



HAL
open science

Dérivés C-glycosidiques pour l'imagerie bimodale TEP/FPIR. Applications au marquage de dérivés peptidiques RGD

Julen Ariztia

► **To cite this version:**

Julen Ariztia. Dérivés C-glycosidiques pour l'imagerie bimodale TEP/FPIR. Applications au marquage de dérivés peptidiques RGD. Chimie organique. Université de Lorraine, 2021. Français. NNT : 2021LORR0097 . tel-03356421

HAL Id: tel-03356421

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-03356421>

Submitted on 28 Sep 2021

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

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



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Ecole Doctorale C2MP (Chimie-Mécanique-Matériaux-Physique)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : Chimie

Julen ARIZTIA

Dérivés C-glycosidiques pour l'imagerie bimodale TEP/FPIR Applications au marquage de dérivés peptidiques RGD

14 Juin 2021

Membres du jury :

Directeur(s) de thèse :	Mme Sandrine LAMANDE-LANGLE	Maître de Conférences HDR, Université de Lorraine, L2CM UMR 7053, Nancy, directrice de thèse
	Mme Nadia PELLEGRINI MOÏSE	Maître de Conférences HDR, Université de Lorraine, L2CM UMR 7053, Nancy, co-directrice de thèse
Président de jury :	Mme Andreea PASC	Professeur, Université de Lorraine, L2CM UMR 7053, Nancy
Rapporteurs :	M. Philippe COMPAIN	Professeur, Université de Strasbourg, LIMA UMR 7042, Strasbourg
	M. Franck SUZENET	Professeur, Université d'Orléans, ICOA UMR 7311, Orleans
Examineurs :	Bertrand KUHNAST	Ingénieur Chercheur HDR, CEA-SHFJ, BioMaps UMR 1281 INSERM, Orsay
Membres invités	Cédric BOURA	Maître de Conférences HDR, Université de Lorraine, CRAN UMR 7039, Nancy

UMR CNRS 7053 L2CM

Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine
BP 70239, F-54506 Vandoeuvre-lès-Nancy

Remerciements

Je tiens à remercier sincèrement le Professeur Philippe Compain de l'Université de Strasbourg, et le Professeur Franck Suzenet de l'Université d'Orléans, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger mes travaux et d'en être les rapporteurs.

Je remercie également le Docteur Bertrand Kuhnast du CEA-SHFJ d'Orsay, le Professeur Andreea Pasc de l'Université de Lorraine, et le Docteur Cédric Boura de l'Université de Lorraine pour l'intérêt qu'ils veulent bien accorder à cette thèse en acceptant de juger ce travail.

Dans un premier temps, j'aimerais remercier mes directrices de thèse Sandrine Lamandé-Langle et Nadia Pellegrini Moïse de m'avoir donné la chance d'apprendre à leurs côtés pendant ces 3 ans et de m'avoir fait confiance, dès le début, pour mener à bien cette thèse sans me connaître plus que ce qu'elles ont pu voir pendant nos entretiens Skype. Je crois que nous avons fait une bonne équipe et je ne pourrais jamais assez les remercier pour l'opportunité qu'elles m'ont donné avec cette thèse et pour tout ce qu'elles m'ont enseigné. J'aimerais également remercier Sandrine pour tous les conseils et l'apprentissage de la RMN et de l'interprétation des spectres RMN, ainsi que pour les mots et expressions françaises que j'ai pu apprendre (plus ou moins) avec elle au cours de ces 3 années. J'aimerai également remercier Nadia de m'avoir appris que faire une bonne CCM est tout un art et que même si je suis loin d'avoir mon permis CCM, je crois qu'avec ses conseils je suis sur la bonne voie. Je voudrais aussi la remercier pour tous les conseils en termes de lieux à visiter, randonnées, bars, séries etc. Grâce à ses conseils, je n'ai pas eu le temps de m'ennuyer pendant ces 3 années en Lorraine.

J'aimerais aussi remercier Jean-Bernanrd Regnouf des Vains et Michel Boisburn pour leurs conseils pendant les séminaires des mardis mais aussi pour leurs histoires et anecdotes qui nous ont souvent donné le sourire.

Je remercie aussi Katalin Selmeczi et Stephane Parent pour leur aide avec les analyses physico-chimiques, mais surtout Katalin pour sa patience avec moi et les 200 mails qu'elle a dû recevoir de ma part pour réserver des créneaux RMN au cours de mon séjour au L2CM.

Je tiens à remercier également François Dupire pour son aide avec la spectrométrie de masse, ainsi que les membres du laboratoire L2CM, permanents, post-doc et doctorants (anciens et nouveaux) qui ont pu collaborer de près ou de loin à ma thèse.

Si je parle de ma thèse, je dois forcément parler de mes deux autres mousquetaires Dorian et Hiba. Qui aurait dit mon premier jour au laboratoire que la personne qui m'avait engueulé pour avoir mal fermé le chloroforme deutéré, Dorian, deviendrait un aussi bon pote. Comme il m'a dit plus d'une fois : « ...qu'est ce qu'on a rigolé pendant ces trois ans » (le début de la phrase, je vais éviter de la mettre ici). Il a toujours été une source d'idées (des fois un peu trop exotiques) et de connaissances chimiques. Partager le bureau et les allers retours au laboratoire a été un pur bonheur. En ce qui concerne Hiba, malgré le fait qu'au début elle me croyait trop sérieux, on a bien rigolé ensemble pendant ces trois ans. Elle a été d'un grand soutien les derniers mois de la thèse, mais aussi un binôme génial pour les potins ! Ses aventures avec son permis de conduire ou avec sa famille vont rester gravées à vie dans ma mémoire. Je leur souhaite le meilleur à eux deux pour leurs futures carrières dans la chimie et qu'on restera toujours en contact pour aller boire des verres.

J'aimerais remercier les deux stagiaires Benjamin Mourot (M2) et Emilien Husson (L3) qui ont participé directement à cette thèse, mais aussi plus particulièrement Fanny Py qui a été ma collègue de « box » pendant ses stages de M1 et M2, pour son aide et sa bonne humeur au quotidien.

Je tiens aussi à remercier Jean-Charles Moïse pour m'avoir donné l'opportunité de faire de l'enseignement au CPP (la prépa des INP), une expérience qui m'a permis d'apprendre plein de choses et à perdre un peu ma timidité à parler en public.

Je remercie aussi Bertrand Kuhnast de m'avoir accueilli dans son laboratoire pendant 15 jours pour réaliser des radiomarquages et me former dans le domaine de la radiochimie. Je tiens à remercier tout particulièrement Simon Specklin, Mylène Richard et Remi Pelletier pour avoir pris le temps de m'expliquer leurs sujets de recherche et de m'avoir laissé participer.

Je remercie Cédric Boura, Valérie Jouan-Hureaux, Alicia Château et Justine Jubreaux du CRAN pour leur participation au projet lors des études *in vitro* et leur disponibilité.

Je remercie Charlotte Collet pour son encadrement et son aide au cours des radiosynthèses.

Je crois que je ne serais pas en train d'écrire mes remerciements s'il y a 7 ans, Marine Megemont, la pompon girl de Clermont-Ferrand n'avait pas croisé ma vie. Les premiers mois de mon M1 n'ont pas été faciles, un nouveau pays, seul etc. Cependant, une fois que j'ai connu Marine, elle m'a rapidement intégré et ceci m'a permis de connaître plein de gens et surtout de la connaître plus. A ce jour et malgré la distance, on trouve toujours le temps de faire une visio et se raconter les ragots, rigoler ou pour qu'elle me raconte ses aventures américaines. Je suis heureux de pouvoir la considérer comme une de mes meilleures amies. Même si mes 30 ans sont passés, on a encore une soirée à Las Vegas à organiser.

Si je continue avec les amitiés faites à Clermont, je dois remercier Maxime et Laure, mes deux chimistes préférés du master « Sciences du médicament ». Leur soutien au cours du master et de la thèse m'a aidé à être où je suis en ce moment. De plus, grâce à Laure, mon binôme de TP, en plus des pauses café pendant le stage de M1, je me suis tapé le meilleur fou rire de ma vie en cours d'oncologie. Trop hâte qu'on soit les Bitchy's ensemble pour faire une de nos soirées.

Si je remercie mes amis, je dois aussi remercier Marine et Adrien pour leur soutien et les soirées que nous avons pu faire ensemble pour décompresser de la thèse. Qui m'aurait dit le premier jour des DCCE que l'aventure dans les Vosges allait se terminer avec une victoire pour Marine et moi (la meilleure Team, les bleus) et une amitié que j'espère va durer dans le temps !

Je ne pourrais pas parler de ma thèse sans penser à une des personnes les plus importantes que j'ai connu au cours de ces 3 ans : Florian. Le hasard a fait qu'il y a deux ans nos vies se soient croisées (même si Marine raconte sa propre version de l'histoire) et maintenant je ne sais pas ce que j'aurai fait sans son soutien au quotidien. Il a été mon pilier pendant les moments les plus durs de cette thèse mais aussi la personne avec laquelle j'ai fêté mes réussites. Il a du supporter des heures et des heures de discussions, ou plutôt monologues, sur la RMN, les purifications, les alkylations etc. Merci pour ta patience et pour faire tout le temps un effort pour essayer de suivre et de comprendre de quoi je parle. Heureusement, tout ça n'est que le début de cette histoire, on a encore plein de pages à écrire ensemble, que ce soit à distance ou dans la même ville.

Maintenant, je me sens obligé de changer de langue pour remercier certaines personnes qui ne pourront pas comprendre sinon.

Si empiezo por mis amigos el primero al que tengo que nombrar es a mi David. Gracias por esas llamadas los domingos que se convirtieron en una tradición, por preocuparte cuando no he estado bien y por haberte alegrado cuando las noticias eran buenas. Durante el tiempo que ha durado esta tesis nos hemos visto una vez al año, pero era como si el tiempo no pasase. Gracias por ser un buen amigo (lo único que a ver si aprendes a hacer audios más cortos).

Si hay unas personas sin las cuales seguro que ahora mismo no estaba aquí son mis chicas del sur: Marta, Sara y Elena. Si no nos hubiéramos encontrado en ese foro de erasmus (que manda narices que nos encontrásemos ahí cuando ninguno estábamos de erasmus) creo que no hubiera terminado el master y por lo tanto no estaría aquí ahora mismo. Además, nunca habría visto cosas como: Sara bailando Sia en Burdeos, Elena como maléfica en Cambrils o los audios de Marta, que, aunque el día esté siendo complicado, siempre me sacan una sonrisa sino es una carcajada. Nos vemos muy poco, pero eso no impide que sigamos manteniendo una amistad como si nos viéramos todos los días. A la espera de que todo esto termine y pueda darles un enorme abrazo, siempre nos quedara nuestro grupo de Whatsapp.

Por último, pero no por ello menos importante a mi familia. Empezando por mis padres, Tomás y Elena, que me han apoyado desde el día en el que decidí estudiar Química en una universidad privada, hasta el día que tomé la decisión de irme fuera del país a estudiar un master y un doctorado. Sin su apoyo económico y sobre todo moral (cuando las cosas no han ido bien) no habría llegado hasta aquí. Me siento muy afortunado de tener los padres que tengo. A mi hermano pequeño, Eneko, que, aunque no nos escribimos todos los días se que se preocupa por mi y sobre todo por todo lo que me ha tenido que aguantar. No podría terminar estos agradecimientos sin hablar de mis abuelos. A mis dos maravillosas abuelas, Mari Cruz y Aurorita, gracias por haberme apoyado siempre en mis decisiones tanto profesionales como personales y por quererme como soy. A mis dos abuelos Pantxo y Pantxo, que, aunque ya no estén con nosotros, estoy seguro de que se sentirían muy orgullosos de mi y de la persona en la que me he convertido. Y por supuesto al resto de mi familia, mis primos y tíos que siempre me han apoyado en todo.

Production scientifique

Publications

Ariztia, J., Boura, C., Lamandé-Langle, S., Pellegrini-Moïse N., Lactonisation of C-glycosyl compounds and synthesis of [3.3.0]furofuranone derivatives with antiproliferative properties. (*En cours de soumission*)

Collet, C., Vucko T., Ariztia, J., Karcher, G., Pellegrini-Moïse N.; Lamandé-Langle, S., Fully automated radiosynthesis of [18F]fluoro-Cglyco-c(RGDfC): exploiting all the abilities of the AllInOne synthesizer. *React. Chem. Eng.*, **2019**, 4, 2088–2098.

Richard, M., Ariztia, J., Lamandé-Langle, S., Pellegrini-Moïse N.; Sugar γ -Amino Acids as Building Blocks for the Synthesis of Cyclic Neoglycopeptides. *ChemistrySelect*, **2018**, 3, 9121–9126

Communications

Orales

Pellegrini-Moïse N., Lamandé-Langle S., Ariztia J., Richard M. ; ***Investigating exo-glycals reactivity. Recent progress and applications***; 14-19 juillet 2018, International Carbohydrate Symposium (ICS) (*Lisbone, Portugal*).

Richard M., Ariztia J., Lamandé-Langle S., Pellegrini-Moïse N ; ***Recent progress and applications in exo-glycals reactivity***; 21-25 Mai 2018, Groupe Français des Glycosciences (*Nouan le Fuzelier, France*).

Par affiche

Ariztia, J; Vucko, T; Pellegrini-Moïse, N; Lamandé-Langle, S; ***Development of platforms as dyes for combined [18F]PET/NIRF imaging*** 26-31 Mai 2019; International Symposium of Radiopharmaceutical Sciences (ISRS) (*Pekin, Chine*).

Ariztia, J; Vucko, T; Pellegrini-Moïse, N; Lamandé-Langle, S; ***Development of new saccharidic scaffolds as dyes for combined [18F]PET/NIRF imaging***; 20-22 Mai 2019; GDR-AIM (*Dijon, France*).

Ariztia, J., Lamandé-Langle S., Pellegrini-Moïse N.; ***Regioselective functionalization of furanose derivatives. Toward fluorinated dyes for molecular imaging***; 18-19 Octobre 2018, Carbohydrate and fluorine symposium (*Poitiers, France*).

Pellegrini-Moïse N., Lamandé-Langle S., Ariztia J., Richard M; ***Investigating exoglycals reactivity. Recent progress and applications***; 14-19 juillet 2018, International Carbohydrate Symposium (ICS) (*Lisbonne, Portugal*).

Liste des abréviations

ACN : Acétonitrile
AcOEt : Acétate d'éthyle
AIO : AllInOne
Am : activité molaire
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
APTS : Acide para-toluène sulfonique
9-BBN : 9-borabicyclo[3.3.1]nonane
BnBr : Bromure de benzyle
CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance
CB : Cross-Bridged
C.D: Corrigé de la décroissance
CCD : Charged Coupled Device
CCM : Chromatographie sur Couche-Mince
CI₅₀ : Concentration inhibitrice médiane
Cy : Cyanine
COSY : COrrrelation SpectroscopY
CuAAC : Cycloaddition alcyne-azoture catalysée au cuivre
DAST : Trifluorure de diéthylaminosulfur
DCC : *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide
DCM : Dichlorométhane
DIPEA : *N,N*-diisopropyléthylamine
DMAP : 4-diméthylaminopyridine
DMF : Diméthylformamide
DMSO : Diméthylsulfoxyde
éq. : Equivalent
FDG : 2-Désoxyfluoroglucose
FPIR : Fluorescence en proche Infra-Rouge
GBq : GigaBecquerel
GF: groupe fonctionnel
GH: Hormone de croissance
GP : Groupe partant
H₂O₂ : Eau oxygénée
HDA : Héxadécylamine
HER2: Récepteur humain du facteur de croissance de l'épiderme
IBCF : chloroformiate d'isobutyle
ICG : IndoCyanine Green
IEDDA : Cycloadditions de Diels-Alder à demande d'électrons inverse
IR : Infra-Rouge
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
IO : Imagerie Optique
mAb: anticorps monoclonal
MBq : MégaBecquerel

MeOH : Méthanol
MOMIAs : MonomOlecular Multimodality Imaging Agents
MTT: bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium
Na Asc : Ascrobate de Sodium
NHS : *N*-hydroxysuccinimide
NMM: 4-méthylmorpholine
NOESY : Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
OR: Récepteur aux œstrogènes
PCa : cancer de la prostate
PEG: Polyéthylène glycol
PIR : Proche Infra-Rouge
PMB: *para*-méthoxybenzyl
PR: Récepteur à la progestérone
PSA: Antigen Spécifique de la Prostate
PSMA : Prostate-Specific Membrane Antigen
QMA: quaternary methyl ammonium
QY : Rendement quantique
RAFT: Regioselectively Addressable Functionalised Template
RGD : Arginine-Glycine-Acide aspartique
RGDC : Arginine-Glycine-Acide aspartique-Cystéine
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
ROS : Espèces réactives de l'oxygène
SE : Substitution Electrophile
SN : Substitution Nucléophile
SRIF: Facteur inhibiteur de la libération de la somatotropine
SPAAC : Cycloaddition alcyne-azoture contrainte
SPE: solid phase extraction
SSTR: Récepteur à la somatostatine
t_{1/2} : Temps de demi-vie
TBDMS : *tert*-butyldiméthyl
TBDPS : *tert*-butyldiphényl
TCO : *trans*-cyclooctène
TDM : Tomodensitométrie
TEA : Triéthylamine
TEAF: Fluorure de triéthylamonium
TEMP : Tomographie par Emission Mono-Photonique
TEP : Tomographie par Emission de Positron
TFA : Acide trifluoroacétique
THF : Tétrahydrofurane
TNBC : Cancer de sein triple négative
US : UltraSon
UV : Ultra-Violet
VEGF: Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

Table des matières

AVANT-PROPOS	1
CHAPITRE 1 : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES ET OBJECTIFS DE LA THESE ..	5
I. IMAGERIE MOLECULAIRE TEP ET OPTIQUE PAR FPIR	7
I.1. Généralités	7
I.2. Imagerie par Tomographie par Emission de Positron (TEP).....	8
I.2.1. Principe de fonctionnement de l'imagerie TEP	9
I.2.2. Les différents radioisotopes utilisés en imagerie TEP	10
I.2.3. Focus sur le ¹⁸ F : méthodes de fluoration.....	15
I.3. Imagerie optique par Fluorescence Proche Infra-Rouge (FPIR)	20
I.3.1. Principe de la fluorescence.....	20
I.3.2. Cahier des charges pour des applications <i>in vivo</i>	23
I.3.3. Les différents types de fluorophores organiques pour la FPIR.....	25
I.4. Imagerie bimodale	32
I.4.1. Intérêt et exemples d'association de deux techniques d'imagerie	32
I.4.2. Intérêt de la combinaison TEP/FPIR.....	35
II. BIOMOLECULES ET IMAGERIE MOLECULAIRE	37
II.1. Généralités.....	37
II.2. Peptides et pseudo-peptides : utilisation en imagerie moléculaire.....	39
II.2.1. Octréotide	40
II.2.2. Pseudo-peptide ciblant le PSMA	41
II.2.3. Dérivés de la séquence RGD	42
II.3. Marquage de biomolécules pour l'imagerie moléculaire	48
II.3.1. Techniques de ligation pour l'accrochage des sondes sur les biomolécules.....	48
II.3.2. Contrainte de l'utilisation de radioisotopes pour le marquage des biomolécules pour la TEP	51
III. MARQUAGE DE BIOMOLECULES POUR DES APPLICATIONS EN IMAGERIE BIMODALE TEP/FPIR	57
III.1. Marquage par radiométaux	59
III.1.1. Approche itérative	59
III.1.2. Approche <i>via</i> une sonde duale.....	60
III.2. Marquage au fluor-18	61
III.2.1. Approche itérative	61
III.2.2. Approche <i>via</i> une sonde duale TEP/FPIR	62

IV. DERIVES DE TYPE C-GLYCOSIDIQUES : SYNTHÈSE ET INTERET POUR DES APPLICATIONS BIOLOGIQUES <i>IN VITRO</i> ET <i>IN VIVO</i>	68
IV.1. Principales méthodes de synthèse des dérivés C-glycosidiques.....	69
IV.1.1. Synthèse de dérivés C-glycosidiques à partir d' <i>exo</i> -glycals	69
IV.1.2. Synthèse de dérivés C-glycosidiques à partir de sucres électrophiles.....	73
IV.1.3. Synthèse de dérivés C-glycosidiques à partir de sucres nucléophiles.....	75
IV.1.4. Synthèse de dérivés C-glycosidiques à partir de métaux de transition	77
IV.2. Applications biologiques <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> de dérivés C-glycosidiques développés au laboratoire	78
IV.2.1. Dérivés de type C-glycosidiques pour la construction de molécules bioactives	78
IV.2.2. Dérivés C-glycosidiques pour l'imagerie TEP.....	79
V. OBJECTIF GENERAL DE LA THESE	81
CHAPITRE 2 : FONCTIONNALISATION D'UNE PLATE-FORME DE TYPE C-GLYCOSIDIQUE COMPORTANT UN MOTIF [3.3.0]FUROFURANONE	83
I. INTRODUCTION ET STRATEGIE DE SYNTHÈSE	85
I.1. Travaux préliminaires concernant la lactonisation.....	85
I. 2. Stratégie de synthèse	86
II- MISE AU POINT DE LA FONCTIONNALISATION DE LA PLATE-FORME [3.3.0]FUROFURANONE.....	87
II.1. Synthèse de l'intermédiaire de type C-glycosidique.....	87
II.1.1- Synthèse de l' <i>exo</i> -glycal.....	87
II.1.2. Synthèse du dérivé C-glycosidique par réduction de l' <i>exo</i> -glycal.....	88
II.2. Synthèse de la lactone monoprotégée en position 7.....	93
II.2.1. Voie de synthèse A	93
II.2.2. Voie de synthèse B	97
II.3. Fonctionnalisation du groupe hydroxyle en position 5	99
II.3.1. Alkylation de type Williamson	99
II.3.2. Éthérisation avec Ag ₂ O	101
II.3.3. Introduction directe d'un azoture.....	106
II.3.4. Fonctionnalisation <i>via</i> un lien carbamate	108
II.4. Ouverture de la lactone et protection du OH en position 4.....	110
II.4.1. Protection du groupe hydroxyle en position 4	111
II.4.2. Protection du OH par inversion de configuration	113
III. DERIVES NATURELS COMPORTANT UN NOYAU BICYCLIQUE DE TYPE FUROFURANONE	116
III.1. Introduction.....	116

III.2. Objectif	118
III.2. Synthèse des stéréoisomères de configuration <i>D-gulo</i>	119
III.2.1. Dérivés déphénylés : iodé, diol et benzylé de configuration <i>D-gulo</i>	120
III.2.2. Stéréoisomères de configuration <i>D-gulo</i> de la goniofufurone et des crassalactones B et C.....	124
III.3. Synthèse des stéréoisomères en configuration <i>D-ribo</i>	128
III.3.1. Dérivés déphénylés : halogénés, diol ou benzylé de configuration <i>D-ribo</i>	128
III.4. Evaluation biologique des composés	129
IV. CONCLUSION	133
CHAPITRE 3 : FONCTIONNALISATION D'UNE PLATE-FORME DE TYPE C- GLYCOSIDIQUE POLYHYDROXYLEE - ACCES A UNE SONDE DUALE DIVALENTE	135
I. INTRODUCTION ET OBJECTIFS	137
II. SYNTHÈSE DE LA RÉFÉRENCE FLUORÉE NON RADIOACTIVE	138
II.1. Fluoration du dérivé C-glycosidique.....	138
II.2. Fonctionnalisation du bras pseudo-anomérique.....	140
II.3. Fonctionnalisation des groupements hydroxyles secondaires.....	142
II.3.1. Fonctionnalisation des hydroxyles secondaires de 87	142
II.3.2. Fonctionnalisation des hydroxyles secondaires de 85	145
II.4. Conjugaison de la plate-forme saccharidique avec la cyanine-5	150
II.4.1. Conjugaison de la cyanine 5 par réaction de type CuAAC (voie A).....	151
II.4.2. Conjugaison de la cyanine 5 par réaction d'amidation (voie B).....	151
II.5. Conjugaison des peptides dérivés de la séquence RGD avec la plate-forme saccharidique	152
II.5.1. Synthèse des dérivés azotures du c(RGDfK).....	153
II.5.2. Conjugaison du composé JA avec les peptides fonctionnalisés 107 et 108.....	154
III. SYNTHÈSE DU PRÉCURSEUR DE MARQUAGE	158
III.1. Fonctionnalisation du bras pseudo-anomérique	158
III.2. Fonctionnalisation des groupements hydroxyles secondaires	160
III.3. Conjugaison de la plate-forme saccharidique avec la cyanine-5.....	160
III.4. Fonctionnalisation de l'hydroxyle primaire avec un bon groupe partant	161
IV. ÉVALUATION <i>IN VITRO</i> DES COMPOSÉS 109 ET 110.....	162
V. ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS PHOTO-PHYSIQUES DES COMPOSÉS 109 ET 110	167
VI. CONCLUSION	168

CHAPITRE 4 : ACTIVATION ET RADIOFLUORATION D'UNE SONDE DUALE C-GLYCOSIDIQUE DE TYPE PYRANOSE.....	171
I. INTRODUCTION ET OBJECTIFS	173
II. SYNTHÈSE DE LA SONDE DUALE	173
II.1. Synthèse du précurseur de marquage	175
III. RADIOSYNTHESE DE LA SONDE DUALE [¹⁸ F]126	178
III.1. L'automate AlInOne (AIO)	178
III.2. Préparation de l'automate et de la cassette	180
III.3. Radiofluorination du précurseur de marquage de la sonde duale 133	180
IV. CONCLUSION	182
CONCLUSION GENERALE.....	183
PARTIE EXPERIMENTALE	187
I. GENERAL INFORMATION.....	189
II. PREPARATION AND PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISATION OF COMPOUNDS	191
II.1. Functionalization of a C-glycosyl compound with [3.3.0]furofuranone moiety	191
II.2. Functionalization of a polyhydroxylated C-glycosyl platform - Access to a dual divalent probe	230
II.3. Activation and radio fluorination of a pyranose type C-glycosyl dual probe..	255
Radiosynthesis of [¹⁸ F]126.....	258
BIBLIOGRAPHIE	261

AVANT-PROPOS

Plusieurs facteurs tels que le vieillissement de la population, l'augmentation du nombre de cancers et une utilisation étendue de la médecine nucléaire conduisent à une expansion du marché des radiopharmaceutiques. Un diagnostic rapide et efficace participe au bien-être de la population offrant une intervention thérapeutique rapide et adaptée évitant ainsi la morbidité. Avec l'augmentation du nombre de cancers, un diagnostic précoce apparaît comme la solution préconisée et chaque cas étant particulier, la médecine personnalisée est donc d'actualité. Dans ce contexte, la tendance est donc d'utiliser certaines biomolécules permettant de cibler des pathologies précises et de les conjuguer à une sonde spécifique à la technique d'imagerie visée.

Au cours de ces dernières décennies, deux techniques d'imagerie médicale, l'imagerie par Tomographie par Emission de Positons (TEP) et l'imagerie optique par fluorescence proche infra-rouge (FPIR) ont émergé et commencent à avoir un impact significatif sur la prise en charge clinique en général et du cancer en particulier. La TEP s'est largement développée grâce à l'implantation de cyclotrons biomédicaux pour produire le 2-désoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose ([¹⁸F]FDG), radiotracer utilisé en routine pour le diagnostic de cancers. Aujourd'hui, l'imagerie TEP est devenue un outil de référence grâce à sa sensibilité et spécificité en oncologie et en neurologie.^[1,2] L'imagerie optique par FPIR est une technique très prometteuse pour la réalisation des chirurgies guidées par fluorescence de tissus tumoraux, car elle offre une haute résolution de la délimitation des marges tumorales en temps réel.^[1,3]

La résolution spatiale limitée de la TEP et la faible pénétrabilité de la FPIR ont conduit la recherche à se tourner de plus en plus sur le développement agents bimodaux portant une sonde fluorescente et un radioisotope. Cette combinaison permettrait de dépasser les limitations de chacune des deux techniques en créant un nouvel outil d'un grand bénéfice pour la santé du patient.

En ce qui concerne la recherche d'agents d'imagerie bimodaux TEP/FPIR une alternative prometteuse et beaucoup moins explorée que la combinaison radiométaux/fluorophore est la combinaison fluor-18/fluorophore. Le fluor-18, couramment utilisé en TEP, a l'avantage de former des liaisons covalentes conduisant à des outils de diagnostic plus stables. Dans la recherche de sondes duales TEP/FPIR plus spécifiques, les peptides sont considérés comme des biomolécules à fort potentiel.

Cette thèse a débuté en janvier 2018 et a bénéficié d'une prolongation de 3 mois à cause de la crise sanitaire (fin du contrat le 31 mars 2021). Ce projet fait partie d'un projet ANR collaboratif entre les laboratoires CEA-SHFJ, L2CM et CRAN. Cette ANR M3ODALity cherche à répondre au besoin de nouveaux traceurs bimodaux ^{18}F -TEP/FPIR radiomarqués par un lien F-C et couplés à des biomolécules, l'idée étant d'accéder à des outils théranostiques pour des applications en diagnostic par imagerie et chirurgie guidée par FPIR.

L'objectif général de ces travaux de thèse se situe donc dans cette thématique en mettant en œuvre des dérivés saccharidiques et plus précisément, des dérivés de type C-glycosidique compte tenu de leur stabilité supérieure à celle des O-glycosides.

Ce manuscrit est articulé en quatre chapitres : le premier chapitre présente des rappels bibliographiques concernant l'imagerie moléculaire TEP et FPIR ainsi que l'imagerie bimodale TEP/FPIR et le marquage des biomolécules, notamment des peptides. Le deuxième chapitre décrit la fonctionnalisation d'un dérivé C-glycosidique de type furanose [3.3.0]furofuranone. Nous nous sommes ensuite intéressés dans le troisième chapitre à l'élaboration de sondes duales à partir d'un dérivé C-glycosidique polyhydroxylé. Le quatrième chapitre présente la synthèse du précurseur de marquage d'une sonde duale TEP/FPIR basée sur un dérivé C-glycosidique de type pyranose ainsi que la réaction de radiofluoration.

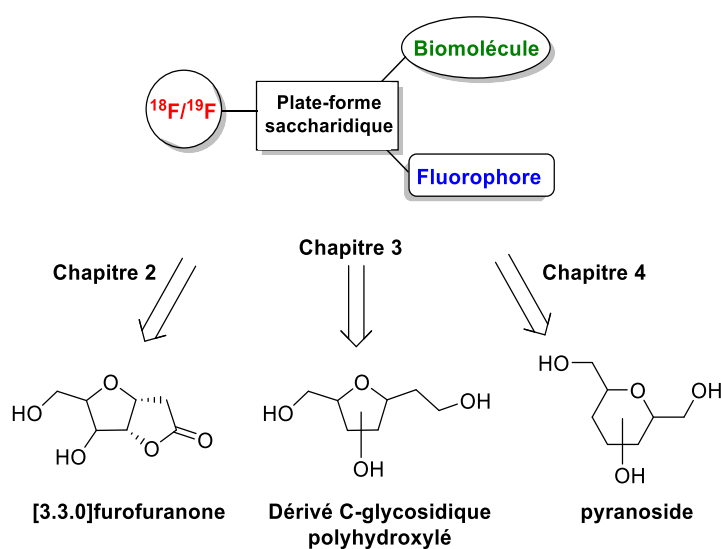


Figure 1. Synthèse des sondes duales TEP/FPIR à partir de différents dérivés C-glycosidiques

CHAPITRE 1
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES ET
OBJECTIFS DE LA THESE

I. Imagerie moléculaire TEP et optique par FPIR

I.1. Généralités

L'imagerie moléculaire est un domaine pluridisciplinaire relativement récent qui est en pleine expansion actuellement. Cette imagerie tend à améliorer l'imagerie anatomique conventionnelle en fournissant des informations concernant les tissus et organes à un niveau moléculaire. D'après la définition de la Society of Nuclear Medicine « L'imagerie moléculaire est la visualisation, caractérisation et mesure des processus biologiques au niveau moléculaire et cellulaire, chez l'homme et d'autres êtres vivants ».^[4]

Traditionnellement, l'imagerie moléculaire est un outil de diagnostic clinique permettant la visualisation de la présence et de l'extension d'une maladie, comme le cancer par exemple. Cependant, grâce à l'imagerie moléculaire, il est aussi possible d'évaluer et suivre des biomarqueurs. Ceci permet de réaliser le suivi de la réponse aux traitements des patients, même avant l'apparition de changements anatomiques détectables. De plus, la capacité de caractériser des pathologies au niveau moléculaire permet d'adapter les traitements de façon individuelle en augmentant ainsi, l'efficacité de ceux-ci tout en réduisant leur toxicité et effets secondaires.^[4,5]

Des informations concernant les aspects moléculaires de la pathologie peuvent aussi être obtenues grâce à une biopsie des tissus, qui est une technique très invasive et difficile à appliquer pour certains organes comme le cerveau. C'est pourquoi, l'imagerie moléculaire reste toujours préférable puisqu'elle permet d'obtenir ces informations de façon non-invasive et en temps réel.^[4]

L'imagerie moléculaire englobe plusieurs techniques et modalités d'imagerie, mais les cinq principales sont : l'imagerie par ultrason (US), l'imagerie numérisée par tomographie des rayons-X (ex : tomodensitométrie TDM), l'imagerie optique (IO), l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et l'imagerie par radionucléide, incluant l'imagerie par Tomographie par Emission de Positron (TEP) et l'imagerie par Tomographie par Emission Mono-Photonique (TEMP).

Depuis quelques années de nombreuses améliorations et optimisations ont été apportées aux instruments utilisés pour l'imagerie moléculaire. De nos jours, grâce aux avancées technologiques, il est possible d'obtenir des images de haute résolution permettant le suivi des processus biologiques et l'observation de lésions de petites tailles de façon précise.

Afin de pouvoir imager un processus biologique ou un biomarqueur précis, le ciblage moléculaire des agents d'imagerie est primordial. Ainsi, ces dernières années la recherche est centrée sur le développement d'agents d'imagerie moléculaire ayant la capacité de cibler de façon spécifique le phénomène ou le marqueur à étudier.

Lors de ce premier chapitre bibliographique, l'imagerie moléculaire par tomographie par émission de positon (TEP) et l'imagerie optique par fluorescence proche infrarouge (FPIR) seront développées plus en détail. Nous verrons ensuite l'intérêt de l'imagerie bimodale et particulièrement celui de la combinaison TEP/FPIR.

I.2. Imagerie par Tomographie par Emission de Positron (TEP)

L'imagerie TEP est une technique d'imagerie utilisée dans le domaine de la médecine nucléaire, basée sur l'administration d'une molécule radiomarquée avec un isotope émetteur de positons, couramment appelé radiotraceur.^[6] Les différents radioisotopes utilisés pour l'imagerie TEP peuvent être classés en deux catégories principales :

- Radioisotopes introduits par liaisons covalentes : Les isotopes sont liés par liaison covalente à la molécule. Les isotopes les plus utilisés dans cette catégorie sont le fluor-18 (^{18}F) et le carbone-11 (^{11}C).
- Radioisotopes coordinants : Les radioisotopes de type métallique, ou radiométaux, sont incorporés par coordination. Les plus couramment utilisés sont le gallium-68 (^{68}Ga), le cuivre-64 (^{64}Cu) et plus récemment le zirconium-89 (^{89}Zr).

Malgré la résolution spatiale plus faible de l'imagerie TEP par rapport aux techniques d'imagerie anatomique, comme l'IRM ou la TDM, la TEP permet en revanche d'obtenir des informations quantitatives des processus biologiques ou des cibles macromoléculaires.^[7] De plus, actuellement, les cameras TEP sont souvent couplées à d'autres techniques comme l'IRM (peu courant) ou la TDM (plus couramment) pour former des appareillages permettant des diagnostic hybrides plus performants.^[8] La haute sensibilité de l'imagerie TEP permet d'obtenir des informations avec de faibles doses de traceur, de l'ordre du nanomolaire. Des différences de sensibilité, mais surtout de résolution peuvent être observées en fonction du radioisotope utilisé, de la performance du tomographe et de la puissance des techniques utilisées lors de la reconstruction de l'image.^[9,10] Au cours des années, différents traceurs ont été développés et mis sur le

marché pour une utilisation en clinique.^[11,12] Cependant le traceur le plus utilisé en routine dans les hôpitaux pour le diagnostic de cancers est le [¹⁸F]FDG.

I.2.1. Principe de fonctionnement de l'imagerie TEP

Une image TEP est obtenue grâce aux propriétés uniques de désintégration et d'annihilation du positon émis par le radiotracer. Le radioisotope utilisé en imagerie TEP, émet un positon β^+ qui va parcourir une distance de quelques millimètres qui est dépendante de son énergie cinétique initiale (relation directement proportionnelle). La distance parcourue, aussi appelée libre parcours moyen, dépend du radioisotope utilisé puisque, chaque radioisotope émet un positon avec une énergie cinétique initiale caractéristique (voir tableau 1). Une fois que le positon a perdu son énergie cinétique (fin du libre parcours moyen), il entre en collision avec un électron libre présent dans le milieu, pour donner lieu au phénomène d'annihilation. Lors de l'annihilation, deux photons gamma, d'énergie égale (511 keV), sont émis en direction antiparallèle (figure 2).^[13,14]

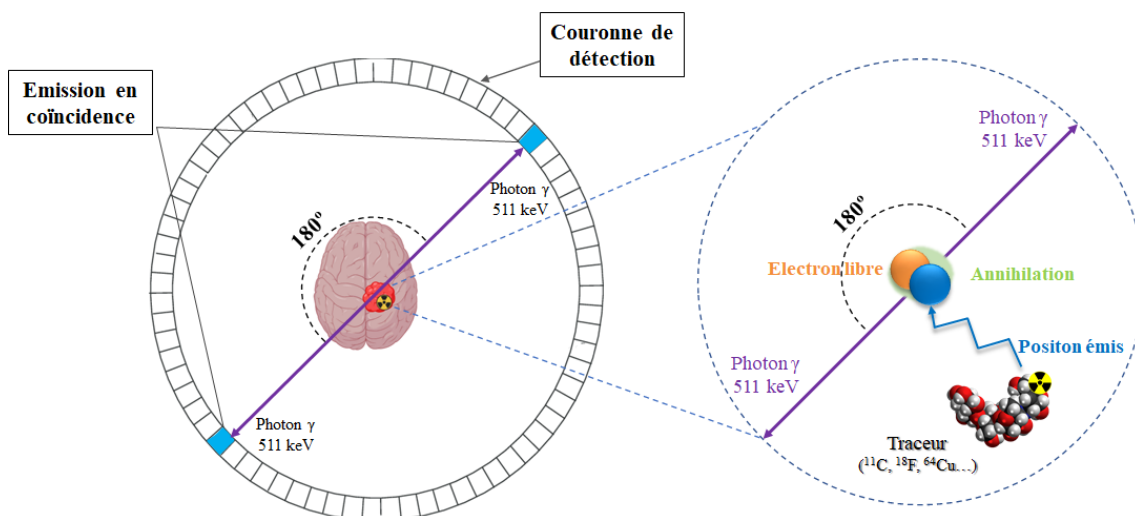


Figure 2. Principe de fonctionnement de l'imagerie TEP schématisée

Les deux photons γ émis en coïncidence sont détectés par une couronne de détection formée par des blocs de détection (cristaux scintillants et photomultiplicateurs).^[9,14] Une fois les photons détectés et corrélés, des algorithmes permettent de remonter à la position d'annihilation et ainsi reconstituer les images.

Etant donné que la reconstitution de l'image est réalisée à partir de la position d'annihilation, les isotopes ayant une énergie cinétique plus faible, ou ce qui est le même,

un libre parcours moyen plus court, sont ceux qui permettent d'avoir une meilleure résolution spatiale.

I.2.2. Les différents radioisotopes utilisés en imagerie TEP

Différents isotopes émetteurs de positons β^+ sont connus dans la littérature mais les plus utilisés pour l'imagerie TEP sont : Le fluor-18 (^{18}F), le carbone-11 (^{11}C), le cuivre-64 (^{64}Cu), le gallium-68 (^{68}Ga) et le zirconium-89 (^{89}Zr).

I.2.2.1. Caractéristiques des différents isotopes

Les caractéristiques physiques ainsi que la méthode chimique de marquage utilisée pour le radiomarquage des différents isotopes sont rassemblés dans le tableau 1.^[15]

Isotope	Demi- vie	$E_{\max}\beta^+$ (keV)	Libre parcours max dans l'eau (mm)	Activité molaire théorique (GBq. μmol^{-1})	Mode de décroissance (%)	Méthode de marquage
^{11}C	20,4 min	960	4.1	$3,41.10^5$	β^+ (99,8) CE (0,2)	Méthylation des hétéroatomes
^{18}F	109,8 min	635	2.4	$6,33.10^4$	β^+ (96,9) CE (3,1)	SN et SE aliphatique et aromatique
^{64}Cu	12,6 h	656	2.5	$9,13.10^3$	β^+ (17,5) β^- (38,5) CE (43,5)	Coordination par chélatants
^{68}Ga	67,8 min	1899	8.2	$1,02.10^5$	β^+ (88,9) CE (11,1)	Coordination par chélatants
^{89}Zr	78,4 h	902	3.8	n.d. ^a	β^+ (78,4) CE (76,2)	Coordination par chélatants

*CE : capture électronique (pas de radiation émise) a : n.d. non déterminée

Tableau 1. Caractéristiques physiques et méthodes de marquage des émetteurs de positons

Les définitions des différentes caractéristiques exposées dans le tableau 1 sont les suivantes :

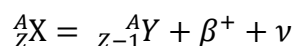
- Demi-vie : Terme qui indique la période au bout de laquelle l'activité de l'isotope est réduite de moitié. Le calcul de cette donnée est réalisé à partir de la constante de désintégration λ caractéristique pour chaque radioisotope et la formule suivante :

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{\lambda}$$

- Energie maximale : Energie qui permet au positon libéré par l'isotope de se déplacer dans le milieu jusqu'à son annihilation avec l'électron. L'énergie pour chaque isotope est différente et cela va avoir une influence sur la résolution spatiale (voir I.2.1. Principe de fonctionnement de l'imagerie TEP).
- Libre parcours moyen : distance que le positon parcourt avant la perte de l'énergie cinétique et la conséquente annihilation. La distance parcourue est directement corrélée à l'énergie cinétique initiale maximale (E_{\max}). Une haute énergie cinétique, fait que la distance de libre parcours est longue, ce qui implique une résolution spatiale moins bonne.
- Activité molaire théorique : Unité qui exprime la quantité de radioactivité par mole d'isotope pur. Le calcul de l'activité molaire en $Bq.mol^{-1}$ est calculé à partir de la demi-vie (en secondes) des radioisotopes et de la constante d'Avogadro (N_A).

$$Am (Bq.mol^{-1}) = \frac{\ln(2) * N_A}{t_{1/2}}$$

- Mode de désintégration : cette caractéristique décrit le devenir d'un radionucléide lors d'une réaction d'annihilation.



Cette équation ci-dessus montre que le radionucléide se désintègre en émettant un positon β^+ et un neutrino ν . Le noyau Y obtenu lors de la désintégration est appelé noyau fils, il est stable pour certains radionucléides comme le carbone-11, le fluor-18, le gallium-68 ou encore le zirconium-89.^[15]

Le fluor-18 est un radioisotope très utilisée car il allie une demi-vie optimale, une énergie basse qui permet d'obtenir des images TEP avec une bonne résolution et une activité molaire théorique élevée.

I.2.2.2. Production des radioisotopes

A l'exception du gallium-68, qui est produit en routine grâce à un générateur ${}^{68}Ge/{}^{68}Ga$, les radionucléides utilisés en TEP sont produits par des cyclotrons biomédicaux. Le cyclotron est un accélérateur de particules, composé de deux électrodes métalliques creusées, appelées « dees », une chargée positivement et l'autre négativement grâce à

l'application d'une tension alternative haute fréquence. De cette façon, dans l'espace étroit existant entre les « dees », un champ électrique est créé. En même temps, un champ magnétique statique perpendiculaire est généré par deux électroaimants placés au-dessus et au-dessous du cyclotron (figure 3).

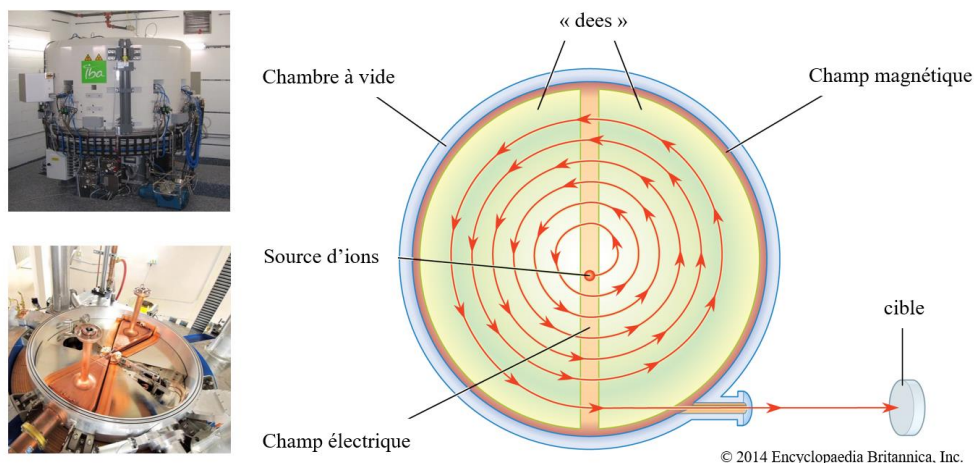
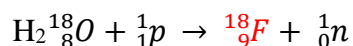


Figure 3. Représentation schématique d'un cyclotron et son fonctionnement^[16]

Les particules chargées (protons, deutons ou hélium) sont introduites dans le centre du cyclotron. Grâce aux champs magnétique et électrique, les particules sont accélérées avec un parcours en spirale (du centre vers l'extérieur) pour emmagasiner de plus en plus d'énergie (de quelques MeV à 70 MeV). Une fois que l'énergie accumulée est suffisante, le faisceau de particules est dirigé vers une cible spécifique en fonction du radioisotope voulu : ^{14}N , ^{18}O , ^{64}Ni et ^{89}Y pour obtenir ^{11}C , ^{18}F , ^{64}Cu et ^{89}Zr respectivement ainsi qu'une particule issue de la transmutation nucléaire. Par exemple, le fluor-18 est obtenu par bombardement de protons sur des noyaux d'oxygène-18 (*Equation 1*) sur une cible d'eau enrichie en oxygène-18.



Equation 1 : Réaction nucléaire permettant la production de fluor-18

I.2.2.3. Utilisation de radioisotopes coordinants

Le radiomarquage d'une molécule avec un radioisotope métallique comme le gallium-68, le cuivre-64 ou zirconium-89 (isotopes les plus fréquemment utilisés) se réalise par sa complexation par un chélatant adapté au métal impliqué. La complexation des radiométaux se déroule dans des conditions relativement douces, ce qui fait que ces isotopes radioactifs sont souvent utilisés pour le marquage de biomolécules qui sont

sensibles aux conditions réactionnelles extrêmes (haute température et basicité). Un exemple représentatif de traceur radiomarqué avec un radiométal est le $[^{68}\text{Ga}]\text{DOTA-TATE}$, utilisé en clinique et qui permet d'imager les tumeurs neuro-endocrines.^[17,18] Ce radiotraceur est formé par un dérivé de l'octréotide (peptide TATE) fonctionnalisé avec un macrocycle chélatant, le DOTA, radiomarqué au gallium-68 (figure 4).

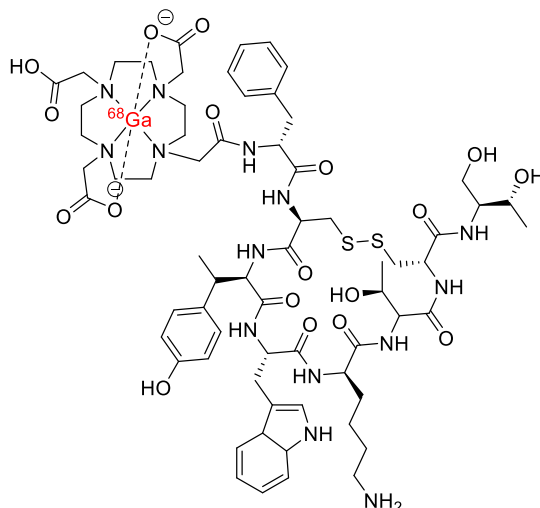


Figure 4. $[^{68}\text{Ga}]\text{DOTA-TATE}$

I.2.2.4. Utilisation de radioisotopes donnant lieu à des liaisons covalentes

Plusieurs radioisotopes utilisés en TEP peuvent être introduits par liaison covalente, les plus couramment utilisés sont : le ^{13}N , le ^{15}O , le ^{11}C et le ^{18}F . Même si l'azote-13 et l'oxygène-15 existent, leur courte demi-vie de 9.96 minutes et 2.07 minutes respectivement fait qu'ils ne sont pas utilisés via création d'une liaison covalente sur une molécule d'intérêt pour des applications en imagerie.^[8] Les plus utilisés en routine sont le ^{18}F et le ^{11}C et leur introduction est généralement réalisée en dernière étape de synthèse afin de minimiser l'impact de la décroissance radioactive de l'isotope. Cependant, bien souvent, la structure du composé fait qu'une étape de déprotection ou autre soit nécessaire après ce radiomarquage. Dans ce cas, ces réactions se réalisent dans des conditions permettant une réaction rapide avec le minimum de sous-produits afin d'obtenir le traceur final avec une bonne activité molaire (radioactivité par nombre de mole) et un bon rendement radiochimique.

Le fluor-18 est le radioisotope le plus couramment utilisé en imagerie TEP, son introduction est généralement réalisée par substitution nucléophile aliphatique ou (hétéro)aromatique. L'atome de fluor n'est pas souvent présent dans les composés

d'intérêt biologique. Cependant le fluor est un bio-isostère de l'atome d'hydrogène ou du groupement hydroxyle, ce qui fait que l'introduction du ^{18}F sur un composé d'intérêt biologique portant l'un ou l'autre de ces substituants ne change pas fondamentalement ses propriétés pharmacocinétiques et biologiques.^[19]

Le radiotracer le plus utilisé en imagerie TEP est le ^{18}F FDG, utilisé en routine pour imager les cellules cancéreuses. Son efficacité est liée au métabolisme du glucose. Les cellules cancéreuses ont une forte activité métabolique, ce qui se traduit par une consommation forte de glucose afin d'obtenir de l'énergie *via* la glycolyse et le cycle de Krebs. La grande ressemblance du ^{18}F FDG avec le glucose, fait que le traceur est internalisé *via* les transporteurs de glucose dans les cellules cancéreuses, sans être pris en charge par l'enzyme qui métabolise ce saccharide naturel (le glucose-6-phosphate isomérase). De ce fait, le ^{18}F FDG s'accumule dans les cellules, ce qui permet de visualiser les tumeurs et de réaliser des diagnostics par imagerie TEP.^[20-23]

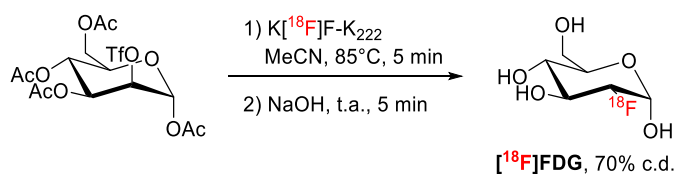


Schéma 1. Synthèse du radiotracer ^{18}F FDG

L'obtention de ce composé est réalisée à partir d'un mannose portant un groupement triflate et protégé par des acétates (précurseur de marquage). Ce dernier est engagé dans une $\text{S}_{\text{N}}2$ avec des ions fluorures suivie d'une étape de déprotection des hydroxyles (schéma 1). La radiosynthèse de ce traceur est réalisée en deux étapes avec une purification sur une cartouche SPE de phase inverse (C18) afin d'obtenir le composé avec un rendement radiochimique d'environ 70% corrigé de la décroissance (c.d.), c'est-à-dire en tenant compte de la décroissance radioactive de l'élément.^[20,24]

En ce qui concerne le carbone-11, les composés d'intérêt biologique portent souvent un groupement méthyle, ce qui fait que son introduction ne change pas les propriétés pharmacocinétiques des molécules marquées. Le carbone-11 est souvent introduit par réaction de méthylation des hétéroatomes comme l'azote, le soufre ou l'oxygène. C'est le cas de la ^{11}C Choline (schéma 2), un radiotracer utilisé pour le diagnostic des tumeurs de la prostate et du cerveau ainsi que pour imager des lésions bénignes dans différents organes.^[25,26] A partir du diméthylaminoéthanol, par simple alkylation de l'azote à 120°C

avec l'iodure de méthyle radioactif ($[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$), le traceur est obtenu en 5 min avec un rendement radiochimique de 98% c.d. (rendement corrigé de la décroissance).^[27]

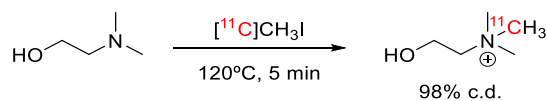


Schéma 2. Radiosynthèse du $[^{11}\text{C}]\text{Choline}$

La plus grosse contrainte du carbone-11 reste sa demi-vie qui est très courte (20,4 min), ce qui fait que son utilisation est plus limitée que celle du fluor-18.

I.2.3. Focus sur le ^{18}F : méthodes de fluoration

Parmi les différents radioisotopes, le fluor-18 a été choisi dans le cadre de cette thèse afin de tirer profit de sa bonne résolution spatiale, de la stabilité de la liaison covalente C-F, de son activité molaire théorique haute ainsi que de sa demi-vie adaptée. C'est pourquoi, dans cette partie, les méthodes de radiofluoration classiques de la littérature seront développées plus en détail. Le marquage au fluor-18 est généralement mis en œuvre selon deux méthodes : la fluoration électrophile et la fluoration nucléophile.

I.2.3.1. Fluoration électrophile

La fluoration électrophile est réalisée à partir du $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ comme réactif. Cet agent de fluoration est généralement produit par irradiation d'une cible de néon-20 par des deutons selon la réaction nucléaire décrite par l'équation : $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ (réaction nucléaire de type (d, α)).^[8] Cependant, le fluor gazeux s'adsorbe sur les parois de la cible du cyclotron et nécessite l'ajout d'une proportion de $[^{19}\text{F}]\text{F}_2(\text{g})$ qui joue le rôle d'entraîneur, ou carrier en anglais. Le grand désavantage de la fluoration électrophile est donc la faible activité molaire du $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ (environ 100 MBq/ μmol).^[28], due à cette dilution isotopique.

Le $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ est ensuite engagé dans des réactions de radiofluoration sur des composés enrichis en électrons comme des composés aromatiques, hétéroaromatiques ou des alcènes. Les réactions de substitution ou d'addition électrophile à partir du $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ conduisent à plusieurs produits, par manque de régiosélectivité dû à la haute réactivité de l'agent fluorant.^[28] C'est pourquoi, les réactions d'échange halogène-métal (Sn, Ge, Si) sont souvent favorisées afin d'avoir une bonne régiosélectivité lors de la radiofluoration.^[28,29] Ces dernières années, afin d'améliorer la régiosélectivité, d'autres composés ont vu le jour en tant qu'agents de fluoration électrophile, comme le

$[^{18}\text{F}]\text{XeF}_2$,^[28] les sels de $[^{18}\text{F}]\text{fluoropyridinium}^{[8]}$ ou le $[^{18}\text{F}]\text{Selectfluor bis(triflate)}$ entre autres.^[30-33]

Un exemple de marquage par substitution électrophile est celui du traceur $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$ utilisé pour le diagnostic de maladies liées au mauvais fonctionnement du système dopaminergique et au diagnostic de tumeurs neuroendocrines.^[32] La fluoration électrophile de la DOPA est réalisée par la méthode d'échange halogène-métal, afin d'avoir une bonne régiosélectivité (schéma 3). Pour cela, le précurseur de marquage stannylé est mis en présence de $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ pendant 10 min à température ambiante suivi d'un clivage des groupements protecteurs Boc par action de HBr à 130°C pendant 10 min. La $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$ est obtenue en 45-50 min avec un rendement radiochimique d'environ 26% c.d.^[34,35]

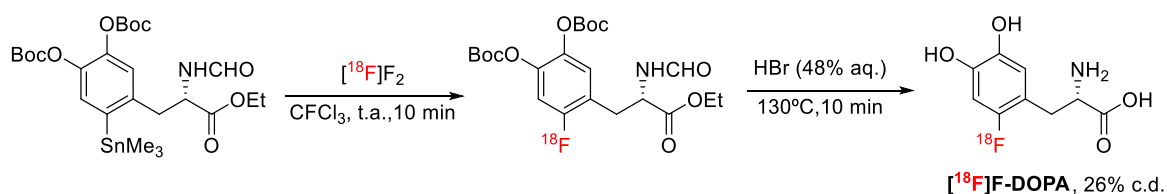


Schéma 3. Radiosynthèse de la $[^{18}\text{F}]\text{F-DOPA}$ par fluoration électrophile

I.2.3.2. Fluoration nucléophile

La méthode de fluoration électrophile reste peu utilisée étant donné les inconvénients cités précédemment (activité molaire faible et manque de régiosélectivité). À l'heure actuelle, la meilleure méthode de radiofluoration reste la fluoration nucléophile.

La fluoration nucléophile est réalisée avec des anions fluorures $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ produits par un cyclotron par bombardement de protons sur les noyaux d'oxygène-18 de l'eau enrichie $\text{H}_2[^{18}\text{O}]\text{O}$ (Equation 1).

De ce fait, les ions fluorures sont hydratés et donc inactifs pour une réaction nucléophile (diminution de leur nucléophilie). Étant donné que les réactions de fluoration nucléophile nécessitent des solvants aprotiques polaires (DMSO, DMF ou acétonitrile) et que les ions solvatés ne sont pas réactifs, la première étape du radiomarquage consiste à éliminer l'eau pour obtenir des ions fluorures « secs ».^[28,36] Pour cela, la technique la plus courante est l'utilisation d'une résine échangeuse d'anions, comme une cartouche SPE de type QMA (quaternary methyl ammonium) (figure 5), qui permet de piéger les $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ et éluer l'eau enrichie. Une fois les fluorures piégés sur la cartouche, une solution d'eau/acétonitrile, contenant un cryptand comme le K_{222} (Kryptofix-222) et du K_2CO_3 est passée sur la

cartouche. Le passage de cette solution permet de décrocher les ions fluorures par simple échange avec les ions carbonates, et de les récupérer avec le K₂₂₂ après évaporation azéotrope de la solution, en formant le complexe K[¹⁸F]F-K₂₂₂.^[8,30,37] Les ions K⁺ sont complexés dans le cryptand, augmentant la nucléophilie des ions fluorures en permettant ainsi leur utilisation dans des réactions de substitutions nucléophiles.

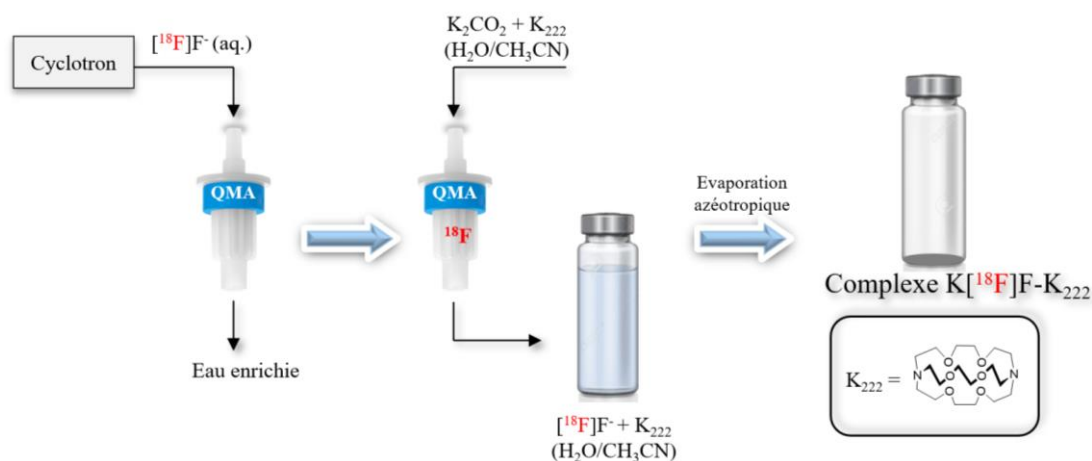


Figure 5. Obtention du complexe K[¹⁸F]F-K₂₂₂ utilisé pour la fluoruration nucléophile

Les réactions de radiofluoration nucléophile, à partir du complexe K[¹⁸F]F-K₂₂₂, sont réalisées sur des composés aliphatiques, aromatiques et hétéroaromatiques.

- Substitution nucléophile en série aliphatique

La substitution nucléophile aliphatique impliquant les [¹⁸F]F⁻ est une réaction de type S_N2 réalisée sur un composé fonctionnalisé par un bon groupement partant de type halogène, triflate, tosylate ou mésylate le plus souvent. Ce composé est nommé précurseur de marquage.

Un exemple de radiotracer marqué par fluoruration nucléophile aliphatique est le [¹⁸F]Florbetapir (*E*)-4-(2-(6-(2-(2-(2-[¹⁸F]-fluoroéthoxy)éthoxy)éthoxy) pyridin-3-yl) vinyl)-*N*-méthyl benzèneamine. Ce composé de type styrylpyridine est utilisé en clinique depuis 2012 pour le diagnostic des maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer.^[38] Le diagnostic de cette maladie avec le [¹⁸F]Florbetapir est possible grâce à la bonne affinité du traceur vis-à-vis des agrégats des plaques β-amyloïdes.^[39,40]

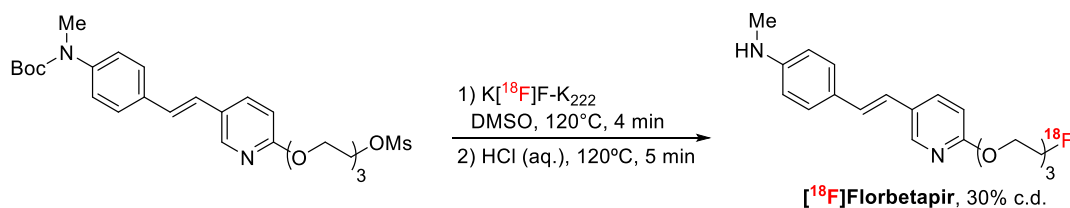


Schéma 4. Fluoration nucléophile aliphatique du $[^{18}\text{F}]\text{Florbetapir}$

La radiosynthèse de ce composé est réalisée en deux étapes (schéma 4). A partir du précurseur de marquage métylé, la substitution nucléophile est réalisée en présence du complexe $K[^{18}\text{F}]\text{F-K}_{222}$ dans le DMSO à 120°C pendant 10 min. Ensuite, le groupement Boc est clivé par action de HCl à 120°C pendant 5 min, pour obtenir le $[^{18}\text{F}]\text{Florbetapir}$ avec un rendement d'environ 30% c.d.^[41]

- Substitution nucléophile en série aromatique et hétéroaromatique

La substitution nucléophile aromatique ou hétéroaromatique est généralement réalisée comme dans le cas de la SN aliphatique, à partir du complexe $K[^{18}\text{F}]\text{F-K}_{222}$. Pour ceci, le noyau aromatique doit être fonctionnalisé avec un groupement partant et avec un groupement électroattracteur (nitro, cyano, trifluorométhyle et carbonyle) en position *ortho* ou *para* du premier, afin de favoriser la régiosélectivité.^[28,36,42] Les groupes partants les plus utilisés dans la littérature sont les groupements nitro, les halogènes et surtout les sels de triméthylamonium (les plus réactifs).^[36,43–45] Cependant, la fluoration nucléophile aromatique à partir de ces groupes partants nécessite des conditions dures notamment en termes de température. Ainsi de nouveaux groupes partants de type iodonium et organoboranes sont de plus en plus développés actuellement.^[13,46–48]

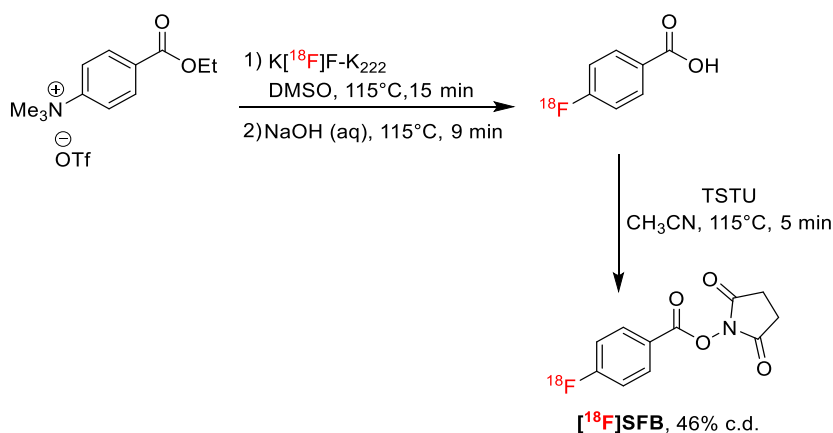


Schéma 5. Radiosynthèse du $[^{18}\text{F}]\text{SFB}$

Des composés aromatiques fluorés peuvent être utilisés comme intermédiaires dans le marquage de biomolécules qui a lieu dans un deuxième temps. C'est le cas du SFB (schéma 5).^[31,49] La radiosynthèse de ce composé est réalisée à partir d'un précurseur de marquage présentant un sel de triméthylamonium (groupe partant) ainsi qu'une fonction ester (groupement électroattracteur), en présence de $K[^{18}F]F-K_{222}$ dans le DMSO à 115°C pendant 15 min. Une fois le composé radiofluoré, la fonction ester est hydrolysée par action d'une solution de NaOH (aq.) à 115°C pendant 9 min. Finalement, l'acide carboxylique est activé sous forme de *N*-hydroxysuccinimide par réaction avec le *N,N,N',N'*-tétraméthyluronium tétrafluoroborate (TSTU) dans l'acétonitrile à 115°C pendant 5 minutes. Lors de cette synthèse en 3 étapes, le $[^{18}F]SFB$ est obtenu avec un rendement corrigé de la décroissance de 46%.^[50]

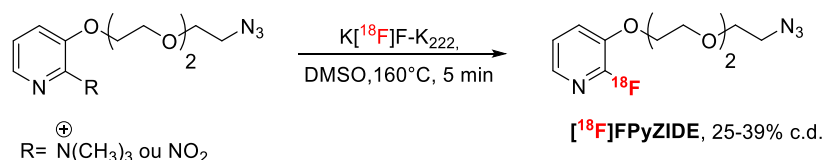


Schéma 6. Radiosynthèse du $[^{18}F]FPyZIDE$

Les composés hétéroaromatiques de type pyridine sont les plus couramment utilisés dans le cadre de SN hétéroaromatiques.^[51-54] Un exemple de sonde à base de pyridine, pour le marquage de biomolécules, est le $[^{18}F]FPyZIDE$ développé par Roche *et al.* (schéma 6).^[55] Le précurseur de marquage portant un groupe partant de type triméthylamonium (sel de triflate) ou nitro, en position *ortho* de l'azote de la pyridine (électroattracteur), est mis en présence du complexe $K[^{18}F]F-K_{222}$ dans le DMSO à 160°C pendant 5 min. Le $[^{18}F]FPyZIDE$ est obtenu avec un rendement corrigé de la décroissance de 39% à partir du précurseur nitré et de 25% à partir de celui portant le sel de triméthylamonium, en une seule étape et en moins d'une heure.^[55]

Les méthodes présentées ci-dessus sont des méthodes classiques et communément utilisées. Ces SN aliphatique ou aromatique mettent en jeu des conditions basiques (K_{222} et K_2CO_3) et une température élevée, qui sont des conditions de réactions assez « dures », ce qui pose un souci de stabilité lors de la présence d'une biomolécule. Actuellement, la recherche de nouvelles méthodes de radiofluoration est en plein essor. Ces nouvelles méthodes visent à introduire le fluor-18, de façon covalente avec des conditions plus douces, sur des atomes autres que le carbone. Pour citer quelques méthodes, Gatley *et al.* ont travaillé sur la synthèse du $[^{18}F]$ fluorotriméthylsilane où le fluor est introduit sur un

atome de silicium dans des conditions douces sans utiliser de base comme le K_2CO_3 .^[56] Un autre exemple de nouvelle méthode de radiofluoration est l'introduction du fluor-18 sur un atome de Bore. L'équipe de Gabbaï travaille depuis plusieurs années sur l'optimisation de cette méthode de radiofluoration en conditions douces pour le développement de nouveaux traceurs pour la TEP.^[57,58] Quelques méthodes de radiofluoration douces via la création d'une liaison B-F seront plus largement abordées dans la partie III.2.

I.3. Imagerie optique par Fluorescence Proche Infra-Rouge (FPIR)

L'imagerie optique (IO) est probablement une des techniques de visualisation les plus utilisées dans plusieurs domaines de la recherche. Alors que certaines techniques d'imagerie sont basées sur l'utilisation de radiations ionisantes (comme la TEP), l'imagerie optique utilise la lumière non-ionisante allant de l'ultraviolet à l'infrarouge. Le faible risque pour les patients permet de réaliser des analyses plus longues ou encore de les réaliser plusieurs fois.^[59] Les techniques d'imagerie optique sont indispensables dans le milieu biomédical que ce soit pour la recherche scientifique ou pour le diagnostic de différentes maladies.^[60]

Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'imagerie optique par fluorescence. Ce type d'imagerie optique est basé sur l'utilisation de fluorophores, molécules qui après irradiation à une longueur d'onde précise sont capables d'émettre de la lumière sous forme de fluorescence. Actuellement, l'imagerie optique par fluorescence est utilisée dans plusieurs applications dans le domaine biomédical comme le diagnostic de certains types de cancer, par exemple les mélanomes, ainsi que pour effectuer de la chirurgie guidée par fluorescence.

I.3.1. Principe de la fluorescence

Le phénomène de fluorescence correspond à un processus au cours duquel un composé absorbe un photon, à une certaine longueur d'onde, et réémet dans un intervalle de temps de quelques nanosecondes, un photon à une autre longueur d'onde. Le diagramme de Jablonski illustre le principe du phénomène de fluorescence (figure 6).

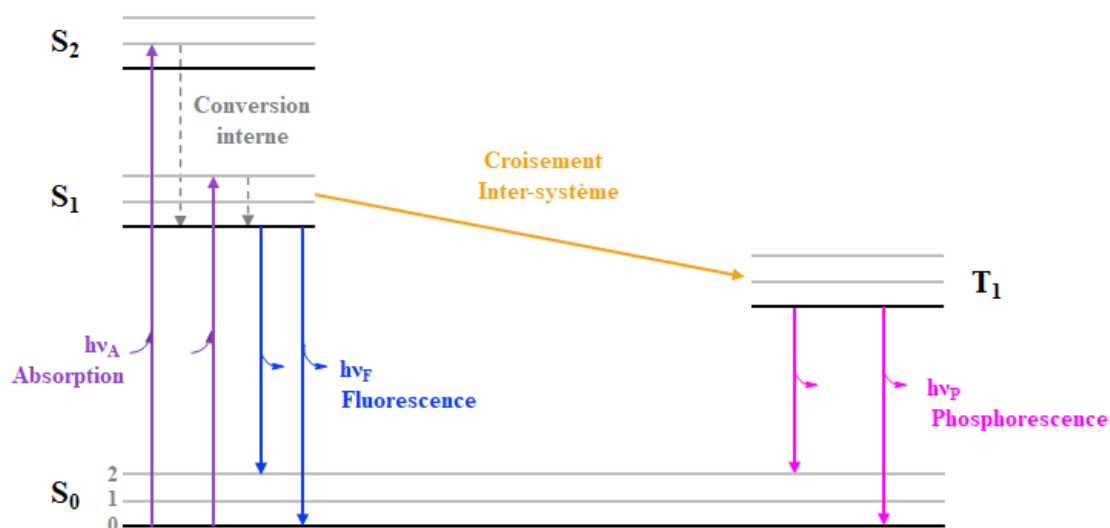


Figure 6. Diagramme de Jablonski

Le fluorophore qui se trouve dans un état singulet stationnaire (S₀) va absorber un photon, d'une énergie donnée, qui va conduire un électron vers un stade excité du fluorophore (S₁ ou S₂). L'état excité atteint le niveau S₁ ou S₂ et cela va dépendre de l'énergie du photon absorbé : plus grande est l'énergie du photon, plus haut sera l'état excité atteint par l'électron.^[61]

Lorsque l'électron se trouve à l'état excité, deux phénomènes sont alors possibles :

- La conversion interne : relaxation du niveau plus élevé au plus bas de l'état excité de même multiplicité (singulet ou triplet) qui se produit en quelques millisecondes voire picosecondes.
- Le croisement inter-système : relaxation vers un état de multiplicité différent (singulet vers triplet par exemple) qui se produit de façon plus lente que la conversion interne, pouvant aller de quelques microsecondes à quelques heures.

Le retour de l'électron de l'état excité vers l'état fondamental S₀ avec émission d'un photon produit de la fluorescence dans le cas d'un retour à partir d'un état excité singulet (S₁ ou S₂) ou de la phosphorescence dans le cas d'un retour à partir d'un état triplet (T₁).^[61]

La fluorescence est classiquement observée grâce à l'utilisation d'un fluorimètre qui permet d'exciter le fluorophore et de détecter la fluorescence (figure 7). Pour exciter le fluorophore, le faisceau de lumière émis par une source lumineuse est passé à travers un monochromateur d'excitation afin de choisir la longueur d'onde d'excitation adéquate pour l'échantillon. Après passage par le monochromateur et le polarisateur, le faisceau excite l'échantillon qui va émettre de la lumière, dans une longueur d'onde différente de

celle utilisée pour l'excitation. Le faisceau émis est de nouveau passé par un polarisateur et un monochromateur avant d'être détecté. A la différence de l'absorbance, la fluorescence est détectée perpendiculairement au faisceau d'excitation. Cela est fait afin de minimiser la lumière dispersée par le faisceau d'excitation qui arrive dans le détecteur et qui pourrait être confondue avec la fluorescence. Les données collectées par le détecteur sont traitées pour donner les spectres d'excitation et d'émission du fluorophore.

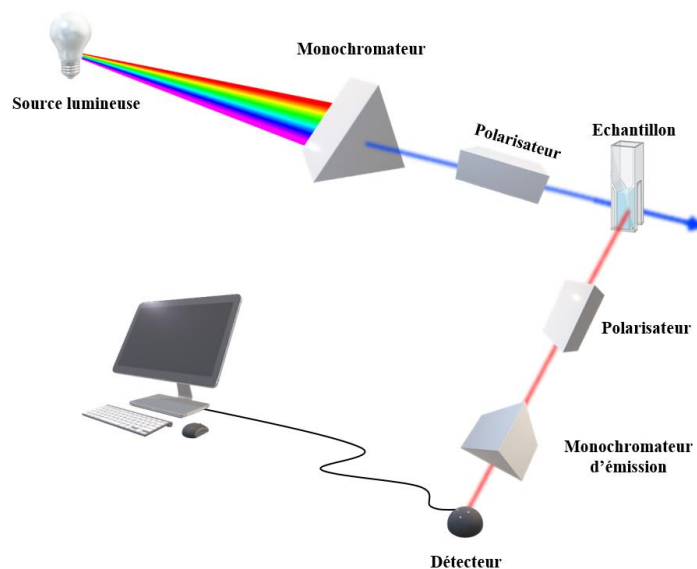


Figure 7. Schéma du fonctionnement d'un fluorimètre

Ce même principe de fonctionnement est adapté aux outils d'imagerie utilisés lors de la réalisation d'un diagnostic par imagerie optique ainsi que lors de la réalisation d'une chirurgie guidée par fluorescence. Ce type de procédure chirurgicale attire l'attention des chercheurs puisqu'elle permet de guider l'intervention chirurgicale en temps réel et de définir les marges de la tumeur, ce qui apporte une précision supplémentaire avantageuse pour le patient et le chirurgien.^[62] La mise en œuvre de la chirurgie guidée par fluorescence nécessite des microscopes à fluorescence. Ces microscopes, en plus du détecteur et du monochromateur, sont équipés d'un laser qui permet l'excitation du fluorophore, d'une lumière LED et d'une lentille filtrante qui permet d'observer uniquement la longueur d'onde d'émission choisie en fonction du fluorophore.^[63] Jusqu'à présent, la chirurgie guidée a été utilisée pour traiter différents cancers comme le cancer de sein, le cancer du poumon ou encore les carcinomes hépatocellulaires.^[62-65]

I.3.2. Cahier des charges pour des applications *in vivo*

Les applications *in vivo* ne sont pas possibles avec tous les fluorophores. Pour qu'un fluorophore puisse être utilisé *in vivo*, certaines caractéristiques spécifiques doivent être respectées :

- Longueur d'onde

Les longueurs d'onde d'absorption et émission sont des caractéristiques primordiales. En effet, seule la fenêtre proche infra-rouge (FPIR) est adéquate *in vivo*. Un fluorophore adapté à des applications *in vivo* doit donc avoir des longueurs d'onde d'absorption et d'émission de fluorescence comprises entre 700 et 900 nm. Cependant, des fluorophores ayant des longueurs d'onde comprises entre 650 et 700 nm, comme les cyanines, sont également adaptés pour des applications *in vivo*. Travailler dans cet intervalle appelé NIR-I (650-900 nm), connu comme la fenêtre biologique, permet d'un côté d'éviter l'absorption et l'auto-fluorescence des tissus dans le spectre du visible (en dessous de 650 nm). D'autre part, les longueurs d'onde au-dessus de la fenêtre biologique sont à éviter puisque l'eau commence à absorber à partir de 900 nm. Cela conduit à une diminution de l'efficacité de la transmission de la lumière. Cependant, des études plus récentes ont montré que la fenêtre NIR-II (1000-1500 nm), permet d'avoir une bonne détection de la fluorescence et excitation de fluorophores exogènes malgré les obstacles physiques comme l'auto-absorption de l'eau.^[66]

- Rendement quantique

Le rendement quantique de fluorescence (QY ou Φ_F) reflète l'efficacité du processus de fluorescence. La définition du QY est le ratio entre le nombre de photons émis et absorbés.^[67]

$$QY = \frac{\text{nb photons émis}}{\text{nb photons absorbés}}$$

Le QY maximal de fluorescence est de 1 lorsque chaque photon absorbé entraîne l'émission d'un photon de fluorescence. Pour qu'une molécule soit considérée comme fluorescente, son rendement quantique de fluorescence doit être compris entre 0,1 et 1,0. Même si l'idéal serait d'utiliser un fluorophore avec un QY = 1, dans la pratique cette valeur est rarement atteinte. Les fluorophores les plus utilisés comme l'IndoCyanine

Green (ICG), les cyanines 5.5 ou encore les Rhodamines ont des rendements quantiques de 0,13, 0,25 et 0,95 respectivement dans le PBS.^[67]

- Le photoblanchiment :

Ce terme fait référence à une perte de la fluorescence par collision entre les particules fluorescentes et les espèces présentes dans le milieu. Lorsque le fluorophore est dans un état excité, il peut être engagé dans une réaction photochimique avec une espèce présente dans le milieu (souvent des radicaux de l'oxygène). Dans ce cas, le fluorophore ne peut plus retourner à un état excitable car il est détruit de façon irréversible. Tous les fluorophores sont sensibles à ce phénomène, qui est accru quand le fluorophore est excité à une longueur d'onde élevée.^[68]

- Le rapport signal sur bruit :

C'est le ratio entre la fluorescence émise par le fluorophore et les signaux fluorescents inhérents au système vivant étudié (fluorescence des tissus par exemple). Un rapport signal sur bruit élevé permet d'avoir une image plus claire et précise. Les différents paramètres exposés précédemment ont tous une influence sur le rapport signal sur bruit.^[67]

- Brillance :

La brillance d'un fluorophore est l'une de ses caractéristiques les plus importantes. La brillance détermine la sensibilité et le rapport signal/bruit pour la détection de fluorescence. C'est pourquoi, une brillance élevée est généralement un avantage supplémentaire pour toute application *in vivo* ou *in vitro*. Par définition, la brillance moléculaire d'un fluorophore est le produit du coefficient d'extinction molaire (ϵ) et du rendement quantique (QY).^[69]

En plus des caractéristiques spécifiques de la FPIR, d'autres caractéristiques générales à toutes les sondes utilisées pour l'imagerie doivent être respectées :

- Solubilité, clairance et toxicité :

Une condition nécessaire pour qu'un fluorophore puisse être utilisé *in vivo* est qu'il soit soluble afin de pouvoir l'administrer par injection intraveineuse. En plus de la solubilité, l'utilisation *in vivo* d'un fluorophore est déterminée par sa toxicité. C'est pour cela qu'il

est important que le fluorophore soit peu toxique et avec une bonne clairance afin d'éviter son accumulation.^[67]

L'imagerie optique par fluorescence proche-infra rouge est une technique d'imagerie puissante possédant une très bonne résolution (de l'ordre du mm) et sensibilité (de l'ordre du nanomolaire). Néanmoins, même en utilisant un fluorophore adéquat la pénétrabilité de cette technique reste faible (<1cm) ce qui fait que ce type d'imagerie est utilisé dans le cadre d'histopathologie ex-vivo, de diagnostic de tumeurs peu profonde, mais aussi pour l'aide à la chirurgie qui ne pâtissent pas de cette faible pénétrabilité.

I.3.3. Les différents types de fluorophores organiques pour la FPIR

Un large panel de fluorophores organiques commerciaux remplissent le cahier des charges pour être utilisés en imagerie optique. A ce jour, les fluorophores organiques les plus utilisés en imagerie optique par FPIR se divisent en trois grandes familles : les xanthènes, les BODIPY et les cyanines.

I.3.3.1. Les xanthènes

La famille des xanthènes présente un squelette commun tricyclique de type dibenzo- γ -pyrane (deux noyaux benzéniques liés par un cycle pyrane).^[70] La modification de ce noyau commun par des substituants de différentes natures joue un rôle essentiel dans la variation de la longueur d'onde d'émission de fluorescence de chaque composé. C'est pourquoi les différentes variations de substituants ont conduit à l'obtention de xanthènes dont l'émission de fluorescence varie de l'UV visible au proche infrarouge.

- Xanthènes émettant dans l'UV-Visible

Un des fluorophores les plus connus de la famille des xanthènes dont l'émission est dans l'UV visible est la Fluorescéine (figure 8). Avec sa longueur d'onde d'émission de 515 nm, ce fluorophore est très utilisé en imagerie optique.^[71,72] La fluorescéine est utilisée pour la détection des ganglions lymphatiques sentinelles,^[73,74] pour des examens de la cornée^[75] ou encore pour imager le stade de perfusion d'un anévrisme.^[76]

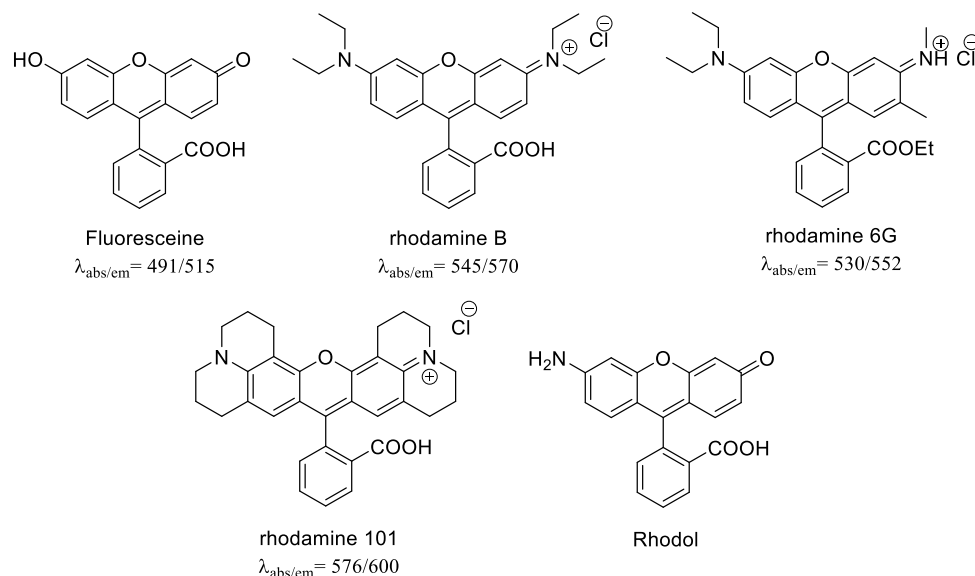


Figure 8. Structure des xanthènes émettant dans l'UV-Visible

La rhodamine et ses dérivés sont des fluorophores très utilisés dans la littérature pour le marquage de différentes biomolécules afin d'imager et suivre différents processus biologiques.^[77-79] A la différence de la fluorescéine, les rhodamines sont dérivées avec des amines/ammoniums.^[72] Parmi les plus connues se trouvent la rhodamine B, la rhodamine 6G et la rhodamine 101 avec des longueurs d'onde d'émission à 570, 552 et 600 nm respectivement (figure 8).^[71]

Le rhodol, un dérivé hybride entre la fluorescéine et la rhodamine, est aussi un fluorophore intéressant pour des applications *in vivo* (figure 8).^[80,81] La longueur d'onde d'émission des dérivés du rhodol varie en fonction des substituants introduits sur le noyau xanthène et ces longueurs d'onde peuvent aller jusqu'à 700 nm (proche infrarouge).^[68,82]

- Xanthènes émettant dans le proche infrarouge

Parmi les xanthènes qui émettent de la fluorescence dans le proche infrarouge on peut citer des dérivés silylés de rhodamine qui présentent un photoblanchiment très faible et des dérivés sulfonates qui ont une meilleure hydrosolubilité.^[83,84] Un exemple de dérivé silylé est le SIR700 ($\lambda_{\text{em}} = 712$ nm) couplé à un anticorps pour des applications en imagerie optique *in vivo*.^[85] Le HC6H-SR101 ($\lambda_{\text{em}} = 684$ nm) est un exemple de dérivé

sulfonaté, hydrosoluble et ayant un bon déplacement de stocks (différence entre la longueur d'onde d'émission et d'absorption).^[86]

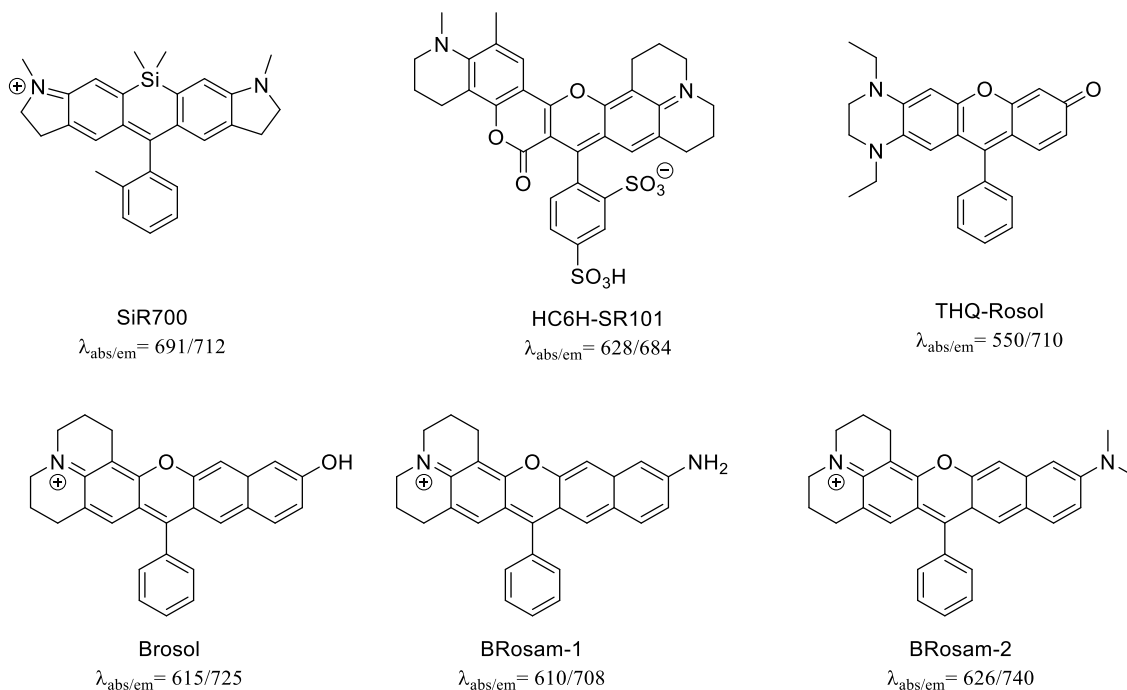


Figure 9. Structure et longueurs d'onde abs/em des xanthènes émettant dans le proche infrarouge

Le rosol est un dérivé de xanthène récemment développé dans la littérature. Le premier dérivé de rosol est le THQ-Rosol (figure 9), développé par Hetti *et al.* Ce composé a été utilisé pour cartographier le système lymphatique et ainsi observer les ganglions lymphatiques.^[87] Depuis, d'autres groupes comme celui de Dai *et al.* ont développé d'autres dérivés du rosol comme le BRosol ($\lambda_{\text{em}} = 725 \text{ nm}$), le BRosam-1 ($\lambda_{\text{em}} = 708 \text{ nm}$) et le BRosam-2 ($\lambda_{\text{em}} = 740 \text{ nm}$) qui ont montré, dans des études préliminaires, une forte brillance et biocompatibilité *in vitro* en plus d'une bonne photo et chimio stabilité (figure 9).^[88]

I.3.3.2. Les BODIPYs

La famille des BODIPYs est composée de fluorophores ayant un squelette tricyclique commun de type bore-dipyrrométhène (4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacène) (figure 10).

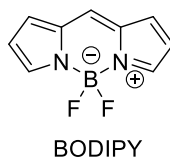


Figure 10. Squelette tricyclique de la famille des BODIPYs

Comme dans le cas des xanthènes, la modification du squelette par des substituants divers et variés mène à l'obtention de différents BODIPYs avec des longueurs d'onde allant du visible jusqu'au proche infrarouge. De manière générale, les groupements introduits sur le squelette des BODIPYs sont des groupements aromatiques ou hétéroaromatiques. Ces groupements sont privilégiés afin d'augmenter la conjugaison du système et de ce fait avoir un effet bathochrome. La fonctionnalisation est souvent réalisée sur les positions α et γ des azotes liés à l'atome de bore.

L'effet des substituants sur la longueur d'onde peut être observé dans la figure 11 où quelques dérivés de BODIPYs utilisés dans littérature pour des applications *in vitro* et *in vivo* sont cités.^[89-96] Par exemple, le BODIPY_{493/503}, fonctionnalisé par des méthyles, présente une longueur d'onde d'émission maximale de 503 nm. L'introduction des groupements aromatiques comme dans le BODIPY® R6G et le BODIPY® TMR-X, permet d'avoir une longueur d'onde maximale proche des 600 nm. Cependant, lorsque les substituants sont un groupement hétéroaromatique comme le pyrrole d'un côté et un système conjugué de type styrène de l'autre côté (BODIPY_{650/665-X}), le fluorophore résultant a son maximum d'émission de fluorescence à 665 nm, dans la plage proche infrarouge. Augmenter cette conjugaison peut mener à l'obtention des BODIPYs qui émettent dans le FPIR comme c'est le cas du BAP-5 ($\lambda_{em} = 723$ nm) ou du Tau-1 ($\lambda_{em} = 754$ nm).

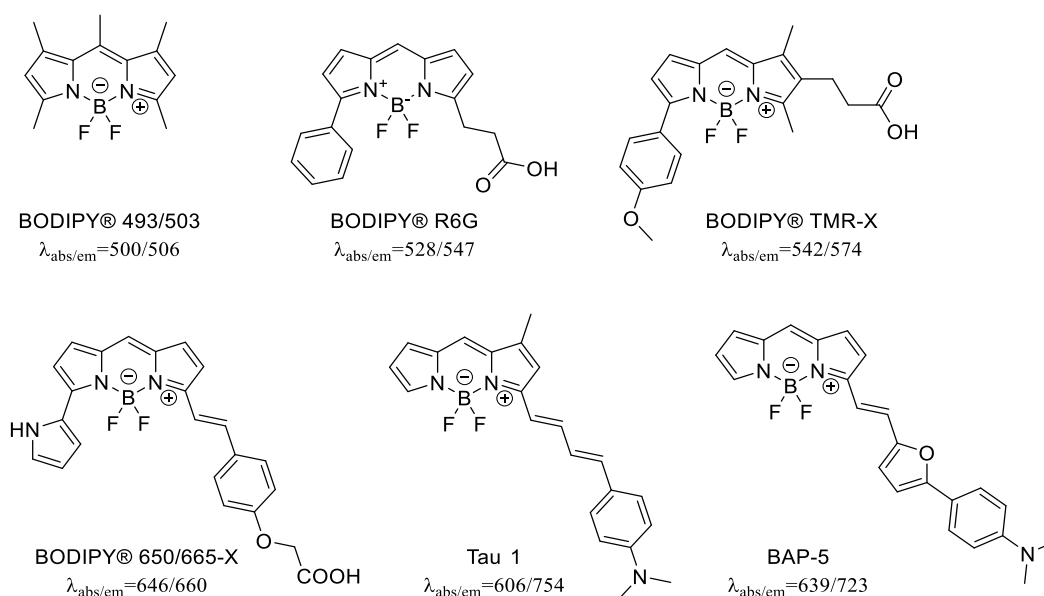


Figure 11. Structures et longueurs d'onde abs/em de différents BODIPY utilisés pour des applications en imagerie

Ces dernières années, une famille particulière de BODIPYs a vu le jour : les aza-BODIPYs. Ces nouveaux dérivés ont la particularité d'avoir en position méso un atome d'azote à la place du carbone. Ces aza-BODIPYs sont particulièrement intéressants puisqu'ils présentent les mêmes avantages que les BODIPYs classiques, mais avec un déplacement des propriétés d'absorption et d'émission vers le proche infrarouge. De plus, ils possèdent plusieurs sites de fonctionnalisation, même si la synthèse de ces dérivés est moins développée à ce jour que celle des BODIPY classiques.^[97]

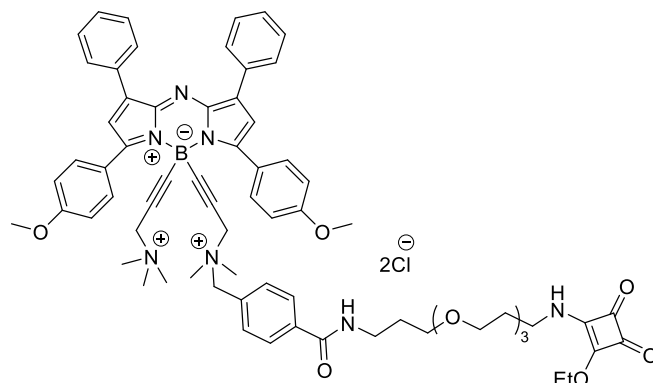


Figure 12. Structure du Wazaby4 développé par Pliquett *et al.*

Un exemple d'aza-BODIPY : le Wazaby4 développé par Pliquett *et al.* est présenté sur la figure 12.^[98] Ce dérivé d'aza-BODIPY, avec une longueur d'onde d'émission à 726 nm (FPIR), possède deux amines quaternaires (introduites sur l'atome de bore du squelette central) qui lui confèrent une hydrosolubilité très intéressante pour des applications *in vivo*.^[98]

I.3.3.3. Les cyanines

Les cyanines sont des fluorophores reconnaissables par leur structure qui comprend deux noyaux azotés. Ces deux noyaux aromatiques sont liés par une chaîne carbonée conjuguée de longueur variable. Cette conjugaison entre les groupements indole et la chaîne carbonée permet le déplacement des électrons π et de la charge positive portée par l'atome d'azote (figure 13).^[99]

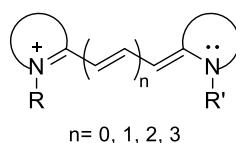


Figure 13. Structure générale des dérivés de cyanine

La chaîne carbonée rend les cyanines uniques, leur conférant une longueur d'onde d'absorption et d'émission de fluorescence plus étendue (du visible jusqu'à l'infrarouge) par rapport aux autres fluorophores. La nomenclature de ces composés est aussi dépendante de la longueur de la chaîne entre les deux cycles azotés : La cyanine qui porte une chaîne composée de 5 atomes de carbones est nommée cyanine 5 (pentaméthine cyanine) et ainsi de suite.^[99]

La diversité de leurs longueurs d'onde fait que de nombreuses cyanines sont utilisées dans le domaine de l'imagerie optique FPIR. Les cyanines les plus utilisées avec leurs longueurs d'onde d'émission et absorption sont citées dans le tableau 2.^[99,100]

Nom	Nombre de carbones sur la chaîne	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)
Cy3	3	555	570
Cy5	5	646	662
Alexa fluor 680	5	681	704
Cy5.5	5	684	710
Cy7	7	750	773
Cy7.5	7	788	808
IR-783	7	766	782
IRDye800CW	7	775	789
MHI-148	7	785	808
ICG	7	795	813
IR-780	7	777	823

Tableau 2. Longueurs d'onde abs/em par rapport à la longueur de la chaîne des différentes cyanines

La longueur d'onde maximale d'émission de fluorescence de la cyanine 3 se trouve à 570 nm, dans le domaine du visible. Bien que sa longueur d'onde se trouve en dessous du proche infrarouge, cette cyanine est utilisée pour des applications en imagerie optique *in vivo* et *in vitro*.^[101,102] Les cyanines 5 et 7 et leur dérivés (tableau 2, figure 14), en plus d'avoir des longueurs d'onde d'émission dans la fenêtre biologique, allant de 660 à 823 nm, présentent également une faible toxicité et des rendements quantiques adaptés à des applications *in vivo* et *in vitro*. Ces rendements quantiques sont cependant plus faibles que ceux des dérivés de rhodamine.^[103] De plus, malgré leur structure aromatique assez hydrophobe, leur hydrosolubilité peut être augmentée grâce à l'introduction de groupements sulfonates.^[104,105]

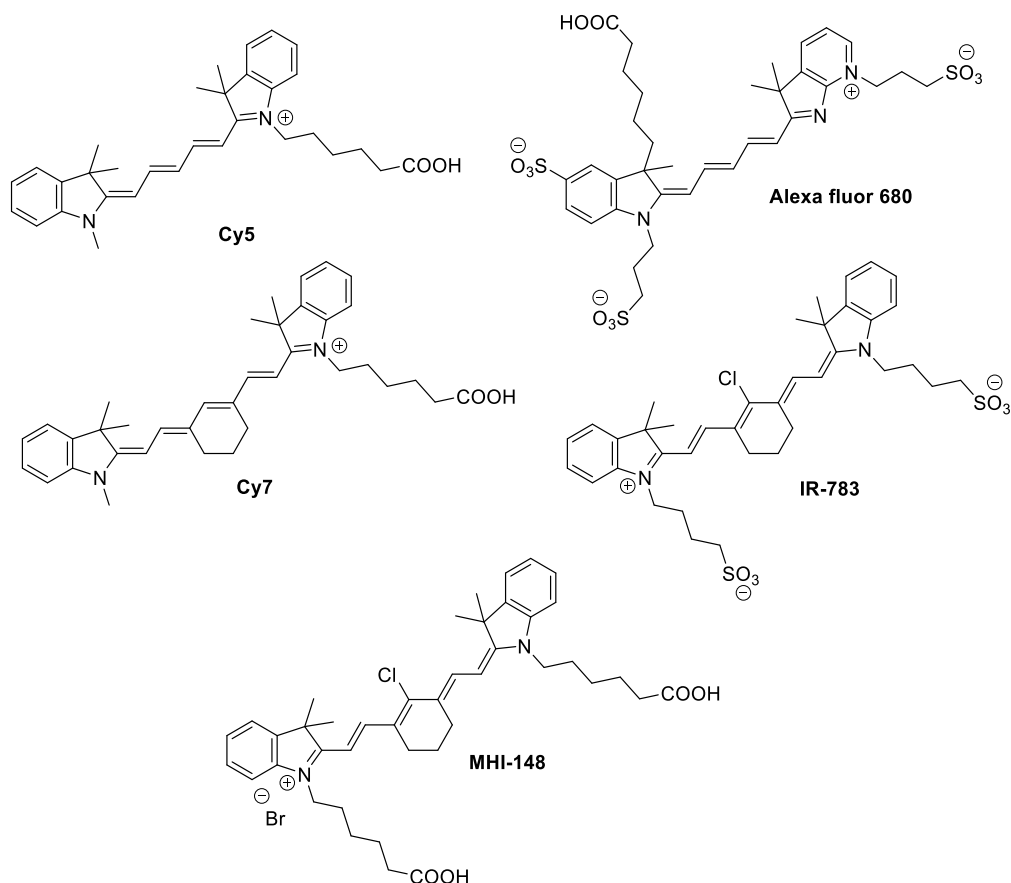


Figure 14. Structures des cyanines 5 et 7 et certains de leurs dérivés

Les cyanines 5 et 7 et leur dérivés sont donc des fluorophores très utilisés pour des applications en imagerie optique FPIR *in vivo* [106–108], souvent couplés à des biomolécules pour effectuer leur suivi *in vivo*. [109–111] Néanmoins, à ce jour, le seul dérivé de cyanine qui possède une AMM pour une utilisation en clinique est l'ICG, l'IndoCyanine Green (figure 15), un dérivé de la cyanine 7. [112] L'ICG est actuellement utilisée pour des application en chirurgie guidée d'exérèse du ganglion sentinelle des différents mélanomes [113] et aussi pour le diagnostic des tumeurs pancréatiques [114] entre autres. [115]

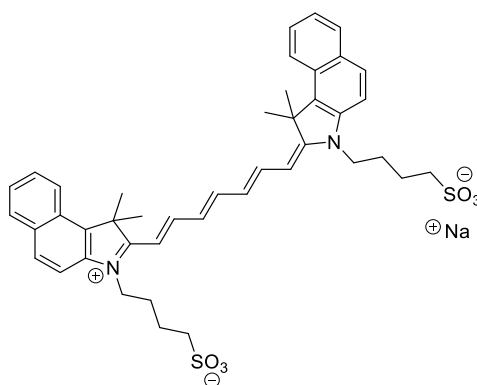


Figure 15. Structure de l'IndoCyanine Green (ICG) utilisée en clinique

I.4. Imagerie bimodale

Les techniques d'imagerie moléculaire ont chacune leurs propres limitations notamment en termes de sensibilité, résolution et de pénétrabilité. A l'heure actuelle, la tendance est de combiner deux techniques d'imagerie afin de compenser leurs limitations mais aussi pour obtenir des informations supplémentaires. Le fait d'associer deux techniques d'imagerie est considéré comme de l'imagerie bimodale.

