

# Université de Nantes

Faculté de Médecine et de Pharmacie

Année 2003

N° attribué par la bibliothèque

0	3	N	A	N	T	1	8	V	S
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

## Synthèse et étude des propriétés complexantes de nouveaux acides polyaminopolycarboxyliques en vue de leur utilisation en médecine nucléaire

### THÈSE DE DOCTORAT

École Doctorale de Chimie-Biologie

Discipline : Médecine

Spécialité : Chimie Organique

*Présentée et soutenue publiquement par*

**Sébastien GOUIN**

*Le 21 octobre 2003, devant le jury ci-dessous*

*Rapporteurs:*

M<sup>me</sup> Marie-Claire LASNE

M. Claude PICARD

Professeur, Université de Caen

Directeur de recherche CNRS, Université de Toulouse

*Examineurs.*

M. Daniel FAGRET

M. Jean-Claude MADELMONT

Professeur, CHU de Grenoble

Directeur de recherche INSERM, Clermont-Ferrand

*M. Jean-Claude MESLIN*

*M. Jean-François GESTIN*

M. David DENIAUD

*Professeur, Université de Nantes*

*Chargé de recherche INSERM, Nantes*

Maître de conférences, Université de Nantes

Directeurs de thèse : M. Jean-Claude Meslin, M. Jean-François Gestin

# Remerciements

Ces trois années de thèse se sont effectuées au Laboratoire de Synthèse Organique, dirigé par Monsieur Jean-Paul Pradère et à l'unité 463 de l'INSERM, dirigée par Monsieur Marc Bonneville. Qu'ils soient remerciés de m'avoir accueilli. J'exprime également ma sincère reconnaissance aux donateurs de la Ligue Nationale Contre le Cancer pour le soutien financier qu'ils m'ont accordé.

Je remercie Madame Marie Claire Lasne et Monsieur Claude Picard qui ont eu l'obligeance d'être rapporteurs de ce manuscrit.

Je suis reconnaissant envers Messieurs Daniel Fagret et Jean Claude Madelmont pour avoir accepté d'être membres du jury.

J'exprime toute ma reconnaissance à mes deux directeurs de thèses, Jean François Gestin et Jean Claude Meslin pour m'avoir encadré au cours de cette thèse.

Les 244 793 caractères qui composent cette thèse n'auraient pas pu être tapés sans :

- une formation à la chimie organique qui m'a été donnée à l'Université de Nantes. Je remercie notamment le professeur Jacques Lebreton pour la qualité de ses cours et son écoute auprès des élèves.
- un encadrement de qualité. Je tiens tout particulièrement à remercier David Deniaud à qui je suis très reconnaissant de m'avoir formé à la recherche avec une patience et une gentillesse quotidienne. Les années passées en sa compagnie ainsi qu'avec Jean-Claude et Aélig ont été très agréables.
- les coups de main des collègues de travail, aussi bien à l'unité 463 de l'INSERM qu'au LSO. Merci à Alain Faivre-Chauvet et à Patricia Remaud pour m'avoir initié à la manipulation de radioéléments sans que je devienne moi-même radioactif, à Laurence Morandau pour les tests sur le lutétium, à Eric Benoist pour les tests sur le technétium, à Gilbert Nourisson pour les spectres de masse, à Isabelle Beudet pour la RMN 2D, à Marie-Jo pour les commandes, à Micheline pour le ménage et à tous les autres...
- le soutien actif des membres de ma famille situés des deux côtés de la méditerranée ; mes parents Phillippe et Fadela, mes grands-parents Rolande, Gustave, Gilbert, Paulette, Menouba, ma sœur Malya, mon amie Sandrine et mes innombrables oncles et cousins. Sans oublier la bonne humeur de tous les doctorants du LSO et celle des ami(e)s Nico, Tarek, Aélig, FX, Gratos, Benard-pierre, Karen, Barégoal, Mamar, Jeff, Régis, Anthony, Alex, Edern, James, Barquette...
- la devise des Shadocks qui m'a permis de garder le moral pendant certaines expériences coriaces : « En essayant continuellement, on finit par réussir. Donc plus ça rate, plus on a de chance que ça marche »

# Sommaire

## *Partie théorique*

<b>Introduction</b>	1
<b>I-1 généralités sur la radioimmunothérapie</b>	3
<u>I-1-1 Les différentes approches dans le traitement des cancers</u>	3
<u>I-1-2 Historique de la radioimmunothérapie</u>	4
<u>I-1-3 Méthodes de ciblage des tumeurs</u>	5
<i>Le ciblage en un temps</i>	5
<i>Le ciblage en deux temps</i>	6
<b>I-2 Les différents acteurs de la technique AES</b>	10
<u>I-2-1 L'anticorps monoclonal</u>	10
<u>I-2-2 L'haptène</u>	12
<u>I-2-3 Les radioéléments</u>	14
<i>Les radioéléments émetteurs <math>\alpha</math></i>	15
<i>Les radioéléments émetteurs <math>\beta^-</math></i>	15
<i>Les radioéléments émetteurs <math>\gamma</math></i>	16
<u>I-2-4 L'agent chélatant bifonctionnel (BCA)</u>	17
<i>Structure des BCA existants</i>	17
<b>I-3 Choix d'une nouvelle structure chélatante</b>	20
<u>I-3-1 Facteurs influençant la stabilité des complexes</u>	20
<u>I-3-2 Stratégie de synthèse de nouveaux BCA</u>	22

<b>PARTIE A: Synthèse et marquage d'analogues de l'EDTA, choix de la structure appropriée</b>	24
<b>A-1 Synthèse des molécules modèles</b>	25
<u>A-1-1 Synthèse des acides <i>cis</i> et <i>trans</i>-cyclopentane-1,2-diamine</u>	
<u>-N,N,N',N'-tétraacétique</u>	25
<u>A-1-2 Synthèse de composés dérivés du norbornane</u>	30
1 <sup>ère</sup> voie de synthèse	31
2 <sup>ème</sup> voie de synthèse	34
<u>A-1-3 Synthèse de l'acide phénylène-1,2-diamine-N, N, N', N'-tétraacétique</u>	40
<b>A-2 Détermination des propriétés complexantes</b>	42
<u>A-2-1 Rappels sur la radioactivité</u>	42
<u>A-2-2 Tests sur les agents chélatants synthétisés</u>	44
<b>A-3 Choix du squelette approprié</b>	48
<b>PARTIE B: Synthèse et marquage de nouveaux agents chélatants oxygéné, azoté ou soufré</b>	50
<b>B-1 Synthèse d'agents chélatants oxygéné, azoté ou soufré</b>	51
<u>B-1-1 Synthèse de l'analogue oxygéné</u>	53
<u>B-1-2 Synthèse de l'analogue azoté</u>	54
<u>B-1-3 Synthèse de l'analogue soufré</u>	57
<b>B-2 Etude des propriétés complexantes</b>	60
<u>B-2-1 Tests sur les ligands oxygéné ou soufré</u>	45
<u>B-2-2 Tests sur le ligand azoté</u>	38

<b>PARTIE C: Synthèse et marquage du Ph-DTPA et du Ph-TTHA</b>	65
<b>C-1 Synthèse du Ph-DTPA et du Ph-TTHA</b>	67
<u>C-1-1 Synthèse du Ph-DTPA</u>	69
<u>C-1-2 Synthèse du Ph-TTHA</u>	71
<b>C-2 Propriétés complexantes des nouveaux analogues du DTPA et du TTHA</b>	73
<u>C-2-1 Détermination de la complexation par spectrophotométrie UV</u>	73
<u>C-2-2 Mesure de la formation de complexes radioactifs par CCM</u>	74
<i>Résultats sur les émetteurs <math>\beta</math> et <math>\gamma</math></i>	75
<u><i>Résultats sur les émetteurs <math>\alpha</math></i></u>	76
<u>C-2-3 Détermination de la stabilité sérique</u>	78
<b>Résultats obtenus avec le Ph-DTPA</b>	<b>79</b>
<i>Résultats obtenus avec le Ph-TTHA</i>	81
<b>PARTIE D: Vers la synthèse de nouveaux composés macrocycliques</b>	
<u>D-1-1 Voie de "synthèse peptidique"</u>	86
<u>D-1-2 Voie de synthèse selon la méthode de Richman-Atkins</u>	89
<u>D-1-3 Voie de macrocyclisation en utilisant un chlorure d'acide</u>	93
<b>Conclusion</b>	96

## *Partie expérimentale*

<b>Caractérisation des produits et modes opératoires</b>	101
<b>Tests de complexation</b>	162
<u>Radiomarquages avec l'yttrium (<math>^{90}\text{Y}</math>)</u>	162
<u>Radiomarquages avec le samarium (<math>^{153}\text{Sm}</math>)</u>	164
<u>Radiomarquages avec l'indium (<math>^{111}\text{In}</math>)</u>	167
<u>Radiomarquages avec le bismuth (<math>^{213}\text{Bi}</math>)</u>	170
<u>Radiomarquages avec l'actinium (<math>^{225}\text{Ac}</math>)</u>	172
<u>Procédure générale des Tests UV</u>	174

# **Introduction**





## **I-1 généralités sur la radioimmunothérapie**

### **I-1-1 Les différentes approches dans le traitement des cancers**

En France, le cancer est actuellement la première cause de mortalité avec 1 million de personnes atteintes et 150 000 morts par an. Le nombre de malades devrait par ailleurs s'accroître de façon importante en raison notamment du vieillissement de la population. En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), prévoit d'ici à 2020, 20 millions de nouveaux cas de cancer chaque année à l'échelle de la planète.

