

Évaluation d'un ylore d'iodonium et d'un dérivé organique synthèse de la [18F]fluorobenzylamine.

Auteur : Tchernychev, Andrei

Promoteur(s) : Luxen, Andre

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master en sciences chimiques, à finalité approfondie

Année académique : 2017-2018

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/5583>

Avertissement à l'attention des usagers :

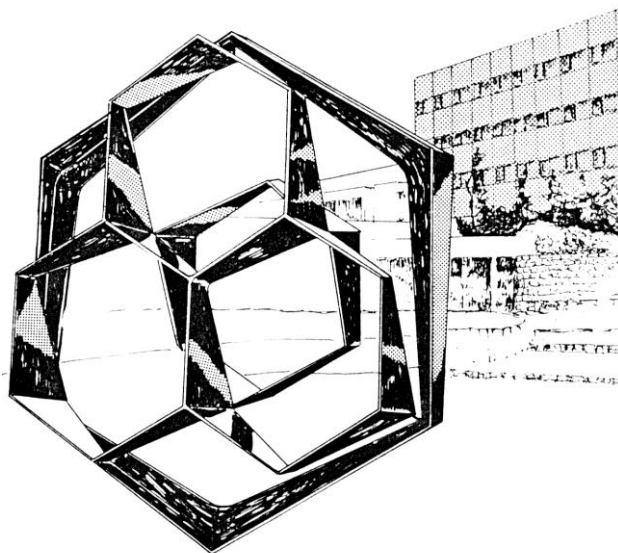
Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

FACULTE DES SCIENCES
Département de Chimie

Centre de Recherches du Cyclotron - Luxen André

**Evaluation d'un ylore d'iodonium et d'un dérivé
organostannique en vue de la synthèse de la
[¹⁸F]fluorobenzylamine.**



Année académique 2017-2018

Dissertation présentée par
Tchernychev Andrei
en vue de l'obtention du diplôme de
Master en Sciences Chimiques

Remerciements

Je consacre cette page afin de remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

Plus particulièrement au Pr.André Luxen, qui m'a permis d'effectuer mon mémoire au sein du Centre de Recherches du Cyclotron, reconnu pour son expertise dans le domaine de la radiochimie.

Le Dr.Christian Lemaire pour le temps qu'il m'a consacré, pour ses conseils avisés et toute l'expérience, acquise durant de nombreuses années, qu'il a pu me transmettre.

Silvestre Dammicco et Nicolas Lamborelle pour leur aide lors des manipulations.

Merci aussi au Dr.Jean-Christophe Monbaliu et au Pr.Albert Demonceau d'avoir accepté de faire partie de mon comité de relecture.

Merci à tous les membres de CRC pour la convivialité et la bonne entente au sein du laboratoire qui a contribué au bon déroulement de ce mémoire.

Finalement, je tiens aussi à remercier ma famille et mes amis qui m'ont soutenu tout au long de mes études et en particulier lors de cette dernière année. Plus particulièrement Céline, pour son aide lors de la relecture de ce travail.

Abréviations utilisées

[¹⁸F]FBAz: azoture de [¹⁸F]fluorobenzyle

[¹⁸F]FBBA: N-4 [¹⁸F](fluorobenzyl)-2-bromoactétamide

[¹⁸F]FBN: [¹⁸F]fluorobenzonitrile

[¹⁸F]FUdR: [¹⁸F]fluoro-2'-desoxyuridine

L-[¹⁸F]fluoroDOPA: L-3,4-dihydroxy-6-[¹⁸F]fluorophénylalanine

[¹⁸F]PFH: [¹⁸F]fluorohippurate

[¹⁸F]FDG): 2-desoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose

[¹⁸F]: OMFD 3-O-méthyl-6-[¹⁸F]fluoro-1-DOPA

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

AIO: All In One

ARN: Acide RiboNucléique

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

cGMP: current Good Manufacturing Practice

CRC: Centre de Recherches du Cyclotron

dc: decay corrected

DIB: Diacetoxyiodoarene

DCM: Dichlorométhane

EP: Ether de pétrole

EtOH: Ethanol

FBzCN : p-fluorobenzonitrile

IBzNH : p-fluorobenzylamine

FNHBoc : p-fluorobenzylaminecarbamate

IBzCN : p-iodobenzonitrile

IBzNH : p-iodobenzylamine

INHBOC : p-iodobenzylaminecarbamate

IRM: Imagerie par Résonance Magnétique (Nucléaire)

LC: Chromatographie Liquide

MBP: Maltose Binding Protein

m-CPBA: Acide méta-chloroperoxybenzoïque

MeOH: Méthanol

MM: Masse Moléculaire

n.c.a.: no-carrier-added

ndc: no decay-corrected

NMM: N-methylmorpholine

PVC: PolyVinylChloride

RCY: Radio Chemical Yield

SE: Substitution électrophile

SN: Substitutions nucléophile

$t_{1/2}$: Temps de demi-vie

T: Température

TC: Tomographie Computationnelle

TEP: Tomographie par Emission de Positrons

TFE: TriFluoroEthanol

Table des matières

Chapitre 1 : Introduction	7
1.1.Principe de la Tomographie par Emission de Positrons	8
1.2.Production de fluor-18 par cyclotron	9
1.3.TEP et imagerie médicale	11
1.4.Applications des radiopharmaceutiques fluorés	11
1.5.But de la recherche	13
Chapitre 2 : Etat de l'art	18
2.1.Fluoration	19
2.1.1.Voie électrophile.....	19
2.1.2.Voie nucléophile	20
2.2.Voie de synthèse de la [¹⁸ F]FBA	21
2.3.Ylure d'Iodonium	22
2.3.1.Oxydation.....	23
2.3.2.Formation de l'ylure	24
2.4.Organostannates.	26
2.5.Fluoration catalysée au cuivre	28
2.6.Travaux précédents réalisés au CRC	33
Chapitre 3 : Résultats et discussions	35
3.1.Synthèse du p-iodobenzylaminocarbamate	36
3.2.Ylure d'aryliodonium	37
3.2.1.Oxydation.....	37
3.2.2.Couplage avec l'acide de Meldrum	38
3.3.Dérivés organostanniques	40
3.4.Synthèse de la [¹⁸ F]FBA	42
3.4.1.Récupération du fluor-18	43
3.4.2.Evaporation du solvant d'élution	45
3.4.3.Marquage.....	45
3.4.3.1.Influence de la quantité de précurseur.....	48
3.4.3.2.Impact de la quantité de catalyseur	48
3.4.3.3.Influence du temps de réaction.....	49

3.4.4. Déprotection du groupement amine.....	50
3.4.5. Pré-purification sur cartouche tC18	52
3.4.6. Identification	53
3.4.7. Automatisation.	56
3.5. <i>Couplage avec l'o-nitrobenzaldéhyde.</i>	58
3.5.1. Formation de l'imine.	58
3.5.2. Réduction de l'imine.	60
3.5.3. Identification	61
3.6. <i>Couplage avec le maltose</i>	62
Chapitre 4 : Conclusions et perspectives	63
Chapitre 5 : Partie expérimentale	66
5.1. <i>Matériel</i>	67
5.2. <i>Méthodes</i>	68
Chapitre 6 : Bibliographie	73
Chapitre 7: Annexes	81

Chapitre 1 : Introduction

1. Introduction

1.1. Principe de la Tomographie par Emission de Positrons

La Tomographie par Emission de Positrons (TEP ou PET Positron Emission Tomography en anglais) est une technique d'imagerie médicale développée dans les années 70, utilisant des agents de contrastes radioactifs, émetteurs de positrons (β^+ , antiparticule de l'électron) (**Schéma 1**). Cette réaction consiste en la désintégration d'un proton en excès dans le noyau, en neutron ce qui génère un β^+ et un neutrino (ν_e , particule subatomique neutre dont la masse est proche de 0).

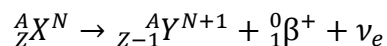


Schéma 1: Désintégration radioactive β^+ [1].

C'est une technique dite « fonctionnelle », c'est-à-dire, qu'elle donne des informations et un suivi visuel de processus biologiques et biochimiques, plutôt que de fournir principalement des informations structurales comme l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) ou la Tomographie Computationnelle (TC). Cependant, un couplage entre ces techniques se révèle extrêmement utile car cela permet de combiner les avantages des deux techniques et ainsi d'obtenir une information spatiale des événements biochimiques qui ont lieu. Le principe général de la méthode consiste à injecter au patient une molécule dont l'un de ses atomes constitutifs a été remplacé par un atome radioactif, émetteur de positrons. L'isotope radioactif est ajouté à une molécule, qui interagit in vivo spécifiquement avec une cible biologique préalablement choisie. Les émetteurs β^+ couramment utilisés sont le fluor-18 ($t_{1/2} = 109$ minutes), le gallium-68 ($t_{1/2} = 68$ minutes), le carbone-11 ($t_{1/2} = 20,4$ minutes) l'azote-13 ($t_{1/2} = 10$ minutes) et l'oxygène-15 ($t_{1/2} = 2$ minutes) pour leurs rendements de désintégration β^+ élevés (supérieur à 90%) [2]. Une fois la molécule injectée au patient, la distribution de la radioactivité est suivie en temps réel.

In vivo, les positrons parcourent un trajet court, de l'ordre de quelques millimètres, au vu de leur faible énergie cinétique (634 keV), dans le cas du fluor-18 [2]. Cette propriété entraîne une résolution accrue lors de l'utilisation de cet isotope [1]. Le positron perd toute son énergie cinétique et se combine avec un électron en produisant, respectivement, deux photons γ de 511 keV émis dans des directions opposées selon le principe de la conservation de la quantité de mouvement [3]. Les photons émis sont détectés par les détecteurs placés autour du patient. Une reconstruction, par ordinateur, d'une image tridimensionnelle de la distribution du composé marqué est possible (**Figure 1**).

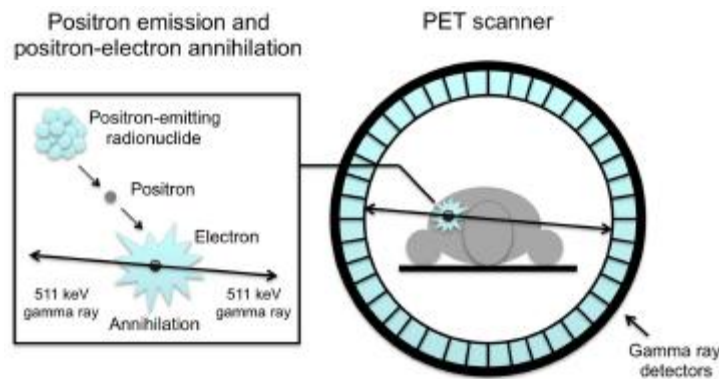


Figure 1: Principe général du fonctionnement de la TEP [4].

Bien qu'une multitude d'émetteurs de positrons soient disponibles, le fluor-18 est probablement le plus intéressant. Sa longue durée de vie, comparativement à celle des autres principaux émetteurs beta, permet d'effectuer des synthèses et des études cliniques relativement longues, qui ne sont pas possibles avec ces autres émetteurs β . De plus, les radiopharmaceutiques pourront être acheminés vers des centres d'examen plus éloignés des centres de production. Le temps de vie reste suffisamment court pour ne pas entraîner trop de nuisances chez le patient. Le fluor est fréquemment utilisé en pharmacologie car son faible rayon de Van der Waals, semblable à celui de l'hydrogène (1,47 Å contre 1,2 Å), n'entraîne pas de modifications stériques importantes. En revanche, sa forte électronégativité peut induire un changement des propriétés électroniques de la molécule [4]. Il est ainsi possible de synthétiser des analogues radioactifs de certains médicaments et de suivre leur parcours in vivo. Cela permet des études pharmacocinétiques de la distribution et de l'excrétion de la molécule.

1.2. Production de fluor-18 par cyclotron

Les émetteurs β^+ sont généralement produits par cyclotron. Les cyclotrons sont des accélérateurs électromagnétiques à hautes fréquences. Ils ont été inventés en 1929 par Ernest Lawrence et Milston Livingston, ce qui a valu à Lawrence le prix Nobel de physique en 1939. Le principe de fonctionnement de ce type d'accélérateur est relativement simple. Il consiste à confiner et accélérer les particules au moyen de champs électriques et magnétiques. Le cyclotron est constitué de trois parties principales. Nous discernons deux aimants en forme de « D », nommés les « Dee's », séparés chacun par un espace où règne un champ électrique intense (\vec{E}). La première étape consiste à, introduire et ioniser dans la source de l'hydrogène par exemple, pour en extraire les H^+ ou les H^- à accélérer. Le champ électrique et le champ magnétique (\vec{B}) permettront d'accélérer et d'induire une trajectoire courbe à la particule, selon la loi de Lorentz (Figure 2).

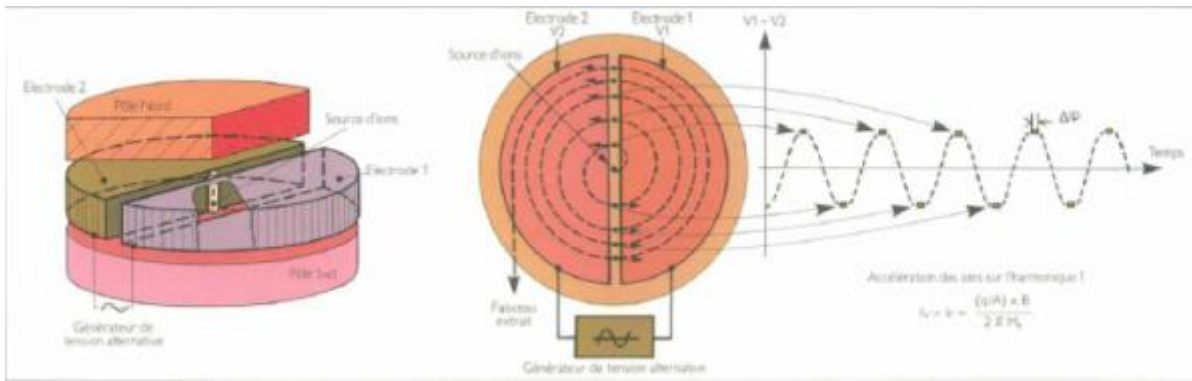


Figure 2: Fonctionnement d'un accélérateur de particules à résonance cyclotronique (cyclotron) [5].

Lorsque la particule a parcouru un des deux aimants semi-circulaires, cette dernière est accélérée. Elle entre dans le deuxième aimant, où le potentiel est inversé par rapport à la situation précédente. De nouveau, la particule voit sa trajectoire courbée dans la direction opposée. Ainsi en répétant le processus un grand nombre de fois, une accélération importante des particules est produite. Une fois que les particules ont atteint une énergie suffisante, elles sont extraites du cyclotron et bombardent une cible. Ici, le cyclotron, IBA Cyclone 18/9 utilisé au Centre de Recherches du Cyclotron (CRC) peut fournir un faisceau de protons accélérés d'une énergie de 18 MeV.

Dans les années 80, la réaction nucléaire $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ était principalement utilisée pour la production de fluor-18 [6]. Cette réaction consiste à bombarder une cible contenant du néon-20 avec un faisceau de deutons. Cette technique permettait seulement la production de fluor sous forme gazeuse, qui ne pouvait être récupéré des cibles qu'avec un autre gaz comme vecteur (F_2). L'utilisation de ce porteur a pour conséquences, de produire une dilution isotopique des atomes radioactifs, ce qui entraîne des marquages avec de faibles activités spécifiques. De plus, l'utilisation d'un gaz porteur toxique comme le F_2 nécessite un appareillage plus conséquent et un personnel qualifié afin de pouvoir être manipulé. Cette méthode n'est presque plus utilisée actuellement.

La méthode actuelle (**Schéma 2**), adoptée dans les années 90 pour sa meilleure efficacité, consiste à bombarder une cible en niobium contenant de l'eau enrichie en oxygène-18, avec un faisceau de proton. Elle conduit à la production de fluor-18 en solution aqueuse. [7]. L'eau, enrichie en oxygène-18, contenant le fluor est ensuite récupérée. Les $^{18}\text{F}^-$ sont extraits au moyen d'une résine échangeuse d'ions.

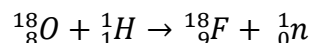


Schéma 2: Réaction nucléaire de production du $^{18}\text{F}^-$ [8].

1.3. TEP et imagerie médicale

A l'heure actuelle, nous assistons à un développement important de la TEP en tant qu'outil pour l'étude du vivant. Cependant, quel que soit le type de molécules à marquer, certaines difficultés peuvent se présenter. Premièrement, la chimie du fluor reste une chimie complexe, difficile à mettre en œuvre. Elle nécessite souvent des conditions de marquage dures (utilisation de bases fortes, températures élevées, etc). Si pour de petites molécules, ces conditions ne sont pas problématiques, cela le devient avec les macromolécules biologiques, qui peuvent se dégrader dans ces conditions. Ces molécules sont par conséquent généralement marquées au départ de petites molécules, nommées groupements prosthétiques [9]. Pour pouvoir utiliser ces groupements prosthétiques, des voies de couplage subséquentes, rapides et aisées doivent être mise en œuvre. Il est donc indispensable de développer de nouvelles voies de synthèse les plus rapides et les plus performantes possible, surtout au vu du faible $t_{1/2}$ du fluor-18, afin de fournir au médecin l'arsenal le plus complet possible de composés radiopharmaceutiques utilisables pour la compréhension et le traitement des maladies.

1.4. Application des radiopharmaceutiques fluorés

La TEP permet d'étudier divers processus biologiques tels que la neurotransmission, l'activité enzymatique ou l'inhibition protéique. Elle se révèle notamment particulièrement utile dans l'étude de nombreuses maladies neurodégénératives telles que les maladies de Huntington, Alzheimer ou Parkinson [9] ainsi qu'en oncologie [10].

A l'heure actuelle, différentes molécules, marquées au fluor-18, sont utilisées pour le diagnostic de diverses pathologies. Citons par exemple la L-3,4-dihydroxy- ^{18}F fluorophénylalanine (L- ^{18}F fluoroDOPA, **Schéma 3**), qui nous permet de mieux comprendre la maladie de Parkinson. C'est un précurseur de la dopamine, un neurotransmetteur agissant sur les récepteurs dopaminergiques [11].

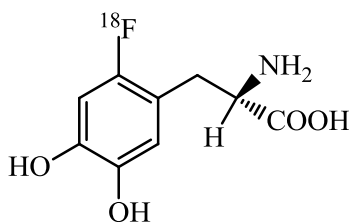


Schéma 3: Structure de la L- ^{18}F fluoroDOPA.

Une autre molécule couramment utilisée est le 2-desoxy-2- ^{18}F fluoro-D-glucose (^{18}F FDG) [12]. Il constitue un analogue du glucose permettant de détecter des cellules cancéreuses ou des inflammations (**Schéma 4**) [13].

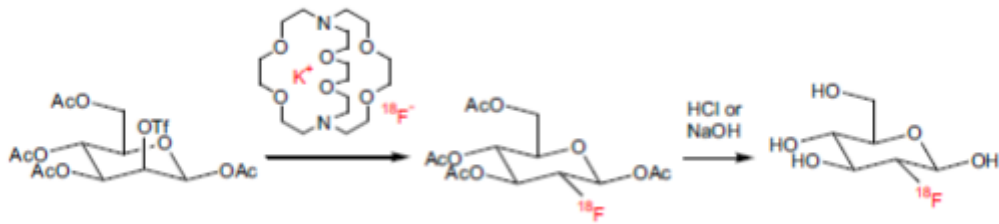


Schéma 4: Synthèse de la [¹⁸F]FDG d'après He et al [14]. a) Marquage au moyen de K¹⁸F (kryptofix K₂₂₂) b) Génération des groupements hydroxyles en milieu acide ou basique.

Le CRC a également travaillé sur le sujet. Il a amélioré le processus en mettant au point une voie de synthèse entièrement automatisée, qui à l'heure actuelle est la méthode utilisée au niveau mondial pour la production de ce traceur [15]. Le [¹⁸F]FDG est synthétisé par substitution nucléophile par le fluor-18 d'un groupement hydroxyle préalablement transformé en un meilleur groupement partant.

Le principe d'action de l'agent de contraste est simple. Les cellules cancéreuses, suite à leur multiplication rapide, nécessitent un apport énergétique important et sont donc de grandes consommatrices de glucose. Une fois le glucose incorporé, ce dernier est phosphorylé une première fois par une glucokinase, protéine permettant la transformation du glucose en une forme assimilable pour la cellule. Dans le cas du glucose, une seconde phosphorylation le transforme en une forme assimilable pour la cellule. Dans le cas du [¹⁸F]FDG, la substitution d'un groupement hydroxyle par l'atome de fluor empêche cette deuxième phosphorylation (**Schéma 5**). Cela entraîne son accumulation dans la cellule et va ainsi permettre d'observer des cellules cancéreuses lors de l'examen.

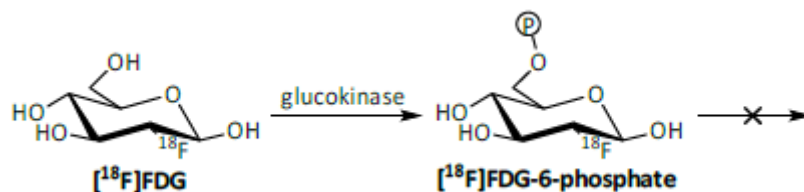


Schéma 5: Phosphorylation du glucose par la glucokinase [16].

Le signal observé est proportionnel à la quantité de glucose absorbée par la cellule. Dès lors, une distinction des cellules anormales est possible sur base de cette quantité absorbée [17]. Ensuite, au fur et à mesure que le fluor se désintègre en ¹⁸O, ce dernier peut alors être protoné. La molécule peut ainsi continuer sa métabolisation et ensuite être éliminée par voie naturelle [18]. Cependant, le [¹⁸F]FDG n'est pas toujours spécifique et ne permet pas de distinguer facilement les inflammations de certaines cellules cancéreuses.

1.5. But de la recherche

Un autre type de maladies bien connue et difficile à visualiser sont les infections bactériennes. A l'heure actuelle, ces dernières ne peuvent être détectées qu'après que les effets néfastes se soient manifestés, ce qui rend donc le traitement préventif impossible. Plus une infection est traitée rapidement, plus grande sera la chance que cette dernière puisse être enrayerée. Il a donc été proposé d'utiliser la TEP dans ce but [19] [20] [21] [22]. Le [^{18}F]FDG peut être utile pour détecter certaines infections bactériennes mais reste cependant trop peu spécifique. Des faux positifs peuvent apparaître [23]. Une nouvelle cible, la maltodextrine, dont la structure est disponible à la **Figure 3** a donc été proposée.

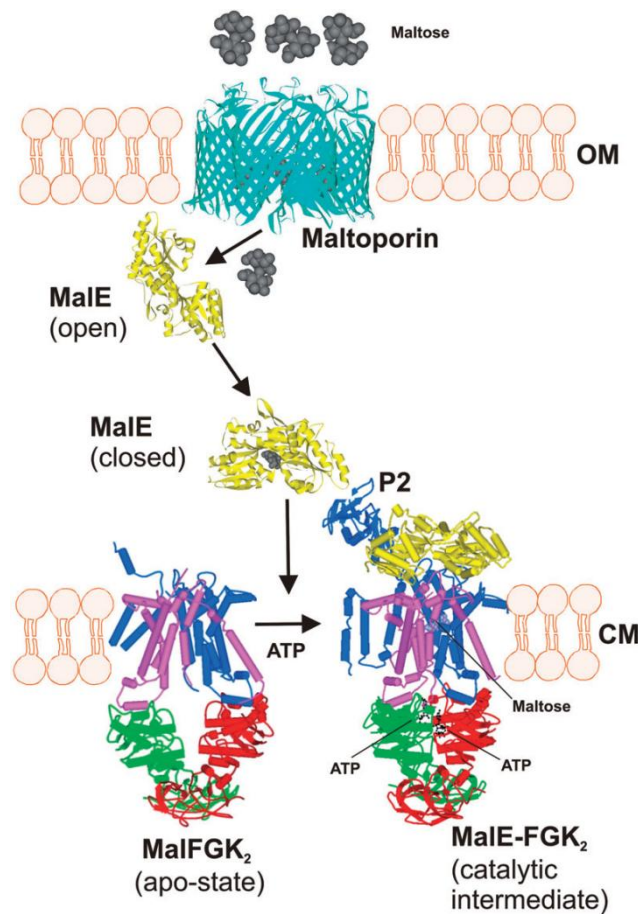


Figure 3: Structure et mécanisme du fonctionnement de la maltodextrine lors du transport du maltose au travers de la membrane cellulaire [24].

La maltodextrine est une protéine présente à la surface des bactéries. C'est une ATPase, nécessitant la consommation d'ATP pour permettre d'incorporer le maltose dans le milieu intracellulaire [23]. Elle leur permet de reconnaître spécifiquement le maltose ou ses dérivés oligosaccharidiques, ce qui autorise son entrée dans la cellule afin que le maltose puisse être dégradé en glucose et ainsi assimilable par les bactéries [25] [26]. Elle est constituée :

- D'une maltose binding protein (MaIE) reconnaissant le maltose et permettant son transport dans l'espace inter-membranaire.
- De deux unités formant le pore (MaIF, MaIG).
- D'un homodimère (MaIK₂) servant à la liaison avec l'ATP.

Il a été montré par Chen et al [27], que différents substrats sont reconnaissables et incorporables par la matodextrine, une liste de ces différentes molécules est disponible sur le **Schéma 6**.

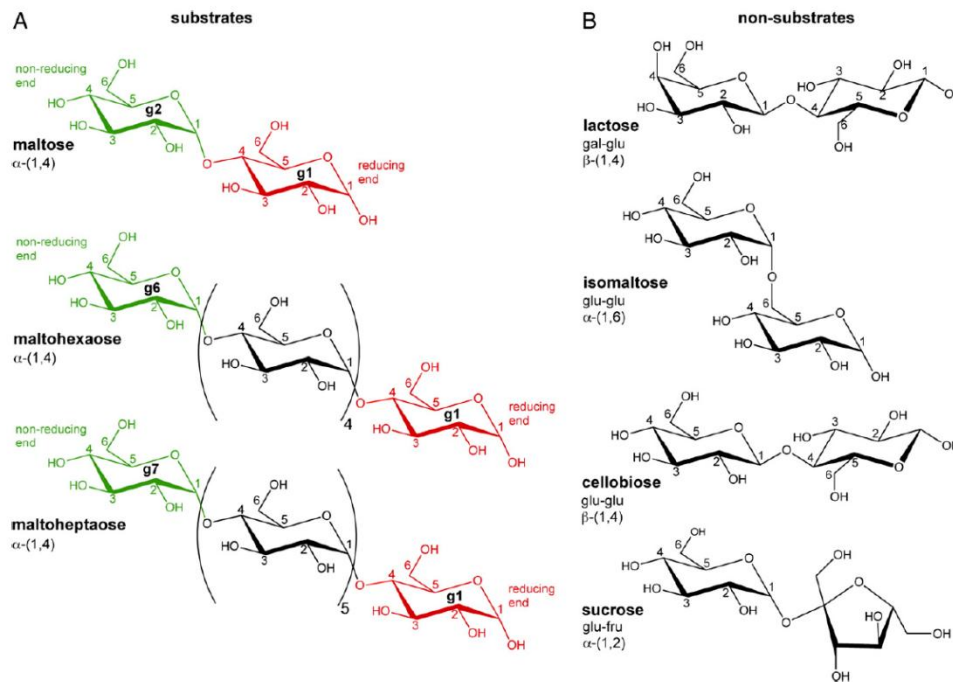


Schéma 6: Substrats reconnaissables ou non par la maltodextrines a) Substrats potentiels b) Substrats non-compatibles [27].

Ce récepteur a été choisi pour plusieurs raisons [28]:

- Premièrement, il n'est pas présent à la surface des cellules des mammifères, ce qui devrait permettre un ciblage spécifique des cellules procaryotes pathogènes (**Figure 4**).
- Deuxièmement, comme le maltose est une source importante d'énergie pour les bactéries, des concentrations de l'ordre du mM peuvent être atteintes. Une détection d'un faible nombre de bactéries devrait être possible, ce qui permettrait ainsi de détecter l'infection rapidement.
- Finalement, les oligomères de glucose ne peuvent traverser ni la paroi intestinale, ni cutanée, ce qui devrait empêcher une absorption par les autres bactéries et donc faciliter la mise en évidence des tissus infectés.

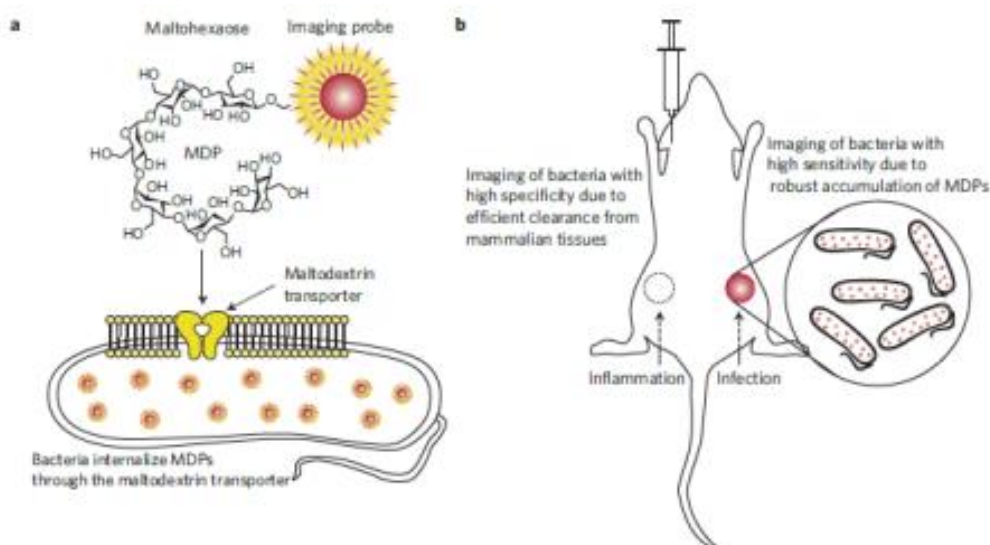


Figure 4: a) Principe d'imagerie lors de la détection d'infections bactériennes par TEP b) Schéma de la mise en évidence sélective de l'infection par rapport à une inflammation chez la souris. [28].

C'est dans cette optique que nous allons, au cours de ce travail, essayer de synthétiser la p-[^{18}F]fluorobenzylamine (^{18}F FBA, **Figure 5**), afin de la coupler à une molécule de maltose et d'en faire un marqueur pour la détection spécifique des infections bactériennes.