La façon la plus simple de mettre en œuvre une approche par imagerie bimodale est d'administrer de façon séquentielle ou sous forme de « cocktail » les traceurs spécifiques à chacune des deux techniques d'imagerie visées. Bien que cette méthode soit très facile à mettre en œuvre, elle présente aussi plusieurs inconvénients liés aux propriétés pharmacocinétiques. Les deux traceurs ayant des structures chimiques différentes directement liées à la présence des entités spécifiques à chaque type d'imagerie, leur biodistribution et leur métabolisation vont aussi être différentes. De plus, une divergence entre les images obtenues peut être aussi observée. Afin d'éviter ces différents inconvénients, la recherche est actuellement centrée sur le développement d'agent duals, aussi appelés agents monomoléculaires multimodaux d'imagerie (MOnomolecular Multimodal Imaging Agent : MOMIA). Ces agents duals sont des composés qui portent de façon simultanée les deux entités chimiques spécifiques permettant de réaliser les deux techniques d'imagerie recherchées. Ils sont généralement composés avec une molécule d'intérêt biologique ce qui permet d'obtenir des outils puissants d'imagerie bimodale, ciblant une pathologie ou un marqueur d'intérêt en imagerie.

I.4.1. Intérêt et exemples d'association de deux techniques d'imagerie

Les cinq techniques principales d'imagerie qualifiées d'imagerie moléculaire ont montré des applications dans différents domaines de la médecine. Chacune de ces techniques présente une résolution spatiale, une limite de pénétration tissulaire et une sensibilité différente et caractéristique (tableau 3).^[10,116]

Technique d'imagerie	Résolution spatiale (clinique)	Limite de pénétration tissulaire	Sensibilité de détection (mol)	Agents d'imagerie
US	50-500 μm (surface) 1-2 mm (profondeur)	sans limite ^a	nd ^b	micro-bulles ^c
TDM	0.5-1 mm (clinique)	sans limite	mmol	Molécule iodée
Optique par fluorescence	1-2 mm	< 1 cm	nmol-pmol	Fluorophore
IRM	1 mm (clinique)	sans limite	mmol- μmol	Molécule para ou ferromagnétique ^c
TEP	2-6 mm (clinique)	sans limite	nmol-pmol	Molécule radioactive

a : dépendant de la fréquence utilisée (signal réduit pour les tissus profonds)

b : nd : non déterminée

c : agent de contraste

Tableau 3. Caractéristiques des différentes techniques d'imagerie moléculaire [116]

Les différentes techniques d'imagerie présentent des avantages et inconvénients liés aux caractéristiques intrinsèques cités dans le tableau 3. De plus, chacune de ces cinq techniques permet d'obtenir des informations uniques et souvent complémentaires entre elles. Cette complémentarité est une des raisons essentielles à l'association de différents types d'imagerie moléculaire.

L'imagerie par ultrasons et la TDM (TomoDensitoMétrie de rayons-X) ont une très bonne résolution spatiale. Cependant, la pénétrabilité de l'imagerie par US est totalement dépendante de la fréquence utilisée, contrairement à la TDM qui a une pénétrabilité sans limite.

L'IRM est une technique qui possède une très bonne résolution spatiale et une pénétrabilité sans limite. Cependant cette technique a une faible sensibilité et nécessite, parfois, l'utilisation de mmol d'agent de contraste.

L'imagerie optique par fluorescence possède une très bonne sensibilité de détection, une bonne résolution spatiale mais une pénétrabilité inférieure à un centimètre. A contrario, l'imagerie TEP a une pénétrabilité sans limite, une résolution spatiale correcte (de l'ordre de quelques millimètres) et une très bonne sensibilité de détection.

Une solution appropriée pour pallier les inconvénients de chacune de ces techniques est donc de les associer. Cette combinaison permet d'une part d'avoir une sensibilité de détection, une pénétrabilité ou encore une résolution spatiale optimisée par rapport à l'utilisation d'une technique seule. De plus, l'utilisation de deux techniques apporte une complémentarité dans les informations obtenues. Ainsi, la combinaison de deux

techniques se traduit par l'obtention d'outils d'imagerie plus performants pouvant même conduire à l'obtention d'outils présentant des applications théranostiques.^[117]

L'association TEP/IRM et TEMP/IRM est assez répandue dans la littérature. Cette combinaison TEP/IRM est une combinaison intéressante tirant parti de l'excellente résolution de l'IRM et de la bonne sensibilité de la TEP.^[118-120] Cependant, l'IRM ayant une faible sensibilité comparée à l'imagerie TEP, la recherche actuelle porte principalement sur des systèmes de type nanoparticules qui contiennent plusieurs chélates de gadolinium et un seul chélatant pour le radiométal. Un exemple d'application de combinaison TEP/IRM est le traceur dual ^{64}Cu -NPs-dopa-PEG-DOTA/RGD développé par Shi *et al.* (figure 16).^[121] Ce traceur comporte une nanoparticule de MnFe_2O_4 qui sert d'agent de contraste pour l'imagerie IRM. L'utilisation *in vivo* d'une particule magnétique nécessite un recouvrement biocompatible et non toxique de sa surface. Dans ce cas, auteurs ont choisi d'utiliser la dopamine comme entité chimique de recouvrement parce qu'elle a une bonne affinité pour la surface et un ratio faible de désorption. De plus, des chaînes de type polyéthylène glycol (PEG) ont été introduites afin de pouvoir fonctionnaliser la nanoparticule avec un chélatant de type DOTA pour permettre la complexation avec le cuivre-64 et un peptide dérivé de la séquence RGD afin d'avoir une accumulation spécifique du traceur dans la tumeur visée. Ce traceur dual a été testé *in vivo* sur des souris portant des glioblastomes humains de type U87MG. L'étude réalisée par imagerie TEP et imagerie IRM avec contraste amélioré a montré une fixation sur la tumeur de type glioblastome surexprimant la cible spécifique de la RGD (récepteurs intégrines) et ceci malgré une fixation importante sur la rate, les reins et le foie.

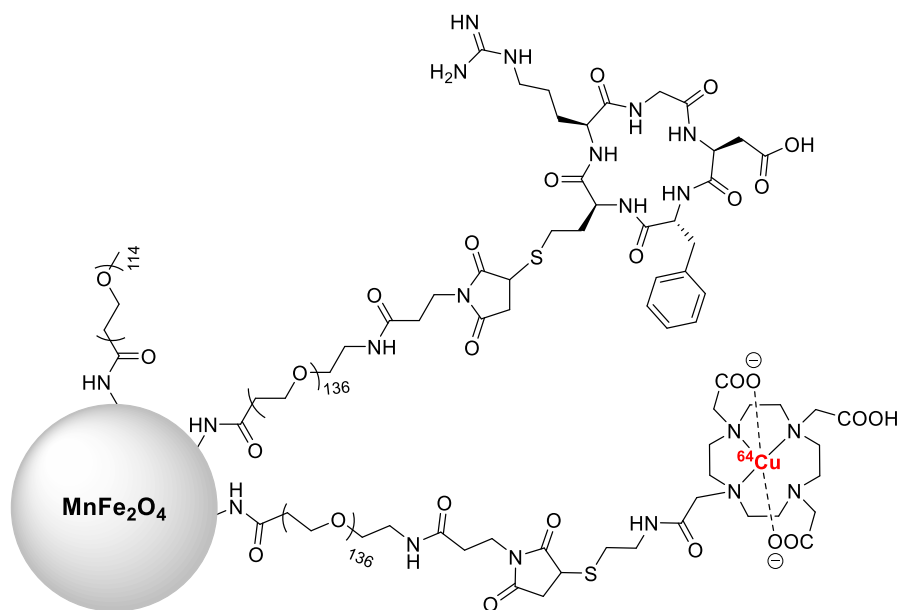


Figure 16. Structure du traceur dual TEP/IRM ^{64}Cu -NPs-dopa-PEG-DOTA/RGD

Un autre exemple d'imagerie bimodale est la combinaison IRM/FPIR. Combiner ces deux techniques permet de palier d'un côté la faible pénétrabilité de l'imagerie optique par FPIR et de compenser la faible sensibilité de l'IRM. Néanmoins, comme dans l'exemple précédent, la faible sensibilité de l'IRM par rapport à la FPIR fait que la grande majorité des composés duals IRM/FPIR présents dans la littérature sont basés sur des nanoparticules et des structures de grande taille.^[122–124]

La bimodalité IRM/FPIR et IRM/TEP ou IRM/TEMP est donc très intéressante, mais la forte différence de sensibilité de ces techniques est une problématique importante dans la construction des agents duals, ceux-ci seront nécessairement de grosses architectures (nanoparticules ou rotaxanes par exemple). Dans ce contexte, la combinaison TEP/FPIR exploitée dans cette thèse est en plein développement.

I.4.2. Intérêt de la combinaison TEP/FPIR

Au cours des dernières décennies, le développement de nouveaux radiotraceurs pour la TEP a conduit à d'importants progrès dans la visualisation des tissus et organes ciblés grâce à l'efficacité et la sensibilité des nouveaux traceurs. Pourtant, l'imagerie TEP par elle-même présente une résolution spatiale limitée et elle ne permet pas de corréler anatomiquement l'accumulation du traceur ce qui est crucial dans le cas du diagnostic d'une tumeur. C'est pour cela que l'imagerie TEP est souvent associée à l'imagerie TDM afin d'obtenir une information anatomique.^[125] Cependant, une fois la tumeur identifiée

et localisée, la combinaison TEP/TDM présente des limitations lorsqu'il s'agit de déterminer les marges des tumeurs et des petites métastases. Dans ce contexte, la combinaison de l'imagerie TEP avec l'imagerie optique par FPIR apporte de réelles solutions.

Les sondes fluorescentes utilisées pour l'imagerie optique par FPIR possèdent une bonne résolution spatiale *in vitro* et *in vivo*. Malheureusement, dans le cadre d'une utilisation *in vivo* pour l'imagerie de tissus profonds, l'imagerie optique est beaucoup moins adaptée que l'IRM et la TEP étant donné sa faible pénétrabilité tissulaire.^[126,127] Par conséquent, la combinaison TEP/FPIR est pertinente puisque l'imagerie TEP permet de palier à la faible pénétrabilité de l'imagerie optique par FPIR et de manière réciproque, l'imagerie FPIR améliore significativement la résolution spatiale de l'imagerie TEP. De plus, ces deux techniques présentent des sensibilités du même ordre ce qui permet d'envisager le développement de sondes moléculaires de petite taille, présentant une seule entité chimique de détection par technique d'imagerie.^[128,129] Cet aspect est vraiment primordial dans l'élaboration d'agents moléculaires duals. La combinaison TEP/FPIR permet d'un côté d'accéder à des informations à de multiples échelles et d'un autre côté, cette combinaison permet d'envisager des applications théranostiques. Ces deux techniques, non-invasives et fonctionnelles permettent dans un premier temps de réaliser un diagnostic du corps entier avec la TEP et de la chirurgie guidée par FPIR après décroissance du radiotracer (durée de vie de fluorescence plus longue que celle des radiotraceurs).^[128] L'utilisation de la FPIR comme guide chirurgical permet de mieux définir les marges de la tumeur pour pouvoir réaliser une résection beaucoup plus précise.

Plusieurs exemples dans la littérature montrent la puissance de la combinaison des sondes TEP/FPIR qui sont souvent couplées à des biomolécules afin d'avoir une fixation spécifique du traceur. Une grande majorité des composés duals décrits dans la littérature sont construits à base de radiométaux comme radioéléments pour la TEP. Pour citer un exemple d'utilisation pour l'imagerie bimodale TEP/FPIR, Hernandez Vargas *et al.* ont développé une sonde comportant un chélatant du gallium-68, un dérivé de cyanine (IR800) et un peptide ciblant les récepteurs de la somatostatine (figure 17). Il est à noter dans cet exemple l'utilisation d'un seul chélatant pour un fluorophore, ce qui est le grand avantage chimique de cette combinaison ayant la même sensibilité. L'agent ⁶⁸Ga-MMC(IR800)-TOC a été développé pour des applications théranostiques : diagnostic et chirurgie guidée des tumeurs neuroendocriniens.

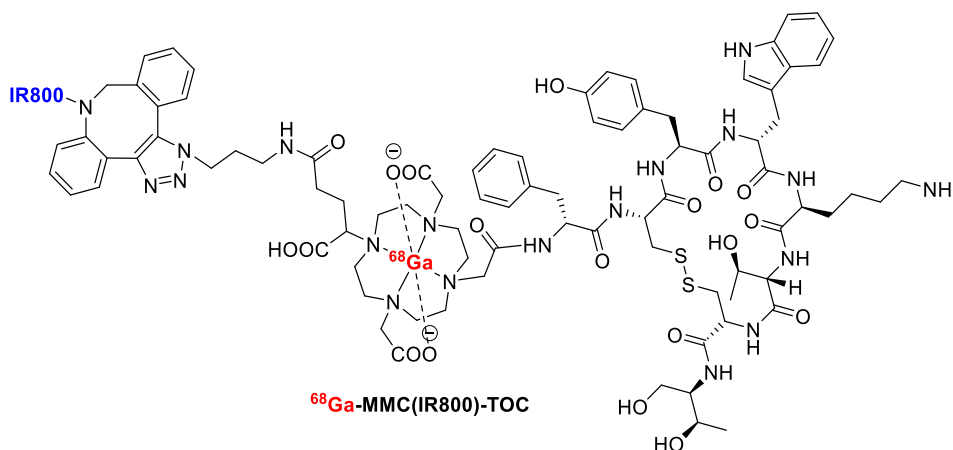


Figure 17. Structure de l'agent bimodal TEP/FPIR ^{68}Ga -MMC(IR800)-TOC

Les différentes techniques utilisées pour le marquage des agents duals TEP/FPIR, les stratégies pour la construction de ces agents ainsi que l'intérêt d'utiliser des biomolécules en imagerie seront développés dans les deux paragraphes suivants.

II. Biomolécules et imagerie moléculaire

Divers traceurs sont utilisés en clinique dans les différents types d'imagerie (comme le [^{18}F]FDG en TEP), mais depuis quelques années, la recherche se tourne de plus en plus vers le développement de nouvelles alternatives plus spécifiques et sélectives, notamment *via* le marquage de biomolécules qui permettent une fixation spécifique du traceur sur sa cible.

II.1. Généralités

Le concept de ciblage a été étudié dans plusieurs domaines de la médecine et en particulier dans le domaine de l'imagerie moléculaire. L'utilisation d'un ligand de ciblage, ligand de reconnaissance qui cible spécifiquement une molécule exprimée ou surexprimée à la surface cellulaire, est largement répandue dans le domaine de l'imagerie moléculaire. L'agent d'imagerie lié à ce ligand est ainsi amené spécifiquement vers une cible et permet de réaliser un suivi du ligand *in vivo* afin d'établir un diagnostic médical. Dans le cadre de cette thèse, l'utilisation d'un ligand couplé avec une sonde duale TEP/FPIR permettra une fixation à une cible spécifique pour des applications en imagerie bimodale ou théranostiques par chirurgie guidée.

Les ligands de ciblage les plus utilisés en imagerie moléculaire sont des biomolécules comme les anticorps (ou des fragments d'anticorps), les protéines, certains peptides ou pseudo-peptides, les oligonucléotides ou encore les oligosaccharides.^[130–133]

Les cellules tumorales, surexpriment un certain nombre de marqueurs/récepteurs selon le type de tumeur.^[133] Par exemple, les cellules tumorales de la prostate surexpriment les protéines PSA (prostate specific antigen) et PC3A (prostate specific antigen 3),^[134] alors que les cellules tumorales mammaires non TNBC (triple negative breast cancer) surexpriment plutôt les biomarqueurs ER (estrogen receptor), PR (progesteron receptor) et HER2 (human epidermal growth factor receptor 2).^[135] La surexpression spécifique de marqueurs en fonction du type de cellule tumorale permet de choisir, en fonction de la tumeur visée, le ligand le plus adapté qui ciblera spécifiquement le marqueur surexprimé.^[133] La fonctionnalisation de ce ligand avec un agent d'imagerie moléculaire permet la réalisation du diagnostic ou du suivi de la maladie, comme le cancer. Particulièrement pour les cancers, l'utilisation de certains peptides, protéines ou encore anticorps qui ciblent spécifiquement des marqueurs tumoraux, permet d'obtenir un diagnostic plus précis que lors de l'utilisation du [¹⁸F]FDG, traceur utilisé en routine.^[136] L'utilisation de biomolécules n'est pas exclusivement réservée au cancer. Par exemple, un ciblage spécifique *via* des oligonucléotides antisens permet d'imager l'expression génique *in vivo* dans des maladies cardiaques ou dans la maladie d'Alzheimer.^[137,138]

Un critère essentiel, lorsque la biomolécule est utilisée pour des applications en imagerie TEP, est le temps de biodistribution de cette biomolécule. La sonde radioactive permettant le suivi du ligand doit avoir une demi-vie compatible avec les propriétés pharmacocinétiques de la biomolécule. En effet, le fait d'avoir une concordance entre la demi-vie du radioisotope et la biodistribution de la biomolécule permet de maximiser le rapport signal sur bruit lors de la réalisation d'une image TEP de la tumeur.^[139] C'est pour cela que les biomolécules comme les anticorps ou les protéines qui ont généralement des temps de biodistribution supérieurs à 12h et autour de 4h respectivement,^[139–141] ne sont généralement pas radiomarquées avec le ¹¹C ou le ¹⁸F ayant des demi-vie courtes (20.4 et 109.8 min respectivement). Ils sont plutôt marqués avec des radioisotopes à période plus longue comme le cuivre-64 (12,6h) ou le zirconium-69 (78,4h) (figure 18).^[142–148] Cependant, malgré la courte demi-vie du ¹⁸F, la littérature montre quelques exemples d'utilisation de ce radioisotope conjugué à des protéines mais aussi à des anticorps (figure 18).^[149]

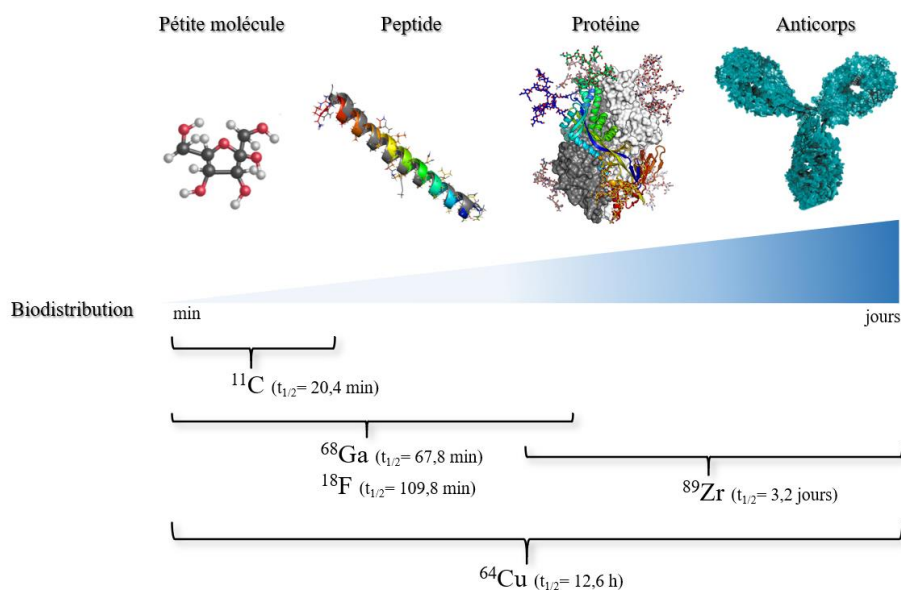


Figure 18. Choix du radioélément en fonction du temps de biodistribution de la biomolécule

Lors de ces travaux de thèse, nous nous sommes concentrés sur le ^{18}F , qui est le radioélément le plus utilisé en TEP grâce à sa facilité d'accès, sa faible énergie, sa haute activité spécifique ainsi qu'à son temps de demi-vie compatible avec les radiosynthèses multi-étapes. De plus, cela permet de tirer parti de la stabilité de la liaison C-F. Néanmoins, comme indiqué ci-dessus, les biomolécules ayant une biodistribution lente ne sont pas adaptées au marquage avec ce radioisotope. Une stratégie de couplage régiosélective est difficile à mettre en œuvre avec les biomolécules de taille importante comme les anticorps ou les protéines. En effet, un couplage régiosélectif de la sonde d'imagerie sur la biomolécule est nécessaire afin de contrôler le ratio biomolécule/sonde et éviter le couplage de la sonde à sur des positions des fonctions nécessaires à la reconnaissance moléculaire entre la biomolécule et sa cible. Pour l'ensemble de ces raisons, un peptide de petite taille a été choisi comme ligand pour ces travaux de thèse. Un focus sur quelques peptides couramment utilisés en imagerie moléculaire est développé dans le paragraphe suivant.

II.2. Peptides et pseudo-peptides : utilisation en imagerie moléculaire

Les peptides ou pseudo-peptides sont les biomolécules les plus utilisées avec des radioisotopes de demi-vie courte, comme le ^{18}F et ^{68}Ga , car ils ont une biodistribution rapide. Cependant l'utilisation de ces peptides n'est pas exclusive de l'imagerie TEP, l'imagerie par FPIR ou encore la thérapie les utilisent de plus en plus. Les peptides ont une grande sélectivité et une bonne affinité *in vivo* envers leur cible biologique, et ont une

plus faible immunogénicité que les anticorps. Leur tolérance aux différentes conditions réactionnelles est aussi une caractéristique intéressante puisqu'elle permet de synthétiser et modifier ces biomolécules de façon efficace.^[150,151] Puisqu'ils disposent de nombreuses cibles biologiques, les peptides sont souvent utilisés en imagerie moléculaire, particulièrement pour le diagnostic du cancer vu qu'ils permettent d'apporter un diagnostic plus sélectif qu'avec le [¹⁸F]FDG.^[136] De plus, leur faible toxicité, leur bonne biocompatibilité ainsi que leur bonne biodégradabilité en font des biomolécules très intéressantes pour des applications biomédicales *in vivo*.^[152]

Parmi les peptides les plus utilisés en imagerie moléculaire, on retrouve l'octréotide et différents dérivés de la séquence RGD ou encore un pseudo-peptide ciblant le PSMA.^[153-155]

II.2.1. Octréotide

Les hormones de la somatostatine connues sous le nom de SRIFs (somatotropin-release inhibiting factors), sont synthétisées par le système endocrinien. Ces hormones vont interagir avec les cinq récepteurs principaux apparentés de la somatostatine SSTR1-5. La somatostatine exerce une action inhibitrice sur la libération de l'hormone de croissance (GH), de la gastrine et de l'insuline.^[156] En outre, les récepteurs à la somatostatine sont fortement exprimés par certaines tumeurs malignes telles que des tumeurs neuro-endocriniennes, des carcinomes, des gastrinomes et des tumeurs endocrino-pancréatiques. Cette surexpression rend les récepteurs à la somatostatine des cibles intéressantes pour la thérapie ou l'imagerie.^[157]

Un des peptides les plus utilisés pour cibler les SSTRs est l'octréotide, un octapéptide cyclique (dérivé de la somatostatine) ponté entre les deux chaînes latérales par une liaison disulfure, et qui possède une forte affinité pour les récepteurs à la somatostatine SSTR2 et SSTR5 (figure 19).^[156,158]

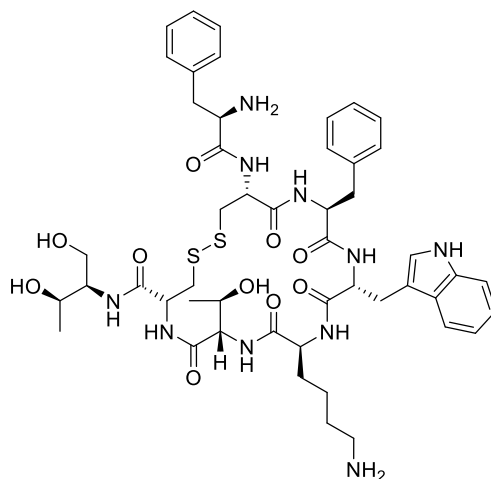


Figure 19. Structure de l'octréotide

L'octréotide est le plus souvent fonctionnalisé avec des chélatants du gallium-68 pour l'imagerie TEP comme c'est le cas du traceur ⁶⁸Ga-DOTATATE, utilisé en routine dans les hôpitaux.^[159,160] Même si ce peptide est souvent radiomarqué au ⁶⁸Ga, la littérature montre un intérêt de plus en plus marqué pour le marquage de ce peptide avec des sondes fluorescentes pour des applications en imagerie optique FPIR ou encore des applications théranostiques.^[161–163] Un exemple récent est le travail de Guo *et al.* où l'octréotide est fonctionnalisé avec un fluorophore de type cyanine pour imager les récepteurs à la somatostatine surexprimés par certaines tumeurs.^[164] En plus des applications en imagerie moléculaire, l'octréotide marqué au lutetium-177 est utilisé en thérapie, combiné à deux dérivés anticancéreux (nutlin-3 et topotecan), pour le traitement de neuroblastomes (tumeurs malignes retrouvées fréquemment chez l'enfant).^[165]

II.2.2. Pseudo-peptide ciblant le PSMA

Le cancer de la prostate (PCa) est la première cause de décès par cancer chez les hommes. A ce regard, le ciblage des biomarqueurs du PCa est une priorité dans le but d'avoir des traitements plus efficaces et un diagnostic plus précis et précoce.^[166] Parmi les différents biomarqueurs du cancer de la prostate, on retrouve le PSMA (Prostate Specific Membrane Antigen), une glycoprotéine transmembranaire de type II principalement exprimée dans les tissus épithéliaux normaux et surexprimée dans les tumeurs malignes de la prostate, bien qu'elle soit également exprimée dans d'autres tissus comme le cerveau.^[155]

Récemment, le ciblage du PSMA avec plusieurs petites molécules inhibitrices a été décrit, notamment avec le dérivé L-lysine-urée-L-glutamate, qui a été caractérisé comme un des

agents les plus puissants pour le ciblage du site actif du PSMA.^[167] Le pseudo-peptide, constitué de deux acides aminés (lysine et glutamate), n'est pas considéré comme un peptide puisque les deux acides aminés sont reliés par un motif urée (figure 20).

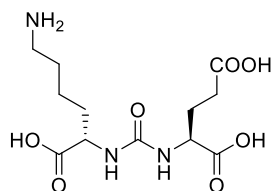


Figure 20. Structure du pseudo-peptide inhibiteur du PSMA (Glu-NH-CO-NH-Lys)

Le pseudo-peptide est un des agents de ciblage les plus utilisés actuellement bien que sa découverte soit assez récente, comparée à d'autres peptides utilisés dans le domaine de l'imagerie médicale. La littérature montre plusieurs exemples d'utilisation de cet inhibiteur du PSMA en imagerie TEP avec du fluor-18,^[155,168] du cuivre-64 ou du gallium-68^[169] et plus récemment en imagerie bimodale TEP/FPIR.^[170]

II.2.3. Dérivés de la séquence RGD

Les peptides dérivés de la séquence tripeptidique RGD (Arg-Gly-ASp) largement utilisés dans la littérature ont été retenus pour cette thèse.

a) Structure et type de dérivés RGD

La famille des RGD est l'une des familles de peptides de petite taille les plus étudiées et utilisées en imagerie moléculaire. Les RGD sont classés en fonction de leur structure linéaire ou cyclique (figure 21).

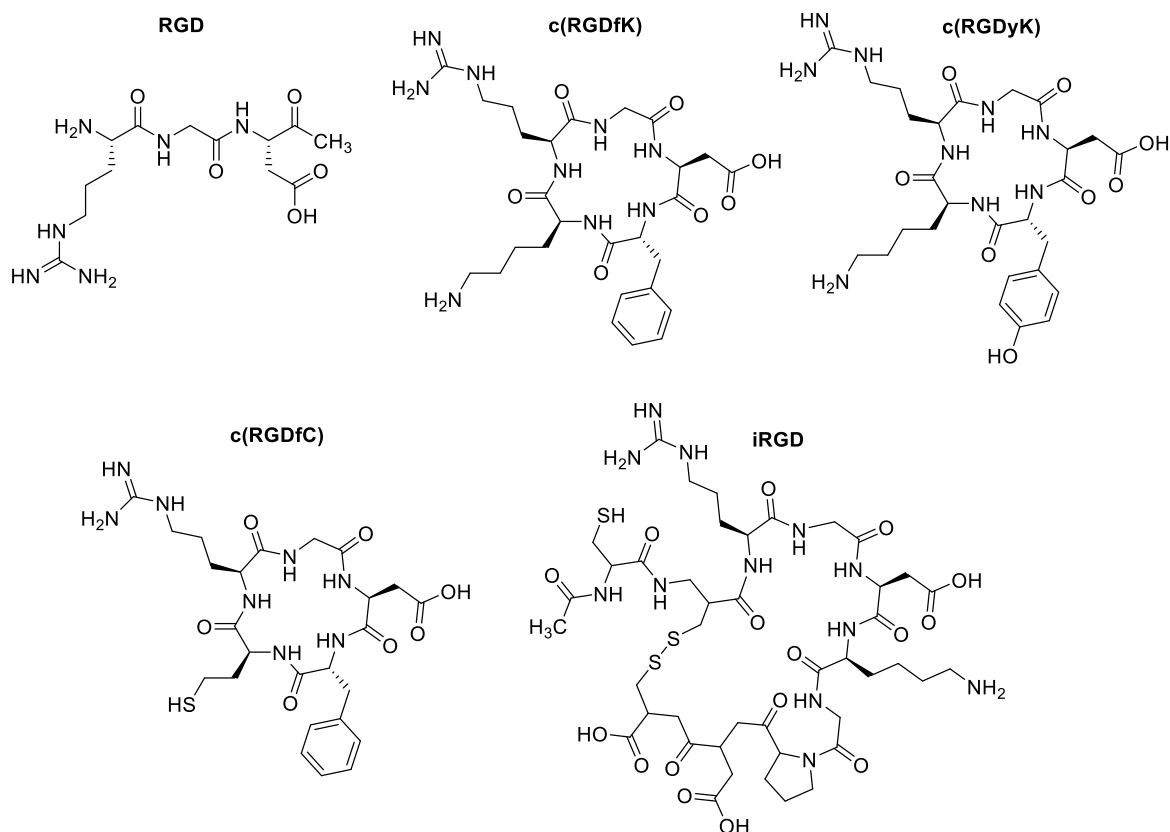


Figure 21. Représentation schématique des RGD les plus utilisés

Le peptide linéaire a été le premier étudié. Malheureusement, il a montré une faible stabilité vis-à-vis de la dégradation enzymatique, ce qui limite son applicabilité *in vivo*.^[171] C'est pour cette raison que la recherche s'est tournée vers l'utilisation d'analogues cycliques, qui ont montré une meilleure stabilité *in vivo*, due à leur conformation plus contrainte ainsi qu'une meilleure affinité vis-à-vis de leur cible.^[171] Les RGD cycliques les plus utilisés sont le c(RGDfK), le c(RGDyK) et le c(RGDfC), constitués d'une série de 5 acides aminés, et dans lesquels le motif RGD est inchangé (figure 21).^[172] Plus récemment, un RGD cyclique plus complexe (iRGD), formé par 9 acides aminés, a été découvert et utilisé pour le ciblage de plusieurs lignées tumorales.^[172-174]

b) Cible biologique : Les intégrines

Les peptides de type RGD ciblent spécifiquement des glycoprotéines transmembranaires, appelées intégrines, qui ont un rôle important dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice.^[175]

Les intégrines sont des hétérodimères avec une sous-unité α et une sous-unité β liées de façon non covalente.^[176] Chacune de ces sous-unités correspond à une protéine transmembranaire de type I avec de larges segments extracellulaires, un domaine transmembranaire, et généralement, un court domaine intracellulaire (figure 22).^[177]

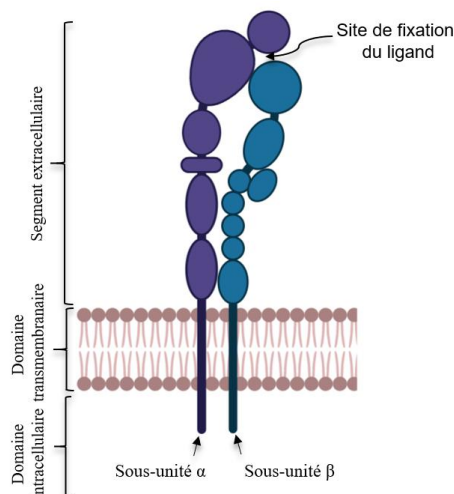


Figure 22. Structure des intégrines

Jusqu'à présent, 18 sous-unités α et 8 β ont été identifiées, qui se combinent entre elles pour former 24 différentes intégrines hétérodimériques. La spécificité d'une intégrine vis-à-vis d'un ligand va être dictée par la combinaison particulière des sous-unités α et β .^[133,177,178] Parmi les 24 intégrines identifiées, seules 8 reconnaissent le motif RGD : $\alpha_{IIb}\beta_3$, $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_8$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_8\beta_1$.^[177]

Les molécules d'adhésion cellulaire comme les intégrines jouent un rôle important dans l'angiogenèse tumorale, processus critique de la croissance et l'invasion tumorale.^[179,180] Quelques sous-types d'intégrines ont déjà été décrits comme fortement surexprimés dans plusieurs types de tumeurs. C'est le cas des intégrines $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ et $\alpha_5\beta_1$ qui sont des médiateurs cruciaux dans le processus de l'angiogenèse.^[133,175]

L'angiogenèse est un processus de réponse à la forte demande en nutriments et en oxygène par la tumeur en croissance. Pour répondre à ce besoin, les tissus tumoraux formés de cellules en multiplication constante vont activer des voies de signalisation pro-angiogéniques (au travers de facteurs de croissance comme le VEGF pour Vascular Endothelial Growth Factor ou le bFGF pour basic Fibroblast Growth Factor). Ce processus est appelé switch angiogénique. Le bourgeonnement de nouveaux vaisseaux sanguins (sprouting) et la surexpression des intégrines par les tissus tumoraux

représentent ainsi des événements clés de la pathophysiologie cancéreuse.^[133,175,177] C'est pourquoi le ciblage des intégrines est considéré comme une cible pour le diagnostic de cancer par imagerie des tumeurs.

Parmi les différentes intégrines surexprimées par les cellules tumorales, l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ est l'une des plus étudiées du fait de sa grande implication dans l'angiogenèse, la néo-vascularisation tumorale et la dissémination métastatique.^[133,181] L'hétérodimère $\alpha_v\beta_3$, encore appelé récepteur à la vitronectine, est sélectivement surexprimé à la surface des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins en croissance. Par conséquent, elle a été identifiée comme une cible potentielle dans les pathologies où l'angiogenèse est stimulée, telles que le cancer.^[182]

Les RGD cycliques possèdent une grande sélectivité et une forte affinité, de l'ordre du nM pour l'intégrine $\alpha_v\beta_3$.^[171,178] Parmi les différents RGD cycliques, le c(RGDfK) est l'un des plus utilisés pour cibler cette protéine. En plus d'avoir une bonne affinité vis-à-vis de cette intégrine, le groupement amino libre du résidu lysine est facilement modifiable chimiquement, sans changer significativement l'affinité du peptide avec l'intégrine. Une sonde peut donc aisément être accrochée sur cette position pour effectuer le suivi du peptide *in vivo*.^[171,180] De ce fait, dans le cadre de cette thèse, le dérivé c(RGDfK) est utilisé comme agent de ciblage pour l'intégrine $\alpha_v\beta_3$.

c) Multivalence

La bonne affinité que possèdent les RGD cycliques diminue lorsque le peptide est conjugué avec une autre molécule (même via le résidu lysine), qui peut être une sonde d'imagerie par exemple. Certains auteurs, comme Moreira-Dias *et al.* ont observé cette perte d'affinité, lors de la fonctionnalisation d'un dérivé de la séquence RGD, la cyclo[DKP-RGD] (RGD portant une unité *N*-benzylidécetopipérazine DKP) avec le Paclitaxel (PTX), un anticancéreux (figure 23). Grâce à un test de compétition réalisé avec la vitronectine sur des intégrines $\alpha_v\beta_3$ immobilisées, ils ont observé que l'affinité vis-à-vis des intégrines (exprimée en valeur d'IC₅₀) passe de 4,5 nM pour le dérivé cyclo[DKP-RGD] nu à 27,3 nM lorsque le dérivé de RGD est couplé au Paclitaxel par le benzyle de la DKP.^[183] Bien que le peptide soit accroché au Paclitaxel via un résidu non essentiel à la reconnaissance (la *N*-benzylidécetopipérazine), une diminution est observée que les auteurs attribuent à l'augmentation de l'encombrement stérique.

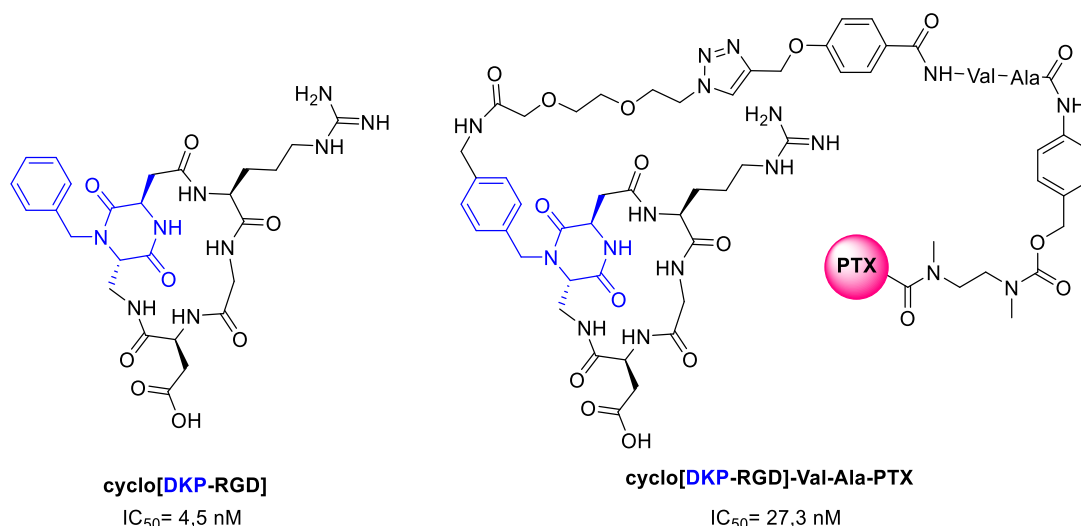


Figure 23. Structure et IC₅₀ du cyclo[DKP-RGD] et du [DKP-RGD] conjugué au paclitaxel

Cette perte d'affinité fait que la recherche de nouveaux traceurs est de plus en plus axée vers le développement de traceurs multivalents, présentant plusieurs ligands, généralement disposés sur une plate-forme organisatrice.^[184,185] L'intérêt des composés multivalents réside dans leur capacité à réaliser plusieurs interactions simultanées avec les récepteurs situés à proximité (figure 24).

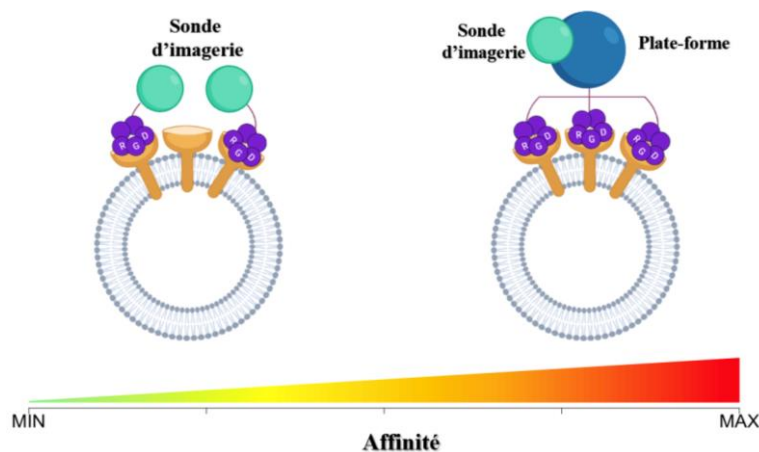


Figure 24. Effet de la multivalence sur l'affinité du composé vis-à-vis de sa cible

L'effet de la multivalence permet d'avoir une amélioration considérable de l'affinité du traceur peptidique, même si celle-ci, dans certains cas, n'atteint pas celle du peptide seul. Garanger *et al.* ont utilisé une plate-forme décrite dans la littérature, le RAFT (Regioselectively Addressable Functionalised Template), comme support de marquage et d'accrochage d'un ou plusieurs peptides RGD. L'affinité des différentes plate-formes a été évaluée sur des cellules surexprimant naturellement l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, par un test de compétition avec un anticorps spécifique de l'intégrine et exprimée en valeur d'IC₅₀. Les

résultats obtenus montrent que lorsque la plate-forme contient un seul RGD couplé par le résidu lysine, l'affinité est supérieure à 20000 nM tandis que la plate-forme fonctionnalisée avec 4 peptides possède une affinité est de 19 nM (figure 25a).^[182]

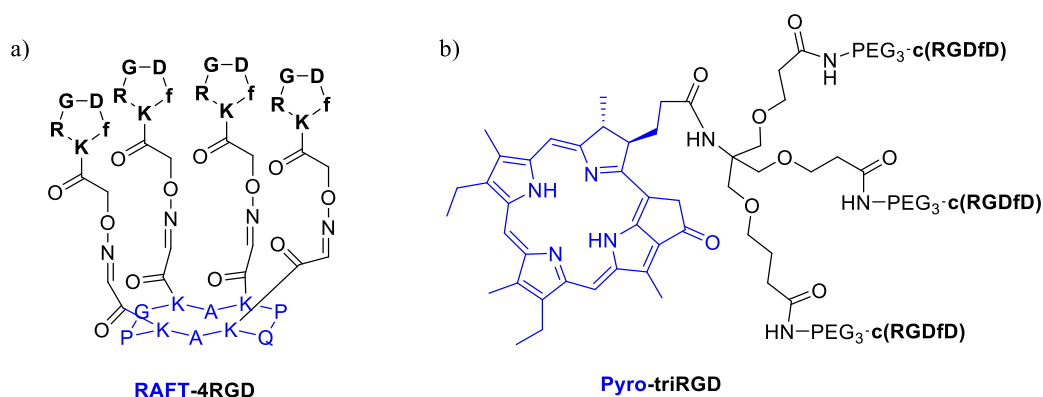


Figure 25. Structures a) RAFT-4RGD et b) Pyro-triRGD

Un résultat similaire a été observé par Zhao *et al.* en comparant l'affinité, par des test de binding, de leur composé Pyro (photosensibilisateur pour la PDT) fonctionnalisé avec un, deux ou trois unités RDGfD (introduits par le résidu aspartate). Ils ont observé que l'introduction de trois unités RGDfD (figure 25b) permettait d'avoir une affinité 20 fois supérieure par rapport à la plate-forme ne contenant qu'une seule unité (44 nM vs 950 nM).^[186]

Néanmoins, il a été aussi montré qu'à partir de huit unités de RGD, l'amélioration de l'affinité est non significative à cause du manque de sites de liaison dans l'espace.^[187]

La nature et la longueur des chaînes, entre la plate-forme et les peptides, sont aussi déterminants. Lorsque les chaînes utilisées n'ont pas une longueur adéquate, l'encombrement stérique augmente proportionnellement avec le nombre de RGD introduits, ce qui se traduit par une perte de l'affinité. Ceci a été observé par Thumshirn *et al.* qui ont synthétisé différents composés tétravalents avec des chaînes de différentes longueur et nature. Les études d'affinité réalisées sur des intégrines $\alpha_v\beta_3$ immobilisées ont montré que la valeur d'IC₅₀ passe de 10 nM pour les composés fonctionnalisés avec des bras espaceurs de type hexyle, à 0,2 nM pour les composés portant des espaceurs de type PEG (Hegas).^[188]

Compte tenu de l'effet bénéfique de la multivalence, des traceurs TEP et bimodaux TEP/FPIR présentant plusieurs peptides RGD sont en développement dans la littérature. [189–191]

II.3. Marquage de biomolécules pour l'imagerie moléculaire

Afin d'accrocher la sonde d'imagerie à la biomolécule, une modification chimique est souvent nécessaire afin de fonctionnaliser cette biomolécule par un groupement réactif. Les groupes chimiques qui n'interviennent pas dans la reconnaissance avec le récepteur sont prioritairement modifiés. En ce qui concerne les dérivés de RGD qui seront exploités dans cette thèse, la fonction amine primaire de la chaîne latérale de la lysine de c(RGDfK) est un point de fonctionnalisation privilégié. La fonction réactive introduite sur la biomolécule permettant l'accrochage de la sonde est choisie en fonction de la technique de ligation envisagée.

II.3.1. Techniques de ligation pour l'accrochage des sondes sur les biomolécules

Les stratégies les plus utilisées lors de la conjugaison d'une biomolécule avec une sonde d'imagerie sont communes à toute application en imagerie. Ces stratégies forment peu de sous-produits et sont généralement régiosélectives, elles ont généralement des cinétiques plutôt rapides et emploient des conditions douces afin de pas dénaturer la biomolécule souvent très sensible à la température et aux pH extrêmes.^[130] Les techniques de ligation les plus utilisées dans la littérature ainsi que leurs avantages et inconvénients sont listées dans le tableau 4.^[31,49]

	Fonctions en	Lien formé	Avantages	Inconvénients
Amide	<p>R' = H ou ester activé</p>		Conditions douces	Temps de réaction très variable Peu régiosélective
S-alkyle			Conditions douces Cinétique rapide	Régiosélectivité non optimale
Thiourée			Conditions douces Cinétique rapide	Régiosélectivité non optimale
CuAAC			Conditions douces Cinétique rapide Régiosélective	Nécessite l'utilisation de cuivre
SPAAC			Conditions douces Cinétique rapide Possibilité de couplage <i>in vivo</i>	Cinétique plus lente que CuAAC Formation de deux régioisomères
IEDDA			Conditions douces Possibilité de couplage <i>in vivo</i> Cinétique très rapide	Possibilité d'isomérisation <i>in vivo</i>

Tableau 4. Réactions de ligation les plus utilisées pour l'accrochage de sondes sur des biomolécules

- *Formation d'un lien amide*

Les liens amides, formés lors de la réaction entre une amine et un acide carboxylique (ou un ester activé), sont des liens largement utilisés pour le couplage d'une sonde à une biomolécule. Les groupements amines les plus utilisés pour ce type de couplage sont les amines primaires et particulièrement celles des résidus lysines. La formation de ces liens se fait dans des conditions relativement douces avec des temps de réactions variables allant de quelques minutes à quelques heures.^[31]

Néanmoins, cette méthode est limitée par sa régiosélectivité : tout résidu amine libre de la biomolécule est susceptible de réagir avec l'ester activé. Le manque de sélectivité et les temps parfois longs de réaction font que cette méthode de couplage est de plus en plus remplacée par d'autres méthodes plus sélectives et rapides.

- *Formation d'un lien S-alkyl*

La réaction du groupement nucléophile thiol avec un électrophile de type maléimide, alcyne, bromoacétamide, esters α,β -insaturés, disulfides ou sulfamide entre autres, mène à la formation d'un lien C-S entre la biomolécule et la sonde d'imagerie.^[192] Les réactions les plus fréquentes de S-alkylation se font entre une sonde portant une fonction maléimide ou bromoacétamide et une biomolécule contenant le groupement SH provenant d'un résidu cystéine ou introduite par réaction chimique.^[31] Même si cela est le plus habituel, une fonctionnalisation inverse est aussi possible : une biomolécule avec une fonction électrophile et un traceur avec un groupement SH.

Le plus grand inconvénient de cette réaction réside dans la forte présence des groupements SH sur les biomolécules, ce qui peut conduire à un manque de régiosélectivité ou à une poly-fonctionnalisation de la biomolécule.^[31,192]

- *Formation d'un lien thiourée*

L'utilisation des groupements amines ne se limite pas seulement aux liens amides. En effet, les liens de type thiourée sont de plus en plus utilisés lors du couplage d'un traceur avec une biomolécule. Les thiourées sont issues de la réaction d'une amine primaire (souvent l'amine libre de la lysine) avec un groupement isothiocyanate ($S=C=N-R$) dans des conditions douces et rapides (10-20 min à température ambiante).^[31]

Cette méthode est limitée par sa régiosélectivité : tout résidu amine libre de la biomolécule est susceptible de réagir.

- *Couplage par réaction de type CuAAC*

La méthode de couplage par CuAAC (Copper catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition) est issue de la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen, découverte en 1983 et modifiée par Sharpless en 2002 par l'introduction de Cuivre I. Cette modification conduit à la formation exclusive et sélective du triazole 1,4-disubstitué, ce qui n'est pas le cas lorsque la réaction est réalisée sans cuivre.^[193,194] La réaction de cycloaddition se produit entre une fonction alcyne introduite sur la biomolécule et une fonction azoture introduite sur le groupement prosthétique, ou inversement.

Celle-ci est une des réactions de type « click chemistry » la plus répandue pour conjuguer une biomolécule avec une sonde. Sa régiosélectivité, sa cinétique rapide de réaction et

l'absence de sous-produits font que cette méthode par CuAAC ait été choisie pour le couplage du peptide modèle (c(RGDfK)) dans le cadre de cette thèse.

La réaction CuAAC pose néanmoins le problème d'utiliser du cuivre-I qui a une forte cytotoxicité cellulaire (DL₅₀ de 220µg/mL pour la lignée HepG2).^[195-197]

- *Couplage par réaction de type SPAAC*

La recherche de méthodes d'activation de ces réactions azoture-alcyne, autre que par l'utilisation de métaux, a mené à l'utilisation de la méthode SPAAC (Strain Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition) pour le couplage de biomolécules et de sondes.^[198-201] Cette méthode de couplage est réalisée entre un azoture et un alcyne tendu, de type dibenzylcyclooctyne (DBCO), qui nécessite une énergie d'activation plus faible.

Un des inconvénients de cette méthode est une cinétique de réaction plus lente qu'avec le couplage de type CuAAC, en plus de conduire à la formation de deux régioisomères.

- *Couplage par réaction de type IEDDA*

La méthode de couplage par IEDDA (Inverse Electron Demand Diels-Alder cycloaddition) est une cycloaddition [4 + 2] irréversible. Les synthons les plus utilisés sont le *trans*-cyclooctène (TCO) et les tétrazines qui donnent des réactions plus rapides que par la méthode CuAAC.^[49]

Pour cette méthode, la biomolécule est souvent fonctionnalisée avec une tétrazine et la sonde avec un groupement TCO, ou inversement. Le couplage par IEDDA est très utilisé lors du marquage de protéines et d'anticorps avec le fluor-18 ou le cuivre-64.^[202-205]

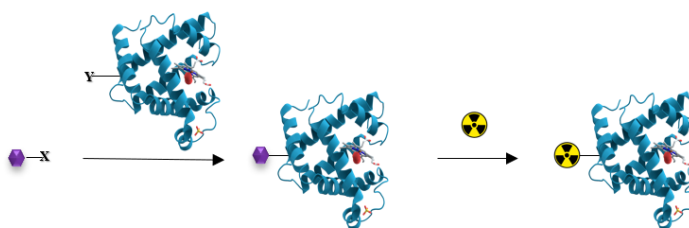
Cette réaction est la plus rapide parmi les différentes réactions de « click » et c'est pour cette raison qu'elle est utilisée dans des réactions *in vivo*. Un inconvénient de la réaction IEDDA reste la possibilité d'isomérisation en milieu aqueux du *trans*-cyclooctène pour donner le composé *cis* qui est moins réactif.

II.3.2. Contrainte de l'utilisation de radioisotopes pour le marquage des biomolécules pour la TEP

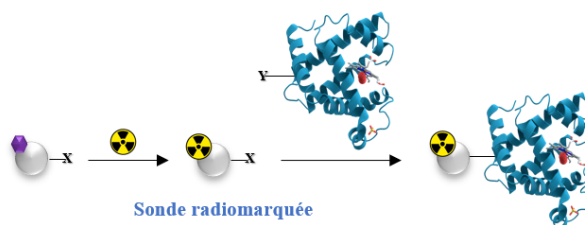
Les techniques de ligation détaillées ci-dessus sont les plus utilisées, de façon indistincte, pour la fonctionnalisation d'une biomolécule avec un fluorophore *via* un lien covalent. En effet, l'introduction du fluorophore ne présente pas de contraintes liées aux temps de

réaction ou aux conditions réactionnelles, ce qui n'est pas le cas lors de l'utilisation d'un radioisotope pour l'imagerie TEP. Le radioisotope a une demi-vie qui peut être assez courte, comme dans le cas du fluor-18 par exemple, qui ne permet pas l'utilisation de techniques de ligation ayant une cinétique longue. De plus, les radiomarquages classiques au fluor-18 pour former une liaison C-F sont réalisés dans des conditions dures en termes de pH et de températures, peu compatibles avec les biomolécules, ce qui fait qu'elles sont couplées après le radiomarquage. Le radiomarquage d'une biomolécule est une étape sensible et déterminante lors du développement d'un traceur TEP ou TEP/FPIR. Il existe deux grandes stratégies pour radiomarquer une biomolécule : le marquage après conjugaison (direct) ou le marquage avant conjugaison (indirect) (figure 26). Selon le type de marquage, il y aura plus ou moins de contraintes liées à l'utilisation de radioisotopes.

Marquage après conjugaison (direct)



Marquage avant conjugaison (indirect)



Sonde radiomarquée

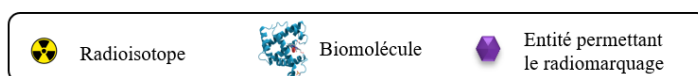


Figure 26. Schématisation des deux stratégies de radiomarquage les plus utilisées

II.3.2.1. Marquage après conjugaison

Dans le cas du marquage après conjugaison, l'introduction de l'isotope radioactif est réalisée directement sur la biomolécule, préalablement fonctionnalisée avec une molécule permettant l'accrochage du radioisotope (figure 26). Dans ce cas, il n'y a aucune contrainte de temps de réaction et par conséquent, toutes les techniques de ligation peuvent être utilisées. Cependant, pour pouvoir réaliser un marquage après conjugaison,

le radioélément doit être introduit dans des conditions douces de température et pH afin de ne pas dénaturer la biomolécule. Ce type de radiomarquage est utilisé classiquement avec les radiométaux mais aussi plus récemment avec le fluor-18 via de nouvelles approches de radiofluoration.

- Marquage par radiométaux après conjugaison

Le marquage par radiométaux nécessite l'introduction préalable d'un chélatant sur la biomolécule pour ensuite pouvoir l'engager dans une réaction de complexation avec le radiométal choisi. Les réactions de chélation des radiométaux se réalisent dans des conditions relativement douces de marquage (figure 26).

Les radiométaux les plus couramment utilisés en imagerie TEP sont : le gallium-68, le cuivre-64 et le zirconium-89. Chaque radiométal nécessite un chélatant adapté afin d'avoir une bonne chélation et une bonne stabilité. La complexation du gallium, par exemple, se réalise souvent par des chélatants de type macrocycles polyazotés (DOTA, NOTA, TETA et NODAGA) (figure 27).^[17,206-208]

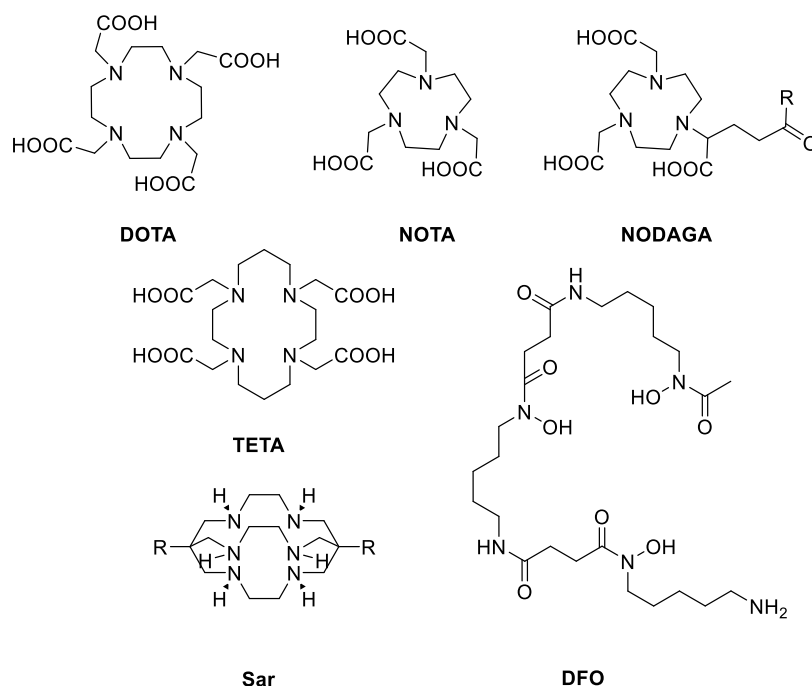


Figure 27. Structure des chélatants les plus utilisées : DOTA, NOTA, TETA, NODAGA, Sar et DFO

Le zirconium-89 est souvent complexé avec le chélatant desferrioxamine B (DFO), une hydroxamine linéaire (figure 27).^[209] Pour la complexation du cuivre-64, différents chélatants macrocycliques bifonctionnels comme le DOTA, le NOTA, le TETA et les sarcophagines hexaazamacrobicycliques (Sar) sont utilisés (figure 27).

Le marquage de biomolécules par les radiométaux est simple, rapide et réalisable en conditions douces. Cependant, malgré le fait que les chélatants utilisés soient de plus en plus performants, les transmétallations et transchélatations *in vivo* sont des phénomènes possibles dus aux interactions non covalentes entre le métal et le chélatant. De plus les radiométaux, comme le gallium-68 par exemple, ont des énergies hautes, ce qui crée des images TEP ayant une mauvaise résolution. Cela fait que l'utilisation du fluor-18 (basse énergie) formant une liaison covalente stable avec la molécule d'intérêt est une approche pertinente.

- Marquage au ^{18}F après conjugaison

Le fluor-18 est le radioisotope le plus utilisé pour l'imagerie TEP, étant donné ses propriétés idéales (demi-vie adaptée, énergie basse, activité molaire haute, liaison covalente). Il est donc particulièrement intéressant pour le marquage de peptides à distribution rapide. Cependant, les radiofluorations classiques se réalisent à des températures élevées (environ 100°C) et en présence d'une base ce qui n'est pas compatible avec les biomolécules. Quelques stratégies de fluoration en conditions douces ont donc été développées afin de réaliser un marquage après conjugaison sans dégrader la biomolécule, cependant ceci reste encore peu développé à l'heure actuelle. Ainsi, un marquage direct au ^{18}F par réalisation d'un échange isotopique $^{19}\text{F}/^{18}\text{F}$ sur des atomes de bore ou silicium, introduits au préalable sur la biomolécule, a été réalisé.^[37,210,211] Un exemple est illustré dans le schéma 7. La biomolécule, fonctionnalisée avec un benzothiophène portant un groupement $\text{Si}-^{19}\text{F}$, est radiomarquée par échange isotopique dans l'acétonitrile en 2 min à 23°C avec du $[^{18}\text{F}]\text{TEAF}$ (fluorure de tétraéthyle ammonium) comme source d'ions fluorure-18. La biomolécule est obtenue avec une activité molaire de 1,18 GBq/ μmol .^[212]

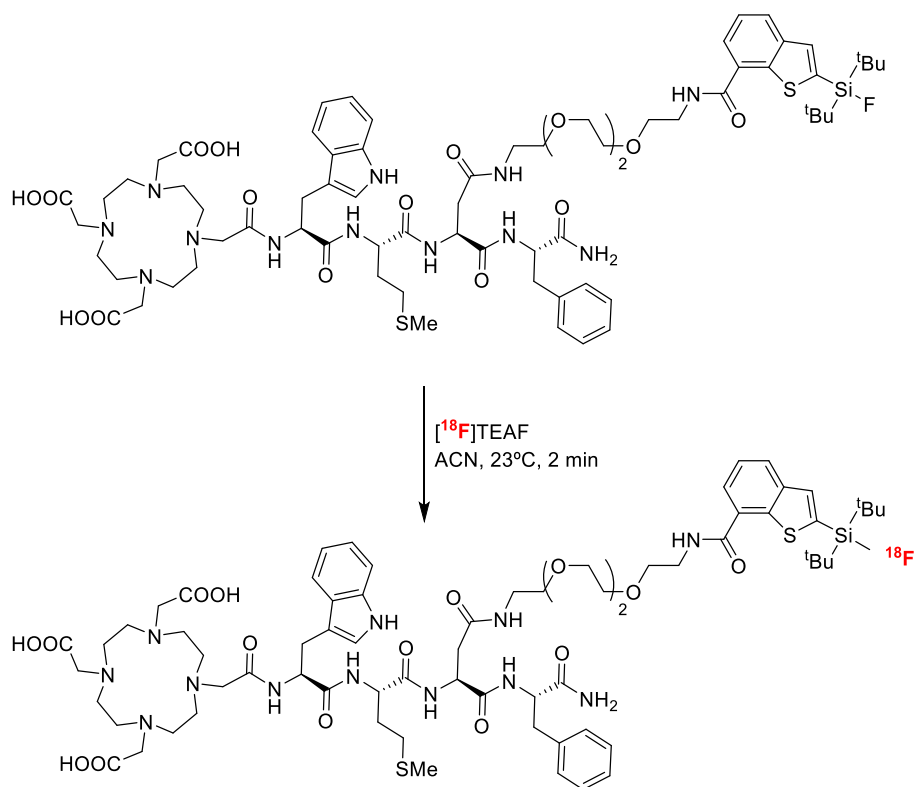


Schéma 7. Marquage direct par échange isotopique $^{19}\text{F}/^{18}\text{F}$

Ce type de radiofluoration se réalise à des températures peu élevées ($< 50^\circ\text{C}$) sans utiliser de base grâce à la forte affinité des ions fluorures envers les atomes de silicium ou de bore. Néanmoins, le problème majeur de cette méthode de marquage est la faible activité molaire obtenue lors de la réalisation d'un échange d'isotopes. De plus, les liaisons F-B et F-Si ne s'avèreraient pas aussi stables que prévu *in vivo* selon la structure de la molécule.^[213,214] C'est pourquoi le marquage avant conjugaison reste la méthode la plus utilisée à ce jour pour la radiofluoration de biomolécules pour des applications en imagerie TEP.

II.3.2.2. Marquage au fluor-18 avant conjugaison

Le marquage au fluor-18 est souvent réalisé par réaction de type S_N afin d'obtenir une liaison covalente stable F-C. Néanmoins, pour la formation de ce type de lien, des conditions plus dures en termes de basicité et température sont nécessaires. C'est pourquoi ces réactions de radiofluoration sont réalisées par une stratégie de marquage avant conjugaison, aussi connue comme approche prosthétique. Cette stratégie consiste à synthétiser une petite molécule (groupement prosthétique) portant un groupement partant permettant le radiomarquage. Ce groupe prosthétique est tout d'abord radiomarqué puis couplé ensuite à la biomolécule en condition douce (figure 26). Etant donné que le

groupelement prosthétique radiofluoré est couplé à la biomolécule dans un second temps, des réactions de ligations rapides de type « click » comme le CuAAC, le IEDDA ou le SPAAC sont nécessaires afin d'obtenir de bons rendements radiochimiques dans des temps courts.

Un exemple de groupelement prosthétique est l'utilisation de dérivés saccharidiques de type C-glycosidique synthétisés dans notre laboratoire.^[215] Collet *et al.* ont développé une méthode automatisée pour le radiomarquage d'un groupelement prosthétique de type C-glycosidique suivi de son couplage avec un peptide modèle (Schéma 8).^[216] Le groupelement prosthétique est fonctionnalisé au préalable avec un groupe partant de type triflate sur l'alcool primaire et une chaîne alkyle avec un azoture sur la position anomérique, afin de réaliser un couplage de type CuAAC avec le peptide. Les autres groupelements hydroxyles du sucre sont protégés avec des groupelements acétates. La radiofluoruration du groupelement prosthétique est réalisé en présence du complexe $K[^{18}F]F-K_{222}$ dans l'acétonitrile à 95°C pendant 5 min. Une fois le composé radiomarqué et purifié par HPLC, les groupelements acétates sont clivés par action d'une solution de NaOH 1M et le composé est ensuite engagé dans une réaction de « Click Chemistry » de type CuAAC. La réaction de cycloaddition est réalisée en 25 minutes à 50°C dans l'eau, en présence de cuivre-II (réduit en cuivre-I par l'ascorbate de sodium présent dans le milieu réactionnel). Le produit final est obtenu après purification par HPLC en 140 min avec un rendement de $3,6 \pm 0,4$ % c.d. et une activité molaire largement supérieure à 25 GBq/ μ mol.

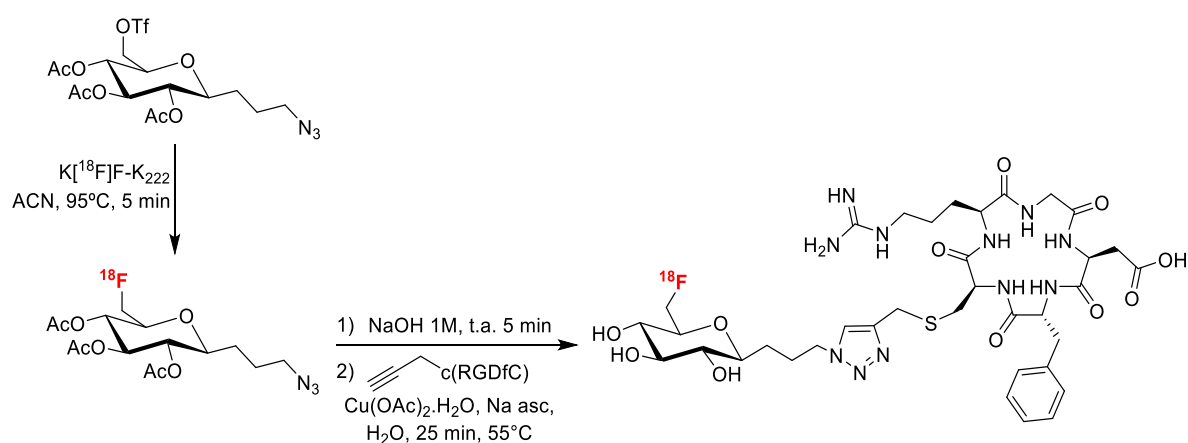


Schéma 8. Radiomarquage du groupelement prosthétique de type C-glycosidique et couplage avec un dérivé de RGD, Collet *et al.*

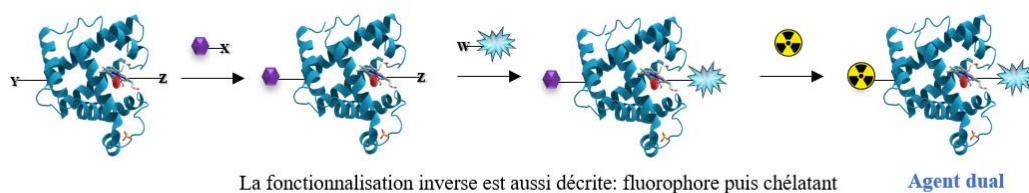
L'approche par marquage avant conjugaison ajoute des étapes de synthèse après le radiomarquage ce qui se traduit par une radiosynthèse plus longue et beaucoup plus

complexe. Cependant, cette méthode permet d'avoir une liaison covalente C-F très stable et des activités molaires plus élevées que lors de la fluoration par échange isotopique. Cette méthode est la méthode la plus répandue pour radiomarquer des biomolécules aux ^{18}F et sera l'approche envisagée pour le développement des sondes duales TEP/FPIR de ce projet.

III. Marquage de biomolécules pour des applications en imagerie bimodale TEP/FPIR

L'utilisation de biomolécules pour l'imagerie bimodale TEP/FPIR requiert l'introduction d'une entité fluorescente et d'une entité radioactive. Pour cette approche bimodale, la contrainte d'utilisation de radioisotopes est toujours présente. L'introduction de ces deux entités de détection est généralement réalisée selon deux approches : l'approche itérative et l'approche *via* une sonde duale (figure 28).

Approche itérative



Approche *via* une sonde duale

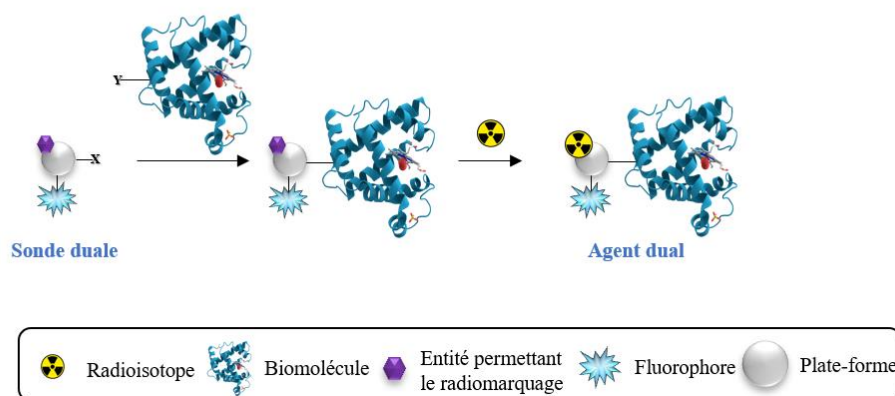


Figure 28. Schématisation des deux stratégies utilisées pour la conception d'agents duaux TEP/FPIR

L'approche itérative (figure 28) consiste à fonctionnaliser la biomolécule en deux temps, avec le fluorophore et l'entité permettant le radiomarquage (chélatant ou précurseur de radiofluoration) pour ensuite réaliser le radiomarquage en conditions douces. L'introduction du fluorophore et de l'entité de marquage est donc réalisée de façon

séquentielle. Dans la plupart des cas, le fluorophore est introduit en deuxième instance à la vue de sa réactivité, afin de limiter les étapes de synthèse avec le composé fluorescent. L'approche itérative est plus simple à mettre en œuvre chimiquement. Le fait d'introduire tous les composants avant le radiomarquage permet d'utiliser les différentes techniques de ligation détaillées dans le tableau 4 sans contraintes liées aux temps de réaction. Ces raisons font que cette approche est la plus utilisée lors de la conception d'un agent dual TEP/FPIR.

Malgré le fait que l'approche itérative soit très répandue car simple à mettre en œuvre lors du marquage bimodale TEP/FPIR d'une biomolécule, elle présente un grand inconvénient : une nouvelle voie synthétique doit être développée pour chaque biomolécule à marquer. Cette approche n'est pas versatile, la solution plus pertinente et modulable pour la synthèse de biomolécules utilisables en imagerie bimodale TEP/FPIR est l'approche via une sonde duale.

Avant de rentrer dans le détail de l'approche *via* une sonde duale, les termes sonde duale et agent dual qui seront utilisés par la suite doivent être définis. Une sonde duale est une plate-forme organique portant le fluorophore et le radioélément (ou une entité permettant son introduction). Quand la sonde duale est couplée à une biomolécule pour former l'objet final qui sera utilisé *in vivo*, ceci sera considéré comme un agent dual.

Le principe de l'approche *via* une sonde duale, repose sur une plate-forme centrale qui porte le fluorophore ainsi que le radioisotope (dénommée sonde duale). De ce fait, l'introduction en dernière instance de la biomolécule permet d'envisager l'utilisation d'une même sonde pour le marquage de différentes biomolécules (figure 28). Un des plus grands inconvénients de cette approche est le travail de synthèse à réaliser pour la construction de la plate-forme portant les deux entités de détection et le groupement réactif nécessaire pour l'accrochage de la biomolécule.

Ces stratégies seront détaillées selon le type de radioisotope utilisé, radiométaux ou fluor-18.

III.1. Marquage par radiométaux

III.1.1. Approche itérative

Les radiométaux sont les radioéléments les plus utilisés pour la construction d'agents duals via l'approche itérative. Cela est dû à la simplicité des réactions de complexation comparées aux réactions de fluoration qui nécessitent la création d'un lien covalent. La littérature montre de nombreux exemples d'agents duals TEP/FPIR, construits par approche itérative, à base d'anticorps marqués avec des radiométaux de longue période comme le zirconium-89 [217,218] ou le cuivre-64. [219,220]

Un exemple de marquage bimodal d'anticorps, par approche itérative, est le traceur TEP/FPIR développé par Luo *et al.* pour le diagnostic du cancer du pancréas (schéma 9). Dans un premier temps, le NOTA (chélatant du cuivre-64) portant un groupement isothiocyanate est couplé à un anticorps hétérodimérique (Fab'het) par un lien de type thiourée. Ensuite, l'hétérodimère portant le NOTA (NOTA-Fab'het), est engagé dans un couplage peptidique avec le dérivé de cyanine ZW800-1, fonctionnalisé avec un groupement NHS, dans le but de former un lien amide. Une fois le précurseur de marquage NOTA-Fab'het-ZW800-1 obtenu, le marquage est réalisé en présence de $[^{64}\text{Cu}]\text{CuCl}_2$. [221]

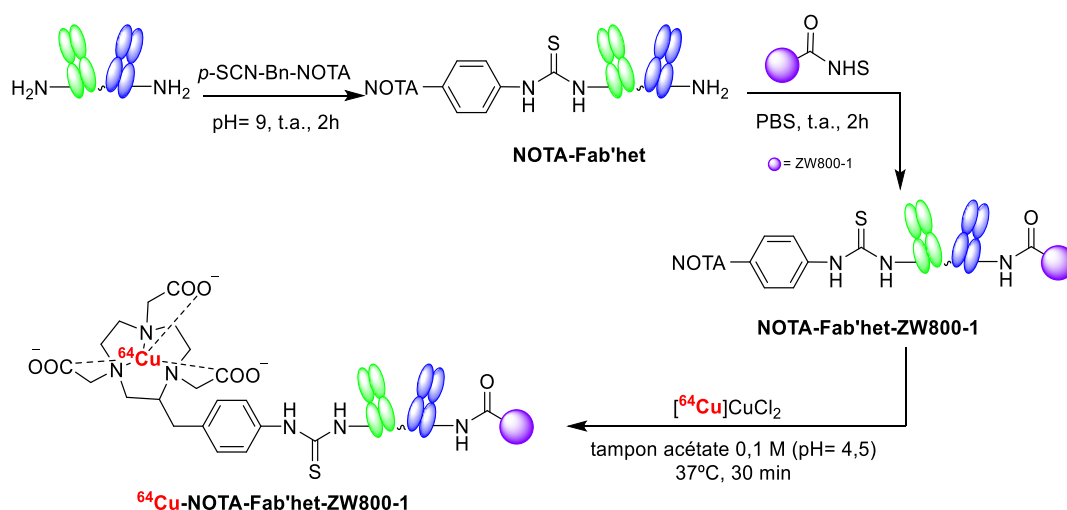


Schéma 9. Approche itérative pour le marquage $^{64}\text{Cu}/\text{ZW800-1}$ d'un fragment d'anticorps hétérodimérique développé par Luo *et al.*

En plus des anticorps, de nombreux peptides ou polysaccharides ont également été marqués par approche itérative, avec le gallium-68 [222,223] qui a une période plus courte mais aussi avec le cuivre-64. [224,225]

La voie synthétique inverse, c'est-à-dire l'introduction du fluorophore sur la biomolécule puis le chélatant, est moins décrite dans la littérature.^[226,227]

III.1.2. Approche *via* une sonde duale

Plusieurs façons pour construire des sondes duales marquées avec des radiométaux sont publiées dans la littérature. Quelques exemples montrent l'utilisation d'un chélatant comme plateforme, bifonctionnalisé pour l'accrochage du fluorophore puis de la biomolécule par des réactions de type amidation ou CuAAC.^[128,228] Le fluorophore peut aussi être utilisé de la même manière pour l'ancrage du chélatant puis de la biomolécule.^[229,230]

La littérature décrit aussi des exemples où de petites molécules comme des amino acides sont utilisés comme plate-formes. Cela permet de profiter des motifs acide carboxylique et amine comme fonctions d'accrochage pour les deux entités de détection et la biomolécule.^[231] Mulder *et al.* utilisent l'acide glutamique comme plate-forme sur laquelle le chélatant et le fluorophore sont accrochés par réactions d'amidation consécutifs et sélectifs entre des amines et des acides carboxyliques (fonctionnalisés sous forme d'ester activé). Un dérivé de RGD est ensuite couplé à la sonde duale (schéma 10). Une fois l'agent dual synthétisé, l'introduction du zirconium-89 est réalisée dans des conditions classiques. Ce traceur a été testé *in vitro*, pour déterminer l'affinité vis-à-vis des intégrines $\alpha_v\beta_3$ et *in vivo* sur des souris portant des tumeurs colorectales humaines (HT29-luc2). Le marquage au zirconium-89 n'a montré aucune influence sur la fluorescence du fluorophore qui conserve son signal 168h après injection.

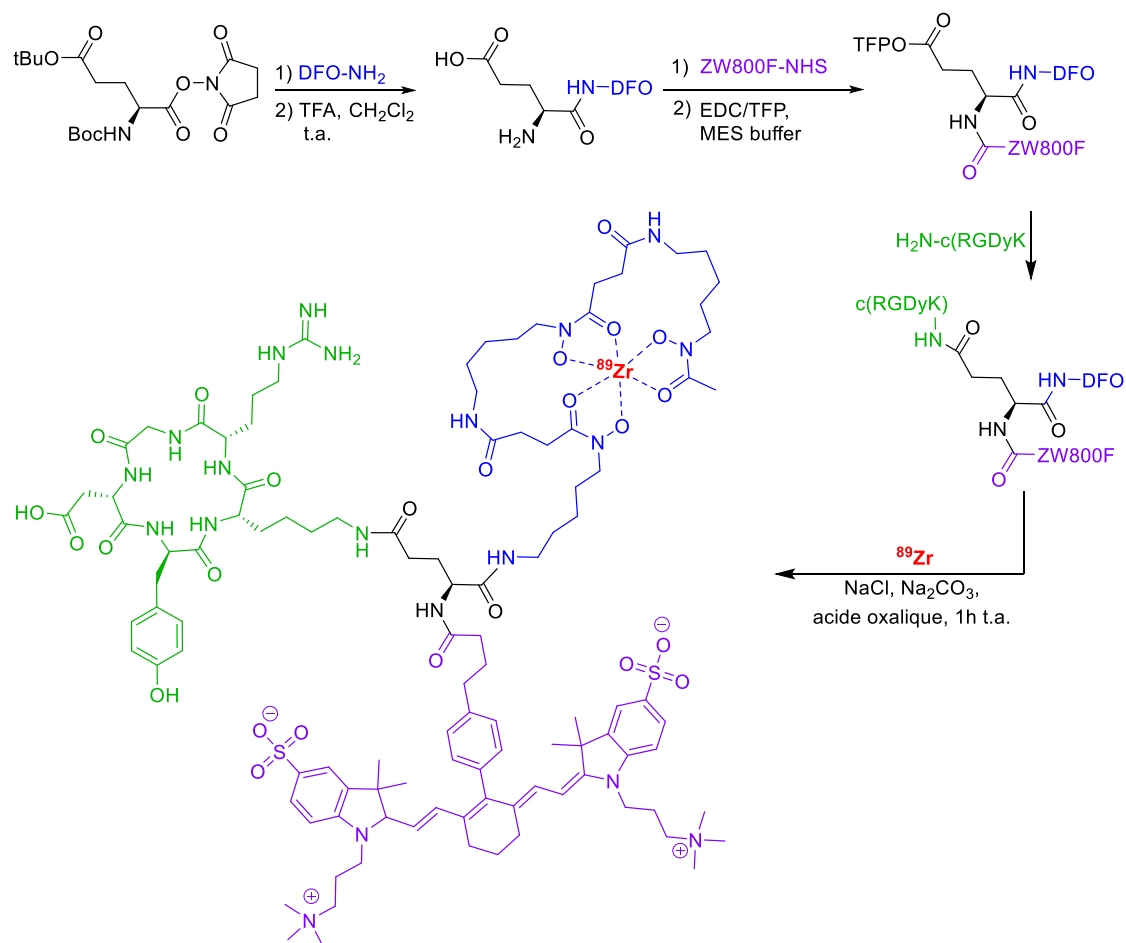


Schéma 10. Synthèse par approche via sonde duale de l'agent $^{89}\text{Zr}/\text{ZW800F}$ de Mulder *et al.*

Les inconvénients inhérents à l'utilisation des radiométaux notamment la possibilité de perte du radioélément *in vivo* est aussi problématique dans le cas d'une sonde duale.

III.2. Marquage au fluor-18

III.2.1. Approche itérative

Le marquage de biomolécules par approche itérative avec le fluor-18 est beaucoup moins répandu que le marquage avec les radiométaux. Ceci est dû à la complexité des radiofluorations qui utilisent souvent des conditions dures pour la création des liens F-C. Des méthodes de radiofluoration en conditions douces sont nécessaires dans cette approche pour ne pas dénaturer la biomolécule. Comme explicité précédemment ces méthodes sont encore peu courantes et généralement limitées à la formation de liaison F-Si ou F-B.

La façon, la plus répandue dans la littérature, pour la radiofluoruration d'une biomolécule par l'approche itérative est le marquage au fluor-18 par échange isotopique $^{19}\text{F}/^{18}\text{F}$ avec des groupements BF_3 .^[232–235] Guo *et al.* ont marqué, dans un premier temps, le pseudo-peptide inhibiteur du PSMA avec un dérivé de cyanine (Cy3) par un couplage de type peptidique entre l'amine libre de la biomolécule et le groupement COOH de la cyanine. Ensuite, le deuxième acide carboxylique de la cyanine est fonctionnalisé avec un bras portant un azote puis les groupements protecteurs de la biomolécule sont clivés par action du TFA. L'ammonium contenant le groupement BF_3 (AMBF_3), fonctionnalisé avec un alcyne, est introduit par réaction de type CuAAC pour fournir le précurseur de marquage. La radiofluoruration est finalement réalisée en conditions douces en présence d'ions fluorures à 90°C en 15 min (schéma 11).^[166,236]

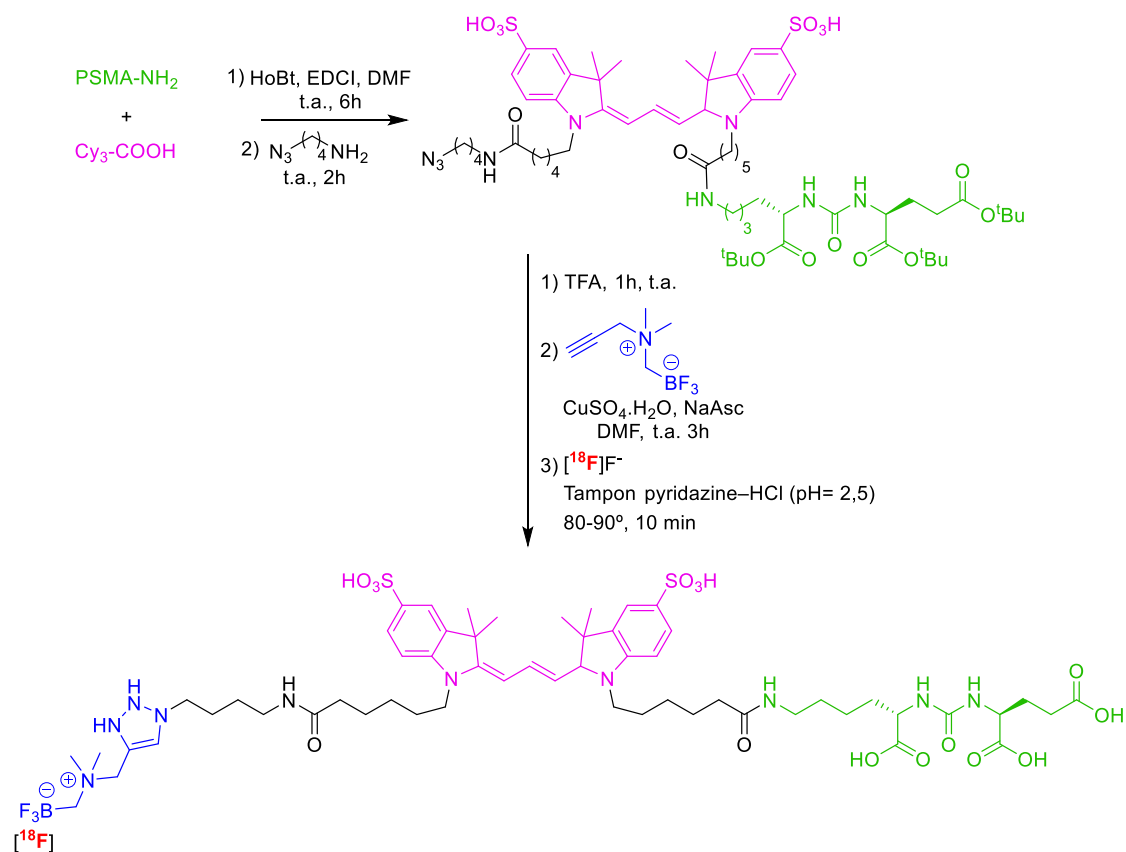


Schéma 11. Approche itérative pour le marquage $^{18}\text{F}/\text{Cy3}$ du RGD développé par Guo *et al.*

III.2.2. Approche via une sonde duale TEP/FPIR

Peu de sondes duales TEP/FPIR radiomarquées au ^{18}F ont été développées dans la littérature. Après une recherche exhaustive, on peut dénombrer 20 publications. Un grand nombre de ces publications montrent la conception de sondes duales non couplées à des

biomolécules soit comme preuve de concept^[237,238] soit car la sonde est capable de cibler le marqueur par elle-même.^[164,239–246] La grande majorité des exemples traite de sondes duales radiomarquées au fluor-18 par échange isotopique $^{19}\text{F}/^{18}\text{F}$ sur un atome de bore comme méthode de radiofluoration. Cette méthode est réalisable en conditions douces, ce qui permet de réaliser le marquage après le couplage de la biomolécule. Les plateformes les plus utilisées dans la littérature sont les fluorophores de type BODIPY qui portent justement des liaisons B-F qui permettent de réaliser l'échange isotopique.^[94,213,247,248]

Un exemple de traceur TEP/FPIR développé par cette approche est celui de Liu *et al.* (Schéma 12). A partir du dérivé BODIPY@FL ($\lambda_{\text{ém}} = 512 \text{ nm}$), une réaction d'acylation entre l'amine libre du résidu lysine de la c(RGDyK) et le groupement NHS du fluorophore en présence de DIPEA à température ambiante est réalisée. Une fois le fluorophore couplé au peptide (BODIPY@FL-RGD), une réaction de radiofluoration par échange isotopique assisté par la présence de SnCl_4 est réalisée. Le composé final ($[^{18}\text{F}]\text{BODIPY@FL-RGD}$) est obtenu avec un rendement radiochimique de 80% c.d.^[90]

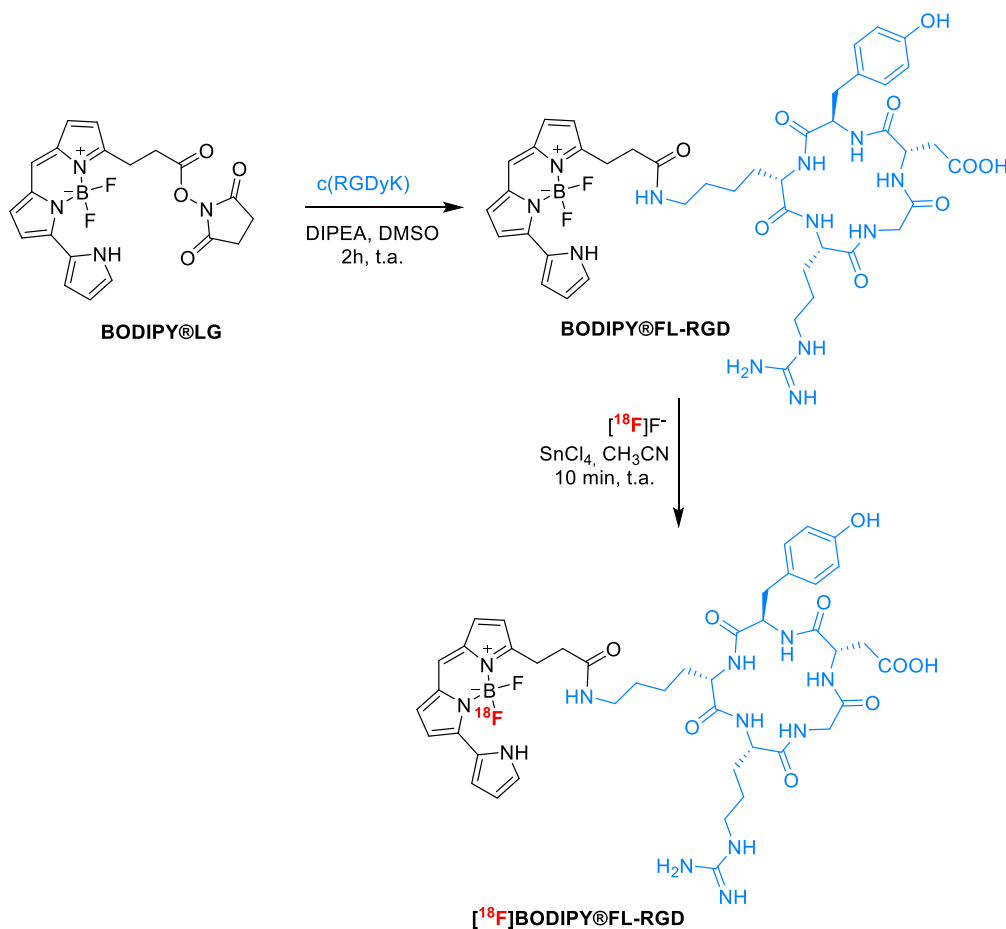


Schéma 12. Couplage du BODIPY avec un dérivé de RGD puis ^{18}F -fluoration développé par Liu *et al.*

Cependant, il a été prouvé que l'activité molaire maximale pour le marquage des BODIPYs est de 2.7 GBq/ μ mol, ce qui est bien en-dessous des traceurs comme le [^{18}F]FDG qui a une activité molaire de 370 GBq/ μ mol.^[249]

Les BODIPYs sont les exemples les plus développés, mais d'autres plate-formes duales ont été marquées au ^{18}F . Ainsi, des fluorophores de type cyanine modifiés avec un groupement portant un bore et une fonction d'accrochage pour la biomolécule ont également été décrits.^[250] Rodriguez *et al* ont utilisé cette approche pour le marquage dual d'anticorps (schéma 13).^[139] L'heptacyanine IR-783, fonctionnalisée avec un boronate et un groupement NHS, est engagée dans un couplage peptidique avec un des résidus amine de l'anticorps (mAb). Cette réaction est réalisée en présence de 4-méthylmorpholine (NMM) dans le DMSO à température ambiante pendant une heure. Une fois la biomolécule conjuguée à la plate-forme, le marquage au ^{18}F de l'atome de bore est réalisé. Pour cela, le IR-783-mAb est mis en présence d'une solution aqueuse de HCl (1M) contenant des $^{18}\text{F}^-$, ce qui permet de libérer le composé du support solide en créant un trifluoroborate marqué au ^{18}F après 82 min de réaction avec une activité molaire de 5,92 GBq/ μ mol.

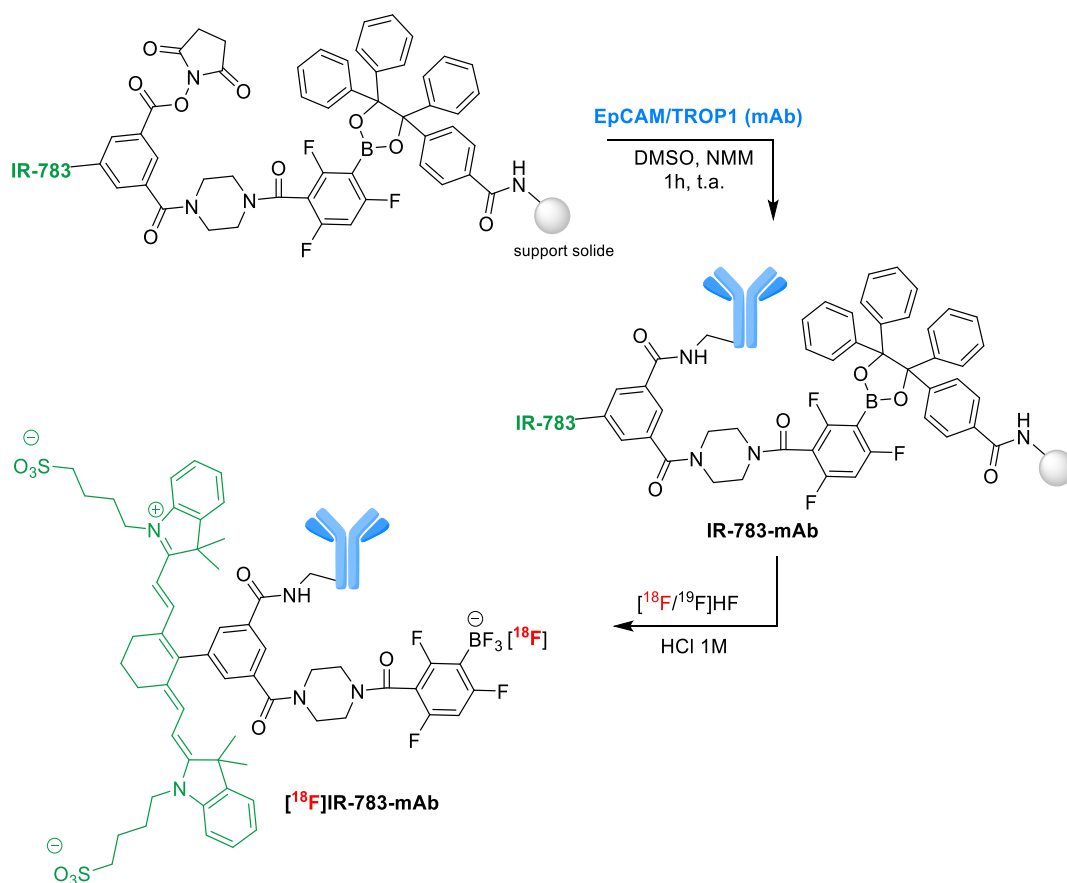


Schéma 13. Synthèse *via* sonde duale de l'agent dual Anticorps- ^{18}F /IR-783 de Rodriguez *et al.*

Une autre plate-forme totalement différente est celle décrite par Liu *et al.* Dans cet exemple le pentaérythritol fonctionnalisé avec trois propargyles et un groupement *N,N*-diméthylaminoéthyle (schéma 14) a été utilisé. A partir de ce composé, ils ont introduit dans un premier temps l'entité de marquage BF_3 par réaction de l'amine avec le pinacol borane suivie d'une fluoration du bore avec KF . Puis, par chimie « click » de type CuAAC, un fluorophore de type Rhodamine a été introduit pour fournir la sonde duale. Deux peptides RGD ont par la suite été couplés par CuAAC sur la sonde. Une fois l'agent synthétisé, le marquage a été réalisé sur l'atome de bore en conditions classiques en présence d'anions fluorures, dans un mélange DMF/tampon ($\text{pH} = 2$) à 85°C pendant 20 min. Après vérification de l'affinité du traceur *in vitro*, l'imagerie TEP *in vivo* de souris portant des tumeurs U87 (glioblastomes) ainsi que l'imagerie optique par FPIR *ex vivo* des organes ont été réalisées. Les résultats obtenus ont montré une meilleure accumulation dans la tumeur (10 fois supérieure) de ce traceur portant deux RGD comparé à son équivalent ne portant qu'un seul RGD synthétisé par les mêmes auteurs.^[251] Ceci montre de plus l'intérêt de la multivalence.

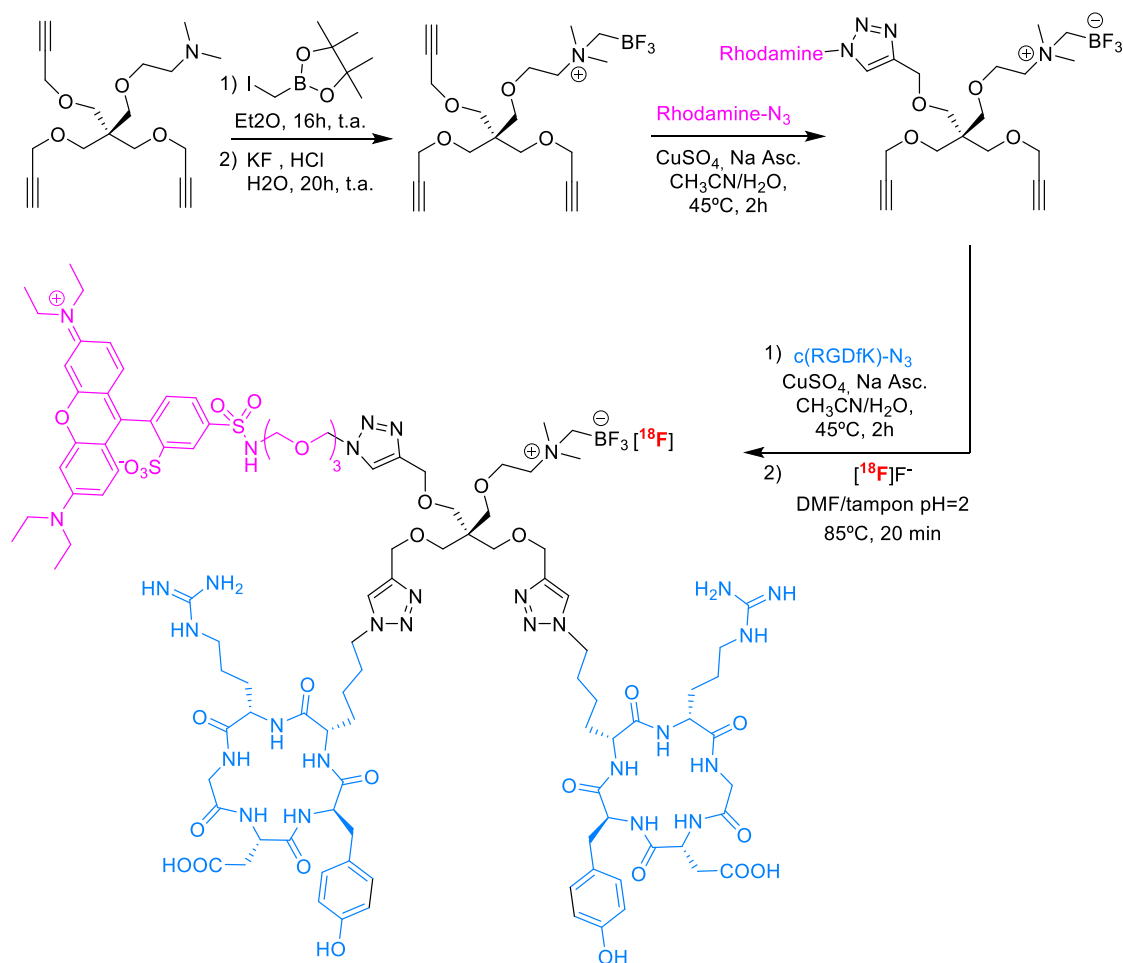


Schéma 14. Synthèse de la sonde duale ¹⁸F-TEP/FPIR pour le marquage de RGD de Liu *et al.*

Cette stratégie de radiofluoration via échange isotopique est effectuée en conditions douces et permet de réaliser le marquage en présence de la biomolécule. Cependant les activités molaires observées lors de cet échange restent basses ce qui peut être problématique en imagerie. De plus, même si la liaison bore-fluor est une liaison stable, Carlucci *et al.* ont observé une certaine instabilité de la liaison *in vivo*.^[213]

La liaison F-C est la plus stable *in vivo* et correspond à la stratégie de marquage qui donne les meilleurs résultats en termes d'activité molaire. Néanmoins, la formation de ce lien nécessite des conditions dures de radiofluoration et donc la réalisation du marquage avant couplage de la biomolécule. Cette stratégie de marquage est plus compliquée à mettre en œuvre puisqu'elle nécessite plusieurs étapes de synthèse après radiomarquage. C'est pour cela qu'à ce jour, aucune sonde duale TEP/FPIR avec un lien ¹⁸F-C couplée à une biomolécule n'a été publiée.

Seules deux plate-formes « preuve de concept » marquées au ^{18}F via création d'une liaison C-F ont été décrites mais elles n'ont pas été accrochées par la suite à une biomolécule. [237,238] L'équipe de Renard a été la première à publier en 2015 la synthèse de la première sonde duale TEP/FPIR « preuve de concept » avec une liaison ^{18}F -C. [252] Une fois la plate-forme radiofluorée en présence de $\text{Cs}[^{18}\text{F}]\text{F-K}_{222}$ dans l'isopropanol à 90°C pendant 10 min, l'ester *tert*-butylique est clivé puis l'acide est activé sous forme d'ester de NHS. Le composé $[^{18}\text{F}]\text{-NHS}$ est engagé dans une réaction d'amidation avec la cyanine 5.5 amino amide dans l'acétonitrile à température ambiante pendant 1 min (schéma 15). Après radiofluoruration puis couplage avec la cyanine, la sonde duale est obtenue avec un rendement de 35 à 45% c.d.. Au vu des résultats de radiomarquage obtenus, ce composé présente un grand potentiel pour le marquage de biomolécules, même si elle ne présente pas de fonction permettant leur accrochage.