Ces chiffres alarmants conduisent de nombreux pays à faire de la lutte contre le cancer une priorité en matière de recherche. Le gouvernement français a d'ailleurs récemment mis en place un plan de mobilisation, avec pour objectif de réduire de 20% le taux de mortalité en cinq ans. Une partie des 1,64 milliards d'euros annoncés le 25 mars 2003 pour ce plan devrait permettre de renforcer les traitements conventionnels (chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie) mais aussi de développer plus rapidement les nouvelles voies thérapeutiques (thérapies géniques, vaccins, médicaments antiangiogéniques,...).

Parmi ces nouvelles techniques, la radioimmunothérapie (RIT) constitue une approche prometteuse. La méthode repose sur l'utilisation d'un métal radioactif pour détruire les cellules cancéreuses par irradiation. Le radionucléide employé est véhiculé de façon sélective vers les cellules tumorales grâce à un anticorps qui se fixe spécifiquement sur les antigènes de ces cellules.

## I-1-2 Historique de la radioimmunothérapie

L'idée d'utiliser des anticorps comme vecteurs de radionucléides au sein de la masse tumorale a été émise au début du siècle dernier par Ehrlich.<sup>1</sup> Bien que la faisabilité du concept ait été vérifiée par Pressman et Keighley en 1948,<sup>2</sup> la faible disponibilité d'anticorps monoclonaux a longtemps limité l'efficacité de la méthode. Ce n'est qu'à partir de 1975, date à laquelle Köhler et Milstein ont découvert la technique de l'hybridation cellulaire permettant la production d'anticorps monoclonaux à grande échelle,<sup>3</sup> que cette technique s'est réellement développée.

Les anticorps monoclonaux ont d'abord été utilisés à des fins diagnostiques pour l'immunoscintigraphie (IS).<sup>4</sup> L'anticorps radiomarqué par un métal émetteur gamma (le plus souvent l'indium-111 ou le technétium-99m) est injecté par voie intraveineuse. La visualisation des cellules cancéreuses ciblées est effectuée à l'aide d'une gamma-caméra qui traduit en images le rayonnement reçu par le détecteur. Grâce à cette technique, des tumeurs de petite taille, non détectées par les méthodes conventionnelles d'imagerie morphologique peuvent être visualisées.

Le concept de radioimmunothérapie s'est ensuite développé pour détruire les cellules tumorales. Cette nouvelle approche consiste à remplacer les émetteurs gamma utilisés en IS par des émetteurs alpha ou béta potentiellement destructeurs de cellules.

Les deux méthodes étant relativement similaires, les différentes améliorations apportées à l'immunoscintigraphie ont souvent pu être transposées à la radioimmunothérapie. Citons comme exemple l'avancée majeure de ces 15 dernières années : le passage du ciblage en un temps au ciblage en deux temps des tumeurs.

---

<sup>1</sup> Ehrlich P., Herta C.A., Shiga K., *Z. Physiol. Chem.*, **1904**, 61, 379. Bloomer W.D., Lipsztein R., Dalton J.F., *Cancer*, **1985**, 55, 2229.

<sup>2</sup> Pressman D., Keighley G., *J. Immunol.*, **1948**, 80, 482. Pressman D., *Ann. NY Acad. Sci.*, **1957**, 69, 644.

<sup>3</sup> Köhler G., Milstein C., *Nature*, **1975**, 256, 495.

<sup>4</sup> Goldenberg D.M., *J. Nucl. Med.*, **1983**, 24, 360.

### I-1-3 Méthodes de ciblage des tumeurs

#### *Le ciblage en un temps*

Les premiers essais cliniques en IS ont été effectués selon une méthode de ciblage des tumeurs dite en un temps. Cette technique consistait à délivrer au patient, en une seule injection, le radiopharmaceutique schématisé figure I-1 ; ce dernier est constitué d'un radionucléide greffé sur un vecteur biologique (anticorps) par l'intermédiaire d'une molécule appelée agent chélatant bifonctionnel (BCA).

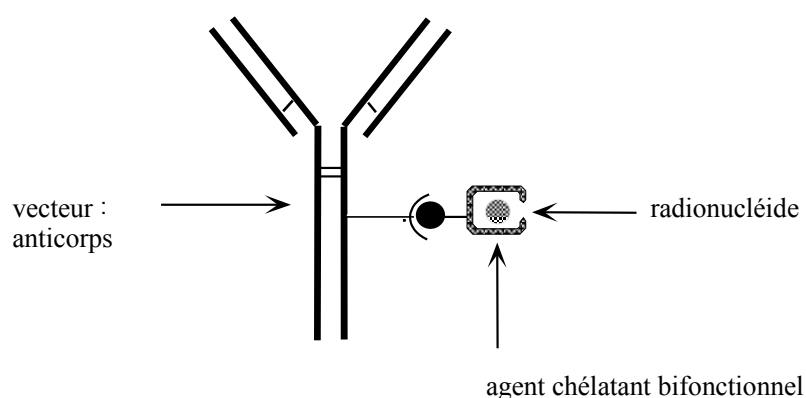


figure I-1 Radiopharmaceutique

Malgré son apparente simplicité, cette méthode se heurte à un problème d'irradiation non spécifique important. En effet, moins de 0,1% de la radioactivité injectée chez l'homme est fixée par gramme de tumeur.<sup>5</sup> Cette mauvaise spécificité s'explique en partie par la taille importante de l'anticorps (25-50 kDa), ce qui lui confère un faible pouvoir de diffusion à travers les barrières biologiques. Ce dernier réside alors longtemps dans l'organisme avant d'atteindre la tumeur, irradiant ainsi de façon importante les tissus sains. On observe notamment une forte concentration en radiopharmaceutique au niveau du foie et des reins.

<sup>5</sup> Chatal J-F., Peltier P., Bardiès M., Chetanneau A., Thédrez P., Faivre-Chauvet A., Gestin J-F., *Eur. J. Nucl. Med.*, **1992**, 19, 205.

## *Le ciblage en deux temps*

Pour diminuer significativement la fixation non spécifique, d'autres méthodes de ciblage ont été mises au point.<sup>6</sup> Parmi ces nouvelles techniques, celle qui consiste à cibler en deux temps les tumeurs par le système AES "Affinity Enhancement System" nous intéresse plus particulièrement. En effet, elle a permis d'obtenir des résultats très prometteurs lors d'études cliniques en radioimmunothérapie.<sup>7</sup>

Proposé par Le Doussal en 1989 dans le but d'améliorer la visualisation des tumeurs,<sup>8</sup> le concept AES s'est rapidement élargi à la radioimmunothérapie.<sup>9</sup> Cette méthode unique de ciblage est basée sur l'utilisation d'anticorps bispécifiques et d'haptènes bivalents radiomarqués.<sup>10</sup>

Le principe (figure I-2) consiste à administrer au patient lors d'une première injection des anticorps bispécifiques (anti-antigènes tumoraux / anti-haptènes) qui ont la propriété de se lier sélectivement aux nombreux antigènes exprimés à la surface de la tumeur.

Cette première injection est suivie quelques jours plus tard par celle des haptènes bivalents radiomarqués. Ce délai est nécessaire pour obtenir une concentration maximale de l'immunoconjugué sur la tumeur et une élimination du non fixé. Grâce à leur petite taille et à leur caractère hydrophile, les haptènes vont rapidement diffuser vers la cible tumorale où ils seront reconnus par la terminaison anti-haptène des anticorps précédemment injectés. La demi-vie plasmatique très courte de l'haptène permet une élimination rapide par voie rénale du radiopharmaceutique non fixé sur la tumeur. Cette fixation et cette élimination rapide minimise l'irradiation des cellules saines.

---

<sup>6</sup> Bagshawe K.D., Springer C.J., Searle F., Atoniwe P., Sharma S.K., Melton R.G., Sherwood R.F., *Br. J. Cancer*, **1988**, 58, 700. Khawli L.A., Alaudinn M.M., Miller G.K., Epstein A.L., *Antibody Immunoconjugate Radiopharm.*, **1993**, 6, 13. Paganelli G., Malcovati M., Fazio F., *Nucl. Med. Commun*, **1991**, 31, 1791. Axworthy D.B., Reno J.M., Hylarides M.D., Mallet R.W., Theodore L.J., Gustavson L.M., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2000**, 97, 1802.

<sup>7</sup> Kraeber-Bodéré F., Bardet S., Hoefnagel C.A., Vieira M.R., Vuillez J.P., Murat A., Ferreira T.C., Bardiès M., Ferrer L., Resche L., Gautherot L., Barbet J., Chatal J-F., *Clin. Cancer. Res.*, **1999**, 5, 3190s. Vuillez J.P., Kraeber-Bodéré F., Moro D., Bardiès M., Douillard J.Y., Gautherot E., Rouvier E., Barbet J., Garban F., Moreau P., Chatal J-F., *Clin. Cancer. Res.*, **1999**, 5, 3259s.

<sup>8</sup> Le Doussal J.M., Martin M., Gautherot E., Delaage M., Barbet J., *J. Nucl. Med.*, **1989**, 30, 1358.

<sup>9</sup> Barbet J., Kraeber-Bodéré F., Vuillez J.P., Gautherot E., Rouvier E., Chatal J-F., *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, **1999**, 14, 153.

<sup>10</sup> Le Doussal J.M., Martin M., Gautherot E., Delaage M., Barbet J., *J. Immunol.*, **1991**, 145, 169.