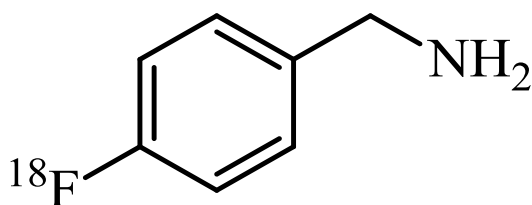


Figure 5: Structure de la 4-[^{18}F]fluorobenzylamine.

Cette réaction a été choisie car elle respecte certaines conditions :

- Son couplage, avec des dérivés du maltose, devrait être réalisable au moyen d'une réaction d'amination réductrice [29] [30] [31].
- Le sucre marqué devrait toujours être reconnaissable par le système de transporteur [27].
- La réaction de couplage devrait être compatible avec les fonctions hydroxyles du maltose, ce qui permet d'outrepasser une réaction de protection préalable et la déprotection qui s'en suit.

Cette réaction d'amination réductrice procède en deux étapes. La première est le couplage entre la (^{18}F FBA) et le groupement carbonyle, formant ainsi l'imine correspondante. Ensuite, une réduction au moyen de NaBH_4 est réalisée afin d'obtenir l'amine secondaire.

Un autre avantage de cette technique est que le marquage est réalisé sur un noyau aromatique. Ceci devrait offrir moins de risques de défluoruration in vivo. Cependant, plusieurs

problèmes se présentent à nous. Le premier est dû au court $t_{1/2}$ du fluor-18. L'étape de marquage devrait donc idéalement être effectuée lors de la dernière étape de la synthèse. D'autre part, une attaque nucléophile sur noyaux aromatiques reste difficile surtout si des groupements électro-donneurs sont présents.

Le but premier de ce travail sera donc la mise au point d'une méthode effective et automatisée de la synthèse de la [^{18}F]FBA.

Dès lors, au cours de ce travail, nous évaluerons deux approches différentes potentiellement utilisables pour la préparation de ce composé. La première est basée sur des travaux réalisés l'année dernière par Cédric Georges et concerne la synthèse d'un nouveau substrat de marquage faisant abstraction des limitations de la SN sur aromatique. Cette approche permet d'introduire le fluor-18 en dernière étape. Le composé qui sera investigué dans un premier temps est un ylure d'iodonium (**Schéma 7**).

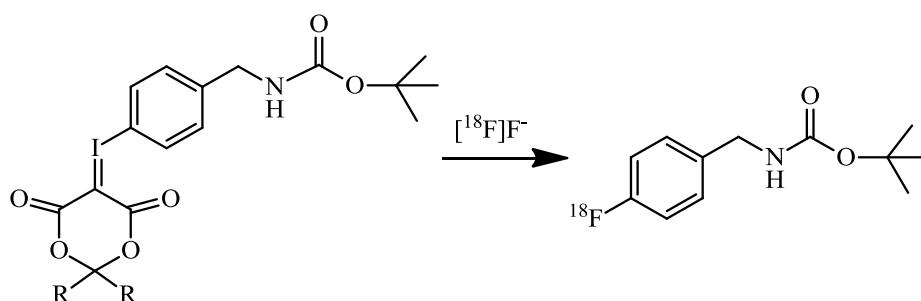


Schéma 7: Marquage au fluor-18 de la FBA au moyen d'un ylure d'iodonium.

Dans un second temps, nous évaluerons la possibilité de marquer des dérivés organostanniques (**Schéma 8**).

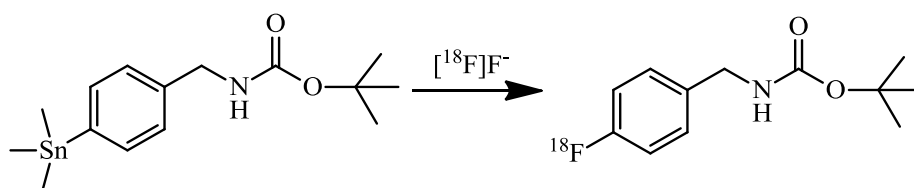


Schéma 8: Marquage de la [^{18}F]FBA à partir du précurseur stannique.

En fonction des résultats obtenus, des essais d'automatisation seront réalisés. Différents paramètres réactionnels, primordiaux lors de ce type de synthèse, tels que la quantité de précurseur, celle de divers réactifs et la durée du marquage, seront également évalués.

Ensuite, comme cette molécule est destinée à être couplée au maltose pour la détection d'infections bactériennes, nous évaluerons la faisabilité de cette réaction dans un premier temps avec un aldéhyde simple et dans un second temps avec le maltose (**Schémas 9 et 10**).

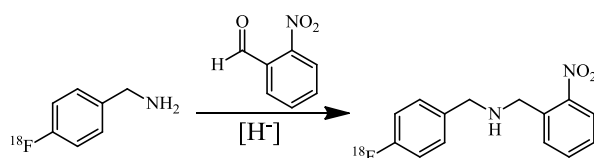


Schéma 9: Réaction de couplage entre la [¹⁸F]FBA et le p-nitrobenzaldéhyde.

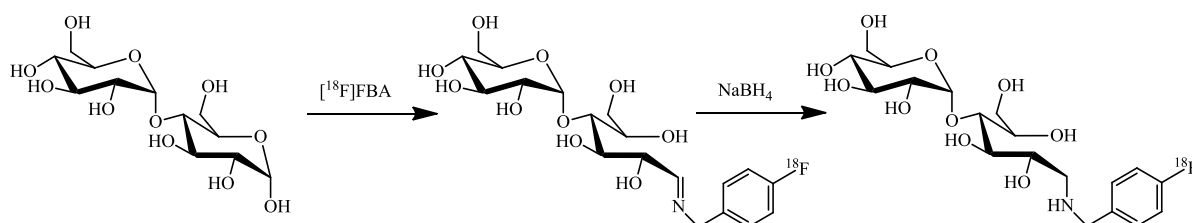


Schéma 10: Réaction de marquage par amination réductrice du maltose par la [¹⁸F]FBA, d'après Bock et al [29].

La suite de ce travail comprend 4 chapitres supplémentaires:

Dans le chapitre 2 « Etat de l'art », nous résumerons brièvement des généralités concernant la chimie du fluor-18. Nous nous intéresserons dans un premier temps aux différentes possibilités de fluoration de noyaux aromatiques. Ensuite, nous aborderons les différentes méthodes de synthèse recensées dans la littérature pour la production de la [¹⁸F]FBA. Après cela, les deux précurseurs ciblés seront abordés succinctement. Pour terminer, un bref résumé des travaux précédemment entrepris dans le laboratoire sera présenté.

Le chapitre 3 « Résultats et discussion » sera dédié aux résultats obtenus lors de ce travail. Dans une première partie, nous décrirons la synthèse des précurseurs. Ensuite, les résultats de marquage seront présentés et analysés. Nous présenterons également nos résultats relatifs à l'automatisation de la synthèse. La fin de ce chapitre sera consacrée aux résultats des différents essais de couplage.

Le chapitre 4 « Conclusions et perspectives » résumera les différents résultats obtenus au cours de ce travail et les perspectives de celui-ci.

Ce travail inclut également une «Partie expérimentale», divisée en deux parties. La première décrit le matériel qui a permis de réaliser les différentes expériences et la seconde traite des protocoles expérimentaux utilisés, dont les données principales sont jointes en annexe.

Chapitre 2 : Etat de l'art

2. Etat de l'art

Dans ce chapitre, nous aborderons de façon plus ou moins approfondie, l'état actuel des recherches concernant la chimie du fluor-18. Dans un premier temps, diverses techniques mises au point pour la production de cet isotope radioactif par cyclotron seront brièvement abordées. Ensuite, nous aborderons les différentes voies de synthèse de la [¹⁸F]FBA référencées dans la littérature. Enfin, nous examinerons également les possibilités de marquage au fluor-18 via les ylures d'iodonium et ensuite via les dérivés organostanniques.

2.1. Fluoration

2.1.1. Voie électrophile

Historiquement, le fluor-18 était produit via la réaction nucléaire $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$. Il n'était possible de récupérer l'activité produite par le cyclotron qu'au moyen d'un « carrier », le plus utilisé étant le [¹⁸F] F_{2(g)}. La manipulation de l'activité sous cette forme est difficile. De plus, le F_{2(g)} est toxique. Il nécessite du personnel expérimenté et un équipement adapté afin de pouvoir être manipulé en toute sécurité.

Le marquage de noyaux aromatiques était donc effectué par substitution électrophile (SE). Cette stratégie a permis la production de la L-[¹⁸F]fluoroDOPA à partir du dérivé organostannique correspondant (**Schéma 11**). Cependant, cette méthode présente quelques désavantages. D'une part, elle produit des marqueurs avec une faible activité spécifique (<1.0 Ci/mmol) [32] car le fluor-18 ne peut être récupéré des cibles qu'en présence d'une certaine quantité de fluor porteur (≈ 0,5%). D'une autre part, le rendement théorique de marquage maximal ne s'élève qu'à 50%.

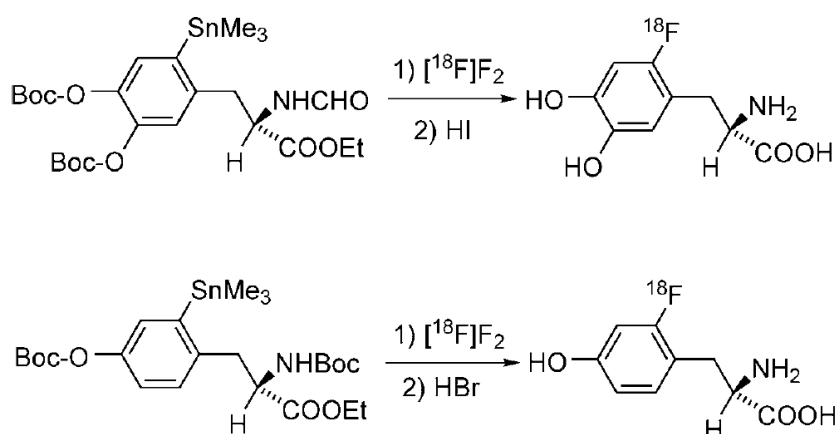


Schéma 11: Voie de synthèse électrophile de la a) L-[¹⁸F]fluoroDOPA b) L-[¹⁸F]fluoroTyrosine, à partir de l'intermédiaire organostannique correspondant [12].

2.1.2. Voie nucléophile

Le développement de nouvelles méthodes de production du fluor-18 par la réaction $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ permet maintenant, de produire des quantités très importantes de celui-ci sous forme de $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$. Dans ce cas, il est utilisable pour des réactions de SN avec un rendement théorique de marquage de 100%, où les composés sont marqués avec une activité spécifique 1000 fois supérieure à celle obtenue par voie électrophile [33].

Les substitutions nucléophiles sur noyaux aromatiques sont réputées difficiles. Elles nécessitent généralement des groupements activant (CN, CHO,...) afin de faciliter le départ d'un bon groupement partant (NO_2 , $\text{N}^+(\text{Me})_3$,...). La présence de ces groupements activant entraîne une substitution préférentielle en position ortho et para. De ce fait, le marquage en position méta devient peu probable. Pour le marquage de cette position, d'autres techniques ont du être mises au point. Pour ce faire, différents précurseurs ont été proposés, notamment les ylures d'iodonium, que nous aborderons dans la prochaine partie de ce chapitre et plus récemment les dérivés organostanniques que nous développerons par la suite.

Une fois le $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ produit, ce dernier se trouve en solution aqueuse. Cela pose un problème pour utiliser l'activité. Le fluor étant un petit élément fortement électronégatif, ce dernier est fortement solvaté par les molécules d'eau. Sa nucléophilicité s'en voit donc fortement réduite. La méthode la plus couramment utilisée actuellement pour éliminer l'eau est le piégeage et puis l'élution successive des fluorures sur une cartouche QMA- CO_3 (échangeur anionique). Ensuite, l'élution est effectuée au moyen d'une solution de K_2CO_3 contenant du Kryptofix $\text{K}_{2,2,2}$ [34] (**Schéma 12**).

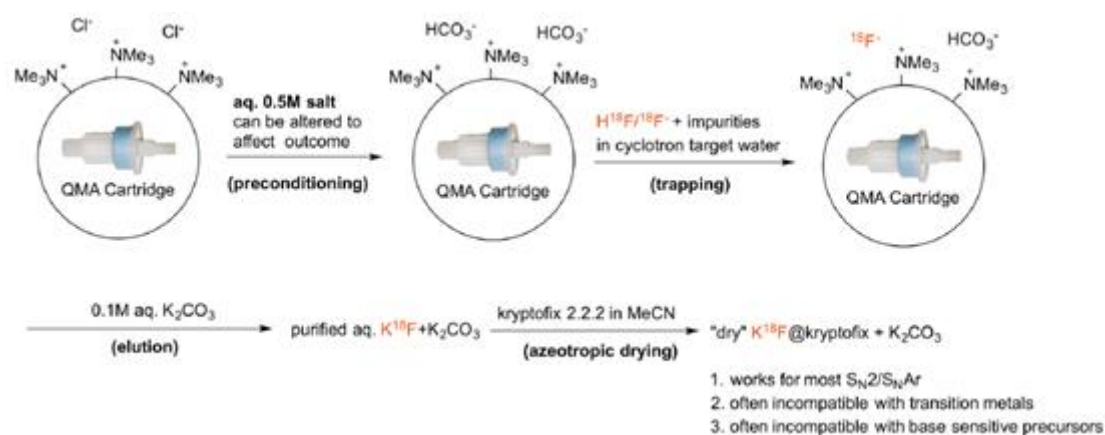


Schéma 12: Adsorption et élution consécutive d'activité sur une cartouche contenant une résine échangeuse anionique [35].

L'évaporation du solvant d'élution (généralement ACN/ H_2O) ainsi que la mise en solution dans un solvant organique dipolaire aprotique génèrent des $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ « naked », pouvant être utilisés pour des synthèses par SN. En ce qui concerne la méthode au Kryptofix,

Cette élution est maintenant possible via d'autres techniques permettant de s'affranchir de l'étape d'évaporation. Nous pouvons citer notamment Bartenstein et al [36] ou le CRC [37]

[38]. Ces méthodes consistent respectivement à éluer l'activité avec des solvants protiques ou en utilisant des bases organiques fortes. La méthode aux bases fortes, permet de fournir un rendement de marquage presque quantitatif, bien que les conditions dures de marquages ne soient pas toujours compatibles avec les substrats.

Une autre méthode prometteuse décrite par Carroll et son équipe existe [39]. Celle-ci consiste en l'utilisation de sels d'ammonium quaternaire (Et_4NOTf), comme agent éluant. Afin d'obtenir une élution maximale, le sel doit être solubilisé dans un solvant de type alcool.

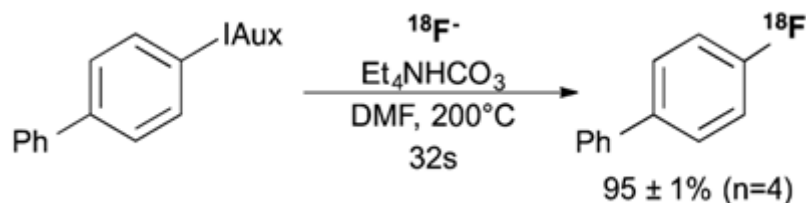


Schéma 13 : Synthèse du p-[¹⁸F]fluorobiphényl [40].

2.2. Voie de synthèse de la [¹⁸F]FBA

Dans ce paragraphe, nous décrivons brièvement les voies de synthèse de la [¹⁸F]FBA. Ce composé a notamment été utilisé pour préparer la N-(4-fluorobenzyl)-2-bromoacetamide ([¹⁸F]FBBA). Il permet aussi bien le marquage d'acides ribonucléiques (ARN) que d'acides désoxyribonucléiques (ADN) [41] [42]. Le groupement prosthétique se fixe à l'extrémité 5' du brin d'acide nucléique (**Schéma 14**). Une autre équipe, celle Dolle, a aussi reporté des couplages de la [¹⁸F]FBBA avec un brin d'ADN [43].

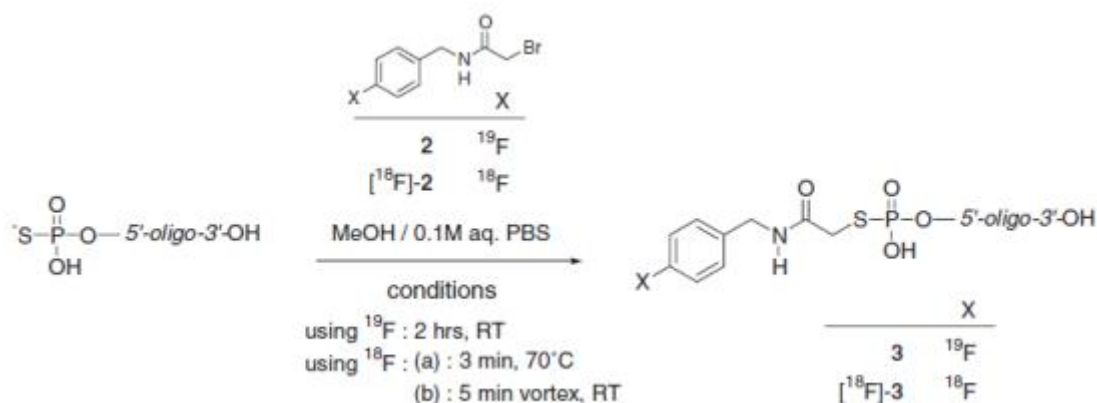


Schéma 14: Réaction de couplage de la [¹⁸F]FBBA avec un brin d'ARN [33].

La [¹⁸F]FBBA est obtenue par condensation entre la [¹⁸F]FBA et le bromure de bromoacétyle (BrCOCH_2Br) dans le CH_2Cl_2 , en présence de N-méthylmorpholine (NMM) (**Schéma 15**). La durée de synthèse totale, depuis le 4-cyano-N,N,N-triméthylanilinium trifluorométhanesulfonate jusqu'à la [¹⁸F]FBA, avoisine les 90 min. Elle a permis à l'équipe

de Kuhnast d'obtenir la [^{18}F]FBBA avec un rendement maximal de 16% no decay-corrected (ndc) [41].

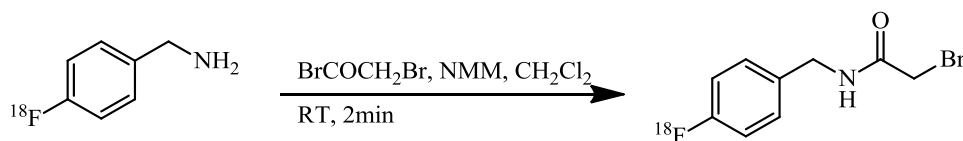


Schéma 15: Réaction de formation de la [^{18}F]FBBA [41].

A l'heure actuelle, différentes méthodes de synthèse de la [^{18}F]FBA sont référencées dans la littérature. Toutes ces méthodes ont un point en commun. Elles débutent à partir du même précurseur, la 4-cyano-N,N,N-triméthylanilinium trifluoromethanesulfonate. Après marquage, le [^{18}F]fluorobenzonitrile ([^{18}F]FBN) est ensuite réduit afin d'obtenir la [^{18}F]FBA (Schéma 16).

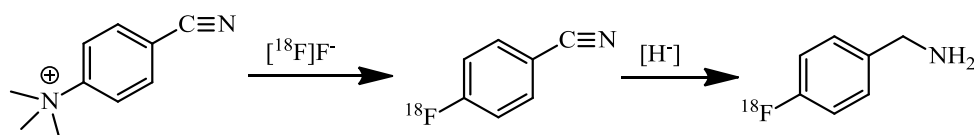


Schéma 16: Réaction actuellement utilisée pour la synthèse de la [^{18}F] FBA.

Ces méthodes se différencient les unes des autres par la méthode de réduction du nitrile utilisée :

- Soit au LiAlH_4 [44] [45] [46], un des inconvénients principaux de cette approche est qu'elle nécessite des conditions dures et anhydres strictes. De plus, des précipitations de sels peuvent également survenir. La formation d'un précipité est problématique puisque ce dernier pourrait obstruer les lignes de transfert de l'automate.
- Soit à l'aide de borane-diméthylsulfure ($\text{BH}_3\text{-Me}_2\text{S}$). Cette méthode est préférable à celle au LiAlH_4 , notamment car elle utilise des conditions plus douces. Elle permet d'obtenir la [^{18}F]FBA avec une pureté radiochimique comprise entre 91 et 96% et un RCY compris entre 39 et 49%, après purification sur cartouche, pour une durée de 40 min [47] [48].
- Soit avec du NaBH_4 absorbé sur une phase solide polymérique en présence d'un catalyseur à base de nickel ou de cobalt [49]. Un RCY de $89\% \pm 17\%$ après purification sur cartouche C_{18} a pu être obtenu avec une pureté radiochimique de 95%.

2.3. Ylure d'Iodonium

Depuis deux décennies les ylures d'iodonium, décrit pour la première fois en 1995 par l'équipe de Pike [50], ont gagné un intérêt croissant auprès des chimistes et notamment auprès des radiochimistes. Effectivement, ces composés permettent une fluoration par S_N en dernière étape, de molécules aromatiques riches en électrons, quelque soit la position sur le noyau aromatique (ortho, méta ou para) [51].

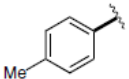

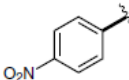
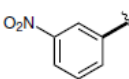
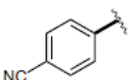
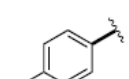
Ar—I		MCPBA (1.1 equiv)			
1		AcOH, temp, time			
		Ar—I(OAc) ₂			
Entry	Ar	Temp (°C)	Time (h)	Product 2	Yield (%) ^a
1		r.t.	24	2a	71
	1a				
2		r.t.	15	2b	83
	1b				
3		55	48	2c	81
	1c				
4		55	24	2d	78
	1d				
5		55	9	2e	80
	1e				
6		r.t.	24	2f	76
	1f				

Schéma 18: Tableau récapitulatif des différentes molécules oxydées avec du m-CPBA [60].

2.3.2. Formation de l'ylure

Ensuite, une seconde étape consiste à faire réagir le produit oxydé avec un composé dicarboxylé préalablement déprotonné en position α , comme par exemple l'acide de Meldrum (2,2-diméthyl-1,3-dioxane-4,6-dione). L'utilisation de composés dicarboxylés permet une stabilisation de l'ylure par une délocalisation de la densité électronique sur les groupements carbonyle adjacents. En effet, ces composés sont toujours représentés comme portant une charge positive sur l'atome d'iode, la molécule est en réalité un hybride de résonance (Schéma 19). Ainsi, les ylures d'iodonium qui ne pouvait généralement être isolés et devaient être manipulés à froid, ont pu être obtenus et conservés durant des périodes variables.

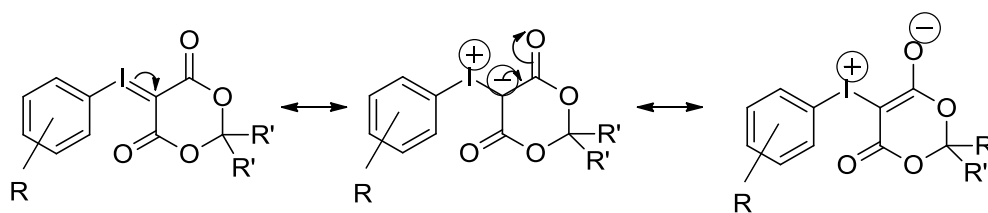


Schéma 19: Formes de résonances des ylures d'iodonium.

Récemment, une procédure « one-pot » de l'oxydation et de la formation de l'ylure, décrite par Cardinael et Ermert [63], a été mise au point. Des rendements variables (0-60%)

ont été observés en fonction du type de groupements présents sur le cycle aromatique. (Schéma 20).

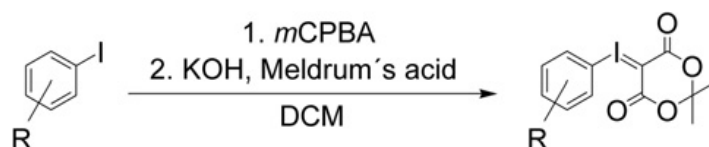


Schéma 20: Synthèse d'ylure d'iodonium par une procédure « one-pot » [63].

Même si ces composés présentent une stabilité accrue, qui leur permet d'être isolés, ces derniers se dégradent relativement vite. Par la suite, Rotstein et al [64] [65] ainsi que Wang et al [66] ont appliqué la méthode aux dérivés spirocycliques (Schéma 21). Ceux-ci sont plus stables que leurs prédécesseurs et peuvent même être conservés, durant plusieurs années sans qu'aucune dégradation ne soit observée.

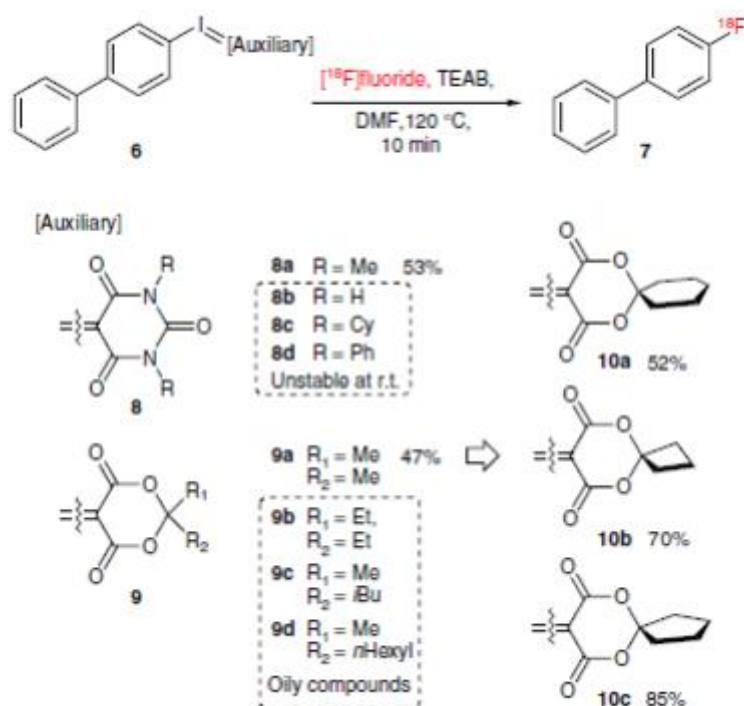


Schéma 21: Formation de l'ylure d'iodonium à partir du dérivé spirocyclique.

Un autre point important sur lequel nous devons insister est que la synthèse de ce type de précurseurs est compatible avec diverses fonctions organiques. Cependant, les amines nécessitent une protection au préalable. Cette méthode a permis à Petersen et al d'obtenir la tert-butyl(4-bromo-5-((7,9-dioxo-6,10-dioxaspiro[4.5]decan-8-ylidene)-13-iodanyl)-2-methoxyphenethyl)carbamate avec 46% de rendement après purification par chromatographie liquide [67] (Schéma 22).

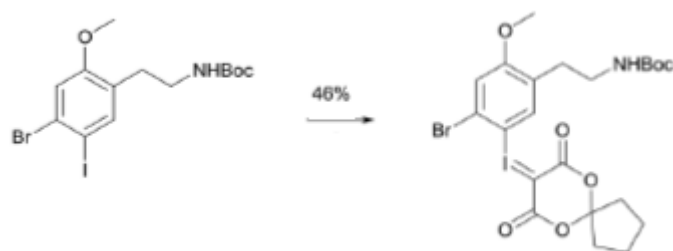


Schéma 22: Formation d'un ylore d'iodonium en présence d'une fonction amine protégée au Boc₂O [67].

Des études mécanistiques ont été réalisées par Rotstein et al [68] et aussi par l'équipe de Hill [69]. Le mécanisme de la fluoration déduit de ces expériences, procède suivant deux étapes. La première étape est un échange de ligands de l'iode par un fluorure, suivie d'un couplage entre le fluorure et l'arène (Schéma 23).

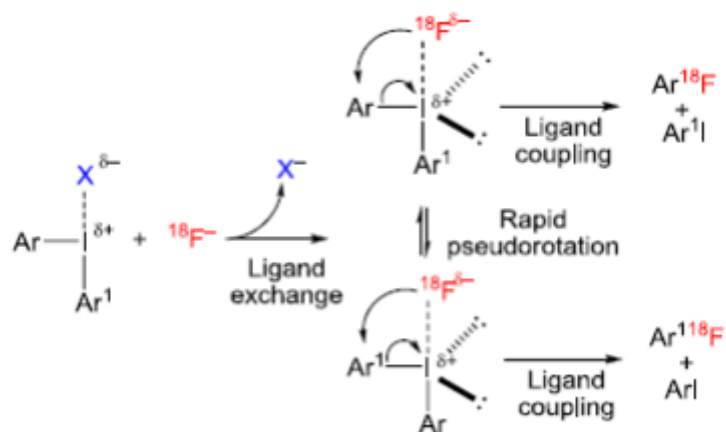


Schéma 23: Mécanisme de la fluoration des ylore d'iodonium d'après Rotstein et al [68].

2.4. Organostannates

L'étain est un métal connu depuis de nombreuses années. Sa première utilisation, sous forme d'acide stannique, remonte au XVIII^{ème} siècle. La chimie des organostannates, quant à elle ne s'est développée que plus tard et représente aujourd'hui un élément important tant dans l'industrie, que dans la recherche. Ces composés servent principalement à la fabrication de revêtements pour bateaux, d'additifs dans les plastiques, notamment comme stabilisant pour les polychlorures de vinyle (PVC) ou encore comme catalyseur. Cependant, au vu de son importante toxicité, leur utilisation est de plus en plus réglementée.

Les principaux avantages de ces intermédiaires sont :

- Qu'ils peuvent être synthétisés à partir de réactifs simples, disponibles commercialement [70]. Il a notamment été montré par Dougan et al, que le dérivé stannique pouvait être obtenu à partir du composé iodé correspondant, avec l'aide d'un catalyseur à base de palladium [71].
- Leur grande stabilité en comparaison de celle des ylures d'iodonium.
- Qu'ils sont déjà utilisés pour la production de traceurs radio pharmaceutiques [32].