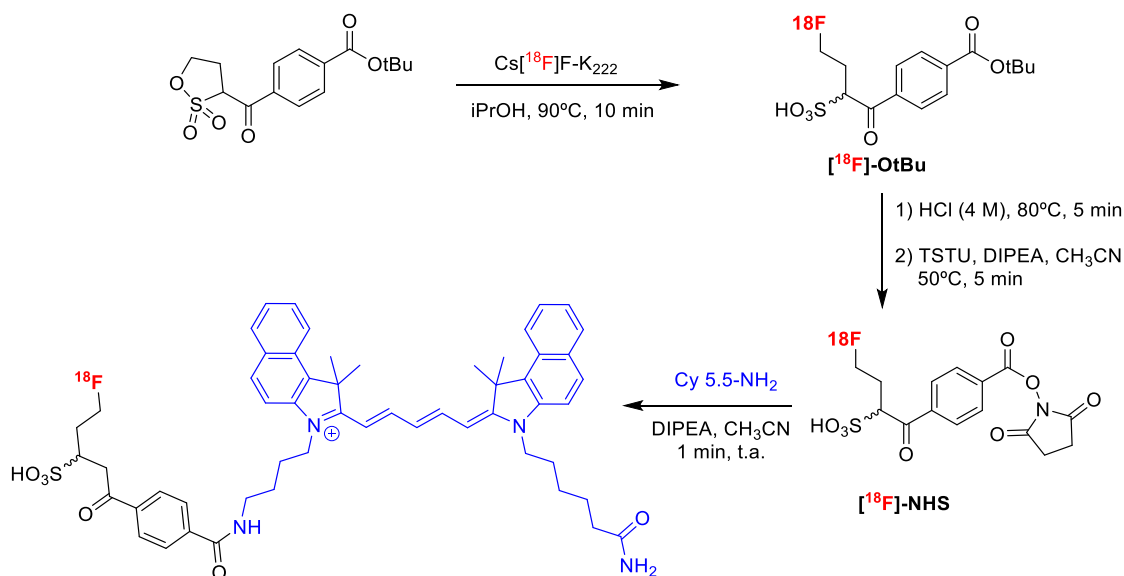


Schéma 15. Marquage au fluor-18 de la cyanine 5.5 développé par Priem *et al.*

Plus récemment, Damont *et al.* (2017) ont développé une sonde duale TEP/FPIR où le fluor-18 est introduit par liaison covalente F-C. [242,253] Ils ont construit une plate-forme de type avidine qui est couplée par interaction avidine/biotine (une des interactions non covalentes les plus stables) avec la sonde fluorescente (AlexaFluor-680) et la sonde radioactive (de type fluoropyridine) fonctionnalisées toutes deux avec des unités biotine.

La presque totalité des exemples d'agents duaux de la littérature réalisent un marquage après conjugaison. Ceci est possible car comme montré précédemment, les sondes publiées utilisent des radiométaux ou le fluor-18 introduit par échange isotopique (conditions douces de marquage). Néanmoins pour la création d'un lien F-C cette

stratégie n'est pas applicable car les conditions de radiofluoration sont beaucoup plus dures. C'est pourquoi, dans le but de créer une liaison stable ^{18}F -C présentant une haute activité molaire, la stratégie envisagée lors de ce projet de thèse est inédite et consistera en la synthèse d'une sonde duale saccharidique radiomarquée avant conjugaison de la biomolécule (figure 29).

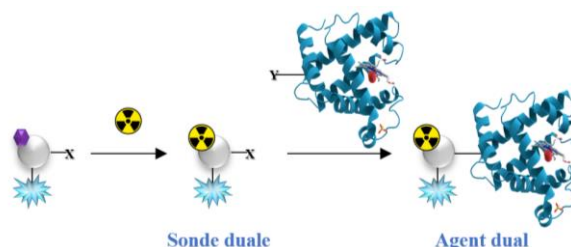


Figure 29. Stratégie utilisée lors de cette thèse pour le radiomarquage de la sonde duale

Le fait de réaliser le radiomarquage au préalable permet d'utiliser les conditions réactionnelles optimales à la création de la liaison F-C (température élevée et milieu basique) sans risque de dégrader la biomolécule. Une fois le fluor introduit sur la sonde duale, celle-ci est couplée à la biomolécule en utilisant une technique de ligation rapide.

Parmi les différents composés saccharidiques connus, les dérivés C-glycosidiques ont été choisis comme plate-forme d'accrochage des différents éléments constituant l'agent dual (fluorophore, radioisotope et biomolécule). Quelques méthodes de synthèse ainsi que quelques exemples d'applications de ces dérivés C-glycosidiques seront exposés dans le paragraphe suivant.

IV. Dérivés de type C-glycosidiques : synthèse et intérêt pour des applications biologiques *in vitro* et *in vivo*

Les dérivés saccharidiques sont des composés polyfonctionnels, facilement fonctionnalisables et ayant une faible toxicité. Parmi les différents dérivés saccharidiques, les composés C-glycosidiques sont stables *in vivo* et sont ainsi utilisés et développés pour des applications biologiques.^[254-256] En effet, l'absence d'oxygène sur la position anomérique fait que ces dérivés saccharidiques ne sont plus reconnus par les glycosidases (enzymes responsables de la lyse de la liaison O-glycosidique), ce qui permet d'éviter leur dégradation. Dans ce paragraphe nous allons nous concentrer sur leurs méthodes de synthèse et leurs principales applications, puis les objectifs de la thèse seront présentés.

IV.1. Principales méthodes de synthèse des dérivés C-glycosidiques

Il existe diverses méthodes d'accès aux dérivés C-glycosidiques, par exemple à partir de radicaux de sucres en position anomérique (dérivé saccharidique mis en présence d'un initiateur de radicaux et d'un carbone électrophile), ou impliquant des réarrangements de précurseurs saccharidiques, ou encore par cyclisation de dérivés non cycliques.^[257–259] Cependant, nous avons opté pour la description, des quatre méthodes les plus couramment utilisées mettant en œuvre un *exo*-glycal, un sucre nucléophile, un sucre électrophile ou encore utilisant des métaux de transition.^[257,258,260,261]

IV.1.1. Synthèse de dérivés C-glycosidiques à partir d'*exo*-glycals

Les dérivés de type *exo*-glycal sont des dérivés saccharidiques de type C-glycosidique qui possèdent une double liaison *exo*-cyclique en position anomérique. Cette double liaison permet, par simple réduction, d'accéder au dérivé C-glycosidique correspondant. La chimie des *exo*-glycals a été largement développée depuis la découverte en 1984 de deux méthodes de synthèse directe de ces composés à partir des lactones de sucres : la réaction de Wittig et la réaction avec le réactif de Tebbe. Depuis, d'autres méthodes de synthèse comme l'oléfination de Julia ont aussi été développées. Yves Chapleur et son groupe ont largement contribué à la synthèse de dérivés de type C-glycosidique mettant en œuvre un *exo*-glycal et c'est la méthode la plus utilisée au laboratoire pour accéder à ce type de dérivés.

IV.1.1.1. Synthèse d'*exo*-glycals

- Réaction de Wittig

La mise au point et le développement de la synthèse d'*exo*-glycals à partir de lactones de sucres a été réalisée par Chapleur *et al.* en 1984 (schéma 16).^[262] La première oléfination décrite permettait d'obtenir des lactones dichlorées à partir de 1,4-lactones en présence de tétrachlorure de carbone de tris(diméthylamino)phosphine à basse température.^[262–264] Dans un premier temps, cette méthode était seulement applicable aux lactones portant un groupement protecteur de type isopropylidène (2,3-isopropylidène). Cependant, l'optimisation de cette méthode, par l'utilisation de la triphénylphosphine et du tétrachlorure de carbone dans le THF à reflux, a permis d'élargir le panel de lactones fonctionnalisables.^[265,266] La synthèse d'oléfines dibromées a aussi été mise au point afin de profiter par la suite de la meilleure réactivité de la liaison C-Br par rapport à la liaison

C-Cl. L'obtention de ces dibromo-oléfines met en jeu un phosphorane dibromé formé *in situ* à partir de bromure de bromométhylphosphorane et du *tert*-butanolate de potassium. Grâce à ce système, une série d'*exo*-glycols dibromés furano- et pyranose ont été synthétisés.^[267]

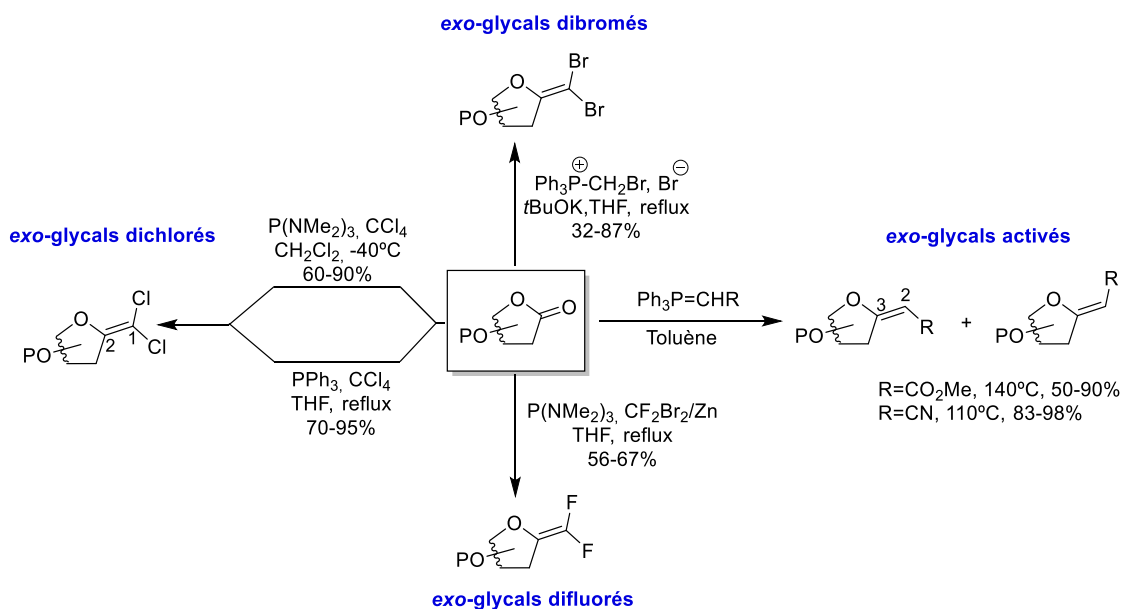


Schéma 16. Oléfination par la réaction Wittig

La synthèse d'*exo*-glycols difluorés a aussi été développée par Motherwell *et al.* en 1989.^[268] Les difluoro *exo*-glycols ont été obtenus par réaction de la lactone avec la tris(méthylamino)phosphine en présence de dibromodifluorométhane et de zinc dans le THF à reflux. Quelques années plus tard, en 1996, Lakhri *et al.* (équipe de Yves Chapleur) ont mis au point la synthèse d'*exo*-glycols à partir de phosphoranes stabilisés dans le toluène à 140°C en réacteur fermé pendant 16h.^[269] Ces *exo*-glycols présentent une substitution « push-pull » liée à la présence d'un groupement électroattracteur en position C-2 et d'un oxygène en position C-3, appelés communément *exo*-glycols activés. La synthèse d'*exo*-glycols activés tolère l'utilisation de plusieurs groupements protecteurs comme les éthers de benzyle, les acétals, les éthers silylés ou encore quelques esters d'acétate (en position primaire loin du carbonyle qui réagit).^[270] Cette méthode a été utilisée par notre laboratoire pour la synthèse de différents *exo*-glycols qui ont conduit à des dérivés C-glycosidiques ou C,C-glycosidiques utilisés pour différentes applications.^[271-274] A cette époque, une autre équipe a également mis au point cette synthèse d'*exo*-glycols activés en parallèle de l'équipe de Yves Chapleur.^[275,276]

- Réaction avec le réactif de Tebbe ou le réactif de Petasis

La synthèse d'un *exo*-glycal à partir du réactif de Tebbe a été décrite par Wilcox *et al.* en 1984 (schéma 17a).^[277] L'oléfination par le réactif de Tebbe est applicable à la synthèse de furano- ou pyrano-*exo*-glycals.^[278,279] Un autre moyen d'accéder à des méthylène *exo*-glycals a aussi été la réaction d'une lactone de sucre avec le réactif de Petasis dans le toluène à reflux (schéma 17b).^[280] La double liaison formée, bien qu'elle ne soit pas fonctionnalisée, permet une fonctionnalisation ultérieure de façon efficace par des couplages de type Suzuki ou Heck.^[281,282]

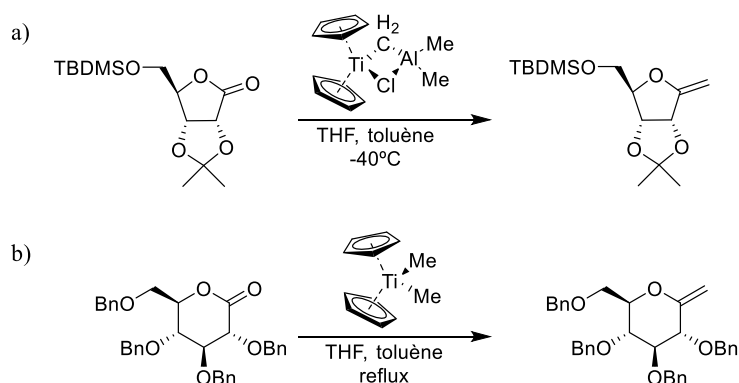


Schéma 17. Oléfination par a) le réactif de Tebbe ; b) le réactif de Petasis

- Oléfination de Julia

Plus récemment, en 2008, Gueyrard *et al.* ont développé une méthode qui permet d'accéder, *via* le réactif de Julia, à des *exo*-glycals fonctionnalisés par des alkyles (linéaires ou cycliques).^[283,284] L'emploi d'un réactif de Julia, préalablement modifié, a récemment permis d'élargir cette méthode à la synthèse d'*exo*-glycals mono- ou difluorés.^[285-287] Cette méthode d'oléfination est applicable à des lactones saccharidiques à 5 et 6 chaînons, ce qui permet d'obtenir des *exo*-glycals tri ou tétrasubstitués avec des rendements moyens à très bons,.

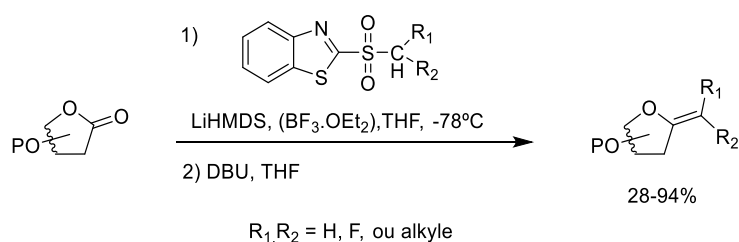


Schéma 18. Oléfination par le réactif de Julia

IV.1.1.2. Synthèse de dérivés C-glycosidiques par réduction d'*exo*-glycals

La réduction de la double liaison *exo*-cyclique pour former le lien C-H permet d'accéder au dérivé C-glycosidique correspondant. La réactivité vis-à-vis de cette réduction des *exo*-glycals en configuration *gulo* a été largement étudiée au laboratoire.

La réduction des *exo*-glycals halogénés est réalisée en présence de Nickel de Raney fraîchement préparé (schéma 19a). L'*exo*-glycal dichloré est réduit en présence du catalyseur et d'une atmosphère d'hydrogène pour obtenir le composé méthylé.^[262] Cependant pour la réduction de l'*exo*-glycal monobromé, une pression de 10 bars d'hydrogène est nécessaire pour obtenir le dérivé C-glycosidique correspondant.^[288]

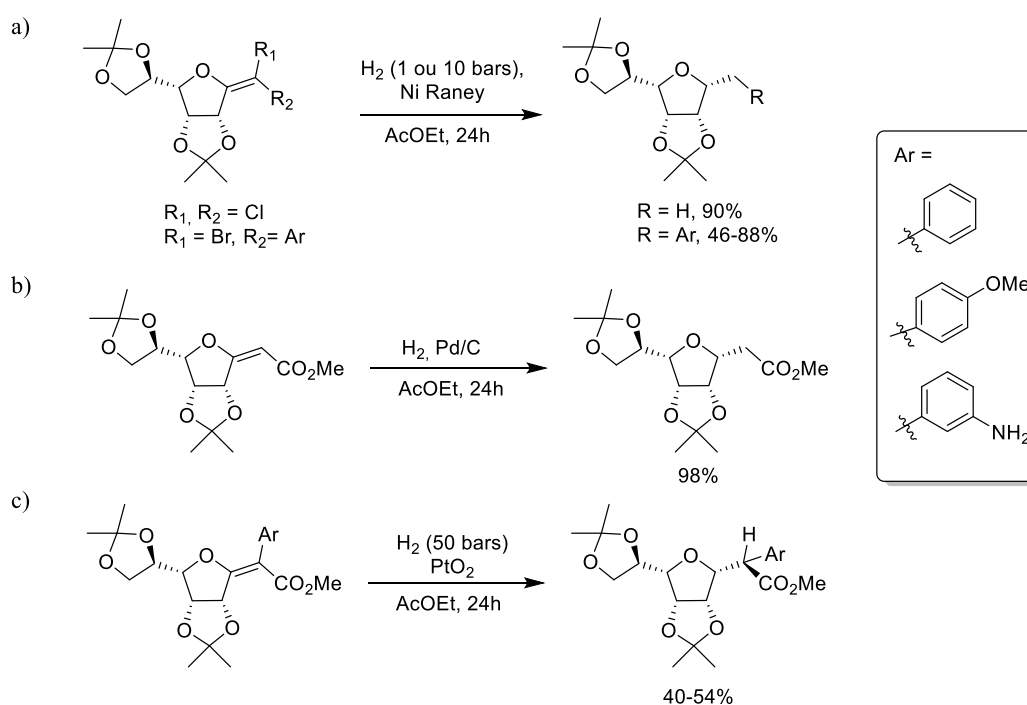


Schéma 19. Réduction des *exo*-glycals a) halogénés ; b) trisubstitués ; c) tétrasubstitués

Les *exo*-glycals activés trisubstitués sont réduits en présence de catalyseurs palladiés sous atmosphère d'hydrogène, ce qui conduit aux dérivés C-glycosidiques attendus avec des très bons rendements (schéma 19b).^[289] Néanmoins, la réduction des *exo*-glycals tétrasubstitués nécessite l'utilisation d'oxyde de platine et une pression élevée d'hydrogène (50 bars). La réduction de ces derniers conduits à la formation d'un carbone asymétrique en position C-2 (schéma 19c).^[290]

L'expertise du laboratoire en synthèse d'*exo*-glycols activés (fonction ester) et leur hydrogénation par catalyse au palladium a été mis à profit pour la synthèse du dérivé *C*-glycosidique utilisé comme plate-forme pour la conception de l'agent dual de cette thèse.

IV.1.2. Synthèse de dérivés *C*-glycosidiques à partir de sucres électrophiles

La synthèse de dérivés *C*-glycosidiques à partir de sucres électrophiles est une des méthodes les plus répandues (schéma 20). A partir d'un dérivé saccharidique protégé ou un glycol (dérivé saccharidique de type énol éther portant une double liaison intracyclique entre le carbone anomérique et le carbone 2), l'utilisation d'un promoteur permet la formation d'un carbocation intermédiaire en position anomérique ou de conférer un caractère électrophile à cette position, ce qui va lui permettre de réagir avec un substrat de caractère nucléophile. Le type de carbocation intermédiaire, qui détermine le type de réaction (S_N1 ou S_N2), est fortement influencé par le solvant utilisé. Un large panel de groupements introduits en position anomérique permet ce type de réactions : acétate, halogène, hydroxyle, méthoxy, sulfone etc. En ce qui concerne les nucléophiles, les plus utilisés sont des dérivés de type organométallique (organozincique et organomagnésien), des dérivés silylés et hétéroaromatiques.^[258,261]

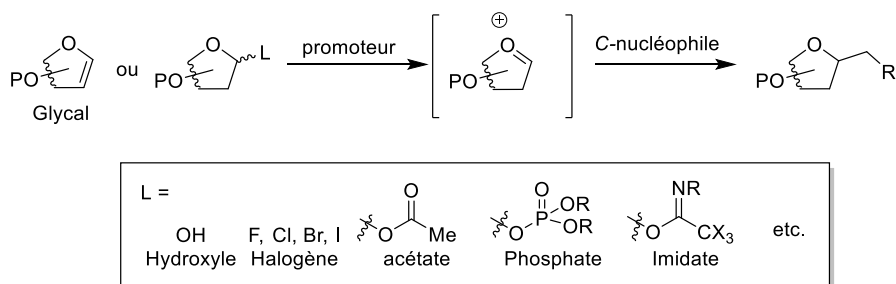


Schéma 20. Synthèse de dérivés *C*-glycosidiques à partir de sucres électrophiles

Les dérivés saccharidiques halogénés en position anomérique peuvent être activés par un acide de Lewis ou de Brønsted pour former l'ion oxocarbénium électrophile. Ce carbocation réagit par un mécanisme de type S_N1 avec un carbone nucléophile pour former le dérivé *C*-glycosidique. Zeng *et al.* ont optimisé les conditions réactionnelles pour la synthèse d'un large panel de dérivés *C*-glycosidiques.^[291] Les dérivés saccharidiques fluorés sont mis en présence de différents organotrifluoroborates de potassium (de type phényle, alcyne etc.) et de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ pour conduire au dérivé *C*-glycosidique correspondant. Une fois les conditions optimisées, les auteurs ont utilisé cette réaction pour la synthèse du (+)-Varitriol (schéma 21),^[291] un composé naturel isolé

du champignon *Emericella Variecolor* qui présente des activités antiprolifératives intéressantes.^[292]

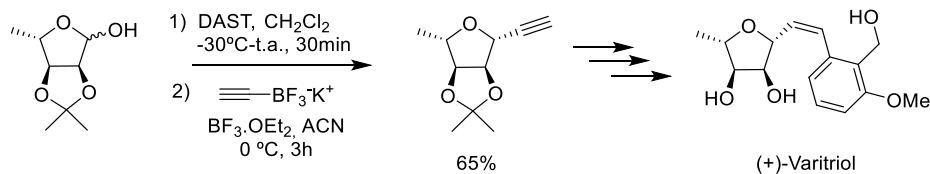


Schéma 21. Synthèse du (+)-Varitriol par un sucre électrophile halogéné

Les groupements acétates sont également utilisés comme groupe partant pour la formation de dérivés *C*-glycosidiques. Fujioka *et al.* décrivent la synthèse de différents dérivés *C*-glycosidiques par couplage d'un organozincique catalysé par le TMSOTf et des pyridines substituées en position 2.^[293] Le dérivé saccharidique protégé par des groupements benzyle et fonctionnalisé avec un acétate en position anomérique est mis en présence de TMSOTf et de 2-méthoxypyridine dans le dichlorométhane à 0°C. Dans cette première étape, un intermédiaire de type sel de pyridinium de configuration β est formé. Lors de l'ajout de dipénylzinc, l'intermédiaire réagit pour donner le dérivé *C*-glycosidique majoritairement de configuration α (schéma 22).

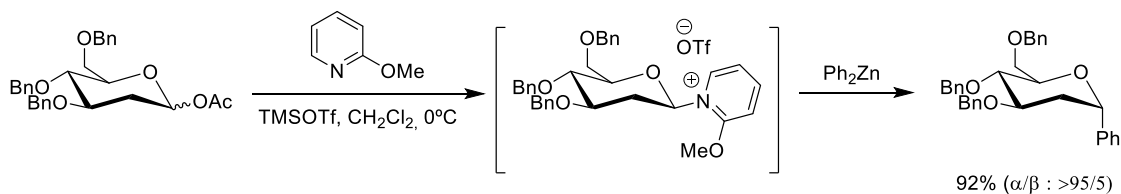


Schéma 22. Synthèse d'un dérivé *C*-glycosidique à partir d'un *O*-glycoside acétylé électrophile

Un autre groupement couramment utilisé lors de la synthèse de dérivés *C*-glycosidiques *via* des sucres électrophiles est l'imidate. Hungerford *et al.* ont synthétisé la (+)-Showdomycine (un antibactérien naturel) avec cette méthode.^[294] Le dérivé *O*-glycoside fonctionnalisé par un trichloroacétimidate est mis en présence d'un acide de Lewis ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) qui va activer le départ de l'imidate pour former le carbocation. Ce dernier va réagir avec l'imidazole protégé avec un TIPS pour donner le dérivé *C*-glycosidique correspondant majoritairement de configuration α . Ce composé est ensuite engagé dans une séquence réactionnelle pour donner la (+)-Showdomycine (schéma 23).

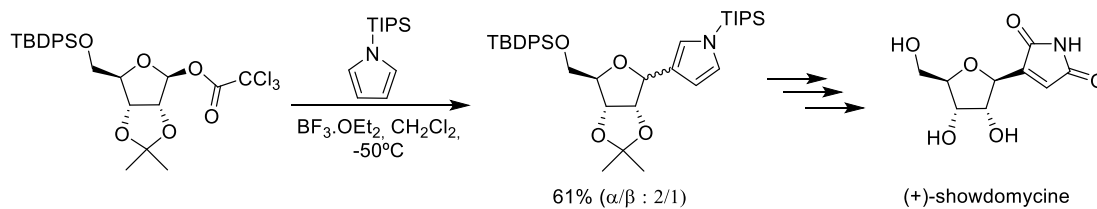


Schéma 23. Synthèse de la (+)-Showdomycine à partir d'un sucre portant un groupement imidate électrophile

IV.1.3. Synthèse de dérivés C-glycosidiques à partir de sucres nucléophiles

Une autre méthode pour accéder à un dérivé C-glycosidique est l'utilisation de sucres nucléophiles. Le dérivé saccharidique est mis en présence d'une base ou en conditions permettant la formation d'un carbanion anomérique réagissant avec un substrat de caractère électrophile. Les substrats pour cette méthode de C-glycosylation sont les glycols et les dérivés saccharidiques portant en position anomérique un groupement L de type acétate, halogène, sulfoxyde, sulfone ou thioalkanes (schéma 24).

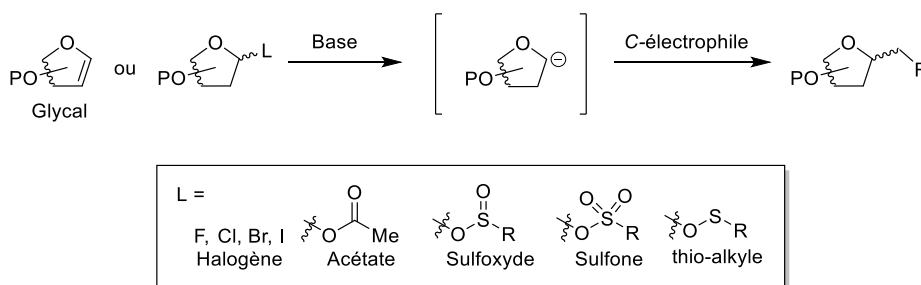


Schéma 24. Synthèse de dérivés C-glycosidiques à partir de sucres nucléophiles

Les dérivés C-glycosidiques de type anthacénone constituent une intrigante famille de produits naturels, dans lesquels, les sucres sont liés à un squelette anthacénone par le carbone C10 *via* un lien C-C. Koyama *et al.*^[295] ont développé, *via* une réaction de C-glycosylation avec un sucre nucléophile, la première synthèse totale de la Cassialoine, un membre représentatif de cette famille de dérivés C-glycosidiques avec des activités antiprolifératives.^[296] A partir d'un glycol protégé, les auteurs ont réalisé la déprotonation avec le *t*BuLi comme base dans le THF à 0°C puis l'anthacénone est ajoutée à -78°C pour fournir le dérivé C-glycosidique avec 75% de rendement. A partir de ce dérivé C-glycosidique et suite à plusieurs transformations, la Cassialoine a pu être synthétisée (schéma 25).

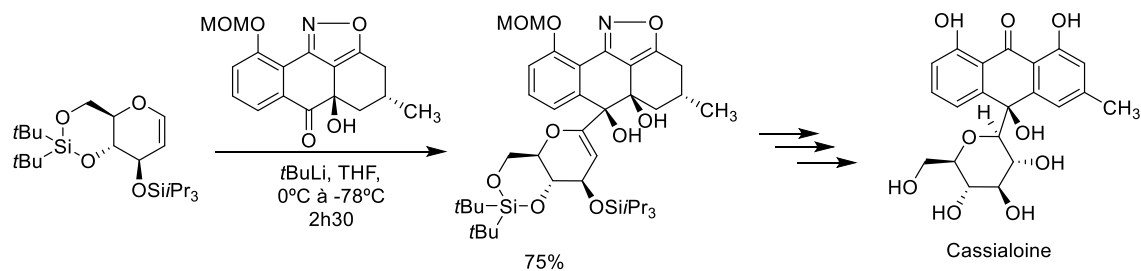


Schéma 25. Synthèse du dérivé C-glycosidique Cassialoine par un sucre nucléophile

Les C-glycosylations, médiées par le diiodure de samarium (SmI_2), à partir de dérivés saccharidiques (de type phényl ou 2-pyridyl sulfone) et de dérivés carbonylés sont des méthodes efficaces pour la synthèse de dérivés C-glycosidiques.^[258] Wang *et al.* synthétisent différents dérivés C-glycosidiques de type furane en utilisant cette méthode. Un des dérivés C-glycosidiques synthétisé par cette équipe est illustré dans le schéma 26. Le dérivé saccharidique portant le groupement sulfone en position anomérique est réduit par SmI_2 en formant le glycosyl-samarium (III) de configuration β . Ce dérivé attaque le centre électrophile du substrat de type cétone, pour former stéréosélectivement le dérivé C-glycosidique de configuration α avec un rendement de 86%.^[297]

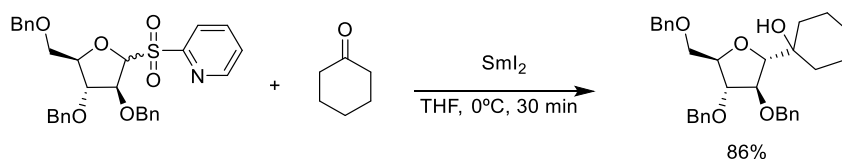


Schéma 26. Synthèse d'un dérivé C-glycosidique par couplage au samarium à partir d'un sucre sulfone

La réalisation d'un échange halogène/métal sur un dérivé saccharidique halogéné permet de synthétiser un dérivé C-glycosidique par la méthode des sucres nucléophiles. Un exemple de cela est illustré par Lichtenthaler *et al.*^[298] Après réalisation d'un échange brome/Zn, le dérivé C-glycosidique est formé par attaque nucléophile sur le centre électrophile du substrat, l'aldéhyde (Schéma 27).

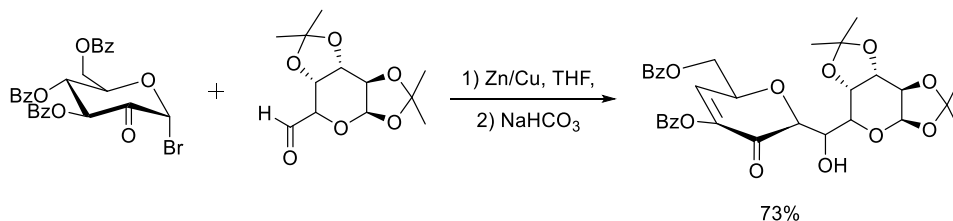


Schéma 27. Synthèse d'un dérivé C-glycosidique à partir d'un sucre bromé

IV.1.4. Synthèse de dérivés C-glycosidiques à partir de métaux de transition

Les synthèses des dérivés C-glycosidiques mettant en jeu un métal de transition sont assez nombreuses dans la littérature. Les différents substrats permettant ce type de réaction sont les dérivés saccharidiques halogénés en position anomérique ou les glycols (1,2 activés ou non) (schéma 28).

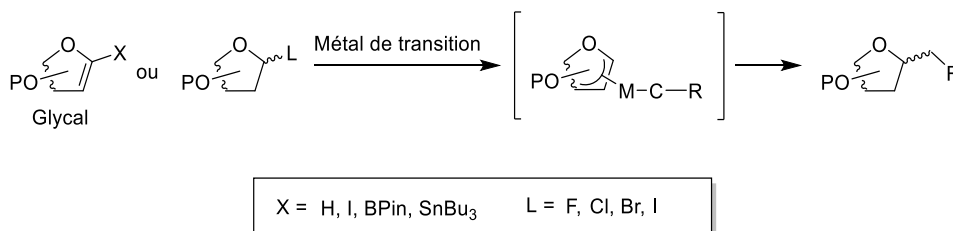


Schéma 28. Formation d'un dérivé C-glycosidique *via* un métal de transition

Pour illustrer ce type de réaction, deux exemples représentatifs sont présentés dans ce paragraphe. Hutter *et al.* décrivent la formation d'un dérivé C-glycosidique pour la synthèse de nucléosides à partir d'un glycol non activé par couplage de Heck avec un hétérocycle iodé (schéma 29).^[299] Le dérivé C-glycosidique est obtenu en configuration β avec un rendement de 71%.

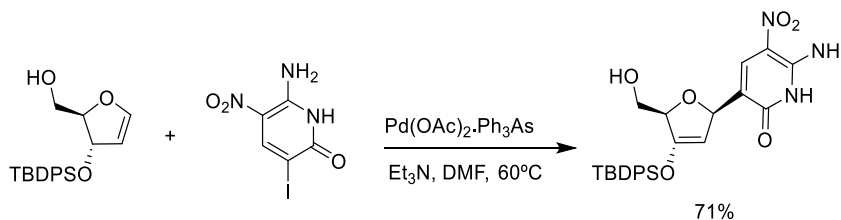


Schéma 29. Synthèse d'un dérivé C-glycosidique par couplage de Heck avec un glycol non activé

Les dérivés halogénés sont aussi des substrats pour les réactions de C-glycosylation *via* des métaux de transition. Nicolas *et al.* décrivent une méthode de synthèse de dérivés C-glycosidiques par couplage diastéréosélectif catalysé au cobalt de 1-bromo glycosides avec des aryl- et vinylmagnésiens (schéma 30).^[300]

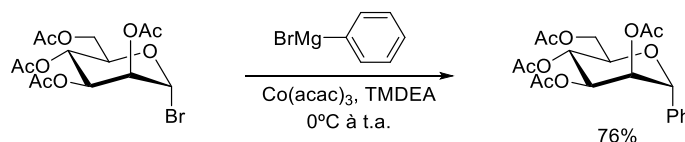


Schéma 30. Synthèse d'un dérivé C-glycosidique par catalyse au cobalt d'un dérivé bromé avec un aryl magnésien

IV.2. Applications biologiques *in vivo* et *in vitro* de dérivés C-glycosidiques développés au laboratoire

Notre laboratoire travaille depuis plusieurs années sur le développement de nouvelles méthodes d'accès et de fonctionnalisation de dérivés de type C-glycosidiques. Le laboratoire s'est également intéressé au développement de stratégies de synthèse pour accéder à des dérivés saccharidiques plus complexes comme les bis-C,C glycosides ou les γ -glyco amino acides (γ -GAA).^[273] Certains composés obtenus ont été exploités pour des applications *in vivo* et *in vitro*. Le groupe a notamment utilisé ces dérivés de type C-glycosidiques pour accéder à des groupements prosthétiques pour le marquage de biomolécules et des composés peptidomimétiques ciblant le récepteur neuropiline-1 impliqué dans l'angiogenèse tumorale NRP-1.

IV.2.1. Dérivés de type C-glycosidiques pour la construction de molécules bioactives

Les dérivés C-glycosidiques peuvent également trouver une application dans la construction de molécules bioactives et de peptidomimétiques. D'un point de vue chimique, il s'agit de simplement considérer comme une plate-forme centrale (scaffold) polyfonctionnelles. Une des premières équipes à avoir développé ce concept de plate-forme pour les dérivés saccharidiques a été l'équipe de Hirschmann en 1992.^[301] A partir d'un dérivé du glucose, par fonctionnalisation régiosélective, ils ont synthétisé les premiers inhibiteurs de la somatostatine non peptidiques qui ont montré des activités de l'ordre de 0,12 μ M et 0,18 μ M (figure 30).

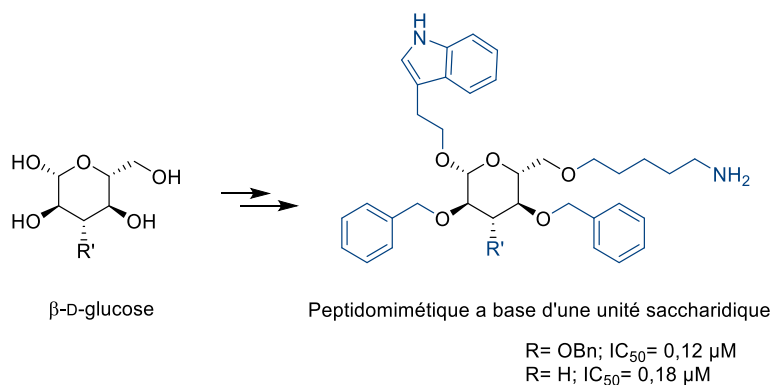


Figure 30. Peptidomimétiques de la somatostatine développés par Hirschmann *et al.*

A partir de 2010, notre laboratoire s'est aussi intéressé à la préparation de dérivés peptidomimétiques construits sur une plate-forme saccharidique. Plus particulièrement,

des composés ciblant le récepteur neuropiline-1 (NRP-1), une cible impliquée dans l'angiogenèse et l'invasion tumorale pour laquelle un seul ligand avait été découvert dans les années 2000.

A partir de dérivés C-glycosidiques, différentes séries de peptidomimétiques inhibiteurs de la liaison VEGF-NRP-1 ont été développés au laboratoire.

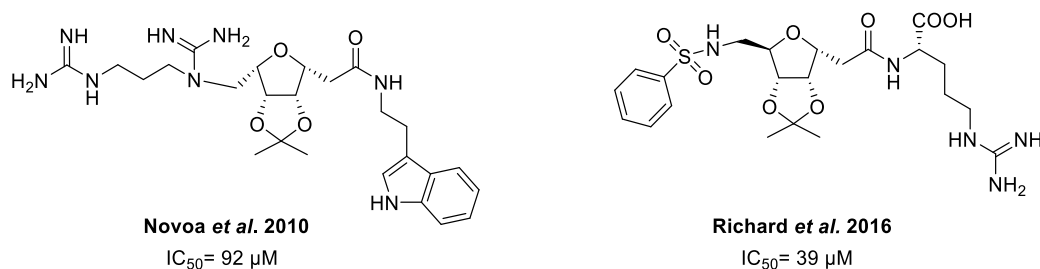


Figure 31. Composés peptidomimétiques inhibiteurs de NRP-1 développés au laboratoire

Parmi les peptidomimétiques préparés, deux composés représentés à la figure 31 ont montré d'intéressantes propriétés d'inhibition.^[271,272] Ces peptidomimétiques ont montré des activités de 92 μM et de 39 μM (IC₅₀ pour l'inhibition de la liaison du NRP-1/VEGF₁₆₅).

IV.2.2. Dérivés C-glycosidiques pour l'imagerie TEP

Les dérivés saccharidiques sont couramment couplés à des biomolécules afin d'améliorer leur hydrosolubilité et par conséquent leur biodisponibilité et leurs propriétés pharmacocinétiques.^[302,303] A partir de 2007, les dérivés saccharidiques ont commencé à être utilisés en tant que groupements prosthétiques pour le marquage de biomolécules. A ce jour encore, seuls deux groupes de recherche travaillent sur l'utilisation des sucre et dérivés comme groupements prosthétiques : l'équipe de Prante^[304] et notre laboratoire.

En effet, compte tenu de son expertise en glycochimie, notre laboratoire a développé des groupements prosthétiques à base de dérivés saccharidiques pour le marquage des biomolécules. Dans un premier temps, des dérivés de type O-pyranoside (dérivés manno et gluco) portant un bras espaceur fonctionnalisé par un azoture en position anomérique (configuration α et β) et radiofluorés en position 6 ont été développés.^[193,305,306] Cependant, compte tenu de la meilleure stabilité *in vivo* des dérivés C-glycosidiques, le développement de ce type de groupements prosthétiques a été priorisée ces dernières années. Etant donné les bons résultats de radiomarquage obtenus avec les O-glycosides,

ces nouveaux groupements prosthétiques de type C-glycosidiques ont été conçus de façon à introduire le radioélément sur la même position (position 6).

Pour accéder au groupe prosthétique, la synthèse du dérivé C-glycosidique, a été réalisée à partir d'un sucre électrophile (figure 32). Un mélange α/β du O-glycoside tétrabenzylé portant un acétate en position anomérique a été mis en présence de TMSI conduisant à l'introduction de l'iode en configuration α . Une fois l'intermédiaire iodé formé, la liaison C-C est formée par attaque nucléophile du bromure d'allylmagnésium à température ambiante. Cette réaction fournit majoritairement le composé C-glycosidique de configuration β avec un rendement isolé de 65%. A partir de ce dérivé allylique, une séquence réactionnelle a permis d'obtenir les précurseurs de marquage des groupements prosthétiques. Ces composés de type C-glycosidique ont été utilisés pour le marquage au fluor-18 ^[215,216] ou au gallium-68 ^[307] de peptides dérivés de la séquence RGD, c(RGDfK) et c(RGDfC). Les étapes de radiomarquage ont été automatisées et optimisées sur l'automate Trasis® AllInOne.

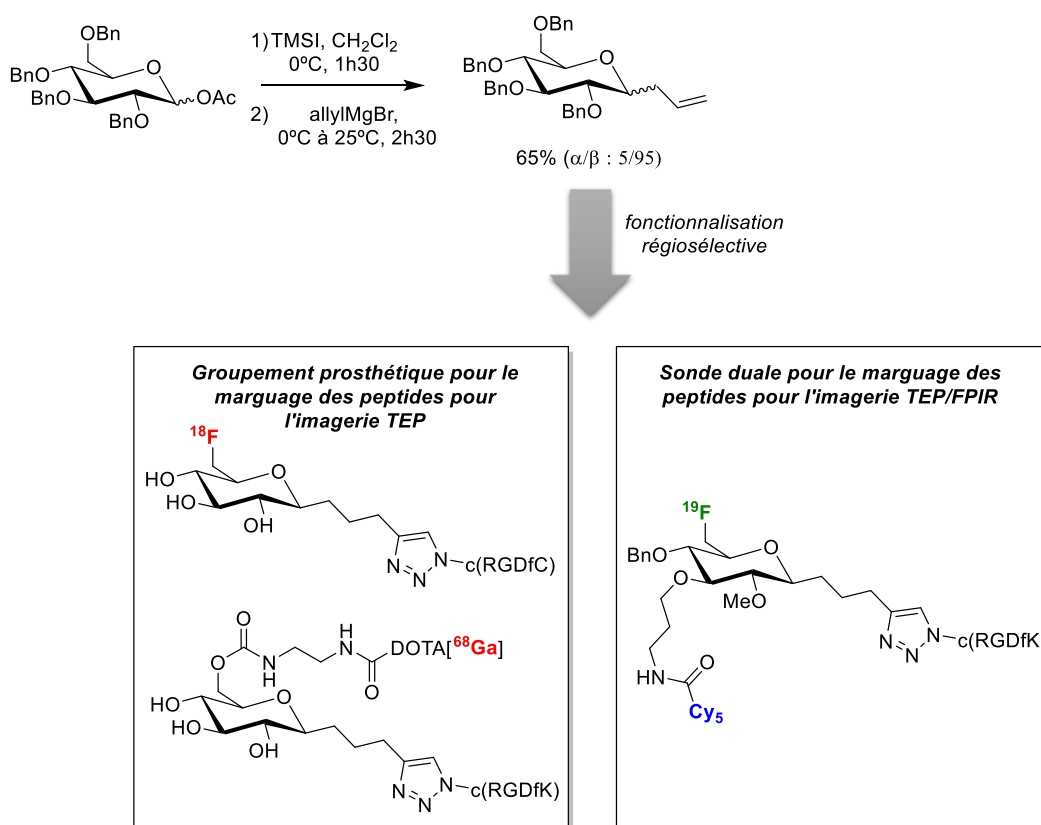


Figure 32. Synthèse de dérivés C-glycosidiques du laboratoire pour le marquage de peptides RGD visant des applications en imagerie TEP (fluor-18 et gallium-68) et bimodale TEP/FPIR

Plus récemment, le laboratoire s'est intéressé au développement de sondes duales TEP/FPIR pour le marquage de peptides. En tirant parti des dérivés pyranoses utilisés comme groupes prosthétiques, lors la thèse de Timothé Vucko^[308] une sonde duale à partir d'un dérivé de type pyranose a été développée (figure 32). Malheureusement cette sonde couplée à un peptide c(RGDfK) a montré une faible affinité vis-à-vis des intégrines ($IC_{50} = 398$ nM) par rapport au c(RGDfK) natif ($IC_{50} = 15.6$ nM). La synthèse de cette sonde duale basée sur une plate-forme à six chaînons s'est révélée très ardue et a été un grand challenge chimique.^[309] En effet la régiosélectivité est très compliquée à mettre en œuvre sur une plate-forme pyranoside, une plate-forme de type furanose serait plus adaptée.

V. Objectif général de la thèse

Ce projet concerne la synthèse de sondes duales ^{18}F -TEP/FPIR, comportant une liaison stable ^{18}F -C. Ceci implique une stratégie de radiomarquage de la sonde duale avant conjugaison avec le peptide dû aux conditions extrêmes de radiofluoration. Ce type de stratégie est à ce jour inédit dans la littérature.

Les sondes duales que nous envisageons sont basées sur une plate-forme centrale issue de dérivés saccharidiques. A notre connaissance, ce type de plate-forme n'est pas exploité dans la littérature pour des applications en imagerie bimodale TEP/FPIR. En effet, la multifonctionnalité de ces dérivés leur permet d'être fonctionnalisables de façon régiosélective, ce qui est particulièrement intéressant pour ce type d'application. Par ailleurs, compte tenu de la stabilité *in vivo* des dérivés C-glycosidiques, ce type de composé saccharidique pour lequel l'atome d'oxygène anomérique est remplacé par un carbone a retenu notre attention pour le développement de cette sonde duale.

Le savoir-faire du laboratoire en termes de synthèse, radiomarquage et conjugaison de biomolécules mettant en œuvre des dérivés saccharidiques de type C-glycosidique, ainsi que l'utilisation de ce type de composé en tant que plate-formes fonctionnalisables nous a amené à combiner ces deux approches pour ce projet de thèse.

Nous avons opté pour l'utilisation de dérivés de type furanose portant un ester méthylique sur le bras pseudo-anomérique, l'accès à ce type de dérivé étant bien connu au laboratoire. L'utilisation d'un dérivé de type furanose présente l'avantage d'avoir un groupe hydroxyle en moins par rapport à un pyranose, ce qui rend sa fonctionnalisation contrôlée plus facile à mener. La plate-forme de type C-glycosidique a été fonctionnalisée afin

d'introduire un fluorophore en position pseudo-anomérique, un ou deux peptides dérivés de RGD et un atome de fluor-18/19 par activation de l'hydroxyle en C-5 (schéma 31). Afin de mener cette synthèse, nous avons été amenés dans un premier temps à explorer la réactivité et la fonctionnalisation d'un composé bicyclique de type furofuranone (chapitre 2) résultant de la cyclisation entre l'hydroxyle en position 2 et l'ester en pseudo anomérique. Dans un deuxième temps, nous nous sommes tournés vers un dérivé C-glycosidique polyhydroxylé résultant de la réduction de l'ester du bras pseudo-anomérique (chapitre 3).

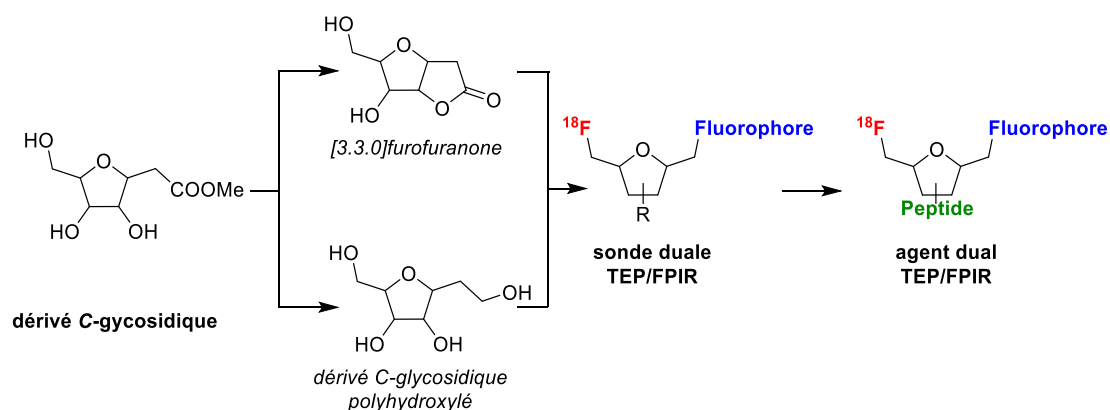


Schéma 31. Synthèse de la sonde duale TEP/FPIR de type furanose C-glycosidique par les deux voies explorées lors de cette thèse

En parallèle de ces travaux centrés sur le développement d'une plate-forme issue d'un dérivé furanose, nous avons finalisé des travaux concernant une plate-forme de type pyranose développée par Timothé Vucko lors de sa thèse (chapitre 4).^[308] Il s'agit notamment de la dernière étape de synthèse du précurseur de marquage de cette sonde duale TEP/FPIR ainsi que de la réaction de radiofluoration au ^{18}F .

CHAPITRE 2
FONCTIONNALISATION D'UNE PLATE-
FORME DE TYPE C-GLYCOSIDIQUE
COMPORTANT UN MOTIF
[3.3.0]FUROFURANONE

I. Introduction et stratégie de synthèse

Afin de mener notre projet, nous avons, dans un premier temps, exploré la réactivité et la fonctionnalisation d'un composé bicyclique de type furofuranone résultant de la cyclisation entre l'hydroxyle en position 2 et d'un ester en pseudo anomérique. En effet, nous avons souhaité tirer profit d'une lactonisation spontanée de dérivés de type C-glycosidique observée dans des travaux préliminaires qui sont résumés dans le premier paragraphe ci-dessous, avant de donner la stratégie de synthèse établie pour le développement de sondes duales.^[310]

I.1. Travaux préliminaires concernant la lactonisation

A mon arrivée au laboratoire, j'ai participé à la finalisation d'un projet concernant le développement des plate-formes saccharidiques de type bis C,C-glycosidique.

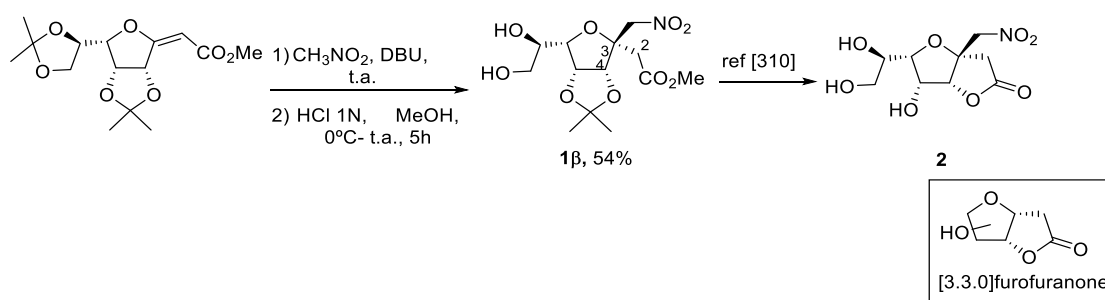


Schéma 32. Exploration de la formation du motif [3.3.0]furofuranone

Sans entrer dans les détails, voici brièvement les étapes de synthèse. A partir d'un exoglycal protégé, une addition de nitrométhane sur la double liaison *exo*-cyclique a été réalisée en milieu basique, suivie ensuite d'une déprotection de l'acétal en position 7,8, d'après des travaux précédents du laboratoire.^[272,311]

Il m'a été confié l'exploration de la réactivité et notamment celle de la lactonisation du composé **1β** en composé bicyclique **2**.

Le composé **1β** a été mis en présence de différents acides afin de déprotéger l'acétal et voir ainsi si une cyclisation en lactone bicyclique **2** se produisait. Les différentes conditions testées sont détaillées dans l'article issu de ces travaux (Richard *et al.*).^[310] Cependant, les meilleurs résultats de cyclisation ont été obtenus avec HCl dans le méthanol à 50°C. Les résultats obtenus ont permis de conclure que les conditions acides

utilisées pour la déprotonation de l'acétal, favorisent la formation du motif furofuranone lorsque le OH en position 4 et le carbonyle se trouvent du même côté du cycle.

Dans ce premier chapitre nous avons souhaité mettre au point la synthèse de la sonde duale en exploitant la plate-forme de type [3.3.0]furofuranone obtenue à partir d'un dérivé C-glycosidique (sans NO₂). Par rapport à un composé bis C,C-glycosidique, un dérivé C-glycosidique a été choisi simplement parce que le nombre de points de fonctionnalisation permettant l'introduction des différents éléments (fluorophore, biomolécule et radioélément) est suffisant. De plus, parmi différents dérivés C-glycosidiques possibles, le dérivé de configuration ribose a été choisi car la configuration des différents carbones asymétriques permettrait de distribuer les différents éléments de part et d'autre du plan du cycle, afin d'avoir le minimum de contraintes stériques.

I. 2. Stratégie de synthèse

Le composé bicyclique de type [3.3.0]furofuranone formé lors la lactonisation, permet de protéger le groupe hydroxyle en position 4 puisque celui-ci est impliqué dans le cycle. Le fait d'avoir la position 4 protégée permet de fonctionnaliser de façon sélective et simple les hydroxyles primaire (C-7) et secondaire (C-5). L'hydroxyle primaire en position 7 est adéquat pour la réaction de fluoration ou radiofluoration et l'hydroxyle en position 5 est utile pour le couplage du peptide en dernière étape. Le fluorophore de type cyanine peut être introduit par ouverture de la lactone (figure 33).

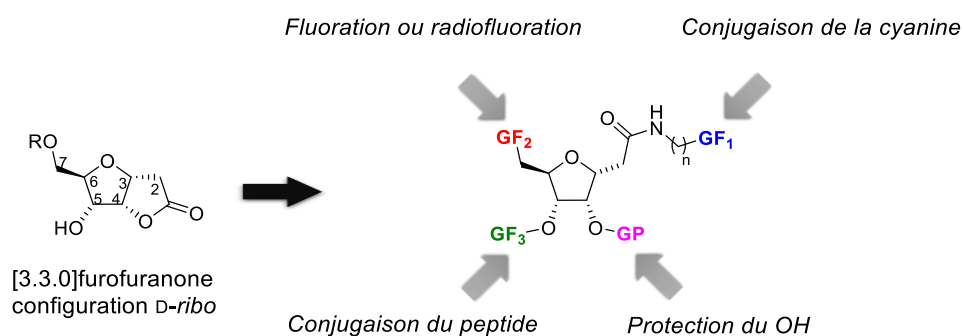


Figure 33. Dérivé C-glycosidique trifonctionnel permettant d'accéder à la plate-forme duale

Pour synthétiser la plate-forme duale envisagée, à partir du motif [3.3.0]furofuranone, l'installation régiosélective de trois groupes fonctionnels est nécessaire. Ces fonctionnalités permettront l'insertion des éléments suivants (figure 33) :

- Un bras permettant l'introduction la cyanine 5 par formation d'un lien amide (GF₁).

- Un bon groupe partant (pour le précurseur de marquage) ou un fluor (pour la référence froide) sur la position sur laquelle sera introduit le ^{18}F par substitution nucléophile (position 7) (GF₂).
- Un bras portant un groupement azoture pour la conjugaison avec le peptide modèle via chimie Click de type CuAAC, après radiomarquage. La stratégie de construction de l'agent dual TEP/FPIR sera effectuée par une approche via une sonde duale avec un marquage avant conjugaison. Le peptide sera donc couplé après l'introduction du fluor-18 sur la sonde (GF₃).
- Un groupement permettant de masquer l'hydroxyle en position 4 (GP) afin de ne pas conserver une fonction hydroxyle libre pour les étapes de radiomarquage.

II- Mise au point de la fonctionnalisation de la plate-forme [3.3.0]furofuranone

Les différentes étapes de synthèse et optimisation des conditions opératoires ont été réalisées en commençant par la synthèse du dérivé C-glycosidique.

II.1. Synthèse de l'intermédiaire de type C-glycosidique

La première étape pour accéder à la plate-forme saccharidique est de synthétiser un dérivé C-glycosidique. Pour cela, la réaction originale d'oléfination de Wittig décrite par le groupe d'Yves Chapleur a été utilisée.^[312,313] Cette réaction, présentée dans le chapitre bibliographique, donne accès de façon efficace à des dérivés C-glycosidiques à partir de lactones en passant par un intermédiaire de type *exo*-glycal.

II.1.1- Synthèse de l'*exo*-glycal

La synthèse de l'*exo*-glycal dérivé de la D-ribonolactone est réalisée (Schéma 33).

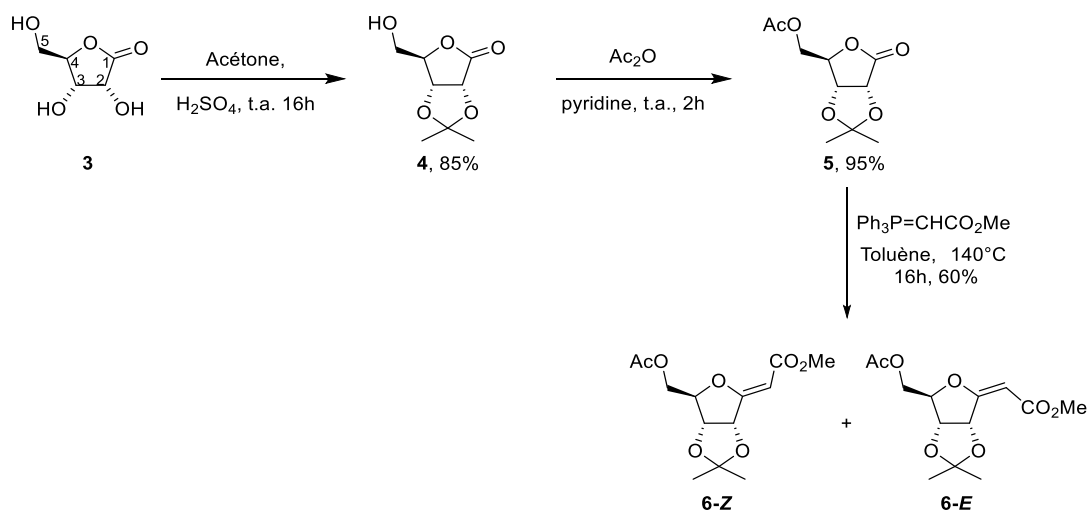


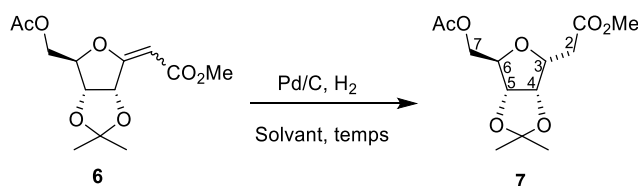
Schéma 33. Synthèse du mélange d'*exo*-glycals **6**

La lactone de l'acide D-ribonique commerciale **3** a été utilisée comme réactif. La première étape a été la protection des groupements hydroxyles en position 2 et 3 sous forme d'acétal (composé **4**, 85% de rendement) et celui en position 5 sous forme d'acétate pour fournir le composé **5** avec 95% de rendement. Le choix de ces groupements protecteurs est basé sur les travaux précédents du laboratoire qui ont montré que la réaction d'oléfination de Wittig est efficace lorsque les dérivés de type furanose sont protégés avec ce type de groupements.^[312] Le composé **5** a été mis en présence de 2-(triphénylphosphanylidène)acétate de méthyle dans le toluène à 140°C pendant une nuit pour obtenir l'*exo*-glycal **6** sous forme d'un mélange séparable d'isomères *E* et *Z* (ratio *E/Z* : 3/7).

II.1.2. Synthèse du dérivé C-glycosidique par réduction de l'*exo*-glycal

La réduction de la double liaison *exo*-cyclique a été réalisée afin d'obtenir le dérivé C-glycosidique. Il a été observé au laboratoire que l'isomère *E* se réduit facilement en présence de palladium sur charbon 10% (10 % w/w) dans l'acétate d'éthyle. Pour l'isomère *Z*, il est nécessaire d'utiliser une quantité de 40% w/w de Pd/C 10%.^[271] Cette différence de réactivité a été étudiée et il a été observé que l'isomère *E* s'hydrogène directement alors que pour l'isomère *Z*, une isomérisation de la double liaison de configuration *Z* en configuration *E* se produit dans un premier temps suivi de l'hydrogénation.

Afin d'améliorer la synthèse du C-glycoside **7**, différentes conditions opératoires (% de palladium, solvant, temps, concentration) ont été testées sur le mélange d'isomères *Z* et *E* afin d'éviter la séparation laborieuse de ces isomères (tableau 5).



Entrée	[6] (mg/mL)	Solvant	Pd/C (%) ^a	H ₂ (psi)	t (h)	7 (%)
1	40	MeOH	10	15	48	30 ^b
2	40	MeOH	20	40	24	45 ^b
3	80	AcOEt	10	30	24	0 ^c
4	80	AcOEt	10	40	24	0 ^c
5	10	AcOEt (K ₂ CO ₃)	40	40	96	90
6	10	AcOEt (K ₂ CO ₃)	50	40	48	88

a : Le palladium utilisé est Pd/C à 10% et % en w/w par rapport à la quantité d'*exo*-glycal introduite

b : déprotection de l'acétate et de l'acétal

c : récupération du produit de départ

Tableau 5. Conditions d'hydrogénation de la double liaison de l'*exo*-glycal **6**

Dans un premier temps, le mélange d'*exo*-glycal *E* et *Z* (ratio *E/Z* : 3/7) a été mis en solution dans le MeOH à une concentration de 40 mg/mL en présence de Pd/C (10%, w/w) et sous une pression d'hydrogène de 15 psi pendant 24h (tableau 5, entrée 1). Dans ces conditions, le milieu réactionnel conduit au dérivé C-glycosidique **7** et au produit de départ (**6-E** et **6-Z**). Dans le but de consommer l'intégralité du réactif, le milieu réactionnel est hydrogéné 24h supplémentaires. Cependant, seulement 30% du composé **7** sont récupérés et une partie importante du composé **6** s'est déprotégé pour donner différents sous-produits.

Afin de réduire le temps de réaction et éviter la déprotection de l'*exo*-glycal **6**, un nouvel essai d'hydrogénation avec davantage de Pd/C a été réalisé. Le composé **6** a été mis en présence Pd/C (20%, w/w) sous pression d'hydrogène pendant 24h à 40 psi. Le composé **7** est alors obtenu avec un rendement de 45% mais une quantité importante de sous-produits (50%) résultant de la déprotection des groupes hydroxyles a été observée (tableau 5, entrée 2). Cette déprotection a sûrement été causée par l'utilisation de méthanol, un solvant protique. Les traces d'eau éventuellement présentes dans ce solvant ont pu favoriser l'hydrolyse de l'acétal.

Une solution deux fois plus concentrée (80 mg/mL) de composé **6** dans l'acétate d'éthyle a été hydrogénée en présence de Pd/C (10%, w/w) et sous pression d'hydrogène à 30 psi (tableau 5, entrée 3) ou à 40 psi (tableau 5, entrée 4) pendant 24h. Dans les deux cas, aucune trace du composé **7** n'a été observée, 100% du produit de départ a été récupéré.

Un essai en utilisant une quantité supérieure de Pd/C (40%, w/w) et une pression d'hydrogène de 40 psi a été réalisé. Dans l'intention d'éviter la déprotection observée lors de l'utilisation d'une quantité importante de palladium et une pression d'hydrogène élevée, la réaction a été réalisée dans un milieu beaucoup plus dilué, (10 mg /mL) dans l'acétate d'éthyle contenant du K₂CO₃ pour neutraliser éventuellement l'acidité du solvant (tableau 5, entrée 5). Après 48h, la formation partielle du composé **7** a été constatée par RMN ¹H ainsi que l'isomérisation du composé de configuration *Z* en isomère *E*. Afin de consommer l'intégralité de **6**, le Pd/C est éliminé et remplacé du Pd/C neuf. La réaction a été poursuivie pendant 48h supplémentaires et le dérivé C-glycosidique **7** est alors obtenu avec un rendement de 90%.

Nous avons souhaité encore optimiser ces conditions opératoires afin de réduire le temps de réaction et la quantité de Pd/C. Le composé **6** a été mis en présence de 50% w/w de Pd/C (vs 2x 40%, entrée 6) dans l'AcOEt contenant du K₂CO₃ en suspension à 40 psi pendant 48h (tableau 5, entrée 6). Lors de cette réaction, le composé **7** a été obtenu avec 88% de rendement. L'ajout de K₂CO₃ au préalable dans le solvant améliore le rendement de la réaction en évitant la dégradation du produit.

L'obtention du composé **7** est donc très aisée à partir de l'isomère *E*, mais reste plus difficile à réaliser à partir du mélange *E/Z* ou du produit *Z* nécessitant l'utilisation de 50% w/w de Pd/C qui n'est pas économique, ni écologique.

Nous avons cherché à comprendre cette différence de réactivité entre les isomères *Z* et *E*. Cette différence de réactivité a été observée antérieurement au laboratoire dans le cas d'une addition 1,4 du nitrométhane sur ces *exo*-glycols activés par une fonction carboxylate de méthyle.^[311] L'étude expérimentale réalisée par Richard *et al.* a montré qu'en partant de l'isomère *E*, de meilleurs rendements et une cinétique de réaction plus rapide sont obtenus par rapport à l'isomère *Z* (schéma 34).

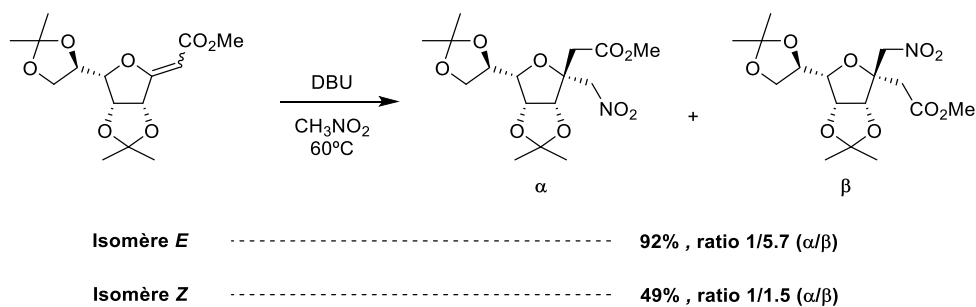


Schéma 34. Etude de l'addition de nitrométhane sur les *exo*-glycals activés^[311]

Dans le but de comprendre cette différence de réactivité, une étude de modélisation moléculaire avait été réalisée. A partir des données théoriques, les enthalpies d'activation pour la réaction d'addition 1,4 du nitrométhane ont été déterminées : 17 kcal/mol pour le *E* et 21 kcal/mol pour l'isomère *Z*. L'enthalpie d'activation plus faible de l'isomère *E*, trouvée théoriquement, reste en toute cohérence avec la cinétique de réaction plus rapide observée pour l'isomère *E*. De plus, les facteurs stériques dans les états de transition semblent jouer un rôle dans la différence de réactivité.

Par conséquent, la différence de réactivité *Z/E* observée lors de l'hydrogénation peut s'apparenter à celle observée lors de l'addition du nitrométhane, même si évidemment le mécanisme n'est pas le même.^[311]

L'étude réalisée pour l'attaque nucléophile du nitrométhane montre que la position de l'ester (par rapport au cycle) et que la délocalisation générée par le groupement ester sont des facteurs fortement liés à la réactivité des *exo*-glycals. Afin de vérifier si pour l'hydrogénation ces deux facteurs sont également impliqués dans le manque de réactivité de l'isomère *Z*, la réactivité vis-à-vis de l'hydrogénation de différentes oléfines activées de configuration *Z* a été étudiée (schéma 35).

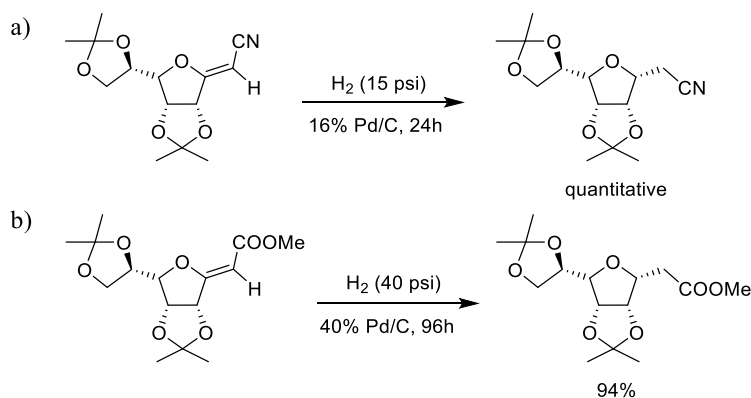


Schéma 35. Hydrogénation des *exo*-glycals *Z* contenant un groupement CN ou un COOMe

Les résultats de la thèse d'Alexandre Novoa^[314] montrent que lorsque un groupe cyano est présent sur la double liaison, l'isomère *Z* se réduit de façon quantitative en 24h en présence de 16% de Pd/C et à pression atmosphérique (schéma 35a). Cependant, Mylène Richard a pu observer lors de sa thèse,^[315] que l'hydrogénation de l'*exo*-glycal *Z* dérivé du gulose et comportant un ester méthylique requiert les mêmes conditions réactionnelles que le composé **6-Z** et conduit à une isomérisation de la double liaison avant l'hydrogénation (schéma 35b). Ces différents résultats semblent indiquer que la présence de l'ester méthylique a une influence importante vis-à-vis de la réactivité des *exo*-glycals en configuration *Z*, comme il avait été observé dans le cas de la réaction d'addition du nitrométhane cité ci-dessus.

Le suivi de la réaction d'hydrogénation par RMN ¹H montre que l'isomère *Z* ne se réduit pas tant qu'il n'a pas été isomérisé en isomère *E*. Cela implique un temps de réaction long (48h) et 50% w/w de palladium pour qu'elle soit complète.

Nous nous sommes alors demandé s'il était possible de réaliser une isomérisation efficace de cette double liaison avant de procéder à l'hydrogénation dans un second temps. Différentes méthodes d'isomérisation ont été explorées (schéma 36).

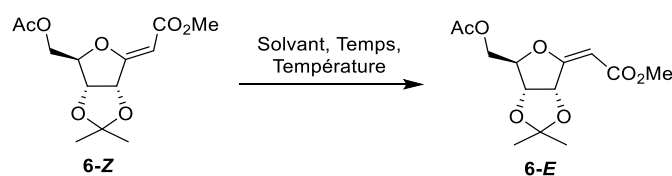


Schéma 36. Isomérisation de l'*exo* glycal de *Z* vers *E*

La première méthode trouvée dans la littérature pour l'isomérisation du 2-alkylidène-5-hydroxyméthyltetrahydrofuran (dérivé du furane avec une double liaison *exo*-cyclique) décrit la mise en solution du composé de configuration *Z* dans l'éther diéthylique à 20°C pendant 7 jours.^[316] Lorsque ce protocole a été testé sur **6-Z**, aucun changement de configuration n'a été observé, lors du suivi CCM et RMN¹H.

Nous avons également exploré l'isomérisation induite, par irradiation UV. Pour cette expérience, l'isomère *Z* a été dissout dans l'acétate d'éthyle dans un tube scellé. Il a ensuite été placé à l'abri de la lumière visible puis irradié à 300 W (254 nm) pendant 2h. Cependant après cette irradiation, aucune trace de l'isomère *E* n'a été retrouvée dans le milieu réactionnel. A noter que dans les mêmes conditions, l'isomérisation du composé **6-E** en composé **6-Z** n'a pas non plus été observée.

Les différents essais réalisés pour optimiser cette étape d'hydrogénation de l'*exo*-glycal Z n'ont pas permis de diminuer la quantité de palladium sur charbon ni le temps de réaction (50% w/w de Pd/C à 10% pendant 48h à 40 psi d'hydrogène). Cependant à part le fait que la manipulation soit longue, non économique ni écologique, elle fournit le C-glycoside **7** avec un bon rendement.

II.2. Synthèse de la lactone monoprotégée en position 7

A partir du dérivé C-glycosidique **7**, l'étape suivante a été l'obtention d'une lactone monoprotégée en position 7 avec un groupe hydroxyle libre en position 5. Avec l'idée d'introduire en position 7 un groupement protecteur stable tout au long de la synthèse, l'acétate du composé **7** a été clivé par une réaction de Zemplén afin d'obtenir le composé déprotégé **8** avec un rendement de 85%. A partir de ce nouveau composé **8**, deux voies d'accès à la lactone monoprotégée ont été explorées : protection de l'hydroxyle primaire suivi de la lactonisation (voie A, schéma 37) ou lactonisation suivie par de la protection sélective du groupe hydroxyle primaire en position 7 (voie B, schéma 37).

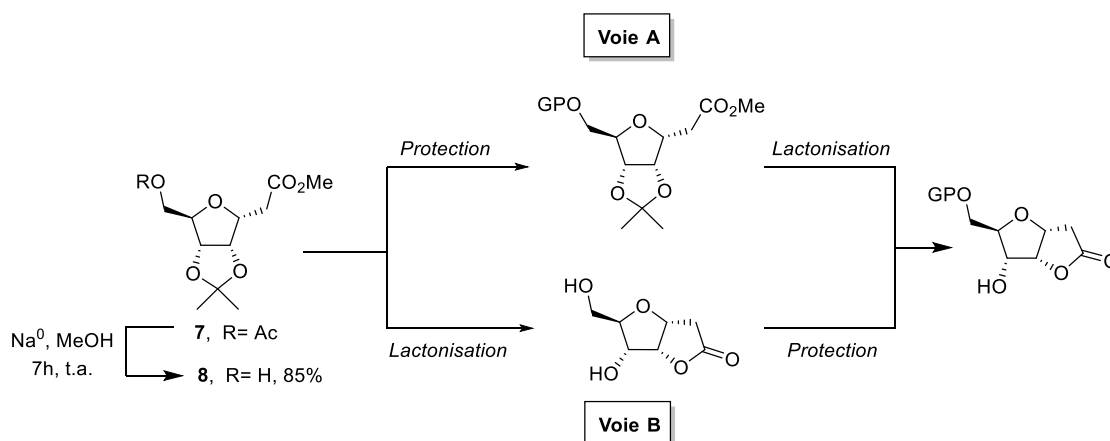


Schéma 37. Synthèse de lactones monoprotégées par la voie A ou la voie B

II.2.1. Voie de synthèse A

En partant du composé **8**, plusieurs groupements protecteurs de l'hydroxyle primaire ont été testés (schéma 38, tableau 6).

Chapitre 2 : Fonctionnalisation d'une plate-forme de type C-glycosidique comportant un motif [3.3.0]furofuranone

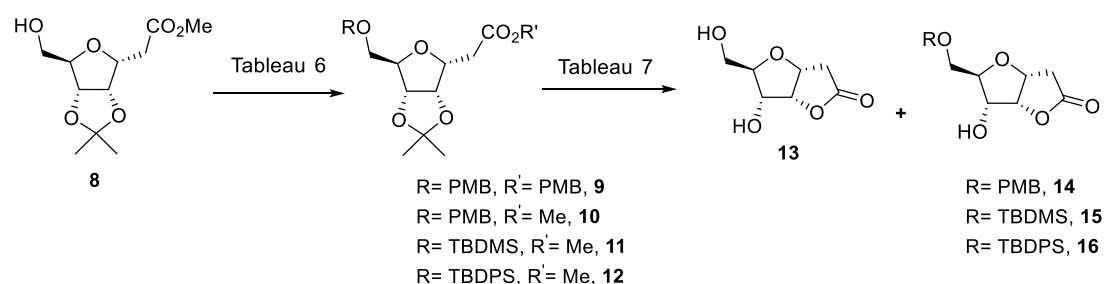


Schéma 38. Synthèse des lactones protégées **14**, **15** et **16** par la voie A

Ces groupements protecteurs ont été choisis en fonction de leur stabilité tout au long de la synthèse, puisqu'ils doivent être retirés juste avant l'introduction du bon groupement partant nécessaire à la radiofluoration. Un critère essentiel est donc que ces groupements protecteurs puissent être retirés de façon sélective et dans des conditions relativement douces, compte tenu des éléments qui seront présents à ce stade.

Entrée	Réactif	Conditions	Produit (%)
1	PMB-Br	NaH, DMF/THF, 0°C à t.a., 16h	9 (40)
2	PMB-trichloroacétimide	BF ₃ .OEt ₂ , CH ₂ Cl ₂ , 0°C à t.a., 16h	10 (75)
3	TBDMS-Cl	Imidazole, DMF, 0°C à t.a., 16h	11 (78)
4	TBDPS-Cl	Imidazole, DMF, 0°C à t.a., 16h	12 (95)

Tableau 6. Conditions de protection de l'alcool primaire du composé **8**

Le *p*-méthoxybenzyle (PMB) a été choisi pour sa stabilité et sa spécificité de clivage au 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ). Le composé **8** a été engagé dans une réaction avec le bromure de *p*-méthoxybenzyle en présence de NaH dans un mélange DMF/THF (tableau 6, entrée 1).^[317,318] Malheureusement, lors de cette réaction, le composé **9** majoritairement obtenu provient d'une double réaction (PMB en position 7 et ester de PMB). La formation de ce composé **9** a été favorisée par la présence du *p*-méthoxybenzyle alcool issu de l'hydrolyse du chlorure de *p*-méthoxybenzyle très peu stable dans les conditions de la synthèse. L'utilisation du trichloroacétimide de *p*-méthoxybenzyle (PMB-trichloroacétimide) en présence de BF₃.OEt₂ a permis d'obtenir le composé **10** avec 70% de rendement (tableau 6, entrée 2).^[319]

Deux groupements protecteurs silylés ont également été introduits : le *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMS) et le *tert*-butyldiphénylsilyle (TBDPS). Le choix de ces éthers silylés est basé sur leur stabilité et leur déprotection sélective en présence d'anions fluorures, comme le fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF). Le composé **8** a été mis en présence du chlorure de silyle correspondant et d'imidazole dans le DMF pendant une

nuit (tableau 6, entrées 3 et 4) afin d'obtenir les composé protégés **11** et **12** avec respectivement 78% et 95% de rendement.

La déprotection de l'isopropylidène acétal des composés **10**, **11** et **12** a été réalisée par hydrolyse en milieu acide. Il a été montré au laboratoire que l'hydrolyse de l'acétal en milieu acide favorise l'attaque nucléophile de l'oxygène en position 4 sur carbonyle de l'ester conduisant à la lactone bicyclique de façon spontanée et souhaitée ici pour protéger cet hydroxyle.^[310]

Afin de trouver la meilleure méthode de déprotection de l'acétal suivie de la lactonisation, différentes conditions ont été testés (tableau 7).

Entrée	Conditions	Composé	Produit (%)	13 (%)
1	HCl, MeOH, 60°C, 3 h	10	14 (0)	100
		11	15 (0)	100
		12	16 (0)	100
2	Amberlite IR 120, MeOH, t.a. à 70°C, 6h	10	14 (0)	100
		11	15 (0)	100
		12	16 (0)	100
3	TFA, CH ₂ Cl ₂ , 0°C à t.a. 3h	11	15 (0)	100
		12	16 (36)	42
4	TFA, H ₂ O, 0°C à t.a., 3h	11	15 (0) ^a	-
		12	16 (0) ^a	54
5	AcOH, H ₂ O, 80°C, 2 h	11	15 (0)	100
		12	16 (32) ^b	64

a : dégradation du produit de départ

b : expérience peu reproductible, rendements variables 10-32%, formation de **13**

Tableau 7. Conditions de déprotection en milieu acide de l'acétal des composés **10**, **11** et **12**

Dans un premier temps, les composés **10**, **11**, et **12** ont été engagés dans une réaction de déprotection dans une solution à 0,1% (v/v) d'HCl concentré dans le méthanol à 60°C (tableau 7, entrée 1). Dans les trois cas, après 3h de réaction, seule la formation de la lactone totalement déprotégée **13** a été observée. Les groupements protecteurs choisis n'étant pas stables en présence d'un acide fort comme HCl, une autre méthode décrite dans la littérature a été testée en présence de résine Amberlite IR120 (chargée HCl) (tableau 7, entrée 2).^[320] Comme décrit dans la littérature, les composés **10**, **11** et **12** ont été solubilisés dans le MeOH en présence de cette résine à température ambiante et après plusieurs heures, aucune réaction n'a été observée. Un chauffage à 70°C a conduit à la

formation d'un seul composé correspondant à lactone **13**. Il a aussi été observé que le groupement protecteur PMB se clive plus rapidement en milieux acide par rapport au TBDMS et au TBDPS. L'instabilité du groupement protecteur de type PMB en présence d'acides forts comme HCl, le TFA ou l'acide acétique a déjà été observée dans la littérature cependant il nous paraissait possible de contrôler la déprotection chimiosélective de l'acétal.^[321,322] Par conséquent, il nous a semblé compromis de réaliser cette lactonisation en milieu acide en utilisant le composé **10**. Nous avons donc centré nos efforts sur les éthers silylés **11** et **12**.

L'utilisation de l'acide trifluoroacétique, dans l'eau (tableau 7, entrée 4) et dans le dichlorométhane (tableau 7, entrée 3) a été étudiée. Dans le cas du composé **11**, aucune trace du composé attendu **15** n'a été observée et il a été observé que l'utilisation de l'eau favorise la dégradation du composé de départ **11** tandis que le dichlorométhane favorise la formation de la lactone **13**. Les résultats ont été plus encourageants dans le cas du composé **12**. L'utilisation du dichlorométhane permet d'obtenir la lactone **16** avec un rendement de 36%, la lactone **13** étant également obtenue avec un rendement de 54%.

Les différences de résultats obtenus lors de l'utilisation du dichlorométhane et de l'eau comme solvant peuvent être associées à l'hydrolyse acide en milieu aqueux de l'ester méthylique. L'utilisation d'un solvant aqueux favoriserait l'hydrolyse de l'ester méthylique en présence de TFA.^[323,324] Une fois l'ester clivé, la lactonisation ne serait plus favorisée. Par conséquent, le produit résultant de la réaction est un composé très polaire comportant trois groupes hydroxyles et un groupe COOH, cette polarité rendant difficile la récupération du produit.

Une quatrième méthode décrite dans la littérature^[292] a été utilisée : Les composés **11** et **12** ont été dissous dans une solution d'acide acétique à 80% dans l'eau puis chauffés à 80°C (tableau 7, entrée 5). Dans ces conditions, il a été observé que le composé **11** donne 100% de la lactone **13** en moins de 2 h. Il a été constaté que pendant la formation du composé **13** à partir de **11**, le clivage du TBDMS se produit bien avant la déprotection de l'acétal, ce qui indique une faible stabilité du groupement protecteur silylé dans ces conditions. En contrepartie, l'utilisation de ces conditions permet d'obtenir 32% du composé **16** à partir de **12** protégé avec un groupement TBDPS. Cependant, là encore, la lactone **13** a été obtenue avec un rendement de 64%. Cette méthode reste malheureusement très peu reproductible car une grande variation au niveau des rendements a été observée.

La synthèse de cette lactone monoprotégée en mettant en œuvre dans un premier temps la protection de l'hydroxyle en position 7 suivie de la réaction de lactonisation est difficilement exploitable. Malgré les bons rendements obtenus lors de l'étape de protection, l'étape de lactonisation reste très limitante. Seulement la lactone **16** protégée avec un TBDPS a été obtenue avec un rendement maximal de 36%. Afin d'optimiser la synthèse de cette lactone protégée au niveau de l'hydroxyle primaire, une autre voie d'accès (voie B) a été développée (Schéma 37).

II.2.2. Voie de synthèse B

Compte tenu des difficultés rencontrées quant à la stabilité du groupe protecteur, cette stratégie met simplement en œuvre la réaction de lactonisation avant la protection de l'hydroxyle en position 7 (Voie B, schéma 37).

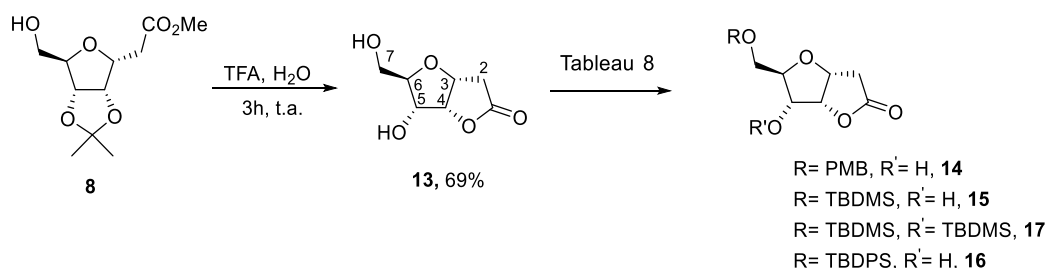


Schéma 39. Synthèse de **14**, **15**, **16** et **17** par la voie B

Cette nouvelle stratégie débute par une hydrolyse de l'isopropylidène acétal suivie de la lactonisation du composé **8** (schéma 39). Le composé **8** a été mis dans une solution à 60% d'acide trifluoroacétique dans l'eau (v/v) pendant 3h à température ambiante pour former la lactone diol **13** avec 69% de rendement. A partir du composé **13**, nous avons ensuite mis au point la protection sélective de l'hydroxyle primaire, tout en laissant le groupe hydroxyle en position 5 libre (tableau 8).

Entrée	Réactif	Conditions	Produit (%)
1	PMB-trichloroacétimide	BF ₃ .OEt ₂ , DMF, t.a.	14 (0) ^a
2	PMB-Br	NaH, DMF /THF, 0°C à t.a.	-
3	TBDMS-Cl	Imidazole, DMF, 0°C à t.a.	15 (36) ^a
			17 (25) ^a
4	TBDPS-Cl	Imidazole, DMF, 0°C à 40°C	16 (48) ^a

a : récupération du produit de départ

Tableau 8. Conditions de protection de l'alcool primaire du composé **13**

Compte tenu du résultat obtenu avec le PMB sur le composé **10**, les mêmes conditions ont été mis en œuvre pour protéger l'hydroxyle primaire du composé **13** (tableau 8, entrée 1). Contrairement au résultat attendu, aucune réaction n'a été observée dans ces conditions-là. Ce manque de réactivité du trichloroacétimide de PMB sur la lactone peut être associé à l'existence d'une liaison H intramoléculaire, entre les OH en position 5 et 7, qui a déjà été observée par Popsavin *et al.* sur d'autres composés bicycliques de type furofuranone.^[325,326] Cette liaison intramoléculaire rendrait les positions 5 et 7 beaucoup moins réactives, le trichloroacétimide se dégrade avant de pouvoir réagir avec la fonction hydroxyle et le composé de départ **13** est récupéré.

Un nouvel essai en présence de PMB-Br et de NaH a été réalisé (tableau 8, entrée 2) et malgré les précautions opératoires (0°C pour l'addition de la base et sous argon), nous avons observé la dégradation du composé laissant suspecter qu'il n'a pas possible d'utiliser NaH (protons acides en alpha du carbonyle) sur le composé **13**.

Pour l'introduction d'un groupement TBDMS sur l'hydroxyle primaire, le composé **13** est mis en présence de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMS-Cl) et d'imidazole (tableau 8, entrée 3). Lors de cette réaction, deux composés ont été obtenus : le composé mono-silylé **15** avec un rendement de 36% et le composé bis-silylé **17** avec 25% rendement. Malgré toutes les précautions prises pendant la réaction, addition à 0°C et utilisation d'un défaut de TBDMS-Cl (0,9 eq.), la formation du composé bis-silylé n'a pas pu être évitée. Ce phénomène pourrait être causé par l'existence de la liaison H intramoléculaire, mentionnée précédemment. La silylation de l'hydroxyle en position 7 ne rendrait plus possible l'établissement de la liaison hydrogène entre les positions 5 et 7, ce qui rend la silylation du OH en position 5 beaucoup plus facile. La synthèse du composé **16** protégé par un groupement TBDPS a été réalisée en mettant en œuvre le même protocole (tableau 8, entrée 4). A température ambiante, seules des traces du produit mono-silylé **16** ont été observées. Le milieu a été alors chauffé à 40°C et le composé **16** a pu être isolé avec rendement de 48%. Même si le milieu a été chauffé, l'encombrement stérique généré par ce groupement protecteur permet d'éviter la formation de l'éther silylé par réaction avec l'hydroxyle secondaire. Les rendements de protection ne dépassent pas 50% mais dans le deux cas (TBDMS et TBDPS), une quantité importante du produit de départ (entre 30 et 50%) est récupérée et peut être à nouveau utilisée.

Ces deux voies A et B permettent d'accéder aux lactones monoprotégées **15** et **16** avec un rendement global similaire $\approx 33\%$. Cependant, avec la voie A, la lactonisation en présence du TBDPS est très peu reproductible et compliquée à contrôler et cette lactonisation n'est pas possible en présence de TBDMS. La voie B a donc été choisie pour obtenir les lactones monoprotégées **15** et **16**.

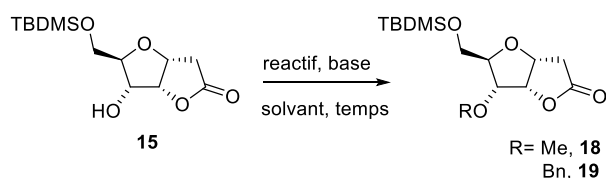
II.3. Fonctionnalisation du groupe hydroxyle en position 5

Une fois les groupements protecteurs TBDMS et TBDPS installés en position 7, la prochaine étape a été l'introduction d'un bras fonctionnalisé avec un azoture nécessaire à la réaction de CuAAC avec un peptide préalablement propargylé.

Cela a donc nécessité la mise au point de conditions opératoires d'éthérisation de l'hydroxyle en position 5. Différentes méthodes ont été envisagées.

II.3.1. Alkylation de type Williamson

Dans un premier temps, une alkylation classique en présence d'un halogénure d'alkyle ou d'un autre agent alkylant et d'une base inorganique a été envisagée pour fonctionnaliser cette position. Avant d'introduire un bras fonctionnel, une optimisation des conditions d'alkylation du composé **15** a été réalisée en utilisant des électrophiles modèles.



Entrée	Réactif	Base	Solvant	T (°C)	t (h)	R	Produit (%)
1	Me ₂ SO ₄	K ₂ CO ₃	DMF	t.a.	24	Me	-
2	Me ₂ SO ₄	NaH	DMF/THF	t.a.	24	Me	-
3	CH ₃ I	NaH	DMF	0 à t.a.	1	Me	-
4	CH ₃ I	NaH	DMF	-30 à t.a.	0,5	Me	-
5	BnBr	K ₂ CO ₃	DMF	t.a. à 70	24	Bn	-
6	BnBr	K ₂ CO ₃	ACN	t.a. à 70	24	Bn	-
7	BnBr	Cs ₂ CO ₃	ACN	t.a. à 70	24	Bn	-
8	BnBr	KHMDS	THF	-80 à t.a.	2h	Bn	-

Tableau 9. Mise au point des conditions d'alkylation du composé **15**

La réactivité de ce groupe hydroxyle a été testée en introduisant tout d'abord un groupement méthyle dans différentes conditions (tableau 9). Dans un premier temps, le diméthylsulfate a été utilisé comme agent méthylant en présence de K_2CO_3 ou de NaH (entrée 1 et 2). Quelle que soit la base utilisée, le composé est totalement dégradé et aucune trace du produit souhaité n'est observée.

Afin d'éviter la dégradation du composé **15**, différentes températures ont été testées. Le composé **15** est mis en présence cette fois-ci avec de l'iodure de méthyle dans le DMF anhydre soit à $0^\circ C$ (entrée 3) soit à $-30^\circ C$ (entrée 4) avant l'ajout du NaH. Dans tous les cas, le produit souhaité ne se forme pas, le composé **15** s'est dégradé très vite avant le retour à température ambiante.

Etant donné l'instabilité du composé **15** en présence d'hydrure de sodium, l'utilisation de bases carbonatées a été envisagée avec un agent d'alkylation de type BnBr afin d'éviter les problèmes liés à l'utilisation de MeI (volatilité et manque de réactivité vis-à-vis du substrat). Le composé **15** a été mis en présence de K_2CO_3 soit dans le DMF (entrée 5) soit dans l'acétonitrile (entrée 6). De nouveau, aucun produit benzylé n'est retrouvé et une dégradation totale du composé de départ a pu être observée. Un autre essai avec BnBr en présence de carbonate de césium dans l'acétonitrile (entrée 7) a été réalisé et comme dans les cas précédents, une dégradation totale du substrat a été observée.

Afin d'éviter les problèmes observés avec les hydrures et les carbonates, une métallation à basse température a été réalisée. Le bis(triméthylsilyl)amide de potassium KHMDS a été choisi pour sa nature non nucléophile, encombrée et possédant un $pK_a \approx 26$. L'addition de KHMDS a été réalisée à $-80^\circ C$ pour éviter une déprotonation en alpha du carbonyle et la dégradation du composé de départ **15**. Environ 30 min après l'ajout de KHMDS, 2 équivalents d'électrophile ont été ajoutés puis le milieu retrouve progressivement une température ambiante. Malgré les précautions prises, le composé s'est dégradé avant d'atteindre la température de $0^\circ C$.

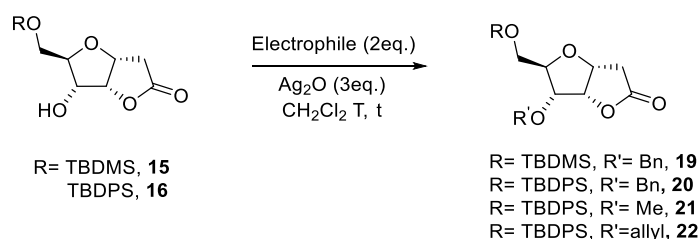
Cette série d'expériences a mis en évidence que l'alkylation du composé **15** en présence d'une base (NaH, K_2CO_3 , Cs_2CO_3 ou KHMDS) conduit à une dégradation totale du substrat. Cela est sans doute dû à la présence de la lactone électrophile possédant elle-même des hydrogènes acides et une réactivité vis-à-vis des bases. Etant donné les résultats obtenus avec le composé **15**, nous n'avons pas exploré la réactivité du composé **16**.

II.3.2. Éthérisation avec Ag₂O

Afin d'éviter l'utilisation d'une base, la formation de liens éther en utilisant l'oxyde d'argent (I) a été envisagée.^[327]

- Mise au point des conditions d'éthérisation avec l'oxyde d'argent

Les conditions d'éthérisation avec Ag₂O ont été mises au point en utilisant des électrophiles modèles comme le bromure de benzyle, l'iodure de méthyle et le bromure d'allyle (tableau 10).



Entrée	Composé	Electrophile	t (h)	R	R'	T (°C)	Produit (%)
1	19	BnBr	48	TBDMS	Bn	t.a. reflux ^a	- 19 (55)
2	20	BnBr	48	TBDPS	Bn	reflux ^a	20 (88)
3	21	MeI	48	TBDPS	Me	reflux ^a	21 (72)
4	22	AllylBr	48	TBDPS	allyle	reflux ^a	22 (35) ^b

a : tube scellé

b : récupération de 40% du produit de départ

Tableau 10. Mise au point de l'éthérisation via Ag₂O.

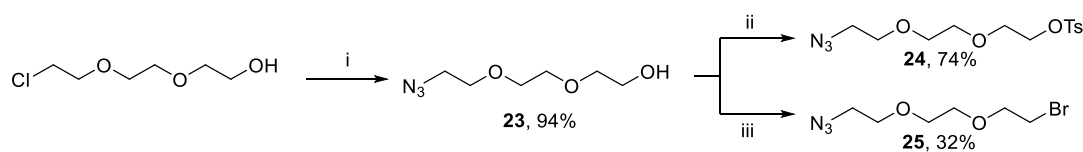
Pour le premier essai, le composé **15** a été solubilisé dans le dichlorométhane et mis en présence d'oxyde d'argent (I) et de bromure de benzyle (BnBr) pendant 24h (Tableau 10, entrée 1). Lors de cette expérience, aucune réaction n'a été observée et le composé **15** a été récupéré. Le composé **15** est alors mis en réaction en présence d'Ag₂O et BnBr mais cette fois ci dans un tube scellé à reflux, ce qui a conduit à la formation du composé **19** avec un rendement de 55%. Le composé **16** a été mis dans les mêmes conditions et en présence de bromure de benzyle (entrée 2). Lors de cette réaction le composé désiré **20** a été obtenu avec 88% de rendement. Dans le but de vérifier si d'autres d'électrophiles réagissent en présence de Ag₂O, le composé **16** a été engagé dans une réaction de O-alkylation avec de l'iodure de méthyle (tableau 10, entrée 3) et du bromure d'allyle (tableau 10, entrée 4). Le composé méthylé **21** et allylé **22** ont été obtenus avec 72% et 35% de rendement respectivement. Pour la réaction d'allylation, 40% du produit de départ

a été récupéré et la pureté du bromure d'allyle peut expliquer ce résultat. Ces résultats concluants nous ont conduit à utiliser cette réaction pour l'introduction d'un bras fonctionnalisé avec un groupement azoture (N_3).

- Synthèse et introduction de bras portant un azoture

Etant donné que la molécule finale envisagée pourrait avoir un caractère très lipophile notamment si l'on considère la nature du fluorophore de type cyanine, nous avons souhaité augmenter son hydrosolubilité, en vue d'application *in vivo*, par l'introduction d'un bras de type polyéthylène glycol (PEG). Les polymères de type (PEG) sont des composés approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) et sont considérés comme l'un des polymères les plus utilisés pour des applications dans le milieu de la santé. De plus, le bras PEG servira de bras espaceur afin d'éloigner le peptide de la plate-forme pour diminuer l'encombrement stérique et améliorer l'affinité de l'agent dual.

Pour l'introduction de ce bras PEG fonctionnalisé avec un groupement N_3 en position terminale, un PEG portant un groupement partant de type tosylo (*p*-toluènesulfonylo) et un autre portant un brome ont été synthétisés (Schéma 40).



i: NaN_3 , H_2O , reflux, 16h; ii: $TsCl$, $DMAP$, Et_3N , CH_2Cl_2 , 0 °C, 16h; iii) PBr_3 , $CHCl_3$, reflux, 16h.

Schéma 40. Synthèse du PEG fonctionnalisé par un groupement azoture.

Dans un premier temps, le 2-(2-(2-chloroéthoxy)éthoxy)éthanol commercial a été mis à réagir avec NaN_3 à reflux dans l'eau pour fournir le composé azoture **23**. A partir de ce produit **23**, une réaction de tosylation dans des conditions classiques^[328] a été réalisée permettant d'obtenir le composé tosylo **24** avec un rendement de 74%. En partant du même composé **23**, une réaction de bromation^[329] a été réalisée pour donner le composé **25** avec un rendement de 32%.

Les composés portant un azoture **24** et **25** ont été mis en présence du composé **15** dans les conditions optimisées précédemment (2 eq. de Ag_2O)(schéma 41).

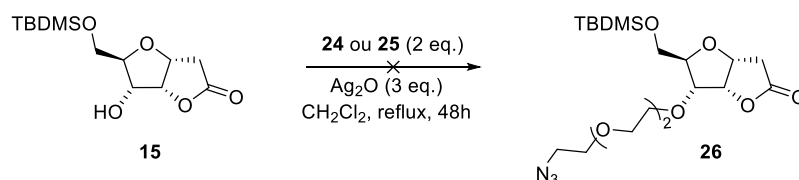


Schéma 41. Alkylation du composé **15** avec de les dérivés PEG azoture **24** ou **25**

Dans un premier temps, le composé **24** a été utilisé comme électrophile mais malheureusement aucune réaction n'a été observée, ceci étant certainement dû au mécanisme de la réaction qui implique la précipitation d'un halogénure d'argent, fortement insoluble dans les solvants organiques et qui permet de déplacer la réaction. Le tosylate d'argent formé dans ce cas étant quant à lui soluble dans les solvants organiques, nous avons supposé que cela pouvait expliquer que la réaction n'ait pas eu lieu. Pour pallier à ce souci, le dérivé PEG bromé **25** a été mis en réaction avec le composé **15**. Cependant, le résultat a été le même que précédemment, aucune trace du composé **26** n'a été observée.

En considérant les résultats positifs obtenus avec le bromure de benzyle, un dérivé de type bromobenzyle substitué en position *para* par un PEG azoture a été synthétisé et mis en réaction avec le composé **15** (Schéma 42).

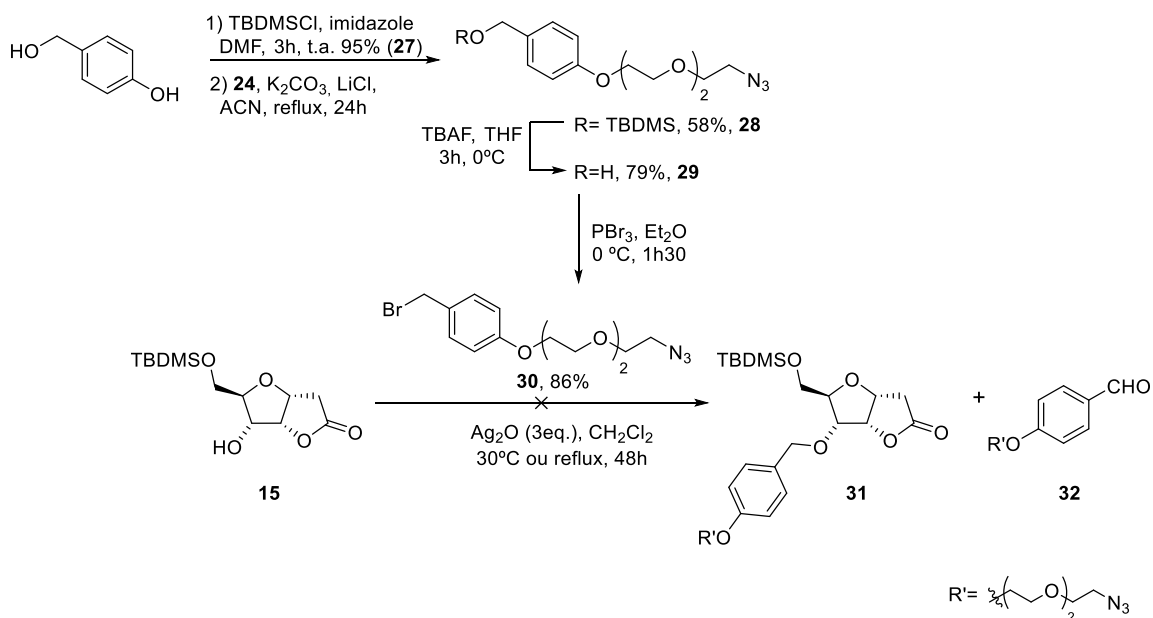


Schéma 42. Synthèse et introduction du dérivé benzyle *para* substitué **30** par étherification avec Ag_2O

Dans un premier temps, le 4-hydroxyméthyl phénol a été protégé avec un TBDMS^[330] conduisant au composé **27** avec 95% de rendement. Ce composé **27** a été engagé dans une réaction de *O*-alkylation avec le PEG fonctionnalisé **24**. Ces deux composés ont été

solubilisés dans l'acétonitrile puis mis en présence de K_2CO_3 à reflux pendant 24h pour donner le composé **28** avec un rendement de 58%. Le composé **29**, issu de la déprotection du TBDMS en milieu fluorure (TBAF),^[330] a été bromé en utilisant du PBr_3 comme agent de bromation à 0°C pendant 2h.^[331] Le composé bromé **30** obtenu avec 86% de rendement, a été utilisé directement sans purification supplémentaire, étant donnée sa faible stabilité sur silice.