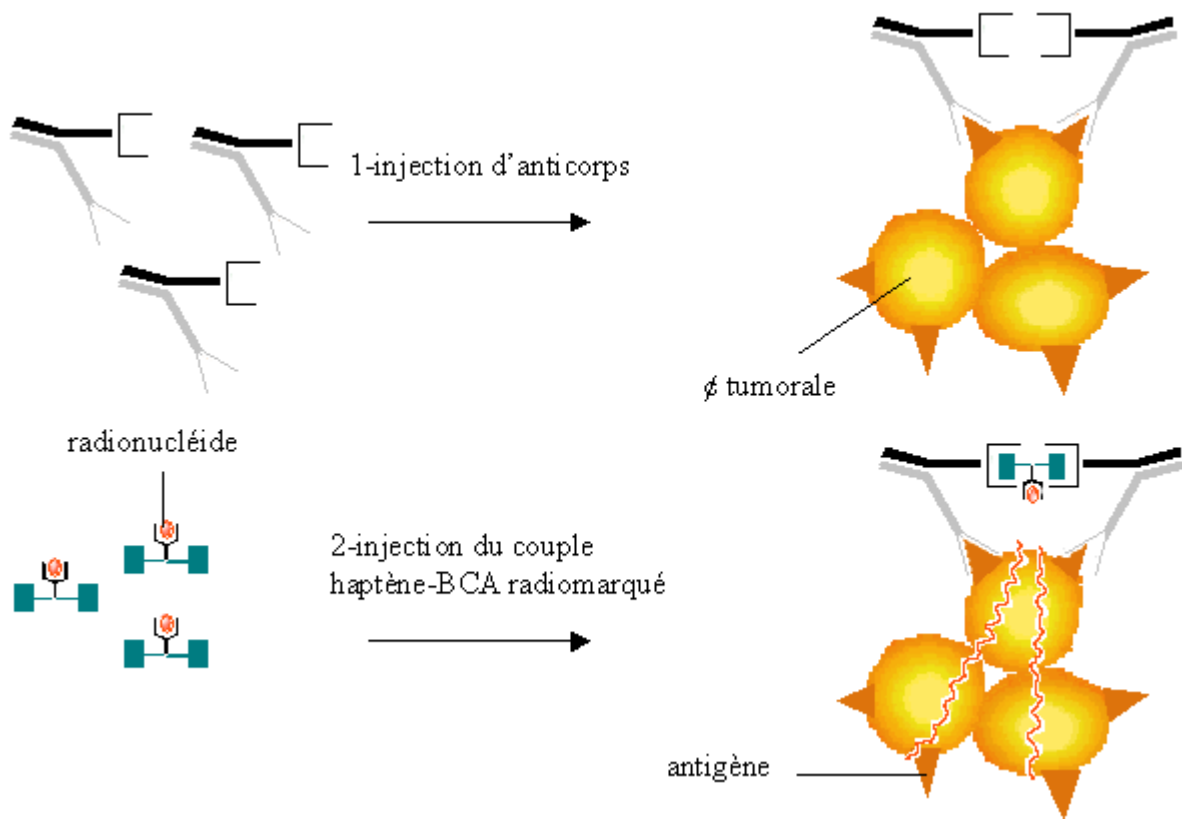


figure I-2 Technique AES

Cette approche permet de réduire d'un facteur 3 à 5 l'irradiation des tissus normaux par rapport à la technique en un temps pour une fixation tumorale équivalente.<sup>11</sup> Les figures I-3 et I-4 issues de recherches effectuées à Nantes dans l'unité 463 de l'INSERM illustrent ce phénomène. Il s'agit de coupes longitudinales de souris atteintes de tumeurs qui ont été ciblées selon la technique de marquage en un temps pour le premier cliché (figure I-3) et selon la technique AES pour le second (figure I-4). Les contrastes observés dans les différentes régions du corps de l'animal sont fonction de la radioactivité émise et donc de la présence du radionucléide injecté (<sup>111</sup>In).

Sur la première image enregistrée par la gamma caméra, on distingue pratiquement tout le corps de l'animal, avec néanmoins des contrastes plus accentués au niveau du foie et de la tumeur. Cette distribution relativement homogène de l'indium dans le corps de l'animal signifie que les cellules cancéreuses ont été mal ciblées.

<sup>11</sup> Le Doussal J.M., Martin M., Gautherot E., Delaage M., Barbet J., *Cancer Res.*, **1990**, 50, 3445.

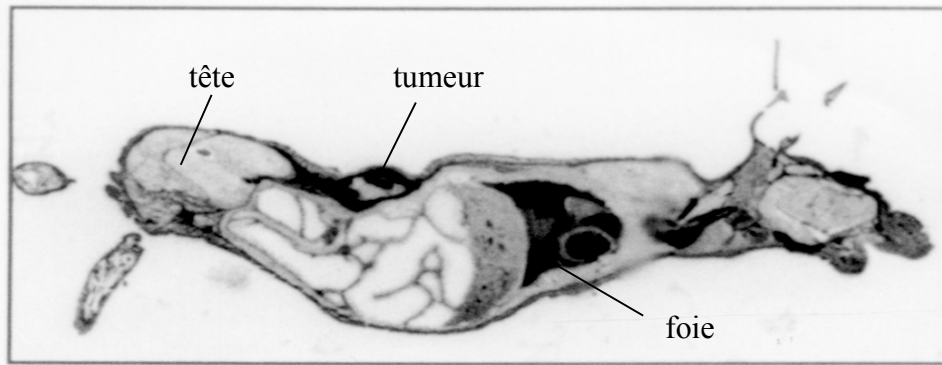
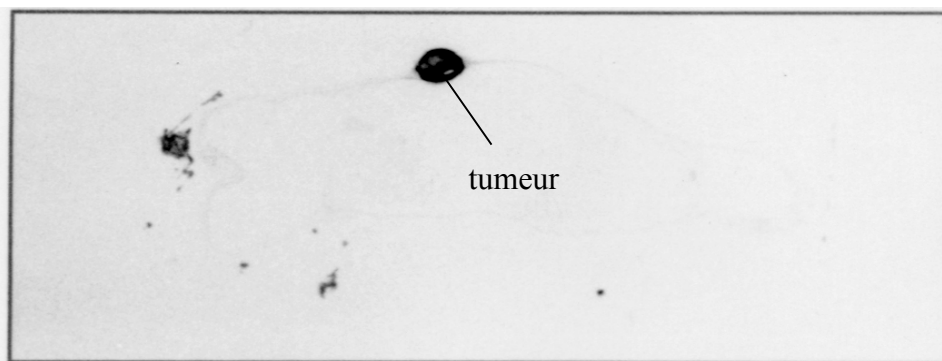


figure I-3 Marquage selon la méthode en 1 temps

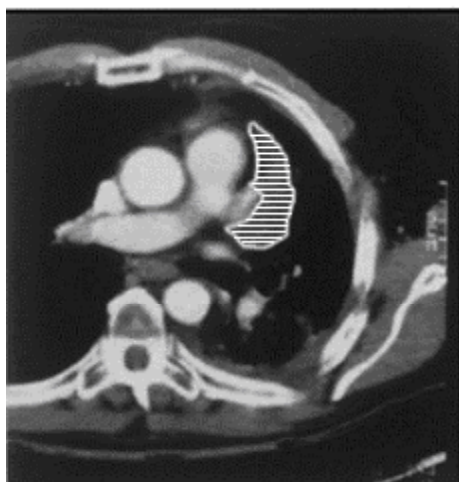
Par contre, sur la figure I-4 on ne distingue plus le corps de la souris, mais juste la zone où sont situées les cellules tumorales. Le radionucléide s'est donc concentré de façon significative dans la tumeur. Le marquage en deux temps permet ainsi une irradiation moindre des organes sains et une meilleure localisation des cellules cancéreuses par rapport à celui en un temps.



figureI-4 Marquage selon la méthode en 2 temps (technique AES)

Une fois l'efficacité de la technique AES démontrée, celle-ci fut rapidement mise à profit pour des applications en RIT. Actuellement, l'utilisation de ce système fait l'objet d'études cliniques en phase I/II au CHR de Nantes. La figure I-5 illustre un des résultats obtenus en représentant deux scanners d'un patient atteint d'une tumeur bronchique traité par radioimmunothérapie avec l'iode 131. Pour une meilleure localisation de la tumeur, sa surface a été hachurée en blanc. 17 mois après le début du traitement RIT, les clichés révèlent que la tumeur, qui aurait dû continuer à s'accroître durant cette période, a significativement diminué de volume (-50%).

pré RIT



post RIT

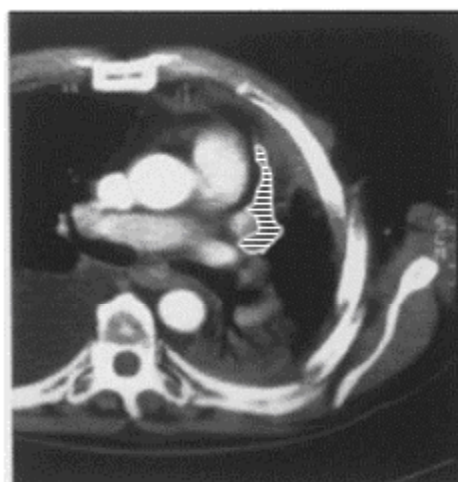


figure I-5 Traitement d'un patient par RIT

Dans cet exemple, la RIT a permis de prolonger la vie du patient, mais pas de détruire la totalité des cellules cancéreuses. En effet, les tumeurs de grande taille (supérieures au cm) présentent une vascularisation anarchique qui ne permet pas aux anticorps de pénétrer au cœur de la cible. Cette technique ne présente donc un réel intérêt que pour les pathologies où les cibles tumorales sont de petite taille.