Des variantes de cette réaction existent également. Comme exemple, nous pouvons prendre, la synthèse de la [^{18}F]fluoro-2'-desoxyuridine ([^{18}F]FUDR) réalisée par Chang et al [72]. Le marquage de ce nucléoside pourrait permettre l'observation de l'ARN in vivo. Ces derniers ont pu marquer cette molécule par voie électrophile avec un RCY de $27\pm 2.8\%$ et une pureté radiochimique supérieure à 97% en 110 min (**Schéma 24**).

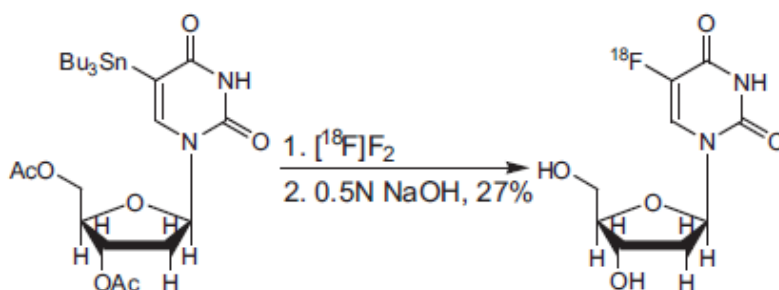


Schéma 24: Equation de la réaction de marquage de la [^{18}F] FUDR [72].

Une autre voie de marquage de cette molécule a été envisagée par Wust et Kniess [73]. Celle-ci n'utilise pas directement l'organostannate pour la fluoration mais permet de rendre le carbone plus nucléophile pour faciliter l'attaque d'un groupement prosthétique au moyen d'un couplage de Stille. Ces derniers ont testé différents systèmes catalytiques à base de palladium avec des cocatalyseurs cuivriques. Certains systèmes ont permis d'obtenir un marquage avec des rendements pouvant atteindre les 69% (**Schéma 25**).

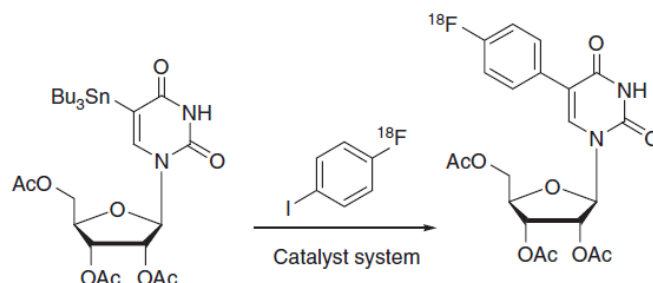


Schéma 25: Marquage de la [^{18}F] FUDR au moyen d'un groupement prosthétique [73].

L'utilisation des dérivés organostanniques permet aussi bien la fluoration de cycles aromatiques que de chaînes aliphatiques, comme démontrée par l'équipe de Tinková [74] lors du marquage d'un dérivé de l'ergot en 2004, la terguride (**Schéma 26**). La terguride est un

alcaloïde semi synthétique de l'ergot agissant sur les récepteurs dopaminergiques. Ceci en fait un candidat potentiel pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Cependant, leurs essais n'ont pas été effectués en chimie radioactive, mais ont fourni des rendements allant jusqu'à 67%.

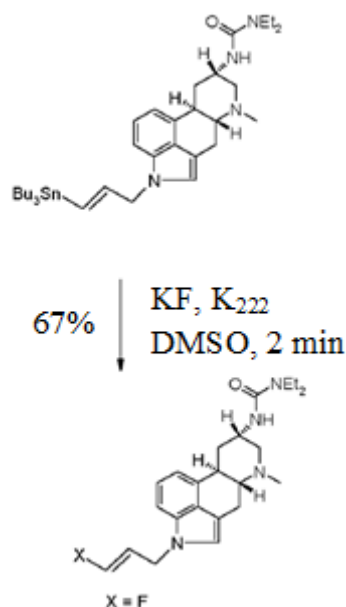


Schéma 26: Voie de marquage de la tergudine d'après Tinkova et al [74].

2.5. Fluoration catalysée au cuivre

Afin de faciliter la fluoration par SN, il a été proposé par Coenen et al d'utiliser des catalyseurs à base de palladium ou de cobalt [75]. Ces auteurs ont ainsi pu marquer le 1-¹⁸F]fluoronaphtalene avec un rendement de 33% à partir du triflate correspondant (**Schéma 27**).

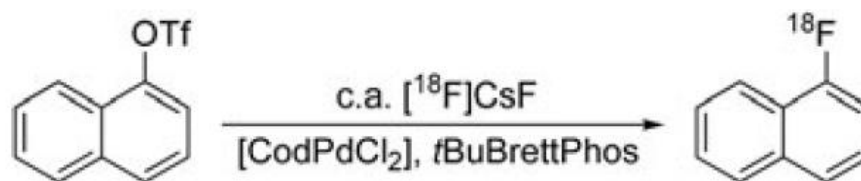
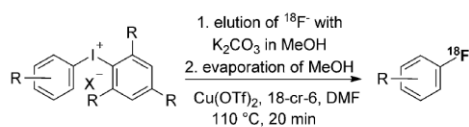


Schéma 27: Marquage au fluor-18 du 1-¹⁸F]fluoronaphtalene catalysée par le [CoDPdCl₂].

Zlatopolskiy et al ont ensuite proposé l'utilisation de catalyseur à base de cuivre afin de réaliser le marquage. Dans un premier temps, pour marquer des dérivés du bore et des ylures d'iodonium [76] [77]. Avec ces dérivés, ces auteurs ont pu obtenir de meilleurs rendements (31±2-66±4%) qu'avec la catalyse au palladium (**Schéma 28**).



Entry	Precursor	Product	RCC [%]
1			41
2 ^[b]			64
3			35
4			0
5			36
6			35
7			29
8 ^[b]			29
9			13
10			50

Schéma 28: Molécules marquées à partir de l'ylure d'iodonium avec un catalyseur au cuivre.

Par la suite, Scott et al investiguèrent également cette méthode de marquage des ylures [78]. Puis proposèrent de l'évaluer à partir des dérivés organostanniques (Schéma 29) [79].

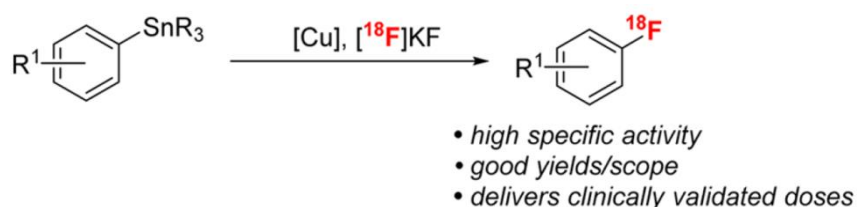
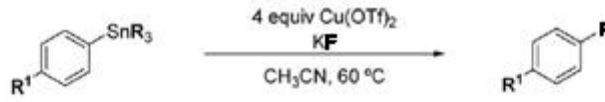


Schéma 29: Marquage par SN des dérivés organostanniques au moyen d'un catalyseur à base de cuivre [78].

Contrairement aux anciennes méthodes, ce marquage des organostannates procède par SN et non plus par SE. Différentes molécules organiques, présentant différent type de substituant ont ainsi pu être marquées (Schéma 30). Les rendements maximaux référencés atteignent 60%.

Divers paramètres tels que la durée du marquage, le type de substrat, la nature des groupements présents sur le cycle aromatique, etc ont été étudiés (**Schéma 30**).

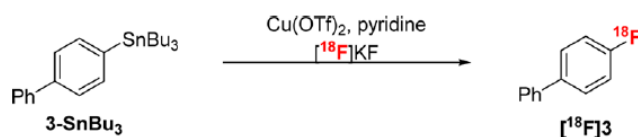


entry	R	R ¹	time (h)	additive	KF (equiv)	yield (%)
1	Bu	F	18	none	4	42
2	Bu	F	18	18-crown-6	4	55
3	Bu	F	2	none	4	42
4	Bu	F	2	18-crown-6	4	53
5	Bu	F	0.25	18-crown-6	4	51
6	Bu	F	0.25	18-crown-6	0.5	15 ^b
7	Bu	MeO	0.25	18-crown-6	4	23
8	Me	MeO	0.25	18-crown-6	4	24
9	Bu	Ph	0.25	18-crown-6	4	34
10	Me	Ph	0.25	18-crown-6	4	64
11	Bu	Ac	0.25	18-crown-6	4	57
12	Me	Ac	0.25	18-crown-6	4	65

Schéma 30: Molécules marquées par Scott et al au départ d'un dérivé organostannique [78].

Les résultats montrent que l'utilisation du Sn₂Me₆, fournit de meilleurs rendements de marquage que le Sn₂Bu₆, pour les substrats étudiés. Cette observation a été interprétée, comme étant due à des gênes stériques plus importantes avec des groupements butyles. De plus, il a été montré que le temps de marquage pouvait être réduit de 18 h à 15 min, sans diminuer le RCY. L'étude de l'influence des groupements présents sur le cycle aromatique (donneurs, neutres ou attracteurs), a montré qu'une SN en position para en présence de groupements électrodonneurs est possible.

Ensuite, les impacts du solvant de marquage, de la température de réaction, ainsi que celui de l'ajout de pyridine ont été évalués (**Schéma 31**).



entry	solvent	temp (°C)	pyridine (equiv)	RCC ^b (%)
1	CH ₃ CN	60	0	nd
2	CH ₃ CN	60	50	nd
3	DMF	60	50	nd
4	DMF	110	50	22 ± 2
5	DMA	110	50	51 ± 1
6	DMA	110	15	53 ± 1
7	DMA	140	15	55 ± 10
8 ^c	DMA	140	15	65 ± 2
9 ^d	DMA	140	15	44 ± 1

Schéma 31: Rendement de marquage en fonction de différents paramètres (solvant, température, ajout de pyridine).

L'ACN ne donne pas le produit escompté. Le DMF, en revanche, permet d'obtenir le bon produit mais avec un rendement de seulement 22%. Il s'avère que le DMA est le solvant le plus adapté pour cette réaction. Celui-ci, permet d'obtenir des rendements de marquage compris entre 44±1 et 65±2%. Il a aussi été montré que le rendement augmentait avec la température de marquage et qu'aucune réaction n'avait lieu si la température était inférieure à 60°C. L'étude de l'impact de la teneur en eau sur le RCY montre que ce dernier diminue rapidement avec l'augmentation de la quantité d'eau. Le rendement chute d'environ 70% à 10% si la concentration en eau atteint les 15 µL/mL. Il est donc primordial de veiller à ce qu'il y en ait le moins possible dans le système.

C'est dans ce but que Zarrad et al proposèrent d'éluer l'active trappée sur une cartouche QMA au moyen d'Et₄NOTf dissout dans un alcool [80]. Ces auteurs ont montré que la nature du contre-ion de l'amine quaternaire n'est pas critique. Néanmoins, afin d'obtenir des rendements d'élution maximums (>95%), une quantité minimale d'agent de transfert de phase est requise (5 µmol). Ensuite, cette équipe a démontré que l'utilisation d'un alcool était primordiale pour l'élution. Les rendements de celle-ci varient en fonction du type d'alcool utilisé. Les meilleurs solvants d'élution se sont avérés être le méthanol (MeOH), l'éthanol (EtOH) et le trifluoroéthanol (TFE). Cependant, ceux-ci ne fournissent que de faibles RCY, le marquage devra donc être effectué dans un autre solvant. Cette technique a ainsi permis de synthétiser différents composés aromatiques fluorés avec des rendements compris entre 16 et 84%.

Ensuite, l'équipe de Zarrad, en se basant sur les résultats précédemment obtenus par Scott et al, ont décidé d'évaluer d'autres paramètres réactionnels. Ces derniers ont étudié l'influence de la température et du temps de marquage, ainsi que celle de la quantité de précurseur et de catalyseur utilisé.

- En ce qui concerne la température, le meilleur rendement (75%) a été obtenu en utilisant une température de 100°C. Ces auteurs ont notamment montré que le fait de diminuer la température de marquage diminue fortement le rendement de réaction, puisqu'il tombe en dessous des 50% pour une température de 90°C.
- Du point de vue du temps de marquage, son influence n'est pas critique tant que ce dernier reste inférieur à 20 minutes. Pour des temps de réactions plus longs, le rendement chute fortement.
- Pour ce qui est de la quantité de précurseur et celle de catalyseur, les quantités optimales sont de respectivement 40 et 30 μmol .
- De plus, comme nous pouvons le voir sur le **Schéma 31**, cette réaction tolère un grand nombre de groupements différents (amines, méthoxydes, carbonyles) et notamment des amines secondaires. Deux isomères de la 4-[^{18}F] fluoro-*N,N*-diméthylphénylamine ont pu être marqués avec des rendements $34\pm 11\%$ et $7\pm 1\%$.

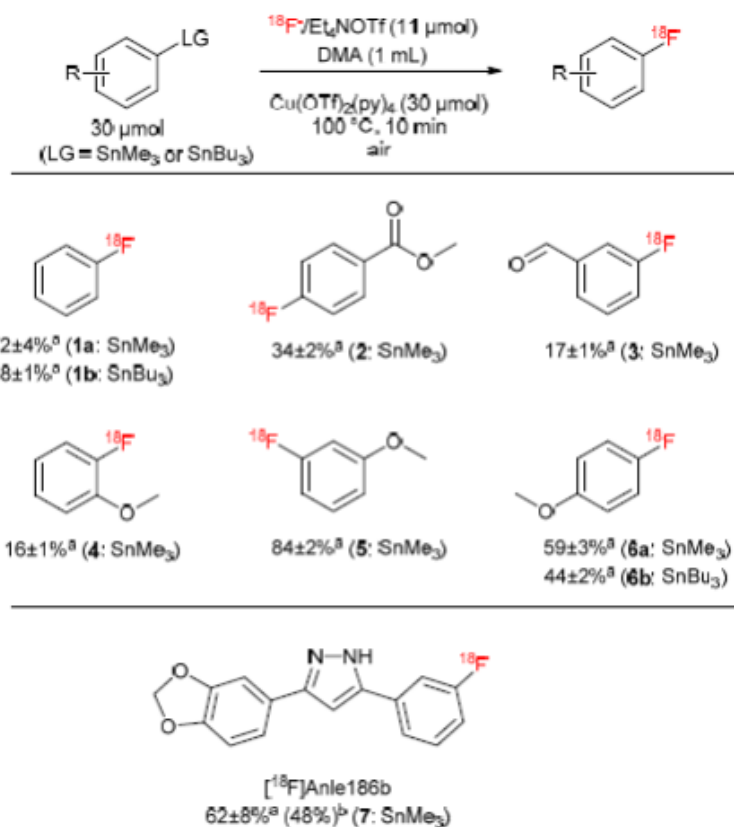


Schéma 31: Molécules marquées par SN d'organostannates catalysée au cuivre [80].

En ce qui concerne le marquage d'amines primaires, cette équipe a également pu marquer la 3-*O*-methyl-6-[¹⁸F]fluoro-*L*-DOPA ([¹⁸F]OMFD) (**Schéma 32**). Une protection préalable de la fonction amine est nécessaire puisque ces dernières solvant les [¹⁸F] fluorures et les rendent non-réactionnels. L'utilisation de Boc₂O, comme groupement protecteur, permet un marquage avec un RCY de 16%.

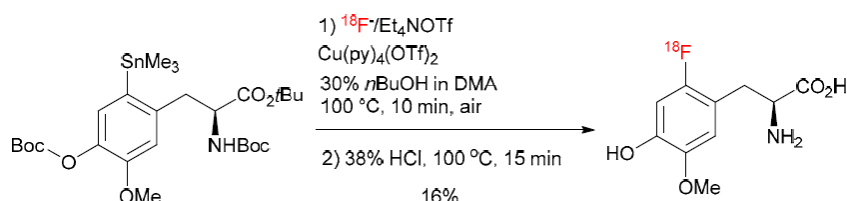


Schéma 32: Marquage de la [¹⁸F]OMFD. 1) Marquage 2) Déprotection en milieu acide [80].

Ensuite, cette équipe a réalisé une étude mécanistique de la réaction, illustrée sur le **Schéma 33**.

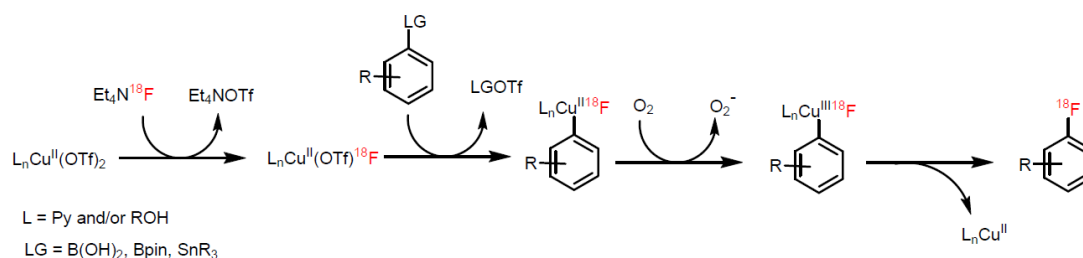


Schéma 33: Mécanisme proposé pour la réaction de marquage au moyen d'un catalyseur au cuivre.

Le mécanisme proposé par ces auteurs implique, dans un premier temps, l'échange d'un ligand du cuivre par le fluor-18. Ensuite, un nouvel échange de ligand a lieu mais cette fois avec le précurseur, qui perd ainsi son groupement triméthylestannyle. Après cela, le cuivre est oxydé par de l'O₂, ce qui entraîne la libération du produit marqué.

2.6. Travaux précédents réalisés au CRC

Le CRC possède une grande expérience dans la conception, la production et l'analyse de radiotraceurs [81] [82] [83] [84]. Une première évaluation des ylures d'iodonium, en vue du marquage de la [¹⁸F]FBA, a été effectuée par Cedric Georges, lors de son mémoire réalisé au CRC en 2017.

Dans un premier temps, l'ylure d'aryliodonium fut synthétisé à partir de la 2,2-diméthyl-1,3-dioxane-4,6-dione (Acide de Meldrum) et dans un second temps avec le dérivé spirocyclique correspondant (**Schéma 34**). Cependant, ces composés sont peu stables et se dégradent, notamment lors de la purification par chromatographie liquide (LC) en phase normale. Une méthode d'extraction liquide-liquide a été également évaluée mais celle-ci n'a pas été en mesure de fournir le composé avec une pureté suffisante.

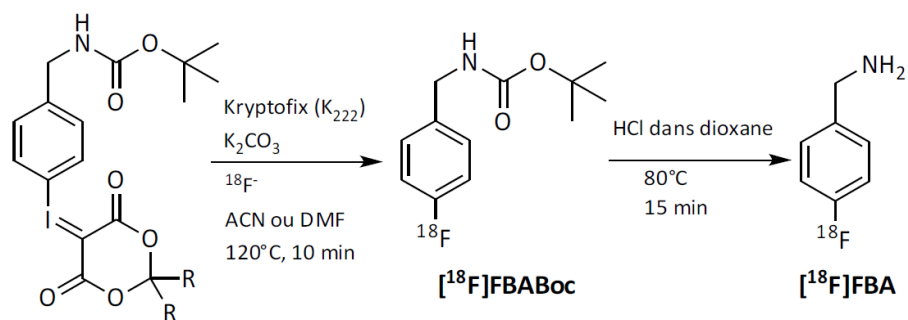


Schéma 34: Voie de synthèse utilisée par Cédric Goerges en vue du marquage de la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$.

Le marquage du dérivé spirocyclique s'est également avéré infructueux alors que celui au départ de l'acide de Meldrum a permis d'obtenir la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$ avec un rendement de 55%. Le rendement chute à 33%, lorsque la synthèse est effectuée sur le composé purifié. Cependant, la quantité mise en œuvre était elle aussi plus faible (10 mg au lieu de 15 mg).

Chapitre 3 : Résultats et discussions

3. Résultats et discussions

Rappelons que ce travail a pour but, de synthétiser deux nouveaux substrats de marquage en vue de préparer la [^{18}F]FBA. D'après le schéma rétrosynthétique (**Schéma 35**), il devrait être possible de les préparer au départ d'un intermédiaire commun, à savoir la p-iodobenzylamine, qui pour les besoins de la synthèse devra être protégée.

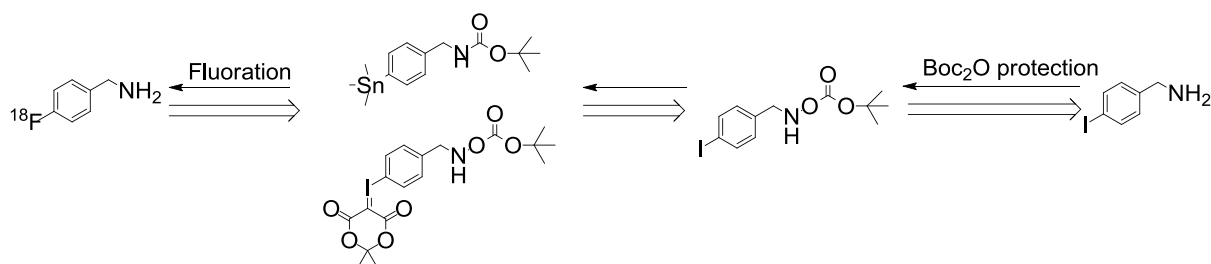


Schéma 35: Rétrosynthèse de la [^{18}F]FBA.

Dans la suite de ce chapitre, nous parlerons brièvement de la synthèse de la p-iodobenzylaminecarbamate, ainsi que de celles de l'ylure et du dérivé organostannique. Ensuite, nous passerons en revue les résultats de marquage obtenus par SN au fluor-18, de ces composés. En fonction des résultats, l'automatisation sera présentée. Pour terminer, nous décrirons les différents essais de couplages réalisés.

3.1. Synthèse de la p-iodobenzylaminecarbamate

Le produit de départ pour la synthèse de nos substrats de marquage (ylure et stannate) est le p-iodobenzylaminecarbamate (**Composé C, INHBoc, Schéma 36**). Bien que cette molécule soit disponible commercialement, ce composé est relativement onéreux (274€/g). L'amine requise pour sa synthèse l'est également (50€/100mg). La synthèse de ces deux composés a dès lors été réalisée au CRC [14], au départ du p-iodobenzonitrile (**Composé A, IBzCN, Schéma 36**) qui après réduction en p-iodobenzylamine (**Composé B, IBzNH, Schéma 36**), peut être protégée par un groupement Boc. Au début de ce travail, nous disposions de 2 g de ce produit synthétisé selon le **Schéma 36**.

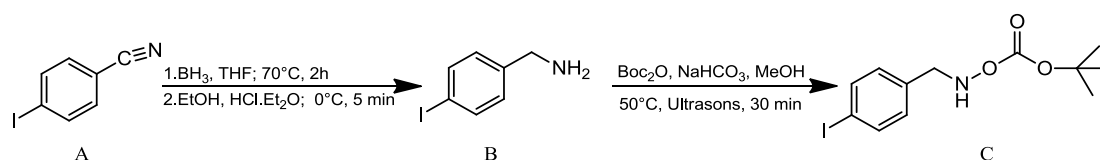


Schéma 36: Synthèse de la p-iodobenzylaminecarbamate [14].

Néanmoins, avant de l'utiliser, nous avons vérifié qu'il ne s'était pas dégradé. Pour ce faire, les spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé (disponibles en annexes) ont été enregistrés. Les résultats des données spectrales, reprises ci-dessous, sont en accord avec la structure attendue pour ce composé.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ(ppm):7,58 (d, 2H), 6,96 (d, 2H), 4,78 (br s, 1H), 4,18 (d, 2H), 1,38 (s, 9H)

RMN ¹³C (101 MHz, DMSO) δ(ppm): 155,8 – 138,7 – 137,6 – 129,4 – 92,6 – 79,7 – 44,1 – 28,4

Ce composé a également été analysé par UPLC-MS (**Figure 7**). Toutes les analyses requises pour la synthèse de l'ylure ont été réalisées sur la colonne 1 de type C₁₈ (Acquity UPLC BEH C₁₈-1.7µm-2.1x50mm), en utilisant le mode gradient 1 (Eluant: ACN/H₂O +0,1% TFA) repris dans la partie expérimentale de ce travail. Dans ces conditions, le t_R de l'**INH Boc** est de 3,65 min.

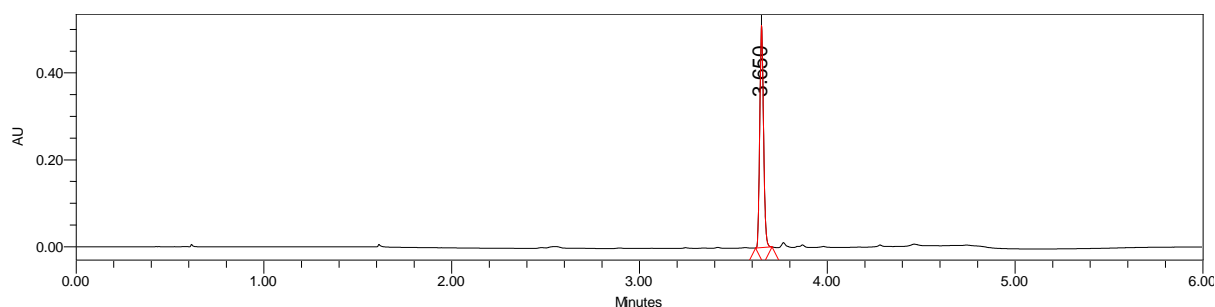


Figure 7: Chromatogramme UV du INHBoc (240nm).

A présent que nous sommes certains d'avoir le **composé C**, la synthèse du premier substrat de marquage (ylure) peut être envisagée.

3.2. Ylure d'aryliodonium

La stratégie suivie pour préparer l'ylure d'iodonium est résumée sur le **Schéma 37**. Cette synthèse implique deux étapes. La première est une étape d'oxydation suivie d'un couplage avec l'acide de Meldrum.

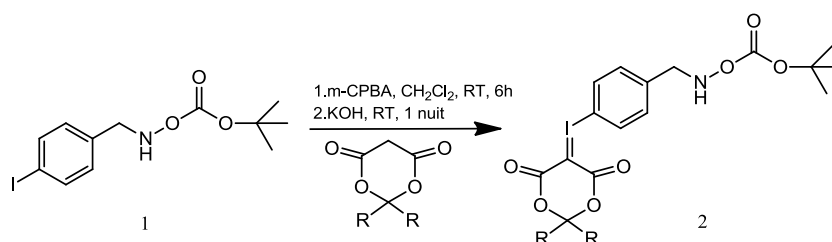


Schéma 37: Synthèse de l'ylure. 1) Oxydation; 2) Couplage avec l'acide de Meldrum.

3.2.1. Oxydation

L'étape d'oxydation a d'abord été réalisée sur 50 mg de l'**INH Boc** (**Schéma 37**) et l'avancement de la réaction a été suivi en temps réel par UPLC-MS. L'analyse du milieu réactionnel après 5h30 d'agitation à température ambiante montre 2 pics avec des temps de rétention respectifs de 2,09 et 3,65 min (**Figure 8**).

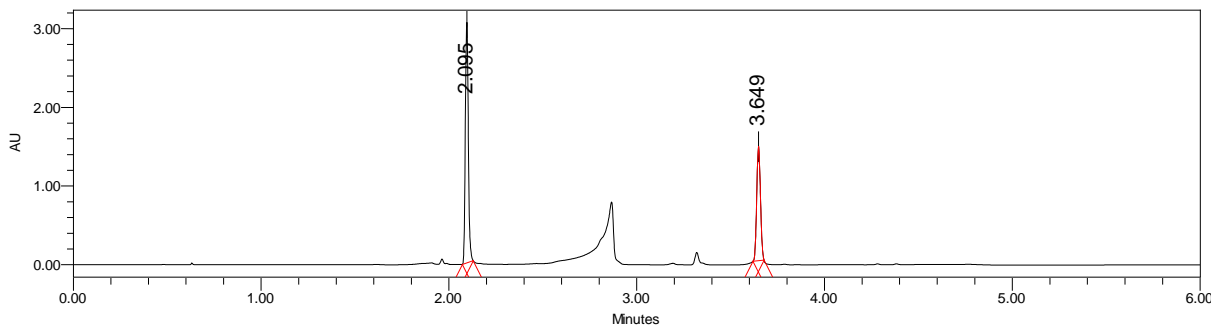


Figure 8: Chromatogramme UV du brut d'oxydation après 5h30 de réaction (240 nm).

Le pic à 3,65 min (**Figure 8**) correspond à celui observé lors de l'analyse de l'INHoc (**Figure 7**). Le second pic ($t_R = 2,09$ min) correspond donc au produit oxydé. Comme aucune modification n'a pas pu être observée, ce même après un temps de réaction supplémentaire, le couplage avec l'acide de Meldrum a été réalisé (formation de l'ylure).

3.2.2. Couplage avec l'acide de Meldrum

Pour une identification plus aisée, l'acide de Meldrum a été analysé. Son t_R est de 1,14 min (**Figure 9**).

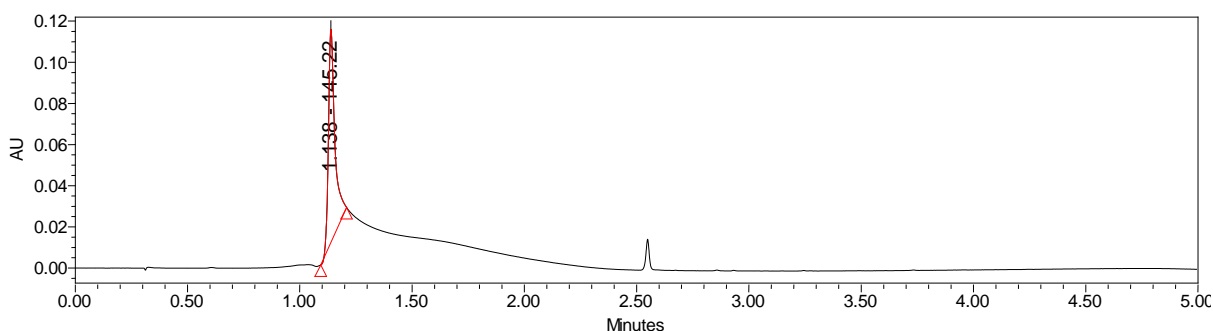


Figure 9: Chromatogramme UV de l'acide de Meldrum (220 nm).

Ensuite, 55,5 mg KOH et 23,8 mg d'acide de Meldrum ont été ajoutés. Après 15min de réaction, un léger trouble blanchâtre apparait. Le milieu réactionnel a été laissé sous agitation durant une heure supplémentaire afin de s'assurer d'une conversion complète (**Figure 10**).

