b>100,000</b>

Analytic UV and radio SEC chromatogram of **Test 2** crude (YVX1.558)

## Partie expérimentale

The following fluorination of **PS-194** (5 mg, 1.88  $\mu\text{mol}$ ) were performed for 15min with acetic acid (60 eq) in DMSO at 160°C using Drying procedure to radiolabel Nanobodies. After 15 min of drying, ethanol (1 mL) was added to elute [ $^{18}\text{F}$ ]**195** outside of the fumehood. For this compound the analytical HPLC was realised at a flow rate of 1mL/min and using the following programm: 90% of B (8 min) -> 95% of B (5min) ->95% of B (5min)-> 90% of B (3 min) with A = water + 0,1% of formic acid and B = MeCN + 0,1% of formic acid. ( $t_{\text{R}}$  UV detection : 9.92 min at 230 nm).

	Experiment	YVX1.563
	Activity fixed on QMA	9.60 GBq
t = 0 min	Activity eluted in R1	8.77 GBq
t = 17 min	Activity in R1 (end of fluorination)	7.65 GBq
t = 37 min	Activity collected in R2 [ $^{18}\text{F}$ ] <b>195</b>	1400 MBq
t = 74 min	Activity collected outside of the fumehood with ethanol (1 mL)	336 MBq

The collected activity (336 MBq) was retrieved in 700  $\mu\text{L}$ , which means that after the 10 min of drying there were still a bit of acetonitrile inside the R2. (588 MBq/mL). The Nbs was divided into three differents samples.

Test	Quantity of Nbs	Quantity of [ $^{18}\text{F}$ ] <b>195</b>	Proportion H <sub>2</sub> O/EtOH	After 60 min
1	400 $\mu\text{L}$ at 2 mg/mL	100 $\mu\text{L}$ , 41 MBq at 12h53	80/20	27,1 MBq at 13h59
2	385 $\mu\text{L}$ at 2 mg/mL	100 $\mu\text{L}$ , 42,6 MBq at 12h55	79/21	28,5 MBq at 14h02
3	280 $\mu\text{L}$ at 2 mg/mL	100 $\mu\text{L}$ , 41,9 MBq at 12h56	74/26	29 MBq at 13h57

Test 1 was purified using a Nap<sup>TM</sup>-5.

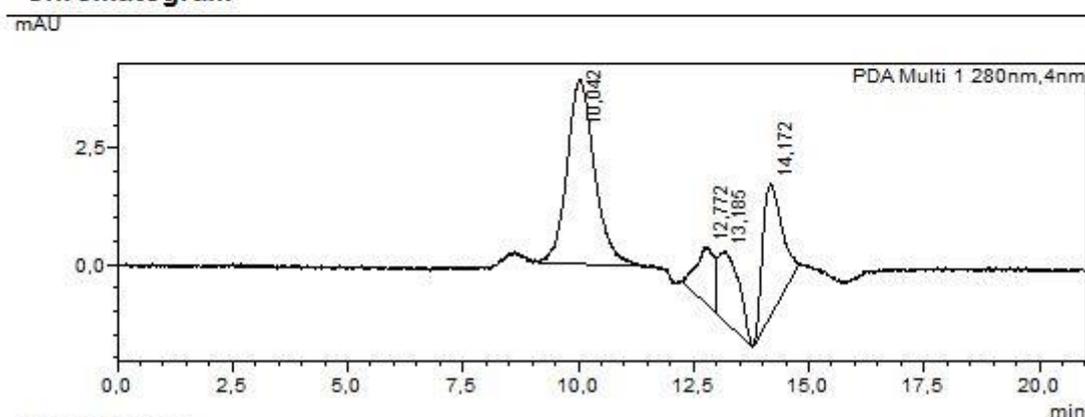
Time	Measured in the Capintec <sup>TM</sup>	Activity in MBq	
2h47 pm	Eppendorf	19	Before purification
2h56 pm	Filtrate	0,5	After purification
	Nap <sup>TM</sup> -5	6,13	
	Eppendorf	10	

**SHIMADZU LabSolutions Analysis Report**

**<Sample Information>**

Sample Name : lot 1 : 1.23MBq 14h dilué\*6  
 Sample ID :  
 Data Filename : Batch 29062022\_29062022\_lot 1 \$ 1.23MBq 14h dilué\$6\_\_003.lcd  
 Method Filename : meth analyse SEC superdex 5-150 2.lcm  
 Batch Filename : Batch 29062022.lcb  
 Vial # : 1-46  
 Injection Volume : 10 uL  
 Date Acquired : 29/06/2022 16:19:34  
 Date Processed : 29/06/2022 16:40:36  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