Malgré des résultats expérimentaux prometteurs, certains facteurs limitent l'efficacité de la RIT ; les anticorps, les haptènes, les radioéléments et les agents chélatants bifonctionnels utilisés n'étant pas encore des outils totalement optimisés. Les travaux de recherche effectués, tant dans le domaine médical que dans celui de la synthèse organique, s'efforcent actuellement d'améliorer ces différents paramètres.

## I-2 Les différents acteurs de la technique AES

### I-2-1 L'anticorps monoclonal

Les anticorps ou immunoglobulines (Ig),<sup>12</sup> sont des glycoprotéines produites par les vertébrés pour se défendre contre les attaques de molécules étrangères immunogènes (antigènes). Ces immunoglobulines synthétisées par les plasmocytes présentent des sites de fixations spécifiques (figure I-6) vis-à-vis de l'antigène qui a induit leur production. Ceci permet la formation d'un complexe antigène-anticorps.

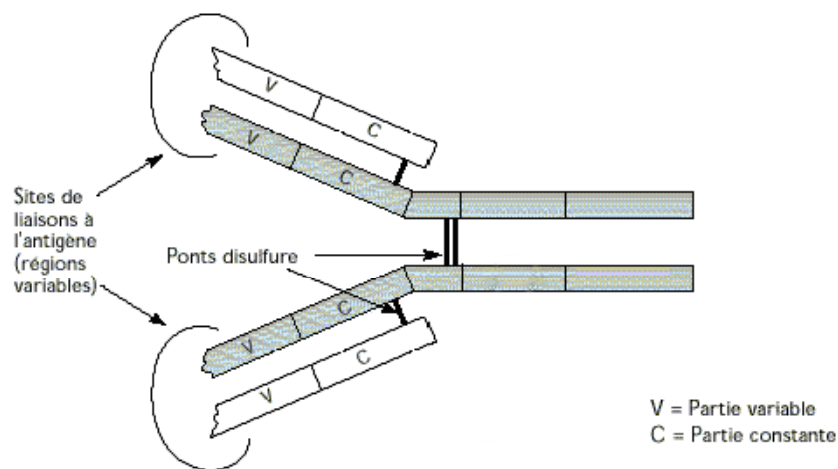


figure I-6 Structure de l'immunoglobuline G

Les anticorps peuvent être produits en quantité importante selon la technique développée par Köhler et Milstein qui consiste à isoler les lymphocytes de souris immunisées par un antigène tumoral humain.<sup>3</sup> Ces lymphocytes sont ensuite fusionnés avec des cellules cancéreuses de souris. Les cellules hybrides obtenues possèdent alors la faculté de produire des anticorps et de se multiplier théoriquement à l'infini in vitro.

<sup>12</sup> Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J.D., *Biologie de la cellule*, deuxième édition, Flammarion Médecine-Sciences, 1990.



Cependant, ces anticorps n'étant pas d'origine humaine, leurs injections répétées chez l'homme peuvent provoquer une réaction de défense du système immunitaire. Elle se traduit par la production d'anticorps dirigés contre les anticorps de souris. Ce sont les HAMA ou Human Anti-Murine Antibodies. Ces derniers vont alors complexer une grande quantité des anticorps injectés, réduisant ainsi leur disponibilité pour la cible tumorale, tout en provoquant des réactions allergiques. Il en résulte une réduction de l'efficacité diagnostique ou thérapeutique.

Pour réduire cette production de HAMA, les anticorps de souris sont modifiés par clivage enzymatique ou par manipulation génétique.<sup>13</sup> On obtient ainsi des anticorps humanisés (90-95 % humain) qui résultent de l'introduction des parties hypervariables d'anticorps de souris au sein d'une IgG humaine.<sup>14</sup>

Malgré les avantages que peuvent présenter ces nouveaux anticorps, très peu sont aujourd'hui utilisés en médecine nucléaire. Une production difficile et des rendements faibles freinent actuellement leur emploi. De nombreux laboratoires travaillent donc sur le développement des anticorps humanisés et sur leur production à grande échelle.

Pour pouvoir reconnaître à la fois les antigènes tumoraux et les haptènes, les anticorps utilisés dans la technique AES ont subi un certain nombre de transformations (figure I-7).<sup>15</sup> La première consiste à cliver deux anticorps par la pepsine, l'un étant spécifique de l'haptène, l'autre de l'antigène tumoral. Cette opération permet l'obtention de fragments  $F(ab')_2$  de plus petite taille. Ces derniers possèdent les mêmes propriétés de reconnaissance vis à vis des antigènes, avec une diffusion plus rapide vers la tumeur et entraînent ainsi moins de réactions de défense immunitaire. Ces fragments  $F(ab')_2$  sont ensuite réduits par action de la cystéamine (dérivé aminé de la cystéine) au niveau des ponts disulfure pour conduire aux fragments  $Fab'$ . Enfin, le bismaléimide régénère ces ponts disulfure entre les deux fragments  $F(ab')$  issus d'anticorps différents, pour conduire à l'anticorps désiré. Les étapes de purification de cette synthèse étant difficiles, la production d'anticorps bispécifiques est relativement longue et s'effectue avec de faibles rendements.

---

<sup>13</sup> Behr T.M., Memtsoudis S., Sharkey R.M., Blumenthal R.D., Dunn R.M., Gratz S., Wieland E., Nebendhal K., Schmidberger H., Goldenberg D., Becker W., *Int. J. Cancer.*, **1998**, 77, 787.

<sup>14</sup> Vaughan T.J., Osbourn J.K., Tempest P.R., *Nat. Biotechnol.*, **1998**, 16, 535.

<sup>15</sup> Cook A.G., Wood P.J., *J. Immunol. Meth.*, **1994**, 171, 227. De Silva B.S., Wilson G.S., *Methods*, **2000**, 22, 33.

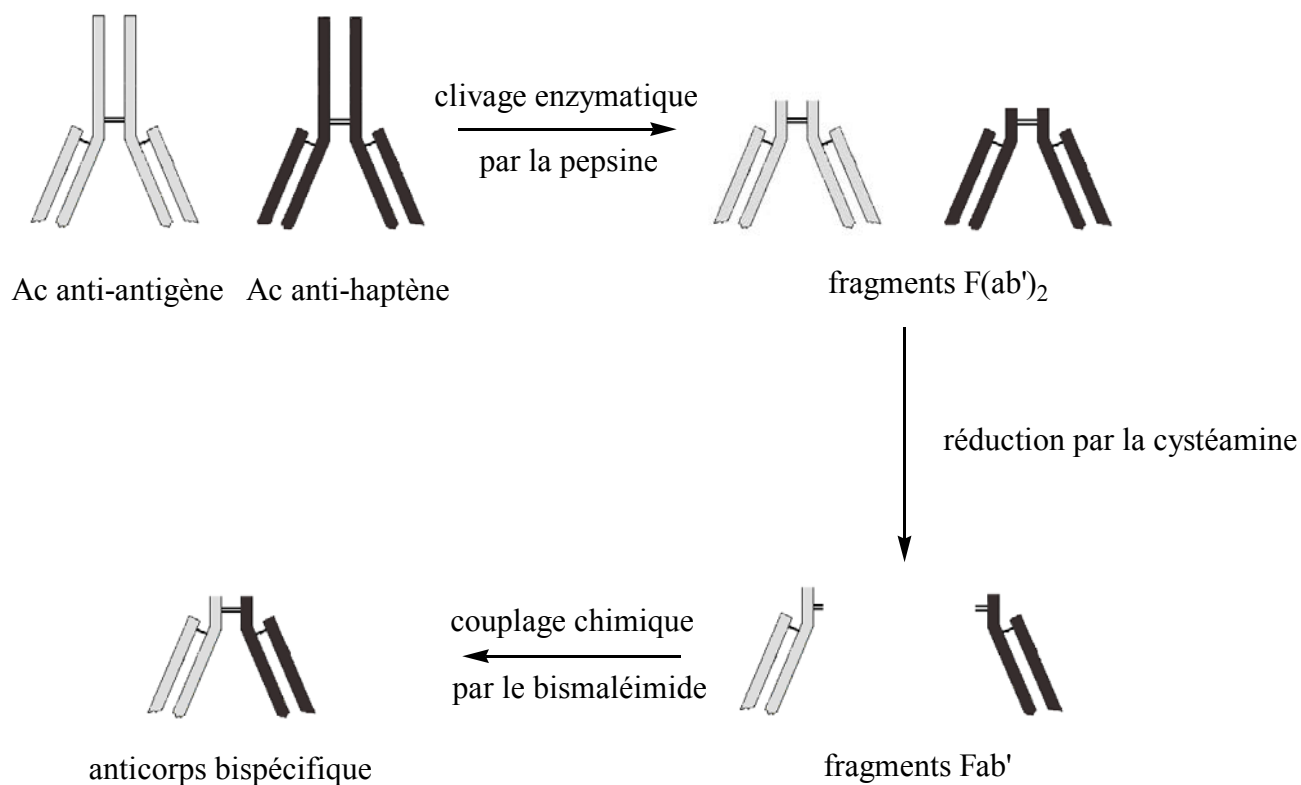


figure I-7 Synthèse d'un anticorps bispécifique

### I-2-2 L'haptène

Les haptènes utilisés sont des polypeptides qui possèdent la faculté de véhiculer le radionucléide approprié vers l'anticorps désiré. La figure I-8 présente la structure de l'haptène LM085 récemment synthétisé dans l'unité 463 de l'INSERM de Nantes. Ce peptide présente deux motifs identiques (H-S-G) en bout de chaîne constitués des molécules d'histamine, d'acide succinimique et de glycine reliées entre elles par des liaisons peptidiques. Ces deux enchaînements constituent le site de reconnaissance entre l'haptène et l'anticorps bifonctionnel et permettent la formation du complexe ponté (figure I-2, page 6) dans le cadre de la technique AES.