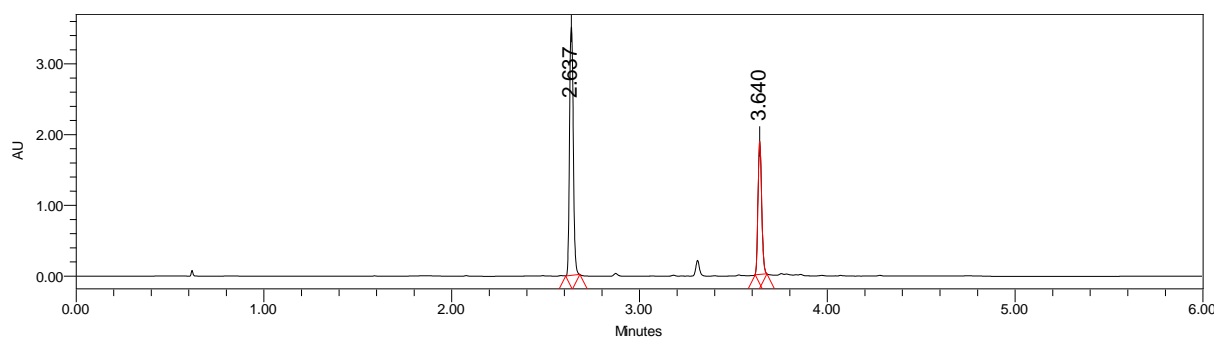


Figure 10: Chromatogramme UV du brut de réaction après ajout de l'acide de Meldrum (220nm).

Sur le chromatogramme, nous voyons l'apparition d'un nouveau pic avec t_R de 2,64 min qui devrait correspondre à l'ylure. Nous pouvons aussi remarquer l'absence du pic correspondant à l'acide de Meldrum ($t_R = 1,13$ min).

Comme ces résultats sont accord avec ceux reportés par Cédric Georges durant son mémoire réalisé au CRC, une purification par chromatographie liquide sur colonne a été réalisée. Cependant, comme Pike et al [34] l'ont montré et comme également observé par Cédric Georges, la purification par chromatographie liquide en phase normale est déconseillée. En effet, dans ce cas, nous observons une dégradation complète de l'ylure d'iodonium. Nous avons donc tenté cette purification sur une colonne semi-préparative C_{18} avec un éluant (ACN/ H_2O (70/30) (**Figure 11**).

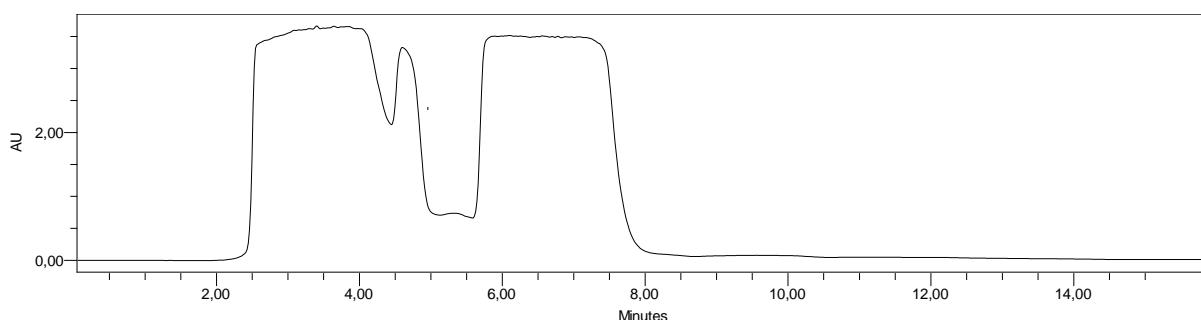


Figure 11: Chromatogramme UV lors de la purification du composé 2 (220nm).

Sur base de ce chromatogramme, nous avons collecté trois composés différents que nous avons ensuite analysés (**Figure 12-14**).

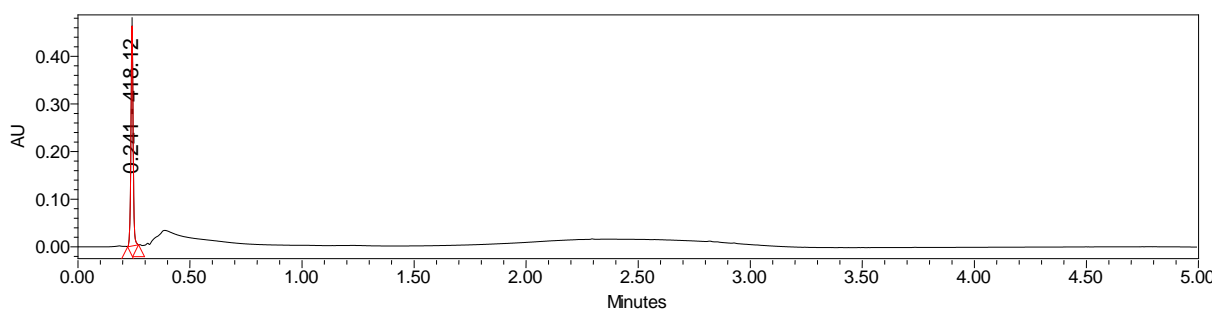


Figure 12: Chromatogramme UV correspondant au premier pic de la figure 11 (220 nm).

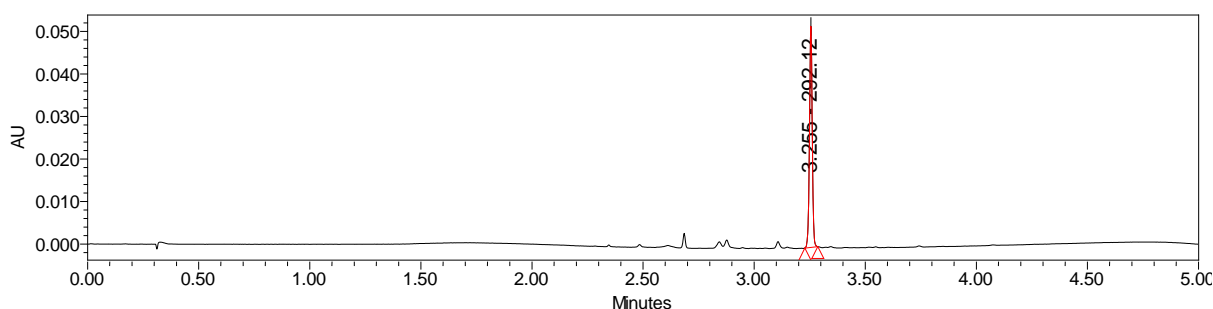


Figure 13: Chromatogramme UV du deuxième pic de la figure 11 (220 nm).

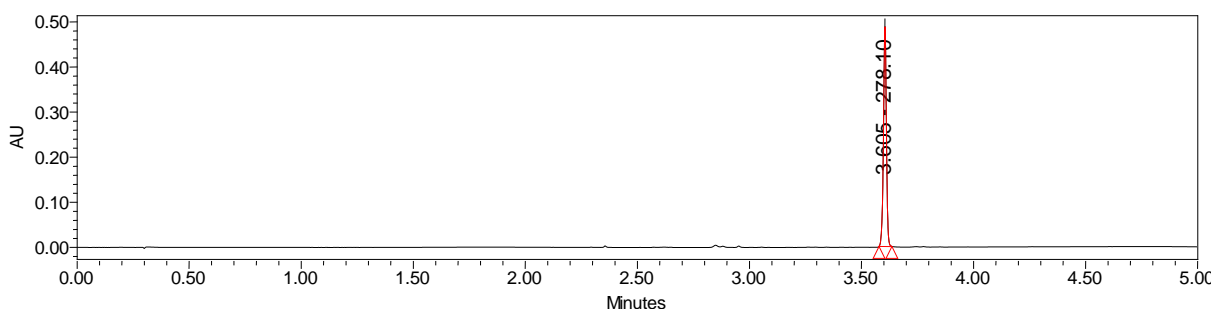


Figure 14: Chromatogramme UV du troisième pic de la figure 11 (220 nm).

Après analyse des différentes fractions en UPLC, nous voyons que le pic supposé contenir l'ylure ($t_R = 2,64$ min) ne se retrouve dans aucune des fractions collectées. Dans ces conditions, notre produit s'est également dégradé. Cette approche a été abandonnée.

3.3. Dérivés organostanniques

Suite à ce manque de stabilité de l'ylure d'iodonium, comme Cédric Georges l'avait reporté et comme nous avons pu l'observer. Nous avons envisagé la synthèse d'un nouveau substrat de marquage à base d'étain selon une stratégie récemment décrite par Zarrad et al [47]. En effet, ces auteurs ont reporté, pour d'autres molécules, des résultats intéressants de fluoration au fluor-18 avec ce type d'intermédiaire.

Pour ce faire, nous nous sommes inspirés du protocole expérimental décrit par ces auteurs, disponible dans le chapitre « Partie expérimentale ». Cette réaction implique 310 mg de p-iodobenzylaminecarbamate qui ont été mis en présence de 104 mg de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ et 955 mg de Sn_2Me_6 . Le tout a été solubilisé dans 5 mL de dioxane et porté à 100°C durant 18h (Schéma 38).

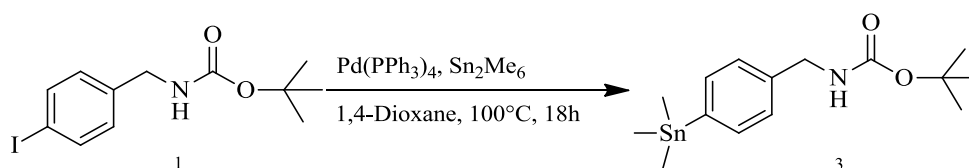


Schéma 38: Réaction de synthèse du composé 3.

L'avancement de la réaction a été suivi par CCM (Ether de Pétrole(EP) (60-95)/AcOEt : 95/5). Elle a également été suivie par UPLC-MS sur la colonne 1 de type C_{18} (Acquity UPLC BEH C_{18} -1.7 μm -2.1x50mm), en utilisant le mode gradient 1 (Eluant: ACN/ H_2O +0,1% TFA). Ces conditions ont également été utilisées pour les analyses réalisées ci après, nécessaires à la mise au point de cette synthèse. Après 15 minutes, la couleur du milieu réactionnel passe du jaune au noir. Le mode opératoire indiquait un chauffage durant 18h à 100°C . Cependant, nous nous sommes rendu compte qu'au bout de trois heures la réaction n'évoluait plus (Figure 15).

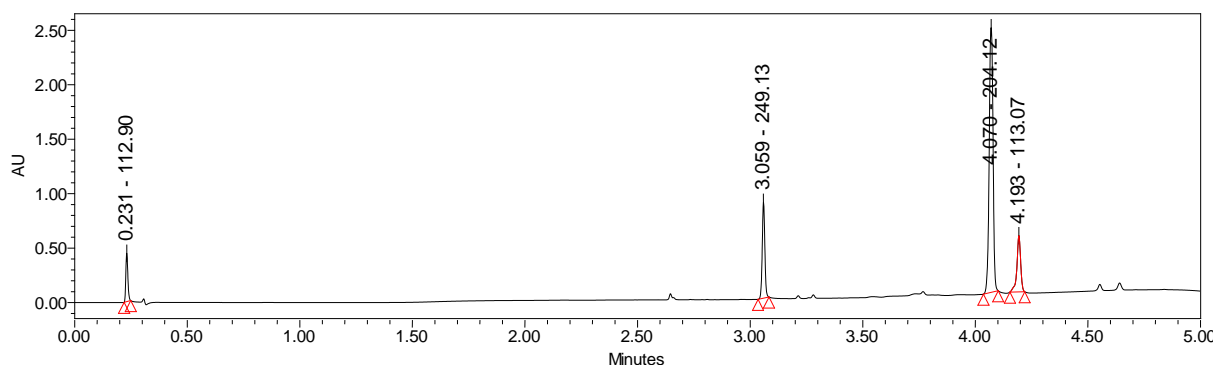


Figure 15: Chromatogramme UV du brut de synthèse du dérivé stannique (220 nm).

Après analyse UPLC, le pic de l'**INH Boc** ($t_R = 3,65$ min, $R_f = 0,4$) n'est pas visible sur le chromatogramme. Trois autres pics, avec des t_R de respectifs de 3,06 ; 4,07 et 4,19 min apparaissent. Le pic à 4,07 min serait celui du composé d'intérêt (**3**), puisque sur le spectre de masse (Figure 16), nous pouvons voir un pic de faible intensité à 372 uma. Le **composé 3** possède une masse exacte de 371 uma ce qui indique que la molécule obtenue pourrait être celle attendue. De plus, nous voyons un pattern caractéristique des dérivés de l'étain. Cet élément est celui du tableau périodique présentant le plus d'isotopes stables. L'étain-120, 118 et 116 sont les plus abondants avec, respectivement, 32,58%, 24,22% et 14,54% d'abondance naturelle [85].

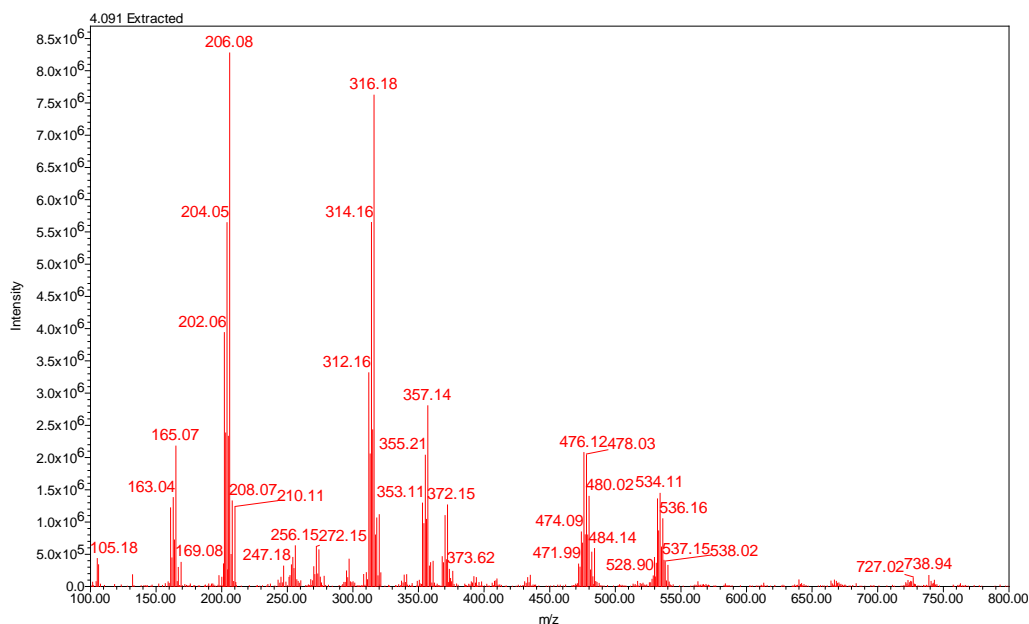


Figure 16: Spectre de masse du composé 3 ($t_R = 4,07$ min).

Après extraction liquide/liquide filtration sur laine de verre et célite, une purification sur colonne de silice a été réalisée. Cependant, lors de cette purification, le composé s'est élué plus rapidement que prévu de la colonne et n'a donc pas pu être récupéré avec une pureté de 100%. La force de l'éluant était trop importante pour permettre une bonne séparation. Sa composition a donc été adaptée en passant d'un mélange EP (60-95)/AcOEt (80/20) à un mélange 95/5. Après purification et évaporation des solvants, nous avons récupéré 273 mg

d'une huile blanchâtre se solidifiant au frigo, redevenant liquide à température ambiante. Pour cette étape, nous avons obtenu un rendement de 79%.

Le chromatogramme UPLC de ce composé purifié est repris sur la **Figure 17**. Sur celle-ci, nous observons un pic largement majoritaire avec un t_R de 4,07 min ($R_f = 0,2$). A ce stade, ce pic est supposé être celui du **composé stannique 3**.

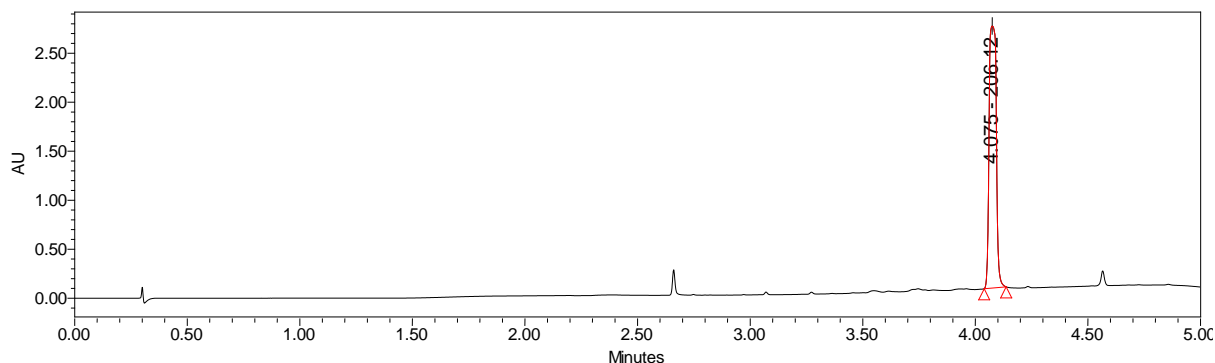


Figure 17: Chromatogramme UV du produit obtenu après purification par chromatographie (220 nm).

Des analyses RMN ^1H et ^{13}C (spectres disponibles en annexes) ont été effectuées afin de prouver avec certitude que la molécule obtenue est bien celle attendue. Les données spectrales sont résumées ci-dessous, confirmant ainsi notre hypothèse.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ (ppm): 7,42 (d, 2H), 7,22 (d, 2H), 4,95 (d, 2H), 3,33 (s, 1H), 1,40 (m, 9H), 0,25 (m, 9H)

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO) δ (ppm): 156,2 – 140,7 – 140,2 – 136,0 – 127,2 – 78,2 – 43,8 – 28,7 (-8,9)

Disposant du précurseur de marquage, la synthèse de la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$ a été investiguée.

3.4. Synthèse de la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$

Cette synthèse a été considérée selon l'approche décrite dans le **Schéma 39**. Elle implique 3 étapes :

- Récupération du fluor-18 et génération d'une espèce active.
- Réaction de marquage.
- Etape de déprotection et de purification.

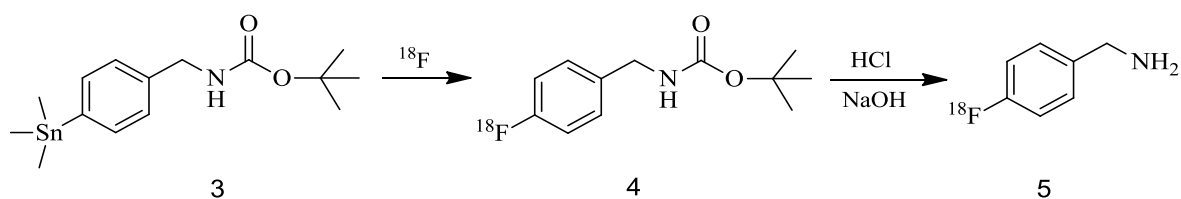


Schéma 39: Synthèse de la [¹⁸F]FBA via un intermédiaire organostannique.

Même si un automate de synthèse (AIO) était disponible au laboratoire pour la mise au point de cette synthèse, les premiers essais ont nécessité des interventions manuelles (démontage QMA, réacteur, comptage, remise en place cartouche, transfert solution). Toutes les réactions ont, dans un premier temps, été effectuées avec une séquence d'éluion et de marquage, implémentée dans l'automate, pour une autre molécule. Cela nous a permis de limiter ces interventions manuelles au minimum. Ceci était possible puisque le début des synthèses au fluor-18 est généralement fort semblable d'une molécule à l'autre (récupération [¹⁸F]fluorures sur QMA, éluion et marquage). En fonction des résultats, nous avons donc modifié la séquence ainsi que nos réactifs pour les adapter au mieux à notre molécule.

3.4.1. Récupération du fluor-18

Pour le marquage au fluor-18, il est nécessaire, dans un premier temps, de séparer l'activité sous forme de [¹⁸F]F⁻ de l'eau enrichie en oxygène-18. Pour ce faire, la méthode la plus utilisée actuellement est de faire passer la solution au travers d'une cartouche QMA (résine échangeuse anionique à base de silice, contenant 46 mg de phase) et ensuite d'éluier l'activité de la cartouche (**Figure 18**).

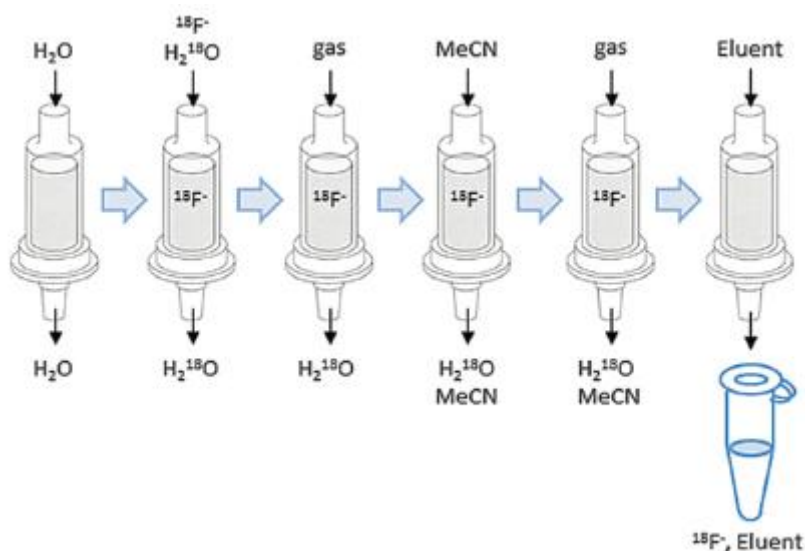


Figure 18: Principe d'éluion d'une cartouche QMA [86].

Dans un premier temps, la méthode au K₂CO₃/Kryptofix K₂₂₂ a été utilisée puisque celle-ci a prouvé son efficacité et qu'elle est couramment utilisée au sein du laboratoire. Pour ce faire, nous avons préparé 750 μL d'une solution H₂O/ACN (20/80) contenant 22 mg de

Kryptofix et 7 mg de K_2CO_3 . Même si cette élution est possible uniquement avec une solution aqueuse de K_2CO_3 , cette approche est peu intéressante. Il est beaucoup plus facile d'évaporer le mélange ACN/ H_2O que l'eau seule, ce qui contribue à diminuer la durée de cette étape. Afin de calculer le rendement d'élution, deux mesures ont été effectuées; une sur la cartouche contenant l'activité et une sur celle-ci après élution. L'activité a été mesurée au moyen d'une chambre d'ionisation. Cette technique permet d'éluer 97% de l'activité. Cependant, le rendement de marquage réalisé dans la foulée est de seulement 9% (**Table 1**).

Vu le faible rendement de marquage, nous avons décidé d'évaluer la méthode d'élution décrite par l'équipe de Zarrad (décrite dans la partie bibliographique de ce travail). Cette méthode consiste à éluer l'activité au moyen d' Et_4NOTf en solution dans le MeOH. Les résultats des différentes élutions avec ce réactif sont également repris dans la **Table 1**.

N°	Composition de l'éluant			Activité éluee (%)
	K_2CO_3 , K222	7 mg, 22 mg	ACN/ H_2O :4/1	
1	K_2CO_3 , K222	7 mg, 22 mg	ACN/ H_2O :4/1	97,1
2	Et_4NOTf	4,9 mg	ACN	0
3	Et_4NOTf	4,9 mg	MeOH	78,3
4	Et_4NOTf	5 mg	MeOH	86
5	Et_4NOTf	5 mg	MeOH	89,9
7	Et_4NOTf	5 mg	MeOH	85,4
8	Et_4NOTf	5 mg	MeOH	86,7
9	Et_4NOTf	5 mg	MeOH	81,9
10	Et_4NOTf	5 mg	MeOH	98,1
11	Et_4NOTf	5,3 mg	MeOH	98,1
12	Et_4NOTf	5,3 mg	MeOH	87,6
13	Et_4NOTf	5,3 mg	MeOH	97,6
14	Et_4NOTf	4,8 mg	MeOH	98,9
15	Et_4NOTf	4,8 mg	MeOH	99,3
16	Et_4NOTf	4,8 mg	MeOH	99,6
17	Et_4NOTf	4,8 mg	MeOH	99,5
18	Et_4NOTf	4,8 mg	MeOH	99,1
19	Et_4NOTf	4,8 mg	MeOH	99,5
20	Et_4NOTf	4,8 mg	MeOH	99,1

Table 1: Tableau récapitulatif des différents rendements d'élution (%).

Dans un premier temps, nous avons évalué l'influence du solvant d'élution. Lorsque l'agent de transfert de phase est dissout dans l'ACN (5 mg d' Et_4NOTf dans 750 μ L ACN), l'activité reste piégée sur la colonne.

L'élution a donc été retentée mais cette fois, en dissolvant le sel dans 1 mL de MeOH. Cela permet de récupérer 78% de l'activité de départ dans le réacteur dédié au marquage. Disposant de suffisamment d'activité en solution, nous avons tenté un autre essai de ^{18}F -fluoruration. Celui-ci s'est avéré concluant puisque dans ce cas, un rendement de 58% a été obtenu. Le méthanol ayant un effet bénéfique sur l'élution et le rendement de marquage, les essais suivants ont été réalisés avec ce solvant.

Cependant, au début, nous avons observé des pertes d'activité importantes lors de l'élution et du transfert de la solution vers le réacteur. En effet, le rendement d'élution calculé sur base de la différence entre l'activité piégée sur la QMA et l'activité résiduelle de celle-ci après élution (≥ 95 %), ne correspond pas à celui considéré, à partir de l'activité réellement

récupérée dans le réacteur (78-90%). Cette observation a été attribuée, au fait que celui-ci était préchauffé à 90°C, ce qui entraînait une perte d'activité par évaporation trop rapide du MeOH. Nous avons donc diminué la température du réacteur puis nous l'avons réduite de 90°C à 35°C, ce qui a effectivement permis de résoudre le problème. Il est important de remarquer ici, que cette méthode permet dans ces conditions d'obtenir des résultats d'éluion aussi bons que par la méthode au K₂CO₃/Kryptofix K₂₂₂.

3.4.2. Evaporation du solvant d'éluion

Une fois l'activité élue dans le réacteur, le MeOH a été évaporé, puisque celui-ci est un solvant polaire protique capable de solvater les fluorures, les rendant ainsi non réactionnels. Pour ce faire, le réacteur a été chauffé à 130°C durant 15 min en utilisant la séquence d'évaporation encodée dans l'AIO pour l'élimination des mélanges ACN/H₂O, utilisé pour l'éluion au K₂CO₃/Kryptofix K₂₂₂. Le méthanol étant complètement évaporé après 5 min, la durée de cette étape dans la séquence de synthèse a été réduite d'environ 10 min. Ce résultat découle de la plus faible température d'ébullition du méthanol (64,7°C) comparativement à celle du mélange ACN/eau (76,5°C).

3.4.3. Marquage

Maintenant que les conditions optimales d'éluion sont déterminées, l'évaluation de l'étape de marquage a été envisagée (**Schéma 40**). Les premiers essais ont été réalisés avec 7 mg (19 μmol) de précurseur stannique 3 et environ 20 mg (30 μmol) de CuOTf₂Py₄. Ces deux composés ont été préalablement dissout dans 1 mL de DMA puis, à la fin de l'étape d'évaporation de l'eau, transférés dans le réacteur à 35°C contenant le [¹⁸F]F⁻ sec. Le tout a ensuite été porté à 120°C durant 10 min. Notons que lors de cette réaction, la solution passe successivement d'un bleu intense à un jaune opaque.

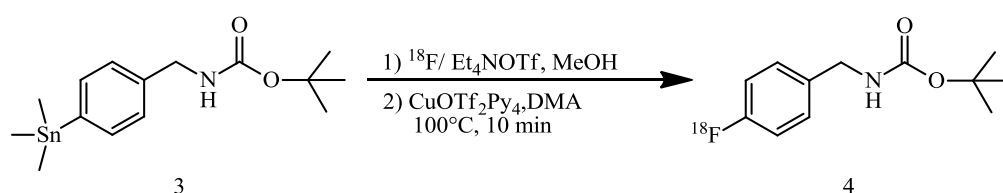


Schéma 40: Marquage de la [¹⁸F] FBA protégée par un groupement Boc. 1) Elution de l'activité ; 2) Marquage.

A la fin de cette étape, l'activité totale du réacteur, après marquage a été mesurée. Le DMA contenant l'activité en solution a été transféré dans un autre réacteur et la pureté radiochimique de cette solution déterminée par CCM (AcOEt 100%) (**Figure 19**). Toutes les CCM radioactives ont été effectuées dans ces conditions.

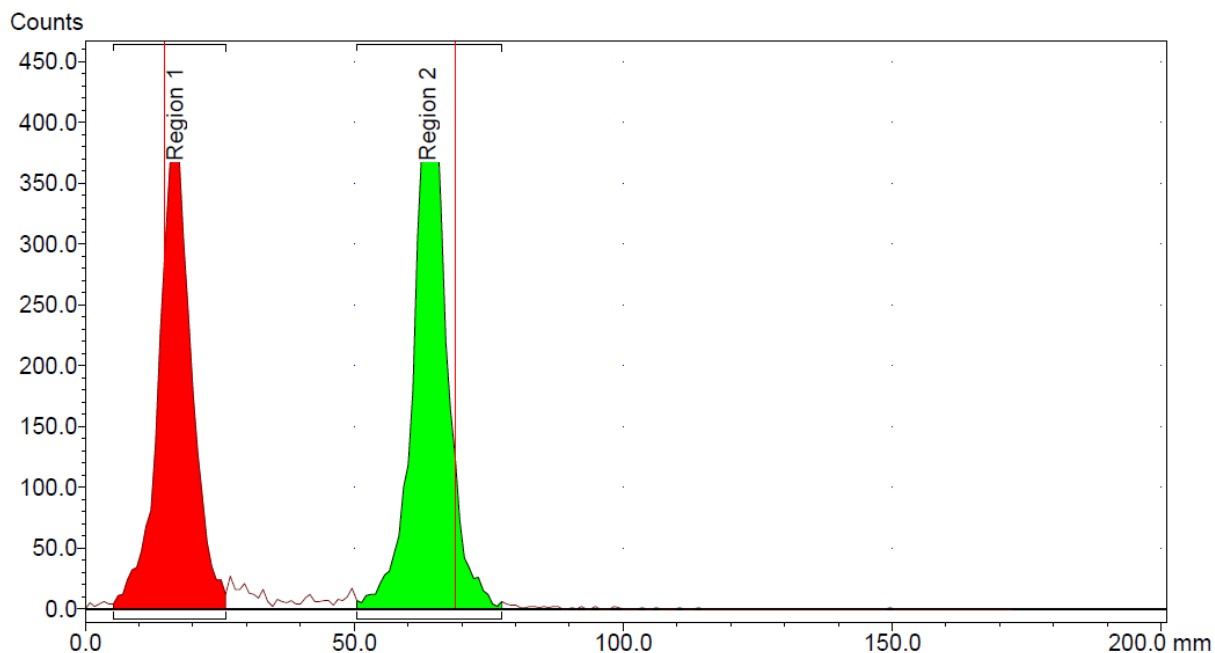


Figure 19: CCM du brut de marquage.