**<Chromatogram>**

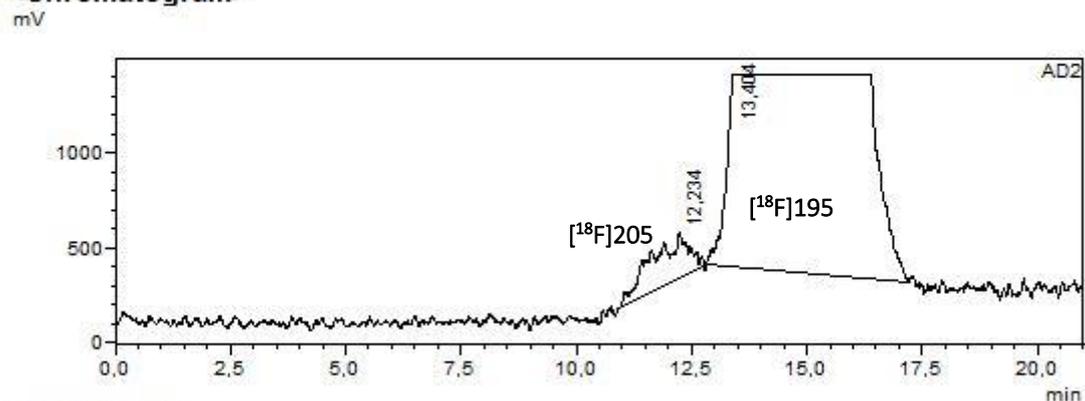


**<Peak Table>**

PDA Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	10,042	163779	3963	50,268
2	12,772	32765	1205	10,057
3	13,185	49743	1505	15,268
4	14,172	79521	2821	24,407
Total		325808	9494	100,000

**<Chromatogram>**



**<Peak Table>**

AD2

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	12,234	14286278	245618	6,217
2	13,404	215515165	1017668	93,783
Total		229801443	1263286	100,000

Analytic UV and radio SEC chromatogram of **Test 1** crude (YVX1.563)

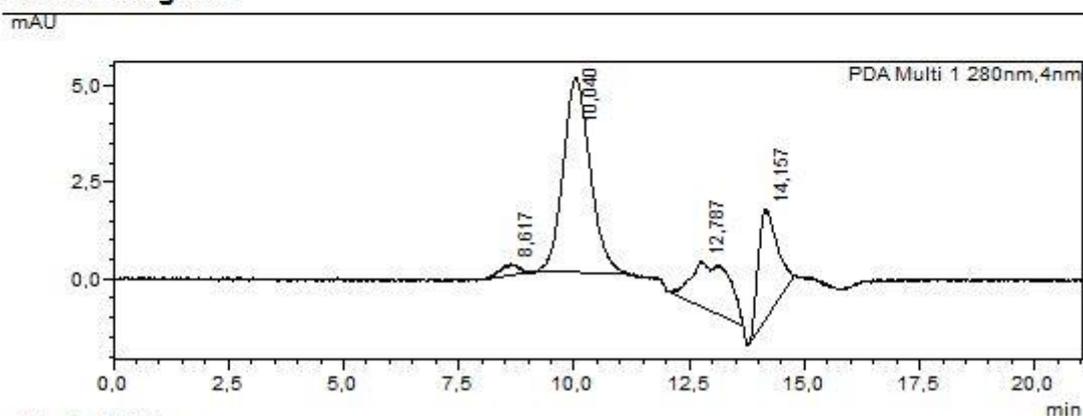


# Analysis Report

## <Sample Information>

Sample Name : lot 2 : 1.53MBq 14h dilué\*6  
 Sample ID :  
 Data Filename : Batch 29062022\_29062022\_lot 2 \$ 1.53MBq 14h dilué\$6\_\_004.lcd  
 Method Filename : meth analyse SEC superdex 5-150 2.lcm  
 Batch Filename : Batch 29062022.lcb  
 Vial # : 1-47  
 Injection Volume : 10 uL  
 Date Acquired : 29/06/2022 16:41:04  
 Date Processed : 29/06/2022 17:02:06  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