Un premier essai d'alkylation du composé **15** a été réalisé. Les deux composés solubilisés dans le dichlorométhane ont été mis en présence d' Ag_2O à 30°C pendant 48h. De façon inattendue, aucune trace du composé alkylé **31** n'a été identifiée dans le milieu réactionnel. Nous avons observé la formation de l'aldéhyde **32** correspondant à une oxydation inattendue du dérivé bromé **30** (Schéma 42). Dans l'hypothèse que l'aldéhyde se forme suite à un temps de réaction trop long, un nouvel essai a été réalisé en mettant le milieu réactionnel à reflux et avec un temps de réaction réduit (16h). Ce nouvel essai a conduit au même résultat que précédemment.

Afin de comprendre la formation de l'aldéhyde **32**, une étude par RMN 1H a été réalisée (figure 34).

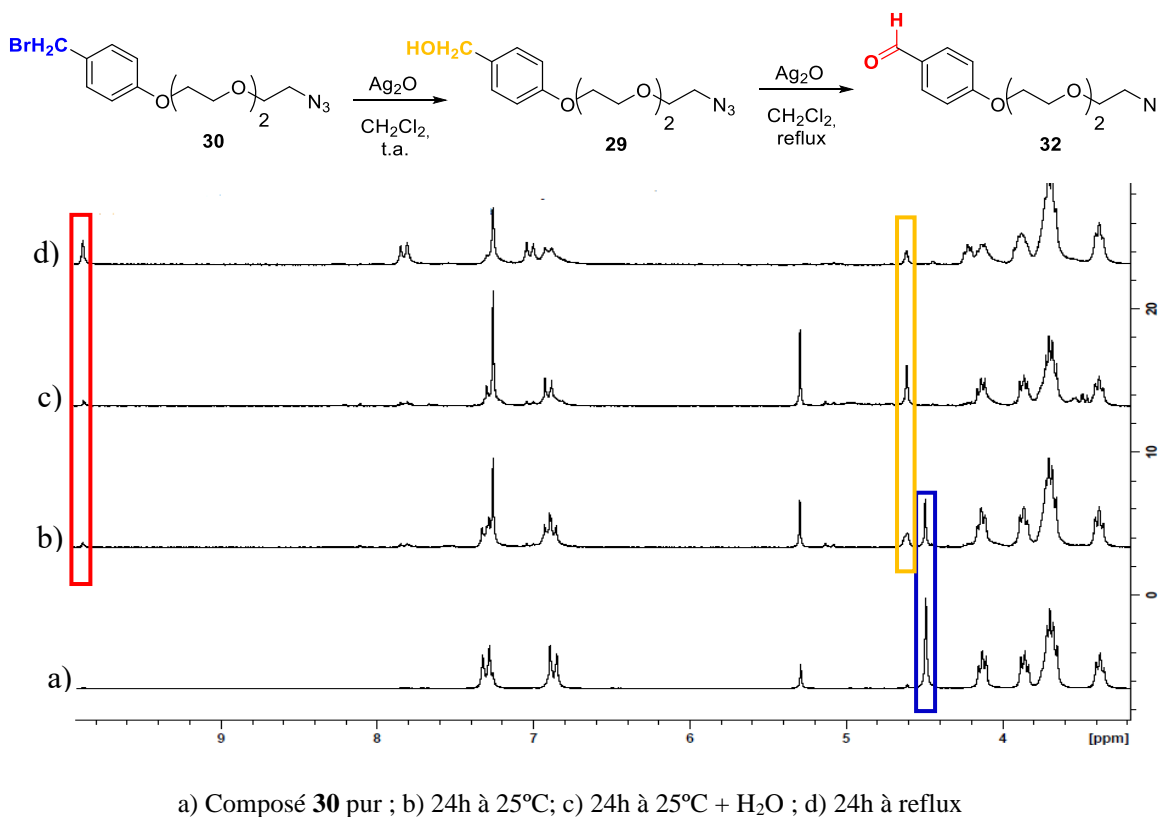


Figure 34. Etude RMN 1H de l'évolution du composé **30** dans les conditions d'alkylation avec Ag_2O

Le composé **30** a été mis en solution dans le dichlorométhane anhydre à 25°C en présence d'Ag₂O. Au bout de 16h de réaction, l'analyse RMN ¹H du milieu (figure 34b) a montré la diminution du signal à 4,49 ppm correspondant au CH₂ benzylique du composé bromé **30** (bleu). De même, deux nouveaux singulets ont été observés : 4,61 ppm qui correspond au CH₂ du composé hydroxylé **29** (jaune) et 9,88 ppm correspondant au proton aldéhydique du composé **32** (rouge). Ce résultat indique que le composé **30** s'hydrolyse même en absence d'eau dans le milieu pour donner dans sa majorité le composé **29**.

Le mécanisme d'éthérisation via Ag₂O génère des halogénures d'argent mais aussi une molécule d'eau. Pour se mettre dans les conditions utilisées lors des essais d'éthérisation avec Ag₂O, deux gouttes d'eau ont été ajoutées au milieu réactionnel et le milieu a été remis à 25°C pendant 24h supplémentaires (figure 34c). Lors de l'analyse RMN ¹H, la disparition complète du composé **30** (singulet à 4,49 ppm) et la formation totale du composé **29** a été confirmée. Ce qui montre qu'en présence d'eau, le composé bromé n'est pas stable.

Pour se mettre dans les conditions opératoires optimales d'éthérisation mise au point avec le bromure de benzyle (tableau 10, entrée 1 et 2), le milieu a été remis à reflux pendant une nuit (figure 34d). Sans surprise, une augmentation significative de l'aldéhyde **32** (singulet à 9,88 ppm) a été observée ainsi que la consommation du composé **29**.

Dans le cas de BnBr, le suivi CCM de la réaction montrait une dégradation du bromure de benzyle mais la formation de l'aldéhyde correspondant n'a jamais été observée.

Grâce à cette étude, il a été montré que le composé **30** n'est pas stable dans les conditions réactionnelles employées. Ceci est peut-être dû à l'effet de l'oxygène en position *para* et/ou de l'azoture. Aucune référence relatant cette oxydation a été retrouvée dans la littérature.

Un dérivé benzylique sans oxygène en position *para* et également fonctionnalisé par un groupement azoture, le 1-(2-azidoéthyl)-4-(bromométhyl)benzène, a été synthétisé et utilisé comme électrophile fonctionnel (Schéma 43).

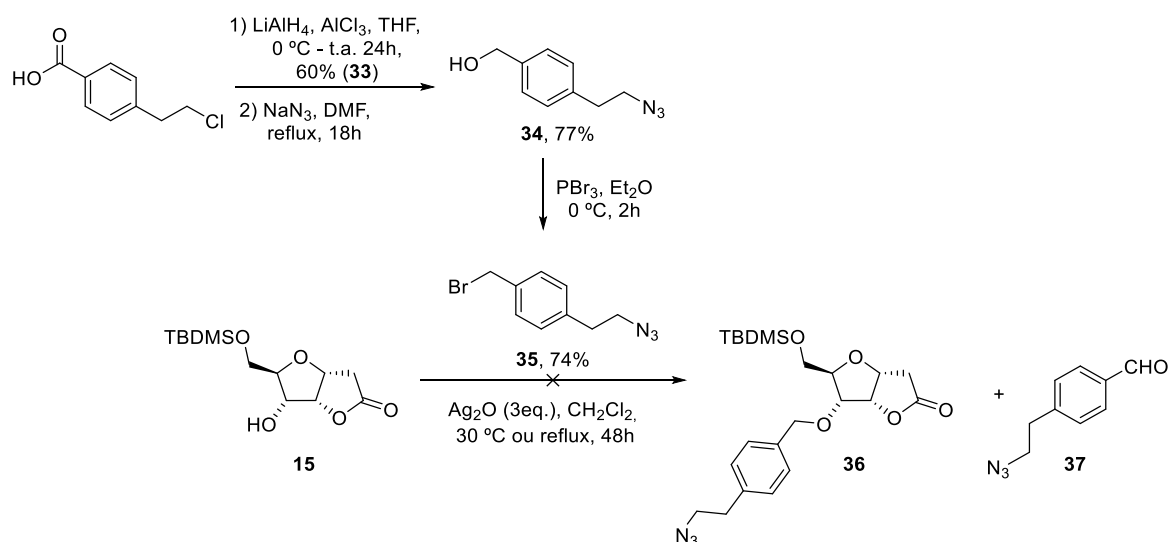


Schéma 43. Synthèse du composé **35** et alkylation du composé **15**

La première étape de la synthèse a été la réduction de l'acide carboxylique de l'acide 4-(2-chloroéthyl)benzoïque commercial par LiAlH_4 . L'alcool **33** a ensuite été engagé dans une réaction de substitution nucléophile pour introduire le groupement azoture conduisant au composé **34** avec 77% de rendement. La dernière étape a été la bromation de **34** afin d'obtenir le composé bromé **35** utilisé directement sans purification.

Le composé **35** a été mis en solution avec le composé **15** en présence d'oxyde d'argent (I) soit à $30\text{ }^\circ\text{C}$, soit à reflux, pour obtenir le composé **36**. De façon assez surprenante, dans les deux cas, l'aldéhyde correspondant (**37**) a été obtenu. Ceci semble indiquer que l'oxygène en *para* n'est pas un facteur qui conduit à la formation de cet aldéhyde.

Dans la littérature, jusqu'à présent, aucune référence d'éthérisation avec de l'oxyde d'argent (I) en présence d'un azoture n'a été publiée et il semble que la présence de l'azoture ne soit pas favorable à la réaction d'éthérisation. Par conséquent, d'autres moyens d'introduction du groupement azoture ont été explorés.

II.3.3. Introduction directe d'un azoture

Nous avons envisagé d'introduire l'azoture sur le composé **15** directement par substitution nucléophile sans utilisation d'un bras espaceur (schéma 44).

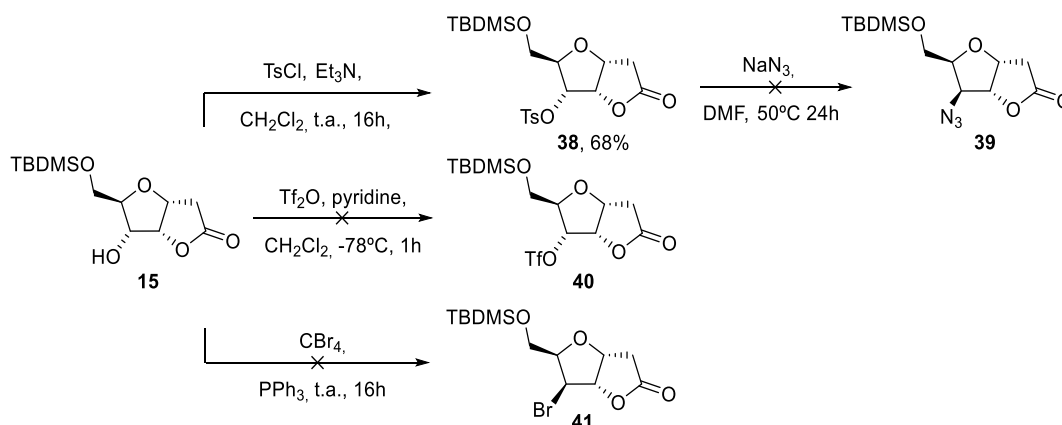
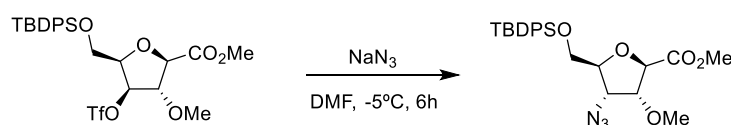


Schéma 44. Fonctionnalisation du composé **15** avec un groupement partant et introduction du N₃

Dans un premier temps, le groupement *p*-toluène sulfonyle (tosyle) a été choisi comme groupe partant (schéma 44). Le composé **15** a été mis en solution dans le dichlorométhane en présence de chlorure de tosyle (2 eq.) et de triéthylamine (2 eq.) pour fournir le composé **38** avec un rendement de 68% après purification.^[185] Ce composé **38** a été engagé dans une réaction d'azoturation dans le DMF en présence d'azoture de sodium (1.2 eq.) à température ambiante. Après 24h, aucune réaction n'a été observée, c'est pourquoi le milieu a été chauffé à 50°C pendant 24h supplémentaires. Après ce chauffage, aucune trace du composé **39** ni du composé de départ **38** n'ont été observées. Cette dégradation peut être attribuée à un manque de réactivité et de vitesse de réaction du groupement tosyle vis-à-vis de l'azoturation. Pour pallier à ce manque de réactivité, deux autres groupes partants ont été choisis, un triflate (composé **40**) et un brome (composé **41**). Malgré l'utilisation des conditions décrites dans la littérature,^[332,333] aucun de ces groupes partants n'a pu être introduits sur le composé **15**. Nous avons observé la dégradation complète du réactif de départ alors que ces types de réactions sont décrites sur des dérivés de type furanose, mais ne comportant pas un motif de lactone bicyclique (schéma 45).^[332,333]

Chakraborty et al.



Guri et al.

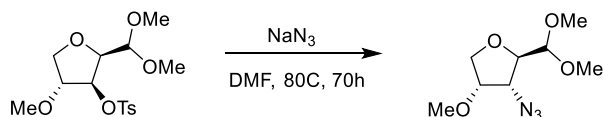
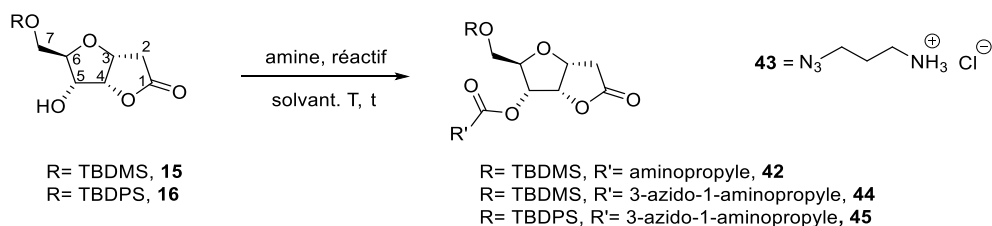


Schéma 45. Réactions d'azoturation sur des motifs de type furane décrits dans la littérature

Les problèmes rencontrés lors de l'activation de la position 5 n'ont pas permis l'introduction directe du motif azoture.

II.3.4. Fonctionnalisation *via* un lien carbamate

L'introduction du bras fonctionnel via un lien carbamate a ensuite été envisagée.



Entrée	Composé	Amine	Réactif	Base	Solv.	T (°C)	t (h)	Pdt (%)
1	15	aminopropyle	4-NPC*	Et ₃ N	CH ₂ Cl ₂	t.a.	48	42 (0)
2	15	aminopropyle	CDI	Et ₃ N	THF	t.a.	24	42 (traces)
3	15	aminopropyle	CDI	-	THF	15°C	4	42 (66)
4	15	43	CDI	-	THF	15°C	18	44 (58)
5	16	43	CDI	-	THF	15°C	18	45 (68)

*4-NPC= 4-nitrophényl chloroformiate

Tableau 11. Mise au point de la formation du lien carbamate.

Pour la formation d'un lien carbamate, une activation préalable de l'alcool doit être réalisée, suivie de la réaction avec une amine afin d'obtenir le composé souhaité. Pour réaliser cette activation, deux réactifs ont été sélectionnés : le carbonyldiimidazole (CDI) et le 4-nitrophényl chloroformiate (4-NPC). Dans un premier temps, la mise au point des conditions a été réalisée en utilisant une amine modèle, la propylamine (tableau 11).

Le premier agent d'activation testé a été le 4-NPC (1.2 eq) mis en solution dans le dichlorométhane en présence du composé **15** et de la triéthylamine (10 eq.). Lors du suivi

CCM, plusieurs composés ont été observés mais aucun correspondant au composé désiré **42**.

Un nouveau protocole d'activation de l'alcool par CDI a été utilisé.^[334] Le composé **15** a été mis en solution dans le THF avec 1.2 eq. de CDI à température ambiante pendant une nuit. Une fois la formation du composé activé vérifiée par CCM, la propylamine (1.5 eq) et la triéthylamine (2 eq.) ont été ajoutées (tableau 11, entrée 2). Après 24h de réaction, des traces du composé **42** et la formation de plusieurs sous-produits ont été observées. Nous avons notamment observé la formation du dihydrofurane **46** qui peut être expliquée de la manière suivante (figure 35a). La basicité du milieu due à la présence de triéthylamine, favoriserait dans un premier temps, la déprotonation en alpha du carbonyle (protons acides) conduisant à la formation d'une double liaison conjuguée ainsi qu'à l'ouverture du cycle. Une fois le composé intermédiaire formé, l'excès de triéthylamine pourrait déprotoner le carbone en position 4 qui possède des protons acides (en alpha d'une double liaison et d'un groupement ester) pour générer la double liaison, favorisée par le départ du carbamate sous forme de CO₂ et d'imidazole. D'autre part, la formation d'un autre sous-produit issu de l'ouverture de la lactone **47** par l'excès de propylamine du milieu a aussi été observée (figure 35b).

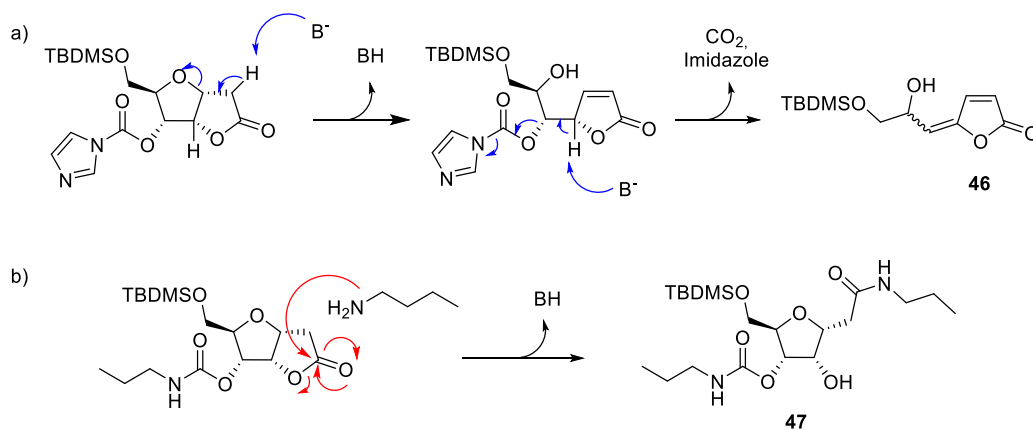


Figure 35. a) Elimination du carbamate et formation du diène **46** b) formation du composé **47** issu de l'ouverture de la lactone

De manière à éviter la formation de ces différents sous-produits visiblement due à la triéthylamine présente dans le milieu, un nouvel essai a été réalisé sans base (tableau 11, entrée 3). Dans ce cas, le composé **15** a été mis en solution dans le THF anhydre en présence de CDI (1.2 eq.) pendant 3h à température contrôlée (15°C). Ensuite et comme précédemment, la propylamine (1.5 eq.) a été ajoutée à 15°C. Après 1h de réaction, un traitement en milieu acide pour éliminer l'amine restante et l'imidazole formé lors de la

réaction et une purification sur colonne de silice ont conduit au composé **42** avec 66% de rendement.

Les conditions opératoires étant mises au point pour la propylamine, une amine fonctionnalisée avec un azoture, le chlorhydrate de 3-azidopropylamine **43**, a été synthétisée en suivant le protocole décrit dans la littérature.^[335] Pour l'introduction de ce nouveau composé azoture **43** neutralisé au préalable avec de la triéthylamine, les conditions mises au point avec la propylamine ont été utilisées (tableau 11, entrée 4). Le composé **44** a été obtenu avec un rendement de 58% après purification. De la même manière, l'amine fonctionnalisée **43** a été introduite sur le composé **16** en suivant le même protocole (tableau 11, entrée 5) et le composé **45** a ainsi été obtenu avec un rendement de 68%.

La synthèse a ensuite été poursuivie uniquement sur le composé **45**, protégé avec un TBDPS compte tenu des observations et résultats concernant la protection de l'hydroxyle en position 7 (cf paragraphe II.2.2.) et en considérant la stabilité du groupe TBDPS par rapport au TBDMS, notamment en milieu acide. En effet en conditions acides le TBDPS est stable 255 min vs 1 min pour le TBDMS dans une solution de HCl à 1%.^[336] Nous avons poursuivi la synthèse par l'étude de l'ouverture de la lactone du composé **45** avec une amine.

II.4. Ouverture de la lactone et protection du OH en position 4

La lactone **45** obtenue présente donc un bras azoture introduit en C-5. L'objectif est à présent d'introduire un bras comportant une fonction amine permettant d'envisager le couplage avec la cyanine 5 par formation d'un lien amide. Ceci conduira à un groupement hydroxyle en position 4 qu'il sera nécessaire de protéger en prévision de la réaction de radiofluoration ultérieure. Nous avons envisagé l'introduction d'une diamine monoprotégée par ouverture de la lactone (Schéma 46).

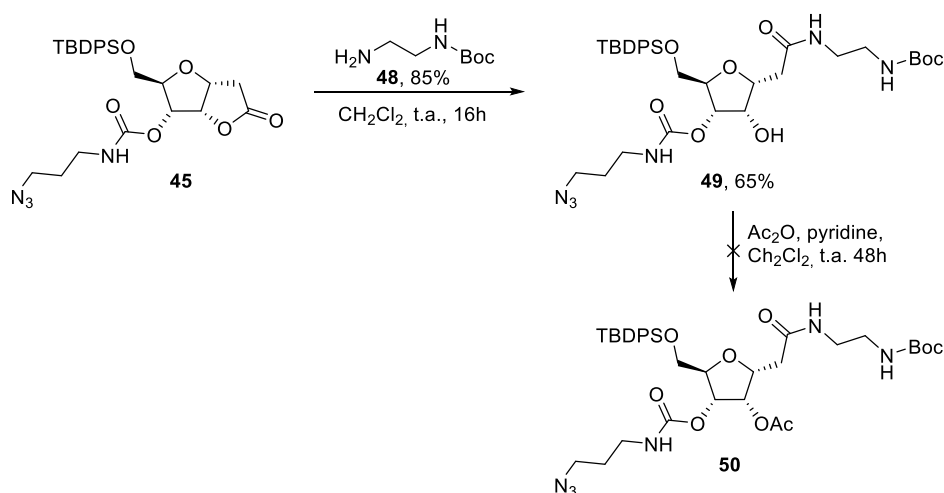


Schéma 46. Ouverture de la lactone **45** et protection de l'alcool en position 4

A partir de la diéthylamine commerciale, une mono protection avec un groupement *tert*-butoxycarbonyle (Boc) a été réalisée ^[337] afin d'obtenir la diamine monoprotégée **48**. Pour l'ouverture de la lactone, après optimisation des conditions, le composé **45** a été solubilisé dans un mélange de dichlorométhane/**48** (1/1, v/v) à température ambiante pendant une nuit pour fournir l'amide **49** avec un rendement de 65%.

II.4.1. Protection du groupe hydroxyle en position 4

L'étape suivante a été de protéger le groupement hydroxyle en position 4. Cette protection est nécessaire, en effet, la radiofluorination peut pas avoir lieu en présence de groupements hydroxyles libres. Un critère de choix pour ce groupement protecteur a été sa facilité à être clivé dans des conditions relativement douces, permettant d'envisager sa déprotection après le radiomarquage.

Par conséquent, nous avons opté pour un groupe acétate. L'introduction de ce groupement a été réalisée dans des conditions classiques, le composé **49** a été mis en présence d'anhydride acétique (4 eq.) et de pyridine (5 eq.) dans du dichlorométhane pendant 48h à température ambiante. De façon surprenante, aucune trace du composé **50** n'a été observée, l'intégralité du composé **49** a conduit à nouveau à la lactone **45** par lactonisation intramolécule avec l'hydroxyle en position 4 (figure 36).

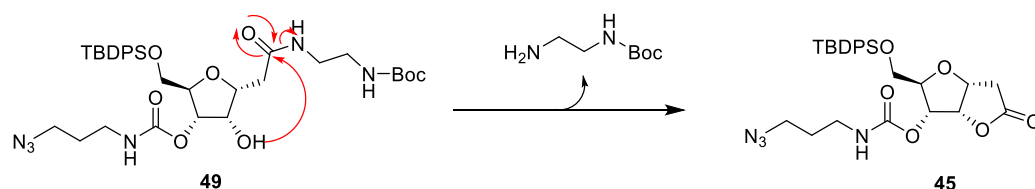


Figure 36. Mécanisme de lactonisation de **49** pour former le composé **45**

Cette nouvelle lactonisation est favorisée soit par les conditions basiques utilisées lors de la réaction de protection soit par le mélange anhydride acétique/pyridine. Un test de stabilité dans la pyridine du composé **49** a été réalisée afin de déterminer si la lactonisation se produit en conditions basiques ou si elle est plutôt issue du mélange des deux réactifs. Il a été observé que lorsque le composé **49** est en présence de la base (pyridine) des traces de lactone **45** sont observées en CCM. Par contre, quand l'anhydride acétique a été ajouté dans le milieu, la formation de la lactone a fortement augmentée. Ces données suggèrent que l'acide acétique formé pendant l'acétylation favorise la lactonisation préférentiellement à la formation de l'acétate.

Etant donné les difficultés rencontrées, nous avons opté pour une acétylation directe de l'hydroxyle en position 4 via une estérification avec un succinimide d'acétyle commercial (schéma 47). Cette réaction a été choisie en considérant que les conditions plutôt douces utilisées pourraient éviter la réaction de lactonisation.

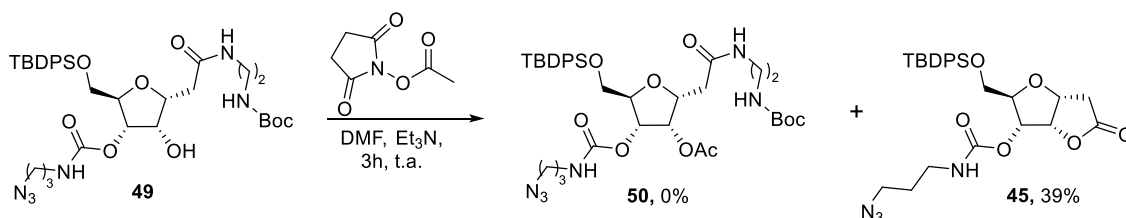


Schéma 47. Acétylation de la position 4 avec un succinimide d'acétyle.

Le composé **49** est mis en réaction dans le DMF en présence de triéthylamine et de succinimide d'acétyle à température ambiante pendant 3h. Malheureusement, lors de cette réaction le produit majoritaire retrouvé a été la lactone **45** (39%) en plus du produit de départ **49** qui n'a pas réagi (49%). Cependant, aucune trace du composé acétylé **50** n'a pu être observée.

Etant donné les difficultés rencontrées lors de l'introduction de l'acétate, un blocage permanent de cette position a aussi été envisagée. C'est pourquoi des essais de méthylation ont été réalisés en utilisant des réactifs comme Ag_2O ou NaH . De façon peu

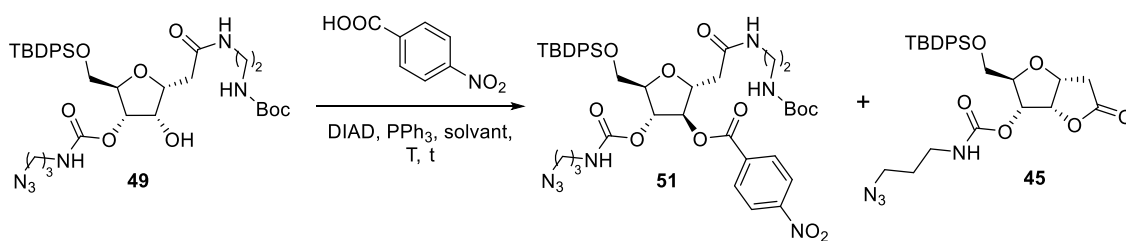
surprenante, ces essais ont conduit respectivement à la récupération du produit de départ et à des sous-produits issus de la dégradation.

Il avait été montré au laboratoire que l'utilisation de conditions acides favorisaient la lactonisation, en passant par un mécanisme d'attaque nucléophile de l'oxygène en position 4 sur la carboxamide.^[310] Il a aussi été prouvé que lorsque le groupement OH en position 4 et le bras pseudo-anomérique ne se trouvent pas sur le même plan du cycle, la lactonisation vers le motif furofuranone ne se produit pas.^[315] Afin d'éviter cette cyclisation spontanée pouvant se produire en conditions acides et en conditions basiques, un changement de configuration de l'hydroxyle en position 4 a été envisagé de manière à placer le OH sur le plan opposé au bras pseudo-anomérique et donc passer d'une configuration 4*S* à une configuration 4*R*.

II.4.2. Protection du OH par inversion de configuration

Pour réaliser cette inversion de configuration, deux méthodes différentes ont été étudiées : la réaction de Mitsunobu et l'introduction d'un groupement partant en position 4 suivi d'une S_N2.

La première méthode d'inversion de configuration essayé a été la réaction de Mitsunobu avec PPh₃, DIAD (azodicarboxylate de diisopropyle) et l'acide *p*-nitrobenzoïque. Différentes conditions ont été testées afin d'optimiser cette réaction (tableau 12).



Entrée	Equivalents			Solvant	T (°C)	t (h)	Produit (%)		
	Acide	PPh ₃	DIAD				51	49	45
1	1,2	1,2	1,2	Toluène	0 à 50	48	0	51	40
2	1,2	1,2	1,2	THF	-50 à t.a.	24	0	48	23
3	1.9	2,8	5,5	THF	0 à 60	4	traces	52	21

Tableau 12. Optimisation de la réaction de Mitsunobu

Le premier protocole utilisé a été celui décrit dans la littérature où tous les réactifs (l'acide, la triphenylphosphine et la DIAD) sont ajoutés en même temps à 0°C.^[338] Après 16h à température ambiante, une quantité importante de produit de départ a été observé

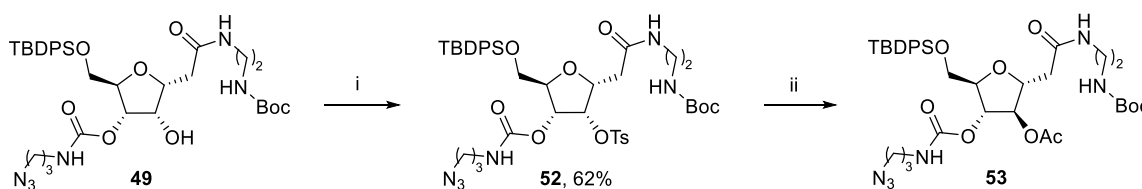
en chromatographie sur couche mince (CCM). Dans le but de favoriser la consommation du produit de départ **49** et la formation du composé **51**, le milieu a été chauffé à 50°C pendant 24h. Lors du chauffage, 40% du composé lactonisé **45** et 51% du produit de départ **49** ont été obtenus. Malheureusement, aucune trace du composé **51** n'a été observée (tableau 12, entrée 1). Deux hypothèses ont été avancées à l'issue de ces résultats. Une première a été que l'intermédiaire phosphonium qui se forme entre le DIAD et le PPh₃ a pu agir comme base et déprotoner l'alcool **49** présent dans le milieu pour former l'alcoolate correspondant. Une fois que le composé est sous forme d'alcoolate, il a été déjà montré au laboratoire que la cyclisation en lactone est très favorisée d'autant plus si le milieu est chauffé.^[310] La deuxième hypothèse a été que l'acidité de l'acide *p*-nitrobenzoïque favoriserait la fermeture de la lactone. Pour vérifier ces deux hypothèses, le composé **49** a été mis en présence soit de DIAD et PPh₃ ou soit seulement en présence d'acide *p*-nitrobenzoïque à température ambiante. Dans les deux cas la formation de la lactone est évidente à partir de 2h de réaction. Au vu de ces résultats, même en travaillant à température ambiante la cyclisation qui conduit à l'obtention du composé **45** n'a pas pu être évitée.

Un nouveau protocole, dans lequel les réactifs sont additionnés de façon contrôlée, a été testé (tableau 12, entrée 2). Dans ce cas-là, la triphenylphosphine et le DIAD sont solubilisés dans le THF à température ambiante et après une heure, le milieu a été refroidi à -50°C. L'alcool **49** a été ajouté et une demie heure plus tard, l'acide *p*-nitrobenzoïque. Le milieu a été laissé à température ambiante pendant une nuit.^[339] Dans ces conditions, aucune trace du composé **51** a été observé. Par contre, par rapport au cas précédent, une formation moins importante de la lactone **45** a pu être constatée.

Un autre mode opératoire de réaction de Mitsunobu sur des dérivés de type furanose décrit dans la littérature a été utilisé (tableau 12, entrée 3).^[340] L'alcool **49**, l'acide et la triphenylphosphine ont été mis en solution dans du THF à 0°C. Un large excès de DIAD a ensuite été ajouté goutte à goutte. Après 16h à température ambiante, la formation du composé **51** n'a toujours pas été observée et la formation de la lactone a par contre été constatée. Dans le but d'accélérer la réaction et consommer le réactif de départ, le milieu est chauffé à 60°C pendant une nuit. A l'issue de ce chauffage, des traces du composé **51** ont été observées par RMN (H-4 shift de 4,50 ppm à 5,53 ppm) en plus du produit de départ **49** (52%) et de la lactone **45** (21%).

Malgré les différents protocoles utilisés et les précautions prises lors de de la mise œuvre de cette réaction la lactonisation n'a pas pu être évitée.

Une autre stratégie passant par une inversion de configuration du carbone en position 4 par S_N2 a été essayé par introduction d'un groupe partant suivi d'une réaction S_N2 avec l'acétate de césium (schéma 48).



i: TsCl, Et₃N, DMAP, CH₂Cl₂, 30°C, 48h; ii: CsOAc, DMF, 100°C, 24h

Schéma 48. Inversion de configuration par S_N2

Dans un premier temps, un bon groupement partant a été introduit en position 4. Le tosylate a été choisi comme groupement partant en vue de sa facilité d'introduction dans des conditions relativement douces et pour sa bonne stabilité. Pour cela, le composé **49** a été mis en présence de chlorure de tosylo, de triéthylamine et d'une quantité catalytique de DMAP (4-diméthylaminopyridine) à 30°C pendant 48h, conduisant au composé tosylé **52** avec 62% de rendement.

Ce composé a ensuite été engagé dans une réaction de substitution nucléophile avec l'acétate de césium à 100°C dans le DMF. Lors de cette réaction la formation du composé acétylé **53** a pu être observée en spectrométrie de masse. Cependant le composé acétylé **53** n'a pas été le composé majoritaire obtenu lors de cette réaction, plusieurs sous-produits ont été obtenus, rendant difficile l'isolement du composé **53**.

Nous avons envisagé qu'un amide secondaire pourrait éviter ces problèmes de lactonisation. Nous avons donc ouvert la lactone avec une amine secondaire, la diéthylamine, en imaginant que celle-ci serait un moins bon groupement partant et pourrait empêcher la lactonisation. Malheureusement, l'utilisation de celle-ci ne permet même pas l'ouverture de la lactone après 72h de réaction.

Compte tenu des difficultés liées à cette lactonisation spontanée en conditions acides et basiques, nous avons opté pour une autre stratégie de synthèse développée dans le chapitre 3.

La synthèse de la plate-forme duale mettant en œuvre cette lactone bicyclique n'a pas abouti. Cependant ce motif bicyclique de type [3.3.0]furofuranone est présent dans plusieurs produits naturels montrant des activités antiprolifératives intéressantes.

Afin de valoriser cet important travail de synthèse et fonctionnalisation de ce motif furofuranone, nous avons réalisé la synthèse et l'évaluation biologique de quelques stéréoisomères des dérivés naturels (+)-Goniofufurone et Crassalactones B et C dont l'essentiel des résultats est exposé dans le paragraphe suivant.

III. Dérivés naturels comportant un noyau bicyclique de type furofuranone

III.1. Introduction

Les dérivés saccharidiques sont souvent utilisés comme produits de départ chiraux pour des synthèses totales et peuvent être également considérés comme des plates-formes centrales « scaffolds » pour la construction de composés bioactifs. En effet, leur structure polyfonctionnelle est très utile dans la conception de composés bioactifs en ajoutant des substituants à des positions sélectionnées, ce qui nécessite le développement de stratégies de synthèse efficaces.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à différents produits naturels et synthétiques bioactifs comportant ce motif [3.3.0]furofuranone.^[341–343]

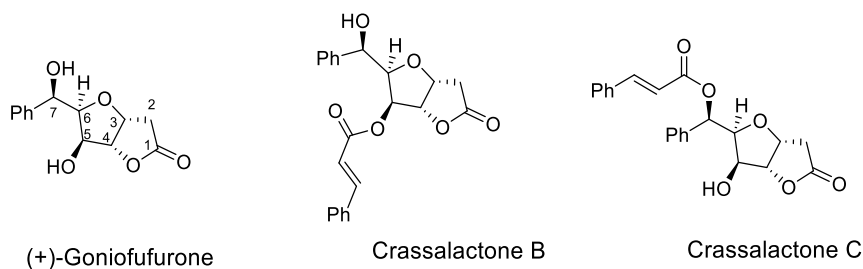


Figure 37. Dérivés naturels portant le motif [3.3.0]furofuranone

Un composé naturel portant le motif [3.3.0]furofuranone est la (+)-Goniofufurone. Ce composé a été isolé de la *Goniothalamus* et sa configuration absolue a été attribuée par Shing *et al.* (figure 37).^[344] Deux autres composés naturels, les Crassalactones B et C, sont des esters d'acide cinnamique de la goniofufurone isolés de la *Polyalthiacrassa* (figure 37).^[345] Ces produits naturels et de nombreux analogues synthétiques ont fait l'objet de développement de plusieurs voies de synthèse. La (+)-Goniofufurone, par

exemple, a été synthétisé à partir du D-glucose par une réaction non classique de Wittig,^[346,347] ainsi que par plusieurs autres voies publiées dans la littérature.^[348–351] La Crassalactone C a également fait l'objet de plusieurs développements synthétiques et Popsavin *et al.* ont publié la première synthèse totale de ce composé à partir du D-xylose.^[352,353] L'équipe de Popsavin a largement exploré la synthèse de plusieurs séries de lactones montrant une activité cytotoxique (montrée par des tests *in cellulo* au MTT) intéressante sur des cellules tumorales humaines. Les dérivés C7-déphenylés, préparés *via* une réaction de Wittig sur le D-xylofurane protégé, ont montré une activité cytotoxique puissante et sélective sur des cellules tumorales humaines.^[354] A partir de ces composés déphenylés, les dérivés 7-halogéno et 7-azido-7désoxy-goniofufurone ont été également étudiés dans le but d'évaluer l'influence du groupement phényle, la stéréochimie et la nature du substituant en position C-7 sur l'activité antitumorale.^[355,356] Parmi les différents dérivés déphenylés, ceux portant un halogène en position 7 se sont avérés plus actifs, dans la plupart des cas, que les dérivés phénylés naturels..^[325,326,350,356] Parmi les différents halogènes testés dans la littérature (F, Br, Cl et I), les composés comportant un iode en position 7 ont présenté des résultats intéressants vis-à-vis de certaines lignées cancéreuses (figure 38a).

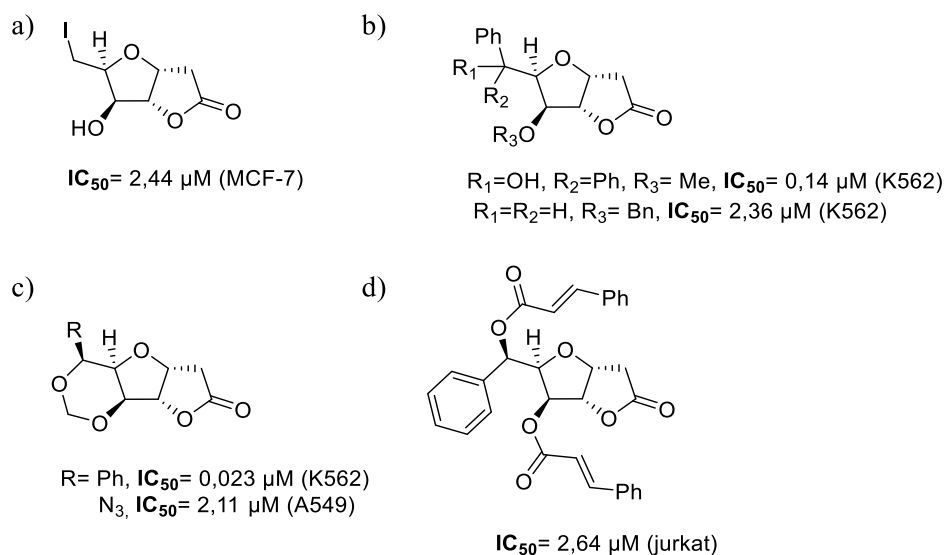


Figure 38. Dérivés actifs synthétisés par Popsavin *et al.* a) Iodé ; b) Méthylé et benzylé en C-5 ; c) Structures contraintes benzylées ou azotures en C-7 ; d) composé bis-cinnamoyl

Une étude de diffraction des rayons X réalisée dans la littérature sur les dérivés de goniofufurone, a montré l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre les groupements hydroxyles en position 5 et 7. Cette liaison H semblerait favoriser la rigidité

de ces composés en leur conférant une conformation compacte. L'influence de cette rigidité sur l'activité biologique de ces composés a été explorée par une étude de relation structure activité (SAR) qui a démontré l'existence d'une corrélation positive entre la rigidification de la structure et l'augmentation de l'activité antitumorale des dérivés de goniofufurone.^[325,326] Des dérivés de la goniofufurone présentant une conformation restreinte grâce à la présence d'un hétérocycle 1,3-dioxane construit entre les positions 5,7 ont été développés et évalués^[326,357] ainsi que des analogues de conformation restreinte portant des groupements halogène, azoture ou benzyloxy en position 7 (figure 38c).^[358]

De même, des publications récentes ont suggéré que la substitution des hydroxyles en 5 et/ou 7 par des groupements méthyle ou benzyle, semblent favoriser cette liaison H en donnant aux composés une rigidité supplémentaire. Les composés substitués ont montré de meilleures activités antiprolifératives vis-à-vis de certaines lignées cancéreuses comme HL-60, Jurkat et Raji (figure 38b).^[325,326] Plus particulièrement, l'introduction d'un groupement benzyle en position 5 induit une augmentation considérable de l'activité antitumorale vis-à-vis de la lignée cancéreuse HL-60 : IC₅₀ de 0,56 µM pour le composé 5-O-Bn par rapport à une IC₅₀ de >100 µM pour le composé non benzylé.^[326]

En ce qui concerne les Crassalactones B et C, Popsavin *et al.* ont aussi étudié les caractéristiques structurelles de différentes styrylactones à partir d'un modèle 3D-QSAR. Cette étude a souligné l'importance du motif ester cinnamique en position C-7 dans l'activité antitumorale.^[359-361] En plus des dérivés naturels, quelques dérivés de crassalactone portant différents substituants ont été synthétisés par Popsavin *et al.* et un dérivé de crassalactone comportant deux esters d'acides cinnamiques en position 5 et 7 a montré une activité significative (figure 38d).^[348,359,362]

III.2. Objectif

Afin de valoriser la synthèse et fonctionnalisation du motif furofuranone, nous avons souhaité réaliser la synthèse et l'évaluation biologique de stéréoisomères de ces dérivés naturels. Cette synthèse a été envisagée en exploitant deux dérivés saccharidiques de configuration D-*gulo* ou D-*ribo*. Les stéréoisomères synthétisés ont soit deux centres asymétriques différents (configuration gulose, figure 39), soit un centre asymétrique différent (configuration ribose, figure 39) par rapport aux composés naturels goniofufurone ou crassalactone.

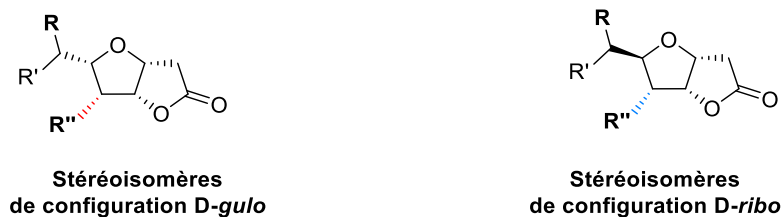
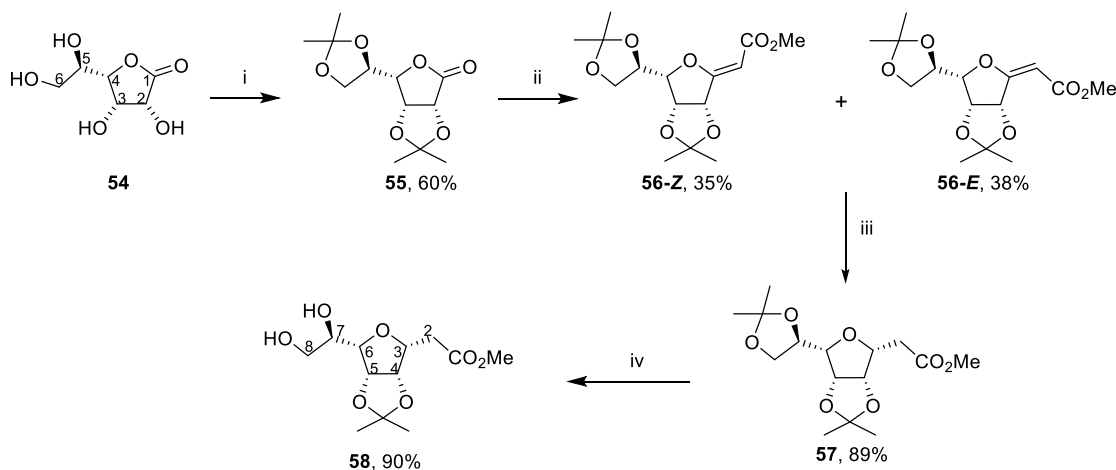


Figure 39. Stéréoisomères des dérivés naturels et des meilleurs analogues de la littérature de configuration *D-ribo* et *gulo*

Les composés synthétisés sont des stéréoisomères (en configuration *gulo* et *ribo*) des composés ayant montré des meilleures activités cytotoxiques dans la littérature : (+)-Goniofufurone, la 7-épi-goniofufurone, les dérivés iodés, les dérivés benzylés et les Crassalactones B et C. Le but était d'étudier l'influence du changement de configuration des centres asymétriques sur l'activité antiproliférative de ces composés naturels.

III.2. Synthèse des stéréoisomères de configuration *D-gulo*

La stratégie est basée, dans un premier temps, sur la synthèse du dérivé C-glycosidique de la même manière que celle décrite dans la partie précédente pour les composés en configuration *ribo*. Le dérivé C-glycosidique de configuration *gulo* **58** a été obtenu en 4 étapes *via* la stratégie des *exo-glycals* (schéma 49).



i: Acétone, H_2SO_4 , t.a., 6h; ii: $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Me}$, toluène, 140 °C, 16h; iii: H_2 (40 psi), Pd/C, AcOEt, 48h; iv: HCl 1M, MeOH, 0°C-t.a., 3h

Schéma 49. Synthèse du dérivé C-glycosidique de configuration *gulo* **58**

Dans un premier temps, les positions 2,3 et 5,6 du composé commercial D-gulono- γ -lactone **54** ont été protégées sous forme d'acétal pour obtenir le composé totalement protégé **55**. Une réaction de Wittig, dans des conditions optimisées au laboratoire, a été

réalisée pour fournir l'*exo*-glycal **56** sous forme de mélange séparable d'isomères *E/Z*.^[363] La réduction de la double liaison exocyclique est réalisée par hydrogénation catalytique en présence de 40% en masse de Pd/C à 10% et de 40 psi d'hydrogène dans de l'acétate d'éthyle pendant 48h (conditions optimales) pour fournir le composé **57** avec un rendement de 89%. Le dérivé C-glycosidique **57** est obtenu de façon stéréosélective grâce au groupement 2,3-isopropylidène qui dirige l'hydrogénation vers la formation de cet isomère. Finalement, une déprotection sélective de l'acétal en position 7,8 a été réalisée. Grâce à des conditions mises au point au laboratoire,^[272] en utilisant une solution aqueuse à 1M d'acide chlorhydrique dans du méthanol pendant 3h le composé **58** a été obtenu avec 90% de rendement. Ces 4 étapes ont permis d'accéder au dérivé C-glycosidique **58** qui est un intermédiaire clé pour la synthèse des différents dérivés mimant les produits naturels envisagés.

III.2.1. Dérivés déphénylés : iodé, diol et benzylé de configuration D-gulo

L'accès aux différents dérivés déphénylés débute par la synthèse du composé **60** issu de la réduction de l'aldéhyde de **58** (schéma 50). L'aldéhyde **59** obtenu par coupure oxydante de **58** a été engagé sans purification dans une réaction de réduction en présence de NaBH₄ dans le méthanol. Lors de cette réaction, le composé **60** a été obtenu avec 64% de rendement pour deux étapes de synthèse correspondant à la coupure oxydante et la réduction.

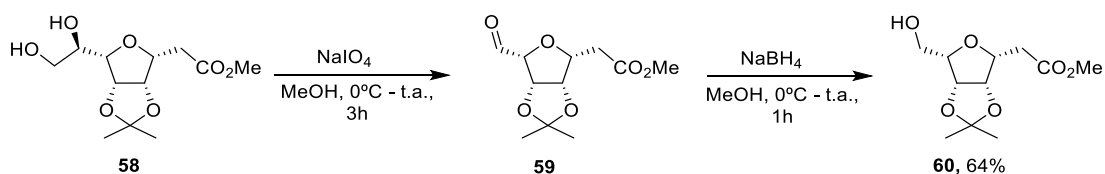


Schéma 50. Synthèse du composé **60**

Le composé **60** est ensuite engagé dans diverses réactions pour conduire aux dérivés halogéné, diol et 5-*O*-Bn (schéma 51).

Afin d'obtenir le composé iodé, le dérivé **60** a été engagé dans une réaction d'iodation dans des conditions décrites dans la littérature^[356] pour donner le composé **61** avec un rendement de 61% (Schéma 51). Une dégradation partielle du composé de départ **60** due à la température élevée nécessaire pour la réaction (aucune conversion à température ambiante), a été à la cause du rendement modéré de cette réaction d'iodation.

A partir du composé iodé **61**, une lactonisation a été réalisée afin d'obtenir le système bicyclique iodé. Comme précédemment, la déprotection du diol et la formation de la lactone ont été réalisées dans des conditions acides. Le composé iodé **61** a été mis en présence d'une solution aqueuse de TFA (TFA/H₂O 2/1 v/v) pour obtenir le composé **62**. Le rendement moyen de 44% obtenu lors de la synthèse peut être attribué à une hydrolyse de l'iode en présence d'eau (formation de la lactone **63**).

A partir du composé **60**, le diol **63** a été obtenu par simple déprotection de l'acétal en milieu aqueux acide (TFA/H₂O) avec 62% de rendement après purification (schéma 51).

Pour la synthèse du composé benzylé, il est nécessaire de protéger l'hydroxyle en position 7 afin d'introduire benzyle sélectivement en position 5. Pour le choix du groupement protecteur, les résultats obtenus précédemment lors de la synthèse des dérivés de ribose ont été mis à profit et le TBDPS a été choisi comme groupement protecteur pour cette synthèse. Deux stratégies ont été explorées pour l'obtention de la lactone monoprotégée **65** : introduire le groupement protecteur TBDPS en partant du composé **60** et ensuite procéder à la lactonisation (voie A) ou l'introduction sélective du groupement protecteur TDBPS sur le composé dihydroxylé **63** (voie B) (schéma 51).

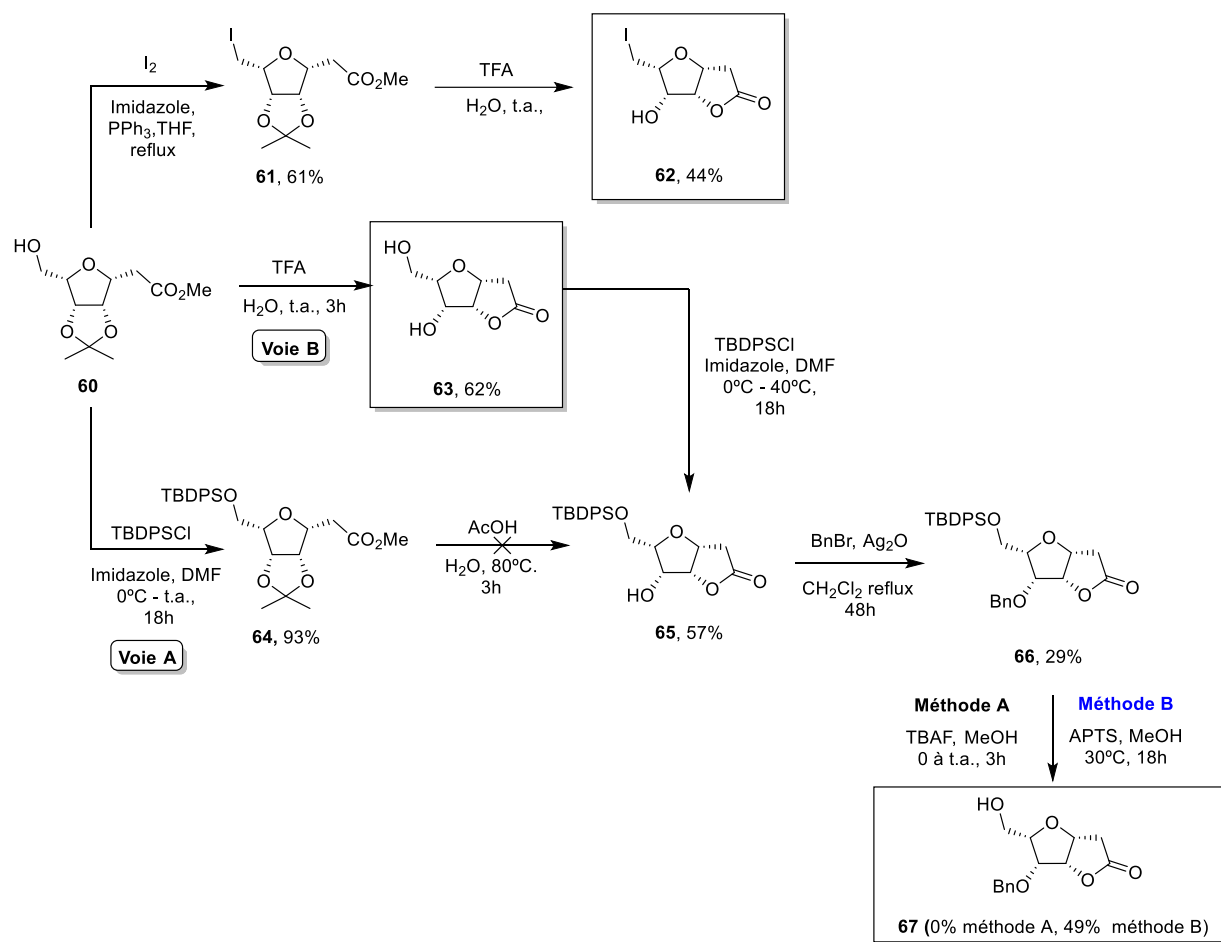


Schéma 51. Synthèse des composés halogéné, diol et benzylé

L'obtention du composé **65** par la voie A a débuté par la protection de l'hydroxyle primaire par le groupement TBDPS, le composé protégé **64** a ainsi été obtenu avec un rendement de 93%. En s'appuyant sur des résultats de la littérature et sur ceux obtenus pour les dérivés de ribose, une déprotection sélective de l'acétal suivi d'une cyclisation en présence d'une solution aqueuse d'AcOH à 80°C pendant 3h a été réalisée pour accéder au composé monoprotégé **65**. Cette méthode a été choisie car, elle permet d'accéder à la lactone monoprotégée de façon plus efficace et avec moins de clivage du groupement protecteur silylé que la méthode utilisée lors de la synthèse de la lactone **63** (solution aqueuse de TFA). Cependant, aucune trace du produit désiré **65** n'a été observée et un temps de réaction plus long (supérieur à 3h) conduit à la formation de la lactone diol **63**.

Contrairement à ce que nous avons observé pour les dérivés de configuration ribo, il n'a pas été possible de déprotéger sélectivement l'acétal en évitant le clivage de l'éther silylé. Une explication possible de cette différence de réactivité entre les dérivés de configuration *ribo* et *gulo* est l'encombrement stérique. Concernant les dérivés du glucose,

tous les substituants sont orientés vers la même face en créant une structure beaucoup plus encombrée que dans le cas des dérivés de configuration *ribo*. C'est pour cela que lorsque les composés de configuration *gulo* ont été mis en conditions de cyclisation en milieu acide, l'encombrement stérique supplémentaire généré par la présence du groupement TBDPS empêcherait la cyclisation. Néanmoins, lorsque les temps de réaction sont prolongés, le TBDPS se clive (peu stable lorsqu'il est exposé de façon prolongée à des milieux acides) ce qui finalement permet la cyclisation. Cela expliquerait qu'avec un temps de réaction plus long seule la lactone dihydroxylée **63** a été obtenue.

Etant donné l'impossibilité d'obtenir le composé **65** par la voie A, une voie de synthèse B a été envisagée (schéma 51). Pour cela, la lactone **63** a été mise en présence de TBDPS et d'imidazole dans un milieu chauffé à 40°C pour favoriser l'introduction du TBDPS. Malgré le fait que la réaction ne soit pas totale, le composé **65** a été obtenu avec un rendement de 57%. Une benzylation a ensuite été réalisée (schéma 51) grâce à la mise au point de celle-ci en présence d'Ag₂O réalisée pendant la synthèse des plate-formes ribose (paragraphe II.3.2.), conduisant à **66** avec un rendement moyen de 29%. Cette réaction n'a pas été totale, du produit de départ a été récupéré lors de la purification. La manque de réactivité du composé vis-à-vis de la benzylation a été attribué à l'encombrement stérique généré à la fois par la lactone cyclique et par le groupement protecteur TBDPS qui se trouvent sur la même face que le groupement hydroxyle à fonctionnaliser. Cela expliquerait la différence de rendement de benzylation par rapport au composé en configuration D-*ribo* obtenu avec 88% de rendement (cf paragraphe II.3.2.).

Afin de cliver le TBDPS des conditions classiques ont été testées : TBAF dans le MeOH à température ambiante pendant 3h (schéma 51, méthode A). Bien que le TBAF a été additionné à 0°C avec un temps de réaction court (moins de trois heures), une dégradation de **66** a été observée. Le sous-produit formé n'a pas pu être isolé, néanmoins, la faible basicité du TBAF et l'instabilité du motif furofuranone en conditions basiques, nous laisse suspecter d'une ouverture de la lactone.

Pour pallier à ce problème attribué à l'utilisation d'un réactif plutôt basique, une déprotection en milieu acide a été testée (Schéma 51, méthode B). Pour cela le composé **66** a été mis en présence d'acide *p*-toluènesulfonique dans le méthanol à température ambiante. Après 3h de réaction aucun changement n'a été observé, le milieu a donc été chauffé à 30°C pendant une nuit. Le composé **67** a finalement été obtenu avec un rendement de 49% après purification.

III.2.2. Stéréoisomères de configuration D-gulo de la goniofufurone et des crassalactones B et C

La (+)-Goniofufurone et les Crassalactones B et C sont des composés portant un groupement phényle en position 7. C'est pourquoi, la synthèse des stéréoisomères de la (+)-Goniofufurone et des Crassalactones B et C de configuration D-gulo, a débuté par une première étape commune, la création d'une nouvelle liaison C-C en position 7.

III.2.2.1. Synthèse des stéréoisomères de la (+)-Goniofufurone et de la 7-*epi*-Goniofufurone

L'introduction du groupement phényle a été réalisée par l'addition d'organomagnésien sur l'aldéhyde intermédiaire **59** (Schéma 52).

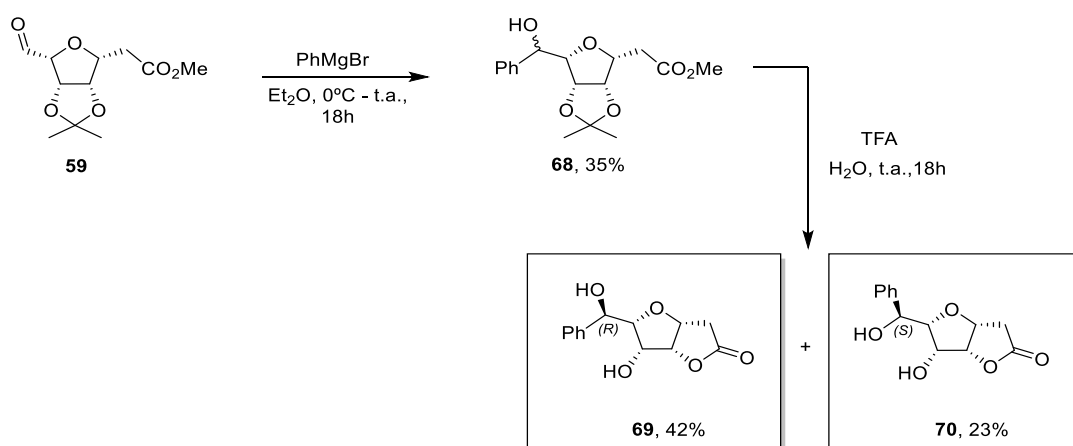


Schéma 52. Synthèse des composés **69** et **70**

Pour réaliser cette addition nucléophile d'organomagnésien sur le carbonyle de l'aldéhyde, le composé **59**, dissous dans l'éther diéthylique, a été mis en présence de 1,2 équivalents de bromure de phénylmagnésium (PhMgBr) à 0°C (tableau 13, entrée 1). Après plusieurs heures à 0°C, aucune évolution n'est observée. Le milieu est donc maintenu à température ambiante pendant 18h, ce qui a permis l'obtention du composé **68** sous forme d'un mélange de diastéréoisomères (ratio 68/32 calculé à partir de l'intégration du signal RMN ¹H du méthyle de l'ester) avec un rendement global de 35%. Plusieurs produits secondaires non identifiés et du produit de départ ont été retrouvés.

Entrée	PhMgBr (eq.)	68 (%)	Ratio R/S	59 (%)
1	1,20	34	68/32	10
2	1,50	31	69/31	7
3	0,95	33	65/35	15

Tableau 13. Mise au point des conditions d'addition du bromure de phénylmagnésium sur **59**

Dans le but de consommer le produit de départ et améliorer le rendement, un nouvel essai mené avec un plus large excès de bromure de phényl magnésium (1,50 eq.) a été réalisé (entrée 2). Malheureusement, aucune différence significative n'a été obtenue quant au rendement de synthèse de **68**. Par contre, une augmentation de la quantité de sous-produits a été observée et une quantité moins importante de **59** a été récupérée. Etant donné que le composé **59** possède une fonction ester, la formation de sous-produits n'est pas totalement surprenante. L'excès d'organomagnésien mise en jeu lors de ce dernier essai, pourrait favoriser l'addition nucléophile sur l'ester expliquant la formation de sous-produits. En ce qui concerne le ratio des deux diastéréoisomères, aucune variation significative n'a été observée.

Afin de limiter la formation des différents sous-produits, un dernier essai avec un défaut de PhMgBr (entrée 3) a été réalisé. Malgré une légère différence dans le ratio R/S (diminution du pourcentage de diastéréoisomère majoritaire R), aucun changement significatif au niveau du rendement du composé **68** n'a été constaté. Par contre, une diminution des produits secondaires a été observée, ce qui a rendu la séparation et purification du composé **68** plus simple.

Plusieurs méthodes de séparation de ces deux diastéréoisomères **68** ont été testées par chromatographie sur gel de silice (flash ou classique) et chromatographie sur gel d'alumine. Malgré l'utilisation de solvants de polarité variables dans différentes proportions, les deux diastéréoisomères n'ont pas pu être séparés. La littérature indique que ce type de diastéréoisomères sont séparables lorsqu'ils sont sous forme d'acétal cyclique.^[348,364] Le composé **68** a donc été utilisé sous forme de mélange de diastéréoisomères.

Une lactonisation du composé **68** a ensuite été effectuée (schéma 52). Pour cette lactonisation, à part l'acétal, aucun groupement acido-labile n'est présent sur la molécule **68**. La déprotection puis cyclisation en présence de TFA dans l'eau a été réalisée avec un rendement global de 65%. Le mélange de diastéréoisomères a été obtenu avec un ratio similaire de 65/35. Malgré une séparation compliquée, les deux diastéréoisomères obtenus lors de la cyclisation ont pu être isolés grâce à l'utilisation d'un éluant chloroforme/acétone 9/1 (v/v). Le diastéréoisomère majoritaire **69** a été isolé avec un rendement de 42% et le stéréoisomère minoritaire **70** avec 23% de rendement.

La détermination de la configuration absolue du nouveau centre asymétrique C-7 a été réalisée par diffraction des rayons X sur le composé **70** (figure 40). Il a été déterminé que le diastéréoisomère majoritaire **69** est celui de configuration 7*R* et le minoritaire **70** est celui de configuration 7*S*.

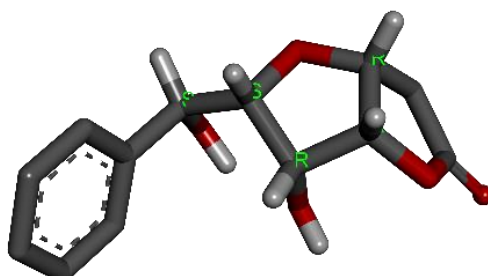


Figure 40. Structure RX du composé **70**

III.2.2.1. Synthèse des stéréoisomères des Crassalactones B et C

La synthèse du stéréoisomère de configuration *D-gulo* de la Crassalactone B (composé portant un cinnamoyle en position 5) a été réalisée en utilisant le composé **68** (mélange de diastéréoisomères 65/35) obtenu lors de l'addition de l'organomagnésien. Afin d'obtenir le composé 5-*O*-cinnamoyle, une fonctionnalisation sélective de la position 5 avec l'acide cinnamique a été nécessaire. Pour cela, la première étape a été la synthèse de la lactone **72** présentant une protection sur l'hydroxyle en position 7 et un hydroxyle libre en position 5 (schéma 53).

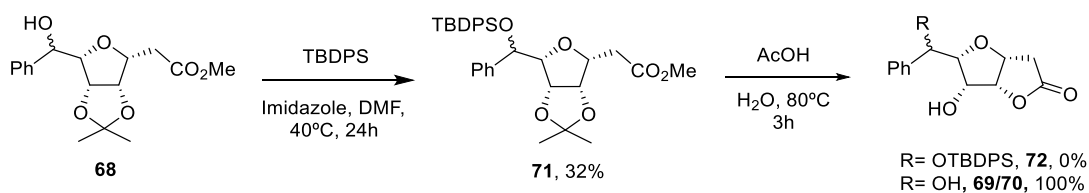


Schéma 53. Synthèse du composé **72**

Le mélange diastéréoisomérique **68** a été mis dans les conditions optimales de silylation afin d'obtenir le composé **71** avec un faible rendement de 32%. L'encombrement stérique du composé **71** a été sans doute un facteur limitant le rendement de protection. A ce stade, une séparation des deux diastéréoisomères a été à nouveau tentée par chromatographie mais sans succès, le composé **71** a été utilisé sous forme de mélange.

Afin de libérer le groupement hydroxyle en position 5 et former la lactone bicyclique, une lactonisation du composé **71** a été réalisée. Les conditions utilisées ont été les mêmes que

lors de la synthèse du composé **65** à partir de **64** c'est-à-dire l'acide acétique à 80% dans l'eau à 80°C pendant 3h. Malheureusement, le composé **72** protégé n'a pas été obtenu. Avec un temps de réaction plus court, aucune réaction n'est observée et un temps de réaction supérieur à 3h, fournit les deux analogues **69** et **70** précédemment obtenus. Ce phénomène a été associé, encore une fois, à l'encombrement stérique des dérivés en configuration *gulo* qui empêche la lactonisation du composé lorsque la molécule présente un groupement encombrant comme c'est le cas du TDBPS. C'est pour cette raison que comme dans les cas précédents, la lactonisation ne se produit qu'une fois le groupement protecteur clivé.

La lactonisation du composé possédant un OH libre en position 7 se produit sans aucun problème, mais n'est pas possible lorsqu'un groupement protecteur encombrant est installé sur cette position. C'est pourquoi, une protection de la position après cyclisation serait nécessaire dans le but de pouvoir avancer dans la synthèse du dérivé la Crassalactone B. Malheureusement si la cyclisation est réalisée dans un premier temps, les lactones obtenues (**69** et **70**) disposent de deux alcools secondaires libres (en position 5 et 7) avec une réactivité très similaire ce qui rend très compliqué d'envisager une protection régiosélective de la position 7. À la vue de cela la synthèse du dérivé de la Crassalactone B n'a pas été aboutie.

En parallèle, l'accès au stéréoisomère de configuration *D-gulo* de la Crassalactone C (composé 5-*O*-cinnamoyle) a été réalisé en deux étapes (schéma 54).

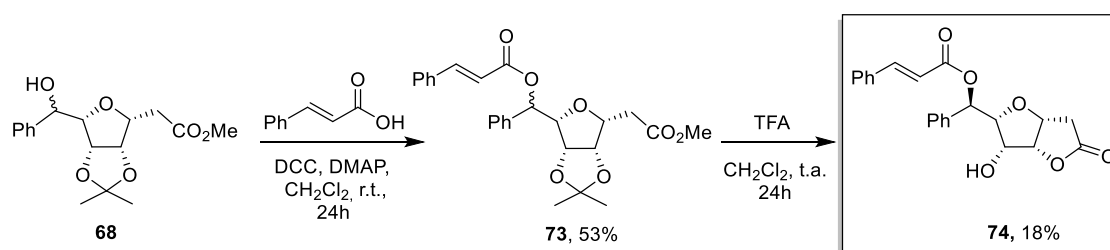


Schéma 54. Synthèse du stéréoisomère de configuration *D-gulo* de la Crassalactone C **74**

L'introduction de l'acide cinnamique a été réalisée dans les conditions décrites dans littérature. Le composé **68** a été mis en présence d'acide *trans*-cinnamique et de *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) dans le dichlorométhane pendant une nuit à 25°C.^[362] Le composé **73** a été obtenu avec un rendement de 53%. Malgré le fait d'avoir ajouté un excès d'agent de couplage et d'acide cinnamique afin de favoriser la formation du produit, 32% de produit de départ ont été récupérés après purification. Cette conversion partielle

du composé **68** n'a pas été surprenante, compte tenu des résultats obtenus pour l'introduction du groupement protecteur. Cela a confirmé que l'encombrement stérique de la molécule joue un rôle important sur la réactivité de ces composés. D'autre part, les deux diastéréoisomères (65/35) n'ont pas pu être séparés à ce stade et le composé **73** a été utilisé sous forme de mélange.

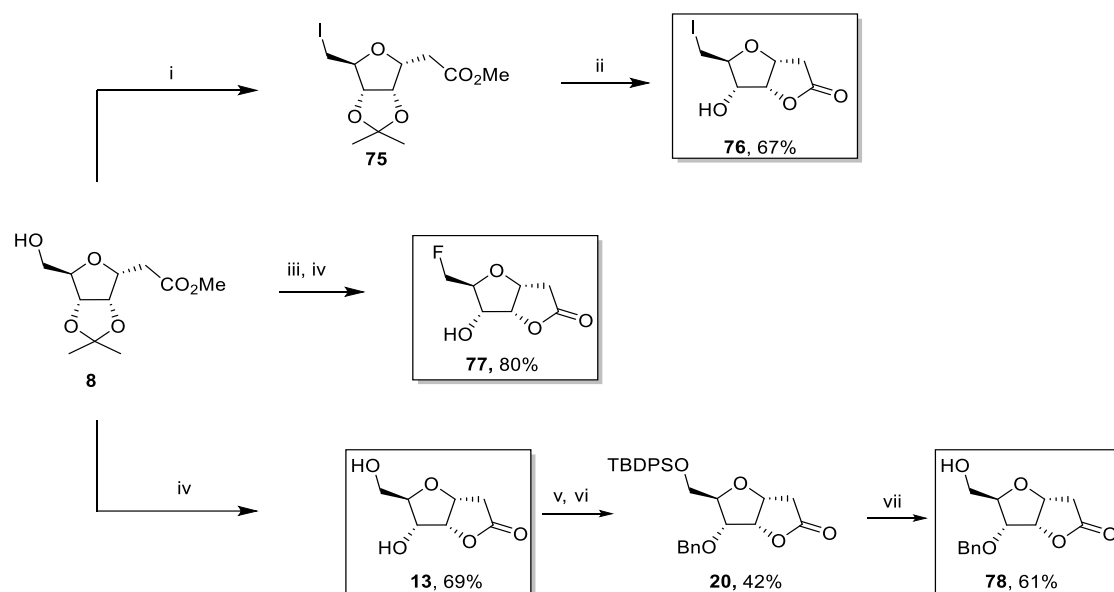
Une fois l'acide cinnamique introduit en position 7, une lactonisation en présence de TFA a été réalisée. Pour éviter l'hydrolyse de l'ester du composé **73** en milieu acide, la réaction a été réalisée sous argon et dans du dichlorométhane anhydre afin d'éviter toute trace d'eau qui pourrait favoriser cette réaction non désirée. Le rendement global de la cyclisation a été de 56% et le ratio des deux diastéréoisomères est resté inchangé par rapport à l'étape précédente. Une séparation des deux diastéréoisomères a été tentée sur chromatographie sur gel de silice avec un éluant de type Et₂O/éther de pétrole. [326,355,365] Le diastéréoisomère majoritaire **74** (configuration 7R) a pu être isolé avec un rendement de 18%, en revanche, le diastéréoisomère minoritaire 7S n'a pas pu l'être.

III.3. Synthèse des stéréoisomères en configuration D-ribo

Pour tirer profit du travail de synthèse déjà réalisé (cf paragraphe II), nous avons ciblé la synthèse de dérivés déphénylés en position 7 qui ont montré des propriétés antiprolifératives prometteuses dans certains cas.

III.3.1. Dérivés déphénylés : halogénés, diol ou benzylé de configuration D-ribo

Les composés en configuration D-ribo comportant un halogène, un hydroxyle et un benzyle en position 5 ont été synthétisés (schéma 55).



i: I₂, Imidazole, PPh₃, THF, reflux, 3h; ii: TFA, CH₂Cl₂, 0 °C - t.a. 3h, 16h; iii: DAST, CH₂Cl₂/ACN, 0°C - t.a. 2h; iv: TFA, H₂O, 0 °C - t.a. 3h; v: TBDPSCI, imidazole, DMF, 40°C, 16h; vi: BnBr, Ag₂O, CH₂Cl₂ reflux, 48h; vii: APTS, MeOH, 30°C, 18h.

Schéma 55. Synthèse des composés déphénylés : **13**, **76**, **77** et **78**

Le dérivé iodé **76**, a été choisi pour garder une cohérence avec les stéréoisomères de configuration *D-gulo*. Celui a été synthétisé de la même façon que précédemment en partant du dérivé C-glycosidique **8** (OH libre en position 7) en deux étapes, iodation puis lactonisation.

Finalement, les dérivés diol **13** et la lactone fluorée **77** en configuration *D-ribo*, obtenus à partir du dérivé C-glycosidique **8** par cyclisation dans le TFA (**13**) et par fluoration au DAST et cyclisation (**77**), ont été aussi testés *in vitro* pour étudier leur activité antiproliférative (schéma 55).

D'une autre part, à partir de la lactone **20**, obtenue précédemment à partir du composé **13** (cf paragraphe II.3.2), la synthèse du composé **78** a été réalisée en une seule étape par déprotection du groupement silylé en présence d'APTS dans le MeOH à 30°C pendant une nuit (schéma 55).

III.4. Evaluation biologique des composés

Les composés 7-halogénés **62**, **76** et **77**, les dérivés 5-*O*-Bn **67** et **78**, les dérivés diol **13** et **63** et les stéréoisomères de la (+)-Goniofufurone et la Crassalactone C **69**, **70** et **74** (Figure 41) ont été évalués en termes de cytotoxicité *in vitro* sur un panel de cellules cancéreuses humaines, notamment les lignées de glioblastomes U87 et U251, la lignée de

médulloblastome DAOY et la lignée cancéreuse mammaire MDA-MB231. Ces tests ont été réalisés au CRAN (UMR 7039) dans le cadre d'une collaboration avec le Dr. C. Boura.

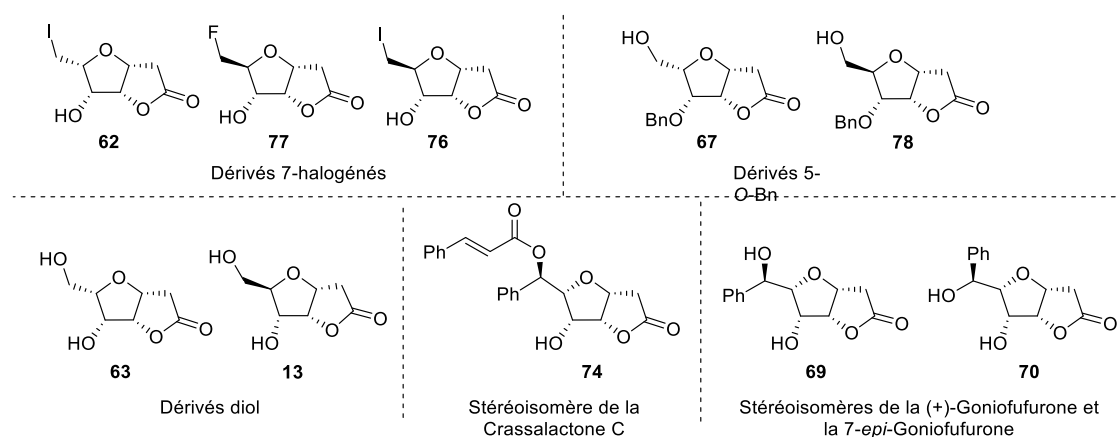


Figure 41. Structure des composés testés

L'activité cytotoxique a été évaluée à l'aide du test standardisé de MTT après 72h de traitement des différentes lignées cellulaires avec les composés à différentes concentrations (0,1, 1, 10, 100 et 250 μM). L'anticancéreux commercial Doxorubicine (Dox) a été utilisé comme référence (figure 42).

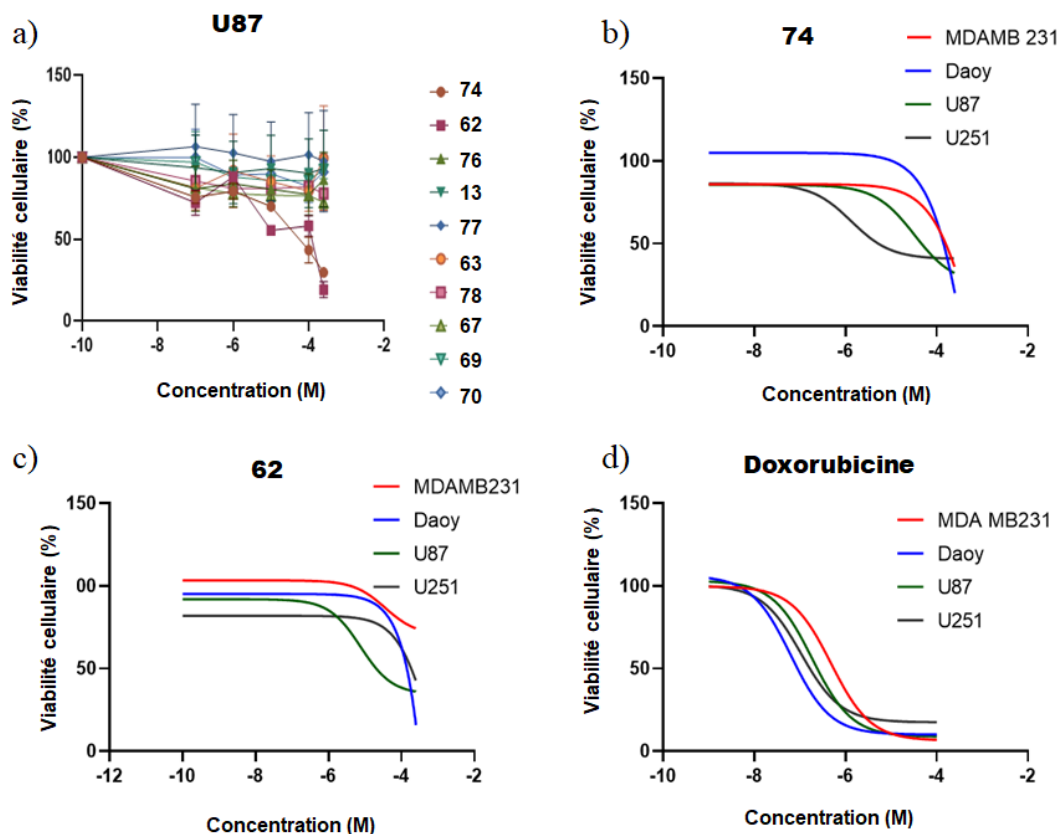


Figure 42. a) activité cytotoxique de tous les composés testés sur la lignée cellulaire U87 ; activité cytotoxique sur les quatre lignées cellulaires testées b) du composé **74** ; c) du composé **62** d) de la Doxorubicine

L'activité cytotoxique de l'ensemble des composés sur la lignée cellulaire U87 est présentée dans la figure 42a. La quasi-totalité des composés présentent une faible activité antiproliférative sur les lignées testées, à l'exception des composés **74** et **62** pour lesquels les IC_{50} ont été calculées (Tableau 14). En particulier, la lactone **74** présente une activité cytotoxique sur les lignées U87 et U251 se traduisant par des IC_{50} de $32,4\mu M$ et $1,34\mu M$ respectivement. Ce composé présente un plus faible effet antiprolifératif sur les lignées MDA-MB231 et DAOY. Le dérivé iodé **62** a montré une activité cytotoxique significative sur la lignée U87 ($IC_{50}=7,6\mu M$). Il est à noter que l'ensemble des composés testés présentent une activité significativement inférieure à l'agent de chimiothérapie Doxorubicine, et ce sur les quatre lignées cancéreuses utilisées.

Composé	IC ₅₀ (μM) ^a			
	MDAMB 231	Daoy	U87	U251
74	534,6	612,4	32,40	1,341
62	nd	141,07	7,606	528,6
Dox	0,4817	0,0629	0,1864	0,106

a. Les valeurs correspondent à la moyenne de trois expériences indépendantes réalisées en quadruplicats. Les coefficients de variation sont <10%.

Tableau 14. Valeurs des IC₅₀ des composés **74**, **62** et Doxorubicine sur les lignées cancéreuses humaines U87 et U251.

Globalement, il apparaît que les stéréoisomères *D-gulo* ou *D-ribo* ne permettent pas de retrouver le niveau d'activité cytotoxique que présentent les composés naturels, laissant supposer que l'arrangement spatial n'est pas adéquat.

En configuration *gulo*, le composé 7-iodé **62** et le stéréoisomère de la crassalactone **74** possèdent les meilleurs effets anticancéreux, qui se traduisent par des IC₅₀<10μM sur les lignées U87 et U251.

Nous avons cherché à déterminer les mécanismes à l'origine de l'effet cytotoxique des composés **74** et **62**, en explorant leur influence sur le cycle cellulaire des cellules U251 par cytométrie en flux. L'équipe de Popsavin a étudié le cycle cellulaire des différents composés qu'ils ont synthétisés ce qui les a conduit à observer que le mécanisme d'action principal de leurs composés était l'apoptose induite par les caspases.^[325,356,358]

La détection des différentes phases du cycle cellulaire est basée sur l'émission de fluorescence de cellules marquées à l'iodure de propidium. L'iodure de propidium est un fluorochrome ($\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 617 \text{ nm}$) qui s'intercale entre les bases de la double hélice d'ADN. Grâce à cette propriété, l'intensité de fluorescence est dépendante de son contenu en ADN. Deux pics de fluorescence pourront alors être observés : les cellules en phase G1 à 2N chromosomes, les cellules en phase G2-M à 4N chromosomes et les cellules en phase S dont la teneur en ADN est entre 2N et 4N. Une phase sub-G1 peut également être observée lorsque les cellules sont en mort cellulaire (apoptose).

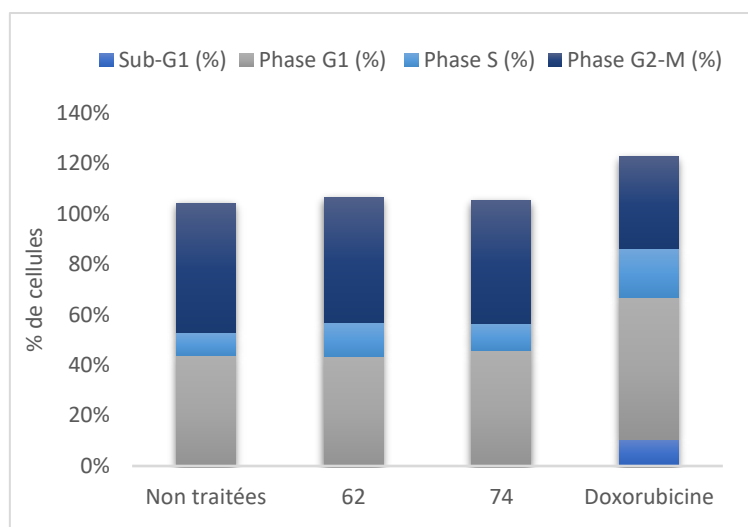


Figure 43. Représentation de la répartition dans le cycle cellulaire des cellules U251 traitées pendant 72h avec 1 μ M des composés **62** et **74** ou avec 0,1 μ M de Doxorubicine

Aucune différence n'a été observée entre les différentes phases du cycle cellulaire pour les composés testés (**74** et **62**) en comparaison des cellules non traitées, alors que la Doxorubicine montre un pic sub-G1 caractéristique d'une forte apoptose cellulaire ainsi qu'une plus forte proportion de cellules en phase non proliférative G1 (figure 43). Par conséquent, l'étude du cycle cellulaire n'a pas permis d'expliquer les effets observés précédemment sur la survie cellulaire à l'aide du test MTT. Nous n'avons pas à ce jour d'explication mécanistique de l'activité cytotoxique observée pour **74** et **62**.

IV. Conclusion

Nous avons exploré la réactivité et la fonctionnalisation du motif [3.3.0]furofuranone vis-à-vis de diverses réactions de protection orthogonales, de *O*-alkylation etc. L'idée initiale était d'utiliser cette lactone bicyclique comme intermédiaire pour la fonctionnalisation sélective de la position 5. Cependant, même si nous avons pu mener à bien cette fonctionnalisation sélective, nous avons sous-estimé la réactivité de la lactone qui s'est avérée plus compliquée à contrôler que ce que nous avons imaginé. Néanmoins, ce travail nous a aussi permis d'acquies des connaissances liées à la complexité de la protection orthogonale, nous permettant de faire les bons choix lors de la stratégie synthétique pour l'obtention de la sonde duale développée dans le chapitre trois.

Finalement, le motif furofuranone a été fonctionnalisé de façon à obtenir des stéréoisomères des produits naturels de la (+)-Goniofufurone ou de la Crassalactones C. La cytotoxicité des stéréoisomères synthétisés a été testée sur un panel de cellules

cancéreuses humaines et deux des composés testés ont montré des IC₅₀ intéressants (> 10μM). Ces résultats ont conduit à la rédaction d'un article scientifique qui sera soumis très prochainement.

CHAPITRE 3
FONCTIONNALISATION D'UNE PLATE-
FORME DE TYPE C-GLYCOSIDIQUE
POLYHYDROXYLEE
ACCES A UNE SONDE DUALE
DIVALENTE

I. Introduction et objectifs

Les difficultés rencontrées lors de la fonctionnalisation de la lactone bicyclique (chapitre 2) nous ont amenés à proposer une nouvelle stratégie de synthèse. Afin d'éviter cette cyclisation difficile à contrôler, nous avons envisagé la réduction de l'ester méthylique en position pseudo-anomérique.

Cette nouvelle voie synthétique permet de disposer de deux groupes hydroxyles secondaires (position 2 et 3) permettant d'envisager une sonde duale, comportant deux peptides de type RGD visant ainsi les avantages de cette divalence au regard de l'affinité moléculaire. En effet, comme évoqué dans le chapitre bibliographique, le fait d'associer un peptide à une sonde d'imagerie de taille non négligeable diminue l'affinité du peptide pour sa cible biologique. L'introduction de plusieurs ligands permet de limiter cette diminution et parfois même d'améliorer l'affinité de façon considérable. Des résultats antérieurs obtenus dans le cadre de la thèse de Timothé Vucko ont justement montré que l'affinité d'un agent dual basé sur une plate-forme de type pyranose, portant un fluor, une cyanine-5 et un seul peptide c(RGDfK) était fortement affectée par rapport au peptide seul ($IC_{50} = 398 \text{ nM}$ vs $15,6 \text{ nM}$).

Dans ce contexte, nous avons donc envisagé la synthèse d'une sonde duale divalente représentée à la figure 44. Une fonctionnalisation régiosélective du dérivé saccharidique est nécessaire, pour introduire :

- La cyanine 5 sur le bras pseudo-anomérique issu de la réduction de l'ester méthylique grâce au groupe fonctionnel 1 (GF_1).
- Un fluor (référence non radioactive) ou un groupe partant permettant la radiofluoruration (précurseur de marquage) (GF_2).
- Deux peptides par coupage de type CuAAC (GF_3) après radiomarquage (approche via une sonde duale avec marquage avant conjugaison).

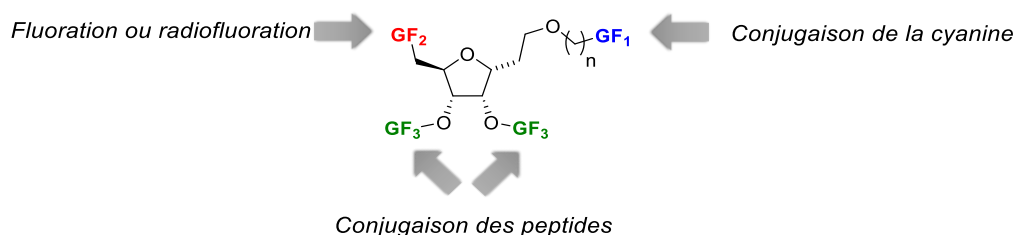


Figure 44. Dérivé C-glycosidique trifonctionnel permettant l'accès à la plate-forme duale divalente

Comme explicité précédemment tout développement de sonde portant un radioisotope nécessite la synthèse du précurseur de marquage (ici sonde duale comportant un bon groupe partant permettant la radiofluoration) et de la référence non radioactive (équivalent de l'agent dual final mais avec un fluor non radioactif). Leur stratégie de synthèse diverge, c'est pourquoi la synthèse de la référence froide sera présentée dans un premier temps.

II. Synthèse de la référence fluorée non radioactive

Ce composé fluoré est en général utilisé pour les tests de binding *in vitro*, les tests cellulaires *in vitro* et les images FPIR *in vivo* ainsi que pour la mise en place des conditions HPLC lors des étapes de radiomarquage. Ce composé comporte les mêmes éléments que l'agent dual final, la seule différence concerne le fluor, la référence froide comporte un fluor non radioactif (fluor-19). Ce fluor non radioactif peut donc être introduit dès le début de la synthèse, ce qui implique une stratégie de synthèse différente pour la référence froide par rapport au précurseur de marquage.

II.1. Fluoration du dérivé C-glycosidique

Le début de la synthèse a donc été centré sur l'introduction du fluor sur la position 7. Pour ceci, deux protocoles de fluoration (A et B) ont été essayés (schéma 56).

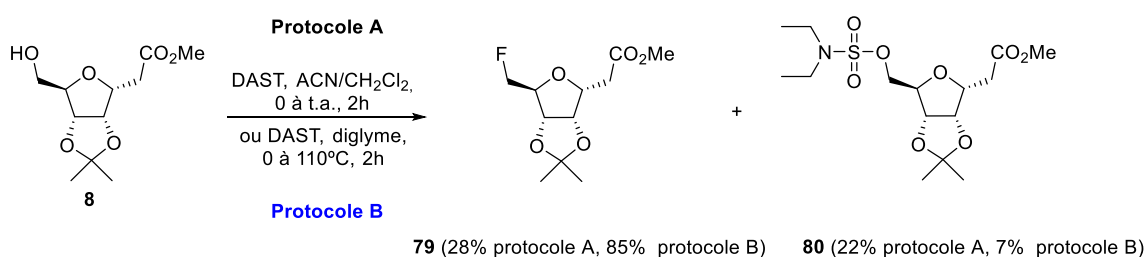


Schéma 56. Synthèse du composé fluoré **79** à partir de deux protocoles

La fluoration de dérivés saccharidiques par le réactif de fluoration DAST (trifluorure de diéthylaminosulfure) a déjà été réalisée dans la littérature et au laboratoire.^[215,358] Pour le protocole de synthèse A, le composé **8** a été solubilisé dans un mélange CH₂Cl₂/ACN à 0°C avant d'ajouter le DAST. Après 2h à température ambiante, le composé **79** a été obtenu avec un rendement de 28%. En plus du composé fluoré, nous avons observé la formation de 22% de composé **80** et nous avons récupéré 51% de produit de départ **8**. La formation du composé sulfamate **80** pourrait être due à l'oxydation du DAST, conduisant

au fluorure de sulfamoyle qui réagit avec le composé **8** pour former ce nouveau composé très stable (figure 45).

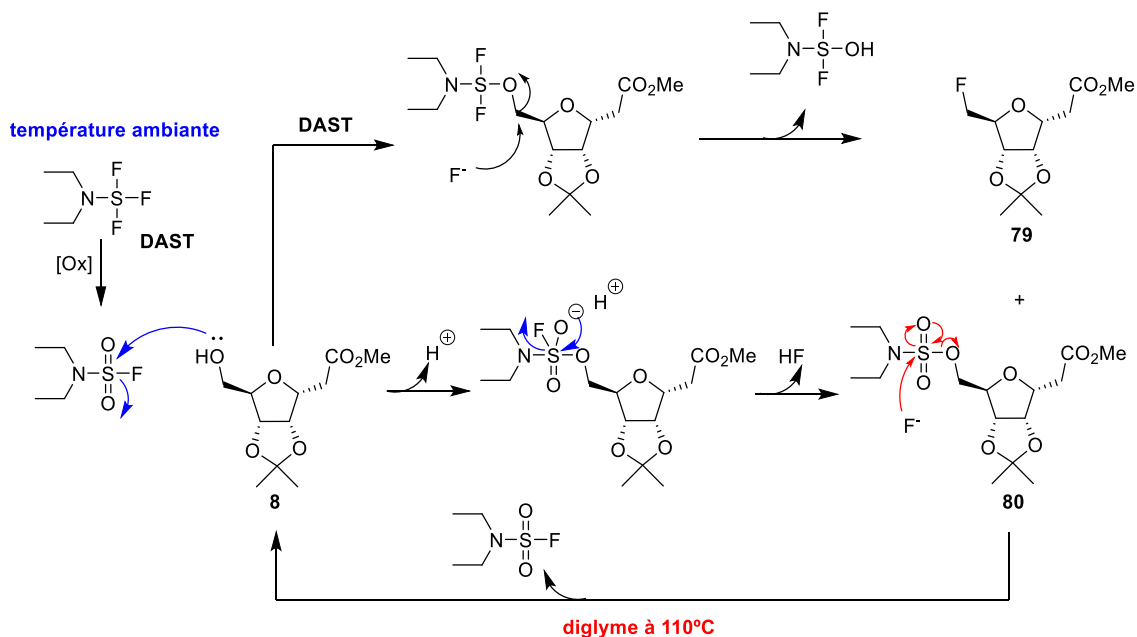


Figure 45. Mécanisme proposé pour la formation du composé **80** à partir du composé **8** et son évolution lors du chauffage

Un temps de réaction plus long n'a pas permis d'améliorer le rendement du composé **79**, au contraire il a favorisé l'obtention du composé **80**. La réaction a aussi été réalisée à 0°C mais malheureusement, aucune formation du produit attendu n'a été observée. Une température basse ne favorise pas l'attaque nucléophile des ions fluorures.

La formation du composé **80** n'étant pas évitée lors de la mise en œuvre du protocole A, un protocole B a été testé. Pour cela, le composé **8** a été dissout dans le diglyme à 0°C puis le DAST est ajouté. Après 30 min à 0°C, le milieu est chauffé pendant 1h30 à 110°C. Le composé fluoré **79** a été obtenu avec un rendement de 85%, avec seulement 7% du produit secondaire **80**. Le meilleur rendement et la diminution de la formation du composé **80** ont été attribués à une meilleure réactivité du DAST à température élevée (attaque nucléophile des fluorures sur l'intermédiaire formé avec le DAST favorisée) ou à une attaque nucléophile des ions fluorures sur le soufre du composé **80** favorisée à température élevée. Cette attaque permettrait de reformer du produit de départ **8** qui pourrait à nouveau réagir avec l'excès de DAST introduit dans le milieu, conduisant au composé **79** de manière majoritaire et à une proportion limitée de **80**. Cette hypothèse a été validée en mettant le composé **80** en présence de fluorure de tétrabutylammonium (source d'ions fluorures) dans le THF à reflux. Sans surprise, lors de cette réaction 100%

du composé **8** a été retrouvée. Nous avons bien sur retenu ce protocole B pour cette réaction de fluoration.

II.2. Fonctionnalisation du bras pseudo-anomérique

La réduction de l'ester méthylique du C-glycoside fluoré **79** a été réalisée par réaction avec LiAlH₄ dans le THF conduisant au composé réduit **81** avec un rendement de 82% (schéma 57).

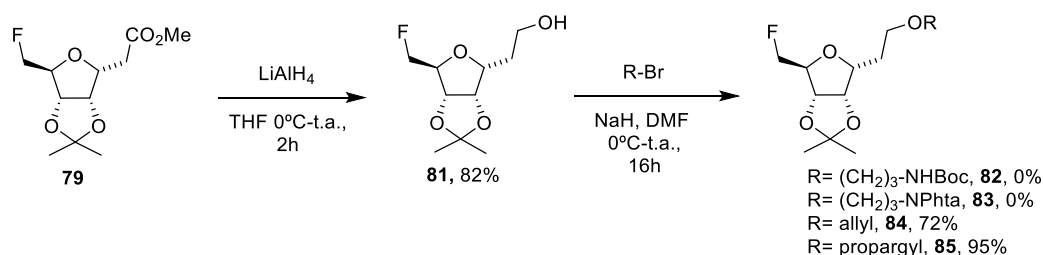


Schéma 57. Réduction et fonctionnalisation du bras pseudo-anomérique

L'étape suivante concerne l'introduction du bras fonctionnel par réaction d'éthérisation. Dans l'idée d'introduire la cyanine 5 par formation d'un lien amide, différentes chaînes alkyles comportant une amine protégée en bout de chaîne ont été envisagées.

Dans un premier temps, le bromure de 3-(Boc-amino)propyle a été envisagé. Pour l'introduction de ce bras fonctionnel, une réaction de type Williamson a été mise en œuvre : le composé **81** a été mis en présence du bromure de 3-(Boc-amino)propyle et de NaH à 0°C dans le DMF. Après une nuit à température ambiante, la totalité du composé de départ **81** a été récupéré et aucune trace du composé **82** n'a été observée. Nous avons supposé que ce manque de réactivité puisse être dû au fait que l'amine protégée par un Boc possède encore un proton, pouvant être labile en présence de NaH. La présence de la base NaH pourrait favoriser ainsi la réaction entre le carbamate déprotoné et une autre unité de bromure de 3-(Boc-amino)propyle. En effet, la littérature montre que l'obtention d'une amine protégée avec deux groupements Boc se réalise à partir de l'amine mono-monoprotégée en présence de NaH. [366,367]

Afin d'éviter les problèmes rencontrés avec une amine primaire monoprotégée, un bras contenant une amine protégée par un groupe phtalimide a été envisagé. Le *N*-(3-bromopropyl)phtalimide a donc été engagé dans une réaction de Williamson en présence de NaH dans le DMF à 0°C puis 16h à température ambiante (schéma 57). Après 12h de réaction, aucun changement n'a été observé, nous avons alors ajouté 2 équivalents supplémentaires de NaH puis le milieu a été chauffé à 40°C pendant 24h.

Malheureusement, lors de la purification, 92% de produit de départ a été récupéré et aucune trace du produit attendu **83** n'a été observée. En regardant de plus près la littérature, un nombre limité de publications décrivent le *N*-(3-bromopropyl)phtalimide comme électrophile dans une réaction d'éthérisation de type Williamson sur un alcool aliphatique.^[368,369] Les électrophiles les plus utilisés dans la littérature pour ce type d'alcools aliphatiques sont souvent l'iodure de méthyle et les bromures de benzyle, allyle et propargyle, autrement dit, des électrophiles très réactifs et avec lesquels une réaction élimination (E2) n'est pas favorisée.^[370-372]

Nous avons donc opté pour la fonctionnalisation de l'hydroxyle primaire du composé **81** par des groupements allyle et propargyle. Pour ces deux alkylations, les mêmes conditions décrites précédemment ont été utilisées (schéma 57) et les composés allylé (**84**) et propargylé (**85**) ont été obtenus avec des rendements de 72% et 95% respectivement.