Sur cette CCM, nous observons un spot dont le R_f de 0,8 correspond à celui de la [^{19}F]FBA et un autre qui ne migre pas ($R_f = 0$). Ce second spot est vraisemblablement celui des fluorures, non détectés par l'analyse UPLC puisque celle-ci a été réalisée en milieu acide [87]. Cette TLC montre que la pureté radiochimique de cette solution est de 50 % (la pureté varie de 20 à 90 % en fonction des expériences). Sur base de ces données, un rendement de marquage en [^{18}F]FBABoc de l'ordre de 40 % a été calculé.

Pour calculer les rendements, nous avons tenu compte des activités utilisées et de celles récupérées, de la pureté radiochimique ainsi que de la décroissance radioactive dont la loi de vitesse est reprise ci-dessous (**Schéma 41**). Le temps de manipulation pouvant être variable d'une expérience à l'autre, cela nous a permis de convertir tous les résultats à la même heure et de nous affranchir de la durée de manipulation. Tous les résultats présentés dans ce travail sont corrigés par rapport à la décroissance (dc).

$$A(t) = A_0 e^{-kt}$$

Schéma 41: Loi de décroissance radioactive. $A(t)$ représente l'activité au temps t , A_0 l'activité initiale et k est la constante de vitesse de désintégration du fluor-18.

Après marquage, le brut de réaction a été analysé par UPLC. Toutes les analyses UPLC des produits obtenus en chimie radioactive ont été effectuées sur la colonne 2 de type C_{18} (Acquity UPLC CSH C_{18} -1.7 μm -2.1x100mm) avec le gradient 2 (ACN/ H_2O). Ce chromatogramme et celui du produit de départ sont disponibles respectivement aux **Figures 20** et **21**.

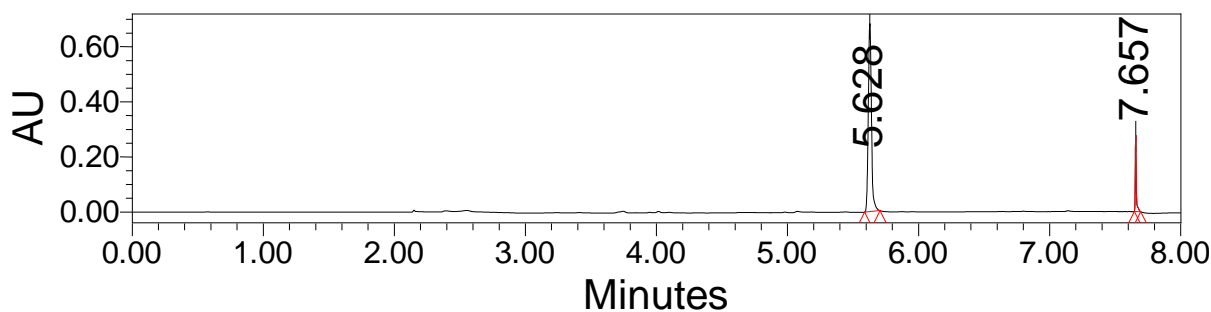


Figure 20: Chromatogramme UV du composé 3 (220nm).

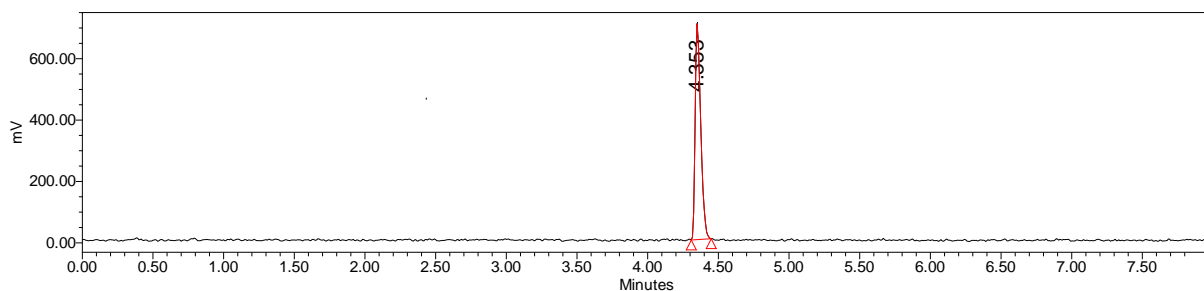


Figure 21: Chromatogramme radiochimique du brut de marquage (220 nm).

Le **Figure 21** ne montre qu'un seul pic radiochimique dont le temps de rétention de 4,35 min ($R_f = 0.8$) est différent de celui du **composé 3**. ($t_R = 5,63$ min, **Figure 20**) mais identique à celui de la référence non radioactive de [^{18}F]FBABoc ($t_R = 4,33$ min, **Figure 22**).

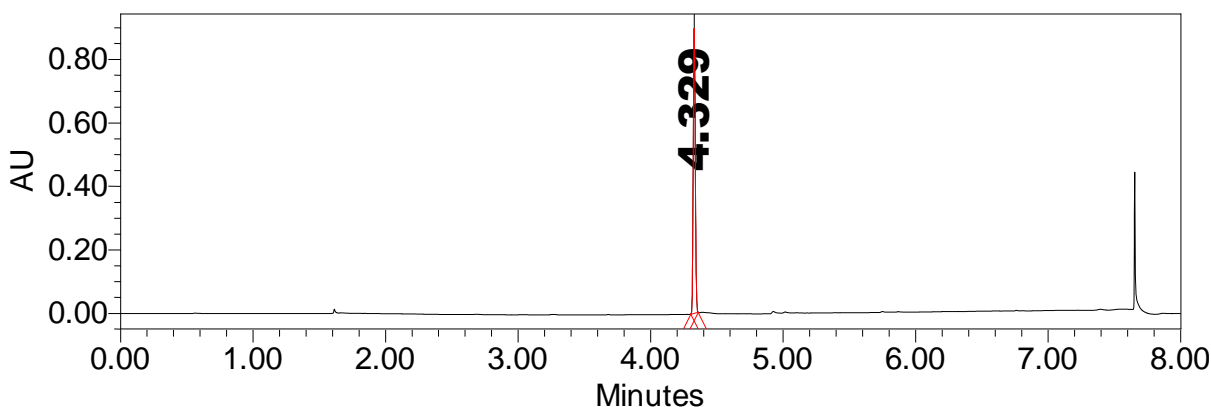


Figure 22: Chromatogramme UV de la référence [^{19}F]FBABoc (210 nm).

Le spectre RMN ^1H de la [^{19}F]FBABoc, synthétisée au laboratoire a également été enregistré (disponible en annexes). Les résultats de cette analyse sont résumés ci-dessous :

RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ (ppm): 7,34 (t, 2H), 7,21 (t, 2H), 4,175 (d, 2H), 3,41 (s, 1H), 1,47 (m, 9H).

Ici, il est important de noter que contrairement aux méthodes de synthèse de la [^{18}F]FBA référencées dans la littérature, l'introduction du fluor-18 est réalisée sur la molécule complète protégée, en dernière étape. Comparativement, les autres méthodes nécessitent au moins deux étapes car elles impliquent d'abord une étape de marquage suivie d'une étape de

réduction du groupement nitrile. Cette façon d'opérer présente l'avantage que la perte d'activité, due à la décroissance, est limitée puisque toutes les étapes ne nécessitant pas d'activité sont effectuées préalablement.

Sur base de ces résultats préliminaires, nous avons tenté d'évaluer l'influence des différents paramètres (quantité de précurseur, catalyseur, durée de marquage).

3.4.3.1. Influence de la quantité de précurseur

Dans un premier temps, nous avons évalué l'influence de la quantité de précurseur sur ce rendement. Pour cette évaluation, la quantité de précurseur a été ajustée entre 2 et 13 mg. Les autres paramètres réactionnels ont été maintenus constant durant la totalité des essais (Catalyseur :20 mg (30 μ mol), T= 120°C, t= 10 min). Les résultats obtenus sont repris dans la **Table 2**.

Précurseur (mg)	Rendement dc (%)
2	61,7
4	70,1
6,5	58,9
7	45,8
7	38,2
8	56,6
13	40,1

Table 2 Rendements de marquage en fonction de la quantité de précurseur utilisée avec 20 mg de catalyseur, à 120°C durant 10 min.

Pour des quantités de précurseurs comprises entre 2 mg (5 μ mol) et 13 mg (35 μ mol), les rendements obtenus varient de 38 à 70 %. Ces expériences ont été réalisées en mode automatique sur l'AIO. Cependant, durant ces premiers essais automatisés, des pertes d'activité variables ont été observées lors de l'introduction des fluorures dans le réacteur de marquage. Cela pourrait expliquer certaines valeurs contre intuitives puisque les rendements les plus élevés observés, le sont avec des quantités plus faibles de précurseur. Néanmoins, nous avons décidé de poursuivre ce travail, en utilisant la quantité de précurseur (4 mg, 10 μ mol) fournissant le meilleur rendement (70%). Au cours de ces essais, le problème de perte d'activité a été identifié et résolu, nous permettant ainsi de nous affranchir de la variabilité des résultats lors des futurs essais.

3.4.3.2. Impact de la quantité de catalyseur

Remarque: Les rendements présentés dans la suite de cet exposé sont des rendements après pré-purification. En effet, lors du développement de cette synthèse radiochimique, nous avons exploité au maximum l'activité disponible car celle-ci a un cout non négligeable et n'est pas produite en permanence. L'étape de purification (décrite dans la suite) a donc été développée et partiellement automatisée avant l'étude des paramètres réactionnels. Les mesures

d'activité, nécessaires au calcul du rendement avant purification, n'ont dans ce cas pas été réalisées.

Pour étudier l'impact de la quantité de catalyseur, nous avons utilisé la même quantité de précurseur (4 mg) et nous avons fait varier celle du catalyseur de 5 mg (13 μmol) à 19 mg (40 μmol) en maintenant la température à 120°C et une durée du marquage de 10 min (**Table 3**).

Catalyseur (mg)	Rendement (dc) (%)
5	5
8	14
9	47
10	43
15	48
15	41
19	44

Table 3: Rendement de marquage en fonction de la quantité de catalyseur utilisée. Marquage effectué à 120°C durant 10 min avec 4 mg de précurseur.

Entre 20 et 10 mg de catalyseur, les différences de rendements ne sont pas significatives. En deçà de ces valeurs, le rendement chute de 40 % vers 15 %. Ces résultats expérimentaux montrent qu'une diminution de la quantité de catalyseur n'est pas bénéfique à la réaction puisque des rendements inférieurs sont observés lorsque de plus faibles quantités de $\text{Cu(Py)}_4\text{OTf}_2$ sont utilisées. Notons cependant que la valeur obtenue avec 5 mg de catalyseur est sous estimée car une perte d'activité a été observée durant la manipulation. Le meilleur rendement de 48% a été obtenu en utilisant une quantité de catalyseur de 15 mg. Cette quantité de catalyseur sera donc celle utilisée afin d'évaluer le dernier paramètre réactionnel, la durée de marquage.

3.4.3.3. Influence du temps de réaction.

Les expériences précédentes ont été conduites pendant 10 minutes avec 4 mg de précurseur et 15 mg du catalyseur au cuivre à une température de 120°C. Dans cette partie du travail, nous avons conservé ces paramètres mais nous avons fait varier la durée de l'étape de marquage, entre 2,5 et 10 min.

Nous pouvons voir dans la **Table 4**, que les meilleurs rendements ont été obtenus pour une durée de réaction de 5 min. Pour ces trois essais, une valeur de l'ordre de 50 % est obtenue. Cependant, un quatrième essai dans ces conditions n'a permis d'obtenir qu'un RCY de 25,1%. Une explication possible est que pour cet essai, le précurseur et le catalyseur ont été préalablement dissouts dans le DMA (deux semaines). Dans ce cas, une dégradation d'un ou des deux composés n'est donc pas à exclure.

t (min)	Rendements (dc)(%)
2,5	37
5	49
5	51
5	55
10	41

Table 4: Influence du temps de marquage sur le rendement. Essais réalisés avec 4 mg de précurseur, 15 mg de catalyseur et à 120°C.

Des temps de réaction plus court ou plus long ne permettent pas d'augmenter ce rendement. Cependant, par manque de temps, nous n'avons pas pu confirmer ces observations. Maintenant que les paramètres réactionnels du marquage ont été étudiés, la mise au point de la réaction de déprotection peut être abordée.

3.4.4. Déprotection du groupement amine.

L'étape de déprotection consiste en une hydrolyse en milieu acide du groupement carbamate de la [^{18}F]FBABoc afin d'obtenir l'amine libre (**Schéma 42**).

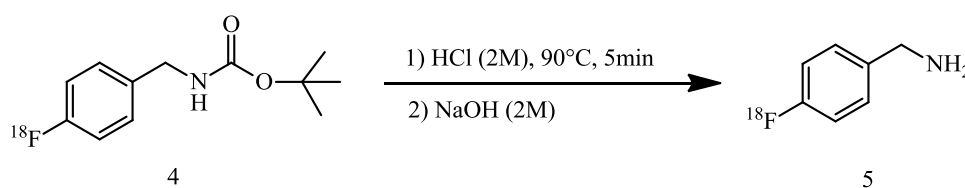


Schéma 42: Réaction de déprotection de la [^{18}F]FBABoc. 1) Hydrolyse ; 2) Neutralisation

Dans un premier temps, l'hydrolyse du groupement Boc a été réalisée avec de l'HCl (6M) à 130°C durant 10 min. Le radiochromatogramme UPLC du brut d'hydrolyse, après neutralisation en milieu basique, est disponible à la **figure 23**.

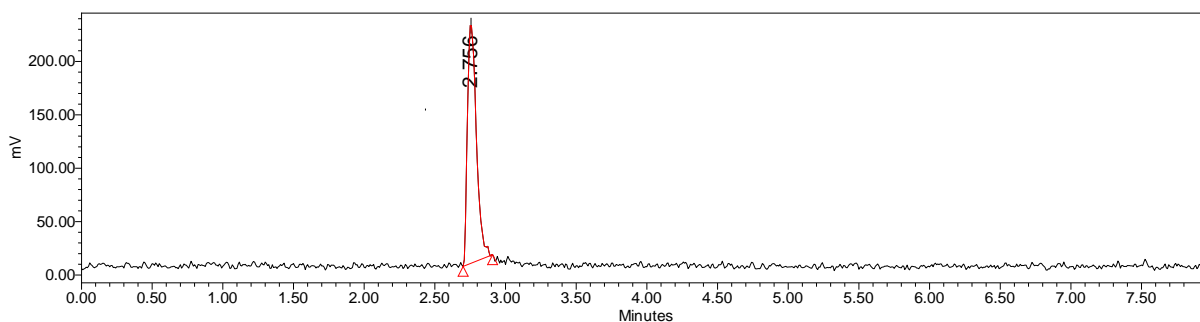


Figure 23: Radiochromatogramme du mélange réactionnel après hydrolyse et neutralisation (Composé 5).

La figure ci-dessus montre un seul pic radiochimique ($t_r = 2,75$ min.) correspondant au composé 4 ($t_R = 4,35$ min, **Figure 23**). De même, le spot CCM avec un R_f de 0,8 disparaît pour laisser place à celui avec un R_f de 0 (**Figure 24**). Les CCM ne permettent donc pas de

calculer la pureté radiochimique de notre composé puisque les ions fluorures possèdent le même R_f .

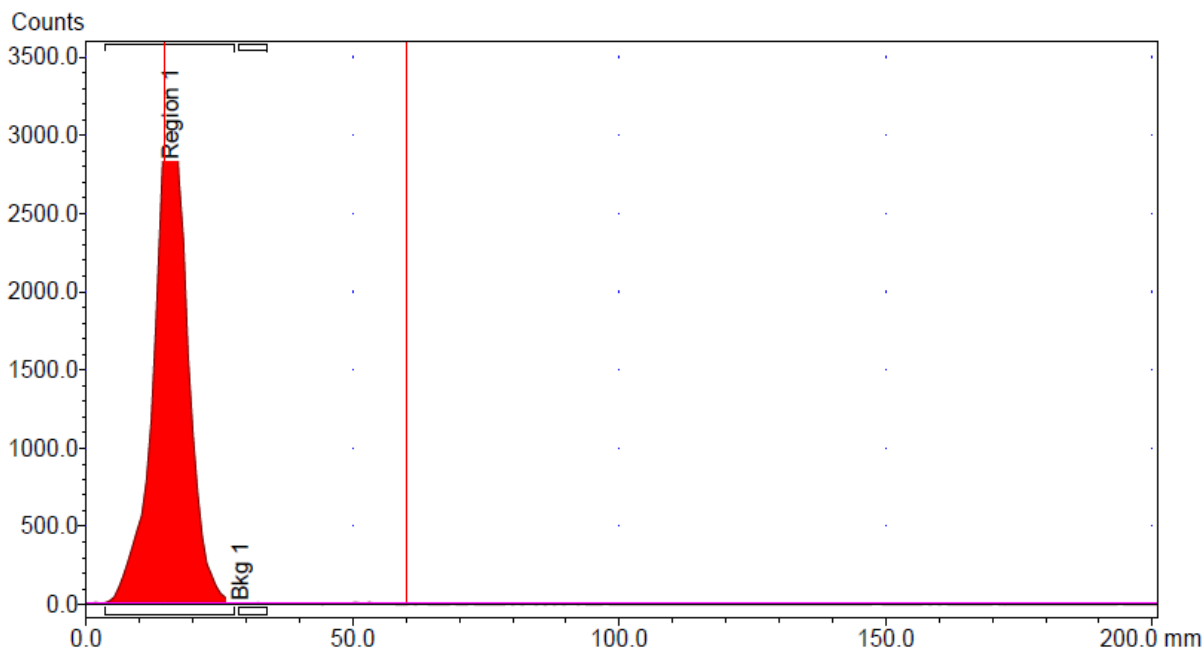


Figure 24: CCM du brut d'hydrolyse après neutralisation.

L'hydrolyse est rapide et complète avec 1,5 mL de l'HCl 6M. Cependant, l'utilisation de solutions acides concentrées est à éviter lors de synthèses radiochimiques automatisées. Comme les groupements Boc sont normalement facilement hydrolysables, nous avons donc testé à nouveau cette étape avec de l'HCl 1M. Pour ce faire, les conditions expérimentales ont été maintenues et seule la concentration de la solution acide a été modifiée. Les deux essais suivants se sont avérés concluants. Cependant au troisième essai, une hydrolyse incomplète a été observée (90%) aussi bien par UPLC que par CCM. Afin de fiabiliser au maximum cette étape, nous avons alors décidé d'utiliser pour les essais suivants de l'HCl 2M. L'hydrolyse est, dans ce cas, chaque fois complète et le $[^{18}\text{F}]\text{FBABoc}$ non détectable lors des analyses CCM et UPLC.

Ensuite, de nouveaux essais ont été effectués afin de déterminer s'il était possible de diminuer la température et le temps de réaction. Nous avons donc réduit la durée de l'hydrolyse de 10 minutes. Une déprotection quantitative était toujours observée. Ensuite, la température a été réduite à 100°C et par la suite à 90°C. A chaque fois, nous avons observé une déprotection complète de la molécule marquée. Un temps de réaction de 5 min et une température de 90°C ont été maintenus pour le reste des expériences. Il aurait été intéressant d'investiguer d'autres paramètres. Malheureusement, par manque de temps, cela n'a pas été possible. Maintenant que la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$ a pu être obtenue, il est nécessaire de pouvoir la récupérer et de l'isoler des impuretés du milieu.

3.4.5. Pré-purification sur cartouche tC₁₈

Après déprotection, nous avons donc essayé de pré-purifier la [¹⁸F]FBA des diverses impuretés radioactives et non radioactives présentes dans le milieu ([¹⁸F]F⁻, DMA, sels de cuivre et d'étain,...). Afin d'automatiser cette étape de purification, des essais par passage au travers de divers type de cartouches (une à base de copolymère permettant des séparations en phase inverse, une comportant des fonctions amines et une à base de diol) ont été réalisés manuellement dans un premier temps. Une illustration de ce type de cartouche est disponible à la **Figure 25**.



Figure 25: Cartouche SEP-PAK C₁₈ (400mg) de la firme Waters.

Pour évaluer l'efficacité de ces cartouches, des essais de piégeage avec une aliquote du brut d'hydrolyse à pH acide et une autre à pH basique ont été effectués. Nous avons fait passer ces solutions au travers de la phase stationnaire. Ensuite, nous avons mesuré l'activité retenue sur la cartouche et celle passée au travers (éluat). Parmi ces cartouches, seul la C₁₈, après passage d'une solution basique, permet de piéger efficacement l'activité.

Ces résultats s'expliquent par le fait qu'après l'étape de déprotection réalisée en milieu acide, la [¹⁸F]FBA se trouve en solution sous forme protonée. L'activité ne peut être retenue sur le support que si la molécule est sous sa forme neutre. En effet, la cartouche contient une phase stationnaire de type C₁₈. Le trapping d'une molécule chargée n'est pas possible sur ce type de support. Une séquence de neutralisation et une pré purification sur tC ont donc été implémentées dans le processus d'automatisation (**Schéma 43**).

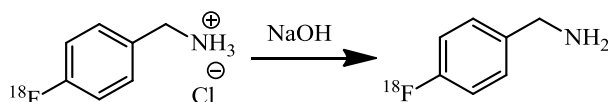


Schéma 43: Réaction de neutralisation de la [¹⁸F] FBA.

Pour ce faire, 2 mL d'une solution de NaOH 2M ont été ajoutés au milieu réactionnel. Cette quantité représente un léger excès par rapport à celle d'HCl précédemment utilisée et permet une neutralisation complète. Une fois l'activité trappée, la cartouche a été lavée par un volume additionnel d'eau et ce afin d'éliminer au maximum les [¹⁸F]F⁻ de la cartouche. Les

différents éluats ont été récupérés et analysés par CCM et UPLC. Le R_f de la fluorobenzylamine étant proche de zéro, l'analyse CCM ne permet pas de déterminer avec certitude la pureté radiochimique du composé ainsi purifié. L'activité trappée sur la cartouche a ensuite été éluée avec 2 ml de MeOH. L'éluion est quantitative puisque l'activité résiduelle de la cartouche est négligeable par rapport à l'activité piégée. Comme les étapes de marquage, de déprotection et de pré-purification ont été réalisées, il est nécessaire de prouver que la molécule obtenue est bien de la [^{18}F]FBA.

3.4.6. Identification

En radiochimie, il n'est malheureusement pas possible de caractériser les produits de synthèse au moyen des techniques d'analyse classiques comme la RMN ou la spectrométrie de masse, si celle-ci ne se trouve pas dans des locaux agréés. En effet, les synthèses radiochimiques réalisées au niveau du no-carrier-added (nca) génèrent de très faibles quantités de produits ($\approx \mu\text{g}$) qui ne sont pas facilement détectables par ces méthodes. Les produits sont donc généralement identifiés par comparaison des temps de rétention UPLC avec ceux de références froides, quant à elles, bien caractérisées par ces techniques. Les temps de rétention obtenus pour les différents composés sont repris dans la **Table 5**.

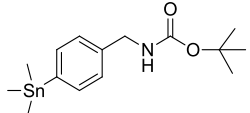
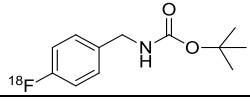
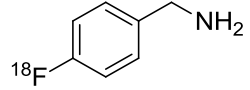
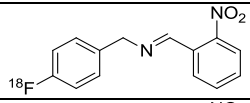
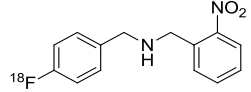
N°	Molécules	Temps de rétention (min)		R_f
		Radioactif	Références	
3		/	5,36	0,2
4		4,33	4,35	0,8
5		2,75	2,76	0
6		2,84	/	0.9
7		4,59	4,67	0.5

Table 5: Résumé des temps de rétention des produits de synthèses radioactives et des références froides.

La FBA de référence, disponible au laboratoire a été analysée par UPLC. Ce chromatogramme montrait la présence de plusieurs pics. Le composé a donc été purifié par distillation. Après purification, un seul pic est visible en UV ($t_r = 2,76$ min, **Figure 26**).

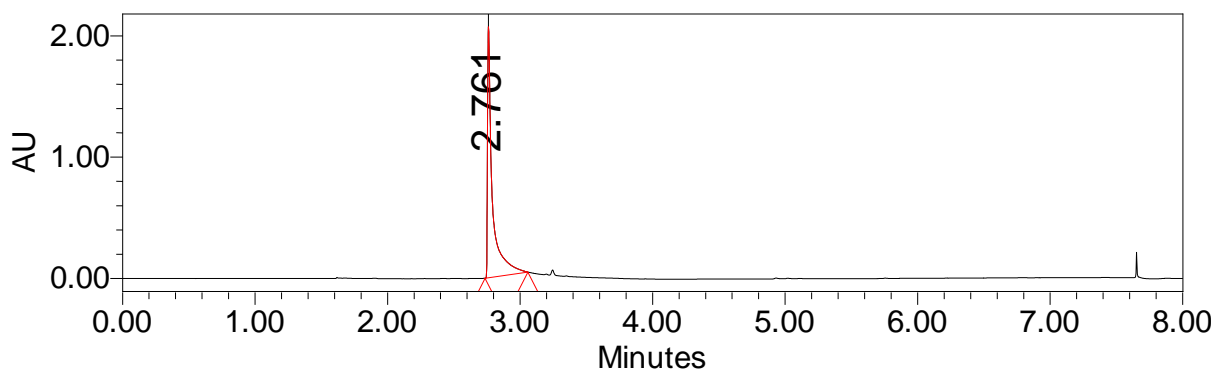


Figure 26: Chromatogramme UV de la [¹⁹F]FBA (220nm).

Les spectres RMN ¹H et ¹³C de ce composé ont également été enregistrés et sont disponibles en annexes. Les résultats sont résumés ci-dessous.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ(ppm):7,35 (t, 2H,), 7,11 (t, 2H,), 3,18 (s, 2H), 2,54 (s, 2H).

RMN ¹³C (101 MHz, DMSO) δ(ppm): 162,5 – 140,9 – 129,23 – 129,2 – 115,2 – 115,2 – 49,0 – 45,35

Ensuite, après hydrolyse et pré purification, le brut de marquage a été analysé par UPLC. Un pic radiochimique avec un t_R de 2,76 min est visible dessus (**Figure 27**). Le chromatogramme UV associé à cette injection radioactive ne montre aucun pic UV à ce temps de rétention de 2,76 min (**Figure 28**). Il a été traité à 236 nm pour mettre en évidence tous les pics UV de ce milieu.

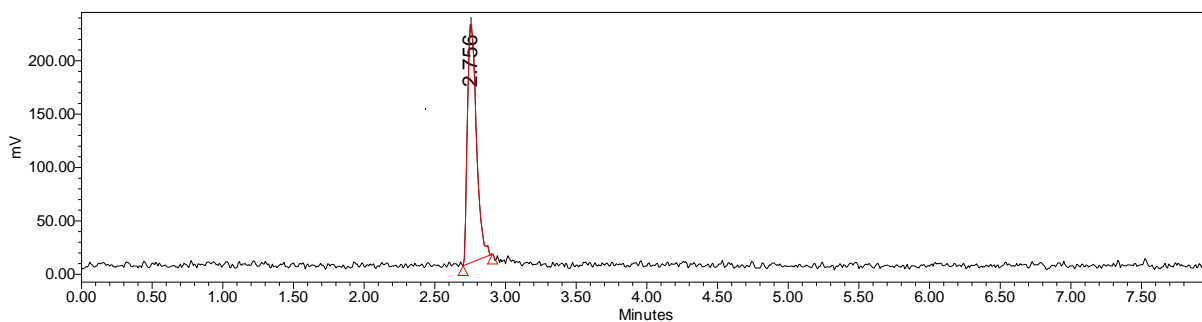


Figure 27: Chromatogramme radiochimique du brut de marquage.

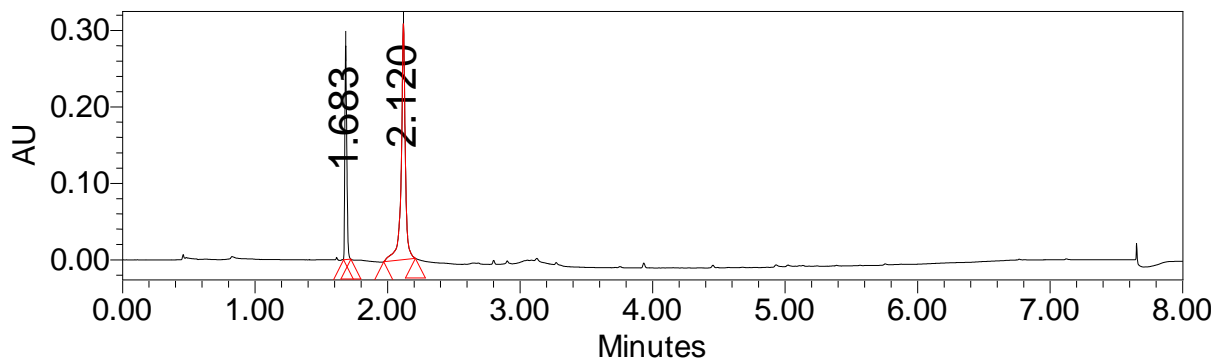


Figure 28: Chromatogramme UV associé au produit radioactif (236 nm).

Pour identifier la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$, nous avons ajouté un peu de $[^{19}\text{F}]\text{FBA}$ à notre solution radioactive. Dans ce cas, un nouveau pic UV dont le temps de rétention est de 2.7 min apparaît au même temps de rétention que le produit radioactif ($t_R = 2,76$ min, **Figure 29**). Ceci confirme bien que la molécule synthétisée est de la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$.