## <Chromatogram>

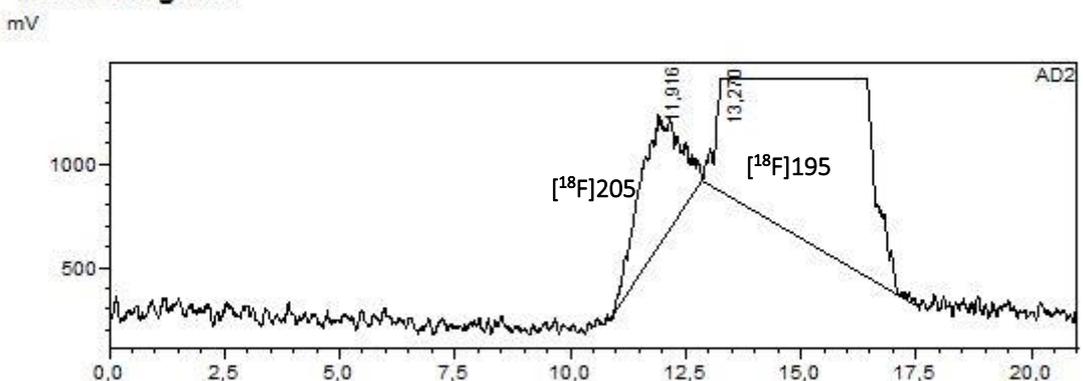


## <Peak Table>

PDA Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	8,617	7510	277	2,069
2	10,040	202638	5015	55,838
3	12,787	72892	1176	20,086
4	14,157	79864	2833	22,007
Total		362905	9302	100,000

## <Chromatogram>



## <Peak Table>

AD2

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	11,916	38600245	632144	19,264
2	13,270	161770226	542176	80,736
Total		200370470	1174320	100,000

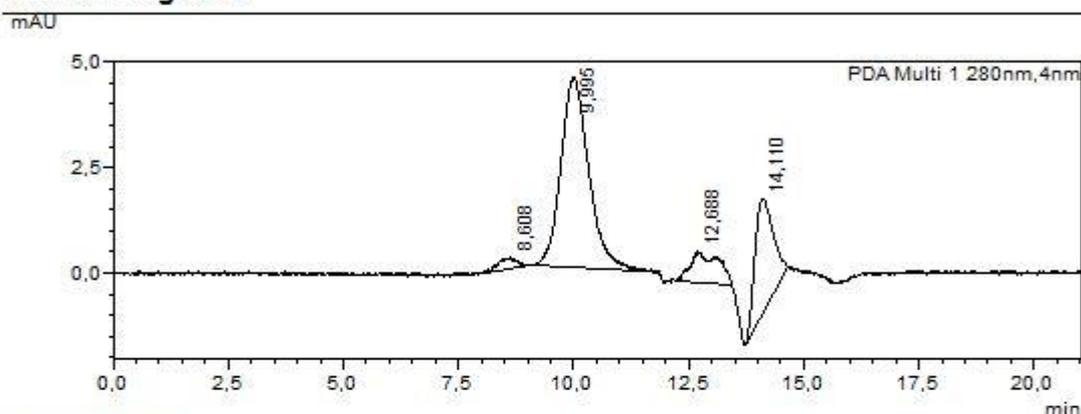
Analytic UV and radio SEC chromatogram of **Test 2** crude (YVX1.563)

SHIMADZU LabSolutions Analysis Report

<Sample Information>

Sample Name : lot 3 : 1.58MBq 14h dilué\*6  
 Sample ID :  
 Data Filename : Batch 29062022\_29062022\_lot 3 \$ 1.58MBq 14h dilué\$6\_\_005.lcd  
 Method Filename : meth analyse SEC superdex 5-150 2.lcm  
 Batch Filename : Batch 29062022.lcb  
 Vial # : 1-48  
 Injection Volume : 10 uL  
 Date Acquired : 29/06/2022 17:02:35  
 Date Processed : 29/06/2022 17:23:37  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