Afin de tirer parti de la bonne réactivité des alcynes, l'introduction d'une amine protégée par un phtalimide sur le composé **85** a été réalisée par cycloaddition 1,3 dipolaire de Huisgen (CuAAC).

Un bras comportant une amine primaire protégée par un groupe phtalimide et un groupement azoture a été synthétisé. A partir du *N*-(3-bromopropyl)phtalimide, une azoturation dans des conditions décrites dans la littérature^[373] a été réalisée, afin d'obtenir le composé **86** avec 96% de rendement (schéma 58).

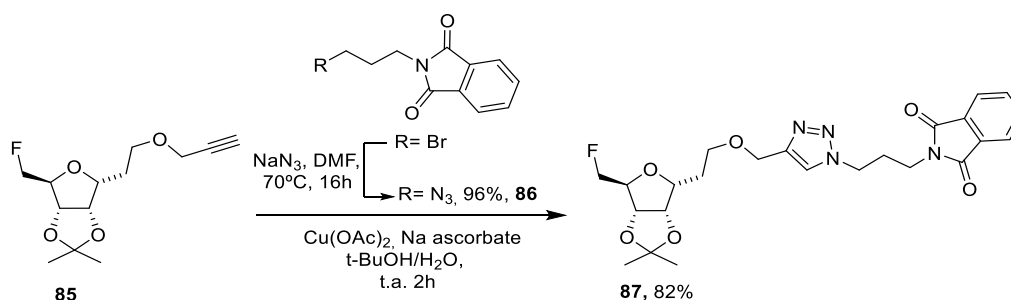


Schéma 58. Synthèse et introduction du bras phtalimide par chimie-click

La réaction de CuAAC a ensuite été réalisée pour fournir le dérivé **87** avec 82% de rendement.

II.3. Fonctionnalisation des groupements hydroxyles secondaires

Après avoir mis au point l'introduction d'un bras aminé en position pseudo-anomérique nous avons étudié la déprotection des deux groupes hydroxyles secondaires afin de pouvoir introduire les peptides sur ces deux positions.

II.3.1. Fonctionnalisation des hydroxyles secondaires de **87**

La première étape a été l'obtention du composé diol **88** à partir du composé protégé **87**. Le clivage de l'acétal a été réalisé par un mélange TFA/H₂O avec un très bon rendement de 82 % (schéma 59).

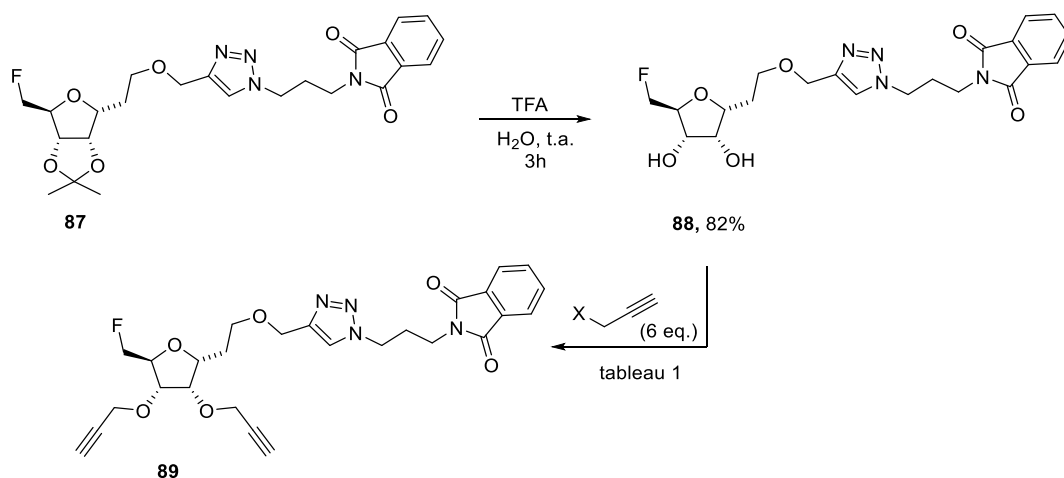




Schéma 59. Obtention du composé dipropargylé **89**

Le but étant d'introduire les peptides par chimie click, nous avons envisagé l'introduction d'un bras contenant un groupement azoture ou l'introduction d'un alcyne. Etant donné l'efficacité de la réaction de propargylation de l'hydroxyle primaire, nous avons opté pour l'introduction de deux unités propargyles sur le composé **88**. Pour cela, différentes conditions opératoires ont été testées (tableau 15).

Entrée	X	Réactif	Solv.	T (°C)	T (h)	89 (%)	Conv. (%)
1	Br	NaH (3 eq.)	DMF	0 à t.a.	4	0	100
2	Br	NaH (2 eq.)	DMF	0 à t.a.	4	0	100
3	Br	NaH (2 eq.)	DMF	-15 à 0	3	0	100
4	Br	<i>t</i> -BuOK (2 eq.)	DMF	-20 à 0	2	0	100
5	Br	Bu ₄ NHSO ₄ (3 eq.), KOH (6 eq.)	DCM/ H ₂ O	t.a.	16	0	70
6	Br	Ag ₂ O (6 eq.)	DCM	65 ^a	48	>1	5
7	Br	Ag ₂ O (6 eq.)	DMF	130 ^a	72	0	0
8		TfOH (0,5 eq.)	DCM	0° à t.a.	18h	0	0
9		TfOH (0,5 eq.)	DCM	0° à 60 ^a	18h	0	0

a : réaction réalisée dans un tube scellé

Tableau 15. Conditions de *O*-alkylation testées pour la propargylation des alcools secondaires de **88**

Dans un premier temps, nous avons utilisé trois équivalents de NaH à 0°C puis ajouté le bromure de propargyle (tableau 15, entrée 1). Lors du suivi CCM, nous avons observé une disparition totale du composé de départ, au bout de 4h et la formation de nouveaux composés. Malheureusement, aucun des produits retrouvés après purification, ne correspondaient au composé dipropargylé **89** recherché. Ces différents composés obtenus étaient des sous-produits issus de la dégradation de **88**. Cette dégradation a été attribuée à l'excès de NaH mis en jeu dans le milieu. C'est pour cela qu'un nouvel essai de *O*-alkylation a été tenté avec seulement deux équivalents de NaH (tableau 15, entrée 2). Malheureusement le même résultat a été retrouvé, c'est à dire une consommation totale du composé de départ mais aucune trace du composé souhaité **89**. Une recherche plus approfondie dans la littérature a été réalisée pour vérifier la faisabilité des réactions de *O*-alkylation en utilisant NaH alors qu'un groupement *N*-phtalimide est présent, ce motif *N*-phtalimide étant le seul groupement réactif du composé **88**. Cette recherche bibliographique a permis de constater que peu d'articles décrivent l'utilisation de base comme NaH en présence d'un groupement phtalimide. Un article de Meng *et al.* montre que lorsque NaH est utilisé en présence d'un groupement protecteur de type phtalimide, ce dernier se dégrade pour former un sous-produit (figure 46).^[374] Le mécanisme proposé par les auteurs débute par une attaque nucléophile des ions hydrures sur le carbonyle du maléimide. Lors de cette réaction, le cycle s'ouvre pour former l'anion amide délocalisé et un aldéhyde aromatique. Cet anion amide réagit avec un électrophile présent dans le milieu pour former le composé *N*-alkylé. La présence des ions hydrures dans le milieu

gène ensuite un alcoolate qui réagit de façon très rapide avec une autre molécule d'électrophile.

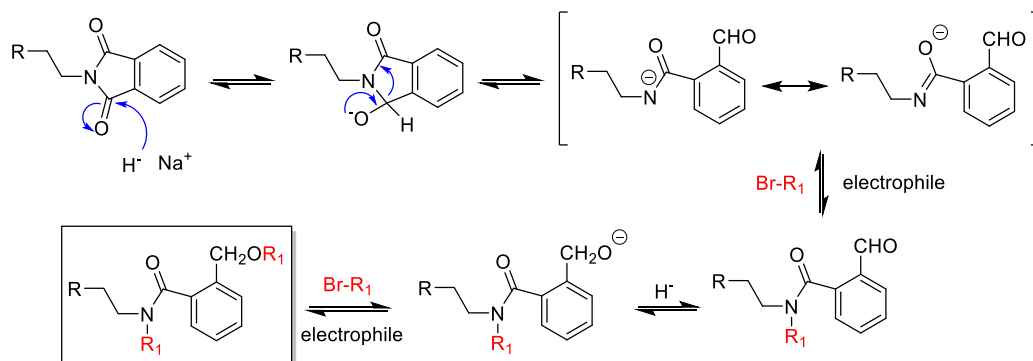


Figure 46. Mécanisme de formation du sous-produit du phthalimide proposé par Meng *et al*

Bien que le sous-produit formé lors de la réaction avec NaH n'ait pas pu être proprement isolé, la RMN du brut réactionnel laisse voir une évolution des protons du phthalimide qui pourrait correspondre à ce type de dégradation décrit dans la figure 46.

Afin d'éviter la formation de sous-produit, deux nouveaux essais d'alkylation à basse température ont été réalisés, un avec NaH (tableau 15, entrée 3) et un autre avec du *t*-BuOK (tableau 15, entrée 4). Malgré le fait d'avoir pris toutes les précautions possibles, une dégradation du produit a été observée dans les deux cas. Cela montre que le composé **88** n'est pas stable en présence d'une base forte. Pour éviter un contact prolongé du composé **88** avec la base, un essai d'alkylation par transfert de phase a été testé. Le Bu₄NHSO₄ a été utilisé comme agent de transfert de phase avec une solution aqueuse de KOH dans un mélange dichlorométhane/eau (tableau 15, entrée 5). Lors de cette réaction, le composé souhaité n'a pas été obtenu.

L'utilisation de bases n'étant pas adaptée, une nouvelle méthode d'alkylation a été envisagée. Après avoir déterminé la structure du sous-produit issu de la réaction entre le phthalimide et NaH, l'équipe de Meng *et al.* a réussi une *O*-alkylation en utilisant Ag₂O. Nous avons réalisé une tentative avec du bromure de propargyle en présence d'Ag₂O dans le dichlorométhane à 60°C (tube scellé) (tableau 15, entrée 6). Quelques traces (>1%) du composé souhaité **89** ont pu être observées par spectrométrie de masse et en CCM et la quasi-totalité du réactif de départ a été récupérée. Le fait de récupérer le composé de départ qui n'a pas réagi et d'observer quelques traces du produit nous a encouragés à explorer un peu plus cette voie. Pour augmenter le rendement et améliorer la conversion, une réaction à plus haute température a été réalisée. Pour cela le dichlorométhane a été

remplacé par du DMF, permettant de chauffer le milieu à 130°C dans un tube scellé (tableau 15, entrée 7). Malheureusement, aucune conversion n'a été observée après 72h de réaction.

Une dernière tentative a été menée par réaction avec le trichloroacétimide de propargyle (tableau 15, entrée 8). Le dérivé saccharidique **88** a été mis en présence de trichloroacétimide de propargyle à 0°C dans le dichlorométhane. Après une nuit à température ambiante, aucune conversion du produit de départ n'a été observée. Le milieu réactionnel a ensuite été chauffé à reflux dans un tube scellé (tableau 15, entrée 9). Lors de cette réaction une consommation de 54% du produit de départ a été observée, néanmoins aucune trace du composé dipropargylé **89** a été obtenue.

Nous avons ensuite fonctionnalisé les hydroxyles secondaires directement sur le composé **85** ne possédant pas de motif phthalimide puisque l'on supposait que ce motif était à l'origine de ces problèmes de réactivité.

II.3.2. Fonctionnalisation des hydroxyles secondaires de **85**

Afin de réaliser les alkylations sans la présence du phthalimide l'acétal du composé **85** a été clivé dans un premier temps. Cela a été réalisé par action du TFA dans l'eau pendant 3h pour fournir le composé propargylé **90** avec 84% de rendement (schéma 60).

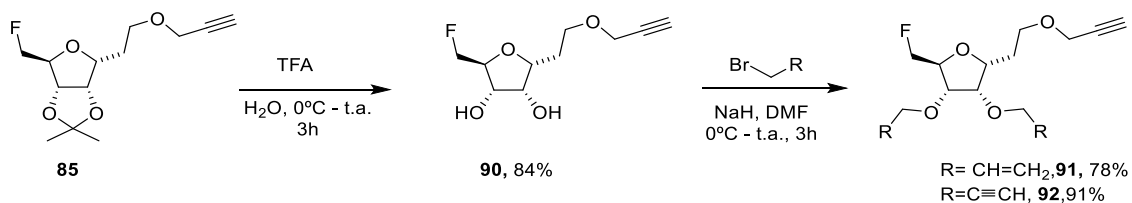


Schéma 60. Synthèse du composé diallylé **91** et dipropargylé **92** par alkylation de type Williamson

Deux électrophiles ont été choisis pour réaliser les *O*-alkylations : le bromure d'allyle et le bromure de propargyle. Les deux réactions d'alkylation ont été réalisées à 0°C avec 3 équivalents de NaH pendant 45 min suivi de l'addition de l'électrophile puis 3h à température ambiante. Les deux réactions ont conduit aux composés allylé **91** et propargylé **92** avec 78% et 91% de rendement respectivement (schéma 60). A partir de ces deux composés, deux voies d'accès afin d'obtenir l'amine protégée en position pseudo-anomérique ont été testées.

II.3.2.1. Fonctionnalisation à partir du composé diallylé 91

Nous avons dans un premier temps couplé le composé **86** par réaction de type CuAAC sur la position pseudo anomérique. Le composé **91** a été mis en présence de 3-azidopropylphthalimide **86**, d'ascorbate de sodium (1 équivalent) et d'acétate de cuivre II (0,9 équivalents) dans un mélange *t*BuOH/eau (schéma 61). Malgré le fait d'avoir prolongé le temps de réaction jusqu'à 48h pour consommer tout le produit de départ, 20% de **91** a été récupéré et le composé **93** est obtenu avec 68% de rendement.

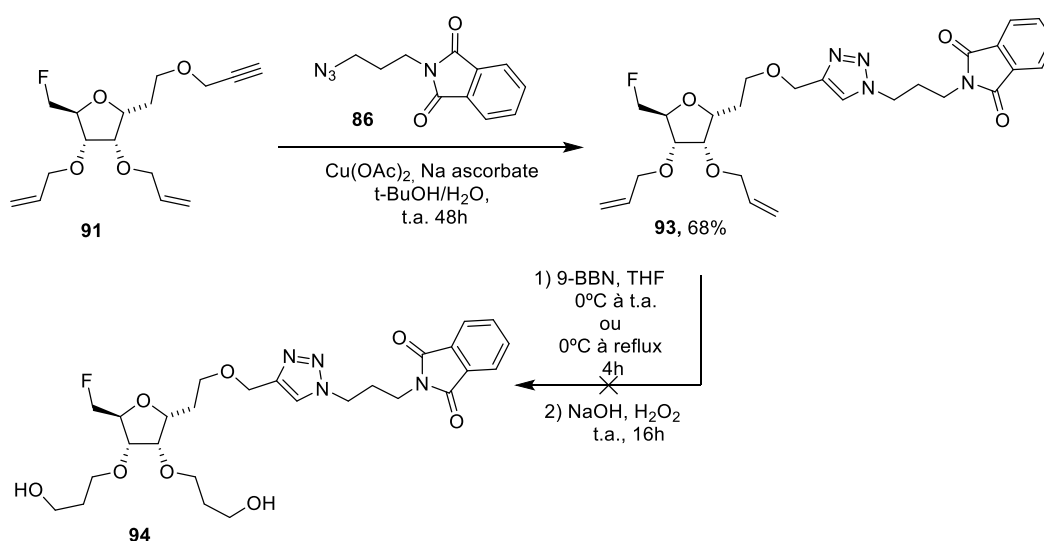


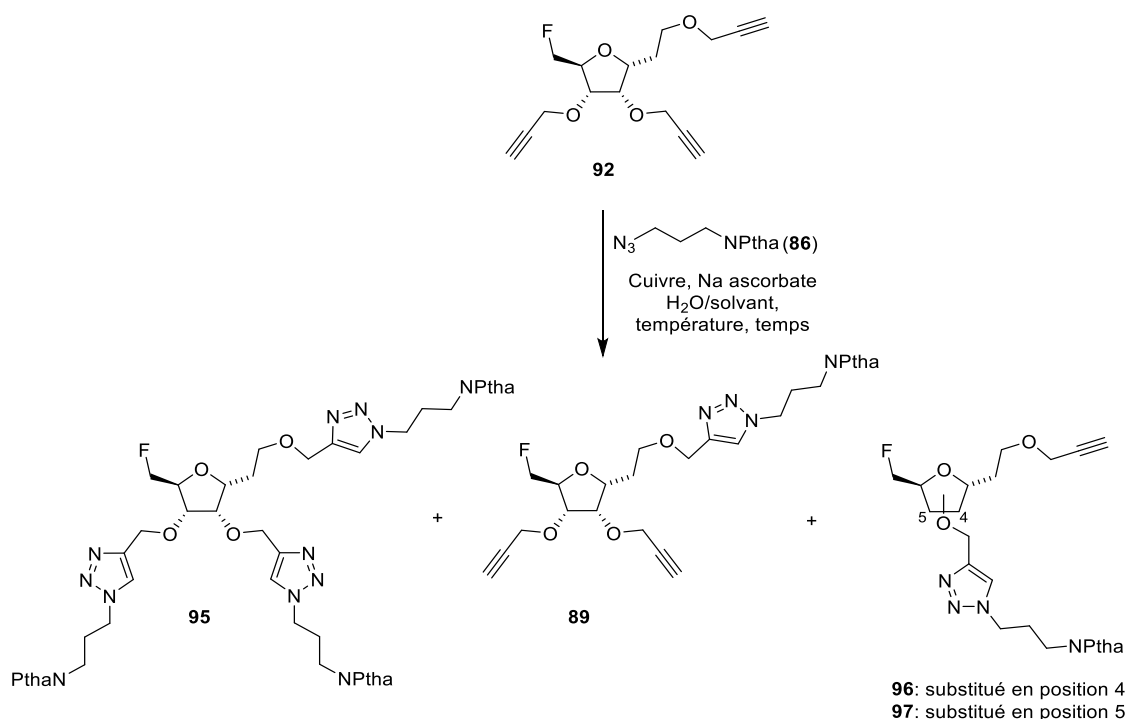
Schéma 61. Synthèse du composé **94** à partir du composé diallylé **91**

L'étape suivante a été de fonctionnaliser les deux allyles. Le but final étant d'introduire deux groupements azotures pour couler les peptides via CuAAC, dans un premier temps, nous avons envisagé une réaction d'hydroboration. Le 9-BBN est additionné goutte à goutte à 0°C sur le composé **93** dissout dans le THF et ensuite le milieu est mis à température ambiante pendant 4h avant d'ajouter NaOH et H₂O₂. Après une nuit à température ambiante, plusieurs sous-produits non identifiés et 60% de produit de départ ont été récupérés. Néanmoins, aucune trace du produit souhaité **94** n'a été identifiée. Un nouvel essai d'hydroboration a été réalisé, mais cette fois ci, en chauffant à reflux pendant 4h après addition du 9-BBN à 0°C. Malheureusement, ceci n'a pas conduit à la formation du composé souhaité mais à une dégradation partielle du composé **93**.

Nous avons rencontré des difficultés pour réaliser l'hydroboration des groupes allyles. C'est pourquoi, nous nous sommes alors tournés vers la fonctionnalisation du composé propargylé **92**.

II.3.2.2. Fonctionnalisation de la plate-forme à partir du composé tripropargylé **92**

La synthèse à partir du composé tripropargylé **92** nécessite une mono-fonctionnalisation régiosélective par réaction de type CuAAC afin d'obtenir le composé fonctionnalisé par une amine protégée en position pseudo-anomérique. Nous avons considéré qu'il était peut-être possible de différencier le bras pseudo-anomérique des deux autres unités propargyles. Différentes conditions réactionnelles ont été testées afin de contrôler la régiosélectivité de la réaction (tableau 16).



Entrée	Equivalents			Solvant	T(°C)	t(h)	95 (%)	89 (%)	96/97 (%) ^a
	86	Na Asc.	Cu						
1	0,90	1	0,90	<i>t</i> -BuOH	t.a.	4	83	-	-
2	0,25	1	0,90	<i>t</i> -BuOH	t.a.	48	-	-	-
3	0,25	0,50	0,20	ACN ^b	t.a.	4	-	-	-
4	0,25	0,50	0,20	ACN	t.a.	4	-	16 ^c	23 ^c
5	0,25	0,50	0,20	ACN	40	24	-	18 ^c	26 ^c

a : mélange de régioisomères non séparables (ratio 1/1)

b : 5% de NH₄OH

c : rendements calculés à partir du réactif limitant **86**

Tableau 16. Conditions réactionnelles pour la synthèse régiosélective de **89** par CuAAC

Cette réaction peut conduire à plusieurs produits de cycloaddition : les composés mono-, di- ou tri-fonctionnalisés. Afin d'orienter la réaction vers une monocycloaddition, un léger défaut de composé **86** (0,9 équivalents par rapport au composé **92**) a été utilisé, ce

défaut de réactif pouvant permettre d'éviter la formation de composés di- ou tri-fonctionnalisés (tableau 16, entrée 1). Cette réaction a conduit à la formation d'un seul composé, le dérivé tri-fonctionnalisé **95** avec un très bon rendement. Afin d'éviter cette polyaddition concomitante, un nouvel essai avec un plus large défaut de **86** (0,25 eq.) a été réalisé (tableau 16, entrée 2). De façon totalement surprenante, aucune réaction n'a été observée, et le produit de départ est totalement récupéré, malgré un long temps de (48h).

Etant donné que les conditions testées n'ont pas permis la formation du composé souhaité **89**, une recherche dans la littérature a été réalisée afin de trouver les conditions optimales. Liu *et al.*^[251] décrivent des conditions réactionnelles qui ont permis de réaliser une mono cycloaddition *via* une réaction de type CuAAC en utilisant 0,25 eq. de **86**, 0,5 eq. d'ascorbate de sodium et 0,2 eq. de cuivre II (équivalents par rapport au composé portant les fonctions alcynes) dans un mélange acétonitrile/eau (5% NH₄OH). Nous avons donc mis en œuvre ces conditions (tableau 16, entrée 3). A la différence de l'essai précédent, une conversion totale du composé **92** a été observée. Cependant, cette consommation n'a pas conduit à la formation du composé **89**, mais à celle de plusieurs sous-produits non identifiés. L'explication la plus plausible est que cette dégradation est due à l'instabilité des composés **92** et **86** en présence de NH₄OH.

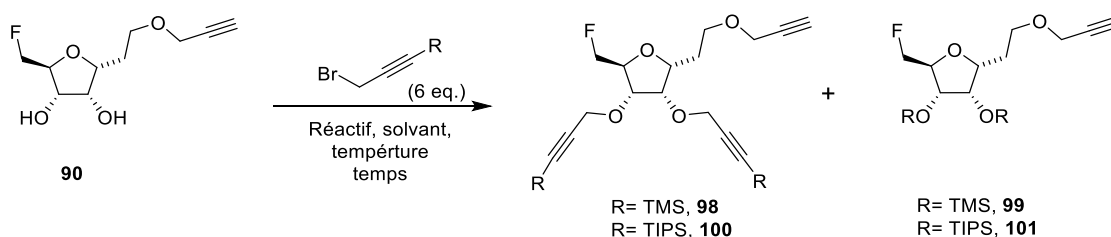
Afin de vérifier ceci, un essai sans NH₄OH mais avec les mêmes proportions de réactifs que précédemment a été réalisé (tableau 16, entrée 4). Ces conditions ont conduit à la formation d'un mélange de régioisomères. Le régioisomère d'intérêt **89** a pu être isolé sur colonne de silice avec un rendement de 16% (rendement calculé à partir de **86**) grâce à l'utilisation d'un mélange toluène/acétone. Les deux autres régioisomères n'ont pas pu être séparés ni par chromatographie sur gel de silice ni par HPLC semi préparative. Ils ont donc été obtenus sous forme de mélange (ratio 50/50) **96/97** avec un rendement de 23%. Lors de cette réaction le composé de départ **86** a été récupéré à hauteur de 30% ainsi que quelques produits non identifiés. Afin de favoriser la consommation de l'azoture **86**, un nouvel essai en chauffant le milieu à 40°C pendant 24h a été réalisé (tableau 16, entrée 5), cependant aucune différence significative n'a été observée.

Cette voie de synthèse permet d'accéder au composé **89** avec des rendements très faibles mettant en œuvre des purifications délicates. Ces résultats nous confirment que les deux alcynes portés par les hydroxyles OH secondaires, malgré leur proximité spatiale, ont une très bonne réactivité vis-à-vis de la réaction de type CuAAC. Compte tenu de ces

résultats, il a été envisagé d'introduire deux propargyles protégés sur les hydroxyles secondaires, ce qui permettrait d'assurer une fonctionnalisation sélective de l'alcyne en position pseudo-anomérique par CuAAC.

II.3.2.3. Fonctionnalisation par introduction de deux propargyles protégés

L'introduction des deux alcynes protégés sur le composé **90** a fait l'objet d'une optimisation des conditions et des groupements protecteurs qui est illustré dans le tableau 17.



Entrée	R	Réactif	Solv.	T (°C)	T (h)	Produit (%)	Conv. (%)
1	TMS	NaH (3 eq.)	DMF	0 à t.a.	2	98 (0) 99 (40)	100
2	TMS	NaH (2 eq.)	DMF	0 à t.a.	2	98 (0) 99 (38)	100
3	TMS	NaH (2 eq.)	THF	-78 à 0	2	98 (0) 99 (43)	75
4	TIPS	NaH (3 eq.)	DMF	0 à t.a.	5	100 (91) 101 (0)	100

a : sous pression dans un tube scellé

Tableau 17. Conditions pour la O-alkylation de **90** avec un alcyne protégé

Le premier essai a été réalisé avec le propargyle protégé par un triméthylsilane (TMS). Le composé **90** est mis en réaction avec NaH à 0°C pendant 45 min puis ajout de l'électrophile, le bromure de 3-(triméthylsilyl)propargyle (tableau 17, entrée 1). Après deux heures de réaction à température ambiante, une consommation totale du composé de départ a été observée. Cependant, le produit majoritaire formé lors de la réaction n'a pas été le composé attendu **98**. Cette réaction a conduit à la formation de plusieurs sous-produits et majoritairement à la formation du composé **99** correspondant aux deux éthers de triméthylsilyl. L'hypothèse qui explique la formation de ce produit **99** a été que les groupements TMS portés par les alcynes ne sont pas stables en présence de NaH. Un nouvel essai avec seulement deux équivalents de NaH (tableau 17, entrée 2) a conduit au même résultat.

La formation du composé **99** pourrait aussi être favorisée par le fait de laisser remonter la température du milieu à température ambiante lors de l'addition de l'électrophile. La déprotonation des alcools a été réalisée à 0°C pendant 45 min, puis le milieu est refroidi à -78°C avant d'ajouter l'électrophile. Le milieu est maintenu pendant 30 min à -78°C puis la température évolue pour atteindre à 0°C pendant 3h (tableau 17, entrée 3). En dépit des efforts réalisés, seul le composé **99** a pu être isolé avec un rendement de 43%.

La littérature montre que les alcynes protégés par des groupements silylés de type triisopropyl (TIPS) peuvent être utilisés en présence de NaH.^[375,376] Nous avons donc opté pour l'utilisation du 3-(triisopropylsilyl)propargyle (tableau 17, entrée 4). Le composé **90** a été mis en présence de NaH à 0°C pendant 45 min puis bromure de 3-(triisopropylsilyl)propargyle, a été additionné. Après cinq heures à température ambiante, une conversion totale du produit de départ a été observée et le composé di-alkylé **100** a été obtenu avec un excellent rendement de 91%. Aucune trace du composé **101** comportant des éthers silylés TIPS n'a été retrouvée.

L'obtention du composé **100** nous a donc permis d'envisager sa fonctionnalisation avec le fluorophore et les peptides, la prochaine étape a été l'introduction de la cyanine 5.

II.4. Conjugaison de la plate-forme saccharidique avec la cyanine-5

La sonde fluorescente choisie pour ce projet est la cyanine 5 pour sa longueur d'onde d'absorption à 646 nm et sa longueur d'onde d'émission à 662 nm, correspondant au domaine du proche IR-I. De plus, des coefficients d'extinction molaires élevés (fluorescence intense) et des rendements quantiques adaptés aux applications *in vivo* et *in vitro*.^[72] L'accrochage de la cyanine 5 sur le composé **100** a été exploré par deux voies : conjugaison de la Cy5 *via* une réaction de CuAAC ou *via* une fonctionnalisation de la plate-forme avec une amine puis amidation avec la Cy5 (Schéma 62).

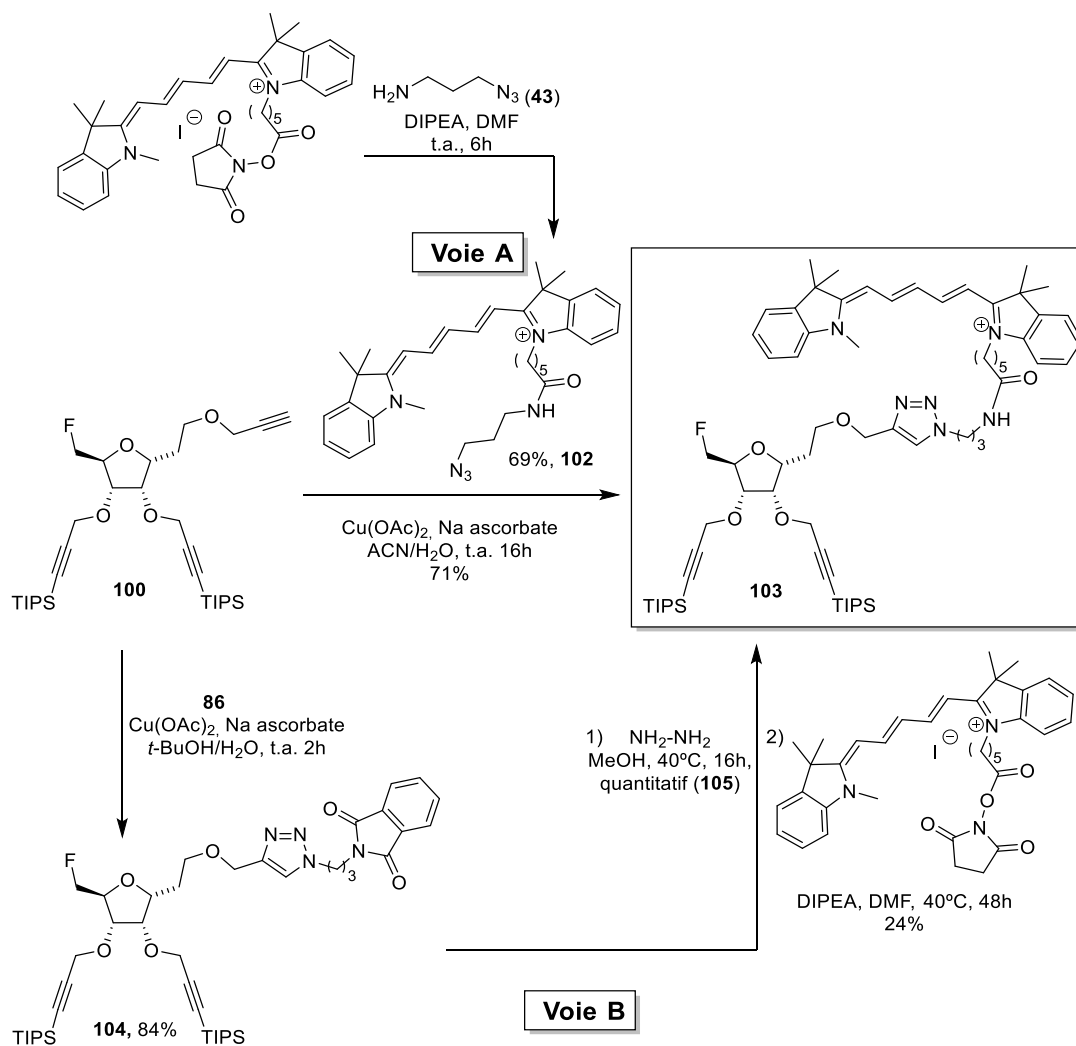


Schéma 62. Accès au composé portant 103 la cyanine 5 par deux voies synthétiques

II.4.1. Conjugaison de la cyanine 5 par réaction de type CuAAC (voie A)

Afin de coupler la cyanine au composé **100** par cycloaddition CuAAC, la première étape a été de fonctionnaliser la cyanine 5 avec un azoture (schéma 62, voie A). Pour cela, la cyanine 5 commerciale sous forme d'ester activé NHS est engagée dans une réaction d'amidation avec le composé **43** en présence de DIPEA dans le DMF. Lors de cette réaction, la cyanine 5 portant un bras propyl-azoture (**102**) a été obtenu avec un rendement de 69%. La cyanine fonctionnalisée **102** a été mise en présence du dérivé **100**, d'acétate de cuivre II et d'ascorbate de sodium dans un mélange acétonitrile/eau à température ambiante pendant une nuit et le dérivé **103** a été obtenu avec un rendement de 71%.

II.4.2. Conjugaison de la cyanine 5 par réaction d'amidation (voie B)

La voie de synthèse par réaction d'amidation débute par l'introduction de l'amine sur le composé **100** (schéma 62, voie B). Pour cela, le composé **86**, portant une amine protégée

sous forme de phtalimide, a été introduit via un couplage de type CuAAC en utilisant les mêmes conditions que précédemment. Le composé **104** a été obtenu avec un rendement de 84%. La déprotection de l'amine primaire du composé **104** a été réalisée en présence d'hydrazine dans le méthanol à 40°C pendant une nuit. L'amine libre **105** a directement été engagée dans un couplage peptidique avec la cyanine 5 commerciale (activée NHS). Le composé **103** a été isolé avec un rendement modéré de 24% dû à la conversion non totale du réactif de départ et une purification difficile. Malgré les différentes méthodes de purification utilisées, colonne sur gel de silice, colonne flash ou encore HPLC semi préparative, une grande partie du composé est récupéré sous forme de mélange avec la cyanine de départ et d'autres sous-produits.

Après avoir étudié les deux voies d'accès au composé **103**, la voie de conjugaison *via* une réaction de type CuAAC a été retenue pour la synthèse de ce composé à partir de **100** (voie A). Une des principales raisons a été le nombre d'étapes et le rendement global obtenu. La voie A permet d'obtenir le composé en deux étapes avec un rendement global de 49%, tandis que la voie B nécessite trois étapes de synthèse dont une avec un rendement modéré, ce qui donne un rendement global de 20%. De plus, la purification de **103** a été plus délicate lors de la réaction d'amidation réalisée dans la voie B.

II.5. Conjugaison des peptides dérivés de la séquence RGD avec la plate-forme saccharidique

L'étape suivante a été le clivage des groupements protecteurs des alcynes, afin de permettre la conjugaison des peptides (schéma 63). Les deux alcynes du composé **103** sont déprotégés par action du TBAF dans le THF à 0°C, ce qui permet d'obtenir le composé déprotégé **106** avec un rendement de 68%.

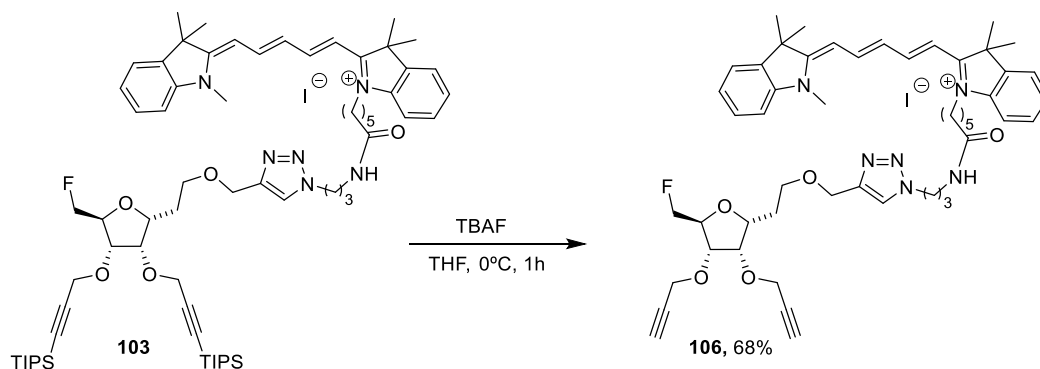


Schéma 63. Déprotection des alcynes pour fournir le composé déprotégé **106**

La conjugaison de la plate-forme avec les peptides cycliques c(RGDfK) a ensuite été réalisée. Ce peptide est l'un des plus utilisés dans la littérature pour sa bonne affinité et spécificité vis-à-vis des intégrines et plus particulièrement des intégrines $\alpha_v\beta_3$ (cf chapitre bibliographique paragraphe II.2.3.) et par conséquent nous permettra d'évaluer rapidement les propriétés biologiques des agents obtenus et notamment l'effet divalent.

II.5.1. Synthèse des dérivés azotures du c(RGDfK)

Afin de conjuguer par CuAAC le dérivé c(RGDfK) et la plate-forme **106** une fonctionnalisation préalable du peptide par un azoture est nécessaire. Le peptide a donc été modifié au niveau de l'amine primaire de la chaîne latérale de l'acide aminé lysine (K). En effet, il est possible d'utiliser cette fonction amine sans modifier significativement l'affinité du peptide vis-à-vis des intégrines.

Comme indiqué dans le chapitre bibliographique, la nature et la longueur de la chaîne ont une influence sur l'affinité. C'est pour cela que le dérivé c(RGDfK) a été modifié par couplage peptidique avec deux bras différents : un hexyle et un PEG₄ afin d'évaluer les différences d'affinité des agents divalents par des tests de binding *in vitro* (schéma 64). De plus, la chaîne PEG permettra d'apporter de l'hydrosolubilité ce qui est primordial en vue d'applications *in vivo*.

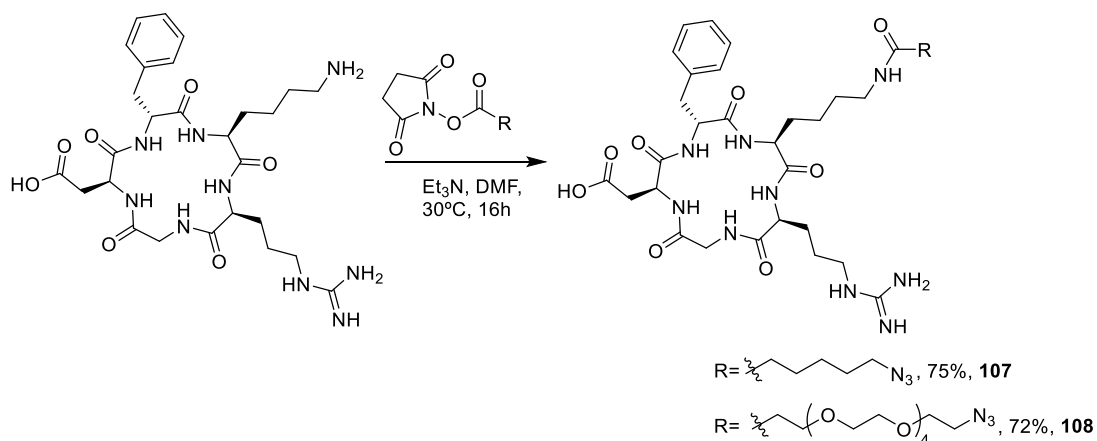


Schéma 64. Synthèse des c(RGDfK) fonctionnalisés avec des bras portant des azotures **107** et **108**

La fonctionnalisation a été réalisée par couplage peptidique entre l'amine de la lysine et un ester activé sous forme de NHS. Pour cela la c(RGDfK) a été mis en présence du 6-azido-hexanoate de succinimide ou d'azido-PEG₄-NHS et de triéthylamine dans du DMF à 30°C pendant une nuit. Lors de cette réaction, les deux peptides fonctionnalisés avec l'azoture **107** et **108** ont été obtenus avec un rendement de 75% et 72% respectivement.

II.5.2. Conjugaison du composé JA avec les peptides fonctionnalisés 107 et 108

Pour cette conjugaison par CuAAC des conditions classiques catalytiques ont tout d'abord été mise en œuvre. Le dérivé saccharidique **106** a été mis en présence de 2.1 eq de peptide **107** (1,05 eq par position), 0,1 eq de Cu(OAc)₂ et 0,2 eq. d'ascorbate de sodium à 40°C dans un mélange acétonitrile/eau (1/1) (schéma 65). Néanmoins, après 24h de réaction, seules quelques traces du composé ont été observées, le produit de départ a été principalement retrouvé. Il est connu que les triazoles ont la capacité de complexer le cuivre. En effet, le pouvoir complexant des triazoles a été mis à profit au laboratoire pour synthétiser des complexants de ce métal de type cyclam.^[377] Nous avons donc supposé que le triazole porté par le composé **106** aurait la capacité de complexer le cuivre, en le rendant inaccessible pour la réalisation de CuAAC. De plus, la littérature semble appuyer cette hypothèse, la formation de plusieurs unités triazoles sur un même composé nécessite un large excès de réactifs (cuivre et ascorbate).^[251]

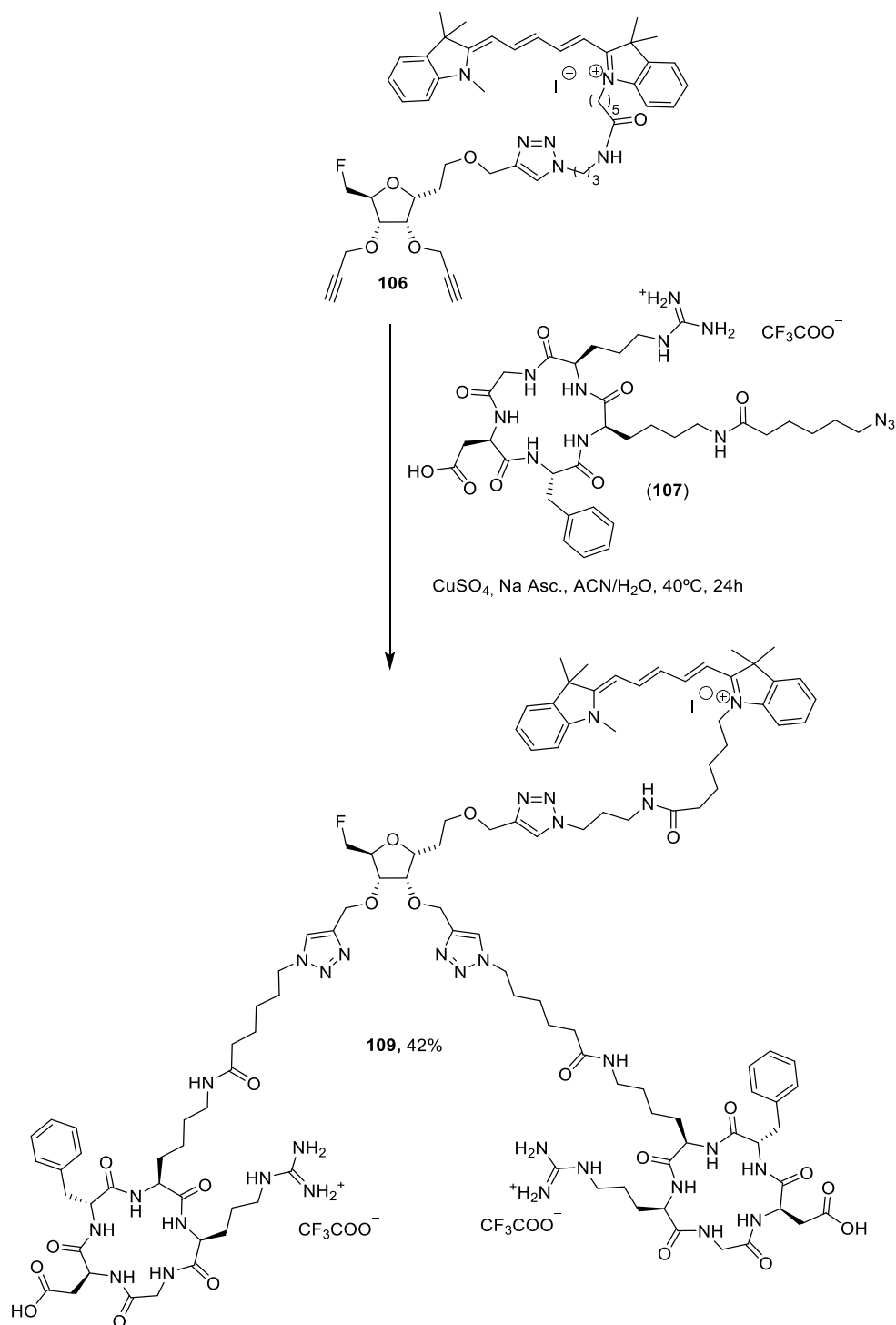


Schéma 65. Conjugaison de deux peptides modifiés **107** avec la plate-forme duale **106**

Un nouvel essai, en utilisant les conditions de la publication de *Liu et al.*, a été réalisé. Le composé **106** a été mis en présence de 3 eq. de peptide **107**, 3 eq. de CuSO_4 et 7.5 eq. d'ascorbate de sodium à 40°C dans un mélange acétonitrile/eau.^[251] Après 24h, une consommation presque totale du composé de départ a été observée et après purification

par exclusion stérique (Sephadex LH20), le composé **109** a été obtenu avec un rendement de 42% (rendement du produit pur après plusieurs purifications).

Pour l'obtention du composé **110** portant le bras PEG, les mêmes conditions opératoires ont été mises en œuvre (schéma 66). Ceci a conduit à la formation du composé fonctionnalisé avec une cyanine et deux peptides **110** avec un rendement de 62% après purification par exclusion stérique.

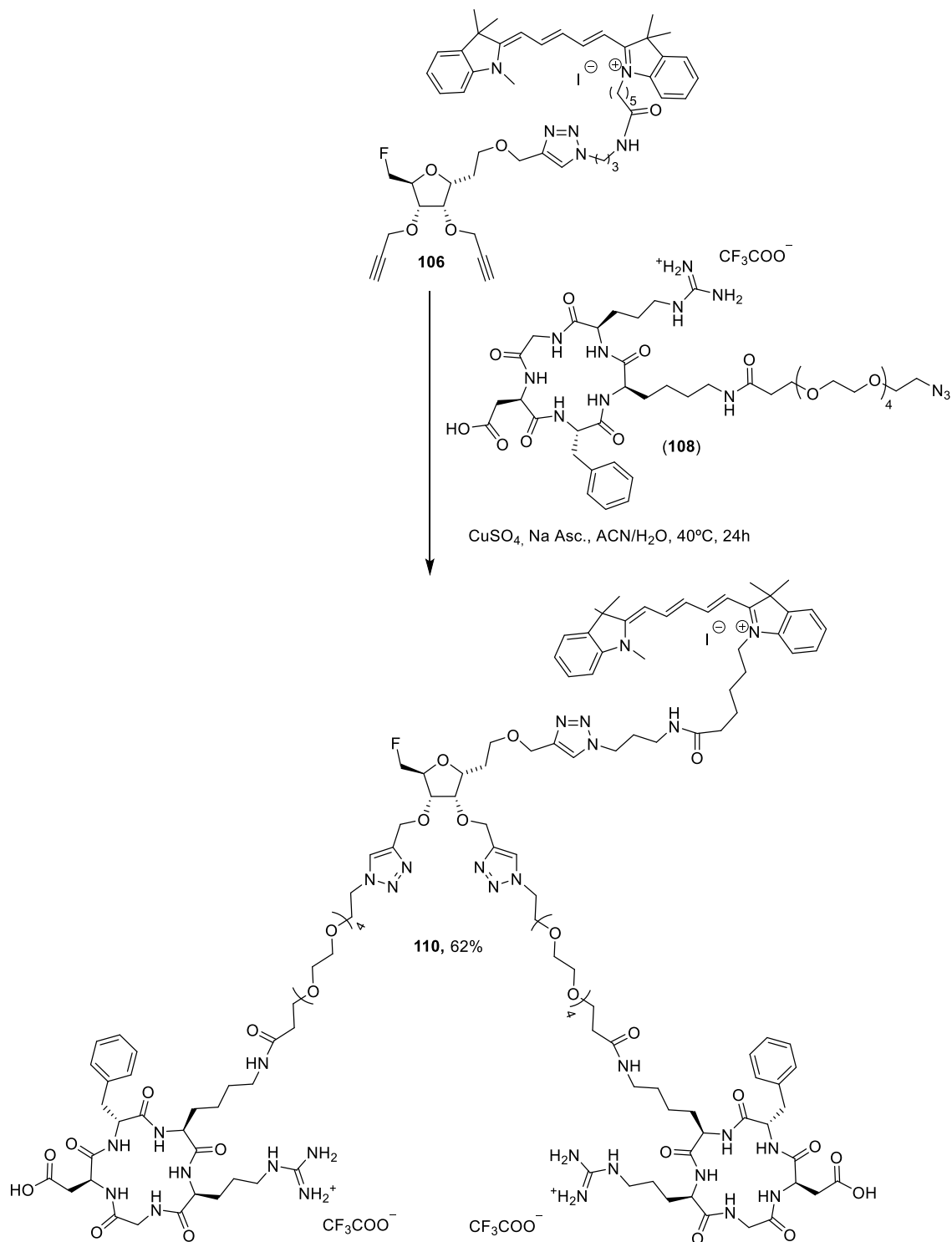


Schéma 66. Conjugaison de deux peptides modifiés **108** avec la plate-forme duale **110**

L'affinité vis-à-vis des intégrines et les propriétés photo-physiques (rendement quantique, déplacement de Stokes, coefficient d'extinction molaire et brillance) de ces deux références fluorées non radioactives **109** et **110** ont été étudiées et sont présentées dans les paragraphes IV et V respectivement. Nous nous sommes alors tournés vers la synthèse du précurseur de marquage.

III. Synthèse du précurseur de marquage

Le précurseur de marquage est nécessaire pour effectuer la radiosynthèse de l'agent dual divalent. Le fluor-18 sera introduit sur la sonde par substitution nucléophile S_N2 d'un bon groupe partant introduit en position 7. Néanmoins, les étapes de synthèse requises pour l'accès au précurseur de marquage n'ont pas pu être optimisées puisqu'elles se sont déroulées lors du dernier mois de thèse.

La stratégie adoptée dans cette thèse pour le marquage des biomolécules est la suivante : marquage de la sonde duale au fluor-18 par formation d'une liaison C-F suivi de la conjugaison des peptides dérivés de la séquence RGD par couplage de type CuAAC. Le précurseur envisagé est représenté dans le schéma 67.

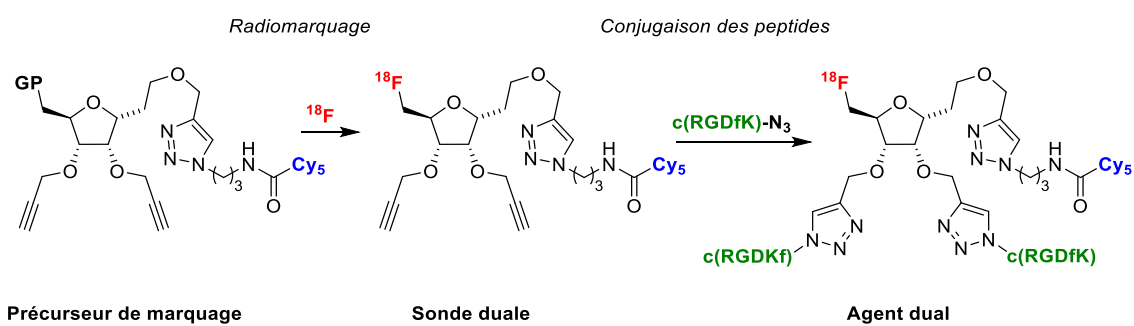


Schéma 67. Stratégie de marquage des biomolécules par la sonde duale synthétisée lors de cette thèse

III.1. Fonctionnalisation du bras pseudo-anomérique

Afin de préserver cette position 7 pour introduire un groupement partant, un groupement protecteur a été installé sur cette position en début de synthèse. Ce groupement sera clivé en dernière instance. En tirant parti des résultats obtenus dans le chapitre 1, le dérivé C-glycosidique **12**, protégé avec un TBDPS, a été utilisé comme composé de départ pour cette synthèse.

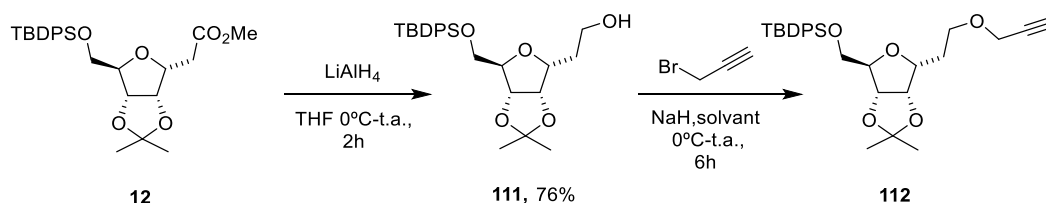


Schéma 68. Synthèse de **112** à partir du dérivé C-glycosidique **12**

A partir du composé **12**, une réduction de l'ester méthylique en présence de $LiAlH_4$ a été réalisée pour obtenir le composé **111** avec un rendement de 76% (schéma 68). Une fonctionnalisation de l'alcool primaire en pseudo-anomérique avec un propargyle a

ensuite été réalisée. Compte tenu de la présence du groupe TBDPS, différentes conditions ont été testées afin d'optimiser la réaction (tableau 18).

Entrée	NaH (eq.)	Solvant	Déprotonation (min)	111 (%)	112 (%)
1	3,0	DMF	10	0	12
2	0,9	DMF	10	53	22
3	1,2	DMF	10	40	38
4	1,2	DMF	45	5	30
5	1,2	Acétone	10	64	16
6	1,2	THF	10	21	51

Tableau 18. Conditions pour la *O*-alkylation de **111** avec le bromure de propargyle

Le premier essai de propargylation de **111** a été réalisé en présence d'un excès de NaH (3 eq.) dans le DMF (tableau 18, entrée 1). Le composé **111** a été mis en présence de de NaH à 0°C dans le DMF pendant 10 min puis le bromure de propargyle a été ajouté et le milieu a été mis à température ambiante pendant 6h. Lors de cette réaction, tout le composé de départ a été consommé pour former plusieurs sous-produits issus de la déprotection du TBDPS. Lors de cette synthèse un brut réactionnel complexe a été retrouvé dans lequel majoritairement le produit de déprotection a été observé. Afin d'éviter le clivage du groupement protecteur silylé un essai avec un défaut de NaH (0,9 eq.) a été réalisé (tableau 18, entrée 2). Cet essai a permis d'obtenir 22% du composé **112** et de récupérer 53% du composé de départ **111**. Dans le but d'augmenter le rendement de la réaction un essai avec un léger excès de NaH (1,2 eq.) a été réalisé (tableau 18, entrée 3). Ces conditions ont permis d'augmenter le rendement de 22% à 40% pour la formation du composé **112**. Un temps de déprotonation plus long (45 min à 0°C) avec les mêmes quantités de réactifs a été testé (tableau 18, entrée 4), mais n'a pas permis d'obtenir un meilleur rendement d'alkylation ni la récupération du produit de départ.

Dans le but d'optimiser encore cette réaction d'autres solvants comme l'acétone ou le THF (tableau 18, entrées 5 et 6) ont été utilisés. L'utilisation de l'acétone comme solvant ne semble pas favoriser la formation du produit **112** qui a été obtenu avec seulement 16% de rendement. Néanmoins le THF a permis d'obtenir 51% de rendement en générant moins de sous-produits que lors de l'utilisation du DMF.

Une amélioration de cette réaction serait peut-être possible en utilisant d'autres bases plus fortes comme le LiHMDS qui pourraient permettre une meilleure déprotonation de

l'alcool **111** en 10 min, ce qui permettrait d'obtenir de meilleurs conversion et rendement. Néanmoins par manque de temps aucun essai supplémentaire n'a pu être réalisé.

III.2. Fonctionnalisation des groupements hydroxyles secondaires

A partir du composé propargylé **112** une déprotection de l'acétal en présence d'acide acétique a été réalisée (schéma 69). Cette méthode de déprotection a été choisie car c'est la seule qui a permis lors du chapitre 2 le clivage de l'acétal avec un minimum de clivage du groupement silylé. A l'issue de cette réaction le composé **113** a été obtenu avec 45% de rendement et 32% de produit de départ ont été récupérés.

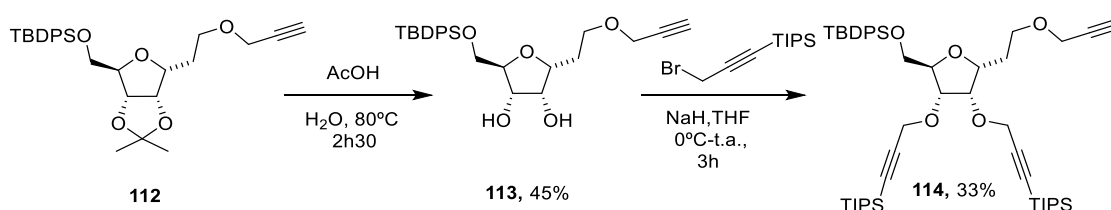


Schéma 69. Synthèse du composé **114** à partir du composé **112**

Une double alkylation en présence de NaH et de 3-(triisopropylsilyl)propargyle a été réalisée afin d'obtenir le composé **114** avec un rendement de 32%. Aucune trace de produit de départ n'a été identifiée ce qui laisse suspecter une dégradation dans ces conditions.

III.3. Conjugaison de la plate-forme saccharidique avec la cyanine-5

Une fois les trois propargyles introduits, l'étape suivante a été la conjugaison de la cyanine 5 avec le composé saccharidique **114** (schéma 70). Comme pour la référence non radioactive, le composé **114** a été engagé dans une réaction de type CuAAC en présence de la cyanine 5 **102**. A l'issue de cette réaction le composé **115** a été obtenu avec un rendement de 38% (récupération du produit de départ).

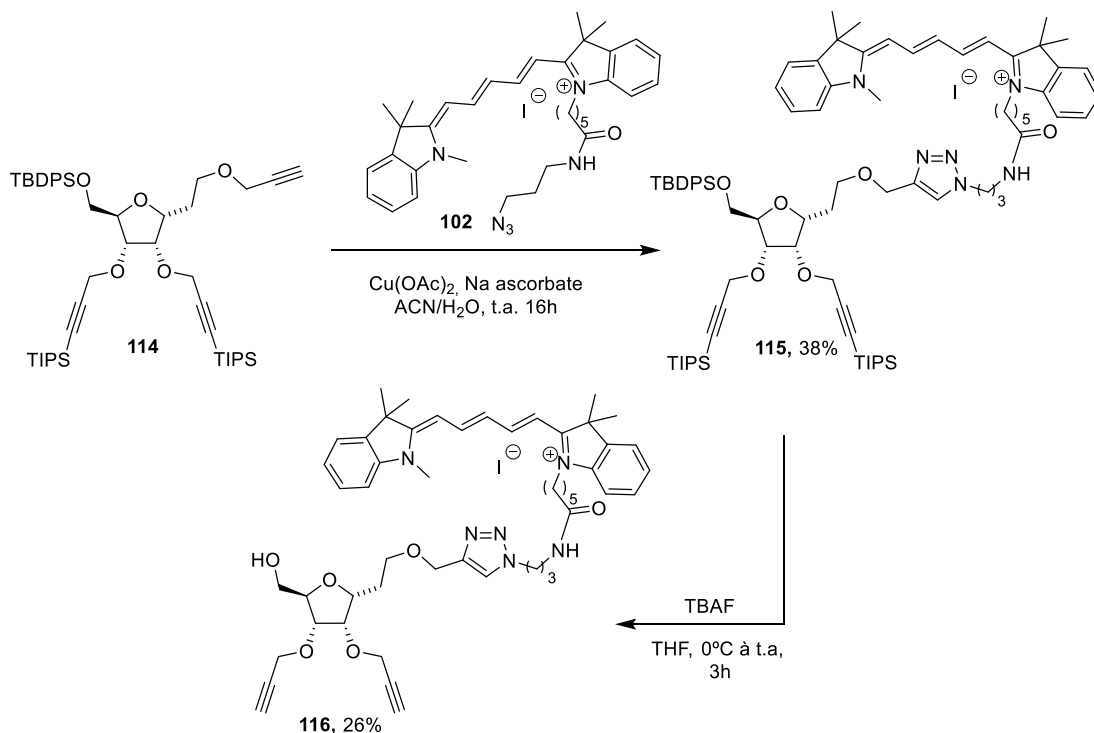


Schéma 70. Synthèse du composé **116**

L'étape suivante concerne le clivage en « one-pot » des trois groupements silylés. Ce clivage a été réalisé en présence des ions fluorure (TBAF) dans le THF à 0°C pendant 3h. Ces conditions ont permis de récupérer le composé **116** avec un rendement de 26%.

Une fois les groupements protecteurs clivés, l'hydroxyle primaire a été fonctionnalisé avec un groupe partant permettant la radiofluoration.

III.4. Fonctionnalisation de l'hydroxyle primaire avec un bon groupe partant

A partir du composé **116**, une méthylation a été réalisée. Pour cela, le composé **116** a été mis en présence d'anhydride méthylique et de DIPEA, dans le dichlorométhane à température ambiante pendant 16h (schéma 71). Lors de cette réaction la formation du composé **117** a été confirmée par spectroscopie de masse. Cependant, le rendement de cette réaction n'a pas pu être calculé puisque la réaction a été réalisée sur moins de 2 mg de produit de départ **116**. Malgré le fait de pas avoir pu calculer le rendement de cette réaction, cela nous a permis de valider l'introduction du méthyle comme groupe partant sur ce composé.

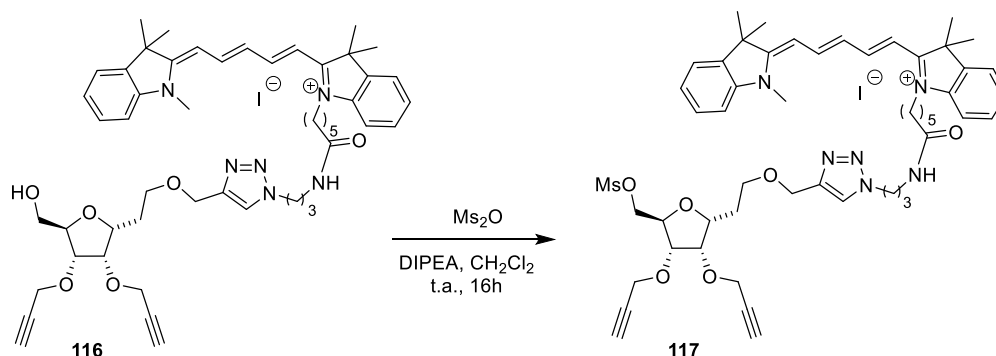


Schéma 71. Introduction du groupement partant sur le OH primaire de 116

IV. Evaluation *in vitro* des composés 109 et 110

Les évaluations des propriétés biologiques *in vitro* des composés 109 et 110 ont été réalisées au CRAN (UMR 7039) dans le cadre d'une collaboration avec le Dr. Boura, le Dr. Joan-Hureaux et Justine Jubreaux.

Dans un premier temps, l'affinité des deux composés vis-à-vis des intégrines $\alpha_v\beta_3$ a été évaluée. L'affinité a été mesurée par un test d'affinité décrit par Kapp *et al* en 2017.^[171] Pour détailler brièvement ce test : la protéine recombinante humaine vitronectine (cible des intégrines) est immobilisée à la surface des puits d'une microplaque. Ensuite, l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, les composés à tester et une sonde permettant la détection sont introduits dans les puits. Si les composés à tester (ligand) se lient préférentiellement aux intégrines au détriment de la vitronectine (ligand naturel des intégrines), aucun signal sera détecté (figure 47a). Par contre si la vitronectine a une meilleure affinité pour les intégrines par rapport aux composés testés, les anticorps formant la sonde se fixeront sur le complexe intégrine/vitronectine et généreront un signal chimio-luminescent (figure 47b).

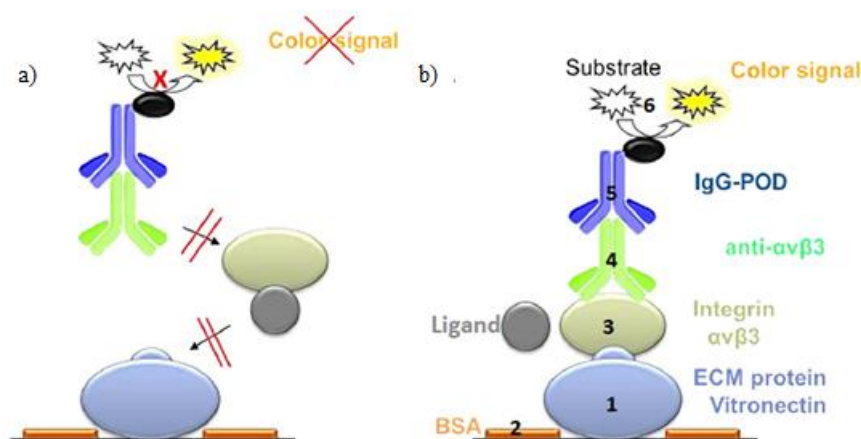


Figure 47. Schématisation du fonctionnement du test de binding

Le composé c(RGDfK), le composé fluorescent **106** obtenu avant le couplage avec les peptides utilisé comme contrôle négatif (figure 48a) et le composé **118** obtenu par couplage du dérivé c(RGDfK) et une cyanine-5 (figure 48b) ont également été testés.

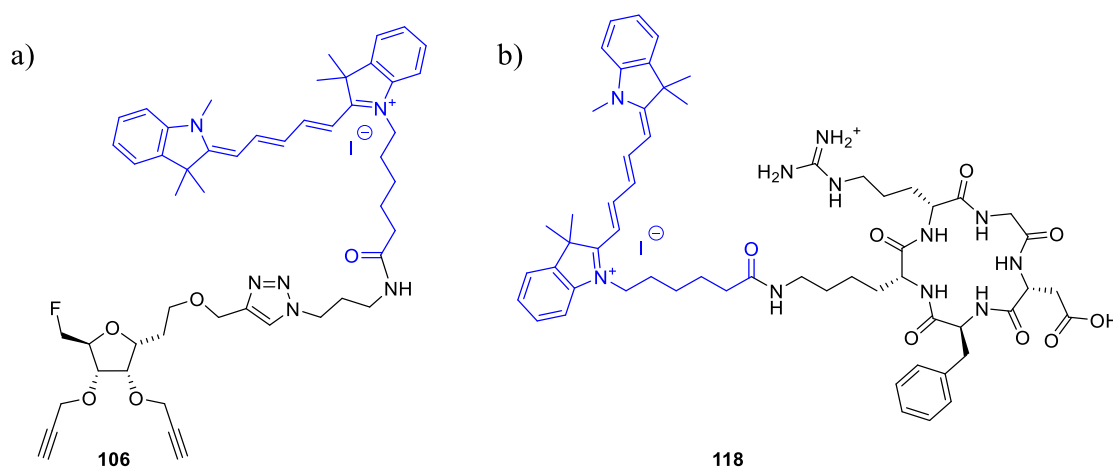


Figure 48. Structures de : a) **106** et b) **118**

Les résultats des tests de binding, effectués sur une plage de concentration variant de 1,6 nM à 20 μ M, sont présentés figure 49. Les deux conjugués divalents **109** et **110** ont montré une affinité pour les intégrines $\alpha_v\beta_3$ proche de celle du peptide c(RGDfK) seul (contrôle positif). Le composé **109** montre une affinité légèrement supérieure à **110** (IC_{50} de 20 nM vs 54 nM). Ces résultats semblent indiquer que l'introduction des bras PEG n'améliore pas l'affinité des composés vis-à-vis des intégrines, même si comme attendu, la solubilité en milieu aqueux du composé **110** est supérieure à **109**. Les deux composés divalents montrent cependant une affinité nettement supérieure au composé **118** portant un seul peptide (IC_{50} de 1527 nM). L'affinité de ce composé **118** montre le probable effet négatif de la cyanine lorsqu'elle est conjuguée au peptide, sans l'intermédiaire de bras espaceur relativement long comme ceux utilisés dans le cas des composés **109** et **110**. L'introduction de bras espaceurs et le fait de disposer de deux motifs de reconnaissance RGD permet de diminuer considérablement l'impact de la cyanine au regard de l'affinité.

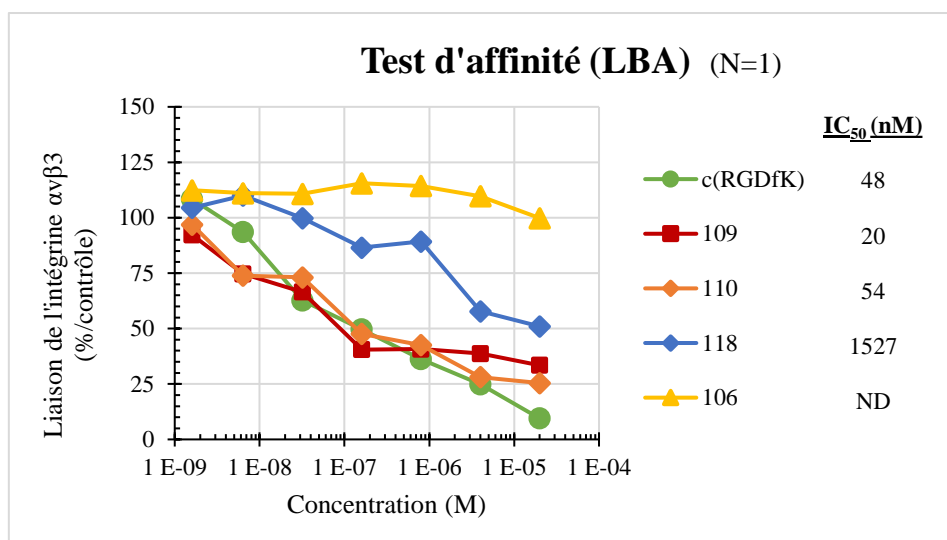


Figure 49. Résultats préliminaires obtenus pour les tests de LBA (Ligand Binding Assay)

La viabilité des cellules U87-MG (glioblastome) a été évaluée par le test standardisé au MTT (sel de tetrazolium) après exposition aux différents composés pendant 24h à différentes concentrations (de 0,01 à 10 μ M), l'idée étant de vérifier l'absence de cytotoxicité des composés. Les composés montrent un effet sur la viabilité à la concentration de 10 μ M (figure 50a). Cet effet pourrait s'expliquer par le blocage des intégrines par les composés qui perturbent l'adhésion cellulaire et secondairement la viabilité cellulaire sur un temps de culture de 24h. Par conséquent, il a été choisi de travailler dans la suite à des concentrations de 1 et 0,1 μ M pour évaluer l'incorporation cellulaire.

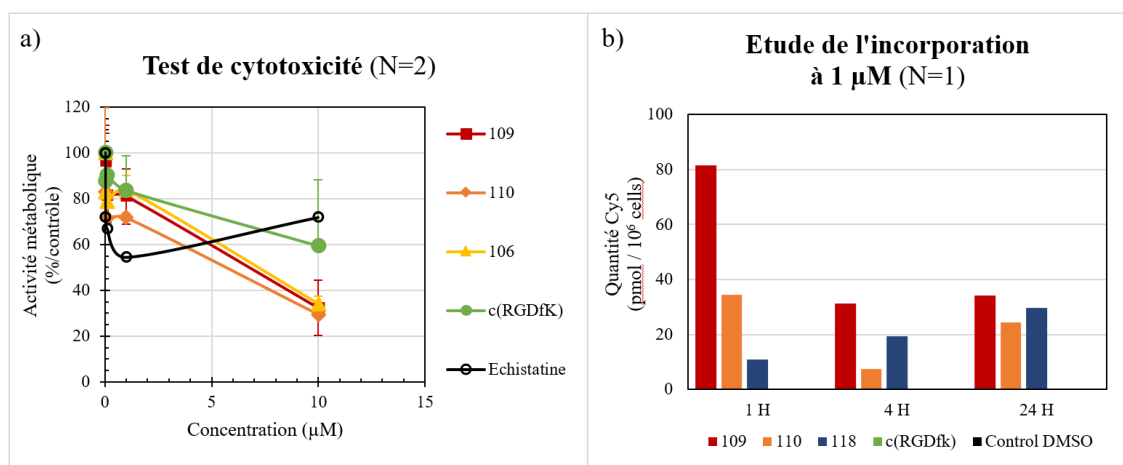


Figure 50. Viabilité des cellules U87-MG : a) test de cytotoxicité par MTT ; b) incorporation cellulaire à 1 μ M

L'incorporation cellulaire a été évaluée après 1, 4 et 24h d'exposition des cellules U87-MG aux différents composés par mesure de l'intensité de fluorescence de la cyanine 5

rapporté au nombre de cellules (10^6 cellules) (figure 50b). Une forte augmentation de l'incorporation cellulaire pour le composé **109** par rapport au composé **118** a été observée après une heure de traitement. Le composé **110** montre également une bonne incorporation mais qui semble 2 fois plus faible. Ces résultats préliminaires confirment l'évaluation de l'affinité sur les intégrines obtenus par les tests de binding. Cependant, cette différence d'incorporation semble s'atténuer avec le temps car au bout de 24h une incorporation similaire est observée pour les trois composés.

La capacité des composés testés à être internalisés par les cellules U87MG a été vérifiée par une observation au microscope à fluorescence après 1h d'incubation des cellules en présence de $1 \mu\text{M}$ des composés **109** et **110** et du peptide RGD. Les noyaux des cellules U87MG ont été marqués à l'aide d'un intercalant fluorescent de l'ADN (DAPI) en bleu et le marquage rouge correspond à la fluorescence intrinsèque des composés testés (figure 51).

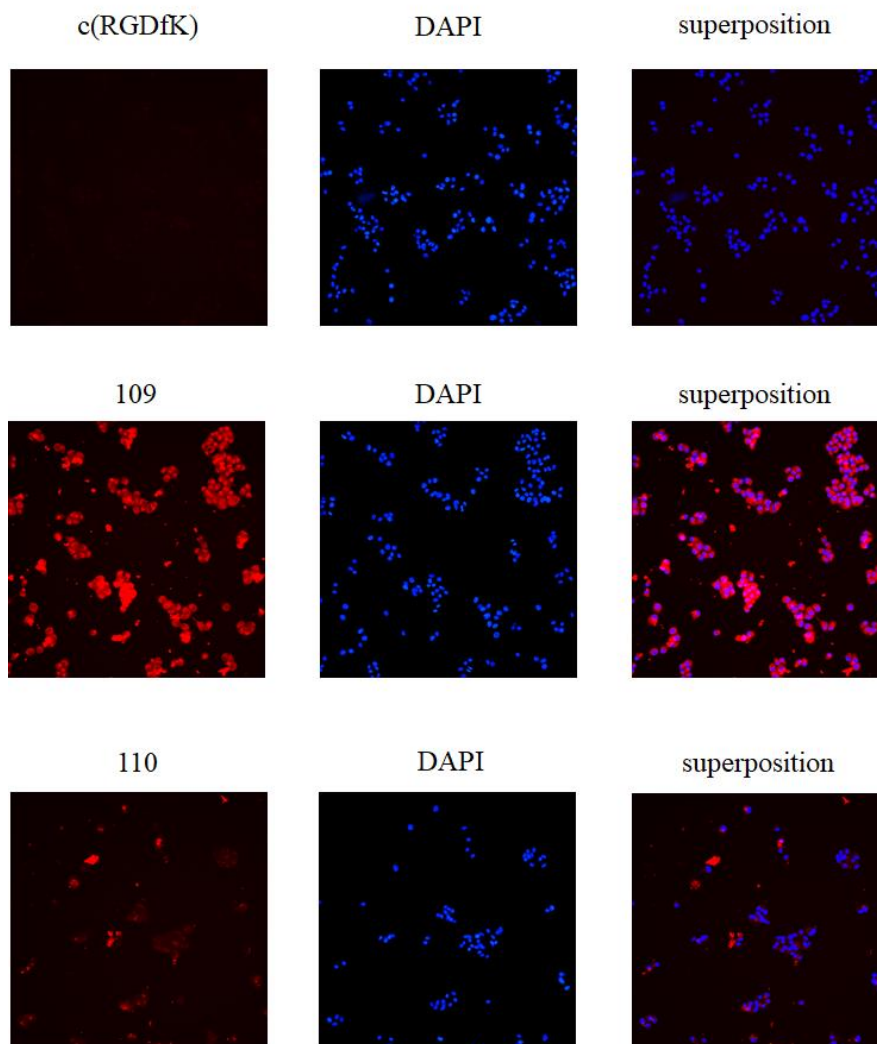


Figure 51. Étude par microscope de l'incorporation des différents composés après un traitement de 1h à 1 μ M des cellules de glioblastome U87-MG. Observation en microscopie de fluorescence : Image X Press microconfocal (Molecular Devices) avec disque confocal à fente de 50 μ m, temps exposition DAPI 10 msec λ_{ex} 377/50 nm / λ_{em} 447/60 nm (dichroïque 409 nm); temps expo Cy5 200 msec λ_{exc} 631/28 nm / λ_{em} 692/40 nm (dichroïque 660 nm).

Les images obtenues révèlent que le composé c(RGDfK) n'émet pas de fluorescence intrinsèque, puisqu'aucun marquage rouge n'est visible. Au contraire, les composés **109** et **110** émettent une fluorescence d'intensité variable.

En outre, la fluorescence des quatre composés se superpose à la fluorescence émise par l'intercalant de l'ADN utilisé pour visualiser les noyaux. Ces résultats permettent donc de mettre en évidence la capacité des composés **109** et **110** à être internalisés par les cellules U87MG. Ces résultats *in cellulo* sont en accord avec les résultats de binding et montrent le potentiel des composés **109** et **110**.

V. Etude des propriétés photo-physiques des composés **109** et **110**

Les principales propriétés photo-physiques qui nous intéressent sont le déplacement de Stokes (déplacement entre la longueur d'onde d'absorption et celle d'émission), le coefficient d'extinction molaire, le rendement quantique de fluorescence (Φ_F) mais aussi la brillance ($\Phi_F \times \epsilon$).

Afin de vérifier les propriétés photo-physiques de la cyanine 5, nous avons réalisés les études en spectrophotométrie UV-visible et en spectrofluorimétrie de **109** et **110** ainsi que celui de la cyanine 5 commerciale dans le PBS à différentes concentrations (de $3,5 \times 10^{-8}$ à $7,5 \times 10^{-7}$ mol/mL) (tableau 19).

Composé	$\lambda_{\text{abs}} / \lambda_{\text{em}}$ (nm)	Déplacement de Stokes (nm)	Φ_{fluo}	ϵ ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	Brillance ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)
Cy5	640/656	16	0.28	62 000	17 360
110	644/658	14	0.30	38 800	11 640
109	648/662	14	0.17	15 700	2 670

Tableau 19. Propriétés photo-physiques de la cyanine 5 commerciale, de **109** et de **110** dans le PBS

Le rendement quantique exprime l'efficacité du phénomène de fluorescence du fluorophore étudié et est exprimé par le rapport entre le nombre de photons émis et le nombre de photons absorbés. Il n'est toutefois pas évident de mesurer ces nombres de photons, c'est pourquoi la méthode relative permet de réaliser ce calcul à partir des données de la littérature. La méthode relative consiste à déterminer la pente de l'intensité d'émission en fluorescence corrigée en fonction de l'absorbance, puis de comparer cette valeur avec celle d'un fluorophore dont le Φ_F est connu dans la littérature, ici la cyanine-5,^[378] selon la formule suivante (η l'indice de réfraction du solvant à la longueur d'onde d'émission à 25°C) :

$$(\Phi_{\text{FX}}) = \Phi_{\text{Fstd}} \left(\frac{\text{Pente}_x}{\text{Pente}_{\text{std}}} \right) \left(\frac{\eta_x^2}{\eta_{\text{std}}^2} \right)$$

Un fluorophore est considéré comme efficace si son Φ_F est compris entre 0,1 et 1,0. Les fluorophores de la famille des cyanines ont des Φ_F compris entre 0,25 et 0,28,^[378,379] les fluorophores de la famille des rhodamines ont des Φ_F compris entre 0,51 et 0,98,^[380] tandis que ceux de la famille des BODIPY ont des Φ_F compris entre 0,28 et 0,72.^[378]

La valeur utilisée comme standard pour le rendement quantique de la cyanine 5 dans le PBS est de 0,28.^[378] A partir de cette valeur et en appliquant la méthode relative nous avons calculé les rendements quantiques de **109** et **110** (tableau 19) Aucune différence significative n'a été observée entre la cyanine de départ et le composé finale **110**. Le fait de retrouver les mêmes valeurs de QY entre la cyanine commerciale et le composé **110** semble indiquer que le fait de conjuguer la cyanine avec une molécule complexe (un dérivé saccharidique couplé à deux motifs RGD) n'entraîne aucune modification sur sa capacité à absorber et émettre des photons. En ce qui concerne le coefficient d'extinction (ϵ) molaire et la brillance ($\epsilon \times \Phi_F$), des valeurs plus faibles ont été obtenues pour le composé **110** par rapport à la cyanine 5 commerciale. Ce résultat n'est pas totalement surprenant puisque comme décrit dans la littérature, l'environnement chimique qui entoure le fluorophore (l'encombrement, la présence d'autres composés etc.) peut avoir une influence sur ses propriétés photo-physiques.^[381] Bien que la brillance de **110** soit plus faible que celle du fluorophore seul, il est connu qu'elle est toujours suffisante pour des applications en imagerie optique par FPIR.

Dans le cas du composé **109**, les valeurs de rendement quantique, de coefficient d'extinction molaire et de brillance sont significativement plus faibles que celles du composé **110** et de la cyanine 5. Etant donné la grande ressemblance structurelle des composés **109** et **110**, qui diffèrent seulement sur la nature de la chaîne carbonée qui sépare les peptides de la plate-forme, cette différence pourrait être associée à une photo-dégradation du composé **109** analysé. En effet, ce composé **109** utilisé pour les études photo-physiques, a subi trois purifications sur Séphadex LH20 et en plus de cela, il a été mis en solution pendant un week-end complet pour la réalisation de la caractérisation par RMN. Malgré toutes les précautions prises lors des différentes manipulations (synthèse, purification et caractérisation), l'exposition aux solvants et à la lumière ont pu causer cette photo-dégradation.

VI. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons développé une voie synthétique qui a permis de concevoir une plate-forme saccharidique qui permet l'introduction de la cyanine 5 et de deux RGD par réaction de type CuAAC. A partir de cette plate-forme, nous avons pu accéder aux références non radioactives des agents duaux TEP/FPIR **109** et **110** de façon efficace. La synthèse de ces composés a été réalisée par fonctionnalisation d'une plate-

forme de type C-glycosidique polyhydroxylée ce qui nous a permis d'éviter les différents problèmes rencontrés lors du chapitre précédent. Les composés **109** et **110** ont été évalués *in vitro* afin d'observer leur affinité pour les intégrines par un test de binding sur support solide et par un test d'internalisation sur cellule (U87-MG). Les résultats préliminaires ont montré que les deux composés ont une affinité pour les intégrines (20 nM et 54 nM pour **109** et **110** respectivement) très proche de celle du peptide c(RGDfK) qui est de 48 nM. Les deux composés divalents **109** et **110** ont montré une affinité nettement supérieure au composé Cy5-c(RGDfK) (**118**, $IC_{50} = 1527$ nM) ce qui confirme l'intérêt de la divalence, mais également, l'effet positif d'utiliser de longues chaînes afin d'éloigner la cyanine et le motif de reconnaissance RGD.

De plus, les tests d'internalisation ont montré qu'au bout d'une heure le composé **109** s'internalise deux fois mieux que le composé **110**, confirmant ainsi les résultats du binding. A court terme, il conviendra de confirmer que les effets observés sont bien le fruit d'une interaction des composés testés avec les intégrines membranaires, notamment en réalisant des tests d'incorporation cellulaire en compétition avec des ligands des intégrines.

Des études photo-physiques des composés **109** et **110** ont montré que le composé **110** présente le même rendement quantique que la cyanine Cy5 malgré une brillance un peu plus faible. Pour le composé **109**, des études complémentaires seront nécessaires afin de comprendre les différences observées.

Finalement, la synthèse du précurseur de marquage a pu être effectuée et nous avons pu valider celle-ci alors que certaines étapes nous semblaient délicates, notamment celle de la déprotection de l'acétal en présence du groupe TBDPS. Certaines étapes nécessiteront quelques optimisations des conditions opératoires.

CHAPITRE 4
ACTIVATION ET RADIOFLUORATION
D'UNE SONDE DUALE C-GLYCOSIDIQUE
DE TYPE PYRANOSE

I. Introduction et objectifs

Dans le cadre du même projet ANR (ANR M3ODALity), une sonde duale de type pyranose a été développée au laboratoire lors de la thèse de Timothé Vucko (soutenue en 2019).^[308]

La synthèse de cette plate-forme a été un challenge synthétique. En effet, la fonctionnalisation régiosélective des différents groupes hydroxyles du glucose afin d'introduire, le fluor, la cyanine 5 et le peptide a été ardue. Malgré cela, la référence non radioactive a pu être synthétisée et ses propriétés photo-physiques et son affinité vis-à-vis des intégrines ont pu être étudiées. Cependant, la synthèse du précurseur de marquage n'a pas pu être aboutie dans le cadre de la thèse. C'est dans ce contexte que l'on m'a confié la préparation du précurseur de marquage par l'introduction d'un groupe partant permettant ensuite la radiofluoruration par substitution nucléophile. La finalisation de ce projet nous a permis d'acquérir les connaissances nécessaires tant pour le choix du groupe partant que pour les conditions de radiofluoruration qui seront mises à profit dans le futur, pour le marquage de la sonde de type furanose développée précédemment dans le chapitre trois.

II. Synthèse de la sonde duale

Contrairement à la sonde développée dans le chapitre précédent, le précurseur de marquage et la référence froide ont été synthétisées *via* la même séquence réactionnelle qui ne diverge que lors des dernières étapes, à partir du composé **123** (schéma 72).

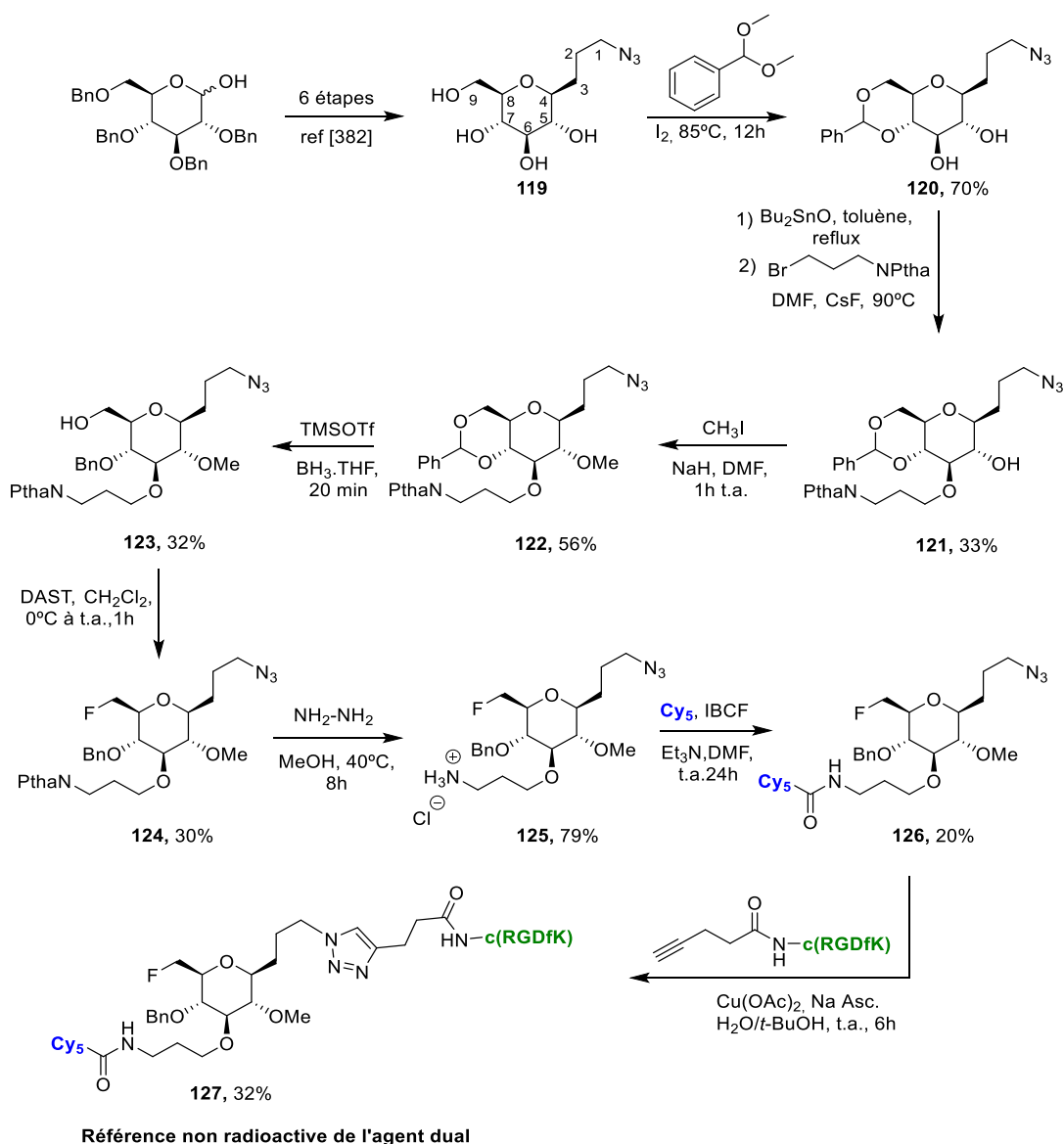


Schéma 72. Voie de synthèse développée par T. Vucko pour accéder à la référence non radioactive de l'agent dual **127**

La référence non radioactive a été obtenue en 8 étapes à partir du composé **119** développé au laboratoire.^[382] Cette synthèse réalisée par Timothé Vucko est résumée ci-dessous, mais les différentes problématiques rencontrées lors de la synthèse ne seront pas détaillées. La première étape a été la protection sélective des hydroxyles en position 7 et 9 par un 4,6-*O*-benzylidène (**120**). Le composé **121** a ensuite été obtenu à l'issue d'une *O*-alkylation régiosélective de **120** avec le 3-bromopropylphthalimide *via* la formation d'intermédiaire 2,3-*trans*-stannylidène acétal. Une fois l'amine protégée introduite sur le dérivé saccharidique, une méthylation de l'hydroxyle en position 5 a été réalisée. Le composé méthylé **122** a été engagé dans une réaction d'ouverture régiosélective du 4,6-*O*-benzylidène afin d'obtenir le composé **123** portant le benzyle en position 7. La

fluoration avec le DAST a ensuite été effectuée (**124**) suivie du clivage du phtalimide par action de l'hydrazine. L'amine libre **125**, récupérée sous forme de chlorhydrate, a été engagée dans une réaction d'amidation avec la cyanine 5 en présence d'isobutyle chloroformiate et de triéthylamine pour former le composé **126**. La dernière étape a été la conjugaison du peptide (c(RGDfK)) préalablement fonctionnalisé par un alcyne, par réaction de type CuAAC pour obtenir l'agent dual non radioactif **127**. L'étape suivante a été le développement du précurseur de marquage, qui a été réalisé dans le cadre de cette thèse.

II.1. Synthèse du précurseur de marquage

A partir du composé intermédiaire **123**, la même séquence réactionnelle que précédemment a été appliquée pour fournir le composé portant la cyanine **129**, mais sans l'étape de fluoration au DAST (schéma 73). En effet, pour obtenir le précurseur de marquage, le groupe hydroxyle en position 9 a été conservé afin d'utiliser cette position pour l'introduction du groupe partant pour effectuer la radiofluoration par SN_2 .

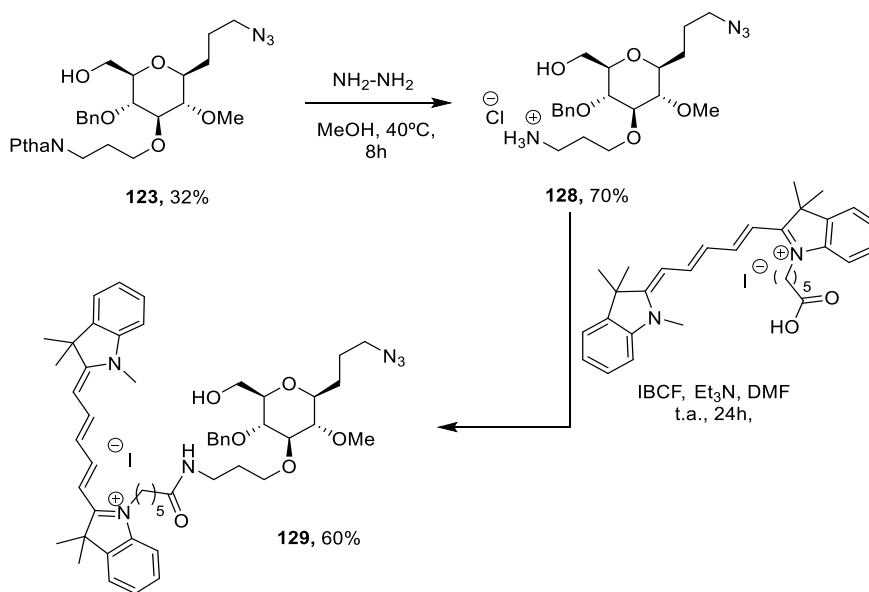


Schéma 73. Synthèse de **129** à partir de l'intermédiaire **123**

La déprotection du phtalimide a été réalisée par action de l'hydrazine et le couplage de **128** avec la cyanine 5 en présence d'IBCF et de triéthylamine a permis l'obtention du composé **129**. L'étape suivante a été la fonctionnalisation de l'hydroxyle en position 9 avec un groupe partant. Cependant, avant de fonctionnaliser cette position, un échange du contre ion de la cyanine 5 a été réalisé. En effet, les contre ions nucléophiles de la

cyanine commerciale, comme l'iode, peuvent générer des réactions parasites lors de la radiofluoruration, particulièrement une réaction d'iodation par SN, l'iode entrant en compétition avec le $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$. C'est pourquoi, l'iode a été échangé par un triflate, qui est un contre ion beaucoup moins nucléophile et donc compatible avec la radiofluoruration. Pour réaliser cet échange, une cartouche échangeuse d'anions (OASIS MCX) a été utilisée (schéma 74). Dans un premier temps, le composé **129**, dissout dans un minimum d'acétonitrile et dilué dans l'eau, a été accroché sur la cartouche échangeuse. Après avoir lavée la cartouche plusieurs fois à l'eau, le composé **129** a été élué à l'aide d'un mélange constitué d'une solution aqueuse de NaOTf (0.2M) et d'acétonitrile (v/v 1/9) afin de récupérer le composé **130**. L'efficacité de l'échange a pu être vérifiée par RMN du proton en observant les déplacements chimiques de H_a et H_b (schéma 74). Dans le cas du composé ayant un contre ion iode, les protons H_a et H_b forme chacun un doublet à 6,34 ppm et un autre à 6,62 ppm. Cependant, quand l'halogène est échangé par un triflate, ces deux doublets sont blindés (un particulièrement) et apparaissent sous la forme d'un triplet apparent à 6,27 ppm. Le spectre RMN ^{13}C , indique la présence d'un quadruplet à 120,7 ppm avec des constantes de couplage C-F de 320.0 Hz. Le spectre RMN ^{19}F du fluor montre un singulet à -77,9 ppm, l'ensemble de ces données RMN confirme bien l'échange de l'iode par un contre ion triflate.

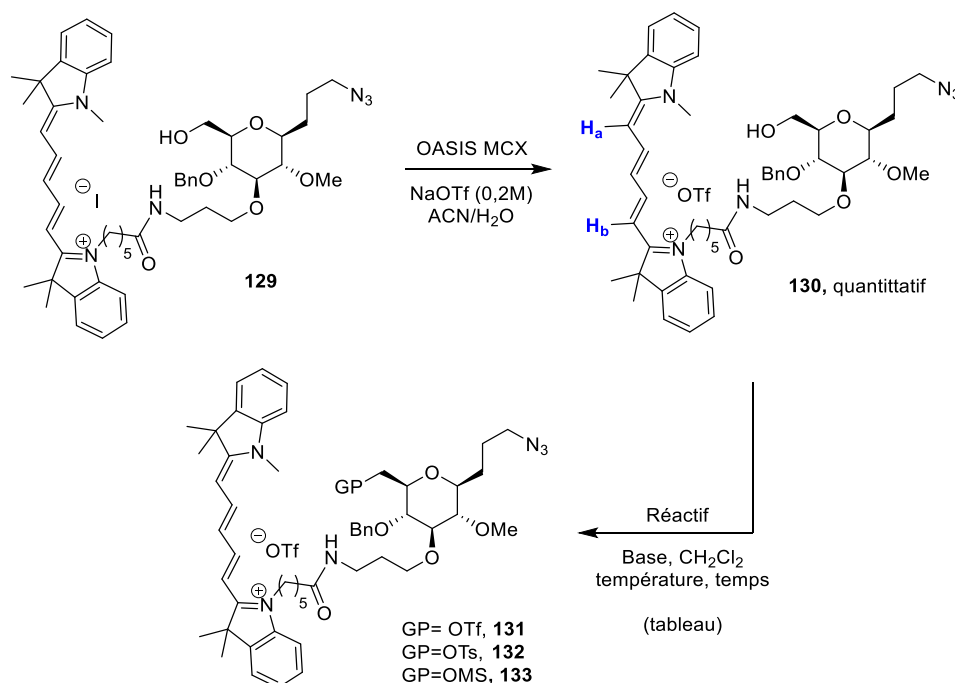


Schéma 74. Activation de l'alcool primaire avec un groupe partant

Une fois le composé **130** obtenu, différentes conditions réactionnelles et différents groupes partants ont été testés. Il est à noter que l'introduction des groupes partants a été réalisée à partir d'anhydrides et non pas de chlorures d'acide afin d'éviter la présence d'halogènes dans le milieu, pouvant conduire à un échange du contre ion de **130** et également à une substitution nucléophile avec l'hydroxyle activé (tableau 20).

Entrée	Réactif	Base	T (°C)	t (h)	GP	Pdt (%)	Conv. (%)
1	Tf ₂ O	Pyridine	-25 à t.a.	0,5	OTf	131 (0)	100
2	Ts ₂ O	DIPEA	30	24	OTs	132 (0)	0
3	Ms ₂ O	DIPEA	30	6	OMs	133 (25)	56
4	Ms ₂ O	DIPEA	30	16	OMs	133 (49)	77

Tableau 20. Groupes partants et conditions testées pour la fonctionnalisation de **130**

La radiofluoration des groupements prosthétiques précédemment synthétisés au laboratoire était effectuée à partir d'un précurseur portant un triflate. En effet, celui-ci est un excellent groupe partant permettant une radiofluoration avec de bons rendements. C'est pourquoi l'introduction d'un triflate a été testée dans des conditions classiquement utilisées au laboratoire (tableau 20, entrée 1).^[215] Lors de cette réaction, la formation du composé **131** a pu être observée par spectroscopie de masse du brut réactionnel. Malheureusement, après traitement du milieu, le composé **131** a évolué pour former un produit que nous n'avons pas pu identifier. Ce sous-produit ne correspond ni à une élimination ni à une hydrolyse du groupe OTf. Bien que cette réaction ait été testée à plusieurs reprises, le résultat a toujours été le même. En vue de la forte réactivité et donc de l'instabilité de ce triflate, un groupe partant plus stable a été envisagé, le tosylate. Le composé **130** a été mis en présence d'anhydride de tosyloxy et de DIPEA, cependant après 24h aucune réaction n'a été observée (tableau 20, entrée 2). Nous avons supposé que le tosyloxy est un groupe trop volumineux pour le composé **130** qui porte un groupement encombrant comme la cyanine. C'est pourquoi le mésyloxy, un groupement moins volumineux que le tosyloxy et moins instable que le triflate, a été testé (tableau 20, entrées 3 et 4). La mésylation de **130** effectuée avec de l'anhydride de mésyloxy et de la DIPEA à 30°C pendant 6h a permis d'obtenir le composé mésylé avec un rendement modeste de 25%. La prolongation du temps de réaction de 6h à 16h a permis d'augmenter le rendement de **133** de 25 à 49%.

Une fois le groupe partant installé, la prochaine étape a été d'effectuer la radiofluoration de **133**.

III. Radiosynthèse de la sonde duale [¹⁸F]126

A ce jour, concernant les précurseurs de marquage comportant une cyanine, seules des conditions de radiofluoruration douces impliquant la création d'une liaison F-B sont décrites. La radiofluoruration par création d'une liaison covalente C-F dans des conditions de radiomarquage classiques correspondant à des conditions « dures » n'est à ce jour pas décrite dans la littérature. Le challenge était donc important car la cyanine reste une entité sensible qui peut se dégrader ou réagir lors d'une radiofluoruration qui se déroule en condition basique à température assez élevée.

La radiosynthèse du composé [¹⁸F]126 a été effectuée au sein de la plateforme d'imagerie moléculaire NancycloTEP au CHRU à Vandoeuvre-lès-Nancy en collaboration avec le Docteur Charlotte Collet.

L'utilisation d'agents radioactifs nécessite une séquence radiochimique totalement automatisée qui permet une radioprotection de l'utilisateur et améliore la reproductibilité et la répétabilité, favorisant la translation du préclinique vers des études cliniques. L'automatisation est une étape cruciale dans le développement du radiotraceur afin d'assurer sa production avec un minimum d'intervention humaine. Parmi les automates commerciaux disponibles, le module AllInOne (AIO) de Trasis[®], accessible à NancycloTep, est un module versatile qui peut facilement mettre en œuvre un large panel de séquences radiochimiques. La radiofluoruration développée est effectuée sur cet automate.