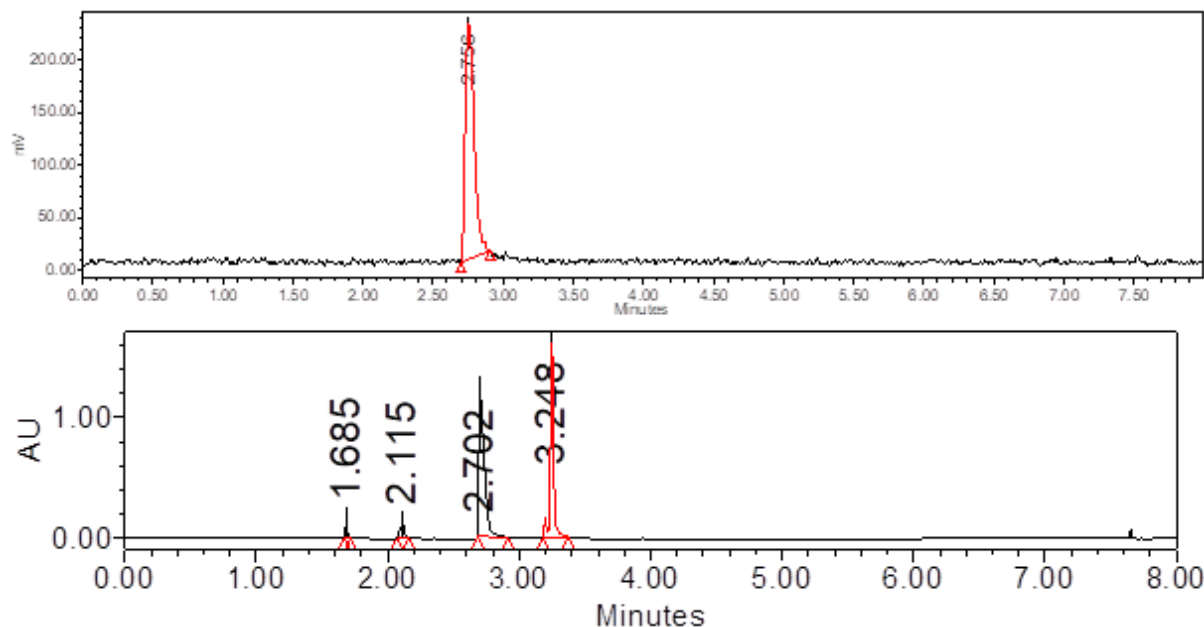


Figure 29: Chromatogramme radiochimique et UV après ajout de la référence ($[^{19}\text{F}]\text{FBA}$) au brut de marquage (236nm).

Bien que la fixation de la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$ sur la cartouche C_{18} soit possible, il est indispensable de prouver que cette dernière est bien quantitative et qu'une partie de la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$ n'est pas éluée du support lors des lavages à l'eau. Pour ce faire, nous avons analysé les différents éluats après passage sur C_{18} . Comme la $[^{18}\text{F}]\text{FBA}$ et les $[^{18}\text{F}]\text{fluorures}$ ne migrent pas lors des CCM ($R_f = 0$, **Figure 24**), il n'est pas possible de faire la différence entre ces deux produits par cette technique. De même, la détermination de la pureté radiochimique par UPLC, en condition acide, n'est également pas possible car dans ces conditions, les $[^{18}\text{F}]\text{fluorures}$ ne sont pas élués de la colonne [87]. Pour essayer de surmonter ce problème, les analyses UPLC ont été réalisées dans des conditions compatibles avec une élution des fluorures (soit à pH neutre). Nous avons injecté la solution de « waste » de la $t\text{C}_{18}$, supposée ne contenir que les $[^{18}\text{F}]\text{F}$ - (**Figure 30**) et une solution de $[^{18}\text{F}]\text{fluorure}$ de rinçage des lignes de transfert (**Figure 31**).

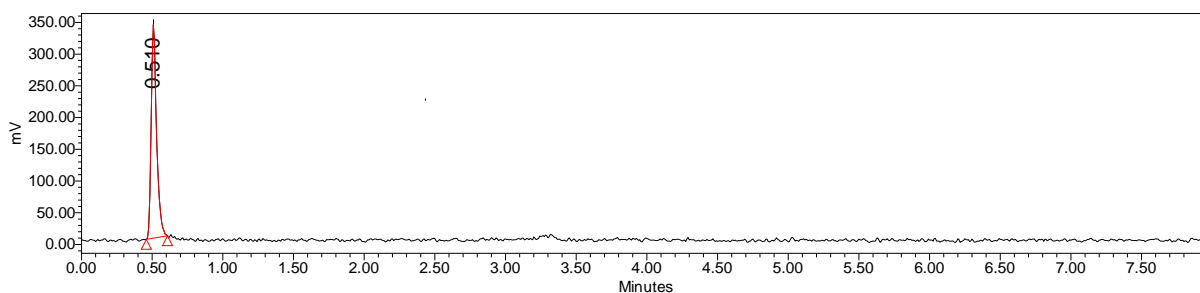


Figure 30: Chromatogramme radiochimique de la solution « waste ».

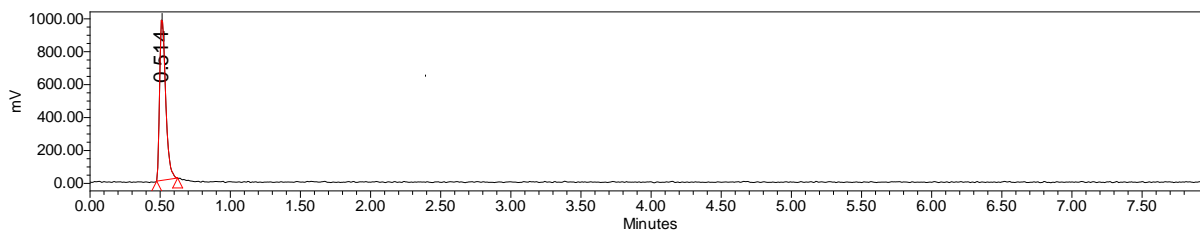


Figure 31 : Chromatogramme radiochimique de la solution de [¹⁸F]fluorure.

Un seul pic radioactif dû aux [¹⁸F]fluorures est visible sur ces chromatogrammes ($t_R=0.51$, **Figure 30** et **31**). Comme sur le chromatogramme du « waste », le pic de [¹⁸F]FBA n'est pas visible ($t_R= 2.75$, **Figure 29**). Nous pouvons conclure que la [¹⁸F]FBA reste bien fixée sur la cartouche pendant les étapes de lavage à l'eau.

3.4.7. Automatisation.

Sur base de toutes ces informations, nous avons finalisé l'automatisation de la synthèse sur l'AIO (Trasis). Celle-ci est réalisée au moyen de rampes, de vannes disponibles sur lesquelles sont placées différents réactifs, seringues, cartouches (SPE, QMA,...). Tous les réactifs sont mis en solution manuellement avant le début de la séquence. La **Figure 32** résume le « layout » de l'appareillage utilisé et les divers éléments nécessaires pour réaliser, en mode entièrement automatisé, la synthèse de la [¹⁸F]FBA.

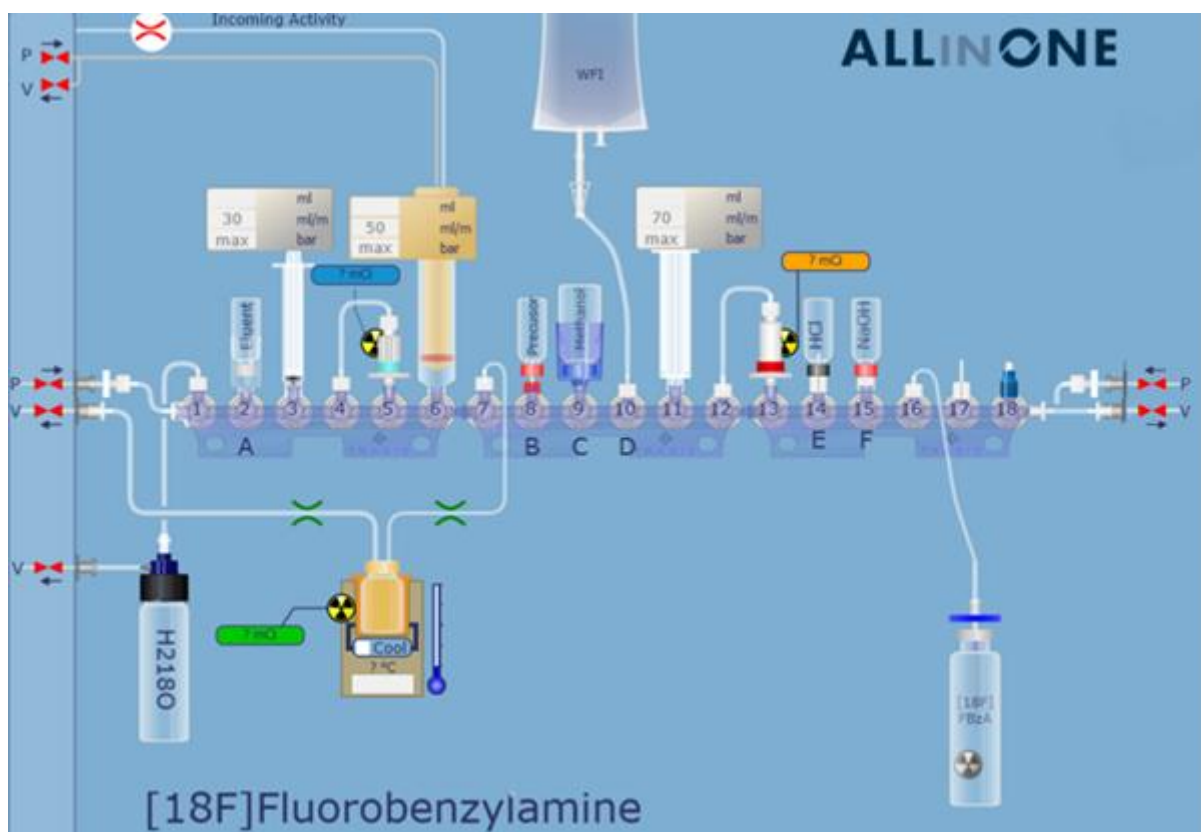


Figure 32: Layout de la cassette pour la synthèse de la [¹⁸F]FBA.

- | | |
|--|---|
| 1) Flacon récupération H ₂ ¹⁸ O. | 9) MeOH (10 mL). |
| 2) Et ₄ NOTf (5 mg) dans MeOH (1 mL). | 10) Pochette d'eau. |
| 3) Seringue de 3 ml. | 11) Seringue de 12 ml. |
| 4-5) QMA 46 mg. | 12-13) SEP PAK tC ₁₈ (400 mg). |
| 6) Seringue de 20 ml. | 14) HCl 2 M (3.5 mL). |
| 7) Ligne d'entrée vers le réacteur;. | 15) NaOH 2M (3.5 mL). |
| 8) Précurseur (4 mg), catalyseur (15 mg),
DMA (1 mL). | 16) Ligne de récupération du produit final. |

Avec cette séquence d'automatisation finalisée, nous avons réalisé deux essais avec des quantités plus importantes de radioactivité (50-60 mCi) et ce sans aucun contrôle intermédiaire. Dans ce cas, la [¹⁸F]FBA pré-purifiée par tC₁₈ est récupérée avec un rendement pouvant atteindre les 55% (dc) après 27 min de synthèse.

Disposant d'un batch de [¹⁸F]FBA, nous avons considéré une réaction de couplage avec un aldéhyde de structure simple.

3.5. Couplage avec l'o-nitrobenzaldéhyde

Les premiers essais de couplage ont été réalisés avec l'o-nitrobenzaldéhyde (**Schéma 44**). Cette réaction est inspirée de celle décrite par Bock et al [29], disponible dans la « Partie expérimentale » de ce travail.

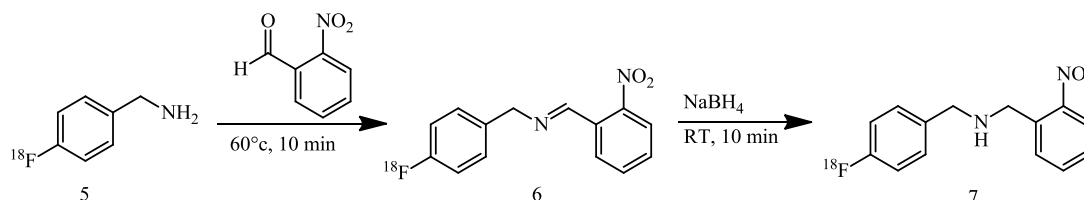


Schéma 44: Couplage de la [¹⁸F]FBA avec la o-nitrobenzaldéhyde. 1) Formation de l'imine ; 2) Réduction au NaBH₄.

Le mode opératoire implique deux étapes. La première où a lieu le couplage entre l'amine et le groupement carbonyle a été réalisée dans le MeOH à 60°C durant 10 min. Cela génère l'imine (**Composé 9**). La seconde implique une réduction au moyen de NaBH₄ à température ambiante durant 10 min également afin d'obtenir l'amine correspondante (**Composé 10**) (**Schéma 44**).

3.5.1. *Formation de l'imine.*

La [¹⁸F]FBA préalablement synthétisée a été mise en réaction avec de l'o-nitrobenzaldéhyde, en solution dans le méthanol. Les essais de couplage avec la [¹⁸F]FBA ont été effectués et analysés par CCM (AcOEt 100%) et UPLC sur la colonne 2 de type C₁₈ (Acquity UPLC CSH C₁₈-1.7μm-2.1x100 mm) en utilisant le gradient 2.

L'analyse radiochimique de ces résultats (**Figure 33**) montre deux pics avec des temps de rétention respectifs de 2,69 et de 4,69 min. Le premier pic a un temps de rétention légèrement plus court ($t_R = 2.6$ min). Il est aussi plus large que celui de la [¹⁸F]FBA (**Figure 29**). Le deuxième pic à 4,69 min est nettement plus fin. L'apparition de deux pics radiochimiques est inattendue puisque cela signifie que deux produits différents contenant du fluor-18 ont été synthétisés.

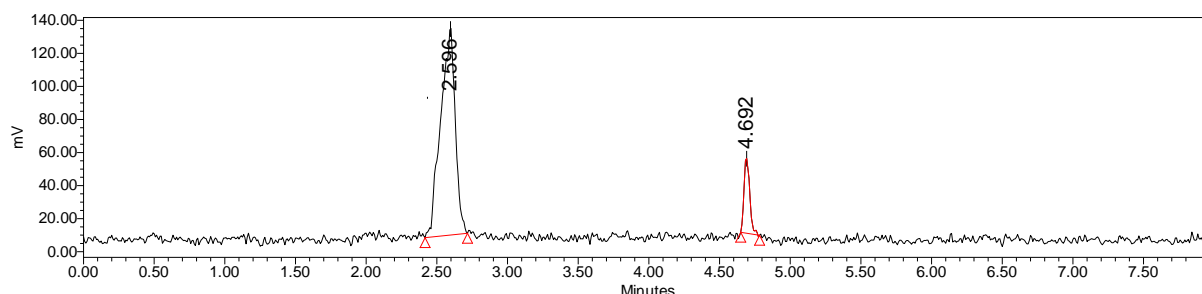


Figure 33: Profil radiochimique du brut de la réaction de couplage entre la [¹⁸F]FBA et l'o-nitrobenzaldéhyde.

Sur le chromatogramme UV (**Figure 34**), seul le pic de l'o-nitrobenzaldéhyde est visible.

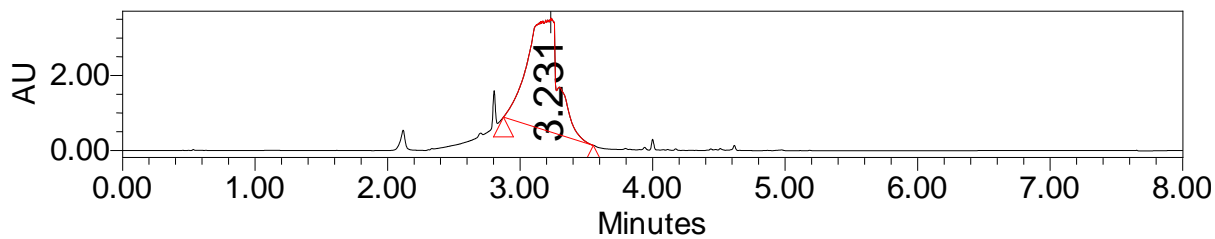


Figure 34: Profil UV correspondant à celui de la figure 33 (254 nm).

De la [^{19}F]FBA a été ajoutée au milieu mais nous n'avons pas observé l'apparition du pic correspondant à cette référence.

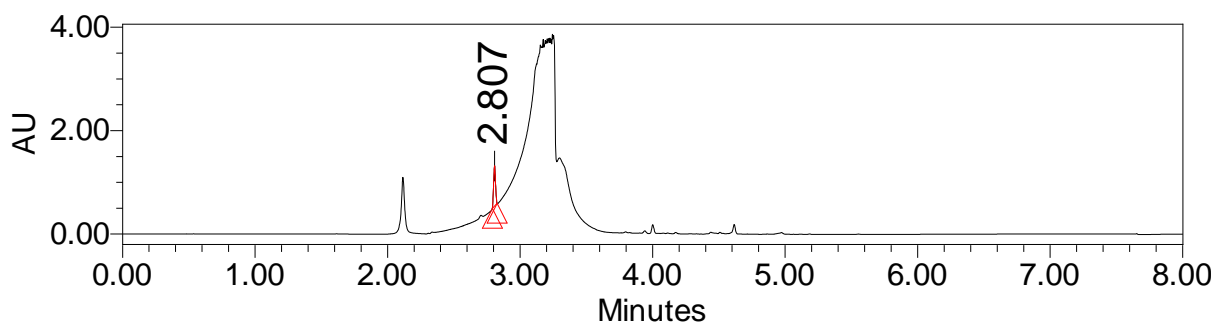


Figure 35: Brut de réaction du couplage après un ajout de référence froide (254 nm).

L'analyse par CCM de ce couplage radioactif montre un spot majoritaire (73%) avec un R_f de 0,9 et un autre minoritaire (9%) avec un R_f de 0 qui correspond à la [^{18}F]FBA n'ayant pas réagi (Figure 36).

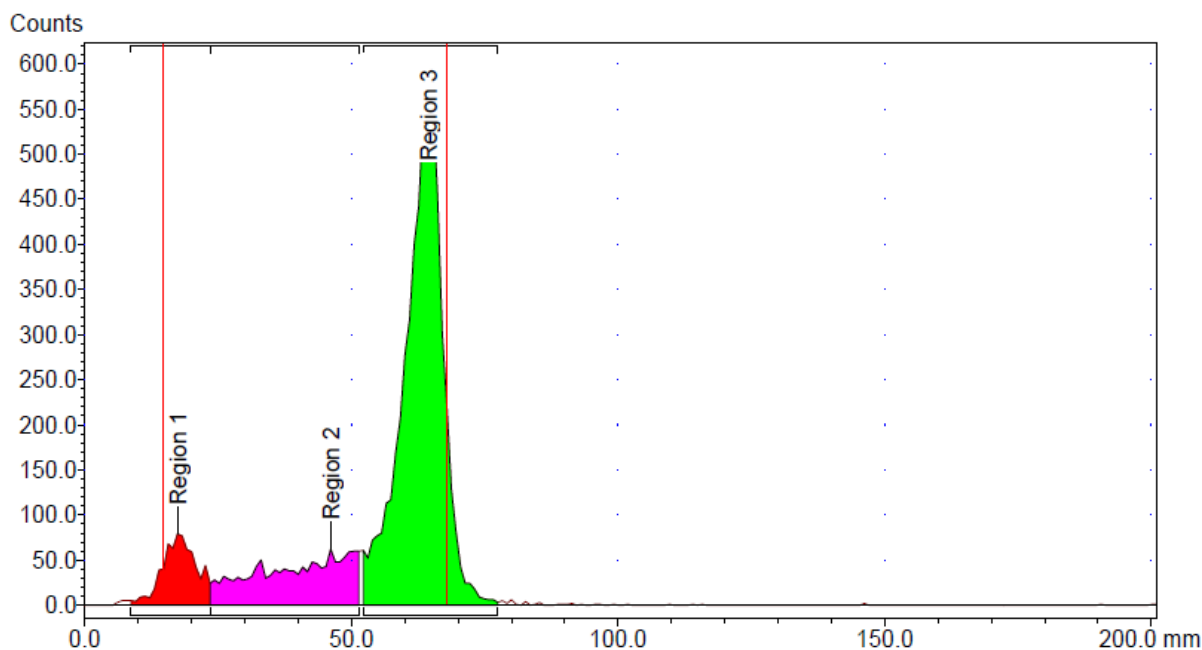


Figure 36: CCM du brut de réaction après couplage avec l'*o*-nitrobenzaldéhyde.

Contrairement à l'article duquel nous nous sommes inspirés, où les auteurs laissaient réagir durant 3h, ici une conversion complète est obtenue au bout de seulement 10 min. L'étape de réduction peut donc être envisagée.

3.5.2. Réduction de l'imine

Ensuite, la réduction de l'imine a été réalisée et analysée par UPLC (**Figure 37**). Après réduction, le pic observé à 2,59 min (**Figure 33**) a complètement disparu au profit d'un seul un pic radiochimique ayant un t_R de 4,59 min. Sur base de ces chromatogrammes, il est étonnant d'observer que lors du couplage, une partie de l'imine semble déjà se réduire avant l'addition du NaBH_4 .

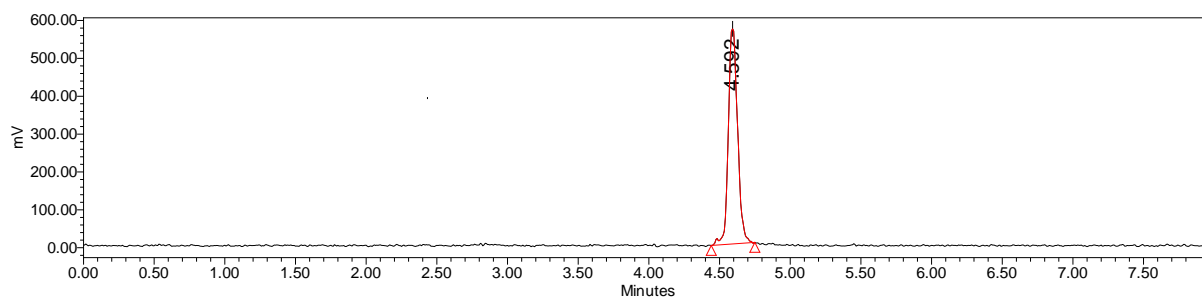


Figure 37: Chromatogramme radiochimique de l'imine réduite.

De même, l'analyse par CCM indique qu'une réaction a bien eu lieu puisque le spot avec un R_F de 0.9 (**Figure 36**) disparaît pour laisser place à un autre avec un R_f de 0.5 (**Figure 38**).

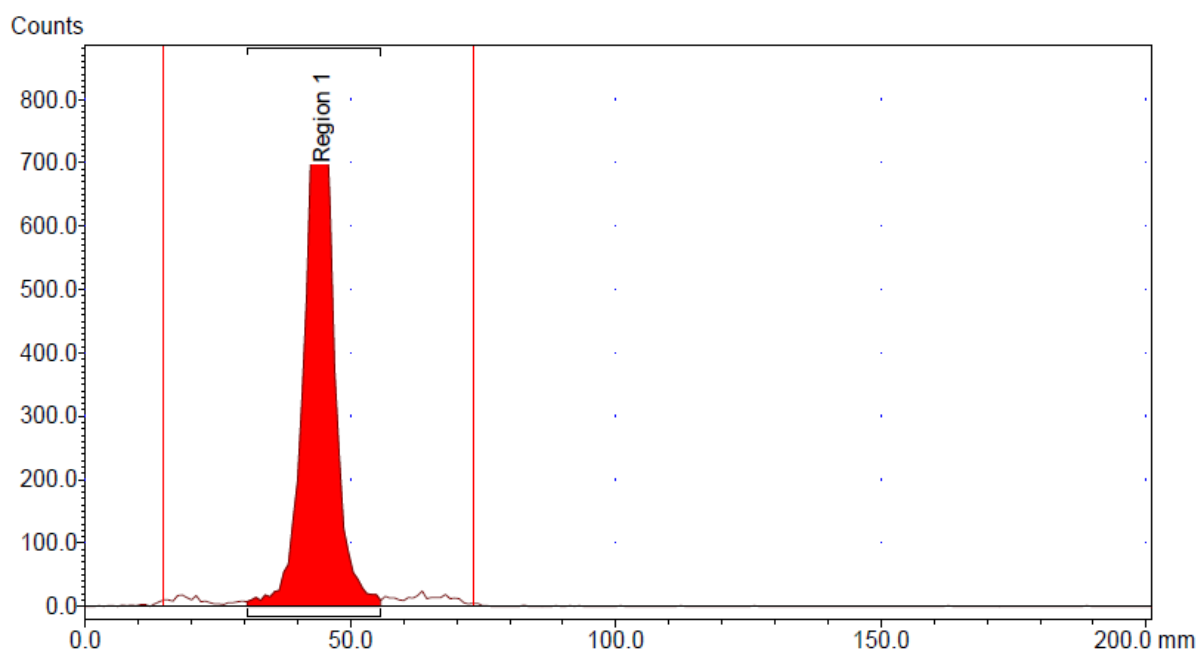


Figure 38: CCM du brut de couplage après réduction au NaBH_4 .

Afin d'interpréter ces résultats expérimentaux, nous avons considéré la synthèse non radioactive de ce composé.

3.5.3. Identification

Dans un premier temps, le chromatogramme UV de l'*o*-nitrobenzaldéhyde a été enregistré (**Figure 39**). Ce composé présente un temps de rétention de 3,22 min.

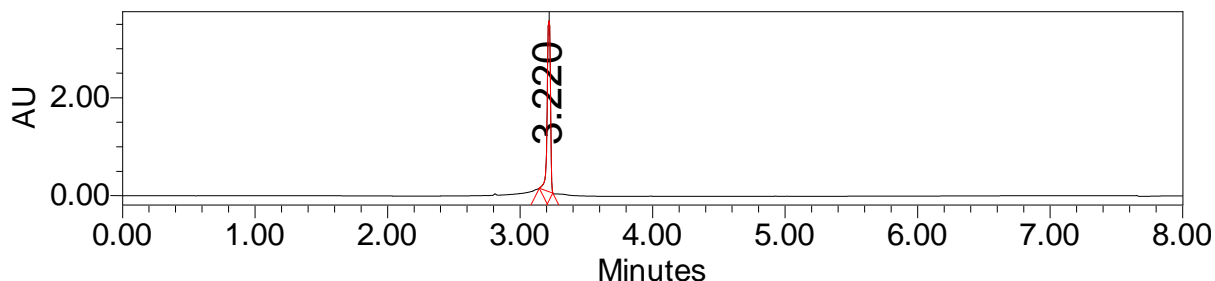


Figure 39: Chromatogramme UV de l'*o*-nitrobenzaldéhyde (354 nm).

Ensuite, un essai de couplage de ce composé avec la [^{19}F]FBA a été réalisé. Le chromatogramme UV du brut de réaction obtenu dans le méthanol, après mélange d'*o*-nitrobenzaldéhyde avec un très léger excès de [^{19}F]FBA (60°C, 10 min), est disponible à la **figure 40**.

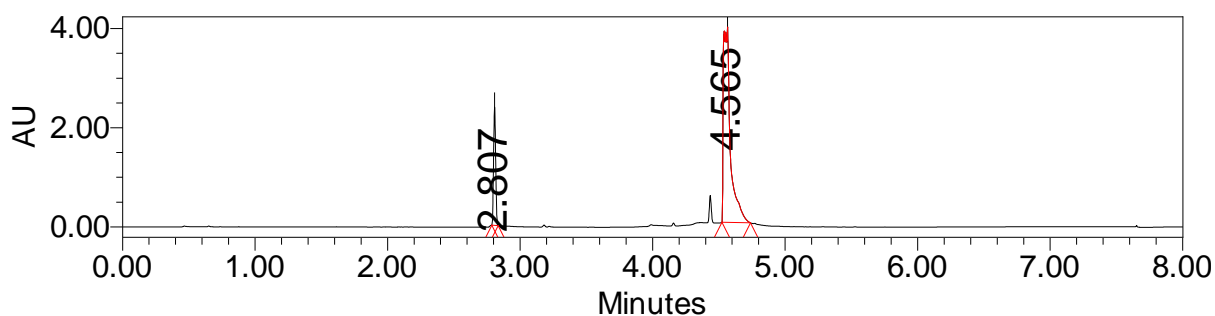


Figure 40: Chromatogramme UV du brut de couplage non radioactif (236 nm).

Sur ce chromatogramme, nous pouvons observer deux pics avec, respectivement, des temps de rétention de 2,81 et 4,56 min. Le premier pic correspond vraisemblablement au léger excès de FBA et le second à l'imine. Quant à lui, le pic d'*o*-nitrobenzaldéhyde a totalement disparu. L'ajout de NaBH_4 ne modifie pas ce profil et ce quelque soit la durée de l'étape de réduction (60 min). Ceci semble indiquer que dans ce cas, la formation de l'imine est rapide et que celle-ci est très facilement réduite en amine correspondante. En effet, le pic UV observé à 4,56 min a un temps de rétention semblable à celui du produit radioactif réduit (4,59 min, **Figure 37**). La co-injection d'un mélange du produit radioactif réduit avec ce composé « froid » semble confirmer ce résultat et le fait que l'amine a bien été synthétisée.

Pour être rigoureux, cette synthèse ne pourra être complètement validée que si le composé non radioactif est synthétisé, isolé et que sa structure soit bien établie par RMN. Malheureusement, le temps nous a manqué pour finaliser cette synthèse. Comme les premiers essais de couplage semblent fonctionner, le couplage avec le maltose a été envisagé.

3.6. Couplage avec le maltose

Comme la fonction première de la [^{18}F]FBA est d'être couplée avec le maltose, des essais ont également été menés. Les expériences ont été réalisées selon le même mode opératoire que dans le cas de l'o-nitrobenzaldéhyde (**Schéma 45**).