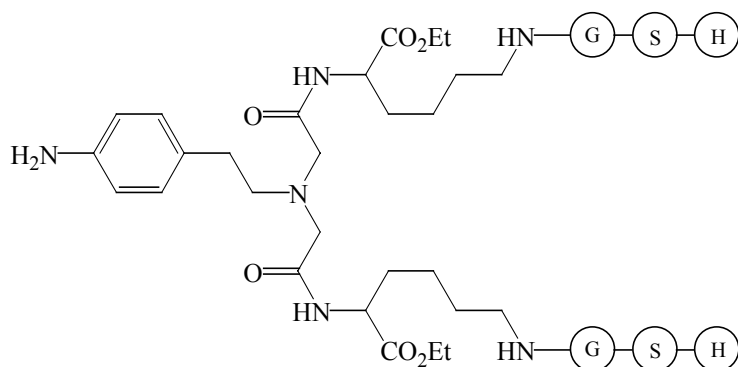


figure I-8 Structure de l'haptène LM085

Les deux sous-unités H-S-G, séparées par une longue chaîne, ne constituent pas les seules parties importantes de la molécule. En effet, la présence de l'amine aromatique va permettre le couplage de l'haptène à l'agent chélatant bifonctionnel radiomarqué par formation d'une fonction thiourée (figure I-8).

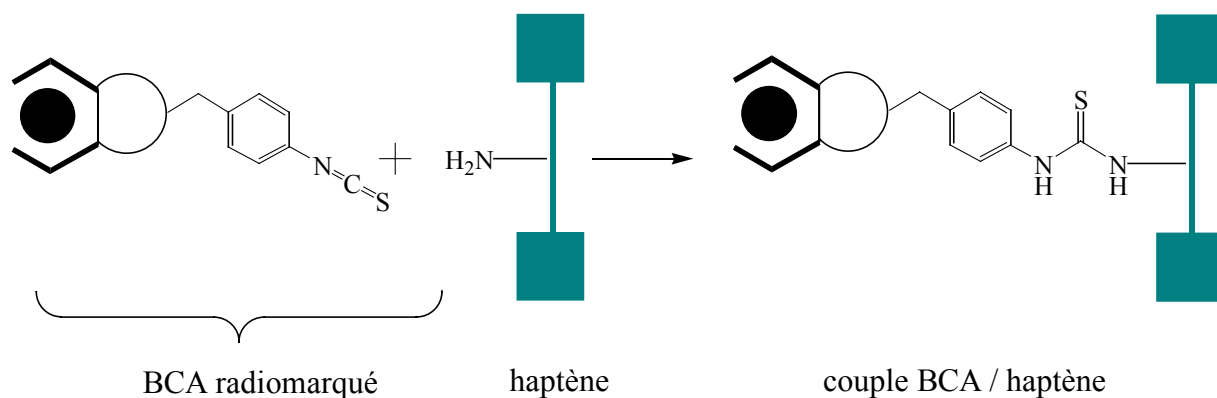


figure I-9 Couplage de l'haptène au BCA radiomarqué

### I-2-3 Les radioéléments

Les radionucléides se désintègrent en émettant divers types de rayonnements (figure I-10), dont les propriétés sont mises à profit pour des applications en médecine nucléaire dans le domaine de l'imagerie ou de la thérapie.

La nature du rayonnement émis n'est pas le seul paramètre à prendre en compte pour une utilisation potentielle en IS ou en RIT. Un critère essentiel est le temps de demi-vie qui doit être compris entre quelques heures et une dizaine de jours. En effet, une période trop courte ne permettrait pas de délivrer une dose radioactive suffisante au niveau de la tumeur. Inversement, une période trop longue exposerait de façon importante les organes sains du patient aux radiations lors de l'élimination du radiopharmaceutique.

D'autres critères, comme la stabilité des isotopes de décroissance, la pureté et le coût de production du radioélément sont également à prendre en compte.<sup>16</sup>

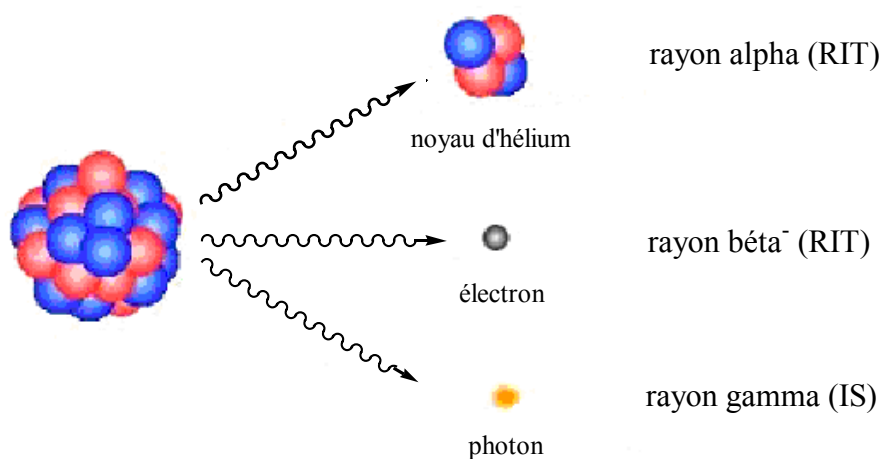


figure I-10 Rayonnements utilisables en médecine nucléaire

<sup>16</sup> Schubiger P.A., Alberto R., Smith A., *Bioconjugate Chem.*, **1996**, 7, 165. Woo D.V., Mercoe A.M., Brady L.W., *Am. J. Clin. Oncol.*, **1988**, 11, 355.

### *Les radioéléments émetteurs $\alpha$*

Constitué d'un noyau d'hélium de haute énergie cinétique (entre 4 et 10 MeV), le rayonnement  $\alpha$  est fortement ionisant et donc potentiellement très destructeur. La manipulation des émetteurs  $\alpha$  reste cependant aisée, leurs rayons pénétrant faiblement à travers la matière (40 à 80  $\mu\text{m}$ ), une simple feuille de papier suffit à les arrêter. Délivrant une énergie importante sur une courte distance, ces radioéléments sont principalement utilisés pour détruire des cellules de petite taille (< 100  $\mu\text{m}$ ) et isolées, dans des pathologies comme les cancers hématologiques ou le myélome multiple.<sup>17</sup>

Malgré l'importance de la technique, peu de candidats sont proposés pour l'alpha-thérapie, la plupart des émetteurs  $\alpha$  ne conduisant pas à des noyaux fils suffisamment stables après désintégration.<sup>18</sup> Les radioéléments actuellement les plus prometteurs sont le bismuth ( $^{213}\text{Bi}$ ) et l'actinium ( $^{225}\text{Ac}$ ) mais les recherches s'orientent également vers l'utilisation de l'astate ( $^{211}\text{At}$ ).

### *Les radioéléments émetteurs $\beta^-$*

Le rayonnement  $\beta^-$  correspond à un électron émis lors de la transformation au sein du noyau d'un neutron en proton. Il possède une énergie cinétique beaucoup plus faible que le rayon  $\alpha$  mais un pouvoir pénétrant plus grand. Sa trajectoire plus longue (de l'ordre de 100  $\mu\text{m}$  à quelques mm) offre la possibilité de traiter des tumeurs de petite taille. *In vivo*, ce type d'émetteurs donne naissance au phénomène de "feux croisés" : des cellules inaccessibles à l'anticorps situées au sein d'une tumeur peuvent être détruites par le rayonnement provenant de cellules voisines ciblées.

De nombreux émetteurs  $\beta^-$  sont potentiellement intéressants pour la RIT, voici les plus prometteurs :

- Le samarium ( $^{153}\text{Sm}$ ), utilisé dans le cadre des traitements palliatifs des métastases osseuses, représente un bon candidat pour la radioimmunothérapie.<sup>19</sup> De plus, cet élément possède une composante  $\gamma$  qui permet d'allier thérapie et imagerie. Cependant, les difficultés de production de ce radionucléide limitent actuellement son utilisation.

---

<sup>17</sup> Pélegrin A., Xavier F., Barbet J., *Bull. Cancer*, **2000**, 87, 777.

<sup>18</sup> Wilbur D.S., *Antibody Immunoconjugate Radiopharm.*, **1990**, 4, 85.

<sup>19</sup> Boniface G.R., Izard M.E., Walker K.Z., Mc Kay D.R., Sorby J., Turner J.H., *J. Nucl. Med.*, **1989**, 30, 683.

- Le rhénium ( $^{188}\text{Re}$ ) est un émetteur  $\beta^-$  de forte énergie qui est un candidat idéal pour une utilisation dans le cadre du système AES. Outre ses caractéristiques radiophysiques intéressantes, sa facilité de production et sa disponibilité devraient prochainement contribuer à son développement en RIT.
- D'autres radionucléides comme l'yttrium ( $^{90}\text{Y}$ ), le lutétium ( $^{177}\text{Lu}$ ) ou encore l'holmium ( $^{166}\text{Ho}$ ) ont des constantes physico-chimiques favorables à une utilisation en RIT.

### *Les radioéléments émetteurs $\gamma$*

Le rayonnement  $\gamma$  est une onde électromagnétique d'énergie très variable (2 keV à 2,8 MeV). Le long parcours des photons à travers la matière (de l'ordre du mètre) permet d'utiliser ce type d'émetteur pour l'imagerie médicale. Les émissions de rayonnement  $\gamma$  sont souvent associées à des rayonnements  $\alpha$  ou  $\beta$ , ce qui permet de combiner imagerie et thérapie.