<Chromatogram>

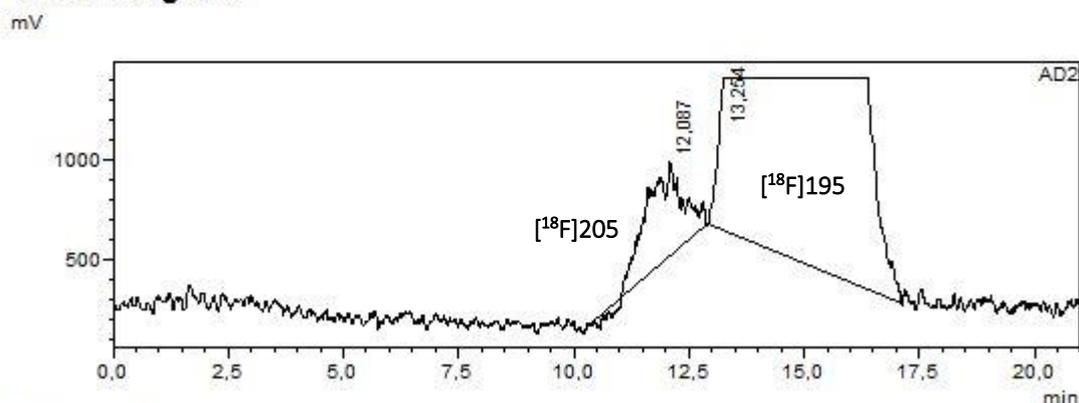


<Peak Table>

PDA Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	8,608	7681	269	2,538
2	9,995	189222	4500	62,532
3	12,688	30086	709	9,943
4	14,110	75613	2745	24,988
Total		302602	8224	100,000

<Chromatogram>



<Peak Table>

AD2

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	12,087	26040768	472257	11,870
2	13,254	193333886	765159	88,130
Total		219374654	1237416	100,000

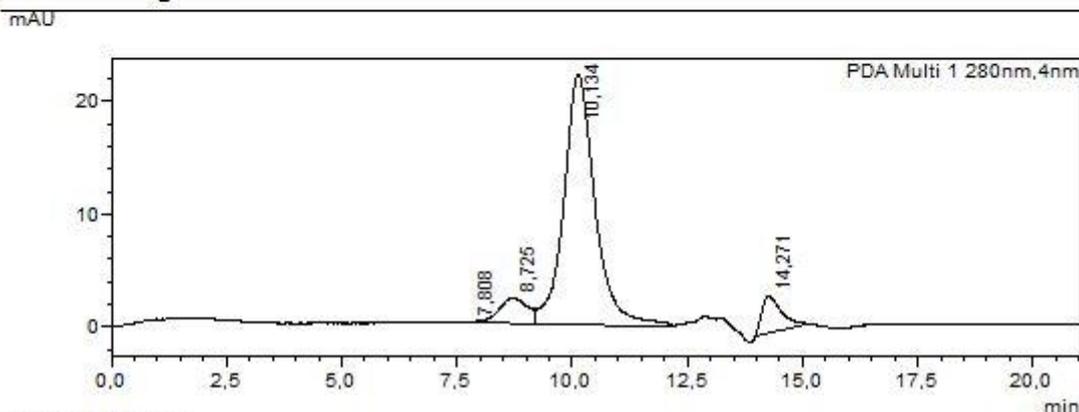
Analytic UV and radio SEC chromatogram of Test 3 crude (YVX1.563)

SHIMADZU LabSolutions Analysis Report

<Sample Information>

Sample Name : lot 1 ap NAP 5  
 Sample ID :  
 Data Filename : Batch 29062022\_29062022\_lot 1 ap NAP 5\_\_002.lcd  
 Method Filename : meth analyse SEC superdex 5-150 2.lcm  
 Batch Filename : Batch 29062022.lcb  
 Vial # : 1-49  
 Injection Volume : 20 uL  
 Date Acquired : 29/06/2022 15:58:04  
 Date Processed : 29/06/2022 16:19:06  
 Sample Type : Unknown  
 Acquired by : System Administrator  
 Processed by : System Administrator