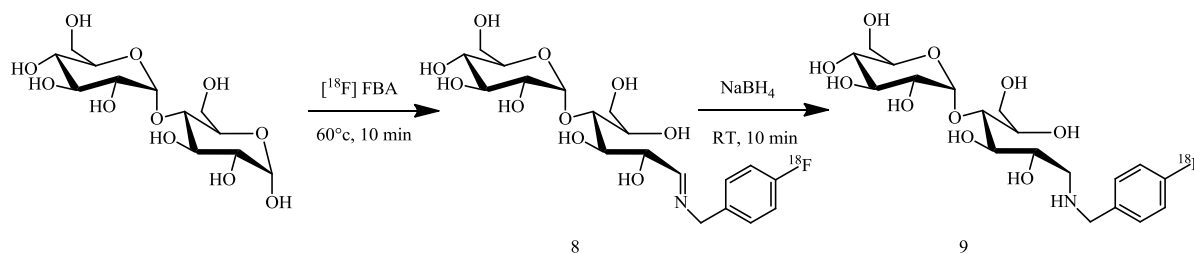


Schéma 45: Réaction de couplage de la [^{18}F]FBA avec le maltose. a) Couplage; b) Réduction.

En ce qui concerne le couplage avec le maltose, aucun changement sur les plaques CCM (AcOEt 100%) n'a pu être observé ni lors de l'étape de couplage, ni lors de la réduction. Cela peut signifier deux choses soit qu'aucune réaction n'a eu lieu soit que le produit ne migre pas dans ces conditions. Par manque de temps, nous n'avons pas pu investiguer plus amplement cette réaction.

Chapitre 4 : Conclusions et perspectives

4. Conclusions et perspectives

Rappelons que le but de ce travail était de développer la synthèse de deux nouveaux précurseurs de marquage et de les évaluer en vue de préparer la [^{18}F]FBA (**Schéma 46**). La synthèse de ces deux composés a été réalisée au départ d'un intermédiaire commun, à savoir, le p-iodobenzylaminecarbamate (**Composé 1**).

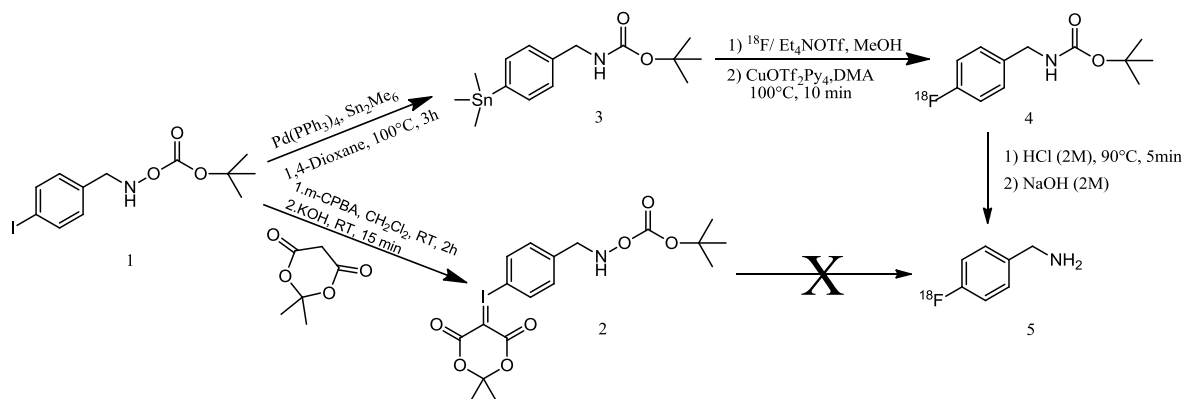


Schéma 46: Synthèse de la [^{18}F]FBA via un ylure d'iodonium ou un dérivé organostannique

Le premier substrat investigué était un ylure d'iodonium (**Composé 2**) et le second un dérivé stannique (**Composé 3**). Le premier de ces composés s'est révélé instable et il ne nous a pas été possible d'en isoler suffisamment pour pouvoir mener à bien la synthèse radiochimique. Ces résultats sont en accord avec ceux préalablement observés par Cédric Georges durant son mémoire.

Quant au second composé, la synthèse de celui-ci a été réalisée avec succès. Après purification par chromatographie sur colonne, nous avons récupéré plusieurs centaines de mg de ce substrat utilisables pour des investigations en chimie du fluor-18.

Des essais de marquage réalisés, il découle que :

- L'éluion du fluor-18 de la cartouche QMA est quasi quantitative uniquement avec une solution d' Et_4NOTf en solution dans le méthanol. Il a été également observé que si l'éluion est réalisée avec une solution de $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{K}_{222}$ dans un mélange ACN/eau, les rendements de marquage sont faibles ($\approx 10\%$). L'avantage de la méthode Et_4NOTf comparativement à celle couramment utilisée au CRC ($\text{K}_2\text{CO}_3/\text{K}_{222}$) est qu'elle permet de diminuer la durée de la synthèse puisque l'étape de séchage du fluor-18 est ainsi réduite de 15 à moins de 5 minutes.
- Le fluor-18 anhydre ainsi généré a été incorporé avec succès dans le cycle aromatique. Divers paramètres ont été étudiés (quantité de précurseur, durée marquage, quantité de catalyseur). De ces expériences, il résulte que la réaction de SN du groupement $\text{Sn}(\text{Me})_3$, catalysée par le cuivre, procède avec des rendements pouvant atteindre les 70 % avant purification sur tC_{18} et ce après chauffage à 120°C pendant 5 minutes dans le DMA. Les

conditions ayant permis de fournir le meilleur rendement nécessitent 4 mg de précurseur et 15 mg de catalyseur en solution dans 1 mL de DMA ainsi qu'une durée de réaction de 5 min.

- L'hydrolyse du groupement carbamate au moyen d'HCl (2N) est quantitative en moins de 5 minutes. Elle procède à 90°C dans le même réacteur que celui utilisé pour la réaction de marquage ce qui permet d'éviter des pertes d'activité sur les parois du réacteur ou dans les lignes de transfert.
- La pré-purification sur SPE de type tC₁₈ est aisée, après neutralisation préalable du milieu réactionnel avec de la soude (2N). De plus, la fixation sur ce type de support est quantitative. Aucune perte de [¹⁸F]FBA n'est observée dans les éluats. Cette pré-purification permet d'obtenir une pureté radiochimique supérieure à 98%.
- Toutes les étapes (évaporation, marquage, hydrolyse, neutralisation) procèdent dans le même réacteur. De ce fait, l'automatisation de la procédure s'en est trouvée facilitée. La [¹⁸F]FBA pré-purifiée par tC₁₈, peut ainsi être récupérée avec un rendement pouvant atteindre les 55% (dc) après 27 min de synthèse. Des essais de marquages sur des quantités plus importantes de radioactivité (50-60 mCi) ont également été effectués avec des résultats comparables.
- Puisque la synthèse de la [¹⁸F]FBA est maintenant entièrement automatisée sur un synthétiseur de chez Trasis (AIO), une optimisation plus rigoureuse des divers paramètres abordés au cours de ce travail (influence T, solvant, durée de marquage, quantité précurseur, catalyseur,...) est maintenant possible et ce sans aucune intervention manuelle. L'automatisation ouvre aussi la voie à la production de badges importants en [¹⁸F]FBA pour les futurs essais de couplage.
- Les essais préliminaires de couplage avec un aldéhyde de structure simple semblent prometteurs. Cependant, des essais supplémentaires devront être réalisés afin de confirmer et de déterminer les meilleures conditions pour cette réaction en minimisant les quantités de réactif nécessaires et la durée de la réaction. Il sera nécessaire d'évaluer la méthode sur d'autres dérivés du maltose.

Dans un futur proche, il sera donc nécessaire de développer après couplage, une méthode de purification répondant aux conditions cGMP. En fonction des résultats, l'implémentation d'une purification dans le protocole d'automatisation sera nécessaire. De plus, le développement d'un contrôle de qualité devra également être réalisé.

Chapitre 5 : Partie expérimentale

5. Partie expérimentale

Le chapitre suivant est consacré à la description du matériel et des méthodes expérimentales utilisées durant ce travail. Dans un premier temps, nous aborderons l'appareillage utilisé pour mener à bien nos expériences. Dans un second temps, une description des différents protocoles expérimentaux utilisés afin de synthétiser les différentes molécules sera présentée.

5.1. Matériel

- Tous les réactifs et produits chimiques utilisés lors des différentes synthèses proviennent des compagnies Sigma-Aldrich, Merck, Acros, TCI ou Alpha Aesar et furent utilisés tels quels sans purification supplémentaire.
- Les analyses UPLC ont été effectuées sur une UPLC Acquity de chez Waters avec deux types de colonnes différentes et un gradient d'éluion propre à chacune
 - Colonne 1:** Acquity UPLC BEH C18-1.7 μ m-2.1x50mm.
 - Colonne 2:** Acquity UPLC CSH-C18-1,7 μ m-2.1x100mm.
- Les spectres de masse ont été enregistrés avec un appareil Triple Quadrupole Detecor (TQD) de chez Waters couplé au système Acquity UPLC H-Class de chez Waters
- En ce qui concerne le marquage, l'automate de synthèse « All in one » (**Figure 41**) de chez Trasis a été utilisé. Cet automate consiste en un système de pompes, de détecteurs et de fours, dans lequel des cartouches modulables sont insérées. Tous les éléments et consommables pour l'automate proviennent de la firme Trasis.



Figure 41: Automate de synthèse "All-in-One" de chez Trasis.

- Les cartouches (QMA, Sep-Pak, Carbonate Plus Light,...) proviennent de chez Waters et contiennent 46-400 mg d'adsorbant.
- L'activité sous forme de fluorure en solution aqueuse est fournie par le CRC.
- Afin de mesurer l'activité lors des opérations manuelles, une chambre d'ionisation VDC 405 de chez Veenstra, a été utilisée.
- Tous les spectres RMN ont été enregistrés sur un spectromètre Advance Bruker (400 MHz) et les spectres traités à l'aide du logiciel Mest Renova 10. En ce qui concerne les abréviations utilisées : s (singulet), d (doublet), t (triplet), qu (quadruplet), q (quintuplet), m (multiplet) et br (large).
- Les plaques de CCM POLYGRAM SILG/UV254 en gel de silice avec indicateur fluorescent UV254 (0,20 mm d'épaisseur) de chez MACHEREY-NAGEL ont été utilisées afin de réaliser les analyses CCM.
- Les analyses radiochimiques des CCM ont été effectuées sur un scanner AR-2000 Bioscan de chez Eckert & Ziegler (**Figure 42**). Le traitement des données est effectué par le programme Bio-Chrom plus.



Figure 42: Scanner radiochimique de CCM AR-2000 Bioscan de chez Eckert & Ziegler.

5.2. Méthodes

Temps(min)	ACN (%)	H ₂ O(%) + O,1%TFA	Flux (ml/min)
0	1	99	0,5
1	1	99	0,5
4	100	0	0,5
5	1	99	0,5

Table 6: Gradient d'éluion 1 utilisé lors des UPLC (H₂O(%) + O,1%TFA).

Temps(min)	ACN (%)	H ₂ O(%)	Flux (ml/min)
0	0	100	0,5
0,5	0	100	0,5
6	100	0	0,5
7	100	0	0,5
7,1	0	100	0,5
8	0	100	0,5

Table 7: Gradient d'éluion 2 utilisé lors des UPLC

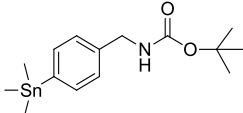
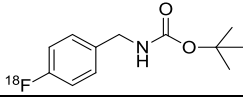
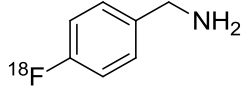
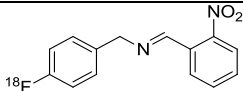
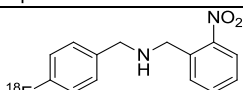
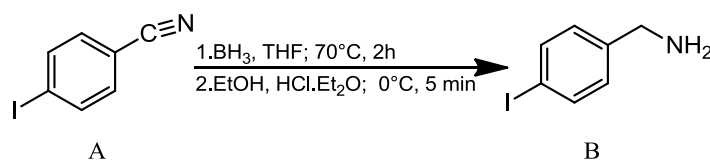
N°	Molécules	Temps de rétention (min)		R _f
		Radioactif	Références	
3		/	5,36	0,2
4		4,33	4,35	0,8
5		2,75	2,76	0
6		2,84	/	0.9
7		4,59	4,67	0.5

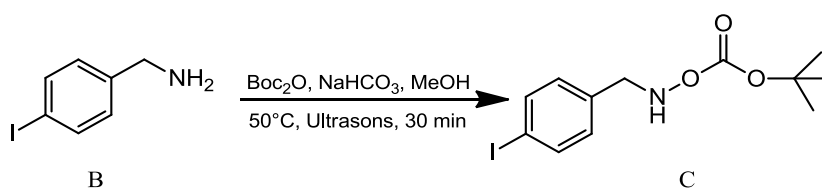
Table 8: Résumé des temps de rétention des produits de synthèses et des références froides (Gradient 2, colonne 2).

- **Réduction du *p*-iodobenzonitrile (Composé A) [16]:**



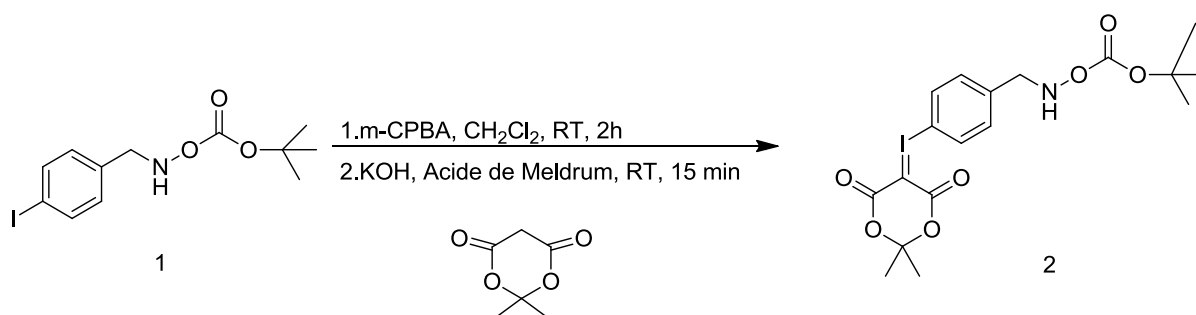
Dans un ballon à 2 ou 3 tubulures, 1 g de 4-iodobenzonitrile (1) est dissous dans environ 30 mL de THF sec. Les tubulures sont ensuite scellées par des septums. Le ballon est purgé à l'azote et placé dans un bain de glace, où 40 mL d'une solution de BH₃.THF (1M dans du THF) sont ajoutés lentement. Le mélange est ensuite porté à reflux durant 2h à 4h. Un suivi de l'avancement de la réaction a été effectuée par CCM (hexane/acétate d'éthyle 90/10). L'apparition d'un spot avec un R_f de 0,8 et la disparition du spot à R_f = 0,7 indiquent la formation de l'intermédiaire borazine. Ensuite, le ballon est refroidi dans un bain de glace et 12 mL d'EtOH sont ajoutés, ainsi que de 6 mL de HCl.Et₂O, préalablement préparés. La solution est agitée durant 5 à 10 minutes puis le solvant est évaporé sous pression réduite.

- **Protection de l'amine au moyen d'un groupement Boc (Composé C) [16]:**



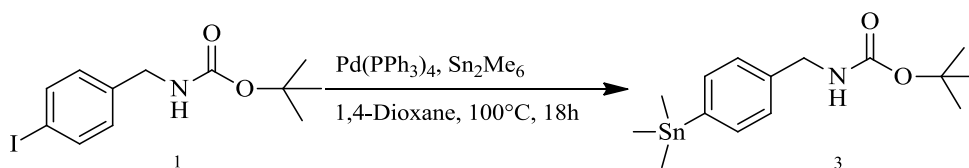
L'entièreté du brut de réaction 2 (environ 5g) est mise en solution dans 90 mL de MeOH. 4g de Boc₂O et 4,5 g de NaHCO₃ sont ajoutés à cette solution. Le mélange est placé dans un bain à ultrasons durant 3h. Un contrôle de l'avancement de la réaction est effectué par CCM (hexane/acétate d'éthyle 85/15; R_f = 0,5). La solution est ensuite filtrée puis évaporée à l'évaporateur rotatif. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant hexane/acétate d'éthyle 85/15) est réalisée. Elle permet la récupération de 881,6 mg de produit, soit un rendement global de 60,6% par rapport au **Composé 1** de départ.

- **Synthèse de l'ylure d'iodonium (Composé 2) [63]:**



Dans un ballon à une tubulure, 50 mg du **Composé 1** (150 μmol) et 34 mg (197 μmol) de m-CPBA sont dissous dans 8 ml de CH₂Cl₂. Ensuite, dans un autre ballon 26 mg (180 μmol) d'acide de Meldrum et 50 mg (890 μmol) de KOH sont dissout dans 8 ml de CH₂Cl₂. Le tout est laissé à réagir durant 6h à température ambiante. La réaction est suivie par UPLC (gradient 1, colonne 1, t_r = 2,64 min). Une fois la réaction finie, le contenu du ballon 1 est ajouté au second et le mélange est laissé sous agitation magnétique durant la nuit. Une fois que la réaction est achevée, le milieu réactionnel est purifié par chromatographie liquide (ACN/H₂O : 70/30). 15 mL d'une solution contenant le **Composé 2** sont ainsi obtenus.

- **Synthèse du dérivé organostannique (Composé 3) [80]:**



311 mg (930 μmol) du **Composé 1** sont prélevés et placés dans un ballon à une tubulure sec. 104 mg de Pd(PPh₃)₄ (93 μmol, 0.1 équ.) et 956,5 mg de Sn₂Me₆ (2,325 mmol, 2,5 équ.) sont ensuite ajoutés. Le tout a été dissous dans 10 ml de 1,4-dioxane anhydre et

placé sous atmosphère protectrice d'argon. Le ballon a ensuite été placé sous agitation magnétique à 100°C durant 3h et la réaction suivie par UPLC-MS (gradient 1, colonne 1, $t_r = 5,36$ min) ainsi que par CCM (éluant : EP/AcOEt : 95/5, $R_f = 0,2$). Une fois la réaction complète, le ballon est laissé à refroidir jusqu'à température ambiante. Ensuite, le brut de synthèse est filtré sur laine de verre puis sur célite. La solution ainsi obtenue est lavée 3 fois par 20 ml d'eau et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est ensuite purifié sur colonne de silice (éluant : EP/AcOEt : 95/5, $R_f = 0,2$). Au terme du processus, 273 mg (**Composé 3**) d'une huile blanchâtre avec un rendement de 79% sont obtenus.

• **Synthèse de la [^{18}F]FBA (Composé 4) [80]:**

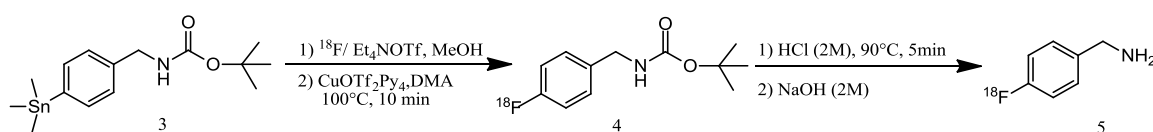


Schéma 47: Marquage de la [^{18}F]FBA à partir du dérivé organostannique correspondant.

Le fluor-18 produit par le cyclotron en solution dans l'eau-18 est piégé sur une cartouche QMA, ce qui permet de récupérer l'eau enrichie. Après fixation sur le support, celui-ci est lavé 1 mL de MeOH et la cartouche séchée pendant une minute avec un flux d'azote. Préalablement, 5 mg d' Et_4NOTf , préalablement dissous dans 1 mL de MeOH, sont passés sur la cartouche et l'éluat récupéré dans le réacteur. Ensuite, le MeOH est évaporé à 90°C durant 5 min. Le fluor-18 anhydre ainsi obtenu est mis en réaction avec une solution de DMA (1 mL) contenant le **Composé 3** (5 mg) et le $\text{CuOTf}_2\text{Py}_4$ (20 mg). Le réacteur est ensuite porté à 130°C durant 5 min. Après refroidissement du réacteur à 90°C le groupement protecteur est éliminé avec 1,5 mL d' HCl (2M). Après 5 min de réaction le milieu réactionnel est refroidi à 30°C et la soude ajoutée (2N, 1,7 mL). Après neutralisation, le brut de réaction est dilué avec 15 mL d'eau et la solution résultante passée au travers d'une cartouche SEP PAK tC_{18} « environmental » préalablement conditionnée avec 3 mL MeOH et 6 mL d' H_2O . La cartouche est lavée par 5 mL d'eau additionnel et la [^{18}F]FBA est éluée avec 1,5 mL de MeOH ($t_r = 2,75$ min, $R_f = 0,8$).

- **Couplage avec l'*o*-nitrobenzaldéhyde (Composé 6 et 7) ou couplage avec le maltose (composé 8 et 9) [29]:**

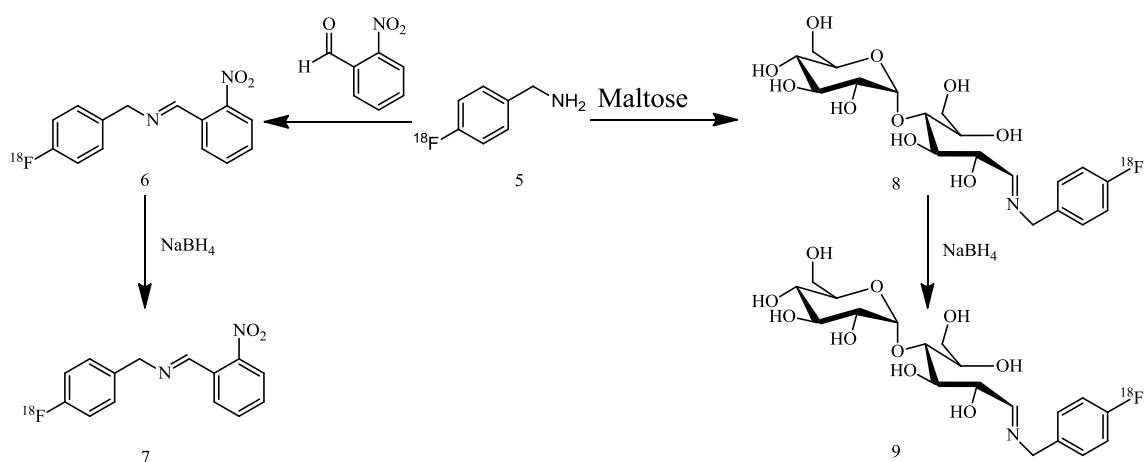


Schéma 48: Couplage entre la [¹⁸F]FBA et le maltose. A) formation de l'imine ; b) Réduction au NaBH₄.

Approximativement, 1-3 mCi de [¹⁸F]FBA sont prélevés et dilués par 1 mL de méthanol. L'*o*-nitrobenzaldéhyde ou le maltose (30 mg) dans le MeOH (2mL), sont ensuite ajoutés au milieu. Le tout est porté à 60°C, dans le four du AIO, jusqu'à solubilisation complète et la réaction poursuivie 10 min à 60°C. Une fois la réaction terminée, le milieu est refroidi à température ambiante et 30 mg (793 µmol) de NaBH₄ sont ajoutés. La réaction est poursuivie durant 10 min à T ambiante. Les **Composés 7 et 9** sont ensuite analysés par CCM (AcOEt 100%)

Chapitre 6 : Bibliographie

6. Bibliographie

- [1] Semmler W et Schwaiger M (2008): *Molecular imaging 1*. Berlin, Springer.
- [2] Ammerich, M., Frot, P., Gambini, D-J., Gauron, C., Herbelet, G., Lahaye, T., Moureaux, P., Pihet, P., Rannou, A., Vlal, E. (2013) Fiche de radioprotection. Institut de sûreté et de radioprotection nucléaire. Mars.
- [3] Ametamey, Simon M., Michael Honer, and Pius August Schubiger. "Molecular imaging with PET." *Chemical reviews* 108.5 (2008): 1501-1516.
- [4] Van Der Veldt, A., et al. (2013). "Positron Emission Tomography as a Method for Measuring Drug Delivery to Tumors in vivo: The Example of [11C]docetaxel." *Frontiers in Oncology* 3(208).
- [5] Cours de « Physique de accélérateurs et techniques du vide » de David Strivay 2ème master physique Université De Liège
- [6] Hamacher, K., et al. (1986). "Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution." *Journal of Nuclear Medicine* 27(2): 235-238.
- [7] Zeisler, S. K., et al. (2000). "A water-cooled spherical niobium target for the production of [18F]fluoride." *Applied Radiation and Isotopes* 53(3): 449-453.
- [8] Cours de « Physique théorique : Noyaux et particules » de Jean-René Cudell 2ème master physique Université De Liège
- [9] Drerup, C., et al. (2016). "Synthesis of a Potent Aminopyridine-Based nNOS-Inhibitor by Two Recent No-Carrier-Added 18F-Labeling Methods." *Molecules* 21(9).
- [10] Rutten, I., et al. (2007). "PET/CT of skull base meningiomas using 2-18F-fluoro-L-tyrosine: initial report." *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 48(5): 720-725.
- [11] Lemaire, C., et al. (2004). "Highly Enantioselective Synthesis of No-Carrier-Added 6-[18F]Fluoro-L-dopa by Chiral Phase-Transfer Alkylation." *European Journal of Organic Chemistry* 2004(13): 2899-2904.
- [12] Miller Philip, W., et al. (2008). "Synthesis of 11C, 18F, 15O, and 13N Radiolabels for Positron Emission Tomography." *Angewandte Chemie International Edition* 47(47): 8998-9033.
- [13] Mankoff, D. A., et al. (2012). "[18F]Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography–Computed Tomography in Breast Cancer: When... and When Not?" *Journal of Clinical Oncology* 30(12): 1252-1254.
- [14] He, P., et al. (2014). "Advances in processes for PET radiotracer synthesis: Separation of [18F]fluoride from enriched [18O]water." *Applied Radiation and Isotopes* 91: 64-70.

- [15] Lemaire, Christian, et al. "Fast [18F] FDG synthesis by alkaline hydrolysis on a low polarity solid phase support." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* 45.5 (2002): 435-447.
- [16] Georges, C., (2017). Evaluation d'ylures d'iodonium et de sels d'uronium comme précurseurs de la synthèse de la para-[18F]fluorobenzylamine. Thèse de mémoire : Sciences chimiques. Université de Liège. Liège.
- [17] Jensen, M. M. and A. Kjaer (2015). "Monitoring of anti-cancer treatment with (18)F-FDG and (18)F-FLT PET: a comprehensive review of pre-clinical studies." *American Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 5(5): 431-456.
- [18] Maschauer, S., et al. (2014). "18F-Glyco-RGD Peptides for PET Imaging of Integrin Expression: Efficient Radiosynthesis by Click Chemistry and Modulation of Biodistribution by Glycosylation." *Molecular Pharmaceutics* 11(2): 505-515.
- [19] Xinghai, N., et al. (2014). "PET Imaging of Bacterial Infections with Fluorine-18-Labeled Maltotetraose." *Angewandte Chemie International Edition* 53(51): 14096-14101.
- [20] Ning, X., et al. (2014). "Fluorine-18 labeled maltotetraose images bacterial infections by PET." *Angewandte Chemie (International ed. in English)* 53(51): 14096-14101.
- [21] Gowrishankar, G., et al. (2014). "Investigation of 6-[18F]-Fluoromaltose as a Novel PET Tracer for Imaging Bacterial Infection." *PLOS ONE* 9(9): e107951.
- [22] Namavari, M., et al. (2015). "Synthesis of [18F]-labelled Maltose Derivatives as PET Tracers for Imaging Bacterial Infection." *Molecular Imaging and Biology* 17(2): 168-176.
- [23] Mills, B., et al. (2016). "Optical imaging of bacterial infections." *Clinical and Translational Imaging* 4(3): 163-174.
- [24] Bordignon, E., et al. (2010). "The maltose ATP-binding cassette transporter in the 21st century – towards a structural dynamic perspective on its mode of action." *Molecular Microbiology* 77(6): 1354-1366.
- [25] Dippel, R., et al. (2005). "The maltodextrin system of *Escherichia coli*: glycogen-derived endogenous induction and osmoregulation." *Journal of bacteriology* 187(24): 8332-8339.
- [26] ter Beek, J., et al. (2014). "Structural diversity of ABC transporters." *The Journal of General Physiology* 143(4): 419.
- [27] Oldham, M. L., et al. (2013). "Structural basis for substrate specificity in the Escherichia coli maltose transport system." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(45): 18132.
- [28] Ning, X., et al. (2011). "Maltodextrin-based imaging probes detect bacteria in vivo with high sensitivity and specificity." *Nature Materials* 10: 602.
- [29] Brams C et al. (1992). "Synthesis of the 1-amino-alditols derived from cellobiose, lactose and maltose." *Journal of carbohydrate chemistry*, 22(7),813-835.

- [30] Pfaff, P., Weide, F., & Kuhn, R. (1999). "Investigation of derivatization of oligosaccharides by means of reductive amination for separation in capillary electrophoresis." *Chromatographia*, 49(11-12), 666-670.
- [31] Suzuki, S., et al. (2006). "Recovery of free oligosaccharides from derivatives labeled by reductive amination." *Analytical biochemistry* **354**(1): 94-103.
- [32] Stephenson, N. A., et al. (2015). "Iodonium Ylide Mediated Radiofluorination of (18)F-FPEB and Validation for Human Use." *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **56**(3): 489-492.
- [33] Ichiishi, N., Brooks, A. F., Topczewski, J. J., Rodnick, M. E., Sanford, M. S., & Scott, P. J. (2014). Copper-catalyzed [18F] fluorination of (mesityl)(aryl) iodonium salts. *Organic letters*, 16(12), 3224-3227.
- [34] Koslowsky, I., Mercer, J., & Wuest, F. (2010). Synthesis and application of 4- [18 F] fluorobenzylamine : A versatile building block for the preparation of PET radiotracers †, 4730–4735.
- [35] Mossine, A. V., et al. (2017). "Development of Customized [18F]Fluoride Elution Techniques for the Enhancement of Copper-Mediated Late-Stage Radiofluorination." *Scientific Reports* **7**(1): 233.
- [36] Lindner, S., et al. (2016). "Azeotropic drying free [18F]FDG synthesis and its application to a lab-on-chip platform." *Chemical Communications* **52**(4): 729-732.
- [37] Lemaire, Christian, et al. "Method for the direct elution of reactive 18f fluoride from an anion exchange resin in an organic medium suitable for radiolabelling without any evaporation step by the use of strong organic bases." U.S. Patent No. 8,491,790. 23 Jul. 2013.
- [38] Aerts, J., Lemaire, C., Lignon, S., Luxen, A., Morelle, J-L., Phillipart, G., Voccia, S. Method for the elution of 18F fluoride trapped on an anion-exchange resin in a form suitable for efficient radiolabeling without any evaporation step. EP/2017/359A2, 2017.
- [39] Reed, C. D., et al. (2012). "Evaluation of tetraethylammonium bicarbonate as a phase-transfer agent in the formation of [18F]fluoroarenes." *Journal of Fluorine Chemistry* **143**: 231-237.
- [40] Calderwood, S., et al. (2015). "Synthesis of 18F-arenes from spirocyclic iodonium(III) ylides via continuous-flow microfluidics." *Journal of Fluorine Chemistry* **178**: 249-253.
- [41] Kuhnast, B., et al. (2001). "Fluorine-18 labeling of peptide nucleic acids." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **45**(1): 1-11.
- [42] Kuhnast, B., et al. (2003). "Fluorine-18 labelling of oligonucleotides: Prosthetic labelling at the 5'-end using the N-(4-[18F]fluorobenzyl)-2-bromoacetamide reagent." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **46**(12): 1093-1103.