III.1. L'automate AllInOne (AIO)

Cet automate (figure 52) est très polyvalent avec un équipement contenant deux étages de dix-huit mécanismes de rotation ayant plusieurs positions, deux réacteurs chauffants et sept détecteurs de radiations. Il possède également un système CLHP intégré disposant de deux positions pour des colonnes CLHP avec un détecteur UV et un détecteur de radioactivité intégrés. AIO fonctionne avec des cassettes à usage unique et des sets de réactifs. Cela facilite les conformités BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication) et prévient des contaminations. Les composants disponibles en vrac permettent d'assembler ces cassettes pour des problématiques liées à la recherche sur lesquelles de nombreux composants peuvent être positionnés : des pics (pour les vials des réactifs), des cartouches SPE, des seringues ou des tubulures. Tous ces matériaux sont

compatibles avec les acides, les bases, les solvants et sont appropriés pour des applications médicales.



Figure 52. Automate AllInOne

Le logiciel convivial reproduit l'image de la disposition de la cassette (figure 53) et montre en temps réel tous les mouvements de l'automate pendant la production du radiotracer. La séquence conçue pour réaliser la radiofluoruration est représentée figure 53.

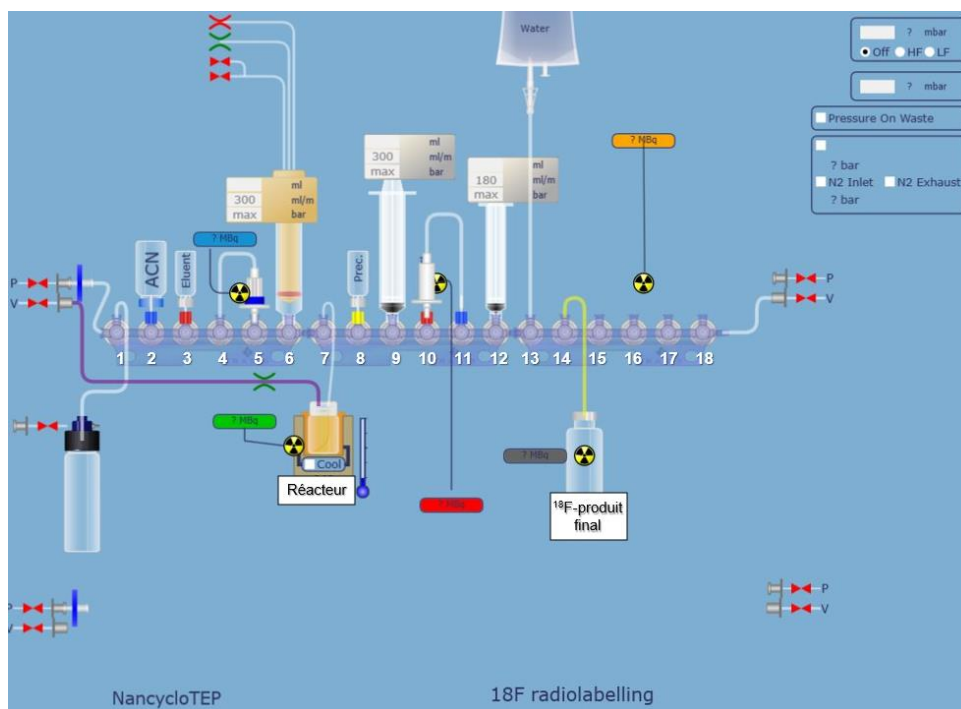


Figure 53. Représentation schématique de la séquence utilisée pour la préparation de [^{18}F]126

III.2. Préparation de l'automate et de la cassette

La cassette à usage unique est construite de toute pièce avec une série de trois manifolds. Plusieurs composants ont été connectés sur la cassette comme décrit sur la Figure 70 : pics (TPX), cartouches SPE, seringues luer-lock (BD) et les tubes de silicone équipés d'un connecteur mâle ou femelle. Des flacons sertis en verre, de 50 mL (vial A) et de 4 mL (vials B, et C) ont été plantés sur les pics. Tous ces matériaux sont à usage unique et sont utilisables pour des applications médicales. La liste des réactifs utilisés pour la procédure automatisée est décrite dans le tableau 21.

Position	Réactifs ou matériel	Quantités
P2	Acétonitrile anhydre (ACN) / Vial A	10 mL
P3	K ₂₂₂ /K ₂ CO ₃ (5.3 mg/1.3 mg) dans ACN/H ₂ O (8/2 v/v) / Vial B	1 mL
P4-P5	Sep-pak® Light QMA-carbonate	1
P6	Plunger (20 mL) / SA2	1
P8	Précurseur 133 / Vial C	5 mg
P9	Seringue de 20 mL / SA3	1
P10-P11	Cartouche de silice	1
P12	Seringue de 10 mL / SA4	1

Tableau 21. Préparation détaillée pour la radiofluoruration de [¹⁸F]126 sur l'automate AllInOne

Le précurseur 133 (Vial C, P8) a été dilué avec 2 mL d'ACN anhydre (Vial A, P2) avant réception de l'activité, le module est maintenant prêt à recevoir le [¹⁸F]F⁻ pour la radiosynthèse. Il est à noter que dans le but de calculer un pourcentage d'incorporation en fluor-18, pour cette radiosynthèse, la cartouche de silice (P10-P11) a été enlevée et remplacée par un simple tube de silicone.

III.3. Radiofluoruration du précurseur de marquage de la sonde duale 133

La radiosynthèse débute avec la préparation du complexe K[¹⁸F]F-K₂₂₂ nécessaire à la radiofluoruration. Ce complexe est réalisé de façon classique, une solution d'eau enrichie contenant des fluorures-18 est passée sur une cartouche de résine échangeuse d'anions (cartouche QMA). Les fluorures sont accrochés tandis que l'eau enrichie est éluée. Cette cartouche est ensuite éluée avec une solution contenant du K₂CO₃ et du Kryptofix® K₂₂₂, permettant d'échanger les fluorures-18 par des carbonates. Le K₂₂₂ permet de complexer les ions K⁺ élués afin d'exalter la nucléophilie des fluorures. La solution est récupérée dans le réacteur 1 (schéma 75).

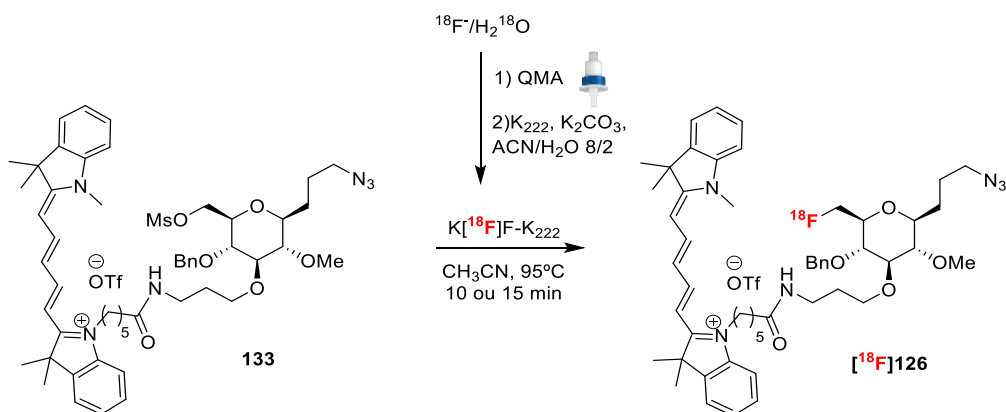


Schéma 75. Radiosynthèse de $[^{18}\text{F}]126$

Le radiomarquage au fluor-18 du précurseur **133** est réalisé dans le réacteur 1 après ajout du précurseur de marquage dilué dans 2 mL d'ACN. En tirant parti des travaux précédents sur les groupements prosthétiques à base de C-glycosides (Vucko *et al.* 2019)^[215], nous avons opté pour les conditions suivantes : le $\text{K}[^{18}\text{F}]\text{F-K}_{222}$ est mis à réagir avec 5 mg de précurseur de marquage dans 2 mL d'acétonitrile anhydre, pendant 15 min à 95°C. Contrairement aux travaux précédents impliquant un triflate, le groupe partant est un mésylate possédant un caractère nucléofuge moins marqué, un temps de 15 min a donc été privilégié, par rapport à 5 min pour un précurseur de type triflate.. Après avoir refroidi le milieu à 30°C, le brut réactionnel de marquage est récupéré dans le vial en P14. Une radio-CCM du brut réactionnel a été effectuée et celle-ci montre la présence du produit radiomarqué $[^{18}\text{F}]126$ avec un pourcentage d'incorporation du fluor-18 de 15% (figure 54a).

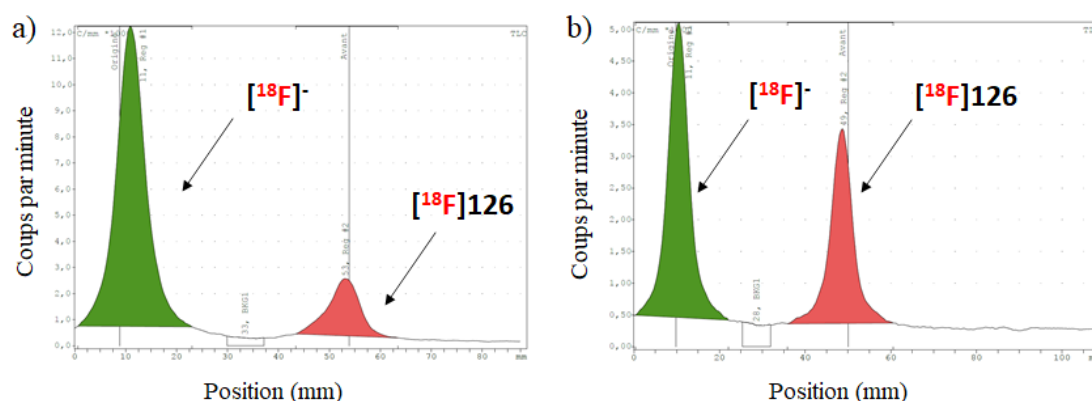


Figure 54. Radio TLC réalisée avec un éluant DCM/MeOH (1/1) du radiomarquage de **133** à a) 95°C pendant 15 min ; b) 95°C pendant 10 min

Afin d'améliorer le pourcentage d'incorporation, un deuxième essai de marquage à 95°C mais pendant seulement 10 min été réalisé. Le fait de réduire le temps de réaction a permis d'augmenter le rendement d'incorporation du fluor-18 à 40% (figure 54b). Ces résultats semblent indiquer qu'un temps prolongé de réaction ne favorise pas la radiofluoration, car il doit y avoir une dégradation du produit radiofluoré. Ces résultats sont très prometteurs, car ils montrent que la radiofluoration d'un précurseur comportant une cyanine est possible. Une optimisation avec un temps de réaction plus court de 5 min pourrait être envisagée par la suite.

IV. Conclusion

Nous avons développé les conditions opératoires nécessaires permettant l'échange du contre ion de la cyanine 5, l'introduction du groupe partant et la réaction de radiofluoration à partir du précurseur de marquage mésylé **133**. Des radiomarquages au fluor-18 ont été réalisés avec succès permettant d'obtenir un pourcentage d'incorporation du ^{18}F de 40%. Ces essais de radiofluoration ont permis de prouver qu'un marquage au ^{18}F par formation d'un lien F-C en présence d'une cyanine est possible. Cette radiofluoration est une preuve de concept puisqu'à ce jour, aucune cyanine marquée directement au fluor-18 par formation d'un lien F-C n'a été publiée.

Ce type de plate-forme pyranoside correspond à un agent dual portant un seul peptide de type RGD et l'affinité de ce composé pour les intégrines s'est révélée être beaucoup plus faible que celle du peptide de référence c(RGDfK).

Les connaissances acquises concernant l'introduction d'un groupe partant de type mésylate et la radiofluoration de cette sonde duale de type pyranoside sont précieuses et seront très utiles lors du radiomarquage des sondes duales divalentes développées lors du chapitre trois.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail de thèse est centré sur la synthèse de sondes duales à base de dérivés de type C-glycosidique fluorés et fluorescents pour le marquage dual TEP/FPIR de peptides, en exploitant une stratégie de marquage au fluor-18 (liaison F-C) très peu explorée dans la littérature.

La fonctionnalisation d'une plate-forme de type [3.3.0]furofuranone a été explorée, de sa formation par cyclisation intramoléculaire jusqu'à l'étude de sa réactivité et sa fonctionnalisation sélective. L'objectif de cette fonctionnalisation du noyau furofuranone était la conception d'une sonde duale portant un fluorophore de type cyanine 5, un fluor-18 ou un groupe partant permettant la radiofluoration et un azoture permettant la conjugaison du peptide par CuAAC. Cependant, la réactivité de cette lactone bicyclique s'est avérée plus compliquée à contrôler que prévue. Néanmoins, l'important travail de synthèse a permis d'acquérir et de développer des connaissances liées à la protection orthogonale et la fonctionnalisation sélective qui ont été d'une grande utilité lors de la synthèse de sondes duales à partir du composé C-glycosidique polyhydroxylé. De plus, le noyau [3.3.0]furofuranone est présent dans divers composés naturels comme la (+)-Goniofufurone et les Crassalactones B et C possédant des effets antiprolifératifs notables et nous avons ainsi synthétisé des stéréoisomères de ces composés naturels. Parmi les dix composés synthétisés, deux ont montré des effets cytotoxiques de l'ordre du micro molaire sur des cellules de glioblastome et, à ce jour, leur mécanisme d'action reste non identifié.

La seconde partie s'appuie sur ces premiers résultats concernant la protection et la fonctionnalisation sélective des dérivés de type C-glycosidiques, pour développer la synthèse d'une sonde duale à partir d'un composé de type C-glycosidique polyhydroxylé obtenu par réduction de l'ester méthylique porté par le bras pseudo-anomérique. La stratégie synthétique élaborée a permis d'obtenir les références non radioactives de deux agents duals TEP/FPIR et divalents (portant deux peptides c(RGDfK)). La différence structurale entre les deux agents duals **109** et **110** a été la longueur et la nature du bras qui sépare le peptide de la sonde duale : un hexyle ou une chaîne de type PEG₄ (figure 55).

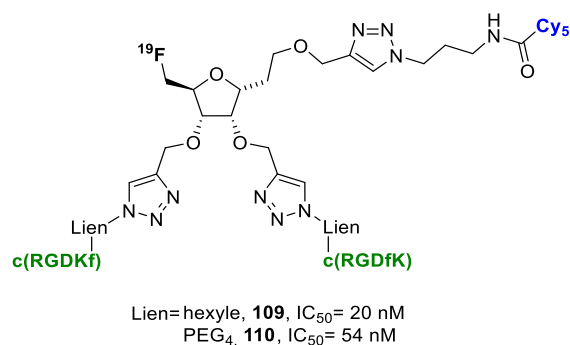


Figure 55. Agents duals **109** et **110**

Les études préliminaires d'affinité vis-à-vis des intégrines ont montré que les composés **109** et **110** possèdent une affinité proche du peptide seul. Le composé **109** portant la chaîne carbonée hexyle a même montré une affinité améliorée par rapport au peptide seul. Ces résultats ont été confirmés par des tests d'incorporation *in cellulo* sur la lignée U87-MG. Les propriétés de fluorescence des composés ont été étudiées afin de vérifier le rendement quantique et la brillance des outils synthétisés. La voie de synthèse permettant l'accès au précurseur de marquage de la sonde duale a pu être également validée.

La dernière partie a été consacrée à la synthèse du précurseur de marquage d'une sonde TEP/FPIR de type pyranoside comportant un groupe partant. Les radiofluorations réalisées sur le précurseur de marquage de type pyranoside ont permis de prouver la faisabilité de la radiofluoration d'un composé portant un fluorophore de type cyanine par un lien ¹⁸F-C. Ces connaissances acquises seront un grand atout pour le marquage des sondes duales divalentes.

Les perspectives à court terme pour ce projet sont l'optimisation de la synthèse du précurseur de marquage ainsi que la réalisation de la radiofluoration et sa conséquente automatisation pour obtenir l'agent dual TEP/FPIR radiomarqué. Une fois l'agent dual obtenu, la prochaine étape sera la réalisation de l'imagerie *in vivo* en TEP et FPIR ainsi que la chirurgie guidée par FPIR. Une perspective plus globale du projet serait d'augmenter la valence (introduction de plus de deux peptides) en couplant la sonde avec une plateforme portant plusieurs RGD ou encore portant des RGD et un autre peptide comme le peptide A7R ciblant le récepteur neuropiline 1 NRP-1 (multiplexation).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

I. General information

The different commercial reagent and solvent (Acros, Alfa Aesar, Carlo Erba, Carbosynth, Chem-Impex and Sigma Aldrich) were used without preliminary purification. The commercial cyanine 5 was purchased from CHEMFORASE and the c(RGDfK) peptide from Bachem. Dichloromethane was distilled on CaH₂ and some others anhydrous solvents (THF, toluene and MeOH) were collected after a purification on the solvent purifier (MBRAUN, MB-SPS-800). Thin layer chromatography (TLC) analyses were performed using standard procedures on Kieselgel 60F254 plates (Merck, Kenilworth, NJ, USA).

Compounds were visualized using UV light (254 nm) and a methanolic solution of sulfuric acid, a methanolic solution of ninhydrine and a solution of phosphomolybdique acid. Compounds were visualized using UV light (254 nm) and a methanolic solution of sulfuric acid and charred.

Melting points were determined with a Tottoli apparatus and are uncorrected. FTIR spectra were recorded on an apparatus Shimadzu IRAffinity-1, ATR PIKE Technologies model GladiAT (cm⁻¹). Optical rotations ($[\alpha]_D$) were measured at 20 °C on an Anton-Paar MCP 300 polarimeter in a g/100 mL concentration. Mass and high-resolution mass spectrometry spectra were recorded on a Bruker microTOFQ apparatus and MALDI spectra on a Bruker Ultraflex apparatus. UV absorption spectra was recorded with UV-Visible-NIR : LAMBDA 1050 (PERKIN ELMER) apparatus. Fluorescence spectra was recorded with FLUOROLOG 3 (HORIBA- JOBIN YVON) spectrofluorometer.

Column chromatography was performed on silica gel SI 60 (63–200 μm) (Merck). Purification of deprotected compounds was achieved by gel filtration on LH20 using water, methanol or water/ACN mixture as eluent. Flash chromatography purification were realized with a Combiflash Rf (Teledyne-Isco) system, Puriflash 5.250 (Interchim) System or with a ISMATEC pump associated to a LKB (Helirac, modèle 2212) collector on silica gel SI60 (35-70 μm, Merck). Semi preparative HPLC purifications was achieved in Puriflash 5.250 (Interchim system) with RP18 colum.

¹H, ¹³C, and ¹⁹F NMR spectra were recorded on a Bruker spectrometer DPX250 (250 MHz, 62.9 MHz and 235 MHz, respectively), Avance III 400 Bruker BBFO probe or Avance III 400 Bruker TBI probe (400 MHz and 100.6 MHz, respectively). For complete assignment of ¹H and ¹³C signals, two-dimensional ¹H, ¹H COSY and ¹H, ¹³C correlation spectra were

recorded. Chemical shifts (δ) are given in parts per million relative to the solvent residual peak. For clarity, atom numbering starts from the end of the anomeric arm like in the Figure 56.

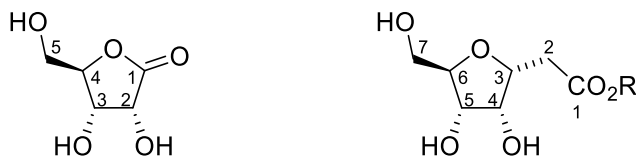


Figure 56. Compounds positions numerotation

The following abbreviations are used for multiplicity of NMR signals: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, qt = quintuplet, h = hexuplet, m = multiplet, br = broad signal and app = apparent multiplicity. The given J values refer to apparent multiplicities and do not represent the true coupling constants.

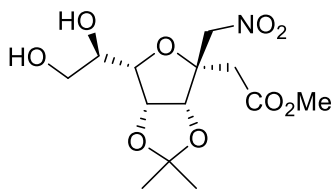
II. preparation and physico-chemical characterisation of compounds

When compounds are already described in literature, their structures are simply confirmed by ^1H NMR.

II.1. Functionalization of a C-glycosyl compound with [3.3.0]furofuranone moiety

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-3-C-nitromethyl-D-glycero-L-galacto-octanoicacid methyl ester (**1 β**)^[311]

A solution of *exo*-glycal *E* (4,0 g, 12,74 mmol, 1eq.) and DBU (50.90 mmol, 4 eq.) in CH_3NO_2 (15 mL) was stirred at room temperature until completion of the reaction (monitored by TLC). The reaction mixture was then diluted with CH_2Cl_2 (30 mL) and washed with water (2x20 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and evaporated. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the stereoisomer mixture. To a stirred solution of the mixture (375 mg, 1.0 mmol) in methanol (20 mL) at 0°C was added an aqueous solution of 1N HCl (7mL). After stirring at room temperature until completion of the reaction, a solution of sat. NaHCO_3 was added until pH = 7. Half of the solvent was removed *under vacuum* and the product was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 30 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent was evaporated. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford **1 β** .



Yield: 68% as a white solid

$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_8$

M.W.: 335.12 g/mol

$R_f = 0.25$ (Cycl/EtOAc:1/2)

$[\alpha]_D = -10.0$ (c = 0.60, CH_3OH)

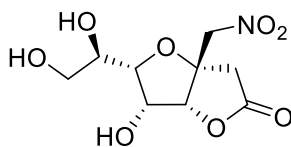
Mp: 137°C

^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ (ppm) = 1.33 (s, 3H, CH_3), 1.50 (s, 3H, CH_3), 2.47 (br s, 1H, OH), 2.93 (d, 1H, $J_{2a,2b} = 17.5$ Hz, *H*-2a), 2.94 (br s, 1H, OH), 3.13 (d, 1H, *H*-2b), 3.70-3.83 (m, 2H, *H*-8a, *H*-8b'), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 4.04-4.13 (m, 2H, *H*-6, *H*-

7), 4.62 (d, 1H, $J_{2'a,2'b} = 11.5$ Hz, $H-2'a$), 4.66 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.91 (dd, 1H, $J_{5,6} = 3.0$ Hz, $H-5$), 5.12 (d, 1H, $H-2'b$).

3,6-anhydro-2-deoxy-5,7,8-hydroxy-3-C-nitromethyl-D-glycero-L-galacto-1,4-lactone (2)

To a stirred solution of **1β** (488 mg, 1.2 mmol) in methanol (8 mL) was added HCl (0.8 mL) dropwise. After stirring at 50°C until completion of the reaction (2 h), the solvent was removed under *vacuum*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (eluent: methanol/EtOAc 5/95) to provide **2**.



Yield: 82% as a white solid

$C_9H_{13}NO_8$

M.W.: 263.20 g/mol

$R_f = 0.45$ (EtOAc)

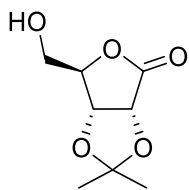
$[\alpha]_D = -25.1$ ($c = 0.10$, CH_3OH)

Mp: 140 °C

IR (cm^{-1}): $\nu = 3343, 2949, 1730, 1647, 1154, 1436, 1375, 1207$. **1H NMR** ($CDCl_3$, **200 MHz**): δ (ppm) = 2.93 (d, 1H, $J_{2a,2b} = 19.0$ Hz, $H-2a$), 3.00 (d, 1H, $H-2b$), 3.59 (dd, 1H, $J_{8a,8b} = 11.5$ Hz, $J_{8a,7} = 6.0$ Hz, $H-8a$), 3.65 (dd, 1H, $J_{8b,7} = 5.0$ Hz, $H-8b$), 3.96 (app td, 1H, $J_{7,6} = J_{7,8b} = 5.0$ Hz, $J_{7,8a} = 6.0$ Hz, $H-7$), 4.07 (dd, 1H, $J_{6,5} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.49 (dd, 1H, $J_{5,4} = 5.0$ Hz, $H-5$), 4.88 (d, 1H, $J_{2'a,2'b} = 14.0$ Hz, $H-2'a$), 4.92 (d, 1H, $H-2'b$), 5.14 (d, 1H, $H-4$). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, **100.6 MHz**): δ (ppm) = 41.30 ($C-2$), 64.0 ($C-8$), 72.0 ($C-7$), 72.4 ($C-5$), 78.9 ($C-2'$), 83.9 ($C-6$), 84.7 ($C-3$), 85.8 ($C-4$), 176.7 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 286.0463$ (calculated for $C_9H_{13}NNaO_8$: 286.0539).

2,3-O-(1-methylmethyldène)-5-hydroxy-D-ribonic acid-1,4-lactone (4)^[383]

To a solution of D-Ribonic acid-1,4-lactone (10 g, 67.5 mmol) in acetone (300 mL), 1.5 mL of concentrated H_2SO_4 (0.4 eq., 28.2 mmol) were added dropwise under inert atmosphere. The mixture was stirred overnight at room temperature. The solution was neutralized by addition of Na_2CO_3 until mixture discoloration and filtered. After evaporation under *vacuum*, the crude residue was recrystallized in a mixture of cyclohexane/dichloromethane to afford the protected compound **4**.



Yield: 85% as a white solid

 $C_8H_{12}O_5$

M.W.: 188.18 g/mol

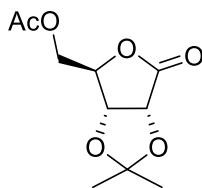
 $R_f = 0.20$ (Cycl/EtOAc: 2/1)

Mp: 43 °C

1H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) = 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 3.81 (br d, 1H, $J_{5a,5b} = 11.0$ Hz, H-5a), 3.99 (br d, 1H, $J_{5b,5a} = 11.0$ Hz, H-5b), 4.63 (br s, 1H, H-2), 4.77 (d, 1H, $J_{4,3} = 5.5$ Hz, H-4), 4.83 (d, 1H, $J_{3,4} = 5.5$ Hz, H-3).

2,3-O-(1-methylmethyldène)-5-acetate-D-ribonic acid-1,4-lactone (5)^[384]

To a solution of **4** (13.44 g, 71.4 mmol) in dry pyridine (150 mL), 27 mL of acetic anhydride (4 eq., 285.6 mmol) were added under inert atmosphere. The mixture was stirred 2 h at room temperature until reaction completion (TLC monitoring). The solvent was removed under *vacuum*, the crude product was dissolved in 100 mL of dichloromethane and washed with a solution of HCl 1 M (2x80 mL), with water and with a saturated solution of NaHCO₃ (2x80 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum* to afford the compound **5** which was used without further purification.



Yield: 95% as a colorless solid

 $C_{10}H_{14}O_6$

M.W.: 230.22 g/mol

 $R_f = 0.40$ (Cycl/EtOAc: 2/1)

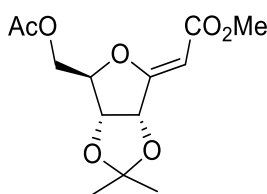
Mp: 55 °C

1H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) = 1.40 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.08 (s, 3H, CH₃), 4.23 (dd, 1H, $J_{5a,5b} = 12.5$ Hz, $J_{5a,4} = 2.5$ Hz, H-5a), 4.38 (dd, 1H, $J_{5b,5a} = 12.5$ Hz, $J_{5b,4} = 3.0$ Hz, H-5b), 4.69 (d, 1H, $J_{3,4} = 5.5$ Hz, H-3), 4.74-4.80 (m, 2H, H-2 and H-4).

Synthesis of (2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-acetyl-D-ribo-hept-2-enoic acid methyl ester (6-Z) and (2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-acetyl-D-ribo-hept-2-enoic acid methyl ester (6-E) ^[363]

To a solution of **AB** (5 g, 21.7 mmol) in dry toluene (150 mL), 21,77 g of $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Me}$ (3 eq., 65.1 mmol) were added in a sealed reactor. The mixture was stirred overnight at 140 °C. The solvent was removed under *vacuum*, the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 70/30 to 60/40) to afford the compounds **6-Z** and **6-E**.

(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-acetyl-D-ribo-hept-2-enoic acid methyl ester (6-Z)



Yield: 60 % as a yellow oil

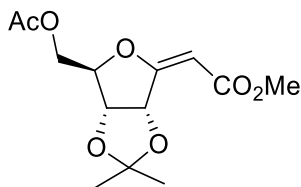
$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_7$

M.W.: 286.28 g/mol

$R_f = 0.48$ (Cycl/EtOAc: 6/4)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz): δ (ppm) = 1.38 (s, 3H, CH_3), 1.46 (s, 3H, CH_3), 2.05 (s, 3H, OCH_3), 3.70 (s, 3H, COOCH_3), 4.23 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.5$, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, $H-7a$), 4.34 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 3.5$ Hz, $H-7b$), 4.62 (d, 1H, $J_{4,5} = 5.5$ Hz, $H-5$), 4.89-4.97 (m, 1H, $H-6$), 5.10-5.12 (m, 2H, $H-4$ and $H-2$).

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-acetyl-D-ribo-hept-2-enoic acid methyl ester (6-Z)



Yield: 60% as a yellow oil

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_7$

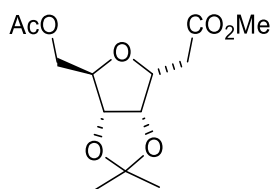
M.W.: 286.28 g/mol

$R_f = 0.53$ (Cycl/EtOAc: 6/4)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz): δ (ppm) = 1.42 (s, 3H, CH_3), 1.46 (s, 3H, CH_3), 2.03 (s, 3H, OCH_3), 3.72 (s, 3H, COOCH_3), 4.10 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.5$, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, $H-7$), 4.34 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 3$ Hz, $H-7$), 4.70-4.72 (m, 2H, $H-5$ and $H-6$), 5.43 (s, 1H, $H-2$), 5.76 (d, 1H, $J_{2-3}=6.5$, $H-4$).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-acetyl-D-ribo-heptanoic acid methyl ester (7)^[272]

To a solution of **6-E** and **6-Z** (1 g, 3.50 mmol) in ethyl acetate (100 mL), 400 mg of Pd/C 10% w (40% w/w) were added under inert atmosphere. The reaction mixture was stirred at 40 psi of hydrogen atmosphere for 48 h (Paar apparatus). After 48h, the catalyst was filtered off through a Celite[®] pad. 400 mg Pd/C 10% w (40% w/w) were added to the filtrate and the mixture was stirred for another 48h at 40psi of hydrogen atmosphere. The catalyst was filtered off through a Celite[®] pad and the filtrate was concentrated under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound to afford the compound **7**.



Yield: 90% as a colorless oil

C₁₃H₂₀O₇

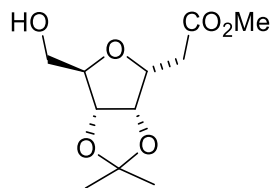
M.W.: 288.30 g/mol

R_f = 0.48 (Cycl/EtOAc: 6/4)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 1.34 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃), 2.72 (dd, 1H, J_{2a,2b} = 16.0, J_{2,3} = 5.0 Hz, H-2a), 2.81 (dd, 1H, J_{2b,3} = 6.0 Hz, H-2b), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 4.05 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 11.0, J_{7a,6} = 4.5 Hz, H-7a), 4.13-4.28 (m, 2H, H-7b and H-6), 4.36 (m, 1H, H-3), 4.67 (d, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-5), 4.80 (dd, 1H, H-4).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-hydroxy-D-ribo-heptanoic acid methyl ester (8)^[272]

To a solution of **7** (500 mg, 1.70 mmol) in dry methanol (20 mL), a catalytic amount of sodium was added under inert atmosphere. The reaction mixture was stirred for 3 h a room temperature. The mixture was neutralized by addition of Amberlite IR-120 (and filtered). The solvent was removed under *vacuum*, the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 40/60) to afford the compound **8**.



Yield: 85% as a yellow oil

 $C_{11}H_{18}O_6$

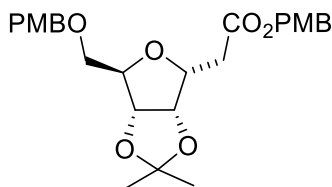
M.W.: 246.26 g/mol

 $R_f = 0.10$ (Cycl/EtOAc: 6/4)

1H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ (ppm) = 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 2.66 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 16.5$ Hz, $J_{2a,3} = 7.0$ Hz, H-2a), 2.72 (dd, 1H, $J_{2b,2a} = 16.5$ Hz, $J_{2b,3} = 7.0$ Hz, H-2b), 3.53 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.0$ Hz, $J_{7a,6} = 5.5$ Hz, H-7a), 3.58 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 12.0$ Hz, $J_{7b,6} = 5.5$ Hz, H-7b), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 4.00 (app td, 1H, $J_{6,7b} = J_{6,7a} = 5.5$ Hz, $J_{6,5} = 1.0$ Hz, H-6), 4.40 (app td, 1H, $J_{3,2a} = J_{3,2b} = 7.0$ Hz, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, H-3), 4.74 (dd, 1H, $J_{5,4} = 6.0$ Hz, $J_{5,6} = 1.0$ Hz, H-5), 4.77 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $J_{4,3} = 4.0$ Hz, H-4).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-(*p*-methoxybenzyl)-D-ribo-heptanoic acid *p*-methoxybenzyl ester (**9**)

To a solution of **8** (200 mg, 0.81 mmol) in a mixture of dry THF-DMF (2/3 v/v, 5 mL), 50 mg of NaH 60% in mineral oil (1.5 eq., 1.21 mmol) and 175 μ L of 4-methoxybenzyl bromide (1.5 eq., 1.21 mmol) were added under inert atmosphere at 0 °C. The solution was stirred for 24 h at room temperature. The reaction mixture was diluted with water (8 mL) and extracted with dichloromethane (3x15 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 80/20) to afford the compound **9**.



Yield: 40% as colorless oil

 $C_{26}H_{32}O_8$

M.W.: 472.53 g/mol

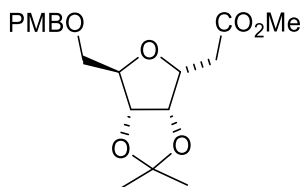
 $R_f = 0.40$ (Cycl/EtOAc: 8/2) $[\alpha]_D = -8.7$ (c = 0.10, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3667, 2934, 1732, 1612, 1512, 1456, 1439, 1381, 1301, 1244$. **1H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.47 (s, 3H, CH₃), 2.70 (dd, 2H, $J_{2a,2b} = 16.5$ Hz, $J_{2a,3} = 7.0$ Hz, H-2a), 2.76 (dd, 2H, $J_{2a,2b} = 16.5$ Hz, $J_{2b,3} = 7.0$ Hz, H-2b), 3.48-3.53 (m, 2H, H-7), 3.81 (br s, 6H, Ar-OCH₃), 4.17 (app t, 1H, $J_{6,7a} = J_{6,7b} = 4.5$ Hz, H-6), 4.40-4.49 (m, 1H, H-3), 4.43 (d, 1H, J = 11.5 Hz, CH₂Ph), 4.48 (d, 1H, J = 11.5

Hz, CH₂Ph), 4.73-4.76 (m, 2H, *H-4*, *H-5*), 5.06-5.14 (m, 2H, CH₂Ph), 6.85-6.91 (m, 4H, *H-Ar*), 7.20-7.31 (m, 4H, *H-Ar*). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ (ppm) = 25.1 (CH₃), 26.4 (CH₃), 34.7 (C-2), 55.4 (2OCH₃), 66.3 (CH₂Ph), 70.7 (C-7), 73.3 (CH₂Ph), 78.2 (C3), 81.8, 82.9, 83.4 (C-4, C-5, C-6), 112.5 (C(CH₃)₂), 113.9 (2CAr), 114.0 (CAr), 114.1 (CAr), 128.2 (CAr), 128.8 (CAr), 129.3 (2CAr), 130.1 (CqAr), 130.1 (CqAr), 159.4 (2CqAr), 171.9 (C=O). ESI-HRMS [M+NH₄]⁺ m/z = 490.2396 (calculated for C₂₆H₃₆NO₈⁺: 490.2435).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-(*p*-methoxybenzyl)-D-ribo-heptanoic acid methyl ester (10)

To a solution of **8** (100 mg, 0.40 mmol) in dry dichloromethane (5 mL), 225 mg of 4-methoxybenzyl 2,2,2-trichloroacetimidate (2 eq., 0.80 mmol) were added under inert atmosphere. The reaction mixture was cooled to 0 °C and 2 μL of BF₃.OEt₂ (0.04 eq, 0.016 mmol) were added and the mixture was stirred overnight a room temperature. After 16 h, the catalyst was filtered off through a Celite[®] pad and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 60/40) to afford the compound **10**.



Yield: 75% as colorless gum

C₁₉H₂₆O₇

M.W.: 366.41 g/mol

R_f = 0.40 (Cycl/EtOAc: 8/2)

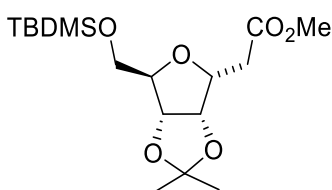
[α]_D = - 4.6 (c = 0.11, CHCl₃)

IR (cm⁻¹) : ν = 3370, 2936, 1732, 1670, 1610, 1512, 1458, 1373, 1301, 1246. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz)**: δ (ppm) = 1.31 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 2.69 (dd, 2H, J_{2a,2b} = 16.5 Hz, J_{2a,3} = 7.0 Hz, *H-2a*), 2.74 (dd, 2H, J_{2b,3} = 6.5 Hz, *H-2b*), 3.46-3.51 (m, 2H, *H-7*), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, Ar-OCH₃), 4.16 (app t, 1H, J_{6,7a} = J_{6,7b} = 4.5 Hz, *H-6*), 4.40-4.47 (m, 1H, *H-3*), 4.42 (d, 1H, J = 11.5 Hz, CH₂Ph), 4.47 (d, 1H, J = 11.5 Hz, CH₂Ph), 4.72-4.76 (m, 2H, *H-4*, *H-5*), 6.87 (br d, 2H, J = 8.5 Hz, *H-Ar*), 7.22 (br d, 2H, J = 8.5 Hz, *H-Ar*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz)**: δ 25.1 (CH₃), 26.3 (CH₃), 34.7 (C-2), 51.9 (OCH₃), 55.4 (OCH₃), 70.5 (C-7), 73.2 (CH₂Ph), 78.1 (C3), 81.7, 82.8, 83.3 (C-4, C-5, C-6), 112.5 (C(CH₃)₂), 114.0 (2CAr), 129.3 (2CAr), 130.0 (CqAr), 159.4

(*CqAr*), 172.0 (*C=O*). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 389.1590$ (calculated for $C_{19}H_{26}NaO_7$: 389.1571).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-(tert-butyldimethylsilyl)-D-ribo-heptanoic acid methyl ester (11)^[272]

To a solution of **8** (300 mg, 1.21 mmol) in dry DMF (10 mL), a solution of 363 mg of *tert*-Butyldimethylsilyl chloride (2.0 eq., 2.43 mmol) and 182 mg of imidazole (2.2 eq., 2.67 mmol) in dry DMF (3mL) was added dropwise at 0°C under inert atmosphere. The reaction was stirred for 3 h at room temperature. The reaction mixture was diluted with water (15 mL) and extracted with EtOAc (3x20 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **11**.



Yield: 78% as colorless oil

$C_{17}H_{32}O_6Si$

M.W.: 360.52 g/mol

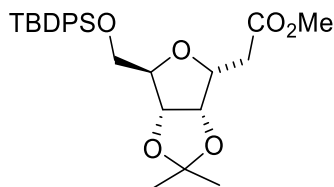
$R_f = 0.43$ (Cycl/EtOAc: 8/2)

1H NMR ($CDCl_3$, **400 MHz**): δ (ppm) = 0.06 (s, 3H, CH_3), 0.07 (s, 3H, CH_3), 0.90 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 1.34 (s, 3H, CH_3), 1.48 (s, 3H, CH_3), 2.68 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 16.0$ Hz, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, *H-2a*), 2.73 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.5$ Hz, *H-2b*), 3.68 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.0$ Hz, $J_{7a,6} = 3.5$ Hz, *H-7a*), 3.70 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.72 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 4.0$ Hz, *H-7b*), 4.07 (app br t, 1H, *H-6*), 4.51 (br ddd, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, *H-3*), 4.75 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H-4*), 4.82 (br d, 1H, *H-5*).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-(tert-butyldiphenylsilyl)-D-ribo-heptanoic acid methyl ester (12)

To a solution of **8** (1 g, 4.05 mmol) in dry DMF (10 mL), a solution of 1.58 mL of *tert*-butyldiphenylsilyl chloride (1.5 eq., 6.07 mmol) and 496 mg of imidazole (1.8 eq., 7.29 mmol) in dry DMF (3mL) was added dropwise at 0°C under inert atmosphere. The reaction was stirred overnight at room temperature, the mixture was then diluted with water (50 mL) and extracted with EtOAc (3x80 mL). The organic layer was dried over

MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 90/10) to afford the compound **12**.



Yield: 95% as colorless oil

C₂₇H₃₆O₆Si

M.W.: 484.66 g/mol

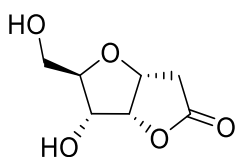
R_f = 0.47 (Cycl/EtOAc: 8/2)

[α]_D = +0.4 (c = 0.36, CHCl₃)

IR (cm⁻¹) : ν = 2928, 1742, 1425, 1351, 1210. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz)**: δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, Si-*tert*-butyl), 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.70 (dd, 1H, J_{2a,2b} = 16.5 Hz, J_{2a,3} = 7.0 Hz, H-2a), 2.76 (dd, 1H, J_{2b,3} = 7.0 Hz, H-2b), 3.67 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 11.0 Hz, J_{7a,6} = 4.0 Hz, H-7a), 3.71 (s, 3H, COOCH₃), 3.77 (dd, 1H, J_{7b,6} = 4.0 Hz, H-7b), 4.11 (app br t, 1H, H-6), 4.59 (app td, 1H, J_{3,2a} = J_{3,2b} 7.0 Hz, J_{3,4} = 4.0 Hz, H-3), 4.80 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-4), 4.86 (br d, 1H, H-5), 7.36-7.46 (m, 6H, H_{Ar}), 7.64-7.68 (m, 4H, H_{Ar}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz)**: δ (ppm) = 19.2 (C-Si), 25.2 (CH₃), 26.4 (CH₃), 27.0 (Si-*tert*-butyl), 34.9 (C-2), 51.8 (OCH₃), 65.4 (C-7), 78.6 (C-3), 82.0 (C-4), 83.4 (C-5), 84.3 (C-6), 112.5 (C(CH₃)₂), 128.0 (4C_{Ar}), 130.0 (C_{Ar}), 130.0 (C_{Ar}), 132.9 (C_{qAr}), 133.0 (C_{qAr}), 135.8 (4C_{Ar}), 171.8 (C=O). **ESI-HRMS [M+K]⁺ m/z** = 523.1877 (calculated for C₂₇H₃₆KO₆Si: 523.1913).

3,6-anhydro-2-deoxy-5,7-hydroxy-D-ribo-1,4-lactone (**13**)

A solution of **8** (500 mg, 1.70 mmol) in a mixture of TFA/H₂O 6/4 (v/v) (20 mL) was stirred for 3h at room temperature. The solvent was removed *in vacuum* and the crude residue was purified by column chromatography on silica gel (eluent: EtOAc/MeOH 100/0 to 90/10) to afford the compound **13**.



Yield: 69% as a yellowish oil

C₇H₁₀O₅

M.W.: 174.15 g/mol

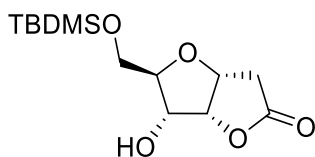
R_f = 0.40 (Methanol/EtOAc: 1/9)

[α]_D = +77.4 (c = 0.13, EtOH)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3389, 2934, 2872, 1770, 1678, 1400, 1356, 1305, 1263, 1193$. **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz)** δ (ppm) = 2.57 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 1.0$ Hz, *H-2a*), 2.90 (dd, 1H, $J_{2b,2a} = 18.5$ Hz, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H-2b*), 3.59 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.0$ Hz, $J_{7a,6} = 4.5$ Hz, *H-7a*), 3.76 (ddd, 1H, $J_{6,5} = 8.5$ Hz, $J_{6,7a} = 4.5$ Hz, $J_{6,7b} = 2.5$ Hz, *H-6*), 3.81 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 12.0$ Hz, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, *H-7b*), 4.17 (dd, 1H, $J_{5,6} = 8.5$ Hz, $J_{5,4} = 4.5$ Hz, *H-5*), 4.81 (ddd, 1H, $J_{3,2b} = 6.0$ Hz, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, $J_{3,2a} = 1.0$ Hz, *H-3*), 4.96 (app t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 4.5$ Hz, *H-4*). **¹³C NMR (CD₃OD, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 37.9 (*C-2*), 62.1 (*C-7*), 72.9 (*C-5*), 77.7 (*C-3*), 82.7 (*C-6*), 85.5 (*C-4*), 178.3 (*C=O*). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** $m/z = 197.0401$ (calculated for C₇H₁₀NaO₅: 197.0420).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-hydroxy-7-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*D*-ribo-1,4-lactone (15)

To a solution of **13** (100 mg, 0.57 mmol) in dry DMF (4 mL), a solution of 95 mg of *tert*-Butyldimethylsilyl chloride (1.1 eq., 0.63 mmol) and 44 mg of imidazole (1.1 eq., 0.63 mmol) in dry DMF (2 mL) was added dropwise at 0°C under inert atmosphere. The reaction was stirred for 3 h at room temperature. The reaction mixture was diluted with water (15 mL) and extracted with EtOAc (3x20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **15**.



Yield: 36% as a white solid

C₁₃H₂₄O₅Si

M.W.: 288.41 g/mol

$R_f = 0.25$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

$[\alpha]_D = +68.5$ ($c = 0.10$, CHCl₃)

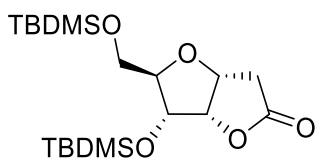
Mp: 92 °C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3479, 3400, 2951, 2928, 2857, 1755, 1472, 1396, 1298$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 0.07 (s, 3H, *Si-CH*₃), 0.08 (s, 3H, *Si-CH*₃), 0.90 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 2.23 (br d, $J_{OH,5} = 8.0$ Hz, 1H, *OH*), 2.71 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 1.5$ Hz, *H-2a*), 2.80 (dd, 1H, $J_{2b,2a} = 18.5$ Hz, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H-2b*), 3.77 (br dd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.0$ Hz, $J_{7a,6} = 4.5$ Hz, *H-7a*), 3.80-3.85 (m, 1H, *H-6*), 3.85 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 12.0$ Hz, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, *H-7b*), 4.27-4.34 (m, 1H, *H-5*), 4.84 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 5.0$ Hz, $J_{3,2a} = 6.0$ Hz, $J_{3,2b}$

= 1.5 Hz, *H*-3), 4.97 (app t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 5.0$ Hz, *H*-4). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ (ppm) = -5.3 (*CH*₃-Si), -5.2 (*CH*₃-Si), 18.5 (*C*-Si), 26.0 (Si-*tert*-butyl), 37.2 (*C*-2), 62.9 (*C*-7), 73.0 (*C*-5), 76.6 (*C*-3), 82.9 (*C*-6), 83.3 (*C*-4), 175.4 (*C*=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ *m/z* = 311.1285 (calculated for C₁₃H₂₄NaO₅Si: 311.1291).

3,6-anhydro-2-deoxy-5,7-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-D-ribo-1,4-lactone (17)

To a solution of **13** (100 mg, 0.57 mmol) in dry DMF (4 mL), a solution of 430 mg of *tert*-Butyldimethylsilyl chloride (5 eq., 2.85 mmol) and 198 mg of imidazole (5.1 eq., 2.90 mmol) in dry DMF (2 mL) was added dropwise at 0 °C under inert atmosphere. The reaction was stirred for 24 h a room temperature. The reaction mixture was diluted with water (15 mL) and extracted with EtOAc (3x20 mL) and the organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **17**.



Yield: 25% as a colorless oil

C₁₉H₃₈O₅Si₂

M.W.: 402.68 g/mol

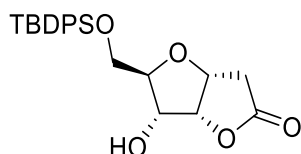
*R*_f = 0.80 (Cycl/EtOAc: 7/3)

[α]_D = +55.3 (c = 0.12, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): ν = 2928, 2857, 1784, 1463, 1294, 1251. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 0.04-0.07 (m, 12H, *Si-CH*₃), 0.89 (s, 9H, *Si-tert*-butyl), 0.91 (s, 9H, *Si-tert*-butyl), 2.65 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$, Hz, $J_{2a,3} = 2.5$ Hz, *H*-2a), 2.72 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.5$ Hz, *H*-2b), 3.64 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, *H*-7a), 3.79 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 1.5$ Hz, *H*-7b), 3.86-3.89 (m, 1H, *H*-6), 4.31 (dd, $J_{5,6} = 6.0$, Hz, $J_{5,4} = 5.0$ Hz 1H, *H*-5), 4.79 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 5.0$ Hz, *H*-3), 4.85 (app t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 5.0$ Hz, *H*-4). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = -5.4 (*CH*₃-Si), -5.2 (*CH*₃-Si), -4.9 (*CH*₃-Si), -4.8 (*CH*₃-Si), 18.3 (*C*-Si), 18.4 (*C*-Si), 25.8 (Si-*tert*-butyl), 26.0 (Si-*tert*-butyl), 37.3 (*C*-2), 62.1 (*C*-7), 72.3 (*C*-5), 76.56 (*C*-3), 83.0 (*C*-4), 83.7 (*C*-6), 176.0 (*C*=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ *m/z* = 425.2185 (calculated for C₁₉H₃₈NaO₅Si₂: 425.2150).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-hydroxy-7-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*D*-ribo-1,4-lactone (16)

To a solution of **13** (140 mg, 0,80 mmol) in dry DMF (4 mL), a solution of 225 μ L of *tert*-Butyldiphenylsilyl chloride (1.1 eq., 0.86 mmol) and 120 mg of imidazole (2.2 eq., 1.76 mmol) in dry DMF (2 mL) was added dropwise at 0°C under inert atmosphere. The reaction was stirred for 24 h at 40°C. The reaction mixture was diluted with water (15 mL) and extracted with EtOAc (3x20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **16**.



Yield: 48% as colorless oil

C₂₃H₂₈O₅Si

M.W.: 412.55 g/mol

R_f = 0.40 (Cycl/EtOAc: 7/3)

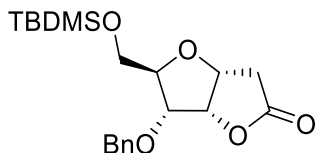
[α]_D = +22.4 (c = 0.06, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): ν = 3672, 2926, 1782, 1472, 1427, 1394, 1250. **¹H NMR** (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 2.10 (brs, 1H, OH), 2.72 (dd, 1H, $J_{2a,2b}$ = 18.5 Hz, $J_{2a,3}$ = 1.5 Hz, *H-2a*), 2.82 (dd, 1H, $J_{2b,3}$ = 6.0 Hz, *H-2b*), 3.81 (dd, 1H, $J_{7a,7b}$ = 11.0 Hz, $J_{7a,6}$ = 3.5 Hz, *H-7a*), 3.85 (ddd, 1H, $J_{6,5}$ = 7.0 Hz, $J_{6,7a}$ = 3.5 Hz, $J_{6,7b}$ = 2.5 Hz, *H-6*), 3.91 (dd, 1H, $J_{7b,7a}$ = 11.0 Hz, $J_{7b,6}$ = 2.5 Hz, *H-7b*), 4.40-4.46 (m, 1H, *H-5*), 4.89 (ddd, 1H, $J_{3,2b}$ = 6.0 Hz, $J_{3,4}$ = 4.5 Hz, $J_{3,2a}$ = 1.5 Hz, *H-3*), 5.01 (app t, 1H, $J_{4,3}$ = $J_{4,5}$ = 4.5 Hz, *H-4*), 7.37-7.46 (m, 6H, *H_{Ar}*), 7.65-7.69 (m, 4H, *H_{Ar}*). **¹³C NMR** (CDCl₃, 100.6 MHz): δ (ppm) = 19.4 (*C-Si*), 27.0 (*Si-tert-butyl*), 37.2 (*C-2*), 63.5 (*C-7*), 73.0 (*C-5*), 76.5 (*C-3*), 82.9 (*C-6*), 83.3 (*C-4*), 127.9 (2*C_{Ar}*), 128.0 (2*C_{Ar}*), 130.0 (*C_{Ar}*), 130.0 (*C_{Ar}*), 133.1 (*C_{qAr}*), 133.1 (*C_{qAr}*), 135.7 (2*C_{Ar}*), 135.7 (2*C_{Ar}*), 175.3 (*C=O*). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 435.1598 (calculated for C₂₃H₂₈NaO₅Si: 435.1604).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-*O*-(benzyl)-7-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*D*-ribo-1,4-lactone (19)

To a solution of **15** (100 mg, 0.35 mmol) in dry dichloromethane (5 mL), 241 mg of Ag₂O (3 eq., 1.05 mmol) and 123 μ L of benzyl bromide (3 eq., 1.05 mmol) were added

under inert atmosphere. The reaction was stirred for 48 h at 60 °C in a sealed tube. The reaction mixture was filtered off through a Celite® pad and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **19**.



Yield: 61% as a colorless oil

$C_{20}H_{30}O_5Si$

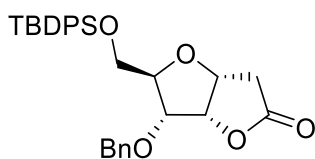
M.W.: 378.54 g/mol

$R_f = 0.25$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 0.04 (s, 3H, Si-CH₃), 0.05 (s, 3H, Si-CH₃), 0.88 (s, 9H, Si-*tert*-butyl), 2.68 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz $J_{2a,3} = 2.5$ Hz, *H*-2a), 2.75 (dd, 1H, $J_{2b,2a} = 18.5$ Hz, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H*-2b), 3.67 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.5$ Hz, $J_{7a,6} = 2.5$ Hz, *H*-7a), 3.83 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 11.5$ Hz, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, *H*-7b), 4.02 (app dt, 1H, $J_{6,5} = 7.0$ Hz, $J_{6,7b} = J_{6,7a} = 2.5$ Hz, *H*-6), 4.13 (dd, 1H, $J_{5,6} = 7.0$ Hz, $J_{5,4} = 4.5$ Hz, *H*-5), 4.58 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH₂Ph), 4.77 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH₂Ph), 4.80 (ddd, 1H, $J_{3,2b} = 6.0$ Hz, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, $J_{3,2a} = 2.5$ Hz, *H*-3), 4.94 (app t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 4.5$ Hz, *H*-4), 7.28-7.39 (m, 5H, H_{Ar}). **^{13}C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = -5.3 (CH₃-Si), -5.2 (CH₃-Si), 18.5 (C-Si), 26.0 (Si-*tert*-butyl), 37.1 (C-2), 62.5 (C-7), 72.9 (CH₂Ph), 77.1 (C-3), 78.1 (C-5), 81.5 (C-4), 82.0 (C-6), 128.1 (2C_{Ar}), 128.2 (C_{Ar}), 128.7 (2C_{Ar}), 137.5 (C_qAr), 175.7 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ $m/z = 401.1770$ (calculated for C₂₀H₃₀NaO₅Si: 401.1760).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-*O*-(benzyl)-7-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-*D*-ribo-1,4-lactone (20)

To a solution of **16** (82 mg, 0.19 mmol) in dry dichloromethane (5 mL), 148 mg of Ag₂O (3 eq., 0.58 mmol) and 50 μ L of benzyl bromide (2 eq., 0.38 mmol) were added under inert atmosphere. The reaction was stirred for 48 h at 60 °C in a sealed tube. The reaction mixture was filtered off through a Celite® pad and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **20**.



Yield: 84% as a colorless oil

 $C_{30}H_{34}O_5Si$

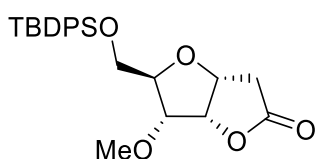
M.W.: 502.68 g/mol

 $R_f = 0.25$ (Cycl/EtOAc: 7/3) $[\alpha]_D = +84.4$ (c = 0.10, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3088, 2927, 2856, 1782, 1589, 1454, 1427, 1398, 1360, 1308, 1261$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.03 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 2.71 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 2.5$ Hz, *H-2a*), 2.77 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H-2b*), 3.74 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, *H-7a*), 3.90 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, *H-7b*), 4.06 (app dt, 1H, $J_{6,5} = 7.0$ Hz, *H-6*), 4.26 (dd, 1H, $J_{5,4} = 4.5$ Hz, *H-5*), 4.56 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH₂Ph), 4.76 (d, 1H, CH₂Ph), 4.86 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, *H-3*), 4.98 (app t, 1H, *H-4*), 7.29-7.46 (m, 11H, H_{Ar}), 7.62-7.65 (m, 4H, H_{Ar}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 19.4 (*C-Si*), 27.0 (*Si-tert-butyl*), 37.1 (*C-2*), 63.1 (*C-7*), 72.9 (CH₂Ph), 77.1 (*C-3*), 78.2 (*C-5*), 81.4 (*C-4*), 81.9 (*C-6*), 127.9 (2*C*_{Ar}), 127.9 (2*C*_{Ar}), 128.1 (2*C*_{Ar}), 128.2 (2*C*_{Ar}), 128.7 (*C*_{Ar}), 129.9 (*C*_{Ar}), 130.0 (*C*_{Ar}), 133.1 (*C*_qAr), 133.3 (*C*_qAr), 135.7 (2*C*_{Ar}), 135.7 (2*C*_{Ar}), 137.4 (*C*_qAr), 175.6 (*C=O*). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 525.2077** (calculated for $C_{30}H_{34}NaO_5Si$: 525.2068).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-*O*-(methyl)-7-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-*D*-ribo-1,4-lactone (**21**)

To a solution of **16** (100 mg, 0.24 mmol) in dry dichloromethane (5 mL), 185 mg of Ag₂O (3 eq., 0.73 mmol) and 60 μ L of methyl iodide (4 eq., 0.96 mmol) were added under inert atmosphere. The reaction was stirred for 48 h at 60 °C in a sealed tube. The reaction mixture was filtered off through a Celite[®] pad and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **21**.



Yield: 72% as a colorless oil

 $C_{24}H_{30}O_5Si$

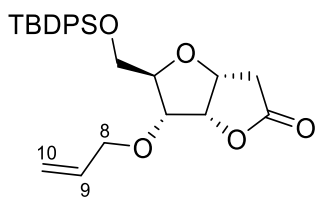
M.W.: 426.58 g/mol

 $R_f = 0.72$ (Cycl/EtOAc: 6/4) $[\alpha]_D = +65.9$ (c = 2.48, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 2930, 2857, 1782, 1462, 1390$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 2.69 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 2.0$ Hz, *H-2a*), 2.77 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H-2b*), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, *H-7a*), 3.91 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, *H-7b*), 3.98 (app dt, 1H, $J_{6,5} = 7.0$ Hz, *H-6*), 4.07 (dd, 1H, $J_{5,4} = 4.5$ Hz, *H-5*), 4.89 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, *H-3*), 5.07 (app t, 1H, *H-4*), 7.36-7.47 (m, 6H, H_{Ar}), 7.67 (br d, 4H, $J_{Ar} = 6.5$ Hz, H_{Ar}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 19.4 (*C-Si*), 27.0 (*Si-tert-butyl*), 37.0 (*C-2*), 58.6 (CH₃), 63.3 (*C-7*), 77.1 (*C-3*), 80.7 (*C-5*), 81.2 (*C-4*), 81.8 (*C-6*), 127.9 (2*C*_{Ar}), 127.9 (2*C*_{Ar}), 130.0 (*C*_{Ar}), 130.0 (*C*_{Ar}), 133.2 (*C*_{qAr}), 133.3 (*C*_{qAr}), 135.7 (2*C*_{Ar}), 135.7 (2*C*_{Ar}), 175.5 (*C=O*). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** $m/z = 449.1818$ (calculated for C₂₄H₃₀NaO₅Si: 449.1760).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-*O*-(allyl)-7-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-*D*-ribo-1,4-lactone (22)

To a solution of **16** (100 mg, 0.24 mmol) in dry dichloromethane (5 mL), 185 mg of Ag₂O (3 eq., 0.73 mmol) and 84 μ L of allyl bromide (4 eq., 0.96 mmol) were added under inert atmosphere. The reaction was stirred for 48 h at 60 °C in a sealed tube. The reaction mixture was filtered off through a Celite[®] pad and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **22**.



Yield: 29% as a colorless oil

C₂₆H₃₂O₅Si

M.W.: 452.62 g/mol

$R_f = 0.63$ (Cycl/EtOAc: 6/4)

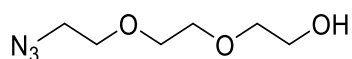
$[\alpha]_D = +65.1$ (c = 0.92, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): $\nu = 2928, 2857, 1782, 1471, 1458, 1427$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 2.70 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 2.0$ Hz, *H-2a*), 2.77 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H-2b*), 3.75 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, *H-7a*), 3.91 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, *H-7b*), 4.01 (app dt, 1H, $J_{6,5} = 7.0$ Hz, *H-6*), 4.06 (app ddt, 1H, $J_{8a,8b} = 12.5$ Hz, $J_{8a,9} = 6.0$ Hz, $J_{8a,10a} = J_{8a,10b} = 1.0$ Hz, *H-8a*), 4.21 (app ddt, 1H, $J_{8b,9} = 5.5$ Hz, $J_{8b,10a} = J_{8b,10b} = 1.5$ Hz, *H-8b*), 4.23 (dd, 1H, $J_{5,4} = 4.5$ Hz, *H-5*), 4.88 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, *H-3*), 5.03 (app t, 1H, *H-4*), 5.22 (b dd, 1H, $J_{10a,9} = 10.5$ Hz, $J_{10a,10b} = 2.5$ Hz, *H-10a*), 5.31 (b dd, 1H, $J_{10b,9} = 17.0$ Hz, *H-10b*), 5.93 (app ddt, 1H, *H-*

9), 7.35-7.47 (m, 6H, H_{Ar}), 7.65-7.68 (m, 4H, H_{Ar}). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ (ppm) = 19.4 (C-Si), 27.0 (Si-*tert*-butyl), 37.1 (C-2), 63.1 (C-7), 71.9 (C-8), 77.1 (C-3), 78.2 (C-5), 81.4 (C-4), 81.8 (C-6), 118.1 (C-9), 127.9 (2C_{Ar}), 127.9 (2C_{Ar}), 130.0 (C_{Ar}), 130.0 (C_{Ar}), 133.1 (C_{qAr}), 133.3 (C_{qAr}), 134.3 (C-10), 135.7 (2C_{Ar}), 135.7 (2C_{Ar}), 175.6 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 475.1916 (calculated for C₂₆H₃₂NaO₅Si: 475.1911).

2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethanol (**23**)^[385]

To a solution of 2-(2-(2-chloroethoxy)ethoxy)ethanol (3.00 g, 17.8 mmol) in water (120 mL) was added 2.30 g NaN₃ (2 eq., 35.6 mmol). The reaction was stirred for 16 h at reflux. The solution was extracted with CH₂Cl₂ (3x100 mL) and the organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum* to afford the compound **23**.



Yield: 94 % as colorless oil

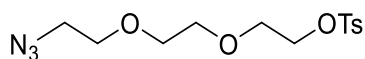
C₆H₁₃N₃O₃

M.W.: 175.19 g/mol

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) = 3.37 (t, 2H, *J* = 5.0 Hz, CH₂-N₃), 3.57-3.74 (m, 10H).

2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate (**24**)^[328]

To a solution of **23** (2.70 g, 16.7 mmol) in CH₂Cl₂ (50 mL), were added at 0 °C, 10 mg of DMAP (0.05 eq., 0.08 mmol), 3.25 mL of Et₃N (1.40 eq., 23.4 mmol) and 3.82 g of TsCl (1.2eq, 20.0 mmol). The reaction mixture was stirred for 16 h at 0 °C. The solution was washed with HCl 1 M (2x70 mL) and brine (2x70 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude residue was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 60/40) to afford the compound **24**.



Yield: 74 % as colorless oil

C₁₃H₁₉N₃O₅S

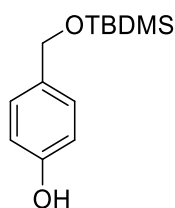
M.W.: 329.37 g/mol

R_f = 0.53 (Cycl/EtOAc: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) = 2.45 (s, 3H, CH₃-tosyle), 3.36 (t, 2H, J = 5.0 Hz, CH₂-N₃), 3.60-3.72 (m, 8H), 4.17 (t, 2H, J = 5.0 Hz, CH₂-OTs), 7.34 (d, 2H, J = 8.0 Hz, H_{Ar}), 7.80 (d, 2H, H_{Ar}).

4-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl)phenol (**27**)^[330]

To a solution of 4-hydroxybenzylalcohol (4.00 g, 32.2 mmol) in dry DMF (50 mL), a solution of 5.84 g of *tert*-Butyldimethylsilyl chloride (1.2 eq., 38.7 mmol) and 2.64 g of imidazole (1.2 eq., 38.7 mmol) in dry DMF (10 mL) were added dropwise at 0°C under inert atmosphere. The reaction was stirred 3 h at room temperature. The reaction mixture was diluted with Et₂O (150 mL) and washed with a saturated aqueous solution of NH₄Cl (3x80 mL) and brine (3x80 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was dissolved in CH₂Cl₂ (100 mL) and filtered through a Celite[®] pad to remove the insoluble parts. The organic solvent was removed under *vacuum* to afford the compound **27** without further purification.



Yield: 95 % as yellow oil

C₁₃H₂₂O₂Si

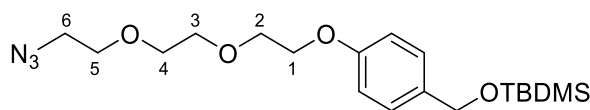
M.W.: 238.40 g/mol

R_f = 0.35 (Cycl/EtOAc: 6/4)

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) = 0.10 (brs, 6H, Si-CH₃), 0.93 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 4.66 (s, 2H, CH₂Ph), 6.78 (d, 2H, J = 8.5 Hz, H_{Ar}), 7.19 (d, 2H, H_{Ar}).

((4-(2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethoxy)benzyl)oxy)(*tert*-butyl)dimethylsilane (**28**)

To a solution of **24** (1.20 g, 3.64 mmol) in ACN (40 mL), 2.37 g of K₂CO₃ (4.70 eq., 17.12 mmol) and 5 mg of LiCl (0.03 eq., 0.11 mmol) were added at room temperature. After 5 minutes, a solution of **27** (915 mg, 1.05 eq, 3.83 mmol) in ACN (20 mL) was added dropwise and the reaction was heated at reflux for 24 h. The solvent was removed under *vacuum*, the crude residue was dissolved in CH₂Cl₂ (80 mL) and washed with brine (3x50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude residue was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **28**.



Yield: 58 % colorless oil

 $C_{19}H_{33}N_3O_4Si$

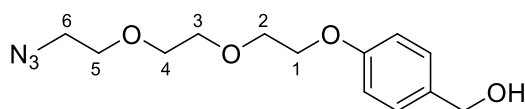
M.W.: 395.58 g/mol

 $R_f = 0.73$ (Cycl/EtOAc: 6/4)

IR (cm^{-1}): $\nu = 2926, 2855, 2097, 1612, 1510, 1462, 1296, 1246$. **1H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 0.09 (s, 6H, Si- CH_3), 0.93 (s, 9H, Si-*tert-butyl*), 3.38 (t, 2H, $J = 5.0$ Hz, $H-6$), 3.66-3.77 (m, 6H, $H-3, H-4, H-5$), 3.87 (t, 2H, $J = 5.0$ Hz, $H-2$), 4.14 (t, 2H, $J = 5.0$ Hz, $H-1$), 4.67 (s, 2H, CH_2Ph), 6.93 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_{Ar}), 7.23 (d, 2H, H_{Ar}). **NMR** ($CDCl_3$, 100.6 MHz): δ (ppm) = -5.0 (CH_3-Si), 18.6 ($C-Si$), 26.1 (Si-*tert-butyl*), 50.8 ($C-6$), 64.8 (CH_2Ph), 67.6 ($C-1$), 70.0 ($C-2$), 70.2, 70.9 and 71.1 ($C-3, C-4, C-5$), 114.8 (CAr), 114.8 (CAr), 127.6 (CAr), 133.9 ($CqAr$), 158.8 ($CqAr$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 418.2080$ (calculated for $C_{19}H_{33}N_3NaO_4Si$: 418.2133).

(4-(2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)methanol (**29**)

To a solution of **28** (70 mg, 0.18 mmol) in dry THF (10 mL), 220 μ L of tetrabutylammonium fluoride (1M in THF, 1.2 eq., 0.22 mmol) were added under inert atmosphere at 0 °C. The reaction was stirred at room temperature for 3 h. The solvent was removed under *vacuum* and the crude residue was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound **29**.



Yield: 79% colorless oil

 $C_{13}H_{19}N_3O_4$

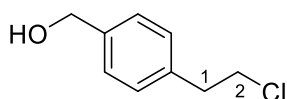
M.W.: 281.31 g/mol

 $R_f = 0.33$ (Cycl/EtOAc: 5/5)

IR (cm^{-1}): $\nu = 3422, 2870, 2096, 1610, 1508, 1456, 1298, 1232$. **1H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 3.38 (t, 2H, $J = 5.0$ Hz, $H-6$), 3.66-3.76 (m, 6H, $H-3, H-4, H-5$), 3.86 (t, 2H, $J = 5.0$ Hz, $H-2$), 4.14 (t, 2H, $J = 5.0$ Hz, $H-1$), 4.61 (br s, 2H, CH_2Ph), 6.89-6.97 (m, 2H, H_{Ar}), 7.27-7.35 (m, 2H, H_{Ar}). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100.6 MHz): δ (ppm) = 50.9 ($C-6$), 65.2 (CH_2Ph), 67.7 ($C-1$), 70.0 ($C-2$), 70.2, 70.9 and 71.1 ($C-3, C-4, C-5$), 114.9 (CAr), 115.1 (CAr), 128.7 (CAr), 129.3 (CAr), 133.5 ($CqAr$), 158.8 ($CqAr$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 304.1272$ (calculated for $C_{13}H_{19}N_3NaO_4$: 304.1268).

(4-(2-chloroethyl)phenyl)methanol (33)^[386]

To a suspension of 1.25 g of LiAlH₄ (3.0 eq., 33.0 mmol) and 2.93 g aluminum trichloride (2.0 eq., 22.0 mmol) in dry THF (60 mL) were added dropwise at 0°C, a solution of 4-(2-chloroethyl)benzoic acid (2.00 g, 11.0 mmol) and 1.47 g of aluminum trichloride (1.0 eq., 11.0 mmol) in dry THF (60 mL). The reaction was stirred at room temperature for 24 h. The mixture was neutralized by addition of a solution of H₂SO₄ 6 N (80 mL) and the aqueous layer was extracted with 200 mL of EtOAc. The organic layer was washed with an aqueous solution of H₂SO₄ 6 M (3x100 mL) and with a saturated solution of NaHCO₃ (3x100 mL) until pH = 7. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated under *vacuum* to afford the compound **33** without further purification.



Yield: 60 % light pink solid

C₉H₁₁ClO

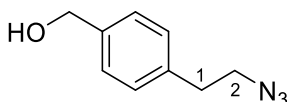
M.W.: 170.64 g/mol

 $R_f = 0.23$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 3.07 (t, 2H, $J_{2,1} = 7.5$ Hz, H-2), 3.71 (t, 2H, H-1), 4.68 (br s, 2H, CH₂OH), 7.22 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.33 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}).

(4-(2-azidoethyl)phenyl)methanol (34)^[387]

To a solution of **33** (510 mg, mmol) in DMF (20 mL) were added 585 mg of NaN₃ (2 eq., 35.6 mmol) and the reaction was stirred for 16 h at reflux. The solution was diluted with EtOAc (150 mL) and washed with water (3x50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum* to afford the compound **34** without further purification.



Yield: 77 % white solid

C₉H₁₁N₃O

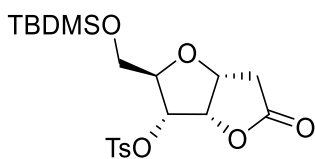
M.W.: 177.21 g/mol

 $R_f = 0.33$ (Cycl/EtOAc: 5/5)

^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 2.90 (t, 2H, $J_{2,1} = 7.0$ Hz, H_{-2}), 3.51 (t, 2H, H_{-1}), 4.68 (br s, 2H, CH₂OH), 7.22 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.33 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-*O*-(4-toluensulfonyl)-7-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-D-ribo-1,4-lactone (38)

To a solution of **15** (210 mg, 0,73 mmol) in dry dichloromethane (10 mL), 278 mg of 4-toluenesulfonyl chloride (2.0 eq., 1,46 mmol), 200 μL of triethylamine (2.0 eq., 1.46 mmol) and a 5 mg of DMAP (0.05 eq., 0,07 mmol) were added. The reaction was stirred overnight at room temperature. The solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound **38**.



Yield: 68% as yellowish oil

C₂₀H₃₀O₇SSi

M.W.: 442.60 g/mol

$R_f = 0.30$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

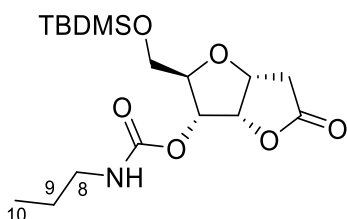
$[\alpha]_D = +123.7$ (c = 0.10, CHCl₃)

Mp: 47 °C

IR (cm⁻¹): $\nu = 2926, 2854, 1799, 1672, 1597, 1470, 1367, 1294, 1250$. **^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 0.03 (brs, 6H, Si-CH₃), 0.86 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 2.45 (s, 3H, CH₃-tosyle), 2.65 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 2.0$ Hz, H_{-2a}), 2.72 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, H_{-2b}), 3.55 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.5$ Hz, $J_{7a,6} = 2.5$ Hz, H_{-7a}), 3.77 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 2.0$ Hz, H_{-7b}), 4.09 (app dt, 1H, $J_{6,5} = 7.0$ Hz, H_{-6}), 4.79 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, H_{-3}), 4.92 (app t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 4.5$ Hz, H_{-4}), 5.05 (dd, 1H, H_{-5}), 7.36 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.84 (d, 2H, H_{Ar}). **^{13}C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = -5.5 (CH₃-Si), -5.3 (CH₃-Si), 18.4 (C-Si), 21.8 (CH₃-phenyl), 25.9 (Si-*tert-butyl*), 36.9 (C-2), 61.6 (C-7), 76.6 (C-5), 77.3 (C-3), 80.9 (C-4), 81.0 (C-6), 128.2 (2C_{Ar}), 130.1 (2C_{Ar}), 133.0 (C_{qAr}), 145.6 (C_{qAr}), 174.7 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ $m/z = 465.1374$ (calculated for C₂₀H₃₀NaO₇SSi: 465.1379).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-(propylcarbamate)-7-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-D-ribo-1,4-lactone (42)

To a solution of **15** (50 mg, 0.17 mmol) in dry THF (2 mL), 33 mg of carbonildiimidazole (1.2 eq., 0.20 mmol) were added. The reaction was stirred at 15 °C until completion of the activation reaction (TLC monitoring). Once the activation was completed, 21 μ L of propylamine (1.5 eq., 0.25 mmol) was added dropwise and the reaction was stirred for 1 h at 15 °C. The reaction mixture was neutralized until pH=5 with a solution of HCl (1 M) diluted in water (10 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (3x20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **42**.



Yield: 66 % as colorless oil

C₁₇H₃₁NO₆Si

M.W.: 373.52 g/mol

R_f = 0.65 (Cycl/EtOAc: 6/4)

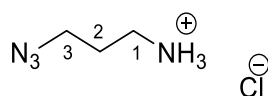
[α]_D = +12.3 (c = 0.10, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): ν = 2926, 2854, 2100, 1792, 1734, 1610, 1508, 11458, 1296, 1246, 1111, 1064. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 0.05 (s, 3H, Si-CH₃), 0.06 (s, 3H, Si-CH₃), 0.89 (s, 9H, Si-*tert*-butyl), 0.92 (t, 3H, $J_{10,9}$ = 7.0 Hz, *H*-10), 1.53 (sx, 2H, $J_{9,10}$ = $J_{9,8}$ = 7.0 Hz, *H*-9), 2.67 (dd, 1H, $J_{2a,2b}$ = 18.5 Hz, $J_{2a,3}$ = 1.5 Hz, *H*-2a), 2.76 (dd, 1H, $J_{2b,2a}$ = 18.5 Hz, $J_{2b,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2b), 3.15 (app q, 2H, $J_{8,9}$ = $J_{8,NH}$ = 7.0 Hz, *H*-8), 3.71 (dd, 1H, $J_{7a,7b}$ = 11.5 Hz, $J_{7a,6}$ = 3.0 Hz, *H*-7a), 3.83 (dd, 1H, $J_{7b,6}$ = 2.5 Hz, *H*-7b), 4.02-4.07 (m, 1H, *H*-6), 4.85-4.92 (m, 2H, *H*-3, *NH*), 5.12-5.19 (m, 2H, *H*-4, *H*-5). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = -5.4 (CH₃-Si), -5.3 (CH₃-Si), 11.3 (C-10), 18.4 (C-Si), 23.1 (C-9), 26.0 (Si-*tert*-butyl), 36.9 (C-2), 43.0 (C-8), 63.2 (C-7), 73.5 (C-5), 77.3 (C-3), 81.5 (C-6), 81.9 (C-4), 155.3 (NHC=O), 175.5 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 396.1810 (calculated for C₁₇H₃₁NNaO₆Si: 396.1813).

3-azidopropyl-1-amine hydrochloride (43)^[388]

To a solution of 3-bromopropylamine chlorhydrate (2.00 g, 15.4 mmol) water (10 mL) was added, 2.10 g NaN₃ (2 eq., 30.8 mmol). The reaction mixture was stirred for 24 h

at reflux and then quenched by addition of 4 g of KOH (4.6 eq., 71.3 mmol). The solution was extracted with CH₂Cl₂ (3x20 mL) and acidified until pH=1 with a solution of HCl in EtOAc (1.5 M). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum* to afford the compound **43**.



Yield: 94 % as yellow solid

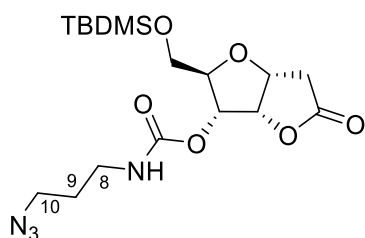
C₃H₉ClN₄

M.W.: 136.58 g/mol

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) = 1.71 (qt, 2H, *J*_{2,1} = *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2), 2.77 (t, 2H, *H*-1), 3.36 (t, 2H, *H*-3).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-((3-azidopropyl)carbamate)-7-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*D*-ribo-1,4-lactone (44**)**

To a solution of **15** (150 mg, 0.52 mmol) in dry THF (6 mL), 99 mg of carbonyldiimidazole (1.2 eq., 0.62 mmol) were added. The reaction was stirred at 15 °C until completion of the activation reaction (TLC monitoring). Once the activation was completed, a solution of 142 mg of **43** (2.0 eq., 1.04 mmol) and 137 μL of Et₃N (1.9 eq., 0.99 mmol) in dry THF (2 mL) was added dropwise. The reaction was stirred for 1 h at 15 °C. The reaction mixture was neutralized until pH=5 by addition of HCl (1 M), diluted with water (15 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (3x20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford the compound **44**.



Yield: 59 % as colorless oil

C₁₇H₃₀N₄O₆Si

M.W.: 414.53 g/mol

*R*_f = 0.67 (Cycl/EtOAc: 6/4)

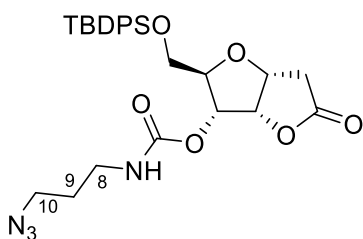
[α]_D = +95.2 (c = 0.06, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): ν = 3354, 2928, 2857, 2095, 1784, 1709, 1522, 1458, 1400, 1360, 1250. **¹H NMR** (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 0.06 (s, 3H, Si-CH₃), 0.07 (s, 3H, Si-CH₃), 0.89 (s, 9H, Si-*tert*-butyl), 1.81 (qt, 2H, *J*_{9,10} = *J*_{9,8} = 6.5 Hz, *H*-9), 2.67 (dd, 1H, *J*_{2a,2b} = 18.5

Hz, $J_{2a,3} = 1.5$ Hz, $H-2a$), 2.77 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.5$ Hz, $H-2b$), 3.25-3.35 (m, 2H, $H-8$), 3.40 (t, 2H, $H-10$), 3.71 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, $H-7a$), 3.83 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 11.5$ Hz, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, $H-7b$), 4.06-4.08 (m, 1H, $H-6$), 4.86-4.91 (m, 1H, $H-3$), 4.96 (t, 1H, $J_{NH,8} = 6.5$ Hz, NH), 5.13-5.19 (m, 2H, $H-4$, $H-5$), ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100.6 MHz): δ (ppm) = -5.4 ($\text{CH}_3\text{-Si}$), -5.3 ($\text{CH}_3\text{-Si}$), 18.4 (C-Si), 26.0 (Si-tert-butyl), 29.2 (C-9), 36.9 (C-2), 38.8 (C-8), 49.1 (C-10), 63.3 (C-7), 73.8 (C-5), 77.4 (C-3), 81.6 (C-6), 81.8 (C-4), 155.3 (NHC=O), 175.4 (C=O). ESI-HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 437.1837$ (calculated for $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{NaO}_6\text{Si}$: 437.1827).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-((3-azidopropyl)carbamate)-7-O-(tert-butyldiphenylsilyl)-D-ribo-1,4-lactone (45)

Prepared starting from **16** following procedure described for **44**.



Yield: 68 % as colorless oil

$\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$

M.W.: 538.68 g/mol

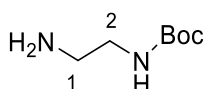
$R_f = 0.67$ (Cycl/EtOAc: 6/4)

$[\alpha]_D = +67.6$ ($c = 0.10$, CHCl_3)

IR (cm^{-1}): $\nu = 3362, 2955, 2094, 1786, 1728, 1522, 1460, 1460, 1427, 1392, 1360, 1250$. **^1H NMR** (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, Si-tert-butyl), 1.80 (qt, 2H, $J_{9,10} = J_{9,8} = 6.5$ Hz, $H-9$), 2.69 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 1.5$ Hz, $H-2a$), 2.79 (dd, 1H, $J_{2b,2a} = 18.5$ Hz, $J_{2b,3} = 6.5$ Hz, $H-2b$), 3.22-3.35 (m, 2H, $H-8$), 3.39 (t, 2H, $H-10$), 3.73 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, $H-7a$), 3.86 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, $H-7b$), 4.06-4.11 (m, 1H, $H-6$), 4.89-4.96 (m, 1H, $H-3$), 4.98 (br t, 1H, $J_{NH,8} = 6.5$ Hz, NH), 5.22 (app t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 4.5$ Hz, $H-4$), 5.26 (dd, 1H, $J_{5,6} = 6.0$ Hz, $H-5$), 7.35-7.46 (m, 6H, H_{Ar}), 7.63-7.68 (m, 4H, H_{Ar}). **^{13}C NMR** (CDCl_3 , 100.6 MHz): δ (ppm) = 19.3 (C-Si), 26.9 (Si-tert-butyl), 29.1 (C-9), 36.9 (C-2), 38.7 (C-8), 49.0 (C-10), 63.7 (C-7), 73.8 (C-5), 77.3 (C-3), 81.2 (C-6), 81.8 (C-4), 127.9 (2C_{Ar}), 127.9 (2C_{Ar}), 130.0 (C_{Ar}), 130.0 (C_{Ar}), 133.0 (C_{qAr}), 133.0 (C_{qAr}), 135.7 (4C_{Ar}), 155.3 (NHC=O), 175.4 (C=O). ESI-HRMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 539.2317$ (calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$: 539.2320).

tert-butyl 2-aminoethylcarbamate (48)^[337]

To a solution of 1,2-diaminoethane (40.0 mL, 600 mmol) in CH₂Cl₂ (400 mL), a solution of 23.2 mL of Boc₂O (0.17 eq., 100 mmol) in CH₂Cl₂ (400 mL) was added dropwise for 3 h. The reaction mixture was stirred for 16 h at room temperature. The solvent was removed under *vacuum* and the crude was diluted in an aqueous solution of Na₂CO₃ 20 % (w/w) (100 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (3x100 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum* to afford the compound **48**.



Yield: 85 % as colorless oil

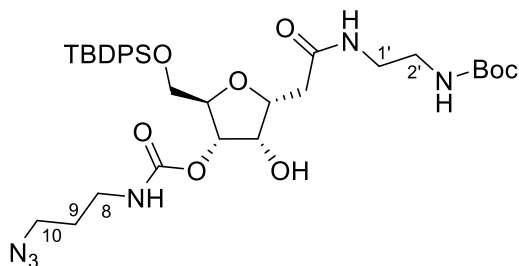
C₇H₁₆N₂O₂

M.W.: 160.22 g/mol

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) = 1.43 (s, 9H, *Boc*), 2.78 (t, 2H, *J*_{1,2} = 6.0 Hz, *H-1*), 3.16 (app q, 2H, *J*_{2,1} = *J*_{NH} = 6.0 Hz, *H-2*), 4.87 (brs, 1H, NH).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-((3-azidopropyl)carbamate)-7-O-(tert-butyldiphenylsilyl)-D-ribo-N-(tert-butoxycarbonyl) ethyl amide (49)

To a solution of **45** (100 mg, 0.18 mmol) in dry CH₂Cl₂ (1 mL), 1 mL of **48** (35 eq., 6.32 mmol) was added dropwise under inert atmosphere. The reaction was stirred at room temperature for 16 h. The reaction was diluted with CH₂Cl₂ (15 mL) and washed with HCl 1 M (2x10 mL) and brine (2x10 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 0/100) to afford the compound **49**.



Yield: 65 % as yellowish solid

C₃₄H₅₀N₆O₈Si

M.W.: 698.89 g/mol

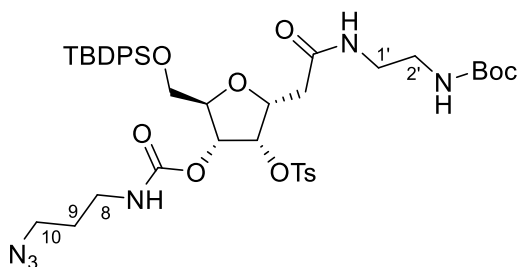
*R*_f = 0.35 (EtOAc)[α]_D = +25.4 (c = 0.64, CHCl₃)

Mp: 121 °C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3333, 2928, 2095, 1693, 1645, 1539, 1456, 1427, 1392, 1367, 1252$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 1.43 (s, 9H, *Boc*), 1.80 (qt, 2H, $J_{9,10} = J_{9,8} = 7.0$ Hz, *H-9*), 2.58 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 14.5$ Hz, $J_{2a,3} = 6.0$ Hz, *H-2a*), 2.68 (dd, 1H, $J_{2b,2a} = 14.5$ Hz, $J_{2b,3} = 7.0$ Hz, *H-2b*), 3.22-3.32 (m, 4H, *H-8, H-2'*), 3.37 (t, 2H, *H-10*), 3.37-3.45 (m, 2H, *H-1'*), 3.75 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.0$ Hz, $J_{7a,6} = 3.5$ Hz, *H-7a*), 3.82 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 4.0$ Hz, *H-7b*), 4.10-4.15 (m, 1H, *H-6*), 4.42 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 5.5$ Hz, *H-3*), 4.50 (br app t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 5.5$ Hz, *H-4*), 4.87 (br s, 1H, NH), 5.21 (app t, 1H, $J_{5,4} = J_{5,6} = 5.5$ Hz, *H-5*), 7.35-7.45 (m, 6H, *H_{Ar}*), 7.65-7.70 (m, 4H, *H_{Ar}*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 19.4 (*C-Si*), 27.1 (*Si-tert-butyl*), 27.8 (*C-Boc*), 29.3 (*C-9*), 37.9 (*C-2*), 39.1 (*C-8, C-1'*), 40.1 (*C-2'*), 49.3 (*C-10*), 64.5 (*C-7*), 72.4 (*C-4*), 75.6 (*C-5*), 78.3 (*C-3*), 81.0 (*C-6, C_{qBoc}*), 127.9 (*4C_{Ar}*), 129.9 (*C_{Ar}*), 129.9 (*C_{Ar}*), 133.0 (*2C_{qAr}*), 135.8 (*4C_{Ar}*), 155.8 (*C=O*), 171.8 (*C=O*). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 721.3348** (calculated for C₃₄H₅₀N₆NaO₈Si: 721.3352).

3,6-anhydro-2-deoxy-4-(*p*-toluenesulfonyl)-5-((3-azidopropyl)carbamate)-7-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-*D*-ribo-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl) ethyl amide (52)

Prepared starting from **49** following procedure described for **38**.



Yield: 62 % as yellowish solid

C₄₁H₅₆N₆O₁₀SSi

M.W.: 853.07 g/mol

$R_f = 0.35$ (EtOAc)

$[\alpha]_D = +19.5$ ($c = 0.30$, CHCl₃)

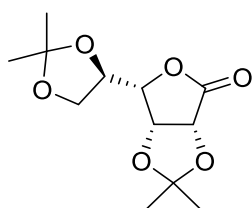
Mp: 195°C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3333, 2928, 2095, 1693, 1645, 1539, 1456, 1427, 1392, 1367, 1252$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.02 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 1.41 (s, 9H, *boc*), 1.80 (qt, 2H, $J_{9,10} = J_{9,8} = 7.0$ Hz, *H-9*), 2.25 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 15.0$ Hz, $J_{2a,3} = 4.5$ Hz, *H-2a*), 2.42 (dd, 1H, $J_{2b,2a} = 15.0$ Hz, $J_{2b,3} = 8.5$ Hz, *H-2b*), 2.45 (s, 3H, *CH₃-Tosyle*), 3.15-3.35 (m, 6H, *H-8, H-1', H-2'*), 3.39 (t, 2H, *H-10*), 3.71 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.0$ Hz, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, *H-7a*), 3.81 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 3.5$ Hz, *H-7b*), 4.06-4.14 (m, 1H, *H-6*), 4.58 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, *H-3*), 4.92 (br s, 1H, NH), 5.15 (app t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 4.5$ Hz, *H-4*), 5.46 (dd, 1H, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, *H-5*), 7.31-7.44 (m, 8H, *H_{Ar}*), 7.61-7.66 (m, 4H, *H_{Ar}*), 7.78 (d, 4H, $J_{7a,7b} = 7.5$ Hz, *H_{Ar}*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 19.3 (*C-Si*), 21.8

(*CH*₃-tosyle), 26.9 (Si-*tert*-butyl), 28.5 (C-Boc), 29.1 (C-9), 38.7 (C-2), 40.5 (C-8, C-1', C-2'), 49.0 (C-10), 63.7 (C-7), 72.5 (C-5), 76.3 (C-3), 79.7 (C_qBoc), 80.3 (C-4), 80.5 (C-6), 127.9 (4C_{Ar}), 128.0 (2C_{Ar}), 129.9 (2C_{Ar}), 130.1 (2C_{Ar}), 133.0 (C_qAr), 133.1 (C_qAr), 133.6 (C_qAr), 135.7 (4C_{Ar}), 145.3 (C_qAr), 155.1 (C=O), 156.5 (C=O), 171.8 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 875.3385 (calculated for C₄₁H₅₆N₆NaO₁₀SSi: 875.3440).

5,6-di-*O*-isopropylidene-D-gulono-1,4-lactone (**55**)^[363]

To a suspension of D-gulono-γ-lactone (25.60 g, 144 mmol) in dry acetone (700 mL), concentrated H₂SO₄ (15 mL) was added dropwise at 0°C. After stirring 6 h at room temperature, Na₂CO₃ was added until pH = 7. The mixture was filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 80/20 to 0/100) to afford the compound **55**.



Yield: 60% as a white solid

C₁₂H₁₈O₆

M.W.: 258.27 g/mol

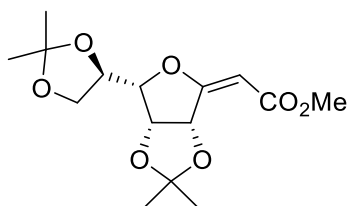
*R*_f = 0.30 (Cycl/EtOAc: 6/4)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm) = 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.40 (s, 3H, CH₃), 1.47 (brs, 6H, C(CH₃)₂), 3.81 (dd, 1H, *J*_{6a,6b} = 9.0 Hz, *J*_{6a,5} = 6.0 Hz, *H*-6a), 4.22 (dd, 1H, *J*_{6b,5} = 6.0 Hz, *H*-6b), 4.39-4.48 (m, 2H, *H*-4, *H*-5), 4.74 (dd, 1H, *J*_{3,2} = 5.5 Hz, *J*_{3,4} = 3.5 Hz, *H*-3), 4.83 (d, 1H, *H*-2).

Synthesis of (*2E*) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester and (*2Z*) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester (**56**)^[363]

To a solution of **55** (10.0 g, 38.7 mmol) in dry toluene (120 mL), 32.4 g of Ph₃P=CHCO₂Me (2.5 eq., 96.8 mmol) were added in a sealed reactor. The mixture was stirred overnight at 140 °C. The solvent was removed under *vacuum*, the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 6/4) to afford the compound **56-E** and **56-Z**.

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester (56-E)



Yield: 38% as a yellow solid

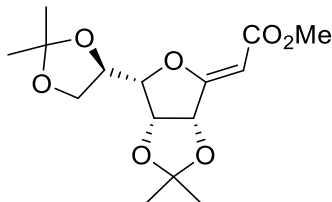
C₁₅H₂₂O₇

M.W.: 314.33 g/mol

R_f = 0.30 (Cycl/EtOAc: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm) = 1.40 (s, 3H, CH₃), 1.41 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (dd, 1H, J_{8a,8b} = 9.0, J_{8a,7} = 7.0 Hz, H-8a), 4.19 (dd, 1H, J_{5,6} = 4.5, J_{6,7} = 7.5 Hz, H-6), 4.25 (dd, 1H, J_{8b,7} = 7.0 Hz, H-8b), 4.45 (app brq, 1H, H-7), 4.76 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-5), 5.56 (brs, 1H, H-2), 5.80 (dd, 1H, H-4).

(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester (56-Z)



Yield: 35% as a yellow solid

C₁₅H₂₂O₇

M.W.: 314.33 g/mol

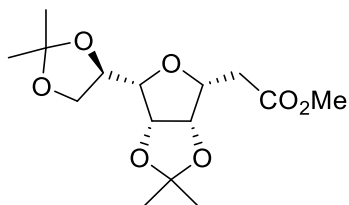
R_f = 0.30 (Cycl/EtOAc: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm) = 2.57 (dd, 1H, J_{2a,2b} = 18.5 Hz, J_{2a,3} = 1.0 Hz, H-2a), 2.90 (dd, 1H, J_{2b,2a} = 18.5 Hz, J_{2b,3} = 6.0 Hz, H-2b), 3.59 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 12.0 Hz, J_{7a,6} = 4.5 Hz, H-7a), 3.76 (ddd, 1H, J_{6,5} = 8.5 Hz, J_{6,7a} = 4.5 Hz, J_{6,7b} = 2.5 Hz, H-6), 3.81 (dd, 1H, J_{7b,7a} = 12.0 Hz, J_{7b,6} = 2.5 Hz, H-7b), 4.17 (dd, 1H, J_{5,6} = 8.5 Hz, J_{5,4} = 4.5 Hz, H-5), 4.81 (ddd, 1H, J_{3,2b} = 6.0 Hz, J_{3,4} = 4.5 Hz, J_{3,2a} = 1.0 Hz, H-3), 4.96 (app t, 1H, J_{4,5} = J_{4,3} = 4.5 Hz, H-4).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-glycero-L-galactooctanoic acid methyl ester (57)^[272]

To a solution of **56-E** and **56-Z** (6.0 g, 19.1 mmol) in EtOAc (50 mL) was added Pd/C (10%) (1.8 g, 30% w/w). The mixture was stirred under H₂ atmosphere (40 psi) for 48h.

The reaction mixture was then filtered through a pad of Celite and the solvent was removed *in vacuum*. The compound was purified by column chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 6/4) to provide **57**.



Yield: 89% as a yellowish solid

$C_{15}H_{24}O_7$

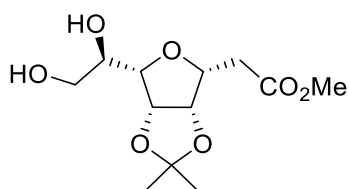
M.W.: 316.35 g/mol

$R_f = 0.30$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) = 1.29 (s, 3H, CH_3), 1.39 (s, 3H, CH_3), 1.44 (s, 3H, CH_3), 1.45 (s, 3H, CH_3), 2.87 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 17.0$, $J_{2,3} = 6.0$ Hz, $H-2a$), 2.93 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 8.0$ Hz, $H-2b$), 3.52 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.0$ Hz, $J_{5,6} = 3.5$, $H-6$), 3.70 (s, 3H, OCH_3), 3.71 (dd, 1H, $J_{8a,8b} = 8.5$ Hz, $J_{8a,7} = 6.5$ Hz, $H-8a$), 3.97 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $H-3$), 4.22 (dd, 1H, $J_{8b,7} = 6.5$ Hz, $H-8b$), 4.37 (app q, 1H, $H-7$), 4.63 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.80 (dd, 1H, $H-5$).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-glycero-L-galacto-octonic acid methyl ester (58)^[272]

To a solution of **57** (1.00 g, 3.16 mmol) in methanol (30 mL) was added at 0°C an aqueous solution of HCl 1 M (12 mL). After stirring at room temperature until completion of the reaction, a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$ was added until pH = 7. The methanol was removed under *vacuum* and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was evaporated in *vacuum*. The crude residue was purified by column chromatography (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 0/100) to provide **58**.



Yield: 90% as a white solid

$C_{12}H_{20}O_7$

M.W.: 276.12 g/mol

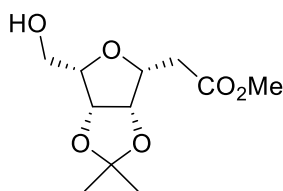
$R_f = 0.26$ (EtOAc)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) = 1.31 (s, 3H, CH_3), 1.46 (s, 3H, CH_3), 2.78 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 17.0$, $J_{2a,3} = 6.5$ Hz, $H-2a$), 2.85 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 7.5$ Hz, $H-2b$), 3.57 (dd, 1H,

$J_{6,7} = 6.5$, $J_{5,6} = 3.0$ Hz, $H-6$), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.73 (dd, 1H, $J_{8a,8b} = 11.5$, $J_{8a,7} = 5.0$ Hz, $H-8a$), 3.80 (dd, 1H, $J_{8b,7} = 4.0$ Hz, $H-8b$), 3.94 (app td, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $H-3$), 4.05-4.15 (m, 1H, $H-7$), 4.75 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.78 (dd, 1H, $H-5$).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-hydroxy-D-galacto-heptanoic acid methyl ester (60)^[272]

To a solution of **58** (775 mg, 2.81 mmol) in methanol (30 mL), 1.24 g of $NaIO_4$ (2.0 eq., 5.62 mmol) were added under inert atmosphere. After stirring at room temperature until completion of the reaction (TLC monitoring), the solvent was removed *in vacuum*. The mixture was diluted with EtOAc (50 mL). The organic layer was washed with *brine* (3 x 75 mL), dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The intermediate product was used without further purification. To a stirred solution of the intermediate aldehyde **59** in MeOH (190 mL) was added 99 mg of $NaBH_4$ (1 eq., 2.60 mmol) at 0°C. After stirring 1 h at room temperature, the solvent was removed under *vacuum*. The residue was diluted in EtOAc (50 mL) and the organic layer was washed with an aqueous solution of HCl 1 M (30 mL) and with *brine* until pH = 7. The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and evaporated under *vacuum*. The crude residue was purified by column chromatography (eluent: cyclohexane/EtOAc 80/20 to 20/80) to provide **60**.



Yield: 64% as a colorless oil

$C_{11}H_{18}O_6$

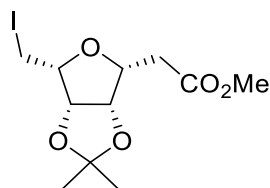
M.W.: 246.26 g/mol

$R_f = 0.50$ (EtOAc)

1H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm) = 1.31 (s, 3H, CH_3), 1.46 (s, 3H, CH_3), 2.78 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 17.0$, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, $H-2a$), 2.84 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 7.0$ Hz, $H-2b$), 3.62-3.68 (m, 1H, $H-6$), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.85-3.99 (m, 3H, $H-7$ et $H-3$) 4.74-4.79 (m, 2H, $H-4$ et $H-5$).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-iodo-D-galacto-heptanoic acid methyl ester (61)

To a solution of **60** (370 mg, 1.50 mmol) in dry THF (3.5 mL), 215 mg of imidazole (2.1 eq., 3.15 mmol) and 826 mg of PPh₃ (2.1 eq., 3.15 mmol) were added under inert atmosphere. The mixture was heated at reflux and a solution of I₂ (480 mg, 1.90 mmol, 1.25 eq.) solubilized in dry THF was added (1.5 mL). After stirring at reflux until completion of the reaction, the solvent was removed *in vacuo* and the crude residue was purified by column chromatography (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 20/80) to provide **61**.