<Chromatogram>

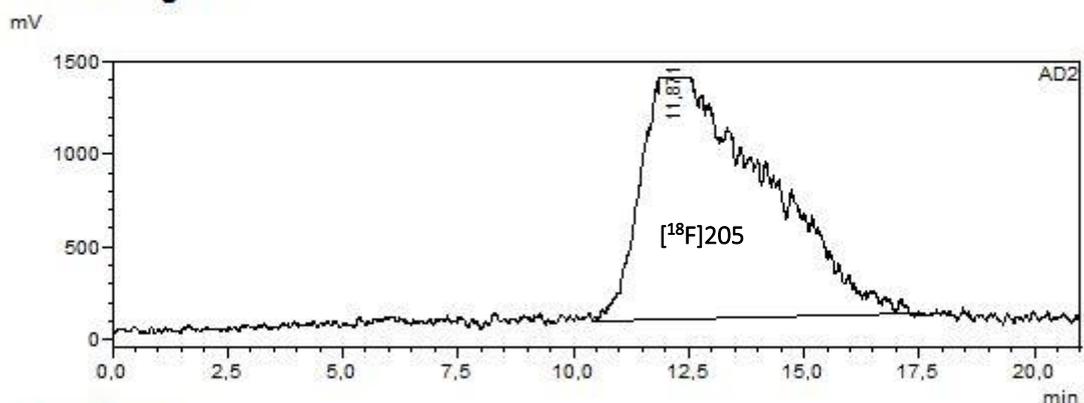


<Peak Table>

PDA Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	7,808	1820	59	0,147
2	8,725	94219	2239	7,630
3	10,134	1038648	22156	84,106
4	14,271	100246	3324	8,118
Total		1234934	27777	100,000

<Chromatogram>



<Peak Table>

AD2

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	11,871	247244627	1303300	100,000
Total		247244627	1303300	100,000

Analytic UV and radio SEC chromatogram of [<sup>18</sup>F]195 after purification on NAP<sup>TM</sup>-5 (YVX1.563)



## Accepteur de fluorure à base de silicium (SiFA) sur support solide : Un nouvel outil polyvalent pour la fluoration au fluor-18 de dérivés de molécules biologiques

### Résumé :

La Tomographie par Emission de Positrons (TEP) est une technique d'imagerie de choix pour localiser et évaluer les pharmacodynamiques de biomarqueurs pour diverses pathologies. Le radioisotope le plus utilisé est le fluor-18, celui-ci possédant un temps de demi-vie relativement court (109,8 min) ce qui impose une contrainte importante sur les radiosynthèses. De plus, les radiomarquages au [<sup>18</sup>F]F<sup>-</sup> existants nécessitent pour la plupart un environnement anhydre, des conditions dures et des températures élevées qui ne sont généralement pas compatibles avec les biomolécules tel que les peptides et les nanobodies. De plus, la purification des radiosynthons implique très majoritairement des HPLC préparatives relativement longues. Dans ce contexte, un radiomarquage rapide, efficace et généralisable dans des conditions douces a été mis au point utilisant un accepteur de fluorure à base de silicium sur support solide. Le radiotracer est clivé du support solide directement par la réaction de fluoration, permettant ainsi de faciliter l'étape de purification. La radiosynthèse a également pu être automatisée et la diversification des structures des biomolécules a pu être effectuée en dernière étape par chimie "click" de type CuAAC. Enfin, différentes approches ont été explorées pour aider à l'évaluation de l'efficacité des traitements en immuno-oncologie, comme par exemple le radiomarquage indirect de nanobodies, le radiomarquage direct d'un ligand de la Granzyme B ou le développement de nouvelles sondes bimodales TEP/IO.

**Mots clés :** Radiomarquage, Fluoration, Imagerie TEP, Biomolécules, Radiotracer, Support solide.

---

### Silicon-based Fluoride Acceptor (SiFA) on solid supports: a new versatile tool for <sup>18</sup>F-fluorination of derivatives of biological structures

**Abstract :** Positron Emission Tomography (PET) is an imaging technique that is used to localize biomarkers and evaluate their pharmacodynamics for various diseases. The most common isotope used for PET is fluorine-18, but it has a short half-life of 109.8 min that requires to label the target molecule as fast as possible. Moreover, common methods for <sup>18</sup>F-radiolabelling often need anhydrous environment, strongly basic conditions and high temperatures. These conditions are not compatible with biological molecules such as peptides or nanobodies. Moreover, their purification often implies time-consuming preparative HPLC. In this context, a fast, efficient and generalizable radiolabeling method in mild conditions has been developed using a Silicon-based Fluoride Acceptor (SiFA) grafted on a solid support. The radiotracer is concomitantly cleaved from the solid support during the radiolabelling by fluoride-18, which greatly facilitates the purification. The radiosyntheses demonstrated good reproducibilities and was fully automated. This system showed a good versatility, as structure diversification was achieved by coupling directly various biomolecules derivatives to a common supported precursor by CuAAC click-chemistry. In addition, different approaches were explored to help the evaluation of immuno-oncology treatment, such as indirect labelling of nanobodies, direct labelling of a peptide ligand of Granzyme B or developing new probes for TEP/OI bimodal imaging.

**Keywords :** Radiolabelling, Fluorination, PET scan, Biomolecules, Radiotracer, Solid support.

---

Unité de recherche

ISM, UMR n°5255, Bâtiment A 12, 351 Cours de la Libération, 33405, Talence