- Par le passé, le principal radionucléide utilisé en radioimmunolocalisation était l'iode ( $^{131}\text{I}$ ) du fait de sa disponibilité et de sa facilité de radiomarquage. Selon les doses injectées, il pouvait être utilisé pour l'imagerie ou pour la thérapie car il est émetteur  $\gamma$  et  $\beta^-$ . Cependant, l'iode en imagerie est responsable d'un bruit de fond important dû à des phénomènes de déiodation *in vivo*. De plus, sa période élevée de 8 jours expose inutilement le patient aux radiations. L'utilisation d'autres radioéléments s'est alors révélée utile.
- Malgré son coût relativement élevé, l'indium ( $^{111}\text{In}$ ) est un émetteur  $\gamma$  de choix, de nombreuses études ont montré son avantage par rapport à l'iode. Il offre notamment une meilleure définition des images.
- Enfin, le Technétium ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) qui est présent dans 80% des radiopharmaceutiques est incontestablement l'isotope le plus utilisé en imagerie.<sup>20</sup>

Il est à noter que les émetteurs gamma ne sont pas les seuls radioéléments utilisés en imagerie. Un intérêt croissant est porté actuellement sur des radionucléides émetteurs de positons (électrons positifs, émissions  $\beta^+$ ) comme le fluor-18. En effet, la technique de tomographie par émission de positons (TEP), bien que plus délicate dans l'acquisition des données, possède l'avantage d'être plus sensible que l'imagerie  $\gamma$ .

---

<sup>20</sup> Jurisson S., Berning D., Jia W., Ma D., *Chem. Rev.*, **1993**, 93, 1137. Faivre-Chauvet A., Mishra A.K., Gestin J-F., Chatal J-F., *Handbook of Targeted Delivery of Imaging Agents*, Torchilin V.P., Ed, CRC Press, Boca Raton, USA, **1995**, chapitre 5.

## I-2-4 L'agent chélatant bifonctionnel (BCA)

### *Structure des BCA existants*

Acteur essentiel de la technique AES, l'agent chélatant bifonctionnel permet de complexer le radionucléide et de le lier à l'haptène. L'adjectif bifonctionnel indique que deux groupes de fonctions sont nécessaires pour effectuer ces opérations (figure I-11). Le premier, qui a pour rôle de coupler le BCA au vecteur, est souvent une fonction chimique isothiocyanate qui forme une thiourée lors du couplage avec l'amine aromatique présente sur l'haptène (figure I-8, page 12). Le deuxième, qui doit emprisonner le métal, est constitué d'un nombre varié d'hétéroatomes électrodonneurs. Les recherches récentes effectuées sur les BCA portent principalement sur des modifications de cette deuxième fonctionnalité.

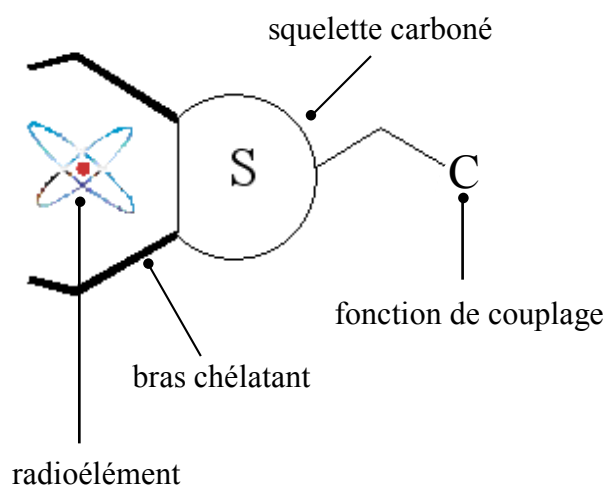


figure I-11 Structure générale d'un BCA

L'importance de la cavité complexante s'explique par la nécessité d'avoir un couple BCA-radioélément stable en milieu physiologique. En effet, une bonne chélation évite un relargage du métal dans le corps humain et donc une irradiation importante des organes sains. Un BCA est donc efficace lorsque sa constante de complexation avec le radionucléide utilisé est très élevée, de l'ordre de  $10^{20}$ .

Malgré le nombre important de BCA synthétisés,<sup>21</sup> relativement peu répondent aux critères de sélection exigés pour une application en RIT.

- La faible demi-vie des radionucléides employés (ex : <sup>213</sup>Bi, T<sub>1/2</sub>=45,5 min) contraint les BCA à complexer rapidement les métaux dans des milieux extrêmement dilués ([métal] de 10<sup>-9</sup> à 10<sup>-15</sup> mol.L<sup>-1</sup>).
- Pour éviter l'oxydation des radioéléments, la complexation est effectuée à pH acide (entre 5 et 6), les sites complexants de type amines peuvent alors se protoner et perdre ainsi leur pouvoir chélatant.
- Très peu de complexes ont une stabilité suffisante dans le sérum humain pour être utilisés en RIT. En effet, le système biologique implique la présence de nombreuses protéines et enzymes susceptibles de conduire à des réactions de transchélation ou d'entraîner une dégradation du radiopharmaceutique.

Certains BCA ont malgré tout montré une affinité intéressante vis-à-vis de radionucléides potentiellement utilisables en IS et en RIT. La figure I-12 présente les agents chélatants actuellement les plus prometteurs pour la complexation de l'indium, l'yttrium, le samarium, le bismuth et l'actinium.<sup>22, 23, 24, 25, 26</sup>

Nous constatons une similitude entre les différents chélates qui possèdent tous des fonctions de type acides polyaminopolycarboxyliques capables de complexer efficacement les radioéléments utilisés.

---

<sup>21</sup> Hassfjell S., Brechbiel M.W., *Chem. Rev.*, **2001**, 101, 2019.

<sup>22</sup> Hashifuji Y., Iwai K., Seri S., Kondo S., Azuma M., *Eur. Pat. Appl.*, **1993**, EP 535668. Graeger J., Chao T.C., Blend M.J., Atcher R.W., Gansow O.A., Brechbiel M.W., Das Gupta T.K., *J. Nucl. Med.*, **1990**, 31, 1378.

<sup>23</sup> Camera L., Kinuya S., Garmestani K., Wu C., Brechbiel M.W., Pai L.H., McMurry T.J., Gansow O.A., Pastan I., Paik C.H., Carrasquillo J.A., *J. Nucl. Med.*, **1994**, 35, 882.

<sup>24</sup> Morandeau L., Remaud P., Faivre-Chauvet A., Gestin J-F., *PCT Int. Appl.*, **2002**, WO 2002040507.

<sup>25</sup> Brechbiel M.W., Gansow O.A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1992**, 1173.

<sup>26</sup> Brechbiel M.W., Deal K., *PCT Int. Appl.*, **2000**, WO 2000059896. Chappell L.L., Deal K.A., Dadachova E., Brechbiel M.W., *Bioconjugate Chem.*, **2000**, 11, 510.



	Formule développée	Radioélément complexé	Domaine d'application
<i>p</i> -NCS-Bz-DTPA		$^{111}\text{In} (\gamma)$	IS
<i>p</i> -NCS-Bz-DOTA		$^{90}\text{Y} (\beta^-)$	RIT
<i>p</i> -NCS-Bz-TTHA		$^{153}\text{Sm} (\gamma, \beta^-)$	IS, RIT
CHXA 'DTPA		$^{213}\text{Bi}, ^{212}\text{Bi} (\alpha)$	RIT
<i>p</i> -NCS-Bz-HEHA		$^{225}\text{Ac} (\alpha)$	RIT

figure I-12 Agents chélatants efficaces

## I-3 Choix d'une nouvelle structure chélatante

### I-3-1 Facteurs influençant la stabilité des complexes

Pour élaborer de nouveaux agents chélatants, il est indispensable de bien connaître les différents facteurs influençant la stabilité des complexes.

- La plupart des radioéléments utilisables en IS et en RIT ont une coordinence élevée qui est généralement de 8 ou 9. Afin de satisfaire cette coordinence, les BCA doivent donc posséder un nombre suffisant d'atomes électrodonneurs.<sup>27</sup>
- Le choix de ces atomes pourra en partie être dicté par le principe HSAB (Hard and Soft Acids and Bases) de Pearson, qui spécifie que les acides durs se lient préférentiellement avec les bases dures et les acides mous avec les bases molles.<sup>28</sup> Les lanthanides trivalents étant des acides durs, ils se lient donc préférentiellement avec les atomes suivants : O>N>S.
- La basicité de ces atomes influe aussi sur la stabilité des complexes. Les amines tertiaires et secondaires, plus basiques que leurs homologues primaires forment généralement des complexes plus stables.
- La notion de préorganisation du ligand joue un rôle essentiel sur la complexation du métal.<sup>29</sup> Un ligand est dit préorganisé lorsque sa conformation la plus stable est similaire à celle adoptée après complexation avec un métal. La figure I-13 illustre cette propriété à travers l'exemple de l'EDTA (acide éthylènediaminetétraacétique) et de son homologue à squelette semi-rigide le CDTA (acide cyclohexane-1,2-diaminetétraacétique). La rigidité induite par le cyclohexane du CDTA ne permet pas, contrairement à l'EDTA, un éloignement important de ses charges négatives en solution. L'entropie du CDTA étant plus faible que celle de l'EDTA, l'énergie nécessaire pour la chélation d'un métal sera donc moins élevée et les complexes métalliques résultant seront plus stables.

---

<sup>27</sup> Daryle H.B., *Chem. Rev.*, **1993**, 93, 847.

<sup>28</sup> Pearson R.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 3533. Huheey J.E., *Inorganic chemistry : Principles of Structure and Reactivity*, Harper Intern., Harper & Row Publisher, N.Y., **1972**.