Yield: 61% as colorless oil

C₁₁H₁₇IO₅

M.W.: 356.16 g/mol

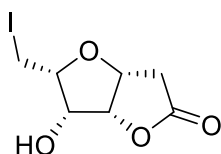
R_f = 0.60 (Cycl/EtOAc: 5/5)

[α]_D = +15.6 (c = 0.10, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): ν = 2986, 2934, 1734, 1437, 1373, 1298, 1267, 1204. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz)** δ (ppm) = 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.45 (s, 3H, CH₃), 2.74 (dd, 1H, J_{2a,2b} = 17.0, J_{2,3} = 6.5 Hz, H-2a), 2.80 (dd, 1H, J_{2b,3} = 7.0 Hz, H-2b), 3.25 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 9.5, J_{7a,6} = 6.0 Hz, H-7a), 3.34 (dd, 1H, J_{7b,6} = 8.5 Hz, H-7b), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (app brt, 1H, H-6), 3.97 (app brt, 1H, H-3), 4.74-4.79 (m, 2H, H-4, H-5). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = -1.1 (C-7), 25.1 (CH₃), 26.0 (CH₃), 33.5 (C-2), 51.9 (OCH₃), 77.9 (C-3), 80.8, 81.3 (C-4, C-5), 82.1 (C-6), 112.8 (C(CH₃)₂), 171.4 (C=O). **ESI-HRMS** [M+H]⁺ m/z = 357.0215 calculated for C₁₁H₁₈IO₅: 357.0193).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-hydroxy-7-iodo-D-gulo-1,4-lactone (62)

A solution of **61** (200 mg, 0.56 mmol) in a mixture of TFA/H₂O 2/1 (v/v) (1 mL) was stirred at room temperature until completion of the reaction (TLC monitoring). The solvent was removed *in vacuo* and the crude residue was purified by column chromatography (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to provide **62**.



Yield: 44% as white solid

 $C_7H_9IO_4$

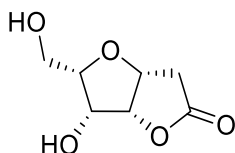
M.W.: 284.05 g/mol

 $R_f = 0.33$ (Cycl/EtOAc: 3/7) $[\alpha]_D = +49.6$ ($c = 0.10$, $CHCl_3$)

Mp: 184 °C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3333, 2988, 2939, 1774, 1400, 1362, 1281, 1248$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz)** δ (ppm) = 2.76 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 19.0$ Hz, $J_{2a,3} = 34.5$ Hz, *H-2a*), 2.81 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H-2b*), 3.26 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 10.0$ Hz, $J_{7a,6} = 6.5$ Hz, *H-7a*), 3.42 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 7.0$ Hz, *H-7b*), 4.09 (app td, 1H, $J_{6,5} = 4.0$ Hz, *H-6*), 4.49 (br dd, 1H, $J_{5,4} = 5.5$ Hz, *H-5*), 4.73 (app td, 1H, $J_{3,2b} = J_{3,4} = 6.0$ Hz, *H-3*), 5.04 (app t, 1H, *H-4*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = -0.8 (*C-7*), 35.9 (*C-2*), 71.0 (*C-5*), 76.6 (*C-3*), 82.6 (*C-4*), 83.6 (*C-6*), 174.8 (*C=O*). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 306.9448$ calculated for $C_7H_9NaIO_5$: 306.9438).

3,6-anhydro-2-deoxy-5,7-hydroxy-D-gulo-1,4-lactone (63)

Prepared starting from **60** following procedure described for **13**.

Yield: 62% as a white solid.

 $C_7H_{10}O_5$

M.W.: 174.15 g/mol

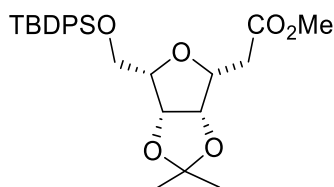
 $R_f = 0.40$ (Methanol/EtOAc: 1/9) $[\alpha]_D = +58.7$ ($c = 0.10$, EtOH)

Mp: 98°C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3395, 2938, 1755, 1678, 1429, 1367, 1312, 1276$. **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz)** δ (ppm) = 2.61 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 2.5$ Hz, *H-2a*), 2.83 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 7.5$ Hz, *H-2b*), 3.69 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.0$ Hz, $J_{7a,6} = 7.0$ Hz, *H-7a*), 3.81 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 4.5$ Hz, *H-7b*), 3.92 (app dt, 1H, $J_{6,5} = J_{6,7b} = 5.0$ Hz, *H-6*), 4.41 (app t, 1H, $J_{5,4} = J_{5,6} = 5.0$ Hz, *H-5*), 4.67 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 5.0$ Hz, *H-3*), 5.01 (app t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 5.0$ Hz, *H-4*). **¹³C NMR (CD₃OD, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 37.2 (*C-2*), 61.8 (*C-7*), 72.3 (*C-5*), 77.4 (*C-3*), 84.0 (*C-6*), 85.0 (*C-4*), 178.4 (*C=O*). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 197.0420$ calculated for $C_7H_{10}NaO_5$: 197.0426).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-(tert-butyldiphenylsilyl)-D-galacto-heptanoic acid methyl ester (64)

Prepared from **60** following procedure described for **12**.



Yield: 93% as colorless oil

$C_{27}H_{36}O_6Si$

M.W.: 484.66 g/mol

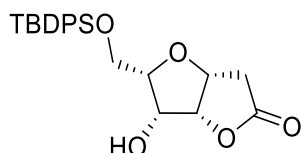
$R_f = 0.43$ (Cycl/EtOAc: 8/2)

$[\alpha]_D = +10.2$ ($c = 0.20$, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 2932, 1736, 1427, 1371, 1207$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.05 (s, 9H, Si-*tert*-butyl), 1.29 (s, 3H, CH₃), 1.34 (s, 3H, CH₃), 2.72 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 16.5$ Hz, $J_{2a,3} = 6.5$ Hz, *H*-2a), 2.78 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 7.0$ Hz, *H*-2b), 3.66-3.70 (m, 1H, *H*-6), 3.69 (s, 3H, COOCH₃), 3.87-3.93 (m, 1H, *H*-3), 3.89 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, $J_{7a,6} = 6.0$ Hz, *H*-7a), 3.98 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 6.5$ Hz, *H*-7b), 4.70-4.74 (m, 2H, *H*-4 and *H*-5), 7.33-7.44 (m, 6H, *H*_{Ar}), 7.66-7.73 (m, 4H, *H*_{Ar}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 19.4 (*C*-Si), 25.3 (CH₃), 26.0 (CH₃), 26.9 (Si-*tert*-butyl), 33.6 (*C*-2), 51.9 (OCH₃), 61.7 (*C*-7), 77.7 (*C*-3), 81.0 and 81.1 (*C*-4, *C*-5), 82.0 (*C*-6), 112.4 (C(CH₃)₂), 127.7 (2*C*_{Ar}), 127.7 (2*C*_{Ar}), 129.7 (2*C*_{Ar}), 133.7 (*C*_{qAr}), 133.9 (*C*_{qAr}), 135.8 (4*C*_{Ar}), 171.9 (*C*=O). **ESI-HRMS** [M+NH₄]⁺ $m/z = 502.2627$ (calculated for C₂₇H₄₀NO₆Si: 502.2619).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-hydroxy-7-O-(tert-butyldimethylsilyl)-D-galacto-1,4-lactone (65)

Prepared from **63** following procedure described for **16**.



Yield: 57% as colorless oil

$C_{23}H_{28}O_5Si$

M.W.: 412.55 g/mol

$R_f = 0.32$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

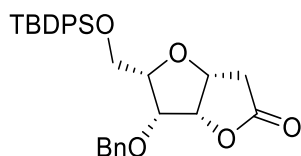
$[\alpha]_D = +10.8$ ($c = 0.11$, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3447, 2930, 2857, 1774, 1472, 1427$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, Si-*tert*-butyl), 2.71 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 3.0$ Hz, *H*-2a),

2.78 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.5$ Hz, *H-2b*), 3.09 (d, 1H, $J_{OH,5} = 5.5$ Hz, OH), 3.91 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, $J_{7a,6} = 4.5$ Hz, *H-7a*), 3.95 (app q, 1H, $J_{6,7a} = J_{6,7b} = J_{6,5} = 4.5$ Hz, *H-6*), 4.03 (dd, 1H, *H-7b*), 4.51 (app dt, 1H, $J_{5,OH} = J_{5,4} = 5.5$ Hz, *H-5*), 4.89 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 5.5$ Hz, *H-3*), 4.96 (app t, 1H, *H-4*), 7.36-7.47 (m, 6H, H_{Ar}), 7.66-7.70 (m, 4H, H_{Ar}). ^{13}C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ (ppm) = 19.2 (*C-Si*), 26.9 (*Si-tert-butyl*), 36.3 (*C-2*), 62.6 (*C-7*), 72.2 (*C-5*), 76.1 (*C-3*), 82.2 (*C-6*), 82.9 (*C-4*), 127.9 (2*C_{Ar}*), 127.9 (2*C_{Ar}*), 130.0 (2*C_{Ar}*), 132.8 (*C_{qAr}*), 133.0 (*C_{qAr}*), 135.7 (2*C_{Ar}*), 135.8 (2*C_{Ar}*), 175.1 (*C=O*). ESI-HRMS [M+K]⁺ $m/z = 451.1339$ (calculated for C₂₃H₂₈KO₅Si: 451.1338).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-*O*-(benzyl)-7-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-D-galacto-1,4-lactone (66)

Prepared from **65** following procedure described for **20**.



Yield: 29% as colorless oil

C₃₀H₃₄O₅Si

M.W.: 502.68 g/mol

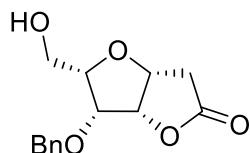
$R_f = 0.66$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

$[\alpha]_D = +30.7$ ($c = 0.11$, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): $\nu = 2928, 2856, 1780, 1471, 1427$. 1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 2.64 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 4.0$ Hz, *H-2a*), 2.72 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 7.5$ Hz, *H-2b*), 3.83 (br dd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.5$ Hz, $J_{7a,6} = 8.0$ Hz, *H-7a*), 3.97-4.03 (m, 2H, *H-6* and *H-7b*), 4.15 (dd, 1H, $J_{5,4} = 5.0$ Hz, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, *H-5*), 4.47 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH₂Ph), 4.69 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 7.0$ Hz, *H-3*), 4.78 (d, 1H, CH₂Ph), 5.04 (dd, 1H, *H-4*), 7.23-7.45 (m, 11H, H_{Ar}), 7.62-7.66 (m, 4H, H_{Ar}). ^{13}C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ (ppm) = 19.3 (*C-Si*), 27.0 (*Si-tert-butyl*), 36.2 (*C-2*), 62.2 (*C-7*), 73.9 (CH₂Ph), 76.0 (*C-3*), 77.2 (*C-5*), 82.4 (*C-4*), 82.8 (*C-6*), 127.9 (4*C_{Ar}*), 128.0 (*C_{Ar}*), 128.2 (2*C_{Ar}*), 128.5 (2*C_{Ar}*), 129.9 (*C_{Ar}*), 129.9 (*C_{Ar}*), 133.4 (*C_{qAr}*), 133.5 (*C_{qAr}*), 135.7 (2*C_{Ar}*), 135.7 (2*C_{Ar}*), 137.5 (*C_{qAr}*), 175.3 (*C=O*). ESI-HRMS [M+H]⁺ $m/z = 503.2246$ (calculated for C₃₀H₃₅O₅Si: 503.2248).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-O-(benzyl)-7-hydroxy-D-galacto-1,4-lactone (67)

To a solution of **66** (30 mg, 0,06 mmol) in methanol (2 mL), 23 mg of APTS monohydrate (2.0 eq., 0.12 mmol) were added. After stirring at 30°C overnight the solvent was removed *in vacuum* and the crude product was purified by chromatography on silica gel (eluent: Cyclohexane/EtOAc 80/20) to afford the compound **67**.



Yield: 49% as colorless oil

$C_{14}H_{16}O_5$

M.W.: 264.28 g/mol

$R_f = 0.34$ (Cycl/EtOAc: 2/8)

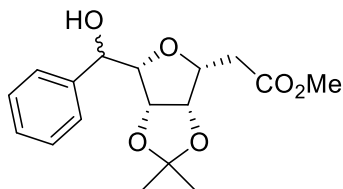
$[\alpha]_D = +102.1$ ($c = 0.11$, $CHCl_3$)

IR (cm^{-1}): $\nu = 3447, 2924, 2882, 1497, 1454, 1400, 1340, 1311$. **1H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 2.77 (d, 2H, $J_{2,3} = 4.5$ Hz, $H-2$), 3.77 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.0$ Hz, $J_{7a,6} = 5.0$ Hz, $H-7a$), 3.81 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 5.0$ Hz, $H-7b$), 4.09 (dt, 1H, $J_{6,5} = 5.5$ Hz $H-6$), 4.29 (app t, 1H, $J_{5,4} = J_{5,6} = 5.5$ Hz, $H-5$), 4.50 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH_2Ph), 4.72 (dt, 1H, $J_{3,4} = 5.5$ Hz, $H-3$), 4.84 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH_2Ph), 5.00 (app t, 1H, $H-4$), 7.30-7.39 (m, 5H, H_{Ar}). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100.6 MHz): δ (ppm) = 36.7 ($C-2$), 62.0 ($C-7$), 73.4 (CH_2Ph), 76.6 ($C-3$), 78.5 ($C-5$), 81.4 ($C-6$), 81.7 ($C-4$), 128.2 ($2CAr$), 128.5 (CAr), 128.8 ($2CAr$), 136.9 ($CqAr$), 175.3 ($C=O$) **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 287.0899$ (calculated for $C_{14}H_{16}NaO_5$: 287.0890).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-hydroxy-7-phenyl-D-galacto-heptanoic acid methyl ester (68)

To a solution of **58** (650 mg, 2.35 mmol) in methanol (20 mL), 1.24 g of $NaIO_4$ (2.0 eq., 5.62 mmol) were added under inert atmosphere. After stirring at room temperature until completion of the reaction (TLC monitoring), the solvent was removed *in vacuum*. The crude residue was diluted with EtOAc (50 mL). The organic layer was washed with brine (3 x 75 mL), dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The intermediate product was used without further purification. To a solution of the intermediate aldehyde **59** in dry Et_2O (100 mL), were added dropwise at $-20^\circ C$, 2.15 mL of phenyl magnesium bromide 1M in THF (0.95 eq., 2.07 mmol). The mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction was quenched by addition of a

saturated solution of NH_4Cl (until $\text{pH} = 6$) and the aqueous layer was extracted with Et_2O (2x50 mL) and with CH_2Cl_2 (2x50 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered and evaporated under *vacuum*. The crude residue was purified by column chromatography to provide **68**.



Yield: 33% as colorless oil

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_6$

M.W.: 322.36 g/mol

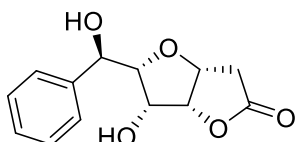
$R_f = 0.32$ (Cycl/EtOAc: 6/4)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 1.27 (s, 1.95H, CH_3), 1.35 (s, 1.05H, CH_3), 1.43 (s, 1.95H, CH_3), 1.57 (s, 1.05H, CH_3), 2.79-2.91 (m, 2H, $H-2$), 3.57 (dd, 0.65H, $J_{6,7} = 8.0$ Hz, $J_{6,5} = 3.5$ Hz, $H-6$), 3.62 (dd, 0.35H, $J_{6,7} = 6.5$ Hz, $J_{6,5} = 3.5$ Hz, $H-6$), 3.68 (s, 1.05H, OCH_3), 3.72 (s, 1.95H, OCH_3), 3.90-3.99 (m, 1H, $H-3$), 4.38 (dd, 0.65H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $J_{4,3} = 3.5$ Hz, $H-4$), 4.71 (dd, 0.65H, $H-5$), 4.76 (dd, 0.35H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $J_{4,3} = 3.5$ Hz, $H-4$), 4.79 (dd, 0.35H, $H-5$), 5.02 (t, 0.35H, $J_{7,\text{OH}} = J_{7,6} = 6.5$ Hz, $H-7$), 5.07 (d, 0.65H, $J_{7,6} = 8.0$ Hz, $H-7$), 7.27-7.53 (m, 5H, HAr).

3,6-anhydro-2-deoxy-5,7-hydroxy-7-phenyl-D-gulo-1,4-lactone (**69**, **70**)

A solution of **68** (180 mg, 0.56 mmol) in a mixture of TFA/ H_2O 6/4 (10 mL) was stirred for 16 h at room temperature. The solvent was removed under *vacuum* and the crude product was purified by chromatography on silica gel (eluent: Toluene/Acetone 85/15) to afford the compound **69** and **70**.

3,6-anhydro-2-deoxy-5,7-hydroxy-7-phenyl-D-gulo-1,4-lactone (**69**)



Yield: 42% as a white solid

$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_5$

M.W.: 250.25 g/mol

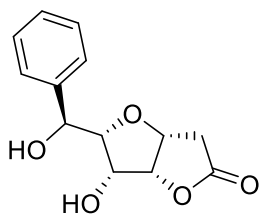
$R_f = 0.38$ (Toluene/Acetone: 8/2)

$[\alpha]_D = +2.0$ ($c = 0.32$, CHCl_3)

Mp: 122°C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3404, 292, 2852, 1772, 1456, 1369, 1163, 1126, 1076$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 2.55 (d, 1H, $J_{OH,7} = 3.0$ Hz, *OH-7*), 2.63 (d, 1H, $J_{OH,5} = 6.0$ Hz, *HO-5*), 2.81 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 19.0$ Hz, $J_{2a,3} = 6.0$ Hz, *H-2a*), 2.87 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 3.5$ Hz, *H-7b*), 4.02 (app t, 1H, $J_{6,7} = J_{6,5} = 5.0$ Hz, *H-6*), 4.29 (app q, 1H, $J_{5,4} = J_{5,OH} = J_{5,6} = 6.0$ Hz, *H-5*), 4.72 (td, 1H, $J_{3,2a} = J_{3,4} = 6.0$ Hz, $J_{3,2b} = 3.5$ Hz, *H-3*), 4.96 (app t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 6.0$ Hz, *H-4*), 5.11 (dd, 1H, $J_{7,OH} = 3.0$ Hz, *H-7*), 7.30-7.40 (m, 3H, *H_{Ar}*), 7.47 (d, 2H, $J = 7.5$ Hz, *H_{Ar}*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 36.2 (*C-2*), 71.8 (*C-5*), 72.3 (*C-7*), 76.2 (*C-3*), 82.5 (*C-4*), 86.1 (*C-6*), 126.9 (*2C_{Ar}*), 128.4 (*C_{Ar}*), 128.7 (*2C_{Ar}*), 140.2 (*C_{qAr}*), 175.2 (*C=O*). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ $m/z = 273.0733$** (calculated for C₁₃H₁₄NaO₅: 273.0733).

3,6-anhydro-2-deoxy-5,7-hydroxy-7-phenyl-D-gulo-1,4-lactone (70)



Yield: 23% as a white solid

C₁₃H₁₄O₅

M.W.: 250.25 g/mol

$R_f = 0.34$ (Toluene/Acetone: 8/2)

$[\alpha]_D = +23.1$ ($c = 0.16$, CHCl₃)

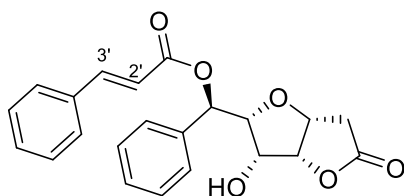
Mp: 153°C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3390, 2924, 2853, 1770, 1454, 1363, 1248$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 2.77 (d, 2H, $J_{2,3} = 5.0$ Hz, *H-2*), 3.07-3.11 (m, 2H, *OH-5* and *OH-7*), 3.94 (dd, 1H, $J_{6,7} = 7.5$ Hz, $J_{6,5} = 5.0$ Hz, *H-6*), 4.58 (app t, 1H, $J_{5,6} = J_{5,4} = 5.0$ Hz, *H-5*), 4.64 (app q, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 5.0$ Hz, *H-3*), 4.99 (app t, 1H, *H-4*), 5.02 (d, 1H, *H-7*), 7.33 (br d, 1H, $J_{Ar} = 7.0$ Hz, *H_{Ar}*), 7.38 (br t, 2H, $J_{Ar} = 7.0$ Hz, *H_{Ar}*), 7.43 (br d, 2H, $J_{Ar} = 7.0$ Hz, *H_{Ar}*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 36.1 (*C-2*), 71.7 (*C-5*), 72.8 (*C-7*), 76.5 (*C-3*), 82.5 (*C-4*), 85.3 (*C-6*), 126.7 (*2C_{Ar}*), 128.4 (*C_{Ar}*), 128.7 (*2C_{Ar}*), 140.6 (*C_{qAr}*), 174.9 (*C=O*). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ $m/z = 273.0724$** (calculated for C₁₃H₁₄NaO₅: 273.0733).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-hydroxy-7-(*trans*-cynamate)-7-phenyl-D-gulo-1,4-lactone (74)

To a solution of **68** (360 mg, 1.12 mmol) in CH₂Cl₂ (15 mL), 183 mg of *trans*-cinnamic acid (1.1 eq., 1.23 mmol), 164 mg of DMAP (1.2 eq., 1.34 mmol) and 277 mg of DCC

(1.2 eq., 1.34 mmol) were added under inert atmosphere. The solution was stirred for 48 h at 25 °C. The solution was washed with an aqueous solution of HCl 1M (2x10 mL), a saturated solution of NaHCO₃ (2x10 mL) and *brine* (10 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude was purified by chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 70/30) to afford 265 mg of the esterified compound **73** (53 % yield). A solution of ester **73** (80 mg, 0.18 mmol) in a mixture of TFA/CH₂Cl₂ 1/1 (v/v) (5 mL) was stirred under inert atmosphere for 24h at room temperature. The solvent was removed under *vacuum* and the crude product was purified by chromatography on silica gel (eluent: Et₂O/petroleum ether 50/50 to 80/20) to afford the compound **74**.



Yield: 56 % as yellowish solid

C₂₂H₂₀O₆

M.W.: 380.40 g/mol

R_f = 0.22 (Et₂O/petroleum ether: 8/2)

[α]_D = +17.5 (c = 0.10, CHCl₃)

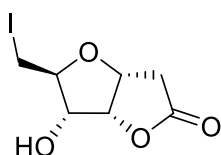
Mp: 158°C

IR (cm⁻¹): ν = 3416, 2920, 1770, 1697, 1634, 1450, 1371, 1269, 1159, 1078. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 2.82 (dd, 1H, J_{2a,2b} = 19.0 Hz, J_{2a,3} = 7.0 Hz, H-2a), 2.90 (dd, 1H, J_{2b,3} = 3.0 Hz, H-2b), 4.14 (app t, 1H, J_{5,4} = J_{5,6} = 6.0 Hz, H-5), 4.27 (dd, 1H, J_{6,7} = 7.5 Hz, H-6), 4.78 (app td, 1H, J_{3,2a} = J_{3,4} = 6.0 Hz, H-3), 4.97 (app t, 1H, J_{4,5} = J_{4,3} = 6.0 Hz, H-4), 6.22 (d, 1H, H-7), 6.55 (d, 1H, J_{2',3'} = 16.0 Hz, H-2'), 7.29-7.43 (m, 6H, H_{Ar}), 7.48-7.56 (m, 4H, H_{Ar}), 7.70 (d, 1H, H-3'). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 36.3 (C-2), 71.3 (C-5), 74.3 (C-7), 76.5 (C-3), 82.3 (C-4), 84.8 (C-6), 117.9 (C-2'), 127.6 (2C_{Ar}), 128.4 (2C_{Ar}), 128.7 (2C_{Ar}), 128.8 (C_{Ar}), 129.0 (2C_{Ar}), 130.5 (C_{Ar}), 134.5 (C_{qAr}), 137.4 (C_{qAr}), 145.9 (C-3'), 166.1 (C=O), 175.2 (C=O). **ESI-HRMS [M+K]⁺ m/z** = 419.0877 (calculated for C₂₂H₂₀KO₆: 419.0891).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-hydroxy-7-iodo-D-ribo-1,4-lactone (76)

To a solution of **8** (200 mg, 0.81 mmol) in dry THF (8 mL), 111 mg of imidazole (2.0 eq., 1.62 mmol) and 425 mg of triphenylphosphine (2.0 eq., 1.62 mmol) were added. The reaction was heated at reflux and 350 mg of I₂ (1.2 eq., 0.97 mmol) solubilized under inert atmosphere in 2 mL of dry THF were added. The reaction was stirred at

reflux for 3h. The solvent was evaporated and the crude intermediate **75** was used without further purification. The intermediate **75** product was dissolved in a mixture of TFA/CH₂Cl₂ 4/1 (v/v) (10 mL) at 0°C. The reaction was stirred at room temperature for 3h. The mixture was neutralized by addition of solid NaHCO₃ and diluted with water. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3x20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 0/100) to afford the compound **76**.



Yield: 67% as a white solid

C₇H₉IO₅

M.W.: 284.05 g/mol

R_f = 0.30 (Cycl/EtOAc: 7/3)

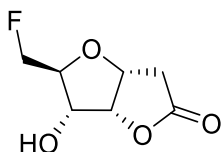
[α]_D = +49.9 (c = 0.11, CHCl₃)

Mp: 144 °C

IR (cm⁻¹): ν = 3335, 2955, 2833, 1774, 1396, 1362, 1292. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 2.17 (d, 1H, J_{OH,5} = 10.5 Hz *OH*), 2.76 (dd, 1H, J_{2a,2b} = 19.0 Hz, J_{2a,3} = 1.0 Hz, *H-2a*), 2.84 (dd, 1H, J_{2b,3} = 6.0 Hz, *H-2b*), 3.35 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 12.0 Hz, J_{7a,6} = 6.0 Hz, *H-7a*), 3.51-3.57 (m, 2H, *H-6* et *H-7b*), 4.07 (ddd, 1H, J_{5,6} = 8.0 Hz, J_{5,4} = 4.5 Hz, *H-5*), 4.92 (ddd, 1H, J_{3,4} = 4.5 Hz, *H-3*), 5.00 (app t, 1H, J_{4,3} = J_{4,5} = 4.5 Hz, *H-4*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 6.6 (*C-7*), 37.1 (*C-2*), 76.2 (*C-3*), 77.4 (*C-5*), 79.6 (*C-6*), 82.9 (*C-4*), 174.6 (*C=O*) **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 306.9438 (calculated for C₇H₉NaIO₅: 306.98443).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-hydroxy-7-fluoro-D-ribo-1,4-lactone (**77**)

Prepared starting from **79** following procedure described for **13**.



Yield: 93 % as a white solid

C₇H₉FO₄

M.W.: 176.14 g/mol

R_f = 0.28 (Cycl/EtOAc: 6/4)

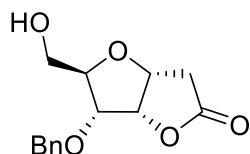
[α]_D = +103.9 (c = 0.11, CHCl₃)

Mp: 94 °C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3377, 1737, 1357, 1292, 1200$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 2.26 (d, 1H, $J_{\text{OH},5} = 10.0$ Hz, OH), 2.75 (brd, 1H, $J_{2a,2b} = 19.0$ Hz, *H*-2a), 2.85 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H*-2b), 3.87-3.95 (brdd, 1H, $J_{6,F} = 27.0$ Hz, $J_{6,5} = 9.0$ Hz, *H*-6), 4.32 (ddd, 1H, $J_{5,6} = 9.0$ Hz, $J_{5,4} = 4.5$ Hz, *H*-5), 4.55 (ddd, 1H, $J_{7a,F} = 47.5$ Hz, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.5$ Hz, *H*-7a), 4.68 (ddd, 1H, $J_{7b,F} = 47.5$ Hz, $J_{7b,6} = 1.5$ Hz, *H*-7b), 4.91 (app brt, 1H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, *H*-3), 4.99 (app t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 4.5$ Hz, *H*-4). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 37.0 (*C*-2), 72.0 (d, $J_{C5-F} = 7$ Hz, *C*-5), 76.5 (*C*-3), 80.8 (d, $J_{C6-F} = 18$ Hz, *C*-6), 81.8 (d, $J_{C7-F} = 175$ Hz, *C*-7) 82.7 (*C*-4), 174.8 (*C*=O). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -233.4. **ESI-HRMS [M+Na]⁺** $m/z = 199.0424$ (calculated for C₇H₉NaFO₄: 199.0383).

3,6-anhydro-2-deoxy-5-*O*-(benzyl)-7-hydroxy-*D*-ribo-1,4-lactone (78)

Prepared from **20** following procedure described for **67**.



Yield: 61% as a white solid

C₁₄H₁₆O₅

M.W.: 264.28 g/mol

$R_f = 0.25$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

$[\alpha]_D = +172.7$ ($c = 0.28$, CHCl₃)

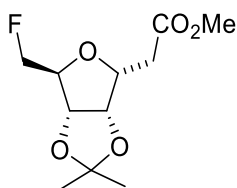
Mp: 81 °C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3343, 2920, 2870, 1770, 1452, 1394, 1310, 1259$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 2.69 (dd, 1H, $J_{2a,2b} = 18.5$ Hz, $J_{2a,3} = 1.0$ Hz, *H*-2a), 2.78 (dd, 1H, $J_{2b,3} = 6.0$ Hz, *H*-2b), 3.65 (br d, 1H, $J_{7a,7b} = 12.0$ Hz, *H*-7a), 3.89 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 2.0$ Hz, *H*-7b), 3.93 (app dt, 1H, $J_{6,5} = 8.5$ Hz, *H*-6), 4.08 (dd, 1H, $J_{5,4} = 4.5$ Hz, *H*-5), 4.61 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH₂Ph), 4.77 (d, 1H, CH₂Ph), 4.84 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, *H*-3), 4.93 (app t, 1H, *H*-4), 7.29-7.42 (m, 5H, H_{Ar}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 37.0 (*C*-2), 61.2 (*C*-7), 72.8 (CH₂Ph), 76.9 (*C*-3), 77.7 (*C*-5), 80.1 (*C*-6), 80.9 (*C*-4), 128.2 (2*C*_{Ar}), 128.4 (*C*_{Ar}), 128.7 (2*C*_{Ar}), 137.3 (*C*_qAr), 175.4 (*C*=O). **ESI-HRMS [M+H]⁺** $m/z = 265.1057$ (calculated for C₁₄H₁₇O₅: 265.1071).

II.2. Functionalization of a polyhydroxylated C-glycosyl platform - Access to a dual divalent probe

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-fluoro-D-ribo-heptanoic acid methyl ester (79)

To a solution of **8** (100 mg, 0.40 mmol) in diglyme (3 mL), 110 μ L of DAST (2 eq., 0.81 mmol) were added dropwise at 0 °C under inert atmosphere. The reaction mixture was stirred for 30 min at 0°C and 1h30 at 110°C. After cooling at room temperature, the mixture was neutralized by addition of a saturated solution of NaHCO₃ (10 mL) and the solvent was removed under *vacuum*. The residue was solubilized in water and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (2x20 mL) and the organic layer was dried over MgSO₄. The solvent was removed under *vacuum*, the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 60/40) to afford the compound **79**.



Yield: 85% as a colorless oil

C₁₁H₁₈FO₅

M.W.: 248.25 g/mol

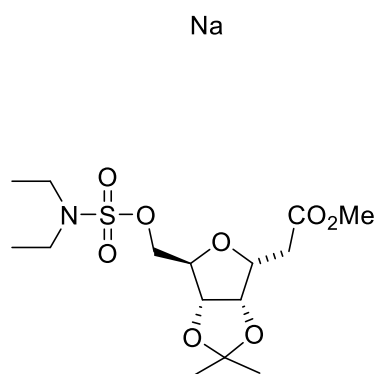
R_f = 0.85 (Cycl/EtOAc: 6/4)

[α]_D = -11.3 (c = 0.10, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): ν = 2988, 2955, 1734, 1437, 1381, 1307, 1267. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.34 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.72 (dd, 1H, $J_{2a,2b}$ = 16.5 Hz, $J_{2a,3}$ = 7.0 Hz, H-2a), 2.78 (dd, 1H, $J_{2b,3}$ = 7.0 Hz, H-2b), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 4.19 (app dt, 1H, $J_{6,F}$ = 33.0 Hz, $J_{6,7a}$ = $J_{6,7b}$ = 3.0 Hz, H-6), 4.40-4.46 (m, 1H, H-3), 4.46 (ddd, 1H, $J_{7a,F}$ = 47.5 Hz, $J_{7b,7a}$ = 10.5 Hz, $J_{7b,6}$ = 3.5 Hz, H-7b), 4.58 (ddd, 1H, $J_{7b,F}$ = 47.5 Hz, $J_{7b,7a}$ = 10.5 Hz, $J_{7b,6}$ = 3.0 Hz, H-7b), 4.80 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, $J_{4,3}$ = 4.0 Hz, H-4), 4.85 (app brd, 1H, H-5). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 25.1 (CH₃), 26.3 (CH₃), 36.4 (C-2), 51.9 (OCH₃), 78.6 (d, J_{C3-F} = 2 Hz, C-3), 81.6 (C-4), 82.4 (d, J_{C5-F} = 8 Hz, C-5), 82.5 (d, J_{C6-F} = 19 Hz, C-6), 85.1 (d, J_{C7-F} = 172 Hz, C-7), 112.9 (C(CH₃)₂), 171.6 (C=O). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -229.2. **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 271.0952 (calculated for C₁₁H₁₈FNaO₅: 271.0958).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-(*N,N*-diethylsulfamoyl)oxy methyl)-D-ribo-heptanoic acid methyl ester (80)

To a solution of **8** (100 mg, 0.40 mmol) in a mixture of dry acetonitrile/dichloromethane 2/3 (v/v) (8 mL), 110 μ L of DAST (2 eq., 0.81 mmol) were added dropwise at 0 °C under argon. The reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature. The mixture was neutralized by addition of a saturated solution of NaHCO₃ (10 mL) and the organic solvent was removed under *vacuum*. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (2x20 mL) and the organic layer was dried over MgSO₄. The solvent was removed under *vacuum*, the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 60/40) to afford the compound **80**.



Yield:

22% as a colorless oil

C₁₁H₁₈FO₅

M.W.:

381.44 g/mol

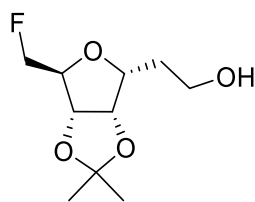
 $R_f = 0.79$

(Cycl/EtOAc: 6/4)

ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 404.1326 (calculated for C₁₅H₂₇NNaO₈S: 404.1355).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-fluoro-D-ribo-1-hydroxyl-heptane (81)

To a solution of **79** (92 mg, 0.37 mmol, 1.0 eq.) in dry THF (8 mL), 42 mg LiAlH₄ (1.11 mmol, 3.0 eq.) were added at 0°C under inert atmosphere and the mixture was stirred at room temperature for 3h. The reaction was quenched by addition of water and the mixture was filtered off through a Celite[®] pad. The organic solvent was removed under reduced pressure and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3x50 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound **81**.



Yield: 82% as yellowish oil

 $C_{10}H_{17}FO_4$

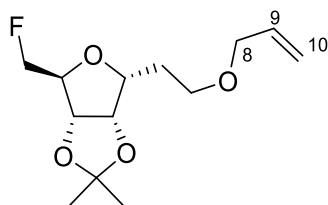
M.W.: 220.24 g/mol

 $R_f = 0.26$ (Cycl/EtOAc: 6/4) $[\alpha]_D = -3.4$ ($c = 0.05$, $CHCl_3$)

IR (cm^{-1}): $\nu = 3420, 2932, 1456, 1373, 1269, 1234, 1209$. **1H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 1.35 (s, 3H, CH_3), 1.51 (s, 3H, CH_3), 1.89-2.06 (m, 2H, $H-2$), 3.76-3.86 (m, 2H, $H-1$), 4.14-4.21 (m, 1H, $H-3$), 4.21 (app dt, 1H, $J_{6,F} = 27.0$ Hz, $J_{6,7} = J_{6,5} = 2.5$ Hz, $H-6$), 4.52 (dd, 2H, $J_{7,F} = 47.5$ Hz, $H-7$), 4.72 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $J_{4,3} = 3.5$ Hz, $H-4$), 4.82 (br dt, 1H, $H-5$). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100.6 MHz): δ (ppm) = 25.1 (CH_3), 26.4 (CH_3), 32.2 ($C-2$), 60.9 ($C-1$), 81.6 (d, $J_{C3-F} = 2$ Hz, $C-3$), 82.3 (d, $J_{C5-F} = 6.0$ Hz, $C-5$), 82.4 ($C-4$), 82.7 (d, $J_{C6-F} = 17.0$ Hz, $C-6$), 85.3 (d, $J_{C7-F} = 172.0$ Hz, $C-7$), 112.8 ($C(CH_3)_2$). **^{19}F NMR** ($CDCl_3$, 235 MHz): δ (ppm) = -228.9. **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 243.1081$ (calculated for $C_{10}H_{17}FNaO_4$: 243.1003).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-fluoro-*D*-ribo-(prop-2-ene-1-yloxy)heptane (**84**)

To a suspension of NaH 60% in mineral oil (38 mg, 0.95 mmol, 2.0 eq.) in dry DMF (1 mL), a solution of 105 mg of **81** (0.48 mmol, 1.0 eq.) in dry DMF (1 mL) was added at 0°C under inert atmosphere. After 1h, 125 μ L of allyl bromide (1.43 mmol, 3.0 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 16h. The reaction was quenched by addition of an aqueous saturated solution of NH_4Cl . The solvent was removed under reduced pressure and the resultant residue was dissolved in water. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3x50 mL) and dried over $MgSO_4$ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound **84**.



Yield: 72% as yellowish oil

 $C_{13}H_{21}FO_4$

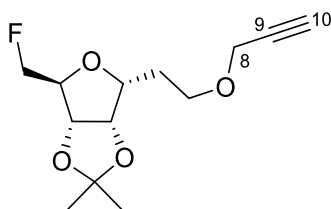
M.W.: 260.30 g/mol

 $R_f = 0.75$ (Cycl/EtOAc: 6/4) $[\alpha]_D = -5.6$ ($c = 0.68$, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3674, 2972, 2901, 2359, 181, 1373, 1232, 1209$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.98 (app q, 2H, $J_{2,3} = J_{2,1} = 6.5$ Hz, H-2), 3.57 (t, 2H, H-1), 3.95 (dd, 1H, $J_{8a,8b} = 13.0$ Hz, $J_{8a,9} = 5.5$ Hz, H-8a), 3.99 (dd, 1H, $J_{8b,9} = 5.5$ Hz, H-8b), 4.09-4.15 (m, 1H, H-3), 4.16 (brdt, 1H, $J_{6,F} = 21.0$ Hz, $J_{6,7} = 3.5$ Hz, H-6), 4.49 (dd, 2H, $J_{7,F} = 47.5$ Hz, $J_{7,6} = 3.5$ Hz, H-7), 4.67 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $J_{4,3} = 4.0$ Hz, H-4), 4.82 (br d, 1H, H-5), 5.15 (br d, 1H, $J_{10a,9} = 10.5$ Hz, H-10a), 5.26 (dd, 1H, $J_{10b,9} = 17.0$ Hz, $J_{10b,10a} = 1.5$ Hz, H-10b), 5.90 (app ddt, 1H, H-9). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 25.2 (CH₃), 26.4 (CH₃), 29.8 (C-2), 67.3 (C-1), 71.9 (C-8), 79.6 (d, $J_{C3-F} = 2$ Hz, C-3), 82.1 (C-4), 82.4 (d, $J_{C5-F} = 6.0$ Hz, C-5), 82.4 (d, $J_{C6-F} = 18.0$ Hz, C-6), 84.9 (d, $J_{C7-F} = 173.0$ Hz, C-7), 112.7 (C(CH₃)₂), 116.8 (C-10), 135.0 (C-9). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -229.0. **ESI-HRMS [M+H]⁺ m/z** = 261.1472 (calculated for C₁₃H₂₂FO₄: 261.1497).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-fluoro-D-ribo-(prop-2-yne-1-yloxy)heptane (85)

To a suspension of NaH 60% in mineral oil (150 mg, 3.91 mmol, 2.0 eq.) in dry DMF (4 mL), a solution of 431 mg of **81** (0.48 mmol, 1.0 eq.) in dry DMF (4 mL) was added at 0°C under inert atmosphere. After 1h, 654 μ L of propargyl bromide 80% in toluen (5.88 mmol, 3.0 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 16h. The reaction was quenched by addition of an aqueous saturated solution of NH₄Cl. The solvent was removed under reduced pressure and the resultant residue was dissolved in water. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3x50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound **85**.



Yield: 92% as yellowish oil

C₁₃H₁₉FO₄

M.W.: 258.28 g/mol

$R_f = 0.77$ (Cycl/EtOAc: 6/4)

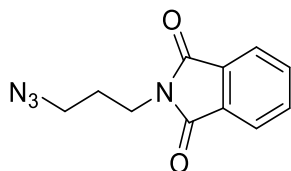
$[\alpha]_D = -5.86$ (c = 0.45, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3265, 2986, 2122, 1718, 1375, 1232, 1209$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.34 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 1.98 (app q, 2H, $J_{2,3} = J_{2,1} = 6.5$ Hz, H-

2), 2.41 (t, 1H, $J_{10,8} = 2.5$ Hz, *H*-10), 3.62-3.72 (m, 2H, *H*-1), 4.10-4.15 (m, 1H, *H*-3), 4.15 (d, 2H, *H*-8), 4.14-4.23 (m, 1H, *H*-6), 4.49 (dd, 2H, $J_{7,F} = 47.5$ Hz, $J_{7,6} = 3.5$ Hz, *H*-7), 4.68 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $J_{4,3} = 4.0$ Hz, *H*-4), 4.82 (br d, 1H, *H*-5). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100.6 MHz): δ (ppm) = 25.2 (CH_3), 26.4 (CH_3), 29.7 (*C*-2), 58.3 (*C*-8), 67.3 (*C*-1), 74.3 (*C*-9), 79.5 (d, $J_{\text{C3-F}} = 2$ Hz, *C*-3), 80.0 (*C*-10), 82.0 (*C*-4), 82.4 (d, $J_{\text{C5-F}} = 6.0$ Hz, *C*-5), 82.4 (d, $J_{\text{C6-F}} = 18.0$ Hz, *C*-6), 84.9 (d, $J_{\text{C7-F}} = 172.0$ Hz, *C*-7), 112.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$). ^{19}F NMR (CDCl_3 , 235 MHz): δ (ppm) = -228.7. ESI-HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 281.1137 (calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{FNaO}_4$: 281.1160).

3-azidopropyl-*N*-phthalimide (**86**)^[373]

Prepared from 3-chloropropylamine following procedure described for **34**.



Yield: 96% as white powder

$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$

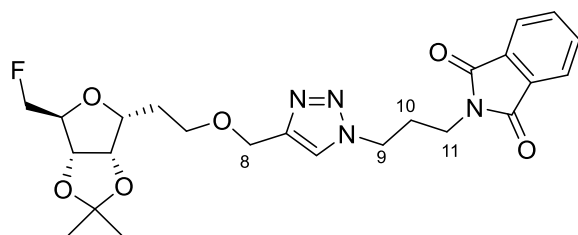
M.W.: 230.23 g/mol

$R_f = 0.53$ (Cycl/EtOAc: 8/2)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 1.96 (qt, 2H, $J_{2,1} = J_{2,3} = 7.0$ Hz, *H*-2), 3.38 (t, 2H, $J_{3,2} = 7.0$ Hz, *H*-3), 3.79 (t, 2H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, *H*-1), 7.70-7.75 (m, 2H, H_{Ar}), 7.83-7.88 (m, 2H, H_{Ar})

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-fluoro-*D*-ribo-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)phthalimide)methoxy)heptane (**87**)

To a solution of **85** (100 mg, 0.39 mmol, 1.0 eq.) in *t*-BuOH (1.85 mL), 134 mg of **IH** (0.58 mmol, 1.5 eq.), 390 μL of sodium ascorbate (1M in water, 0.39 mmol, 1 eq.) and 1.44 mL of copper (II) acetate diluted in water (0.3M in water, 0.35 mmol, 0.9 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 2h. The organic solvent was removed under *vacuum* and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3x20 mL). The combined organic layer was dried over MgSO_4 and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 0/100) to afford the compound **87**.



Yield: 82% as a white solid

 $C_{24}H_{29}FN_4O_6$

M.W.: 488.52 g/mol

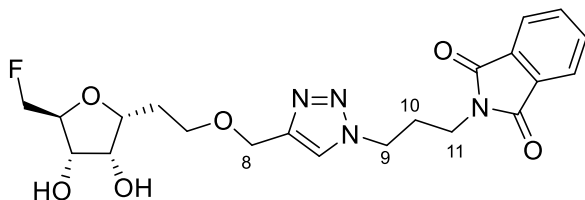
 $R_f = 0.22$ (Cycl/EtOAc: 6/4) $[\alpha]_D = -5.8$ ($c = 0.10$, $CHCl_3$)

Mp: 146 °C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3073, 2928, 2881, 1769, 1703, 1439, 1392, 1360, 1205$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.34 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.00 (app q, $J_{2,3} = J_{2,1} = 6.5$ Hz, 2H, H-2), 2.33 (app qt, 2H, $J_{10,9} = J_{10,11} = 6.5$ Hz, H-10), 3.67 (t, 2H, H-1), 3.76 (t, 2H, H-9), 4.10-4.14 (m, 1H, H-3), 4.17 (app dt, 1H, $J_{6,F} = 27.0$ Hz, $J_{6,7} = J_{6,5} = 3.5$ Hz, H-6), 4.40 (t, 2H, H-11), 4.48 (dd, 2H, $J_{7,F} = 47.0$ Hz, $J_{7,6} = 3.5$ Hz, H-7), 4.62 (d, 1H, $J_{8a,8b} = 12.5$ Hz, H-8a), 4.65 (d, 1H, H-8b), 4.67 (m, 1H, $J_{4,5} = 6.5$ Hz, H-4), 4.79 (d, 1H, H-5), 7.72 (s, 1H, H-triazole), 7.72-7.77 (m, 2H, H-Ar), 7.83-7.87 (m, 2H, H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 25.2 (CH₃), 26.4 (CH₃), 29.6 (C-10), 29.8 (C-2), 35.2 (C-9), 48.0 (C-11), 64.6 (C-8), 67.7 (C-1), 79.4 (d, $J_{C3-F} = 2.0$ Hz, C-3), 82.1 (C-4), 82.4 (d, $J_{C5-F} = 6.0$ Hz, C-5), 82.4 (d, $J_{C6-F} = 18.5$ Hz, C-6), 84.7 (d, $J_{C7-F} = 172.0$ Hz, C-7), 112.7 (C(CH₃)₂), 123.0 (CH-triazole), 123.6 (2CAr), 132.1 (2CqAr), 134.4 (2CAr), 145.5 (Cq-triazole), 168.5 (2C=O). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -228.2. **ESI-HRMS** [M+K]⁺ $m/z = 527.1725$ (calculated for C₂₄H₂₉FKN₄O₆: 527.1703).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-hydroxy-7-fluoro-D-ribo-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)phtalimide)methyloxy)heptane (88)

Prepared from **87** following procedure described for **13**.



Yield: 92% as yellowish oil

$C_{21}H_{25}FN_4O_6$

M.W.: 448.45 g/mol

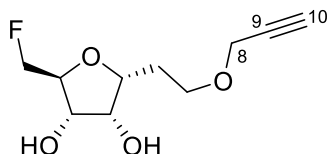
$R_f = 0.12$ (Cycl/EtOAc: 5/5)

$[\alpha]_D = +5.7$ ($c = 0.18$, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): ν 2959, 2922, 1771, 1705, 1437, 1296, 1379, 1339, 1250. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.89-1.96 (m, 1H, *H*-2a), 2.18-2.29 (m, 1H, *H*-2b), 2.33 (app qt, 2H, $J_{10,9} = J_{10,11} = 6.5$ Hz, *H*-10), 2.70 (brs, 2H, OH), 3.60 (app td, 1H, $J_{1a,1b} = J_{1a,2a} = 10.5$ Hz, $J_{1a,2b} = 2.5$ Hz, *H*-1a), 2.71-6.76 (m, 1H, *H*-1b), 3.73 (t, 2H, *H*-9), 3.93 (dddd, 1H, $J_{6,F} = 27.0$ Hz, $J_{6,5} = 7.0$ Hz, $J_{6,7a} = 4.0$ Hz, $J_{6,7b} = 2.5$ Hz, *H*-6), 4.05-4.12 (m, 1H, *H*-3), 4.15 (br t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 4.5$ Hz, *H*-4), 4.20 (dd, 1H, *H*-5), 4.42 (t, 2H, *H*-11), 4.50 (ddd, 1H, $J_{7a,F} = 47.0$ Hz, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, *H*-7a), 4.61 (d, 1H, $J_{8a,8b} = 12.0$ Hz, *H*-8a), 4.65 (ddd, 1H, $J_{7b,F} = 47.0$ Hz, *H*-7b), 4.70 (d, 1H, *H*-8b), 7.72-7.78 (m, 2H, *H*-Ar), 7.79 (br s, 1H, *H*-triazole), 7.83-7.89 (m, 2H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 29.5 (*C*-10), 29.7 (*C*-2), 35.0 (*C*-9), 48.0 (*C*-11), 64.0 (*C*-8), 67.2 (*C*-1), 72.2 (d, $J_{C5-F} = 7.0$ Hz, *C*-5), 72.3 (*C*-4), 80.6 (d, $J_{C6-F} = 17.0$ Hz, *C*-6), 80.9 (*C*-3), 83.3 (d, $J_{C7-F} = 173.0$ Hz, *C*-7), 123.3 (*CH*-triazole), 123.6 (2*C*Ar), 132.0 (2*C*qAr), 134.5 (2*C*Ar), 144.3 (*C*q-triazole), 168.6 (2*C*=O). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -231.6. **ESI-HRMS [M+H]⁺ m/z = 449.1828** (calculated for $C_{21}H_{26}FN_4O_6$: 449.1831).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-hydroxy-7-fluoro-D-ribo-(prop-2-yne-1-yloxy)heptane (90)

Prepared from **85** following procedure described for **13**.



Yield: 84% colorless oil

$C_{10}H_{15}FO_4$

M.W.: 218.24 g/mol

$R_f = 0.13$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

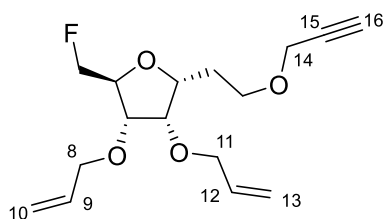
$[\alpha]_D = -2.6$ ($c = 0.32$, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3385, 3283, 2951, 289, 2116, 1717, 1356$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.93-2.02 (m, 1H, *H-2a*), 2.08-2.18 (m, 1H, *H-2b*), 2.47 (t, 1H, $J_{10,8} = 2.5$ Hz, *H-10*), 3.56 (ddd, 1H, $J_{1a,1b} = 10.5$ Hz, $J_{1a,2b} = 9.5$ Hz, $J_{1a,2a} = 2.5$ Hz, *H-1a*), 3.72 (ddd, 1H, $J_{1b,2b} = 3.5$ Hz, $J_{1b,2a} = 5.0$ Hz, *H-1b*), 3.94 (dddd, 1H, $J_{6,F} = 27.0$ Hz, $J_{6,5} = 7.0$ Hz, $J_{6,7a} = 4.0$ Hz, $J_{6,7b} = 2.5$ Hz, *H-6*), 4.08-4.13 (m, 1H, *H-4*), 4.14-4.19 (m, 1H, *H-3*), 4.15 (dd, 1H, $J_{8a,8b} = 12.5$ Hz, *H-8a*), 4.20 (dd, 1H, *H-8b*), 4.23 (dd, 1H, $J_{5,6} = 7.0$ Hz, $J_{5,4} = 5.0$ Hz, *H-5*), 4.51 (ddd, 1H, $J_{7a,F} = 47.5$ Hz, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, *H-7a*), 4.63 (ddd, 1H, $J_{7b,F} = 48.0$ Hz, *H-7b*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** 29.9 (*C-2*), 58.6 (*C-8*), 66.7 (*C-1*), 72.1 (d, $J_{C3-F} = 1.5$ Hz, *C-3*), 72.3 (d, $J_{C5-F} = 7.5$ Hz, *C-5*), 75.3 (*C-10*), 79.0 (*C-9*), 80.6 (d, $J_{C6-F} = 18.0$ Hz, *C-6*), 80.7 (*C-4*), 83.1 (d, $J_{C7-F} = 172.0$ Hz, *C-7*). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -232.1. **ESI-HRMS [M+Na]⁺ $m/z = 241.0818$** (calculated for $C_{10}H_{15}FNaO_4$: 241.0847).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(prop-2-ene)-7-fluoro-D-ribo-(prop-2-yne-1-yloxy)heptane (91)

To a suspension of NaH 60% in mineral oil (110 mg, 2.76 mmol, 3.0 eq.) in dry DMF (1 mL), a solution of 200 mg of **90** (0.92 mmol, 1.0 eq.) in dry DMF (3 mL) was added at 0°C under inert atmosphere. After 45 min, 478 μ L of allyl bromide (5.52 mmol, 6.0 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 3h. The reaction was quenched by addition of an aqueous saturated solution of NH₄Cl. The solvent was removed under *vacuum* and the resultant residue was dissolved in water. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3x50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash

chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound **91**.



Yield: 78% as yellowish oil

$C_{16}H_{23}FO_4$

M.W: 294.32 g/mol

$R_f = 0.74$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

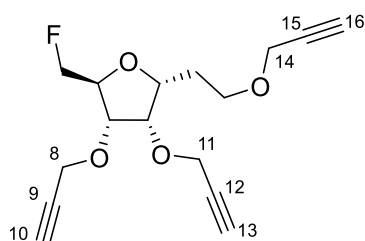
$[\alpha]_D = +33.7$ (c = 0.37, $CHCl_3$)

IR (cm^{-1}): $\nu = 3670, 3283, 2970, 2901, 2363, 1734, 1717, 1406, 1250$. **1H NMR** ($CDCl_3$, **400 MHz**): δ (ppm) = 1.93-2.04 (m, 2H, *H*-2), 2.41 (t, 1H, $J_{16,14} = 2.5$ Hz, *H*-16), 3.56-3.69 (m, 2H, *H*-1), 3.90 (app t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 3.5$ Hz, *H*-4), 3.97-4.18 (m, 8H, *H*-5, *H*-3, *H*-6, *H*-8a, *H*-14, *H*-11a and *H*-8b), 4.27 (app ddt, 1H, $J_{11a,11b} = 12.5$ Hz, $J_{11b,12} = 7.0$ Hz, $J_{11b,13} = 1.5$ Hz, *H*-11b), 4.45 (ddd, 1H, $J_{7a,F} = 47.0$ Hz, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.0$ Hz, *H*-7a), 4.58 (ddd, 1H, $J_{7b,F} = 48.5$ Hz, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz *H*-7b) 5.14-5.24 (m, 2H, *H*-10a and *H*-13a), 5.26-5.33 (m, 2H, *H*-10b and *H*-13b), 5.86-5.98 (m, 2H, *H*-9 and *H*-12). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, **100.6 MHz**): 30.0 (*C*-2), 58.3 (*C*-14), 67.2 (*C*-1), 71.9 (*C*-8), 72.7 (*C*-11), 74.3 (*C*-16), 77.9 (d, $J_{C73-F} = 2.0$ Hz, *C*-3), 78.0 (*C*-4), 78.6 (d, $J_{C6-F} = 18.5$ Hz, *C*-6), 79.2 (d, $J_{C5-F} = 8$ Hz, *C*-5), 80.1 (*C*-15) 82.8 (d, $J_{C7-F} = 172.0$ Hz, *C*-7), 117.1 (*C*-10 or *C*-13), 117.8 (*C*-10 or *C*-13), 134.3 (*C*-9 or *C*-12), 135.0 (*C*-9 or *C*-12). **^{19}F NMR** ($CDCl_3$, **235 MHz**): δ (ppm) = -232.1. **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 321.1459$ (calculated for $C_{16}H_{23}NaFO_4$: 321.1473).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(prop-2-yne)-7-fluoro-*D*-ribo-(prop-2-yne-1-yloxy)heptane (**92**)

To a suspension of NaH 60% in mineral oil (86 mg, 2.13 mmol, 3.0 eq.) in dry DMF (1 mL), a solution of 155 mg of **90** (0.71 mmol, 1.0 eq.) in dry DMF (3 mL) was added at 0°C under inert atmosphere. After 45 min, 480 μ L of propargyl bromide 80% in toluene (4.26 mmol, 6.0 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 3h. The reaction was quenched by addition of an aqueous saturated solution of NH_4Cl . The solvent was removed under *vacuum* and the residue was dissolved in water. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3x50 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by

flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound **92**.



Yield: 91% as yellowish oil

$C_{16}H_{19}FO_4$

M.W: 294.32 g/mol

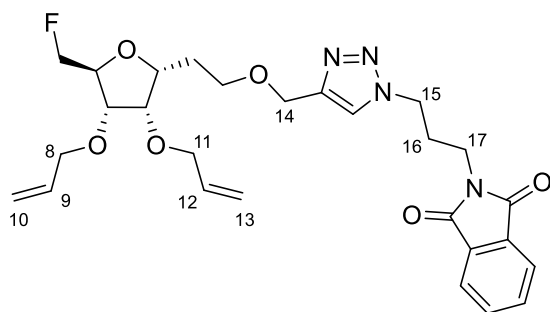
$R_f = 0.76$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

$[\alpha]_D = +22.6$ (c = 0.42, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3283, 2970, 2901, 2359, 2115, 1716, 1394, 1230$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.97 (q, 2H, $J_{2,1} = 6.5$ Hz, *H*-2), 2.41 (t, 1H, $J_{16,14} = 2.5$ Hz, *H*-16), 2.45 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz, *H*-10 or *H*-13), 2.50 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz, *H*-10 or *H*-13), 3.59-3.71 (m, 2H, *H*-1), 4.00-4.24 (m, 3H, *H*-6, *H*-14), 4.17-4.25 (m, 3H, *H*-3, *H*-4 and *H*-5), 4.30 (d, 1H, *H*-8 or *H*-11), 4.42 (d, 1H, *H*-8 or *H*-11), 4.48 (ddd, 1H, $J_{7a,F} = 47.5$ Hz, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, $J_{7a,6} = 3.5$ Hz, *H*-7a), 4.61 (ddd, 1H, $J_{7b,F} = 47.0$ Hz, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz *H*-7b). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** 29.9 (*C*-2), 58.3 (*C*-8, *C*-11 or *C*-14), 58.5 (*C*-8, *C*-11 or *C*-14), 58.6 (*C*-8, *C*-11 or *C*-14), 67.0 (*C*-1), 74.3 (*C*-16), 75.0 (*C*-10 or *C*-13), 75.5 (*C*-10 or *C*-13), 76.6 (d, $J_{C3-F} = 2.0$ Hz, *C*-3), 77.8 (*C*-4), 78.4 (d, $J_{C6-F} = 18.5$ Hz, *C*-6), 79.1 (d, $J_{C5-F} = 8.0$ Hz, *C*-5), 79.3 (*C*-9, *C*-12 or *C*-15), 80.0 (*C*-9, *C*-12 or *C*-15), 80.1 (*C*-9, *C*-12 or *C*-15), 82.6 (d, $J_{C7-F} = 172.0$ Hz, *C*-7). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -232.2. **ESI-HRMS** $[M+H]^+$ $m/z = 295.1338$ (calculated for $C_{16}H_{20}FO_4$: 295.1340).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(prop-2-ene)-7-fluoro-D-ribo-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)phtalimide)methoxy)heptane (93)

Prepared from **91** following procedure described for **87**.



Yield: 68% as a colorless oil

$C_{27}H_{33}FN_4O_6$

M.W.: 528.2384 g/mol

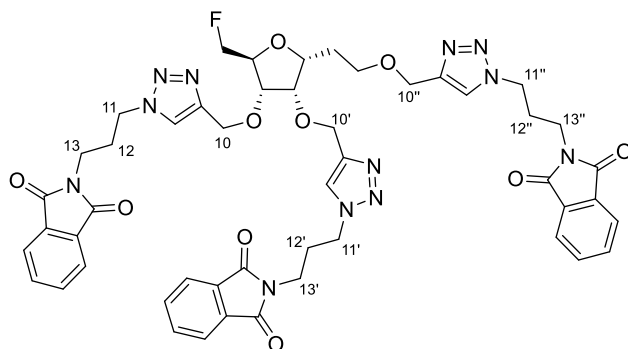
$R_f = 0.18$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

$[\alpha]_D = +1.8$ (c = 0.11, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3676, 2970, 2910, 2358, 1770, 1708, 1394, 1375, 1250, 1227$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.92-2.01 (m, 2H, *H*-2), 2.33 (app qt, 2H, $J_{16,15} = J_{16,17} = 6.5$ Hz, *H*-16), 3.64 (t, 2H, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, *H*-1), 3.76 (t, 2H, *H*-17), 3.92-4.18 (m, 8H, *H*-3, *H*-5, *H*-4, *H*-6, *H*-8 and *H*-11), 4.22-4.52 (m, 2H, *H*-7), 4.40 (t, 2H, *H*-15), 4.61 (d, 1H, $J_{14a,14b} = 12.5$ Hz, *H*-14a), 4.65 (d, 1H, *H*-14b), 5.13-5.23 (m, 2H, *H*-10 and *H*-13a), 5.23-5.32 (m, 2H, *H*-10b and *H*-13b), 5.85-5.96 (m, 2H, *H*-9 and *H*-12), 7.73 (br s, 1H, *H*-triazole), 7.73-7.76 (m, 2H, *H*-Ar), 7.83-7.87 (m, 2H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 29.4 (*C*-16), 31.1 (*C*-2), 34.1 (*C*-17), 47.9 (*C*-15), 64.4 (*C*-14), 67.4 (*C*-1), 71.8 (*C*-8 or *C*-11), 72.6 (*C*-8 or *C*-11), 77.2 (*C*-4), 77.9 (*C*-3), 78.3 (d, $J_{C6-F} = 18.5$ Hz, *C*-6), 79.0 (d, $J_{C5-F} = 5$ Hz, *C*-5), 82.7 (d, $J_{C7-F} = 172.0$ Hz, *C*-7), 116.9 (*C*-10 or *C*-13), 117.6 (*C*-10 or *C*-13), 122.9 (*CH*-triazole), 123.4 (2*C*Ar), 131.9 (2*C*qAr), 134.1 (*C*-9 or *C*-12), 134.3 (2*C*Ar), 134.9 (*C*-9 or *C*-12), 145.4 (*C*q-triazole), 168.3 (2*C*=O). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -232.0. **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 551.2301** (calculated for C₂₇H₃₃FN₄NaO₆: 551.2276).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-(methoxy(1H-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)phtalimide))-7-fluoro-D-ribo-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)phtalimide)méthoxyheptane (95)

Prepared from **92** following procedure described for **87** with 0.9 eq. of **86**.



Yield: 83 % as a yellowish solid

C₄₉H₄₉FN₁₂O₁₀

M.W.: 984.3679 g/mol

$R_f = 0.18$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

$[\alpha]_D = +3.6$ (c = 0.11, CHCl₃)

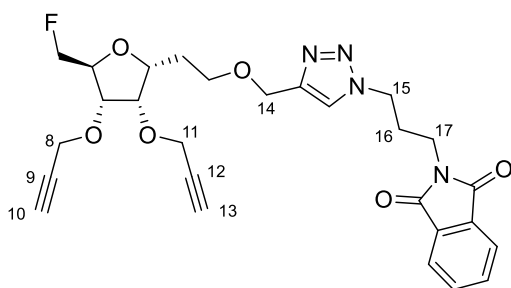
Mp: 116°C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3306, 2920, 1771, 1709, 1645, 1601, 1516, 1499, 1452, 1377, 1259$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.90-2.03 (m, 2H, *H*-2), 2.23-2.40 (m, 6H, *H*-16, *H*-16' and *H*-16''), 3.55-3.68 (m, 2H, *H*-1), 3.67-3.79 (m, 6H, *H*-17, *H*-17' and *H*-17''), 4.00-4.26 (m, 4H, *H*-3, *H*-5, *H*-4 and *H*-6), 4.35-4.50 (m, 6H, *H*-15, *H*-15' and *H*-15''), 4.35-4.85 (m, 8H, *H*-7, *H*-14, *H*-14' and *H*-14''), 7.67-7.76 (m, 9H, *H*-Ar, *H*-triazole), 7.79-7.86 (m, 6H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 29.5 (*C*-16), 29.5 (*C*-16'), 29.8 (*C*-16''), 30.0 (*C*-2), 35.2 (*C*-17), 35.2 (*C*-17'), 35.2 (*C*-17''), 48.0 (*C*-15),

48.0 (C-15'), 48.0 (C-15''), 64.6 (C-14), 64.6 (C-14'), 64.6 (C-14''), 67.5 (C-1), 77.3 (C-4), 78.2 (C-3), 78.4 (d, $J_{C_6-F} = 18.0$ Hz, C-6), 79.5 (d, $J_{C_5-F} = 5$ Hz, C-5), 82.9 (d, $J_{C_7-F} = 173.0$ Hz, C-7), 123.5 (3CH-triazole, 6CAr), 132.1 (6CqAr), 134.3 (6CAr), 145.7 (3Cq-triazole), 168.4 (6C=O). ^{19}F NMR (CDCl_3 , 235 MHz): δ (ppm) = -231.3. ESI-HRMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 985.3733$ (calculated for $\text{C}_{49}\text{H}_{50}\text{FN}_{12}\text{O}_{10}$:985.3757).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(prop-2-yne)-7-fluoro-D-ribo-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)phtalimide)methyloxy)heptane (89)

To a solution of **92** (105 mg, 0.36 mmol, 1.0 eq.) in a mixture of ACN/water (1/1) (0.75 mL), 21 mg of **86** (0.58 mmol, 0.25 eq.), 71 μL of copper (II) sulphate (1M in water, 0.07 mmol, 0.2 eq.) and 178 μL of sodium ascorbate (1M in water, 0.18 mmol, 0.5 eq.) were added and the mixture was stirred at 40°C for 24h. The organic solvent was removed under reduced pressure and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3x20 mL) and dried over MgSO_4 and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: toluen/acetone 80/20) to afford the compound **89**.



Yield: 18% as a colorless oil

$\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{FN}_4\text{O}_6$

M.W.: 524.2071 g/mol

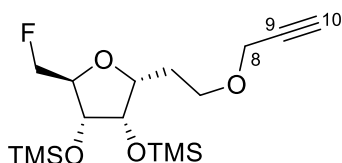
$R_f = 0.36$ (tol/acetone: 8/2)

$[\alpha]_D = +8.6$ (c = 0.07, CHCl_3)

IR (cm^{-1}): $\nu = 3670, 2961, 2922, 2359, 1394, 1260$. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 1.93-2.00 (m, 2H, H-2), 2.34 (app qt, 2H, $J_{16,15} = J_{16,17} = 6.5$ Hz, H-16), 2.45 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz, H-10 or H-13), 2.45 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz, H-10 or H-13), 3.66 (t, 2H, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H-1), 3.77 (t, 2H, H-17), 3.92-4.24 (m, 4H, H-3, H-5, H-4 and H-6), 4.29 (d, 2H, H-8 or H-11), 4.41 (d, 2H, H-8 or H-11), 4.41 (t, 2H, H-15), 4.42-4.65 (m, 2H, H-7), 4.62 (d, 1H, $J_{14a,14b} = 12.5$ Hz, H-14a), 4.66 (d, 1H, H-14b), 7.73-7.77 (m, 2H, H-Ar), 7.74 (br s, 1H, H-triazole), 7.83-7.87 (m, 2H, H-Ar). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100.6 MHz): Spectre non exploitable car trop peu de produit. ^{19}F NMR (CDCl_3 , 235 MHz): δ (ppm) = -232.0. ESI-HRMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 525.2123$ (calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{FN}_4\text{O}_6$: 525.2144).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(trimethylsilyl)-7-fluoro-D-ribo-(prop-2-yne-1-yloxy)heptane (99)

Prepared from **90** and 3-bromo-1-(trimethylsilyl)-1-propyne following procedure described for **92**.



Yield: 40% as yellowish oil

$C_{16}H_{31}FO_4Si_2$

M.W.: 362.59 g/mol

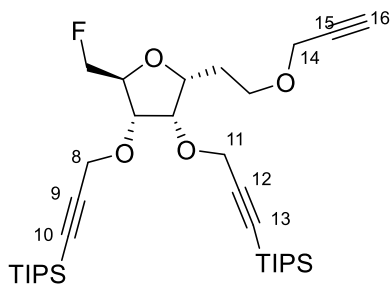
$R_f = 0.81$ (Cycl/EtOAc: 7/3)

$[\alpha]_D = +8.1$ (c = 0.13, $CHCl_3$)

IR (cm^{-1}): $\nu = 2957, 2911, 2116, 1717, 1250$. **1H NMR** ($CDCl_3$, **400 MHz**): δ (ppm) = 0.14 (s, 9H, Si- CH_3), 0.16 (s, 9H, Si- CH_3), 1.94-2.02 (m, 1H, $H-2a$), 2.07-2.19 (m, 1H, $H-2b$), 2.46 (t, 1H, $J_{10,8} = 2.5$ Hz, $H-10$), 3.57 (ddd, 1H, $J_{1a,1b} = 10.5$ Hz, $J_{1a,2b} = 9.5$ Hz, $J_{1a,2a} = 2.5$ Hz, $H-1a$), 3.73 (ddd, 1H, $J_{1b,2b} = 3.5$ Hz, $J_{1b,2a} = 5.0$ Hz, $H-1b$), 3.94 (dddd, 1H, $J_{6,F} = 27.0$ Hz, $J_{6,5} = 6.5$ Hz, $J_{6,7a} = 4.0$ Hz, $J_{6,7b} = 2.5$ Hz, $H-6$), 4.09-4.19 (m, 2H, $H-3$, $H-4$), 4.15 (dd, 1H, $J_{8a,8b} = 15.0$ Hz, $H-8a$), 4.21 (dd, 1H, $H-8b$), 4.21-4.25 (m, 1H, $H-5$), 4.52 (ddd, 1H, $J_{7a,F} = 47.0$ Hz, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, $H-7a$), 4.64 (ddd, $J_{7b,F} = 47.5$ Hz, 1H, $H-7b$). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, **100.6 MHz**): 2.1 (6C, Si- CH_3), 30.0 (C-2), 58.7 (C-8), 66.7 (C-1), 72.1 (d, $J_{C3-F} = 2.0$ Hz, C-3), 72.3 (d, $J_{C5-F} = 7.5$ Hz, C-5), 75.3 (C-10), 78.9 (C-9), 80.6 (d, $J_{C6-F} = 18.0$ Hz, C-6), 80.8 (C-4), 83.1 (d, $J_{C7-F} = 173.0$ Hz, C-7). **^{19}F NMR** ($CDCl_3$, **235 MHz**): δ (ppm) = -232.1. **ESI-HRMS** $[M+H]^+$ $m/z = 363.1824$ (calculated for $C_{16}H_{32}FO_4Si_2$: 363.1818).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(3-(triisopropylsilyl)prop-2-yne)-7-fluoro-D-ribo-(prop-2-yne-1-yloxy)heptane (100)

Prepared from **90** and 3-bromo-1-(triisopropylsilyl)-1-propyne following procedure described for **92**.



Yield: 91% as yellowish oil

 $C_{34}H_{59}FO_4Si_2$

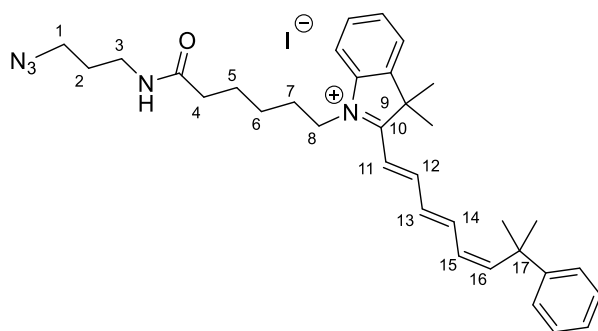
M.W.: 607.01 g/mol

 $R_f = 0.59$ (Cycl/EtOAc: 8/2) $[\alpha]_D = +24.2$ (c = 0.10, $CHCl_3$)

IR (cm⁻¹): $\nu = 3298, 2941, 2864, 1717, 1458, 1383, 1227$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.07 (br s, 42H, Si-(CH-(CH₃)₂)₃ and Si-(CH-(CH₃)₂)₃), 1.97 (app q, 2H, $J_{2,1} = J_{2,3} = 6.5$ Hz, *H*-2), 2.39 (t, 1H, $J_{16,14} = 2.5$ Hz, *H*-16), 3.60-3.69 (m, 2H, *H*-1), 4.03-4.12 (m, 1H, *H*-6), 4.10 (dd, 1H, $J_{14a,14b} = 15.0$ Hz, *H*-14a), 4.15 (dd, 1H, *H*-14b), 4.18-4.23 (td, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, *H*-3), 4.28 (app t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 4.0$ Hz, *H*-4), 4.30-4.34 (m, 1H, *H*-5), 4.35 (d, 2H, $J = 1.0$ Hz, *H*-8 or *H*-11), 4.45 (ddd, 1H, $J_{7a,F} = 47.0$ Hz, $J_{7a,7b} = 10.0$ Hz, $J_{7a,6} = 4.0$ Hz, *H*-7a), 4.45 (d, 2H, $J = 1.0$ Hz, *H*-8 or *H*-11), 4.56 (ddd, 1H, $J_{7b,F} = 48.0$ Hz, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, *H*-7b). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** 11.3 (3C, Si-CH-(CH₃)₂), 11.3 (3C, Si-CH-(CH₃)₂), 18.7 (6C, Si-CH-(CH₃)₂), 18.7 (6C, Si-CH-(CH₃)₂), 30.1 (*C*-2), 58.2 (*C*-14), 58.7 (*C*-8 or *C*-11), 59.2 (*C*-8 or *C*-11), 67.0 (*C*-1), 76.0 (*C*-4), 77.8 (*C*-3), 77.9 (d, $J_{C5-F} = 6.0$ Hz, *C*-5), 78.7 (d, $J_{C6-F} = 18.5$ Hz, *C*-6), 80.1 (*C*-15), 82.8 (d, $J_{C7-F} = 173.5$ Hz, *C*-7), 88.6 (*C*-10 or *C*-13), 89.0 (*C*-10 or *C*-13), 102.5 (*C*-9 or *C*-12), 103.2 (*C*-9 or *C*-12). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -231.0 **ESI-HRMS [M+K]⁺ m/z = 645.3541** (calculated for C₃₄H₅₉FKO₄Si₂: 645.3567).

3H-Indolium,2-[5-(1,3-dihydro-1,3,3-trimethyl-2H-indol-2-ylidene)-1,3-pentadien-1-yl]-3,3-dimethyl-1-[6-oxo-6-(3-azidopropylamino)hexyl]-iodonium salt (102)

To a solution of commercial *N*-hydroxysuccinimide cyanine 5 (90 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq.) in DMF (2 mL), 35 mg of **43** (0.26 mmol, 2.0 eq.) and 40 μ L of DIPEA (0.39 mmol, 3.0 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 6h. The reaction mixture was then diluted with CH₂Cl₂ (20 mL) and the organic layer was washed with water (3x10 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: DCM/MeOH 100/0 to 90/10) to afford the compound **102**.



Yield: 69% as a blue solid

 $C_{35}H_{45}IN_6O$

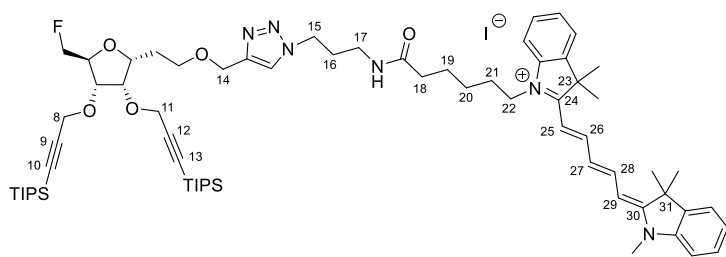
M.W.: 692.69 g/mol

 $R_f = 0.61$ (DCM/MeOH: 95/5)

IR (cm^{-1}): $\nu = 2928, 2095, 1649, 1479, 1452, 1369, 1335, 1219$. **1H NMR** ($CDCl_3$, **400 MHz**): δ (ppm) = 1.52-1.64 (m, 2H, *H*-6), 1.69 (br s, 12H, 4 *CH*₃), 1.76-1.92 (m, 6H, *H*-2, *H*-5, *H*-7), 2.44 (br t, 2H, $J_{4,5} = 6.5$ Hz, *H*-4), 3.29-3.36 (m, 2H, *H*-3), 3.38 (t, 2H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, *H*-1) 3.59 (s, 3H, *N-CH*₃), 4.12 (br t, 2H, $J_{8,7} = 6.5$ Hz, *H*-8), 6.31 (d, 1H, $J = 14.0$ Hz, *H*-11 or *H*-15), 6.71 (d, 1H, *H*-11 or *H*-15), 6.99-7.08 (m, 1H, *H*-13), 7.06 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, *H*_{Ar}), 7.13 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, *H*_{Ar}), 7.18-7.25 (m, 2H, *H*_{Ar}), 7.32-7.41 (m, 4H, *H*_{Ar}), 7.82 (app t, 1H, $J = 10.5$ Hz, *H*-12 or *H*-14), 7.86 (app t, 1H, $J = 10.5$ Hz, *H*-12 or *H*-14), 8.59 (br s, 1H, *NH*). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, **100.6 MHz**): δ (ppm) = 25.2 (*C*-2, *C*-5 or *C*-7), 26.4 (*C*-6), 27.0 (*C*-2, *C*-5 or *C*-7), 28.2 (2 *CH*₃), 28.3 (2 *CH*₃), 29.1 (*C*-2, *C*-5 or *C*-7), 31.5 (*N-CH*₃), 36.0 (*C*-4), 36.9 (*C*-3), 44.9 (*C*-8), 49.0 (*C*-9 or *C*-17), 49.5 (*C*-1), 49.8 (*C*-9 or *C*-17), 103.8 (*C*-11 or *C*-15), 105.5 (*C*-11 or *C*-15), 110.2 (*C*_{Ar}), 111.2 (*C*_{Ar}), 122.2 (*C*_{Ar}), 122.3 (*C*_{Ar}), 125.6 (*C*_{Ar}), 127.1 (*C*-13), 128.8 (*C*_{Ar}), 129.0 (*C*_{Ar}), 140.7 (*C*_{qAr}), 141.3 (*C*_{qAr}), 142.0 (*C*_{qAr}), 143.0 (*C*_{qAr}), 152.2 (*C*-12 or *C*-14), 153.8 (*C*-12 or *C*-14), 172.3 (*C*-10, *C*-16 or *C*=O), 173.6 (*C*-10, *C*-16 or *C*=O), 174.6 (*C*-10, *C*-16 or *C*=O). **ESI-HRMS** [*M*]⁺ $m/z = 565.3654$ (calculated for $C_{35}H_{45}N_6O$: 565.3649).

Compound 103

To a solution of **102** (27 mg, 0.040 mmol, 1.0 eq.) in ACN (160 μ L), 36 mg of **100** (0.060 mmol, 1.5 eq.), 40 μ L of sodium ascorbate (1M in water, 0.04 mmol, 1 eq.) and 120 μ L of copper (II) acetate (0.3M in water, 0.036 mmol, 0.9 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 16h. The organic solvent was removed under reduced pressure and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3x20 mL) and dried over $MgSO_4$ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: DCM/MeOH 100/0 to 90/10) to afford the compound **103**.



Yield: 69% as a blue solid

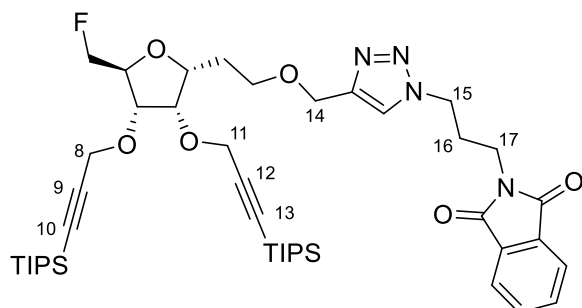
$C_{69}H_{104}FIN_6O_5Si_2$

M.W.: 1299.7 g/mol

$R_f = 0.24$ (DCM/MeOH: 95/5)

Mp: 119°C

IR (cm⁻¹): $\nu = 3341, 2924, 2864, 1653, 1481, 1452, 1369, 1335, 1219$. **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ (ppm) = 1.06 (s, 18H, Si-(CH-(CH₃)₂)₃), 1.06 (s, 18H, Si-(CH-(CH₃)₂)₃), 1.00-1.13 (m, 6H, Si-(CH-(CH₃)₂)₃), 1.53-1.64 (m, 2H, H-20), 1.68 (s, 12H, 4 CH₃), 1.71-1.98 (m, 6H, H-2, H-19 and H-21), 2.19 (app qt, 2H, $J_{16,15} = J_{16,17} = 6.5$ Hz, H-16), 2.51 (br t, 2H, $J_{18,19} = 7.0$ Hz, H-18), 3.30 (br s, 2H, H-17), 3.57 (s, 3H, N-CH₃), 3.63 (br t, 2H, $J_{2,1} = 6.5$ Hz, H-1), 4.01-4.12 (m, 1H, H-6), 4.15 (br t, 2H, $J_{22,21} = 7.0$ Hz, H-22), 4.16-4.22 (m, 1H, H-3), 4.24-4.33 (m, 2H, H-4, H-5), 4.35 (s, 2H, H-8 or H-11), 4.37-4.51 (m, 2H, H-7), 4.43 (s, 2H, H-8 or H-11), 4.52-4.61 (m, 4H, H-14 and H-15), 6.25 (d, 1H, $J = 14.0$ Hz, H-25 or H-29), 6.70 (d, 1H, H-25 or H-29), 6.84 (app br t, 1H, $J_{27,26} = J_{27,28} = 13.0$ Hz, H-27), 7.07 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_{Ar}), 7.14 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_{Ar}), 7.18-7.26 (m, 2H, H_{Ar}), 7.31-7.42 (m, 4H, H_{Ar}), 7.77 (app t, 1H, H-26 or H-28), 7.81 (app t, 1H, H-26 or H-28), 8.20 (br s, 1H, H-triazole), 9.10 (br s, 1H, NH). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 11.3 (3C, Si-CH(CH₃)₃), 11.3 (3C, C(CH₃)₃), 18.7 (6C, C(CH₃)₃), 18.7 (3C, Si-CH(CH₃)₃), 25.2 (C-19), 26.3 (C-20), 27.0 (C-21), 28.2 (2 CH₃), 28.3 (2 CH₃), 30.2 (C-2), 30.6 (C-16), 31.5 (N-CH₃), 35.9 (C-18), 36.3 (C-17), 48.3 (C-22), 49.0 (C-15), 58.6 (C-8 or C-11), 59.2 (C-8 or C-11), 64.4 (C-14), 67.4 (C-1), 75.9 (C-4), 77.8 (C-3), 78.0 (d, $J_{C5-F} = 5$ Hz, C-5), 78.6 (d, $J_{C6-F} = 18.5$ Hz, C-6), 83.0 (d, $J_{C7-F} = 173.0$ Hz, C-7), 88.6 (C-10 or C-13), 88.8 (C-10 or C-13), 102.5 (C-9 or C-12), 103.2 (C-9 or C-12), 103.6 (C-25 or C-29), 105.4 (C-25 or C-29), 110.3 (C_{Ar}), 111.3 (C_{Ar}), 122.2 (C_{Ar}), 122.2 (C_{Ar}), 124.3 (CH-triazole), 125.0 (C_{Ar}), 125.7 (C_{Ar}), 126.9 (C-27), 128.9 (C_{Ar}), 129.1 (C_{Ar}), 140.7 (C_{qAr}), 141.3 (C_{qAr}), 142.0 (C_{qAr}), 143.0 (C_{qAr}), 144.6 (C_{q-triazole}), 152.4 (C-26 or C-28), 153.6 (C-26 or C-28), 172.4 (C-30 or C-24), 174.7 (C-30 or C-24). **¹⁹F NMR (CDCl₃, 235 MHz):** δ (ppm) = -230.7. **ESI-HRMS** [M+H]²⁺ $m/z = 586.3942$ (calculated for C₆₉H₁₀₅FN₆O₅Si₂: 586.3829).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(3-(triisopropylsilyl)prop-2-yn)-7-fluoro-D-ribo-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)propyl)phthalimide)méthoxyheptane (104)Prepared from **100** following procedure described for **87**.

Yield: 84%

 $C_{45}H_{69}FN_4O_6Si_2$

M.W.: 837.23 g/mol

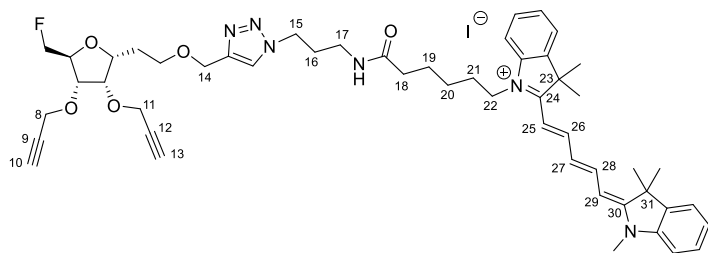
 $R_f = 0.32$ (Cycl/EtOAc: 6/4) $[\alpha]_D = +26.7$ ($c = 0.10$, $CHCl_3$)

IR (cm^{-1}): $\nu = 2941, 2864, 1772, 1464, 1394, 1224$. **1H NMR** ($CDCl_3$, **400 MHz**): δ (ppm) = 1.06 (s, 36H, Si-(CH-(CH₃)₂)₃), 1.01-1.15 (m, 6H, Si-(CH-(CH₃)₂)₃), 1.92-2.03 (m, 2H, *H*-2), 2.41 (app qt, 2H, $J_{16,15} = J_{16,17} = 6.5$ Hz, *H*-16), 3.65 (br t, 2H, $J_{2,1} = 7.0$ Hz, *H*-1), 3.77 (t, 2H, *H*-17), 4.08 (dddd, 1H, $J_{6,F} = 27.0$ Hz, $J_{6,5} = 6.0$ Hz, $J_{6,7b} = 4.0$ Hz, $J_{6,7a} = 2.5$ Hz, *H*-6), 4.20-4.26 (m, 1H, *H*-3), 4.27 (app t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 4.0$ Hz, *H*-4), 4.30-4.34 (m, 1H, *H*-5), 4.35 (s, 2H, *H*-8 or *H*-11), 4.40 (t, 2H, *H*-15), 4.44 (s, 2H, *H*-8 or *H*-11), 4.45 (ddd, 1H, $J_{7a,F} = 46.0$ Hz, $J_{7a,7b} = 10.0$ Hz, $J_{7a,6} = 4.0$ Hz, *H*-7a), 4.54 (ddd, 1H, $J_{7b,F} = 46.0$ Hz, $J_{7b,6} = 2.5$ Hz, *H*-7b), 4.61 (d, 1H, $J_{14a,14b} = 12.5$ Hz, *H*-14a), 4.65 (d, 1H, *H*-14b), 7.72 (br s, 1H, *H*-triazole), 7.72-7.76 (m, 2H, H_{Ar}), 7.83-7.88 (m, 2H, H_{Ar}). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, **100.6 MHz**): δ (ppm) = 11.3 (3C, Si-CH-(CH₃)₂), 11.3 (3C, Si-CH-(CH₃)₂), 18.7 (6C, Si-CH-(CH₃)₂), 18.7 (6C, Si-CH-(CH₃)₂), 29.6 (*C*-16), 30.2 (*C*-2), 35.2 (*C*-17), 48.0 (*C*-15), 58.7 (*C*-8 or *C*-11), 59.2 (*C*-8 or *C*-11), 64.6 (*C*-14), 67.4 (*C*-1), 76.0 (*C*-4), 77.7 (*C*-3), 77.9 (d, $J_{C5-F} = 5$ Hz, *C*-5), 78.7 (d, $J_{C6-F} = 18.0$ Hz, *C*-6), 82.9 (d, $J_{C7-F} = 173.0$ Hz, *C*-7), 88.7 (*C*-10 or *C*-13), 88.9 (*C*-10 or *C*-13), 102.5 (*C*-9 or *C*-12), 103.1 (*C*-9 or *C*-12), 122.9 (*CH*-triazole), 123.5 (2*C*_{Ar}), 132.1 (2*C*_q_{Ar}), 134.3 (2*C*_{Ar}), 145.7 (*C*_q-triazole), 168.4 (2*C*=O). **^{19}F NMR** ($CDCl_3$, **235 MHz**): δ (ppm) = -231.0. **ESI-HRMS** [$M+H$]⁺ $m/z = 837.4808$ (calculated for $C_{45}H_{70}FN_4O_6Si_2$: 837.4812).

Compound 106

To a solution of **103** (30 mg, 0.023 mmol, 1.0 eq.) in THF (1 mL), 54 μ L of tetrabutylammonium fluoride (1M in THF, 0.054 mmol, 2.4 eq.) were added at 0°C

under inert atmosphere and the mixture was stirred at 0°C for 1h. The organic solvent was removed under reduced pressure and the residue was solubilized in CH₂Cl₂ (10 mL). The organic layer was washed with 0.01M HCl solution (2x5 mL) and with brine until pH=7. The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvent was c. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: DCM/MeOH 100/0 to 90/10) to afford the compound **106**.



Yield: 68% as a blue solid

C₅₁H₆₄FIN₆O₅

M.W.: 987.01 g/mol

R_f = 0.05 (DCM/MeOH: 95/5)

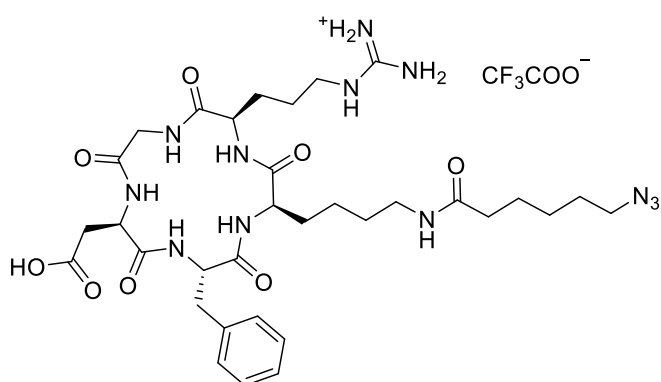
Mp: 136°C

IR (cm⁻¹): ν = 2970, 2912, 1647, 1477, 1448, 1367, 1331, 1217. **¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz):** δ (ppm) = 1.50-1.61 (m, 2H, *H*-20), 1.68 (s, 12H, 4 CH₃), 1.71-2.00 (m, 6H, *H*-2, *H*-19 and *H*-21), 2.15-2.21 (m, 2H, *H*-16), 2.48 (br t, 2H, *J*_{18,19} = 7.5 Hz, *H*-18), 2.48-2.52 (m, 2H, *H*-10 and *H*-13), 3.24-3.31 (m, 2H, *H*-17), 3.56 (s, 3H, *N*-CH₃), 3.57-3.63 (m, 2H, *H*-1), 3.96-4.08 (m, 1H, *H*-6), 4.12 (br t, 2H, *J*_{22,21} = 7.0 Hz, *H*-22), 4.15-4.20 (m, 3H, *H*-3, *H*-4 and *H*-5), 4.27 (d, 2H, *J* = 2.5 Hz, *H*-8 or *H*-11), 4.37 (d, 2H, *J* = 2.5 Hz, *H*-8 or *H*-11), 4.37-4.51 (m, 2H, *H*-7), 4.51-4.63 (m, 4H, *H*-14 and *H*-15), 6.22 (d, 1H, *J* = 13.5 Hz, *H*-25 or *H*-29), 6.60 (d, 1H, *H*-25 or *H*-29), 6.91 (app br t, 1H, *J*_{27,26} = *J*_{27,28} = 12.0 Hz, *H*-27), 7.07 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, *H*_{Ar}), 7.14 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, *H*_{Ar}), 7.19-7.26 (m, 2H, *H*_{Ar}), 7.32-7.41 (m, 4H, *H*_{Ar}), 7.77 (app t, 1H, *H*-26 or *H*-28), 7.81 (app t, 1H, *H*-26 or *H*-28), 8.22 (s, 1H, *H*-triazole), 9.00 (br s, 1H, *NH*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ (ppm) = 25.3 (*C*-19), 26.4 (*C*-20), 27.0 (*C*-21), 28.2 (2 CH₃), 28.3 (2 CH₃), 29.7 (*C*-2), 30.4 (*C*-16), 31.9 (*N*-CH₃), 35.8 (*C*-18), 36.2 (*C*-17), 44.9 (*C*-22), 48.4 (*C*-15), 58.4 (*C*-8 or *C*-11), 58.5 (*C*-8 or *C*-11), 64.1 (*C*-14), 67.2 (*C*-1), 75.1 (*C*-10 or *C*-13), 75.5 (*C*-10 or *C*-13), 76.4 (*C*-4), 77.9 (*C*-3), 78.0 (d, *J*_{C6-F} = 18.5 Hz, *C*-6), 79.2 (d, *J*_{C5-F} = 5 Hz, *C*-5), 79.3 (*C*-9 or *C*-12), 79.9 (*C*-9 or *C*-12), 82.7 (d, *J*_{C7-F} = 172.0 Hz, *C*-7), 103.8 (*C*-25 or *C*-29), 105.4 (*C*-25 or *C*-29), 110.2 (*C*_{Ar}), 111.2 (*C*_{Ar}), 122.1 (*C*_{Ar}), 122.1 (*C*_{Ar}), 124.9 (*CH*-triazole), 125.0 (*C*_{Ar}), 125.6 (*C*_{Ar}), 126.4 (*C*-27), 128.7 (*C*_{Ar}), 129.0 (*C*_{Ar}), 140.6 (*C*_{qAr}), 141.1 (*C*_{qAr}), 141.8 (*C*_{qAr}), 142.8 (*C*_{qAr}), 144.1 (*C*_q-triazole), 152.3 (*C*-26 or *C*-28), 153.5 (*C*-26 or *C*-28), 172.3 (*C*-30 or *C*-24), 174.7

(C-30 or C-24). ^{19}F NMR (CDCl_3 , 235 MHz): δ (ppm) = -231.1. ESI-HRMS $[\text{M}+\text{H}]^{2+}$ $m/z = 430.2592$ (calculated for $\text{C}_{51}\text{H}_{64}\text{FN}_6\text{O}_5$: 430.2495).

Compound 107^[389]

To a solution of c(RGDfK) (10.0 mg, 14.0 μmol , 1.0 eq.) in DMF (1mL), 7.1 mg of 6-azidohexanoic acid (28.0 μmol , 2.0 eq.) and 5 μL of Et_3N (35.0 μmol , 2.5 eq.) were added and the mixture was stirred at 30°C for 16h. The organic solvent was evaporated under *vacuum* and the solid residue was washed with diethyl ether. The obtained solid was dried under *vacuum* to afford the compound **107**.



Yield: 75% as white powder

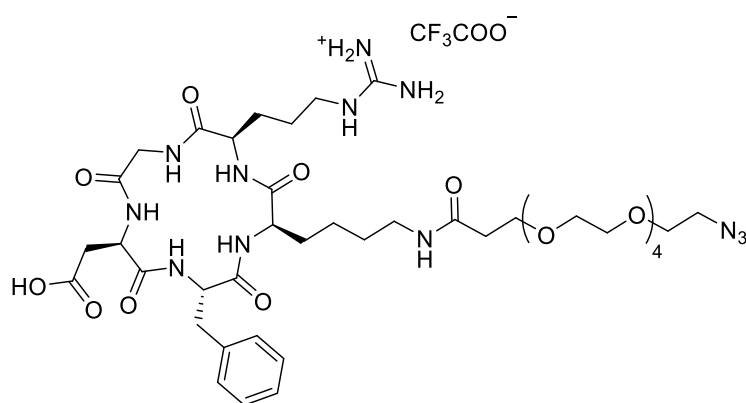
$\text{C}_{35}\text{H}_{51}\text{F}_3\text{N}_{12}\text{O}_{10}$

M.W.: 856.86 g/mol

HRMS $[\text{M}]^+$ $m/z = 743.3976$ (calculated for $\text{C}_{33}\text{H}_{51}\text{N}_{12}\text{O}_8$: 743.3947).

Compound 108

Prepared from azido-PEG₄-NHS and c(RGDfK) following procedure described for **107**.



Yield: 72% as white solid

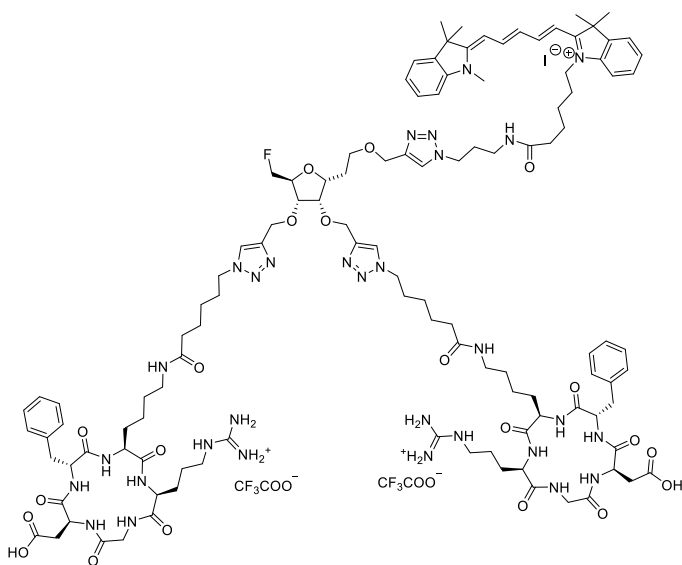
$\text{C}_{51}\text{H}_{64}\text{FIN}_6\text{O}_5$

M.W.: 987.01 g/mol

HRMS $[\text{M}]^+$ $m/z = 877.4440$ (calculated for $\text{C}_{38}\text{H}_{61}\text{N}_{12}\text{O}_{12}$: 877.4526).

Compound 109

To a solution of **106** (3 mg, 3.04 μmol , 1.0 eq.) in a mixture of water/ACN (3/2.5) (550 μL), 7.8 mg of **107** (9.12 μmol , 3.0 eq.), 9 μL of copper (II) sulphate (1M in water, 9.12 μmol , 3.0 eq.) and 23 μL of sodium ascorbate (1M in water, 22.80 μmol , 7.5 eq.) were added and the mixture was stirred at 40°C for 24h. Chelex® 100 resin (100 mg) was then added to the solution and the suspension was stirred for 10 min. The resin was filtered off and the resulting solution dried under *vacuum*. The crude product was purified on Sephadex LH20 in water/ACN (7/3) to afford the compound **109**.



Yield: 42% as a blue solid

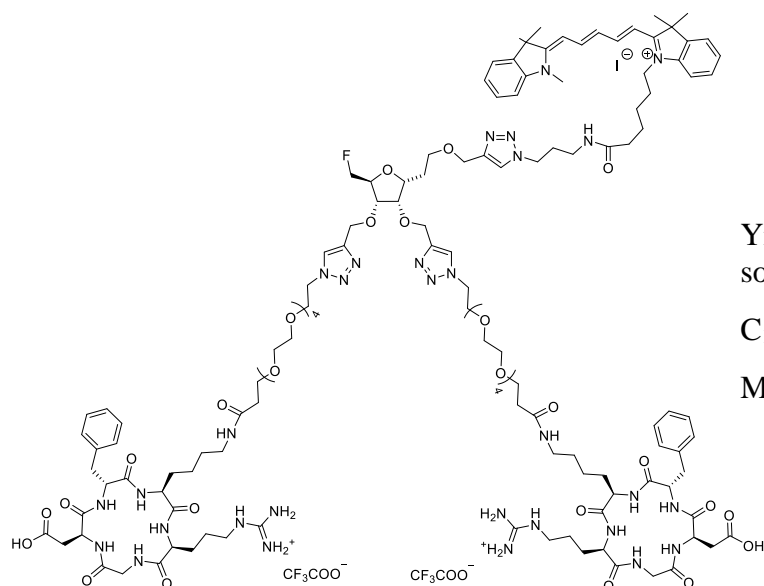
$\text{C}_{121}\text{H}_{166}\text{F}_7\text{IN}_{30}\text{O}_{25}$

M.W.: 2700.73 g/mol

HRMS $[\text{M}+\text{H}]^{4+}$ $m/z = 586.8218$ (calculated for $\text{C}_{117}\text{H}_{167}\text{FN}_{30}\text{O}_{21}$: 586.8221)

Compound 110

Prepared from **106** and **108** following procedure described for **110**.



Yield: 62% as a blue solid

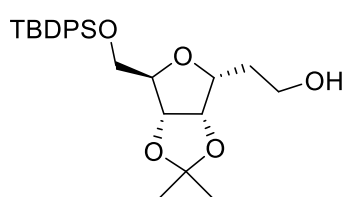
$C_{131}H_{186}F_7IN_{30}O_{33}$

M.W.: 2960.00 g/mol

HRMS $[M+H]^{4+}$ $m/z = 653.8506$ (calculated for $C_{127}H_{187}FN_{30}O_{29}$: 653.8511)

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-(tert-butyldiphenylsilyl)-D-ribo-1-hydroxyl-heptane (111)

Prepared from **12** following procedure described for **81**.