- [43] Dolle, Frédéric, et al. "A general method for labeling oligodeoxynucleotides with ^{18}F for in vivo PET imaging." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* 39.4 (1997): 319-330.
- [44] Kuhnast, Bertrand, et al. "Fluorine-18 labeling of oligonucleotides bearing chemically—modified ribose—phosphate backbones." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals: The Official Journal of the International Isotope Society* 43.8 (2000): 837-8
- [45] Di Mauro, Primiano Pio, et al. "Novel ^{18}F labeling strategy for polyester-based NPs for in vivo PET-CT imaging." *Bioconjugate chemistry* 26.3 (2015): 582-592.
- [46] Koslowsky, Ingrid, et al. "Automated radiosynthesis of N-(4-[^{18}F] fluorobenzyl)-2-bromoacetamide: an F-18-labeled reagent for the prosthetic radiolabeling of oligonucleotides." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* 51.10 (2008): 352-356.
- [47] Sirianni, R. W., et al. (2014). "Radiolabeling of Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) Nanoparticles with Biotinylated F-18 Prosthetic Groups and Imaging of Their Delivery to the Brain with Positron Emission Tomography." *Bioconjugate Chemistry* **25**(12): 2157-2165.
- [48] Haradahira, Terushi, et al. "Synthesis of a F-18 labeled analog of antitumor prostaglandin Δ^7 -pGA1 methyl ester using p-[^{18}F] Fluorobenzylamine." *Applied radiation and isotopes* 49.12 (1998): 1551-1556.
- [49] Way, J. and F. Wuest (2013). "Fully automated synthesis of 4-[^{18}F]fluorobenzylamine based on borohydride/ NiCl_2 reduction." *Nuclear Medicine and Biology* **40**(3): 430-436.
- [50] Pike Victor, W. (2017). "Hypervalent aryl iodine compounds as precursors for radiofluorination." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **61**(3): 196-227.
- [51] Satyamurthy, N.; Barrio, Jorge, R. No-Carrier-Added Nucleophilic [^{18}F] Fluorination of Aromatic Compounds. WO/2010/117435, 2010.
- [52] Nkepeng, G. N., et al. (2016). "Facile synthesis of para-[^{18}F]fluorohippurate via iodonium ylide-mediated radiofluorination for PET renography." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **26**(2): 479-483.
- [53] Chun, J. H. and W. Pike Victor (2012). "Single-Step Radiosynthesis of " ^{18}F -Labeled Click Synthons" from Azide-Functionalized Diaryliodonium Salts." *European Journal of Organic Chemistry* **2012**(24): 4541-4547.
- [54] Chun, J. H. and W. Pike Victor (2012). "Single-Step Radiosynthesis of " ^{18}F -Labeled Click Synthons" from Azide-Functionalized Diaryliodonium Salts." *European Journal of Organic Chemistry* **2012**(24): 4541-4547.
- [55] Haskali, M. B., et al. (2016). "An Investigation of (Diacetoxyiodo)arenes as Precursors for Preparing No-Carrier-Added [^{18}F]Fluoroarenes from Cyclotron-Produced [^{18}F]Fluoride Ion." *The Journal of Organic Chemistry* **81**(1): 297-302.

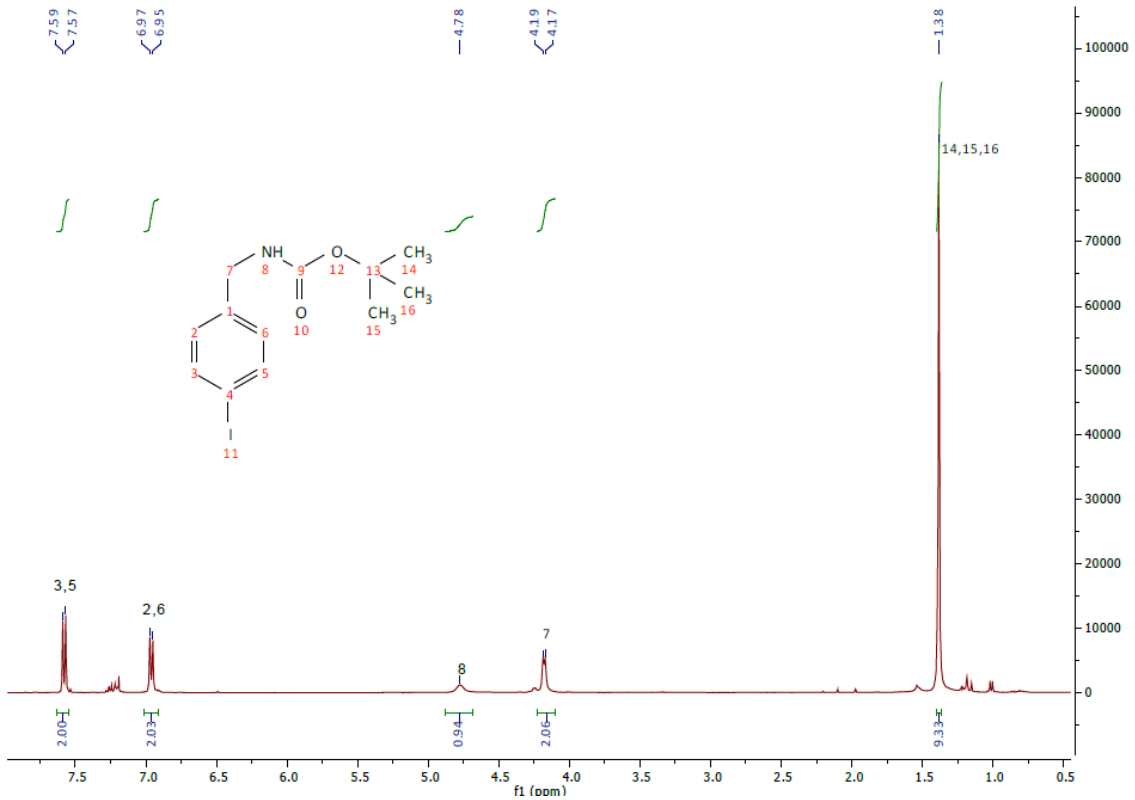
- [56] Organic synthesis vol 80.(<http://www.orgsyn.org/>)
- [57] Zhao, C.-L., et al. (2017). "Structure-dependent selective O- or C-trifluoroethylation of 1,3-dicarbonyls by mesityl(2,2,2-trifluoroethyl)iodonium triflate." *Journal of Fluorine Chemistry* **204**: 23-30.
- [58] Hossain, M. and T. Kitamura (2005). Alternative, Easy Preparation of (Diacetoxyiodo)arenes from Iodoarenes Using Potassium Peroxodisulfate as the Oxidant. *Synthesis* 2005(12): 1932-1934
- [59] Hossain, M. D. and T. Kitamura (2005). "Unexpected, Drastic Effect of Triflic Acid on Oxidative Diacetoxylation of Iodoarenes by Sodium Perborate. A Facile and Efficient One-Pot Synthesis of (Diacetoxyiodo)arenes." *The Journal of Organic Chemistry* **70**(17): 6984-6986.
- [60] Iinuma, M., et al. (2012). "Simple and Practical Method for Preparation of [(Diacetoxy)iodo]arenes with Iodoarenes and m-Chloroperoxybenzoic Acid." *Synlett* **23**(18): 2663-2666.
- [61] Zhu, Mingzhao, Nazli Jalalian, and Berit Olofsson. "One-pot synthesis of diaryliodonium salts using toluenesulfonic acid-a fast entry to electron-rich diaryliodonium tosylates and triflates." *Synlett: Accounts and Rapid Communications in Synthetic Organic Chemistry* 4 (2008): 592-596.
- [62] Lindstedt, E., et al. (2017). "One-Pot Synthesis of Unsymmetric Diaryliodonium Salts from Iodine and Arenes." *The Journal of Organic Chemistry* **82**(22): 11909-11914.
- [63] Cardinale, J. (2013). "Simplified synthesis of aryliodonium ylides by a one-pot procedure." *Tetrahedron letters* v. **54**: pp. 2067-2069-2013 v.2054.
- [64] Rotstein, B. H., Fiang, H. S., Vasdev, N. METHOD OF FLUORINATION USING IODONIUM YLIDES. US 2017/0121300 A1, (2017).
- [65] Rotstein, B. H., et al. (2014). "Spirocyclic hypervalent iodine(III)-mediated radiofluorination of non-activated and hindered aromatics." *Nature Communications* **5**: 4365.
- [66] Wang, L., et al. (2017). "A Facile Radiolabeling of [18F]FDPA via Spirocyclic Iodonium Ylides: Preliminary PET Imaging Studies in Preclinical Models of Neuroinflammation." *Journal of Medicinal Chemistry* **60**(12): 5222-5227.
- [67] Petersen, I. N., et al. (2017). "18F-Labeling of electron rich iodonium ylides: application to the radiosynthesis of potential 5-HT2A receptor PET ligands." *Organic & Biomolecular Chemistry* **15**(20): 4351-4358.
- [68] Rotstein, B. H., et al. (2016). "Mechanistic studies and radiofluorination of structurally diverse pharmaceuticals with spirocyclic iodonium(iii) ylides." *Chemical Science* **7**(7): 4407-4417.
- [69] Hill, D. E. and J. P. Holland (2015). "Computational studies on hypervalent iodonium(III) compounds as activated precursors for 18F radiofluorination of electron-rich arenes." *Computational and Theoretical Chemistry* **1066**: 34-46.

- [70] Koldobsky, A. B., et al. (1998). "A FACILE SYNTHESIS OF o-, m-, p-(TRIMETHYLSTANNYL)BENZYL CHLORIDES AND AMINES." *Organic Preparations and Procedures International* **30**(4): 447-451.
- [71] Dougan, Hayes, et al. "Synthesis and radioiodination of a stannyl oligodeoxyribonucleotide." *Nucleic acids research* 25.14 (1997): 2897-2901.
- [72] Chang, C. W., et al. (2009). "The robotic radiosynthesis of 5-[18F]fluoro-2'-deoxyuridine and its biological characterization." *Applied Radiation and Isotopes* **67**(7): 1355-1361.
- [73] Wüst Frank, R. and T. Kniess (2004). "No-carrier added synthesis of 18F-labelled nucleosides using Stille cross-coupling reactions with 4-[18F]fluoroiodobenzene." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **47**(8): 457-468.
- [74] Tinkova, R., and L. Lešetický. "Radiohalogenation of terguride via organotin intermediate." *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry* 261.2 (2004): 443-449.
- [75] Cardinale, J., et al. (2012). "Carrier-effect on palladium-catalyzed, nucleophilic 18F-fluorination of aryl triflates." *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **55**(12): 450-453.
- [76] Zischler, J., et al. (2016). "Alcohol-Enhanced Cu-Mediated Radiofluorination." *Chemistry – A European Journal* **23**(14): 3251-3256.
- [77] Zlatopolskiy, B. D., Zischler, J., Krapf, P., Zarrad, F., Urusova, E. A., Kordys, E., Endepols, H. and Neumaier, B. (2015), Copper-Mediated Aromatic Radiofluorination Revisited: Efficient Production of PET Tracers on a Preparative Scale. *Chem. Eur. J.*, **21**: 5972-5979.
- [78] Ichiishi, N., Brooks, A. F., Topczewski, J. J., Rodnick, M. E., Sanford, M. S., & Scott, P. J. H. (2014). "Copper-Catalyzed [18F]Fluorination of (Mesityl)(aryl)iodonium Salts." *Organic Letters*. 2014, **16**, 3224–3227
- [79] Makaravage, K. J., et al. (2016). "Copper-Mediated Radiofluorination of Arylstannanes with [18F]KF." *Organic Letters* **18**(20): 5440-5443.
- [80] Zarrad, F., et al. (2017). "A Practical Method for the Preparation of 18F-Labeled Aromatic Amino Acids from Nucleophilic [18F]Fluoride and Stannyl Precursors for Electrophilic Radiohalogenation." *Molecules* **22**(12).
- [81] Warnier, C., et al. (2016). "Enabling Efficient Positron Emission Tomography (PET) Imaging of Synaptic Vesicle Glycoprotein 2A (SV2A) with a Robust and One-Step Radiosynthesis of a Highly Potent 18F-Labeled Ligand ([18F]UCB-H)." *Journal of Medicinal Chemistry* **59**(19): 8955-8966.
- [82] Dammicco, S., et al. (2017). "Regiospecific radiolabelling of Nanofitin on Ni magnetic beads with [18F]FBEM and in vivo PET studies." *Nuclear Medicine and Biology* **51**: 33-39.
- [83] Henrottin, J., et al. (2016). "Fully automated radiosynthesis of N1-[18F]fluoroethyl-tryptophan and study of its biological activity as a new potential substrate for

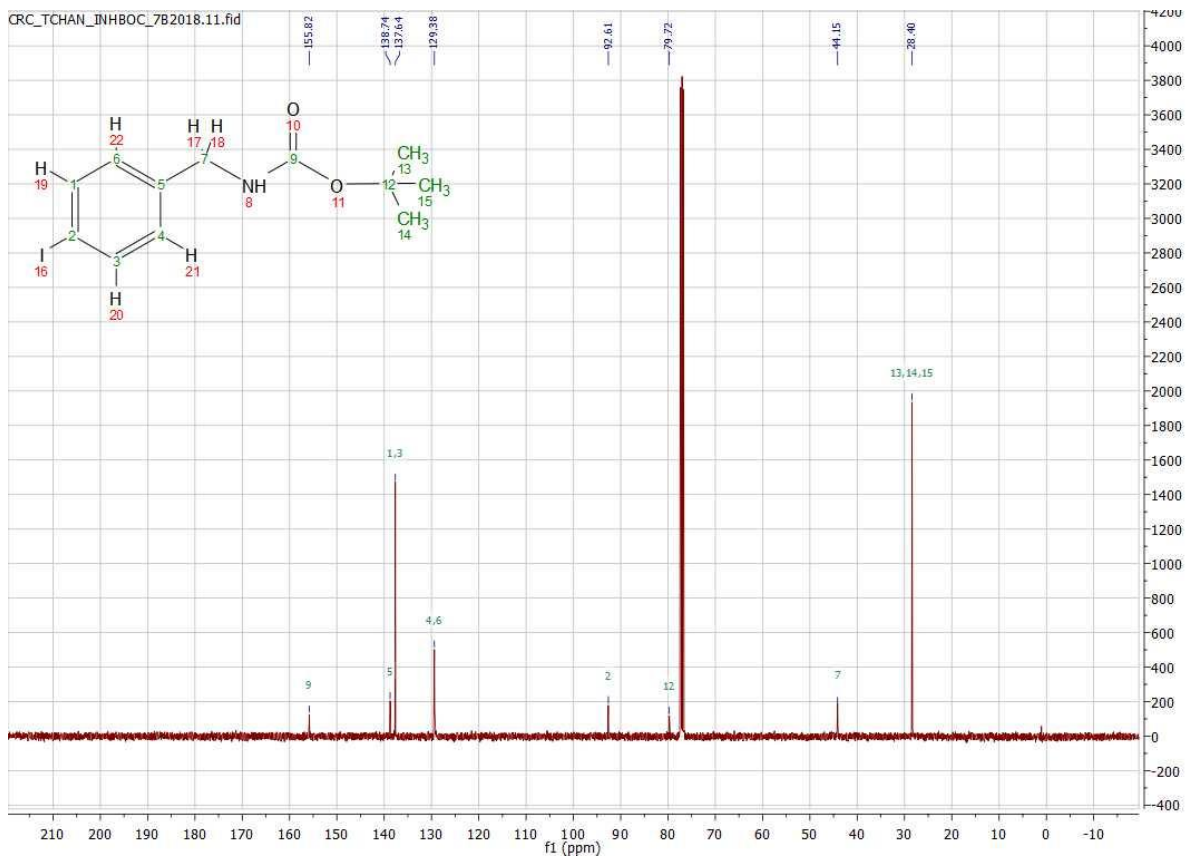
- indoleamine 2,3-dioxygenase PET imaging." *Nuclear Medicine and Biology* **43**(6): 379-389.
- [84] Lemaire, C., et al. (2012). "Fast and reliable method for the preparation of ortho- and para-[¹⁸F]fluorobenzyl halide derivatives: Key intermediates for the preparation of no-carrier-added PET aromatic radiopharmaceuticals." *Journal of Fluorine Chemistry* **138**: 48-55.
- [85] de Laeter, John R., et al. "Atomic weights of the elements. Review 2000 (IUPAC Technical Report)." *Pure and applied chemistry* 75.6 (2003): 683-800. [86] Lindstedt, E., et al. (2017). "One-Pot Synthesis of Unsymmetric Diaryliodonium Salts from Iodine and Arenes." *The Journal of Organic Chemistry* **82**(22): 11909-11914.
- [87] Ory, D., et al. (2015). "Retention of [¹⁸F]fluoride on reversed phase HPLC columns." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **111**: 209-214.

Chapitre 7: Annexes

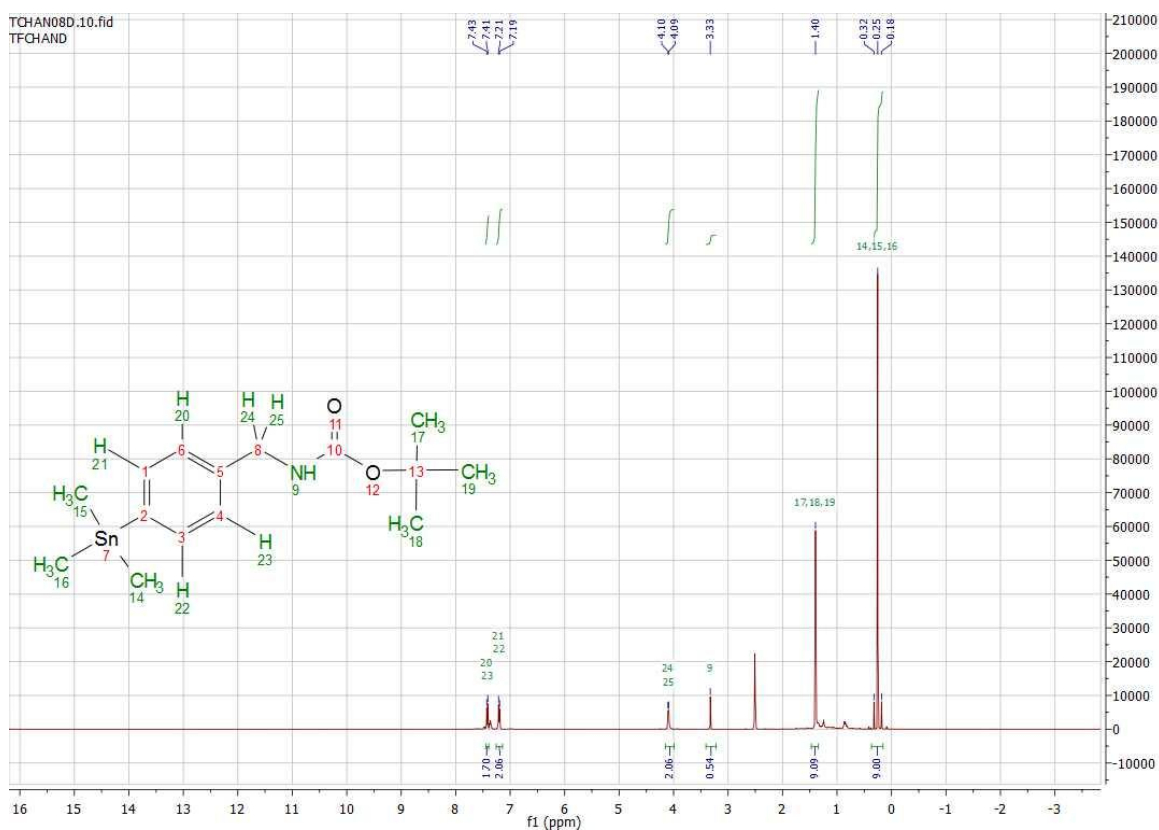
• **Spectre RMN ¹H de l'INHoc :**



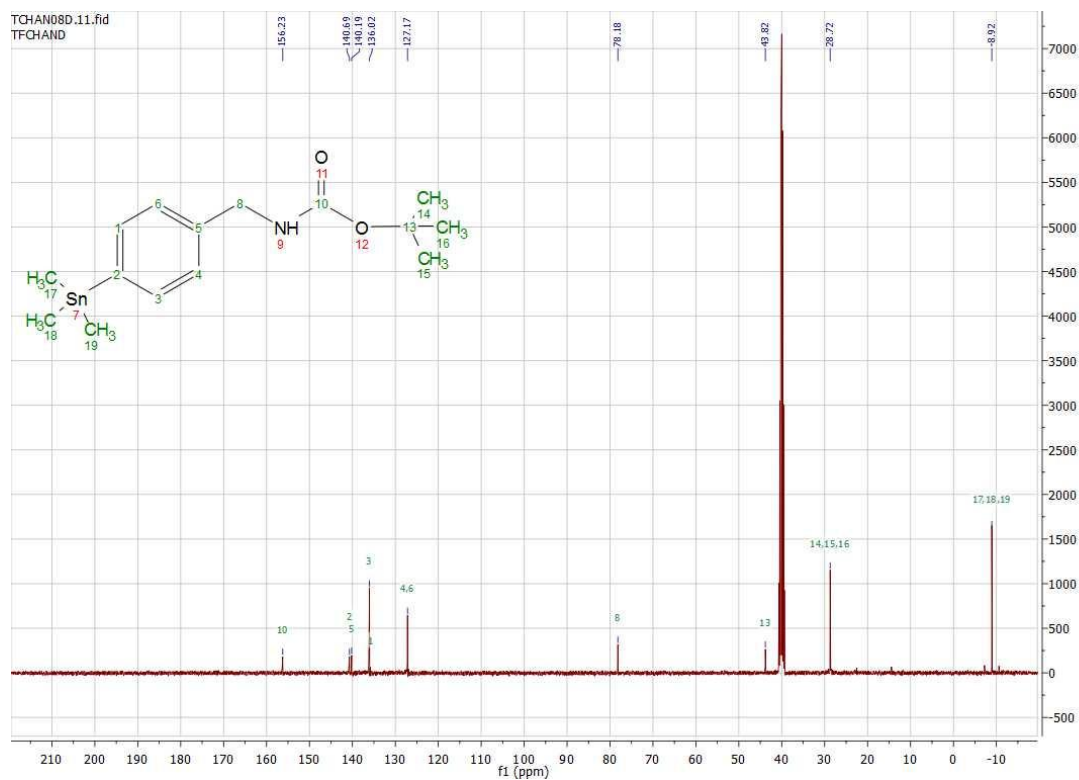
• **Spectre RMN ¹³C du l'INHoc :**



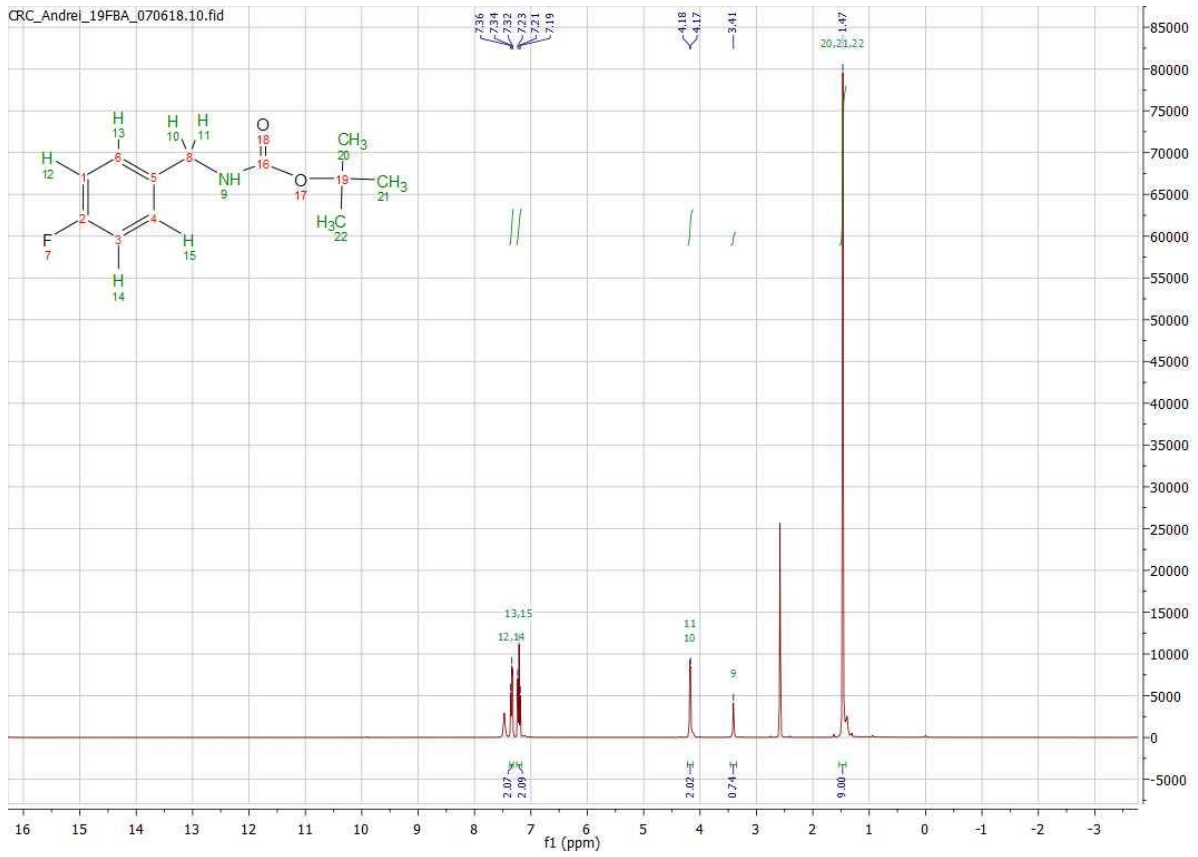
- Spectre RMN ¹H du stannate:



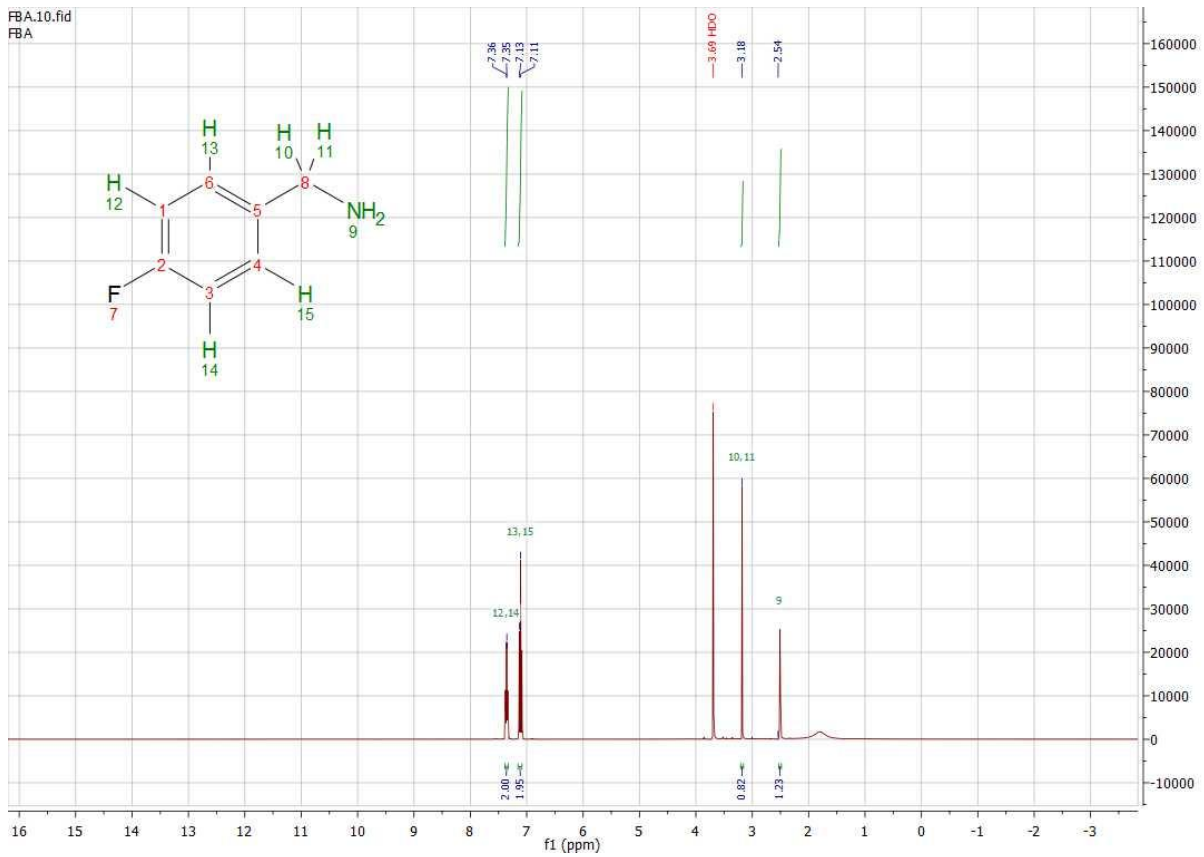
- Spectre RMN ¹³C du stannate:



- Spectre RMN ¹H du FBABoc:



• Spectre RMN ¹H de la FBA :



• **Spectre RMN ^{13}C du FBA :**