<sup>29</sup> Hancock R.D., Martell A.E., *Chem. Rev.*, **1989**, 89, 1875. Martell A.E., Hancock R.D., Motekaitis R.J., *Coord. Chem. Rev.*, **1994**, 133, 39.

séparation maximale des charges

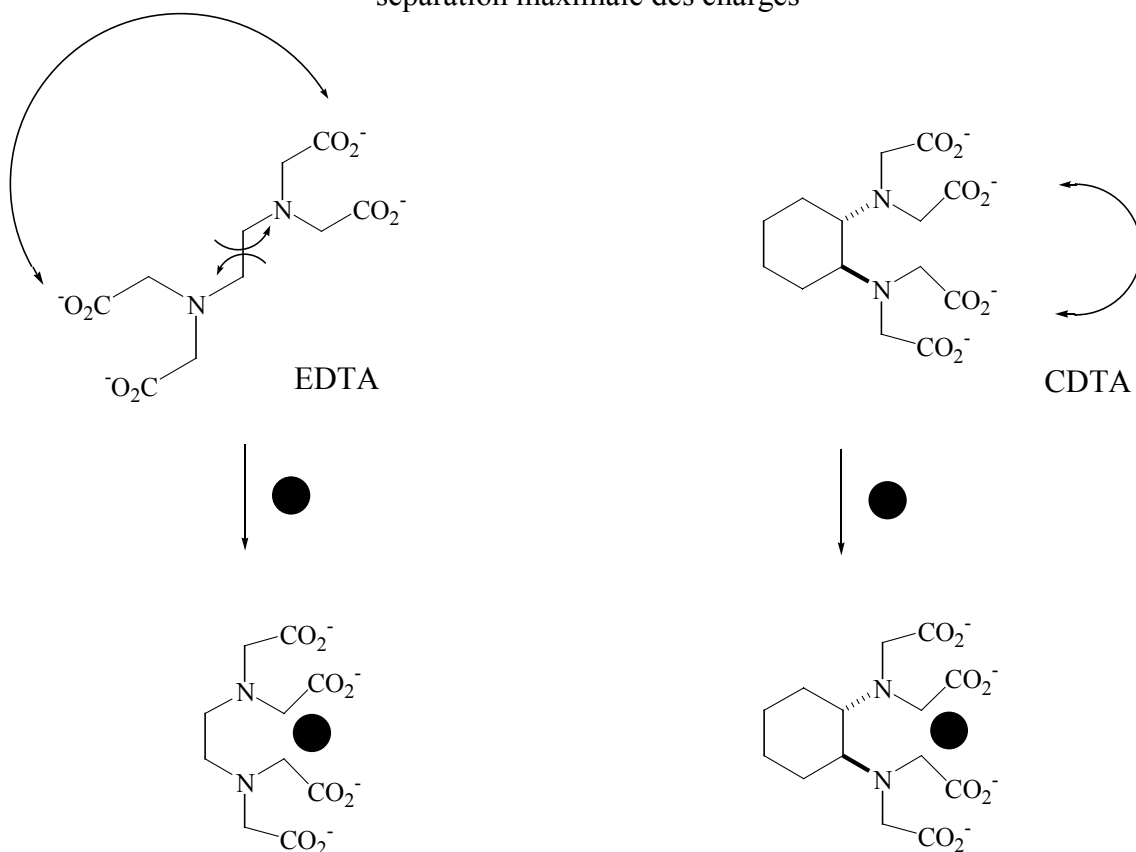


figure I-13 Concept de préorganisation

Les mesures expérimentales montrent des différences importantes puisque les complexes du CDTA sont 100 à 100 000 fois plus stables que ceux formés avec l'EDTA (figure I-14, valeurs exprimées en logKc).

	Fe <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Pd <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	Y <sup>3+</sup>	Sm <sup>3+</sup>	Gd <sup>3+</sup>	Eu <sup>3+</sup>	Th <sup>4+</sup>
EDTA	14	9	11	18	16	18	17	17	17	23
CDTA	19	11	13	20	20	20	19	19	19	25

figure I-14 Valeurs des constantes de complexation de l'EDTA et du CDTA

### I-3-2 Stratégie de synthèse de nouveaux BCA

L'importance du concept de préorganisation a directement influencé notre stratégie de développement de nouveaux agents chélatants. Nous nous sommes fixés comme objectif la synthèse de ligands efficaces, avec les mêmes fonctions chélatantes que ceux dont nous avons rappelé la structure (figure I-12), mais avec un squelette plus rigide. Ce travail se démarque sensiblement des travaux relevés dans la littérature, qui portent principalement sur la synthèse de ligands possédant de nouveaux sites complexants.

La figure I-15 présente les différentes molécules que nous avons sélectionnées pour leurs propriétés complexantes intéressantes avec de nombreux radionucléides. Pour modifier le DTPA, le TTHA et les macrocycles choisis, trois types de structures semi-rigides ou rigides ont été envisagés : les squelettes cyclopentane, norbornane et aromatique.

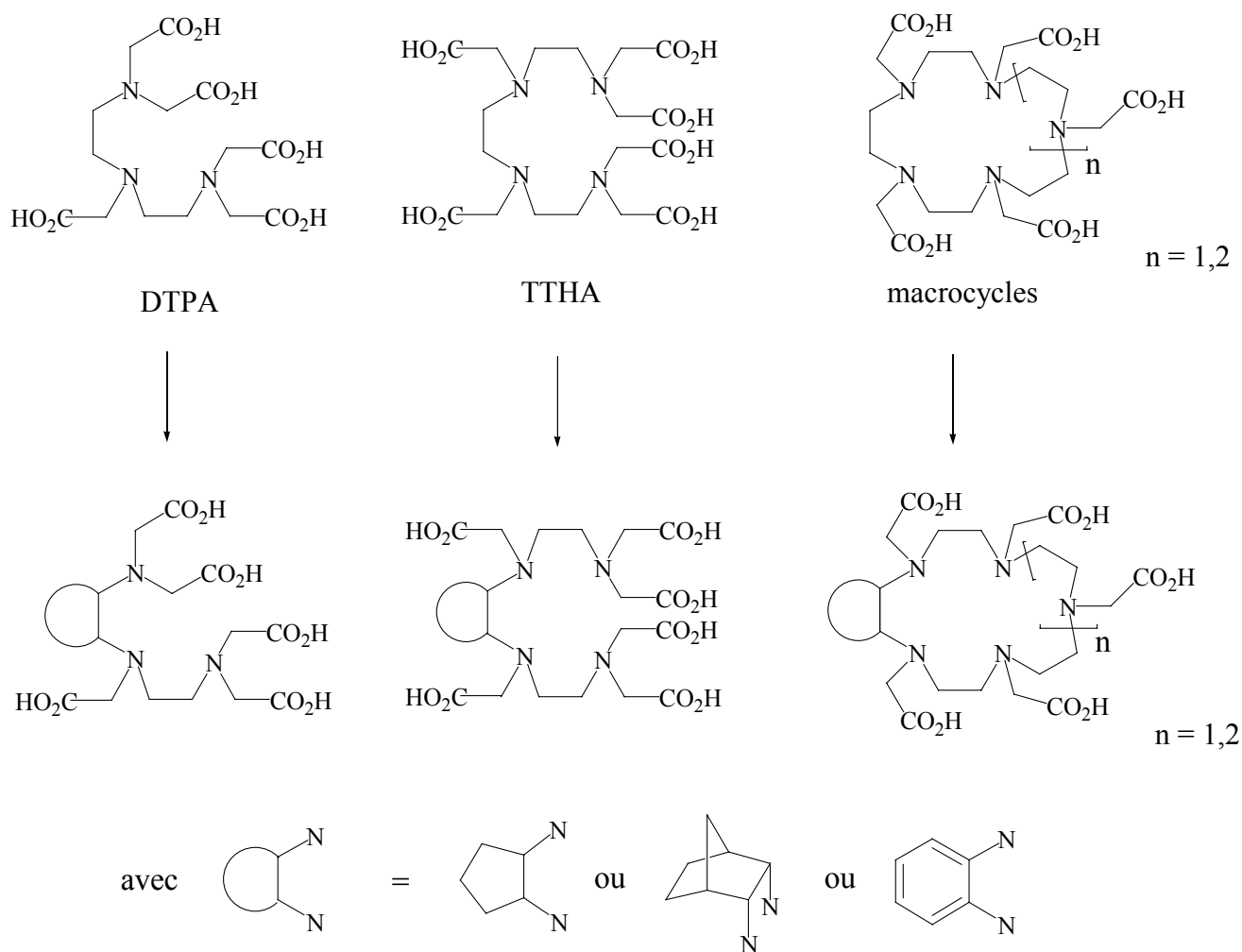


figure I-15 Modifications structurales envisagées

Il est à noter que les agents chélatants proposés n'ont pas de fonctions chimiques permettant un couplage à l'haptène (figure I-9, page 12). En effet, la synthèse totale d'un BCA ne sera envisagée que si le ligand correspondant présente des propriétés complexantes intéressantes.

- La première étape de notre travail a été de choisir parmi les trois structures envisagées, celle qui semblait la plus appropriée à une modification du DTPA, du TTHA et des composés macrocycliques de la figure I-15. Dans un premier temps, nous avons synthétisé des molécules plus simples, analogues de l'EDTA (figure I-16). L'étude de leurs propriétés complexantes nous a ensuite permis de sélectionner le squelette le plus intéressant (partie A).