Yield: 76% as yellowish oil

$C_{26}H_{36}O_5Si$

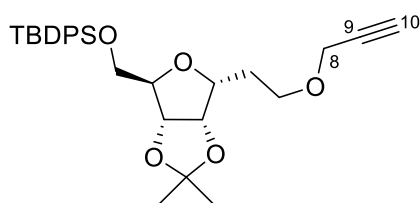
M.W.: 456.65 g/mol

$R_f = 0.18$ (Cycl/EtOAc: 8/2)

1H NMR ($CDCl_3$, **400 MHz**): δ (ppm) = 1.05 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 1.36 (s, 3H, CH_3), 1.51 (s, 3H, CH_3), 1.84-1.93 (m, 1H, *H-2a*), 1.98-2.06 (m, 1H, *H-2b*), 3.70 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 11.0$ Hz, $J_{7a,6} = 4.0$ Hz, *H-7a*), 3.76 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 4.0$ Hz, *H-7b*), 3.76-3.85 (m, 2H, *H-1*), 4.13 (app br t, 1H, $J_{6,5} = J_{6,7} = 4.0$ Hz, *H-6*), 4.28 (td, 1H, $J_{3,2} = 7.5$ Hz, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, *H-3*), 4.70 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H-4*), 4.86 (dd, 1H, *H-5*), 7.29-7.39 (m, 6H, H_{Ar}), 7.55-7.72 (m, 4H, H_{Ar}). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 479.2236$ (calculated for $C_{26}H_{36}NaO_5Si$: 479.2224).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-(tert-butyldiphenylsilyl)-D-ribo-(prop-2-yne-1-yloxy)heptane (112)

To a suspension of NaH 60% in mineral oil (27 mg, 0.66 mmol, 1.2 eq.) in dry THF (1 mL), a solution of 250 mg of **111** (0.55 mmol, 1.0 eq.) in dry THF (2 mL) was added at 0°C under inert atmosphere. After 10 min, 183 μ L of propargyl bromide 80% in toluene (1.64 mmol, 3.0 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 6h. The reaction was quenched by addition of an aqueous saturated solution of NH₄Cl. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in water. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3x50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 60/40) to afford the compound **112**.



Yield: 51% as colorless oil

C₂₂H₃₈O₅Si

M.W.: 494.70 g/mol

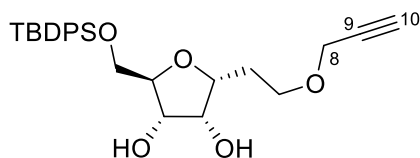
R_f = 0.77 (Cycl/EtOAc: 8/2)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 1.05 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 1.35 (s, 3H, *CH*₃), 1.49 (s, 3H, *CH*₃), 1.98 (app q, 2H, *J*_{2,3} = *J*_{2,1} = 6.5 Hz, *H-2*), 2.38 (t, 1H, *J*_{10,8} = 2.5 Hz, *H-10*), 3.63-3.70 (m, 2H, *H-1*), 3.67 (dd, 2H, *J*_{7a,7b} = 11.0 Hz, *J*_{7a,6} = 4.0 Hz, *H-7a*), 3.74 (dd, 2H, *J*_{7b,6} = 4.0 Hz, *H-7b*), 4.09 (app br t, 1H, *J*_{6,5} = *J*_{6,7} = 4.0 Hz, *H-6*), 4.13 (d, 2H, *H-8*), 4.27 (td, 1H, *J*_{3,2} = 7.5 Hz, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, *H-3*), 4.67 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H-4*), 4.85 (br dd, 1H, *H-5*), 7.37-7.45 (m, 6H, *H*_{Ar}), 7.62-7.69 (m, 4H, *H*_{Ar}). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 517.2482 (calculated for C₂₉H₃₈NaO₅Si: 517.2381).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-hydroxy-7-O-(tert-butyldiphenylsilyl)-D-ribo-(prop-2-yne-1-yloxy)heptane (113)

A solution of **112** (70 mg, 0.14 mmol, 1.0 eq.) in AcOH 80% in water (1.5 mL) was stirred at 80°C for 2h30. The mixture was cooled at 0°C and the reaction wash quenched by addition water (5 mL) and solid NaHCO₃ until pH=7. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3x10 mL), the combined organic layers were dried over MgSO₄ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash

chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 60/40) to afford the compound **113**.



Yield: 45% as colorless oil

$C_{26}H_{34}O_5Si$

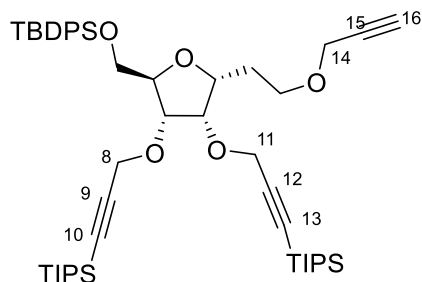
M.W.: 454.64 g/mol

$R_f = 0.13$ (Cycl/EtOAc: 8/2)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 1.06 (s, 9H, *Si-tert-butyl*), 1.94-2.02 (m, 2H, *H-2a*), 2.04-2.15 (m, 2H, *H-2b*), 2.44 (t, 1H, $J_{10,8} = 2.5$ Hz, *H-10*), 3.56 (td, 1H, $J_{1a,1b} = 9.5$ Hz, $J_{1a,2} = 3.5$, *H-1a*), 3.68-3.77 (m, 1H, *H-1b*), 3.81 (ddd, 1H, $J_{7a,7b} = 12.0$ Hz, $J_{7a,6} = 4.5$ Hz, *H-7a*), 3.84-3.90 (m, 1H, *H-6*) 3.88 (dd, 1H, $J_{7b,6} = 3.5$ Hz, *H-7b*). 4.09-4.14 (m, 1H, *H-4*), 4.14-4.28 (m, 1H, *H-3*), 4.16 (app t, 2H, *H-8*), 4.42 (dd, 1H, $J_{5,4} = 7.0$ Hz, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, *H-5*), 7.36-7.44 (m, 6H, H_{Ar}), 7.66-7.73 (m, 4H, H_{Ar}). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 477.2088$ (calculated for $C_{26}H_{34}NaO_5Si$: 477.2068).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(3-(triisopropylsilyl)prop-2-yn-1-yloxy)-7-O-(tert-butylidiphenylsilyl)-D-ribo-(prop-2-yn-1-yloxy)heptane (114)

To a suspension of NaH 60% in mineral oil (12 mg, 0.29 mmol, 2.2 eq.) in dry THF (1 mL), a solution of 60 mg of **113** (0.13 mmol, 1.0 eq.) in dry THF (1 mL) was added at 0°C under inert atmosphere. After 10 min, 218 mg of 3-bromo-1-(triisopropylsilyl)-1-propyne (0.79 mmol, 6.0 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for 3h. The reaction was quenched by addition of an aqueous saturated solution of NH_4Cl . The organic solvent was removed under reduced pressure. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3x50 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: cyclohexane/EtOAc 100/0 to 50/50) to afford the compound **114**.



Yield: 26% as colorless oil

 $C_{50}H_{78}O_5Si_3$

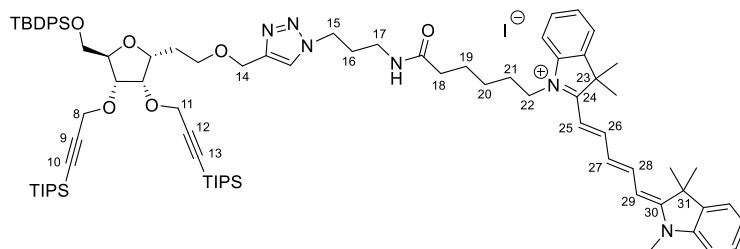
M.W.: 843.42 g/mol

 $R_f = 0.59$ (Cycl/EtOAc: 8/2) $[\alpha]_D = +24.2$ (c = 0.10, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 1.05-1.08 (m, 57H, *Si-tert-butyl*, *Si-(CH(CH₃)₂)₃* and *Si-(CH-(CH₃)₂)₃*), 1.97 (q, 2H, $J_{2,1} = 6.5$ Hz, *H-2*), 2.37 (t, 1H, $J_{16,14} = 2.5$ Hz, *H-16*), 3.59-3.74 (m, 2H, *H-1* and *H-7a*), 3.78 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 11.5$ Hz, $J_{7b,6} = 4.0$ Hz, *H-7b*), 3.98-4.08 (m, 1H, *H-6*), 4.11 (app t, 2H, *H-14*), 4.16-4.21 (m, 1H, *H-3*), 4.28 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $J_{4,3} = 4.5$ Hz, *H-4*), 4.32 (dd, 1H, $J_{5,4} = 6.0$ Hz, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, *H-5*), 4.45 (dd, 2H, $J = 16.5$ Hz, $J = 7.0$ Hz, *H-8* or *H-11*), 4.45 (dd, 2H, $J = 16.5$ Hz, $J = 9.0$ Hz, *H-8* or *H-11*), 7.36-7.44 (m, 6H, H_{Ar}), 7.66-7.73 (m, 4H, H_{Ar}). **ESI-HRMS** $[M+H]^+$ $m/z = 843.5243$ (calculated for $C_{50}H_{79}O_5Si_3$: 843.5235).

Compound 115

Prepared from **114** and **102** following procedure described for **103**.



Yield: 38% as a blue solid

 $C_{85}H_{123}IN_6O_6Si_3$

M.W.: 1536.11 g/mol

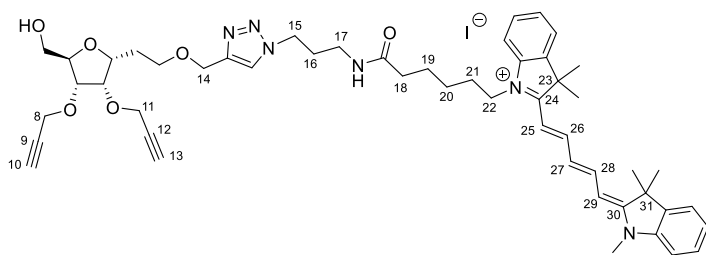
 $R_f = 0.43$ (DCM/MeOH: 95/5)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 1.00-1.08 (m, 57H, *Si-tert-butyl*, *Si-(CH(CH₃)₂)₃* and *Si-(CH-(CH₃)₂)₃*), 1.50-1.60 (m, 2H, *H-20*), 1.66 (br s, 12H, 4 CH_3), 1.71-1.99 (m, 6H, *H-2*, *H-19* and *H-21*), 2.14 (app qt, 2H, $J_{16,15} = J_{16,17} = 6.5$ Hz, *H-16*), 2.42 (br t, 2H, $J_{18,19} = 7.0$ Hz, *H-18*), 3.29 (app br q, 2H, $J_{17,16} = J_{17,NH} = 7.0$ Hz, *H-17*), 3.56 (s, 3H, *N-CH₃*), 3.58-3.70 (m, 4H, *H-1* and *H-7*), 3.73 (app t, 1H, $J_{6,5} = J_{6,7} = 6.0$ Hz, *H-6*), 4.01-4.12 (m, 1H, *H-6*), 4.10 (br t, 2H, $J_{22,21} = 7.0$ Hz, *H-22*), 4.13-4.19 (m, 1H, *H-3*), 4.24-4.33 (m, 2H, *H-4*, *H-5*), 4.33 (br s, 2H, *H-8* or *H-11*), 4.43 (s, 2H, *H-8* or *H-11*), 4.52-4.60 (m, 4H, *H-14* and *H-15*), 6.28 (d, 1H, $J = 14.0$ Hz, *H-25* or *H-29*), 6.58 (d, 1H, *H-25* or *H-29*), 6.92 (app br t, 1H, $J_{27,26} = J_{27,28} = 13.0$ Hz, *H-27*), 7.05 (d, 1H, J

= 7.5 Hz, H_{Ar}), 7.12 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_{Ar}), 7.16-7.26 (m, 2H, H_{Ar}), 7.28-7.43 (m, 10H, H_{Ar}), 7.62-7.70 (m, 4H, H_{Ar}), 7.77 (app t, 1H, $H-26$ or $H-28$), 7.79 (app t, 1H, $H-26$ or $H-28$), 7.90 (br s, 1H, H -triazole), 8.57 (br s, 1H, NH). **ESI-HRMS** $[M+H]^{2+}$ $m/z = 704.9436$ (calculated for $C_{85}H_{125}N_6O_6Si_3$: 704.9470).

Compound 116

Prepared from **115** following procedure described for **106**.



Yield: 26% as a blue solid

$C_{51}H_{65}IN_6O_6$

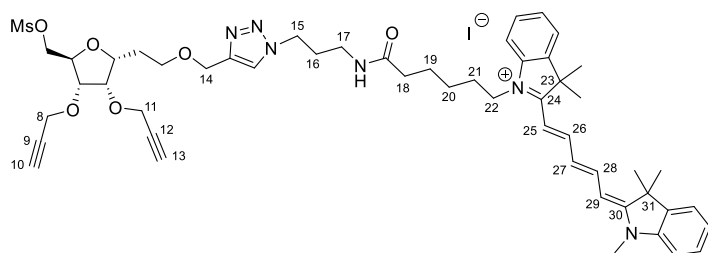
M.W.: 985.02 g/mol

$R_f = 0.15$ (DCM/MeOH: 9/1)

1H NMR ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) = 1.52-1.63 (m, 2H, $H-20$), 1.69 (s, 12H, 4 CH_3), 1.71-1.96 (m, 6H, $H-2$, $H-19$ and $H-21$), 2.15-2.23 (m, 2H, $H-16$), 2.42-2.48 (m, 2H, $H-10$ and $H-13$), 2.53 (br t, 2H, $J_{18,19} = 7.5$ Hz, $H-18$), 3.29 (br s, 2H, $H-17$), 3.57 (s, 3H, $N-CH_3$), 3.58-3.71 (m, 3H, $H-1$ and $H-7a$), 3.81 (ddd, 1H, $J_{6,5} = 12.0$ Hz, $J_{6,5} = 3.0$ Hz, $H-7b$), 3.93-4.08 (m, 3H, $H-6$ and $H-22$), 4.10-4.20 (m, 3H, $H-3$, $H-4$ and $H-5$), 4.27 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz, $H-8a$ or $H-11a$), 4.28 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz, $H-8a$ or $H-11a$), 4.29 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz, $H-8b$ or $H-11b$), 4.30 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz, $H-8b$ or $H-11b$), 4.56-4.65 (m, 4H, $H-14$ and $H-15$), 6.21 (d, 1H, $J = 13.5$ Hz, $H-25$ or $H-29$), 6.67 (br d, 1H, $H-25$ or $H-29$), 6.95 (app br t, 1H, $J_{27,26} = J_{27,28} = 12.0$ Hz, $H-27$), 7.07 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.15 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.19-7.26 (m, 2H, H_{Ar}), 7.32-7.42 (m, 4H, H_{Ar}), 7.74 (app t, 1H, $H-26$ or $H-28$), 7.78 (app t, 1H, $H-26$ or $H-28$), 8.39 (d, 1H, H -triazole), 9.20 (br s, 1H, NH). **ESI-HRMS** $[M+H]^{2+}$ $m/z = 429.2568$ (calculated for $C_{51}H_{66}IN_6O_6$: 429.2516).

Compound 117

To a solution of **116** (1.5 mg, 1.52 μ mol, 1.0 eq.) in CH_2Cl_2 (1 mL), 1.33 μ L of DIPEA (7.61 μ mol l, 5.0 eq.) and 1.06 mg of methanesulfonic anhydride (6.09 μ mol, 4.0 eq.) were added under inert atmosphere. The mixture was stirred for 16 hours at room temperature. The solution was evaporated under *vacuum*.



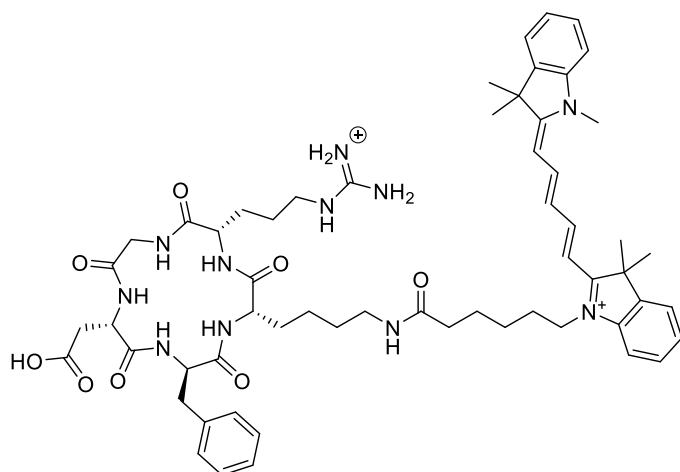
$C_{52}H_{67}IN_6O_8S$

M.W.: 985.02 g/mol

ESI-HRMS $[M+H]^{2+}$ $m/z = 468.2452$ (calculated for $C_{52}H_{68}IN_6O_8S$: 468.2404).

Compound 118

To a solution of c(RGDfK) (9 mg, 12.5 μ mol, 1.0 eq.) in DMF (1mL), 8.8 mg of commercial NHS cyanine 5 (12.5 μ mol, 2.0 eq.) and 5 μ L of Et_3N (50.0 μ mol, 4.0 eq.) were added and the mixture was stirred at 50°C for 16h. The organic solvent was evaporated under *vacuum* and the crude product was purified by semi preparative HPLC on C18 reversed-phase silica gel: solvent A: 0.1% TFA water; solvent B: ACN; 0 to 2 min: 5% to 20% B, 2 to 5 min, 20% to 30% B, 5 to 20 min, 30% to 100%, 20 to 22 min, 100% to 5% B. Flow rate: 10 mL/min. The resulting solution was freeze-dried to afford the compound **118**.



Yield: 59% as a blue solid

$C_{61}H_{79}F_3IN_{11}O_{10}$

M.W.: 1310.27 g/mol

$R_f = 0.03$ (DCM/MeOH: 8/2)

$T_R = 22.0$ min

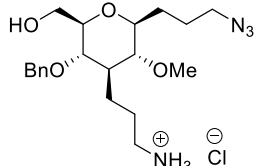
1H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) = 0.79-0.93 (m, 2H, H-19), 1.17-1.55 (m, 9H, H-20, H-25, H-3, H-18 and H-4a), 1.61 (s, 12H, 4 CH_3), 1.62-1.72 (m, 2H, H-24), 1.78-1.93 (m, 3H, H4b, H-26), 2.25 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, H-23), 2.64-2.72 (m, 1H, H-10a), 2.75-2.89 (m, 2H, H-10b and H-14a), 2.93-3.06 (m, 3H, H-14b and H-2), 3.09-3.20 (m, 2H, H-21), 3.51 (d, 1H, $J = 14.5$ Hz, H7a), 3.59 (s, 3H, $N-CH_3$), 3.74-3.84 (m, 1H, H-16), 4.10 (bt, 2H, $J = 7.5$ Hz, H-27), 4.20 (bt, 1H, H-7b), 4.31-4.71 (m, 3H, H-5, H-9 and H-13), 6.13-

6.21 (m, 2H, H-30 and H-34), 6.44 (app br t, 1H, $J = 12$ Hz, H-32), 7.16-7.33 (m, 8H, H_{Ar}), 7.37-7.46 (m, 3H), 7.48-7.55 (m, 2H, H_{Ar}), 7.89-8.00 (m, 2H, H-31 and H-33). **ESI-HRMS** $[M]^{2+}$ $m/z = 534.8034$ (calculated for $C_{59}H_{79}N_{11}O_8$: 534.8051).

II.3. Activation and radio fluorination of a pyranose type C-glycosyl dual probe

4,8-anhydro-1-azido-7-O-benzyl-1,2,3-trideoxy-6-O-[3-amino-propyl]-5-O-methyl-D-glycero-D-gulo-nonitol (**128**)

To a solution of **123** (230 mg, 0.43 mmol) in dry methanol (7 mL), 105 μ L of hydrazine monohydrate (2.17 mmol, 5 eq) were added dropwise room temperature under inert atmosphere. The mixture was stirred at 40°C for 8h, then the solution was evaporated under vacuum. The crude product was solubilized in methanol and evaporated under vacuum the process was repeated twice. Then the crude product was solubilized in dichloromethane, the organic layer was washed with an aqueous solution of HCl 1N (pH = 3) two times to form an ammonium salt. The combined aqueous layers, after extraction with dichloromethane, were freeze-dried. The compound **128** was obtained without further purification.



Yield: 70% as a white gum

$C_{20}H_{33}ClN_4O_5$

M.W.: 444.96 g/mol

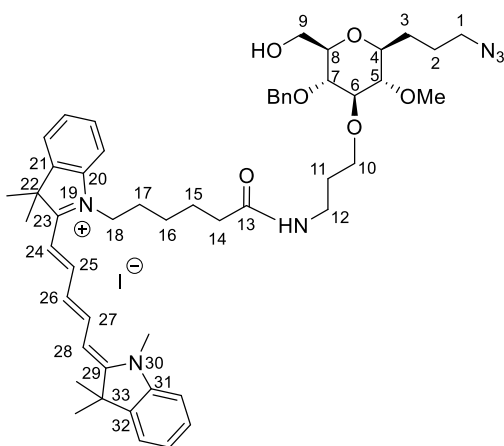
$R_f = 0.24$ (DCM/MeOH: 85/15)

ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 409.2487$ (calculated for $C_{20}H_{33}N_4O_5$: 409.2445).

Compound 129

To a solution of commercial cyanine 5 (50 mg, 0.082 mmol, 1.0 eq.) in DMF (2 mL), 35 μ L of Et_3N (0.25 mmol, 3.0 eq.) and 11.7 μ L of isobutyl chloroformate (0.09 mmol, 1.1 eq.) were added at 0°C under inert atmosphere. The solution was stirred for 1h at 0°C, then 84 mg of **128** (0.12 mmol, 1 eq) in DMF (1 mL) were added. The mixture was stirred for 16 hours at room temperature. The solution was evaporated under *vacuum*. The crude product was diluted in CH_2Cl_2 (20 mL) and washed with HCl 1N (2x10 mL) and brine (2x10mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$ and the solvent was

removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: DCM/MeOH 100/0 to 90/10) to afford the compound **129**.



Yield: 60% as a blue gum

$C_{52}H_{69}IN_6O_6$

M.W.: 1001.06 g/mol

$R_f = 0.47$ (DCM/MeOH: 90/10)

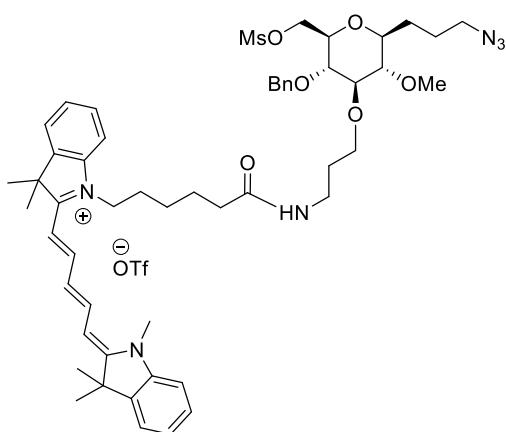
IR (cm^{-1}): $\nu = 3002, 2920, 2891, 2842, 2601, 2368, 1832, 1773, 1685, 1454, 1441, 1361, 1322, 1272$. **1H NMR** ($CDCl_3$, **400 MHz**): δ (ppm) = 1.42-1.59 (m, 3H, *H*-16 and *H*-3a), 1.60-1.69 (m, 1H, *H*-2a), 1.69 (s, 6H, 2 CH_3), 1.69 (s, 6H, 2 CH_3), 1.71-1.76 (m, 2H, *H*-15), 1.76-1.86 (m, 4H, *H*-17, *H*-2b and *H*-3b), 1.90 (app qt, 2H, $J_{11,12} = J_{11,10} = 6.5$ Hz, *H*-11), 2.29 (t, 2H, $J_{14,15} = 7.0$ Hz, *H*-14), 2.83 (app t, 1H, $J_{5,6} = J_{5,4} = 9.0$ Hz, *H*-5), 3.12 (app td, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3a} = 9.0$ Hz, $J_{4,3b} = 1.5$ Hz, *H*-4), 3.19-3.24 (m, 1H, *H*-8), 3.28 (t, 2H, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, *H*-1), 3.33-3.43 (m, 2H, *H*-12 and *H*-6), 3.40 (app t, 1H, $J_{7,6} = J_{7,8} = 9.0$ Hz, *H*-7), 3.54 (s, 3H, CH_3), 3.60 (s, 3H, *N*- CH_3), 3.61-3.65 (m, 1H, *H*-9a), 3.78 (dd, 1H, $J_{9a,9b} = 12.0$ Hz, $J_{9a,8} = 2.0$ Hz, *H*-9b), 3.86 (bt, 2H, *H*-10), 4.07 (bt, 2H, $J_{18,17} = 7.5$ Hz, *H*-18), 4.63 (d, 1H, $J_{CH_2} = 11.0$ Hz, CH_2Ph), 4.82 (d, 1H, CH_2Ph), 6.34 (bd, 1H, $J = 13.5$ Hz, *H*-24 or *H*-28), 6.54 (bd, 1H, $J = 13.5$ Hz, *H*-24 or *H*-28), 6.84 (app bt, 1H, $J_{26,25} = J_{26,27} = 12.5$ Hz, *H*-26), 7.06 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_{Ar}), 7.10 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_{Ar}), 7.18-7.25 (m, 3H, H_{Ar}), 7.29-7.41 (m, 8H, H_{Ar}), 7.89 (app t, 1H, *H*-27 or *H*-25), 7.91 (app t, 1H, *H*-27 or *H*-25). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, **100.6 MHz**): $\delta = 25.3$ (*C*-2 and *C*-15), 26.6 (*C*-16), 27.2 (*C*-17), 28.2 (4 CH_3), 29.0 (*C*-3), 30.5 (*C*-11), 31.6 (*N*- CH_3), 36.4 (*C*-14), 37.4 (*C*-12), 44.7 (*C*-18), 49.1 (*C*-22 or *C*-33), 49.4 (*C*-22 or *C*-33), 51.6 (*C*-1), 61.1 (CH_3), 62.3 (*C*-9), 71.7 (*C*-10), 74.9 (CH_2Ph), 78.1 (*C*-7), 78.7 (*C*-4), 79.0 (*C*-8), 84.4 (*C*-5), 86.9 (*C*-6), 104.0 (*C*-28 or *C*-24), 104.9 (*C*-28 or *C*-24), 110.3 (C_{Ar}), 111.0 (C_{Ar}), 122.2 (C_{Ar}), 122.3 (C_{Ar}), 125.0 (C_{Ar}), 125.5 (C_{Ar}), 127.1 (*C*-26), 128.0 (C_{Ar}), 128.3 (2 C_{Ar}), 128.6 (2 C_{Ar}), 128.8 (C_{Ar}), 128.9 (C_{Ar}), 138.3 (C_{qAr}), 140.8 (C_{qAr}), 141.3 (C_{qAr}), 142.1 (C_{qAr}), 143.0 (C_{qAr}), 152.9 (*C*-27 or *C*-25), 153.8 (*C*-27 or *C*-25),

172.7 (C-23 or C-29), 173.1 (C-23 or C-29), 173.6 (C-13). **ESI-HRMS** $[M]^+$ $m/z = 873.5302$ (calculated for $C_{52}H_{69}N_6O_6$: 873.5273).

Compound 133

A solution of **129** (20 mg, 0.082 mmol, 1.0 eq.) in ACN (600 μ L) was diluted in water (60 mL). The obtained solution was passed through a series of 7 OASIS MCX cartridges to trap the compound. The cartridges were washed with 100 mL of water (until pH=7). The product was eluted with a mixture of NaOTf (0.2 M)/ACN (1/9) (100 mL) and the solvent was evaporated under *vacuum*. The crude product was solubilized in CH_2Cl_2 (10 mL), washed with water (2x5 mL), dried over $MgSO_4$ and the solvent was removed under *vacuum*. The compound **130** was obtained quantitatively without further purification.

To a solution of **130** (22 mg, 0.021 mmol, 1.0 eq.) in CH_2Cl_2 (2 mL), 20 μ L of DIPEA (0.107 mmol, 5.0 eq.) and 15 mg of methanesulfonic anhydride (0.087 mmol, 4.0 eq.) were added under inert atmosphere. The mixture was stirred for 16 hours at 30°C. The solution was evaporated under *vacuum*. The solution was diluted in CH_2Cl_2 (20 mL) and the organic layer was washed with NH_4Cl (2x10 mL) and brine until pH=7. The organic layer was dried over $MgSO_4$ and the solvent was removed under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (eluent: DCM/MeOH 100/0 to 9/1) to afford the compound **133**.



Yield: 49% as a blue solid

$C_{54}H_{71}F_3N_6O_{11}S_2$

M.W.: 1100.46 g/mol

$R_f = 0.38$ (DCM/MeOH: 90/10)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 1.43-1.54 (m, 3H, *H*-16 and *H*-3a), 1.55-1.66 (m, 1H, *H*-2a), 1.70 (s, 6H, 2 CH_3), 1.70 (s, 6H, 2 CH_3), 1.76-1.90 (m, 6H, *H*-15, *H*-17, *H*-2b and *H*-3b), 1.93-2.02 (m, 2H, *H*-11), 2.33-2.45 (m, 2H, *H*-14), 2.80-2.88 (m, 1H,

H-5), 2.99 (s, 3H, CH₃-Ms), 3.09-3.16 (m, 1H, *H*-4), 3.30 (t, 2H, *J*_{1,2} = 6.0 Hz, *H*-1), 3.33-3.45 (m, 5H, *H*-12, *H*-8, *H*-7 and *H*-6), 3.56 (s, 3H, CH₃), 3.59 (s, 3H, *N*-CH₃), 3.84-3.93 (m, 2H, *H*-10), 4.02-4.17 (m, 2H, *H*-18), 4.22 (bd, 1H, *J*_{9a,9b} = 11.0 Hz, *H*-9a), 4.36 (bd, 1H, *H*-9b), 4.60 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, CH₂Ph), 4.88 (d, 1H, CH₂Ph), 6.26-6.41 (m, 1H, *H*-24 or *H*-28), 6.68-6.79 (m, 1H, *m H*-24 or *H*-28), 7.01-7.12 (m, 1H, *H*-26), 7.05 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, *H*_{Ar}), 7.11 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, *H*_{Ar}), 7.17-7.27 (m, 3H, *H*_{Ar}), 7.30-7.41 (m, 8H, *H*_{Ar}), 7.86-7.97 (m 2H, *H*-27 and *H*-25). **¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz):** δ = 25.3 (*C*-2 or *C*-15), 25.4 (*C*-2 or *C*-15), 26.6 (*C*-16), 27.2 (*C*-17), 28.2 (2 CH₃), 28.3 (2 CH₃), 29.0 (*C*-3), 29.8.5 (*C*-11), 30.7 (*N*-CH₃), 36.1 (*C*-14), 37.4 (*C*-12), 37.8 (CH₃-Ms), 45.0 (*C*-18), 49.0 (*C*-22 or *C*-33), 49.5 (*C*-22 or *C*-33), 51.6 (*C*-1), 61.3 (CH₃), 69.1 (*C*-9), 71.8 (*C*-10), 75.2 (CH₂Ph), 76.7 (*C*-7), 77.4 (*C*-8), 79.0 (*C*-4), 84.2 (*C*-5), 86.9 (*C*-6), 104.1 (*C*-28 or *C*-24), 105.7 (*C*-28 or *C*-24), 110.2 (*C*_{Ar}), 111.2 (*C*_{Ar}), 122.2 (*C*_{Ar}), 122.3 (*C*_{Ar}), 124.9 (*C*_{Ar}), 125.6 (*C*_{Ar}), 127.3 (*C*-26), 128.1 (*C*_{Ar}), 128.4 (2 *C*_{Ar}), 128.8 (2 *C*_{Ar}), 128.8 (*C*_{Ar}), 129.0 (*C*_{Ar}), 137.9 (*C*_{qAr}), 140.8 (*C*_{qAr}), 141.4 (*C*_{qAr}), 142.1 (*C*_{qAr}), 143.0 (*C*_{qAr}), 154.0 (*C*-27 and *C*-25), 172.7 (*C*-23 or *C*-29), 173.1 (*C*-23 or *C*-29), 173.6 (*C*-13). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 951.5026 (calculated for C₅₃H₇₁F₃N₆O₈S: 951.5049).

Radiosynthesis of [¹⁸F]126

Preparation of K[¹⁸F]-K₂₂₂ complex

¹⁸F-fluoride (~ 5 GBq) in [¹⁸O]water was recovered in the AIO synthesizer *via* the plunger (SA2, P6, *vacuum* -200 mbar) and passed through a Sep-Pak® light QMA-carbonate cartridge (P5-P4), where [¹⁸F]fluoride was trapped and [¹⁸O]water was collected for recycling (P1). The QMA-carbonate cartridge was then flushed with nitrogen gas flow during 40 seconds (pressure 400 mbar; *vacuum* -300 mbar). The trapped ¹⁸F-fluoride was eluted from the QMA-carbonate cartridge into reaction vessel (reactor 1, P7) with the K₂₂₂/K₂CO₃ solution (vial B, P3, *vacuum* -350 mbar) previously pressurized (pressure 500 mbar). Solvent was removed under a stream of nitrogen gas flow (pressure 15 to 500 mbar; *vacuum* -850 mbar) at 110°C during 10 minutes to give the dried K[¹⁸F]F-K₂₂₂ complex. The reactor was then cooled at 75°C to perform the ¹⁸F-radiolabeling.

¹⁸F-radiolabeling of the labeling precursor 133

The mesylated precursor **133** (Vial C, P8) was pressurized (pressure 500 mbar) and was added into the reaction vessel (reactor 1, P7, *vacuum* -800 mbar) containing the dried K[¹⁸F]F-K₂₂₂ complex. Labeling was performed at 95°C for 5 min in a closed reactor thanks to pinch valves. After cooling at 30°C, the reaction mixture was recovered into syringe 4 and pushed into final product vial (P14).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. Adumeau, K. E. Carnazza, C. Brand, S. D. Carlin, T. Reiner, B. J. Agnew, J. S. Lewis, B. M. Zeglis, *Theranostics* **2016**, *6*, 2267–2277.
- [2] A. M. Wu, T. Olafsen, *Cancer J.* **2008**, *14*, 191–197.
- [3] E. A. te Velde, Th. Veerman, V. Subramaniam, Th. Ruers, *Eur. J. Surg. Oncol. EJSO* **2010**, *36*, 6–15.
- [4] S. H. Crayton, A. K. Chen, J. F. Liu, E. M. Higbee-Dempsey, C.-H. Huang, A. Tsourkas, Z. Cheng, in *Compr. Biomater. II*, Elsevier, **2017**, pp. 424–466.
- [5] E. A. Osborn, F. A. Jaffer, in *Pathobiol. Hum. Dis.*, Elsevier, **2014**, pp. 3943–3958.
- [6] E. Berg, S. R. Cherry, *Semin. Nucl. Med.* **2018**, *48*, 311–331.
- [7] I. Apostolova, F. Wedel, W. Brenner, in *Metab. Cancer* (Eds.: T. Cramer, C. A. Schmitt), Springer International Publishing, Cham, **2016**, pp. 177–205.
- [8] S. M. Ametamey, M. Honer, P. A. Schubiger, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1501–1516.
- [9] J. J. Vaquero, P. Kinahan, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2015**, *17*, 385–414.
- [10] W. W. Moses, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. Accel. Spectrometers Detect. Assoc. Equip.* **2011**, *648 Supplement 1*, S236–S240.
- [11] J. B. Lilleker, R. Hodgson, M. Roberts, K. Herholz, J. Howard, R. Hinz, H. Chinoy, *Ann. Rheum. Dis.* **2019**, *78*, 657–662.
- [12] M. Beheshti, A. Rezaee, H. Geinitz, W. Loidl, C. Pirich, W. Langsteger, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2016**, *57*, 55S–60S.
- [13] S. L. Pimlott, A. Sutherland, *Chem Soc Rev* **2011**, *40*, 149–162.
- [14] S. I. Ziegler, *Nucl. Phys. A* **2005**, *752*, 679–687.
- [15] M. Conti, L. Eriksson, *EJNMMI Phys.* **2016**, *3*, DOI 10.1186/s40658-016-0144-5.
- [16] “cyclotron | Description, History, & Facts,” can be found under <https://www.britannica.com/technology/cyclotron>, **2018**.
- [17] Y. Xia, C. Zeng, Y. Zhao, X. Zhang, Z. Li, Y. Chen, *EJNMMI Res.* **2020**, *10*, DOI 10.1186/s13550-020-00620-6.
- [18] F. Liu, H. Zhu, J. Yu, X. Han, Q. Xie, T. Liu, C. Xia, N. Li, Z. Yang, *Tumor Biol.* **2017**, *39*, 1010428317705519.
- [19] N. Brown, in *Bioisosteres Med. Chem.* (Ed.: N. Brown), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2012**, pp. 1–14.
- [20] M. L. Richards, P. J. H. Scott, in *Radiochem. Synth.* (Eds.: P.J.H. Scott, B.G. Hockley), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2012**, pp. 1–13.
- [21] P. Kováč, *Carbohydr. Res.* **1986**, *153*, 168–170.
- [22] K. Kopka, S. Wagner, M. Schäfers, A. Faust, O. Schober, G. Haufe, in *Fluor. Health*, Elsevier, **2008**, pp. 85–139.
- [23] E. Miele, G. P. Spinelli, F. Tomao, A. Zullo, F. De Marinis, G. Pasciuti, L. Rossi, F. Zoratto, S. Tomao, *J. Exp. Clin. Cancer Res. CR* **2008**, *27*, 52.
- [24] S. Yu, *Biomed. Imaging Interv. J.* **2006**, *2*, DOI 10.2349/bij.2.4.e57.
- [25] C. Taguchi, M. Inazu, I. Saiki, M. Yara, N. Hara, T. Yamanaka, H. Uchino, *Biochem. Pharmacol.* **2014**, *88*, 303–312.
- [26] T. Hara, N. Kosaka, H. Kishi, **n.d.**, 6.
- [27] T. Harã, N. Kosaka, N. Shinoura, T. Kondo, **n.d.**, 6.
- [28] H. H. Coenen, in *PET Chem.* (Eds.: P.A. Schubiger, L. Lehmann, M. Friebe), Springer Berlin Heidelberg, **2007**, pp. 15–50.
- [29] J. C. Meleán, J. Ermert, H. H. Coenen, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2015**, *58*, 133–140.
- [30] O. Jacobson, D. O. Kiesewetter, X. Chen, *Bioconjug. Chem.* **2015**, *26*, 1–18.
- [31] B. Kuhnast, F. Dolle, *Curr. Radiopharm.* **2010**, *3*, 174–201.
- [32] V. V. Orlovskaya, O. S. Fedorova, R. N. Krasikova, *Russ. Chem. Bull.* **2015**, *64*, 1518–1535.
- [33] R. Szpera, D. F. J. Moseley, L. B. Smith, A. J. Sterling, V. Gouverneur, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 14824–14848.

- [34] F. Dolle, S. Demphel, F. Hinnen, D. Fournier, F. Vaufrey, C. Crouzel, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1998**, *41*, 105–114.
- [35] M. Namavari, A. Bishop, N. Satyamurthy, G. Bida, J. R. Barrio, *Int. J. Rad. Appl. Instrum. [A]* **1992**, *43*, 989–996.
- [36] F. Dollé, D. Roeda, B. Kuhnast, M. Lasne, in *Fluor. Health*, Elsevier, **2008**, pp. 3–65.
- [37] S. Jana, M. H. Al-huniti, B. Y. Yang, S. Lu, V. W. Pike, S. D. Lepore, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 2329–2335.
- [38] L. Yang, D. Rieves, C. Ganley, *N. Engl. J. Med.* **2012**, *367*, 885–887.
- [39] K.-J. Lin, W.-C. Hsu, I.-T. Hsiao, S.-P. Wey, L.-W. Jin, D. Skovronsky, Y.-Y. Wai, H.-P. Chang, C.-W. Lo, C. H. Yao, T.-C. Yen, M.-P. Kung, *Nucl. Med. Biol.* **2010**, *37*, 497–508.
- [40] D. F. Wong, P. B. Rosenberg, Y. Zhou, A. Kumar, V. Raymont, H. T. Ravert, R. F. Dannals, A. Nandi, J. R. Bras̃ic, W. Ye, J. Hilton, C. Lyketsos, H. F. Kung, A. D. Joshi, D. M. Skovronsky, M. J. Pontecorvo, *n.d.*, *8*.
- [41] S. R. Choi, G. Golding, Z. Zhuang, W. Zhang, N. Lim, F. Hefti, T. E. Benedum, M. R. Kilbourn, D. Skovronsky, H. F. Kung, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2009**, *50*, 1887–1894.
- [42] W. Wadsak, B. Wirl-Sagadin, M. Mitterhauser, L.-K. Mien, D. E. Ettliger, B. K. Keppler, R. Dudczak, K. Kletter, *Appl. Radiat. Isot.* **2006**, *64*, 355–359.
- [43] C. Perrio, S. Schmitt, D. Pla, F. P. Gabbaï, K. Chansaenpak, B. Mestre-Voegtle, E. Gras, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 340–343.
- [44] J. Becaud, L. Mu, M. Karamkam, P. A. Schubiger, S. M. Ametamey, K. Graham, T. Stellfeld, L. Lehmann, S. Borkowski, D. Berndorff, L. Dinkelborg, A. Srinivasan, R. Smits, B. Kokschi, *Bioconjug. Chem.* **2009**, *20*, 2254–2261.
- [45] S. V. Selivanova, L. Mu, J. Ungersboeck, T. Stellfeld, S. M. Ametamey, R. Schibli, W. Wadsak, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 3871.
- [46] A. Maisonia-Besset, A. Serre, A. Ouadi, S. Schmitt, D. Canitrot, F. Léal, E. Miot-Noirault, D. Brasse, P. Marchand, J.-M. Chezal, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018*, 7058–7065.
- [47] C. Varlow, E. Murrell, J. P. Holland, A. Kassenbrock, W. Shannon, S. H. Liang, N. Vasdev, N. A. Stephenson, *Molecules* **2020**, *25*, DOI 10.3390/molecules25040982.
- [48] A. Yamaguchi, H. Hanaoka, T. Higuchi, Y. Tsushima, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2020**, *63*, 368–375.
- [49] O. Morris, M. Fairclough, J. Grigg, C. Prenant, A. McMahon, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2019**, *62*, 4–23.
- [50] J. Marik, J. L. Sutcliffe, *Appl. Radiat. Isot.* **2007**, *65*, 199–203.
- [51] B. Kuhnast, B. de Bruin, F. Hinnen, B. Tavitian, F. Dollé, *Bioconjug. Chem.* **2004**, *15*, 617–627.
- [52] D. J. Donnelly, R. A. Smith, P. Morin, D. Lipovšek, J. Gokemeijer, D. Cohen, V. Lafont, T. Tran, E. L. Cole, M. Wright, J. Kim, A. Pena, D. Kukral, D. D. Dischino, P. Chow, J. Gan, O. Adlakun, X.-T. Wang, K. Cao, D. Leung, S. J. Bonacorsi, W. Hayes, *J. Nucl. Med.* **2018**, *59*, 529–535.
- [53] B. Kuhnast, A. El Hadri, R. Boisgard, F. Hinnen, S. Richard, A. Caravano, V. Nancy-Portebois, M. Petitou, B. Tavitian, F. Dollé, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 1915–1920.
- [54] C. L. Denholt, B. Kuhnast, F. Dollé, F. Hinnen, P. R. Hansen, N. Gillings, A. Kjaer, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 774–778.
- [55] M. Roche, S. Specklin, M. Richard, F. Hinnen, K. Généromont, B. Kuhnast, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2019**, *62*, 95–108.
- [56] M. S. Rosenthal, A. L. Bosch, R. J. Nickles, S. J. Gatley, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1985**, *36*, 318–319.
- [57] K. Chansaenpak, M. Wang, S. Liu, Z. Wu, H. Yuan, P. S. Conti, Z. Li, F. P. Gabbaï, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 23126–23133.

- [58] B. Vabre, K. Chansaenpak, M. Wang, H. Wang, Z. Li, F. P. Gabbaï, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 8657–8659.
- [59] T. Etrych, H. Lucas, O. Janoušková, P. Chytil, T. Mueller, K. Mäder, *J. Controlled Release* **2016**, *226*, 168–181.
- [60] S. Jiao, *Exp. Biol. Med.* **2020**, *245*, 269–272.
- [61] R. B. Thompson, S. Scarlata, in *Rev. Fluoresc. 2016* (Ed.: C.D. Geddes), Springer International Publishing, Cham, **2017**, pp. 1–8.
- [62] Y. Zheng, H. Yang, H. Wang, K. Kang, W. Zhang, G. Ma, S. Du, *Ann. Transl. Med.* **2019**, *7*, DOI 10.21037/atm.2019.01.26.
- [63] M. T. Erkkilä, D. Reichert, N. Hecker-Denschlag, M. Wilzbach, C. Hauger, R. A. Leitgeb, J. Gesperger, B. Kiesel, T. Roetzer, G. Widhalm, W. Drexler, A. Unterhuber, M. Andreana, *J. Biomed. Opt.* **2020**, *25*, DOI 10.1117/1.JBO.25.7.071202.
- [64] Y. Nakaseko, T. Ishizawa, A. Saiura, *J. Surg. Oncol.* **2018**, *118*, 324–331.
- [65] I. Atallah, C. Milet, R. Quatre, M. Henry, E. Reyt, J.-L. Coll, A. Hurbin, C. A. Righini, *Eur. Ann. Otorhinolaryngol. Head Neck Dis.* **2015**, *132*, 337–342.
- [66] J. Zhao, D. Zhong, S. Zhou, *J. Mater. Chem. B* **2018**, *6*, 349–365.
- [67] E. A. te Velde, Th. Veerman, V. Subramaniam, Th. Ruers, *Eur. J. Surg. Oncol. EJSO* **2010**, *36*, 6–15.
- [68] J. S. Verdaasdonk, J. Lawrimore, K. Bloom, in *Methods Cell Biol.*, Elsevier, **2014**, pp. 347–365.
- [69] K. D. Piatkevich, V. V. Verkhusha, in *Methods Cell Biol.*, Elsevier, **2011**, pp. 431–461.
- [70] P. Wight, in *Kirk-Othmer Encycl. Chem. Technol.* (Ed.: John Wiley & Sons, Inc.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2000**, p. 2401142023090708.a01.
- [71] A. M. Brouwer, *Pure Appl. Chem.* **2011**, *83*, 2213–2228.
- [72] G. T. Hermanson, in *Bioconjugate Tech.*, Elsevier, **2013**, pp. 395–463.
- [73] Y. W. Chang, H. Y. Lee, C. M. Lee, S. P. Jung, W. Y. Kim, S. U. Woo, J. B. Lee, G. S. Son, *Asian J. Surg.* **2020**, *43*, 220–226.
- [74] N. S. van den Berg, T. Buckle, G. H. KleinJan, H. G. van der Poel, F. W. B. van Leeuwen, *Eur. Urol.* **2017**, *72*, 110–117.
- [75] N. Efron, in *Contact Lens Complicat. Fourth Ed.* (Ed.: N. Efron), Elsevier, Philadelphia, **2019**, pp. 197–209.
- [76] B. E. Grüter, D. Täschler, J. Rey, F. Strange, E. Nevzati, J. Fandino, S. Marbacher, D. Coluccia, *Oper. Neurosurg.* **2019**, *17*, 432–438.
- [77] F. Liu, J.-R. Yan, S. Chen, G.-P. Yan, B.-Q. Pan, Q. Zhang, Y.-F. Wang, Y.-T. Gu, *Talanta* **2020**, *212*, 120718.
- [78] P. Guo, Y. Wang, Q. Zhuang, *Sens. Actuators B Chem.* **2019**, *299*, 126873.
- [79] S. B. L. Vollrath, D. Fünriss, U. Schepers, S. Bräse, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 8197.
- [80] F. Liu, X. Shi, X. Liu, F. Wang, H.-B. Yi, J.-H. Jiang, *Chem. Sci.* **2019**, *10*, 9257–9264.
- [81] H. Komatsu, H. Harada, K. Tanabe, M. Hiraoka, S. Nishimoto, *MedChemComm* **2010**, *1*, 50–53.
- [82] More, Lim, Kang, Yun, Yee, Chang, *Molecules* **2019**, *24*, 3206.
- [83] S. H. Ahn, D. Thach, B. A. Vaughn, V. M. Alford, A. N. Preston, S. T. Laughlin, E. Boros, *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 1412–1420.
- [84] A. Chevalier, K. Renault, F. Boschetti, P.-Y. Renard, A. Romieu, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 152–165.
- [85] Y. Koide, Y. Urano, K. Hanaoka, W. Piao, M. Kusakabe, N. Saito, T. Terai, T. Okabe, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 5029–5031.
- [86] A. Chevalier, P.-Y. Renard, A. Romieu, *Chem. - Eur. J.* **2014**, *20*, 8330–8337.
- [87] K. S. Hettie, J. L. Klockow, T. E. Glass, F. T. Chin, *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 3110–3117.
- [88] M. Dai, Y. J. Reo, C. W. Song, Y. J. Yang, K. H. Ahn, *Chem. Sci.* **2020**, *11*, 8901–8911.
- [89] H. Yuan, H. Cho, H. H. Chen, M. Panagia, D. E. Sosnovik, L. Josephson, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 10361.

- [90] S. Liu, D. Li, Z. Zhang, G. K. Surya Prakash, P. S. Conti, Z. Li, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 7371.
- [91] S. M. Clardy, E. J. Keliher, J. F. Mohan, M. Sebas, C. Benoist, D. Mathis, R. Weissleder, *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25*, 171–177.
- [92] M. Wiranowska, R. Singh, R. Falahat, E. Williams, J. O. Johnson, N. Alcantar, *Cancer Nanotechnol.* **2020**, *11*, 3.
- [93] K. Arai, A. Ohtake, S. Daikoku, K. Suzuki, Y. Ito, K. Kabayama, K. Fukase, Y. Kanie, O. Kanie, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 3724–3733.
- [94] N. Kondo, T. Temma, J. Deguchi, K. Sano, M. Ono, H. Saji, *J. Controlled Release* **2015**, *220*, 476–483.
- [95] P. Verwilst, H.-R. Kim, J. Seo, N.-W. Sohn, S.-Y. Cha, Y. Kim, S. Maeng, J.-W. Shin, J. H. Kwak, C. Kang, J. S. Kim, *J Am Chem Soc* **2017**, *11*.
- [96] H. Tong, K. Lou, W. Wang, *Acta Pharm. Sin. B* **2015**, *5*, 25–33.
- [97] E. Bodio, F. Denat, C. Goze, *J. Porphyr. Phthalocyanines* **2019**, *23*, 1159–1183.
- [98] J. Pliquett, A. Dubois, C. Racoeur, N. Mabrouk, S. Amor, R. Lescure, A. Bettaieb, B. Collin, C. Bernhard, F. Denat, P. S. Bellaye, C. Paul, E. Bodio, C. Goze, *Bioconjug. Chem.* **2019**, *30*, 1061–1066.
- [99] K. Ilina, M. Henary, *Chem. – Eur. J.* **2020**, *n/a*, DOI 10.1002/chem.202003697.
- [100] C. Shi, J. B. Wu, D. Pan, *J. Biomed. Opt.* **2016**, *21*, 050901.
- [101] Y. Wang, F.-F. An, M. Chan, B. Friedman, E. A. Rodriguez, R. Y. Tsien, O. Aras, R. Ting, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2017**, *37*, 776–786.
- [102] A. Gokarna, Y. H. Kim, Y.-H. Cho, M. S. Lee, I. C. Kang, H. K. Park, M. G. Kim, B. H. Chung, *Opt. Rev.* **2006**, *13*, 288–291.
- [103] A. Levitz, F. Marmarchi, M. Henary, *Molecules* **2018**, *23*, 226.
- [104] A. Toutchkine, D.-V. Nguyen, K. M. Hahn, *Bioconjug. Chem.* **2007**, *18*, 1344–1348.
- [105] A. Romieu, D. Brossard, M. Hamon, H. Outaabout, C. Portal, P.-Y. Renard, *Bioconjug. Chem.* **2008**, *19*, 279–289.
- [106] X. Tan, S. Luo, D. Wang, Y. Su, T. Cheng, C. Shi, *Biomaterials* **2012**, *33*, 2230–2239.
- [107] Y. Chen, X.-R. Wei, R. Sun, Y.-J. Xu, J.-J. Ge, *Anal. Methods* **2019**, *11*, 3523–3531.
- [108] Y. Guan, Y. Zhang, L. Xiao, J. Li, J. Wang, M. D. Chordia, Z.-Q. Liu, L. W. K. Chung, W. Yue, D. Pan, *Mol. Pharm.* **2017**, *14*, 1–13.
- [109] M. V. Kvach, A. V. Ustinov, I. A. Stepanova, A. D. Malakhov, M. V. Skorobogatyi, V. V. Shmanai, V. A. Korshun, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 2107–2117.
- [110] Y. Zhang, M. Wang, W. Liu, X. Peng, *Mol. Imaging Biol.* **2019**, *21*, 835–841.
- [111] M. S. Yim, E. J. Son, H. N. Kim, E. K. Ryu, *J. Anal. Sci. Technol.* **2019**, *10*, 26.
- [112] J. T. Alander, I. Kaartinen, A. Laakso, T. Pättilä, T. Spillmann, V. V. Tuchin, M. Venermo, P. Välisuo, *Int. J. Biomed. Imaging* **2012**, *2012*, 1–26.
- [113] R. W. Knackstedt, R. A. Couto, B. Gastman, *J. Surg. Res.* **2018**, *228*, 77–83.
- [114] J. Glatz, P. B. Garcia-Allende, V. Becker, M. Koch, A. Meining, V. Ntziachristos, *Gastrointest. Endosc.* **2014**, *79*, 664–668.
- [115] L. Boni, G. David, A. Mangano, G. Dionigi, S. Rausei, S. Spampatti, E. Cassinotti, A. Fingerhut, *Surg. Endosc.* **2015**, *29*, 2046–2055.
- [116] T. Skotland, *Contrast Media Mol. Imaging* **2012**, *7*, 1–6.
- [117] S. Lee, X. Chen, *Mol. Imaging* **2009**, *8*, 7290.2009.00013.
- [118] A. Lahooti, S. Shanehsazzadeh, S. Laurent, *Nanotechnology* **2020**, *31*, 015102.
- [119] D. Chen, Y. Zhou, D. Yang, M. Guan, M. Zhen, W. Lu, M. E. Van Dort, B. D. Ross, C. Wang, C. Shu, H. Hong, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 21343–21352.
- [120] G. Thomas, J. Boudon, L. Maurizi, M. Moreau, P. Walker, I. Severin, A. Oudot, C. Goze, S. Poty, J.-M. Vrigneaud, F. Demoisson, F. Denat, F. Brunotte, N. Millot, *ACS Omega* **2019**, *4*, 2637–2648.
- [121] X. Shi, L. Shen, *J. Inorg. Biochem.* **2018**, *186*, 257–263.

- [122] H. Hu, Y. Zhang, S. Shukla, Y. Gu, X. Yu, N. F. Steinmetz, *ACS Nano* **2017**, *11*, 9249–9258.
- [123] Y. Li, D. Li, K. Jian, X. Mei, G. Wang, *J. Biomed. Nanotechnol.* **2019**, *15*, 85–99.
- [124] I. J. Chung, S. I. Jeon, E.-J. Cha, Y. Byun, I. C. Kwon, Y. I. Kim, K. Kim, C.-H. Ahn, *J. Ind. Eng. Chem.* **2019**, *76*, 403–409.
- [125] U. Seibold, B. Wängler, R. Schirmmayer, C. Wängler, *BioMed Res. Int.* **2014**, *2014*, 1–13.
- [126] F.-F. An, M. Chan, H. Kommidi, R. Ting, *Am. J. Roentgenol.* **2016**, *207*, 266–273.
- [127] S. H. Vargas, S. C. Ghosh, A. Azhdarinia, *J. Nucl. Med.* **2019**, *60*, 459–465.
- [128] S. C. Ghosh, P. Ghosh, N. Wilganowski, H. Robinson, M. A. Hall, G. Dickinson, K. L. Pinkston, B. R. Harvey, E. M. Sevick-Muraca, A. Azhdarinia, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 406–416.
- [129] G. Singh, M. D. Gott, H.-J. Pietzsch, H. Stephan, *Nukl. Nucl. Med.* **2016**, *55*, 41–50.
- [130] C. Dubernet, *Bull. Cancer (Paris)* **2011**, *98*, 1363–1371.
- [131] Z. Zhang, W. Cao, H. Jin, J. Lovell, M. Yang, L. Ding, J. Chen, I. Corbin, Q. Luo, G. Zheng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9171–9175.
- [132] T. M. Allen, *Science* **2004**, *303*, 1818–1822.
- [133] U. K. Marelli, F. Rechenmacher, T. R. A. Sobahi, C. Mas-Moruno, H. Kessler, *Front. Oncol.* **2013**, *3*, DOI 10.3389/fonc.2013.00222.
- [134] D. A. Chistiakov, V. A. Myasoedova, A. V. Grechko, A. A. Melnichenko, A. N. Orekhov, *Semin. Cancer Biol.* **2018**, *52*, 9–16.
- [135] O. Weaver, J. W. T. Leung, *Am. J. Roentgenol.* **2018**, *210*, 271–278.
- [136] J. C. Reubi, H. R. Maecke, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 1735–1738.
- [137] M. K. Dewanjee, N. Haider, J. Narula, *J. Nucl. Cardiol.* **1999**, *6*, 345–356.
- [138] A. K. Iyer, J. He, *Curr. Org. Synth.* **2011**, *8*, 604–614.
- [139] E. A. Rodriguez, Y. Wang, J. L. Crisp, D. R. Vera, R. Y. Tsien, R. Ting, *Bioconjug. Chem.* **2016**, *27*, 1390–1399.
- [140] A. L. Vavere, M. J. Welch, *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2005**, *46*, 683–690.
- [141] C. T. Mandler, L. Friedrich, I. Laitinen, M. Schlapschy, M. Schwaiger, H.-J. Wester, A. Skerra, *mAbs* **2015**, *7*, 96–109.
- [142] Y. Touchefeu, C. Bailly, E. Frampas, T. Eugène, C. Rousseau, M. Bourgeois, C. Bossard, A. Faivre-Chauvet, A. Rauscher, D. Masson, A. David, E. Cerato, T. Carlier, R. M. Sharkey, D. M. Goldenberg, J. Barbet, F. Kraeber-Bodere, C. Bodet-Milin, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2020**, DOI 10.1007/s00259-020-04989-3.
- [143] G. Lv, X. Sun, L. Qiu, Y. Sun, K. Li, Q. Liu, Q. Zhao, S. Qin, J. Lin, *J. Nucl. Med.* **2020**, *61*, 117–122.
- [144] M. Gut, J. P. Holland, *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 12302–12310.
- [145] Z. Varasteh, S. Mohanta, Y. Li, N. López Armbruster, M. Braeuer, S. G. Nekolla, A. Habenicht, H. B. Sager, G. Raes, W. Weber, S. Hernot, M. Schwaiger, *EJNMMI Res.* **2019**, *9*, DOI 10.1186/s13550-019-0474-0.
- [146] M. Matesan, D. R. Fisher, R. Wong, A. K. Gopal, D. J. Green, B. M. Sandmaier, W. Bensinger, J. M. Pagel, J. Orozco, O. W. Press, R. D. Cassaday, E. Hutchinson, M. Wanner, S. Pal, C. Thostenson, J. G. Rajendran, *J. Nucl. Med.* **2020**, *61*, 1300–1306.
- [147] E. Berg, H. Gill, J. Marik, A. Ogasawara, S. Williams, G. van Dongen, D. Vugts, S. R. Cherry, A. F. Tarantal, *J. Nucl. Med.* **2020**, *61*, 453–460.
- [148] W. Li, Y. Wang, D. Rubins, I. Bennacef, M. Holahan, H. Haley, M. Purcell, L. Gantert, S. Hseih, M. Judo, W. Seghezzi, S. Zhang, E. L. van der Veen, M. N. Lub-de Hooge, E. G. E. de Vries, J. L. Evelhoch, M. Klimas, E. D. Hostetler, *Mol. Imaging Biol.* **2020**, DOI 10.1007/s11307-020-01558-w.
- [149] C. Xavier, A. Blykers, I. Vaneycken, M. D’Huyvetter, J. Heemskerk, T. Lahoutte, N. Devoogdt, V. Caveliers, *Nucl. Med. Biol.* **2016**, *43*, 247–252.
- [150] D. J. Craik, D. P. Fairlie, S. Liras, D. Price, *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *81*, 136–147.

- [151] J. Rafferty, H. Nagaraj, A. P. McCloskey, R. Huwaitat, S. Porter, A. Albadr, G. Laverty, *Curr. Med. Chem.* **2016**, *23*, 4231–4259.
- [152] K. Fosgerau, T. Hoffmann, *Drug Discov. Today* **2015**, *20*, 122–128.
- [153] E. Blom, I. Velikyan, S. Estrada, H. Hall, T. Muhammad, C. Ding, M. Nair, B. Långström, *Int. J. Clin. Exp. Med.* **2012**, *5*, 165–172.
- [154] C. Xiong, D. Yin, J. Li, Q. Huang, M. K. Ravoori, V. Kundra, H. Zhu, Z. Yang, Y. Lu, C. Li, *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 808–815.
- [155] R. Potemkin, B. Strauch, T. Kuwert, O. Prante, S. Maschauer, *Mol. Pharm.* **2020**, *17*, 933–943.
- [156] C. Testa, D. D’Addona, M. Scrima, A. M. Tedeschi, A. M. D’Ursi, C. Bernhard, F. Denat, C. Bello, P. Rovero, M. Chorev, A. M. Papini, *Pept. Sci.* **2018**, *110*, e24071.
- [157] N. Oshima, H. Akizawa, H. Kitaura, H. Kawashima, S. Zhao, Y. Zhao, K. Nishijima, Y. Kitamura, Y. Arano, Y. Kuge, K. Ohkura, *Nucl. Med. Biol.* **2017**, *54*, 18–26.
- [158] L. E. Chilug, R. A. Leonte, M. E. B. Patrascu, A. C. Ion, C. S. Tuta, A. Raicu, G. Manda, D. Niculae, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2017**, *311*, 1485–1493.
- [159] W. Zhu, Y. Cheng, X. Wang, S. Yao, C. Bai, H. Zhao, R. Jia, J. Xu, L. Huo, *J. Nucl. Med.* **2020**, *61*, 897–903.
- [160] L. Jönsson, A. Stenvall, E. Mattsson, E. Larsson, A. Sundlöv, T. Ohlsson, C. Hindorf, *EJNMMI Phys.* **2018**, *5*, 5.
- [161] A. A. H. Abdellatif, *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2019**, *45*, 1707–1715.
- [162] A. AH Abdellatif, *Biochem. Physiol. Open Access* **2015**, *04*, DOI 10.4172/2168-9652.1000183.
- [163] A. Rozovsky, T. M. Ebaston, A. Zaporozhets, A. Bazylevich, H. Tuchinsky, L. Patsenker, G. Gellerman, *RSC Adv.* **2019**, *9*, 32656–32664.
- [164] R.-Y. Guo, H.-M. Wang, X. Dong, Y. Hu, J. Li, Y. Zang, X. Li, *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, DOI 10.1021/acsabm.0c01097.
- [165] M. Tesson, R. Vasan, A. Hock, C. Nixon, C. Rae, M. Gaze, R. Mairs, *Oncotarget* **2018**, *9*, 29082–29096.
- [166] H. Kommidi, H. Guo, F. Nurili, Y. Vedvyas, M. M. Jin, T. D. McClure, B. Ehdiaie, H. B. Sayman, O. Akin, O. Aras, R. Ting, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 4256–4262.
- [167] M. Wirtz, A. Schmidt, M. Schottelius, S. Robu, T. Günther, M. Schwaiger, H.-J. Wester, *EJNMMI Res.* **2018**, *8*, 84.
- [168] F. Dietlein, M. Hohberg, C. Kobe, B. D. Zlatopolskiy, P. Krapf, H. Endepols, P. Täger, J. Hammes, A. Heidenreich, B. Neumaier, A. Drzezga, M. Dietlein, *J. Nucl. Med.* **2019**, jnumed.119.229542.
- [169] C. W. Wichmann, U. Ackermann, S. Poniger, K. Young, B. Nguyen, G. Chan, J. Sachinidis, A. M. Scott, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **n.d.**, *n/a*, DOI <https://doi.org/10.1002/jlcr.3889>.
- [170] M. Schottelius, A. Wurzer, K. Wissmiller, R. Beck, M. Koch, D. Gorpas, J. Notni, T. Buckle, M. N. van Oosterom, K. Steiger, V. Ntziachristos, M. Schwaiger, F. W. B. van Leeuwen, H.-J. Wester, *J. Nucl. Med.* **2019**, *60*, 71–78.
- [171] T. G. Kapp, F. Rechenmacher, S. Neubauer, O. V. Maltsev, E. A. Cavalcanti-Adam, R. Zarka, U. Reuning, J. Notni, H.-J. Wester, C. Mas-Moruno, J. Spatz, B. Geiger, H. Kessler, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 39805.
- [172] Y. Cheng, Y. Ji, *Eur. J. Pharm. Sci.* **2019**, *128*, 8–17.
- [173] S. Kang, S. Lee, S. Park, *Polymers* **2020**, *12*, 1906.
- [174] A. Egorova, A. Selutin, M. Maretina, S. Selkov, V. Baranov, A. Kiselev, *Pharmaceuticals* **2020**, *13*, DOI 10.3390/ph13100300.
- [175] A. J. Beer, M. Schwaiger, *Cancer Metastasis Rev.* **2008**, *27*, 631–644.
- [176] J.-P. Xiong, *Science* **2002**, *296*, 151–155.
- [177] Y. A. Kadry, D. A. Calderwood, *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* **2020**, *1862*, 183206.

- [178] S. Goswami, *Adv. Biol. Chem.* **2013**, *03*, 224–252.
- [179] Y.-P. Yu, Q. Wang, Y.-C. Liu, Y. Xie, *Biomaterials* **2014**, *35*, 1667–1675.
- [180] S. Fu, X. Xu, Y. Ma, S. Zhang, S. Zhang, *J. Drug Target.* **2019**, *27*, 1–11.
- [181] I. Kemker, R. C. Feiner, K. M. Müller, N. Sewald, *ChemBioChem* **2020**, *21*, 496–499.
- [182] E. Garanger, D. Boturyn, J.-L. Coll, M.-C. Favrot, P. Dumy, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1958–1965.
- [183] A. Raposo Moreira Dias, A. Pina, A. Dal Corso, D. Arosio, L. Belvisi, L. Pignataro, M. Caruso, C. Gennari, *Chem. - Eur. J.* **2017**, *23*, 14410–14415.
- [184] Z.-H. Jin, T. Furukawa, T. Ohya, M. Degardin, A. Sugyo, A. B. Tsuji, Y. Fujibayashi, M.-R. Zhang, T. Higashi, D. Boturyn, P. Dumy, T. Saga, *Nucl. Med. Commun.* **2017**, *38*, 347–355.
- [185] T. K. Chakraborty, D. Koley, R. Ravi, V. Krishnakumari, R. Nagaraj, A. Chand Kunwar, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8731–8744.
- [186] J. Zhao, S. Li, Y. Jin, J. Wang, W. Li, W. Wu, Z. Hong, *Molecules* **2019**, *24*, 817.
- [187] C. Wängler, S. Maschauer, O. Prante, M. Schäfer, R. Schirrmacher, P. Bartenstein, M. Eisenhut, B. Wängler, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 2168–2181.
- [188] G. Thumshirn, U. Hersel, S. L. Goodman, H. Kessler, *Chem. - Eur. J.* **2003**, *9*, 2717–2725.
- [189] J. Zhang, F. Mao, G. Niu, L. Peng, L. Lang, F. Li, H. Ying, H. Wu, B. Pan, Z. Zhu, X. Chen, *Theranostics* **2018**, *8*, 1121–1130.
- [190] M. Wang, H. Wang, C. Q. Niu, T. Zhang, Z. Wu, Z. Li, *Bioconjug. Chem.* **2020**, *31*, 1795–1803.
- [191] K. Hu, H. Wang, G. Tang, T. Huang, X. Tang, X. Liang, S. Yao, D. Nie, *J. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 1278–1284.
- [192] J. Langenhan, J. Thorson, *Curr. Org. Synth.* **2005**, *2*, 59–81.
- [193] C. Collet, F. Maskali, A. Clément, F. Chrétien, S. Poussier, G. Karcher, P.-Y. Marie, Y. Chapleur, S. Lamandé-Langle, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2016**, *59*, 54–62.
- [194] L. Liang, D. Astruc, *Coord. Chem. Rev.* **2011**, *255*, 2933–2945.
- [195] M. Wang, C. D. McNitt, H. Wang, X. Ma, S. M. Scarry, Z. Wu, V. V. Popik, Z. Li, *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 7810–7813.
- [196] E. M. Sletten, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6974–6998.
- [197] P. B. Tchounwou, C. Newsome, J. Williams, K. Glass, *Met. Ions Biol. Med. Proc. Int. Symp. Met. Ions Biol. Med. Held Ions Met. En Biol. En Med. Symp. Int. Sur Ions Met.* **2008**, *10*, 285–290.
- [198] Z. Zhou, S. K. Chitneni, N. Devoogdt, M. R. Zalutsky, G. Vaidyanathan, *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 1939–1949.
- [199] H. J. Jeong, R. J. Yoo, J. K. Kim, M. H. Kim, S. H. Park, H. Kim, J. W. Lim, S. H. Do, K. C. Lee, Y. J. Lee, D. W. Kim, *Biomaterials* **2019**, *199*, 32–39.
- [200] K. Sachin, V. H. Jadhav, E.-M. Kim, H. L. Kim, S. B. Lee, H.-J. Jeong, S. T. Lim, M.-H. Sohn, D. W. Kim, *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23*, 1680–1686.
- [201] M. Boudjemline, C. D. McNitt, T. A. Singleton, V. V. Popik, A. P. Kostikov, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 363–366.
- [202] S. Otaru, H. Niemikoski, M. Sarparanta, A. J. Airaksinen, *Mol. Pharm.* **2020**, *17*, 3106–3115.
- [203] S. Otaru, S. Imlimthan, M. Sarparanta, K. Helariutta, K. Wähälä, A. Airaksinen, *Molecules* **2020**, *25*, 1208.
- [204] B. E. Cook, P. Adumeau, R. Membreno, K. E. Carnazza, C. Brand, T. Reiner, B. J. Agnew, J. S. Lewis, B. M. Zeglis, *Bioconjug. Chem.* **2016**, *27*, 1789–1795.
- [205] Z. Zhou, M. R. Zalutsky, G. Vaidyanathan, *Bioorg. Med. Chem.* **2020**, *28*, 115634.
- [206] A. Kis, N. Dénes, J. P. Szabó, V. Arató, I. Józszai, K. N. Enyedi, S. Lakatos, I. Garai, G. Mező, I. Kertész, G. Trencsényi, *Int. J. Pharm.* **2020**, *589*, 119881.
- [207] H. Li, L. Yuan, Y. Long, H. Fang, M. Li, Q. Liu, X. Xia, C. Qin, Y. Zhang, X. Lan, Y. Gai, *Mol. Pharm.* **2020**, *17*, 3000–3008.

- [208] J. Biabani Ardakani, M. Akhlaghi, B. Nikkholgh, S. J. Hosseinimehr, *Bioorganic Chem.* **2020**, 104474.
- [209] R. Raavé, G. Sandker, P. Adumeau, C. B. Jacobsen, F. Mangin, M. Meyer, M. Moreau, C. Bernhard, L. Da Costa, A. Dubois, V. Goncalves, M. Gustafsson, M. Rijpkema, O. Boerman, J.-C. Chambron, S. Heskamp, F. Denat, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 1966–1977.
- [210] R. Schirrmacher, G. Bradtmöller, E. Schirrmacher, O. Thews, J. Tillmanns, T. Siessmeier, H. G. Buchholz, P. Bartenstein, B. Wängler, C. M. Niemeyer, K. Jurkschat, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6047–6050.
- [211] V. Bernard-Gauthier, M. L. Lepage, B. Waengler, J. J. Bailey, S. H. Liang, D. M. Perrin, N. Vasdev, R. Schirrmacher, *J. Nucl. Med.* **2018**, *59*, 568–572.
- [212] M. K. Narayanam, A. A. Toutov, J. M. Murphy, *Org. Lett.* **2020**, *22*, 804–808.
- [213] G. Carlucci, B. Carney, C. Brand, S. Kossatz, C. P. Irwin, S. D. Carlin, E. J. Keliher, W. Weber, T. Reiner, *Mol. Imaging Biol.* **2015**, *17*, 848–855.
- [214] E. Balentova, C. Collet, S. Lamandé-Langle, F. Chrétien, D. Thonon, J. Aerts, C. Lemaire, A. Luxen, Y. Chapleur, *J. Fluor. Chem.* **2011**, *132*, 250–257.
- [215] T. Vucko, N. Pétry, F. Dehez, A. Lambert, A. Monari, C. Lakomy, P. Lacolley, V. Regnault, C. Collet, G. Karcher, N. Pellegrini-Moïse, S. Lamandé-Langle, *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 4101–4109.
- [216] C. Collet, T. Vucko, J. Ariztia, G. Karcher, N. Pellegrini-Moïse, S. Lamandé-Langle, *React. Chem. Eng.* **2019**, *4*, 2088–2098.
- [217] R. Cohen, D. J. Vugts, M. Stigter-van Walsum, G. W. M. Visser, G. A. M. S. van Dongen, *Nat. Protoc.* **2013**, *8*, 1010–1018.
- [218] R. Hernandez, H. Sun, C. G. England, H. F. Valdovinos, E. B. Ehlerding, T. E. Barnhart, Y. Yang, W. Cai, *Theranostics* **2016**, *6*, 1918–1933.
- [219] Y. Zhang, H. Hong, J. W. Engle, Y. Yang, T. E. Barnhart, W. Cai, *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2012**, *2*, 1–13.
- [220] L. Sampath, S. Kwon, M. A. Hall, R. E. Price, E. M. Sevick-Muraca, *Transl. Oncol.* **2010**, *3*, 307-IN1.
- [221] H. Luo, C. G. England, S. Goel, S. A. Graves, F. Ai, B. Liu, C. P. Theuer, H. C. Wong, R. J. Nickles, W. Cai, *Mol. Pharm.* **2017**, *14*, 1646–1655.
- [222] E. Renard, P.-A. Dancer, C. Portal, F. Denat, A. Prignon, V. Goncalves, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 2426–2433.
- [223] V. G. Ostapchenko, J. Snir, M. Suchy, J. Fan, M. R. Cobb, B. A. Chronik, M. Kovacs, V. F. Prado, R. H. E. Hudson, S. H. Pasternak, M. A. M. Prado, R. Bartha, *Contrast Media Mol. Imaging* **2019**, *2019*, 1–17.
- [224] C. M. Kang, G. I. An, Y. S. Choe, *Nucl. Med. Commun.* **2015**, *36*, 1026–1034.
- [225] Y. Sun, X. Ma, K. Cheng, B. Wu, J. Duan, H. Chen, L. Bu, R. Zhang, X. Hu, Z. Deng, L. Xing, X. Hong, Z. Cheng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 5981–5984.
- [226] C. M. Kang, H. Kim, H.-J. Koo, J. W. Park, G. I. An, J. Y. Choi, K.-H. Lee, B.-T. Kim, Y. S. Choe, *Amino Acids* **2016**, *48*, 1667–1675.
- [227] W. K. Tsai, K. A. Zettlitz, R. Tavaré, N. Kobayashi, R. E. Reiter, A. M. Wu, *Theranostics* **2018**, *8*, 5903–5914.
- [228] C. Brand, D. Abdel-Atti, Y. Zhang, S. Carlin, S. M. Clardy, E. J. Keliher, W. A. Weber, J. S. Lewis, T. Reiner, *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25*, 1323–1330.
- [229] L. G. Meimetis, E. Boros, J. C. Carlson, C. Ran, P. Caravan, R. Weissleder, *Bioconjug. Chem.* **2016**, *27*, 257–263.
- [230] J. Li, Y. Zhang, M. D. Chordia, H. Wu, L. Shao, D. Pan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 1052–1055.
- [231] B. B. Kasten, K. Jiang, D. Cole, A. Jani, N. Udayakumar, G. Y. Gillespie, G. Lu, T. Dai, E. L. Rosenthal, J. M. Markert, J. Rao, J. M. Warram, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2020**, *47*, 1412–1426.

- [232] H. Guo, H. Kommidi, U. B. Maachani, J. C. Voronina, W. Zhang, R. S. Magge, J. Ivanidze, A. P. Wu, M. M. Souweidane, O. Aras, R. Ting, *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 3636–3646.
- [233] H. Kommidi, H. Guo, N. Chen, D. Kim, B. He, A. P. Wu, O. Aras, R. Ting, *Theranostics* **2017**, *7*, 2377–2391.
- [234] M. A. Klenner, G. Pascali, M. Massi, B. H. Fraser, *Chem. – Eur. J.* **2021**, *27*, 861–876.
- [235] M. Munch, B. H. Rotstein, G. Ulrich, *Molecules* **2020**, *25*, 6042.
- [236] H. Guo, H. Kommidi, Y. Vedvyas, J. E. McCloskey, W. Zhang, N. Chen, F. Nurili, A. P. Wu, H. B. Sayman, O. Akin, E. A. Rodriguez, O. Aras, M. M. Jin, R. Ting, *ACS Chem. Biol.* **2019**, *14*, 1449–1459.
- [237] F. An, F. Nurili, H. Sayman, Z. Ozer, H. Cakiroglu, O. Aras, R. Ting, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 12693–12706.
- [238] H. Kim, K. Kim, S.-H. Son, J. Y. Choi, K.-H. Lee, B.-T. Kim, Y. Byun, Y. S. Choe, *ACS Chem. Neurosci.* **2019**, *10*, 1445–1451.
- [239] E. Ranyuk, R. Lebel, Y. Bérubé-Lauzière, K. Klarskov, R. Lecomte, J. E. van Lier, B. Guérin, *Bioconjug. Chem.* **2013**, *24*, 1624–1633.
- [240] K. Chansaenpak, H. Wang, M. Wang, B. Giglio, X. Ma, H. Yuan, S. Hu, Z. Wu, Z. Li, *Chem. - Eur. J.* **2016**, *22*, 12122–12129.
- [241] H. Wang, M. Wang, K. Chansaenpak, Y. Liu, H. Yuan, J. Xie, H. Yin, R. T. Branca, Z. Li, Z. Wu, *Mol. Imaging Biol.* **2020**, *22*, 675–684.
- [242] I. AlJammaz, B. Al-Otaibi, H. AlHindas, S. M. Okarvi, *Nucl. Med. Biol.* **2015**, *42*, 804–808.
- [243] S. Liu, T.-P. Lin, D. Li, L. Leamer, H. Shan, Z. Li, F. P. Gabbaï, P. S. Conti, *Theranostics* **2013**, *3*, 181–189.
- [244] L. Allott, D. Brickute, C. Chen, M. Braga, C. Barnes, N. Wang, E. O. Aboagye, *EJNMMI Radiopharm. Chem.* **2020**, *5*, 17.
- [245] F.-F. An, H. Kommidi, N. Chen, R. Ting, *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 1214.
- [246] S. Liu, D. Li, H. Shan, F. P. Gabbaï, Z. Li, P. S. Conti, *Nucl. Med. Biol.* **2014**, *41*, 120–126.
- [247] C. P. Ortmeier, G. Haufe, K. Schwegmann, S. Hermann, M. Schäfers, F. Börgel, B. Wünsch, S. Wagner, V. Hugenberg, *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 2167–2176.
- [248] A. Paulus, P. Desai, B. Carney, G. Carlucci, T. Reiner, C. Brand, W. A. Weber, *EJNMMI Res.* **2015**, *5*, 43.
- [249] E. J. Keliher, J. A. Klubnick, T. Reiner, R. Mazitschek, R. Weissleder, *ChemMedChem* **2014**, *9*, 1368–1373.
- [250] R. Ting, T. A. Aguilera, J. L. Crisp, D. J. Hall, W. C. Eckelman, D. R. Vera, R. Y. Tsien, *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21*, 1811–1819.
- [251] Z. Liu, M. A. Radtke, M. Q. Wong, K.-S. Lin, D. T. Yapp, D. M. Perrin, *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25*, 1951–1962.
- [252] T. Priem, C. Bouteiller, D. Camporese, X. Brune, J. Hardouin, A. Romieu, P.-Y. Renard, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 469–479.
- [253] A. Damont, R. Boisgard, F. Dollé, M. Hollocou, B. Kuhnast, *Bioconjug. Chem.* **2017**, *28*, 2524–2529.
- [254] D. C. Koester, A. Holkenbrink, D. B. Werz, *Synthesis* **2010**, *2010*, 3217–3242.
- [255] E. Leclerc, X. Pannecoucke, M. Ethève-Quellejeu, M. Sollogoub, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4270–4283.
- [256] A. Dondoni, A. Marra, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4395–4422.
- [257] I. F. Pelyvás, Z. Györgydeák, in *Glycosci. Chem. Chem. Biol. I–III* (Eds.: B.O. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem), Springer, Berlin, Heidelberg, **2001**, pp. 305–364.
- [258] Y. Yang, B. Yu, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 12281–12356.
- [259] D. E. Levy, C. Tang, *The Chemistry of C-Glycosides*, Pergamon, Oxford, OX, U.K. ; Tarrytown, N.Y., U.S.A, **1995**.
- [260] D. E. Levy, P. Fügedi, Eds. , *The Organic Chemistry of Sugars*, CRC Press, **2005**.

- [261] É. Bokor, S. Kun, D. Goyard, M. Tóth, J.-P. Praly, S. Vidal, L. Somsák, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 1687–1764.
- [262] Y. Chapleur, *J Chem Soc Chem Commun* **1984**, 449–450.
- [263] A. Bandzouzi, Y. Chapleur, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1987**, 661–664.
- [264] A. Bandzouzi, Y. Chapleur, *Carbohydr. Res.* **1987**, *171*, 13–24.
- [265] M. Lakhrissi, Y. Chapleur, *Synlett* **1991**, *1991*, 583–585.
- [266] M. Lakhrissi, Y. Chapleur, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5752–5757.
- [267] Y. Lakhrissi, C. Taillefumier, F. Chrétien, Y. Chapleur, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7265–7268.
- [268] W. B. Motherwell, M. J. Tozer, B. C. Ross, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1437–1439.
- [269] M. Lakhrissi, Y. Chapleur, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2845–2845.
- [270] C. Taillefumier, Y. Chapleur, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 263–292.
- [271] A. Novoa, N. Pellegrini-Moïse, D. Bechet, M. Barberi-Heyob, Y. Chapleur, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3285–3298.
- [272] M. Richard, A. Chateau, C. Jelsch, C. Didierjean, X. Manival, C. Charron, B. Maigret, M. Barberi-Heyob, Y. Chapleur, C. Boura, N. Pellegrini-Moïse, *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 5315–5325.
- [273] M. Richard, J. Ariztia, S. Lamandé-Langle, N. Pellegrini Moïse, *ChemistrySelect* **2018**, *3*, 9121–9126.
- [274] A. Novoa, N. Pellegrini-Moïse, S. Bourg, S. Thoret, J. Dubois, G. Aubert, T. Cresteil, Y. Chapleur, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3570–3580.
- [275] A. Molina, S. Czernecki, J. Xie, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7507–7510.
- [276] J. Xie, A. Molina, S. Czernecki, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 481–498.
- [277] *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 395–398.
- [278] T. V. RajanBabu, G. S. Reddy, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5458–5461.
- [279] R. Csuk, B. I. Glänzer, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1655–1664.
- [280] Carl R., B. A. Johns, *Synlett* **2011**, *12*, 1406–1408.
- [281] Y. Tao, N. Ding, S. Ren, Y. Li, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 6101–6104.
- [282] S. Koch, D. Schollmeyer, H. Löwe, H. Kunz, *Chem. – Eur. J.* **2013**, *19*, 7020–7041.
- [283] B. Bourdon, M. Corbet, P. Fontaine, P. G. Goekjian, D. Gueyrard, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 747–749.
- [284] M. Corbet, B. Bourdon, D. Gueyrard, P. G. Goekjian, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 750–754.
- [285] S. Habib, F. Larnaud, E. Pfund, T. Lequeux, B. Fenet, P. G. Goekjian, D. Gueyrard, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 1872–1875.
- [286] S. Habib, D. Gueyrard, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 871–875.
- [287] D. Gueyrard, *Synlett* **2018**, *29*, 34–45.
- [288] H.-T. T. Thien, A. Novoa, N. Pellegrini-Moïse, F. Chrétien, C. Didierjean, Y. Chapleur, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 6939–6951.
- [289] Y. Lakhrissi, C. Taillefumier, M. Lakhrissi, Y. Chapleur, *Tetrahedron Asymmetry* **2000**, *11*, 417–421.
- [290] A. Novoa, N. Pellegrini-Moïse, S. Lamandé-Langle, Y. Chapleur, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6484–6487.
- [291] J. Zeng, S. Vedachalam, S. Xiang, X.-W. Liu, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 42–45.
- [292] V. Kumar, A. K. Shaw, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7526–7531.
- [293] H. Fujioka, Y. Minamitsuji, T. Moriya, K. Okamoto, O. Kubo, T. Matsushita, K. Murai, *Chem. – Asian J.* **2012**, *7*, 1925–1933.
- [294] N. L. Hungerford, D. J. Armit, M. G. Banwell, *Synthesis* **2003**, 1837–1843.
- [295] Y. Koyama, R. Yamaguchi, K. Suzuki, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1084–1087.
- [296] Y. Kimura, M. Sumiyoshi, M. Taniguchi, K. Baba, *Cancer Sci.* **2008**, *99*, 2336–2348.
- [297] J. Wang, F. Gasc, J. Prandi, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 2691–2697.

- [298] F. W. Lichtenthaler, M. Lergenmüller, S. Schwidetzky, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2003, 3094–3103.
- [299] D. Hutter, S. A. Benner, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 9839–9842.
- [300] L. Nicolas, E. Izquierdo, P. Angibaud, I. Stansfield, L. Meerpoel, S. Reymond, J. Cossy, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 11807–11814.
- [301] R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, J. Salvino, E. M. Leahy, P. A. Sprengeler, G. Furst, C. D. Strader, A. B. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 9217–9218.
- [302] B. M. Dunn, Ed. , *Peptide Chemistry and Drug Design: Dunn/Peptide Chemistry and Drug Design*, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA, **2015**.
- [303] S. Varasteh Moradi, W. M. Hussein, P. Varamini, P. Simerska, I. Toth, *Chem. Sci.* **2016**, 7, 2492–2500.
- [304] S. Maschauer, R. Haubner, T. Kuwert, O. Prante, *Mol. Pharm.* **2014**, 11, 505–515.
- [305] S. Lamandé-Langle, C. Collet, R. Hensienne, C. Vala, F. Chrétien, Y. Chapleur, A. Mohamadi, P. Lacolley, V. Regnault, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, 22, 6672–6683.
- [306] C. Vala, F. Chrétien, E. Balentova, S. Lamandé-Langle, Y. Chapleur, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 17–20.
- [307] F. Mangin, C. Collet, V. Jouan-Hureau, F. Maskali, E. Roeder, J. Pierson, K. Selmezi, P.-Y. Marie, C. Boura, N. Pellegrini-Moïse, S. Lamandé-Langle, *RSC Adv.* **2021**, 11, 7672–7681.
- [308] T. Vucko, C-Glycosides Fluorés Pour Le Marquage de Peptides : Applications En Imageries TEP et Bimodale TEP/FPIR, These de doctorat, Université de Lorraine, **2019**.
- [309] T. Vucko, N. Pellegrini Moïse, S. Lamandé-Langle, *Carbohydr. Res.* **2019**, 477, 1–10.
- [310] M. Richard, J. Ariztia, S. Lamandé-Langle, N. Pellegrini Moïse, *ChemistrySelect* **2018**, 3, 9121–9126.
- [311] M. Richard, A.-S. Felten, C. Didierjean, M. Ruiz-Lopez, Y. Chapleur, N. Pellegrini-Moïse, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 2014, 7364–7376.
- [312] M. Lakhrissi, Y. Chapleur, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 750–752.
- [313] C. S. Wilcox, R. M. Otoski, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 1011–1014.
- [314] A. Novoa, Synthèse et Fonctionnalisation d'exo-Glycals : Application à La Préparation d'anti-Tumoraux, These de doctorat, Nancy 1, **2010**.
- [315] M. Richard, Les Exo-Glycals Activés Pour La Synthèse de Dérivés Saccharidiques Complexes : Application à La Préparation de Glycoamino Acides et de Peptidomimétiques, These de doctorat, Université de Lorraine, **2015**.
- [316] P. Langer, I. Freifeld, *Chem. – Eur. J.* **2001**, 7, 565–572.
- [317] T. Andreou, A. M. Costa, L. Esteban, L. González, G. Mas, J. Vilarrasa, *Org. Lett.* **2005**, 7, 4083–4086.
- [318] R. A. Green, K. E. Jolley, A. A. M. Al-Hadedi, D. Pletcher, D. C. Harrowven, O. De Frutos, C. Mateos, D. J. Klauber, J. A. Rincón, R. C. D. Brown, *Org. Lett.* **2017**, 19, 2050–2053.
- [319] D. L. Boger, S. Ichikawa, W. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 4161–4167.
- [320] K. S. Ravikumar, D. Farquhar, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 1367–1368.
- [321] M. E. Jung, P. Koch, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 6051–6054.
- [322] K. J. Hodgetts, T. W. Wallace, *Synth. Commun.* **1994**, 24, 1151–1155.
- [323] P. R. Bovy, J. G. Rico, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 8015–8018.
- [324] M. J. Bouchet, A. Rendon, C. G. Wermuth, M. Goeldner, C. Hirth, *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 2222–2227.
- [325] J. Francuz, M. Popsavin, S. Djokić, V. Kojić, T. Srdić-Rajić, M. V. Rodić, D. Jakimov, V. Popsavin, *MedChemComm* **2018**, 9, 2017–2027.
- [326] V. Popsavin, J. Francuz, B. Srećo Zelenović, G. Benedeković, M. Popsavin, V. Kojić, G. Bogdanović, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 5507–5510.
- [327] L. G. Melean, K. R. Love, P. H. Seeberger, *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 1893–1916.
- [328] S. Eising, F. Lelivelt, K. M. Bongers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 12243–12247.
- [329] M. Porel, D. N. Thornlow, N. N. Phan, C. A. Alabi, *Nat. Chem.* **2016**, 8, 590–596.

- [330] J. M. Smith, F. Vitali, S. A. Archer, R. Fasan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5075–5080.
- [331] P. V. Sri Ramya, S. Angapelly, L. Guntuku, C. Singh Digwal, B. Nagendra Babu, V. G. M. Naidu, A. Kamal, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 100–114.
- [332] D. C. Braddock, R. H. Pouwer, J. W. Burton, P. Broadwith, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 6042–6049.
- [333] A. G. Giri, G. F. Jogdand, P. R. Rajamohanam, S. K. Pandey, C. V. Ramana, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 2656–2663.
- [334] C. Fernández, O. Nieto, J. A. Fontenla, E. Rivas, M. L. de Ceballos, A. Fernández-Mayoralas, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 767–771.
- [335] M. Zuffo, A. Stucchi, J. Campos-Salinas, M. Cabello-Donayre, M. Martínez-García, E. Belmonte-Reche, J. M. Pérez-Victoria, J. L. Mergny, M. Freccero, J. C. Morales, F. Doria, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *163*, 54–66.
- [336] J. S. Davies, C. L. Higginbotham, E. J. Tremeer, C. Brown, R. C. Treadgold, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1992**, 3043.
- [337] J. Hoffmann, U. Kazmaier, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 11356–11360.
- [338] D. Hirose, M. Gazvoda, J. Košmrlj, T. Taniguchi, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 4712–4729.
- [339] X. Lei, R. P. Johnson, J. A. Porco, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4043–4047.
- [340] V. Popsavin, O. Berić, M. Popsavin, L. Radić, J. Csanádi, V. Ćirin-Novta, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 5929–5940.
- [341] Q. Glenadel, Y. Nassar, L. Raffier, S. Veys, O. Piva, *Tetrahedron* **2018**, *74*, 5367–5373.
- [342] L. N. Goswami, Z. H. Houston, S. J. Sarma, S. S. Jalisatgi, M. F. Hawthorne, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 1116.
- [343] X.-S. Peng, R. M. P. Ylagan, Y. M. Siu, H. N. C. Wong, *Chem. - Asian J.* **2015**, *10*, 2070–2083.
- [344] T. K. M. Shing, H. Tsui, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 432–432.
- [345] P. Tuchinda, B. Munyoo, M. Pohmakotr, P. Thinapong, S. Sophasan, T. Santisuk, V. Reutrakul, *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1728–1733.
- [346] C. Cagnolini, M. Ferri, P. R. Jones, P. J. Murphy, B. Ayres, B. Cox, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4815–4820.
- [347] P. J. Murphy, S. T. Dennison, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 6695–6700.
- [348] G. V. M. Sharma, S. Mallesham, *Tetrahedron Asymmetry* **2010**, *21*, 2646–2658.
- [349] Y. Zhang, X. Liu, F. Shui, F. Zhou, J. Cui, X. Chen, *Tetrahedron Lett.* **2019**, *60*, 1784–1787.
- [350] M. Ralph, S. Ng, K. I. Booker-Milburn, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 968–971.
- [351] K. R. Prasad, S. L. Gholap, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2–11.
- [352] V. Popsavin, G. Benedeković, B. Srećo, J. Francuz, M. Popsavin, V. Kojić, G. Bogdanović, V. Divjaković, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 10596–10607.
- [353] V. Popsavin, B. Srećo, G. Benedeković, J. Francuz, M. Popsavin, V. Kojić, G. Bogdanović, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2876–2883.
- [354] V. Popsavin, S. Grabež, M. Popsavin, I. Krstić, V. Kojić, G. Bogdanović, V. Divjaković, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9409–9413.
- [355] J. Francuz, B. Srećo, M. Popsavin, G. Benedeković, V. Divjaković, V. Kojić, G. Bogdanović, A. Kapor, V. Popsavin, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1819–1822.
- [356] J. Francuz, I. Kovačević, M. Popsavin, G. Benedeković, B. S. Zelenović, V. Kojić, D. Jakimov, L. Aleksić, G. Bogdanović, T. Srdić-Rajić, E. Lončar, M. V. Rodić, V. Divjaković, V. Popsavin, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *128*, 13–24.
- [357] G. Benedeković, J. Francuz, I. Kovačević, M. Popsavin, B. S. Zelenović, V. Kojić, G. Bogdanović, V. Divjaković, V. Popsavin, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *82*, 449–458.
- [358] M. Svirčev, G. Benedeković, I. Kovačević, M. Popsavin, V. Kojić, D. Jakimov, T. Srdić-Rajić, M. V. Rodić, V. Popsavin, *Tetrahedron* **2018**, *74*, 4761–4768.

- [359] G. Benedeković, M. Popsavin, J. Francuz, I. Kovačević, V. Kojić, G. Bogdanović, V. Divjaković, V. Popsavin, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *87*, 237–247.
- [360] G. Benedeković, I. Kovačević, M. Popsavin, J. Francuz, V. Kojić, G. Bogdanović, V. Popsavin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 3318–3321.
- [361] V. R. Vukic, D. M. Loncar, D. V. Vukic, L. R. Jevric, G. Benedekovic, J. Francuz, V. Kojic, M. Z. Karadzic Banjac, V. Popsavin, *Comput. Biol. Chem.* **2019**, *83*, 107112.
- [362] G. Benedeković, I. Kovačević, M. Popsavin, J. Francuz, V. Kojić, G. Bogdanović, V. Popsavin, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 4581–4589.
- [363] M. Lakhri, Y. Chapleur, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 750–752.
- [364] V. Popsavin, G. Benedeković, B. Srećo, M. Popsavin, J. Francuz, V. Kojić, G. Bogdanović, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4235–4238.
- [365] M. Popsavin, M. Svirčev, L. Torović, G. Bogdanović, V. Kojić, D. Jakimov, S. Spaić, L. Aleksić, V. Popsavin, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 6847–6858.
- [366] R. J. Cox, J. S. Gibson, M. B. Mayo Martín, *ChemBiochem Eur. J. Chem. Biol.* **2002**, *3*, 874–886.
- [367] R. J. Cox, M. B. Mayo-Martín, A. T. Hadfield, *Chem. Commun.* **2001**, 1710–1711.
- [368] M. S. Gadd, A. Testa, X. Lucas, K.-H. Chan, W. Chen, D. J. Lamont, M. Zengerle, A. Ciulli, *Nat. Chem. Biol.* **2017**, *13*, 514–521.
- [369] Y. Suka, Y. Harada, T. Watanabe, S. Nonaka, *United States Patent Application: 0160159831 - METHOD FOR PRODUCING POLYALKYLENE GLYCOL DERIVATIVE HAVING AMINO GROUP AT END*, **A1**, 20160159831.
- [370] H. Feuer, J. Hooz, in *Ether Link. 1967* (Ed.: S. Patai), John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK, **1967**, pp. 445–498.
- [371] C. Mai, T. Elder, in *Ref. Module Mater. Sci. Mater. Eng.*, Elsevier, **2016**, p. B9780128035818035000.
- [372] In *Compr. Org. Name React. Reag.*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2010**, p. conrr673.
- [373] J.-P. Ebran, N. Dendane, O. Melnyk, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 4336–4339.
- [374] X.-B. Meng, H. Li, Q.-H. Lou, M.-S. Cai, Z.-J. Li, *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1497–1501.
- [375] S. Binauld, C. J. Hawker, E. Fleury, E. Drockenmuller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6654–6658.
- [376] Md. D. Hossain, Z. Jia, M. J. Monteiro, *Macromolecules* **2014**, *47*, 4955–4970.
- [377] A.-S. Felten, N. Pellegrini-Moise, K. Selmezi, B. Henry, Y. Chapleur, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 5645–5654.
- [378] K. Umezawa, A. Matsui, Y. Nakamura, D. Citterio, K. Suzuki, *Chem. - Eur. J.* **2009**, *15*, 1096–1106.
- [379] E. A. te Velde, Th. Veerman, V. Subramaniam, Th. Ruers, *Eur. J. Surg. Oncol.* **2010**, *36*, 6–15.
- [380] A. Chevalier, K. Renault, F. Boschetti, P.-Y. Renard, A. Romieu, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 152–165.
- [381] Q. Yang, H. Ma, Y. Liang, H. Dai, *Acc. Mater. Res.* **2021**, *2*, 170–183.
- [382] N. Petry, T. Vucko, C. Collet, S. Lamandé-Langle, N. Pellegrini-Moise, F. Chrétien, *Carbohydr. Res.* **2017**, *445*, 61–64.
- [383] N. E. Batoux, F. Paradisi, P. C. Engel, M. E. Migaud, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 6609–6617.
- [384] A. Defoin, M. Joubert, J.-M. Heuchel, C. Strehler, J. Streith, *Synthesis* **2000**, *2000*, 1719–1726.
- [385] M. A. Brun, K.-T. Tan, R. Griss, A. Kielkowska, L. Reymond, K. Johnsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7676–7678.
- [386] D. Stenkamp, S. G. Mueller, T. Lehmann-Lintz, G. J. Roth, J. Kley, K. Rudolf, A. Heckel, M. Schindler, R. Lotz, *New Pyridone Derivatives with Mch Antagonistic Activity and Medicaments Comprising These Compounds*, **2008**.

- [387] D. Hamprecht, A. Heckel, J. Kley, *Heterocyclic Compounds, Medicaments Containing Said Compounds, Use Thereof and Processes for the Preparation Thereof*, **2014**.
- [388] O. E. Vercillo, C. K. Z. Andrade, L. A. Wessjohann, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 205–208.
- [389] Y. Li, Y. Liu, L. Zhang, Y. Xu, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2012**, *55*, 229–234.

Résumé

Les travaux présentés dans cette thèse concernent des dérivés saccharidiques de type C-glycosidiques pour lesquels de nouvelles méthodologies synthétiques ainsi que des applications dans le domaine de l'imagerie TEP/FPIR ont été développées.

Certains peptides possèdent un rôle majeur dans la thérapie et le diagnostic de diverses pathologies, le fait de les conjuguer à un fluorophore et un radioélément permet de réaliser des diagnostics précis et d'envisager des applications théranostiques par chirurgie.

L'objectif a été de mettre au point la synthèse de sondes duales (radio)fluorées et fluorescentes pour l'imagerie bimodale TEP/FPIR. Ceci a nécessité une stratégie synthétique élaborée pour introduire un atome de fluor et un fluorophore de type cyanine, tous deux étant les sondes d'imagerie spécifiques TEP et FPIR. Deux stratégies principales ont été développées pour la synthèse de ces outils : la fonctionnalisation d'une plate-forme de type C-glycosidique comportant un motif [3.3.0]furofuranone et la fonctionnalisation d'une plate-forme de type C-glycosidique polyhydroxylée. Les stratégies de synthèse de type protection/déprotection ont permis la mise en place de ces divers éléments suivi de la conjugaison de deux peptides dérivés du RGD par réaction "Click" de type CuAAC. L'affinité de deux dérivés divalents fluorés et fluorescents vis à vis des intégrines est du même ordre de grandeur (40 nM) que celle du peptide seul, mettant en évidence le bénéfice de la divalence de l'agent. La radiofluoration d'une sonde duale a été réalisée avec succès permettant d'envisager des applications en imagerie *in vivo* par TEP et FPIR ainsi qu'en chirurgie guidée par fluorescence

Mots clés : dérivés C-glycosidiques, [3.3.0]furofuranone, RGD, cyanine, fluor-18, imagerie bimodale, TEP, FPIR

Abstract

The work developed in this thesis deals with C-glycosyl compounds for which new synthetic methodologies and applications in PET/NIRF imaging have been developed.

Some peptides have a major role in the therapy and diagnostic of diverse pathologies and their conjugation with a fluorophore and a radioelement allow precise diagnostic and potential theranostic applications by surgery.

The goal was to develop the synthesis of (radio)fluorinated and fluorescent dual probes for bimodal PET/NIRF imaging. An elaborated synthetic strategy was required to introduce a fluorine atom and a cyanine-type fluorophore, both being the specific probes of PET and NIRF imaging. Two main strategies were developed for the synthesis of these tools: the functionalization of C-glycosyl derivative including a [3.3.0]furofuranone scaffold and the functionalization of polyhydroxylated C-glycosyl compound.

The protection/deprotection synthetic strategies have made possible the setting up of these various elements followed by the conjugation of two peptidic RGD derivatives by CuAAC "Click" reaction. The affinity of the two fluorinated and fluorescent derivatives for the integrins was in the same range (40 nM) than the RGD peptide alone, highlighting the benefit of the divalence of the agent. The radiofluorination of a dual PET/NIRF probe have been successfully achieved, allowing application for *in vivo* PET and NIRF imaging as well as NIRF-guided surgery.

Key words: C-glycosyl compound, [3.3.0]furofuranone, RGD, cyanine, fluor-18, bimodal imaging, PET, NIRF.