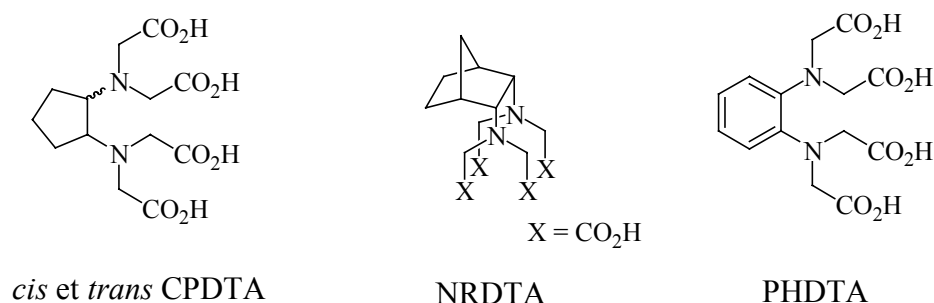


figure I-16 Analogues de l'EDTA

- Après avoir dégagé la structure la mieux adaptée, nous avons synthétisé différents agents chélatants similaires à la molécule HIDA qui constitue un ligand efficace du technétium (partie B).
- Les analogues rigides du DTPA et du TTHA présentés figure I-15 ont ensuite été synthétisés, puis leur pouvoir chélatant a été évalué sur une large gamme de radionucléides (partie C).
- Enfin, le dernier chapitre présente les travaux en cours, ainsi que les voies envisagées pour l'obtention de nouveaux azamacrocycles (partie D).

**PARTIE A: Synthèse et marquage  
d'analogues de l'EDTA, choix de la  
structure appropriée**

## A-1 Synthèse des molécules modèles

Cette première partie présente la synthèse d'analogues de l'EDTA avec un squelette semi-rigide ou rigide de type cyclopentane, norbornane ou aromatique (figure I-16). L'obtention de ces différentes molécules passe par une étape commune d'alkylation de diamines vicinales intermédiaires.

Les propriétés complexantes des agents chélatants seront ensuite déterminées afin de sélectionner la structure la plus appropriée pour l'élaboration de nouveaux ligands.

### A-1-1 Synthèse des acides *cis* et *trans*-cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétique

Dans un premier temps, nous avons synthétisé deux agents chélatants diastéréoisomères avec une structure semi-rigide : les acides *cis* et *trans*-cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétiques.<sup>30</sup> La distance entre les deux fonctions complexantes dans chacun de ces composés étant différente du fait de la stéréochimie *cis/trans*, il nous a semblé important de disposer des deux isomères pour juger de la différence d'affinité possible avec les métaux lors de la complexation.

Contrairement à l'isomère *cis* qui n'avait jamais été décrit à notre connaissance, l'acide *trans*-cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétique (1,2-CPDTA) a déjà fait l'objet d'une synthèse dans un projet de décontamination du radiostrontium (figure A-1).<sup>31, 32</sup>

Cette voie utilise la cyclopentanone comme réactif de départ qui subit dans un premier temps une bromation dans l'éther anhydre.<sup>33</sup> Après traitement par de l'hydroxylamine, la bromocétone génère le dioxime attendu avec un rendement de 42%.<sup>34</sup> Une réduction par l'alliage Al/Ni permet ensuite d'obtenir majoritairement le dichlorhydrate de la *trans*-diamine qui conduit au *trans*-CPDTA après alkylation par l'acide chloroacétique.

---

<sup>30</sup> Gouin S.G., Gestin J-F., Joly K., Loussouarn A., Reliquet A., Meslin J-C., Deniaud D., *Tetrahedron*, **2002**, 58, 1131.

<sup>31</sup> Weber O.A., Paulic N., Purec L., *Arh. Hig. Rada.*, **1968**, 19, 55.

<sup>32</sup> Belcher R., Hoyle R., West T.S., *J. Chem. Soc.*, **1961**, 667. Yashunskii V.G., Shchukina M.N., *Nauka i Prom.*, **1957**, 2, 662.

<sup>33</sup> Machinskava I.V., Podberezina A.S., *Zhurnal Obshchei Khimii*, **1958**, 28, 1501.

<sup>34</sup> Belcher R., Hoyle R., West T.S., *J. Chem. Soc.*, **1958**, 2743.

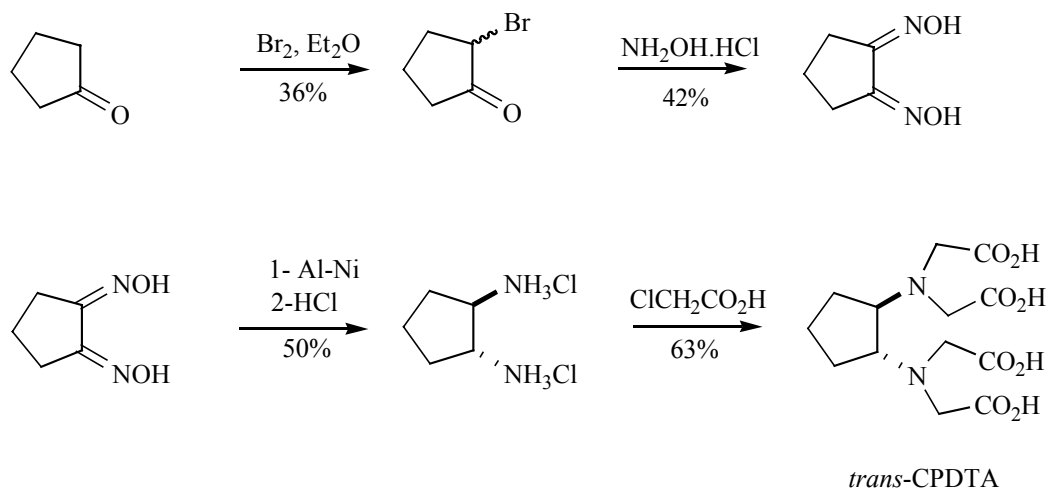


figure A-1 Synthèse du *trans*-CPDTA

Malgré son apparente simplicité, cette voie n'a pas été utilisée pour la synthèse du composé *trans*, le rendement global de 5% n'étant pas satisfaisant.

Nous avons alors développé une nouvelle approche permettant de synthétiser les deux acides isomères de façon diastéréoselective. L'étape clef repose sur la préparation des *cis* et *trans*-cyclopentanediamines **5** et **6**, isolées sous forme de dichlorhydrates (figure A-2).

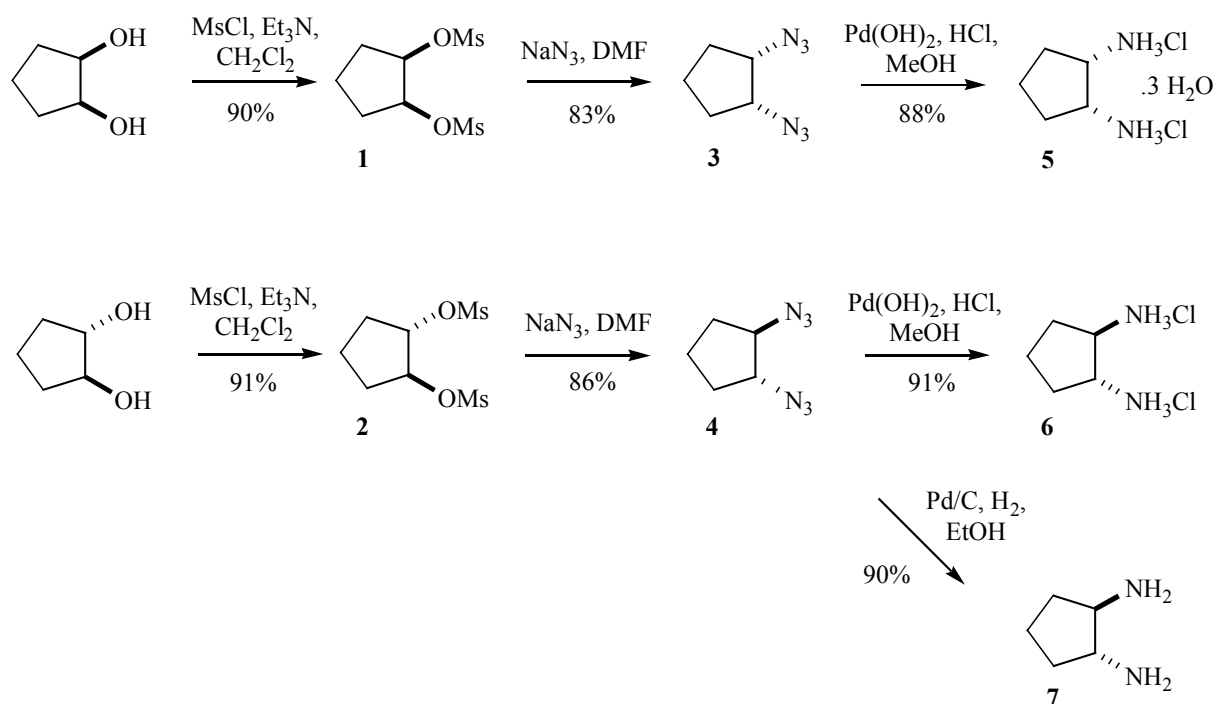


figure A-2 Synthèse des *cis* et *trans*-cyclopentanediamines



La préparation des cyclopentane-1,2-diamines a déjà fait l'objet d'études mais les synthèses sont peu efficaces ou utilisent des conditions acides drastiques.<sup>35</sup> Un brevet déposé par les laboratoires Abbot fait état d'une synthèse stéréosélective mais sans indication sur le protocole expérimental.<sup>36</sup> Enfin, l'équipe de H.P. Husson décrit la synthèse de la *trans* cyclopentane-1,2-diamine **7** en passant par un double réarrangement de Curtius mais le rendement global est de 55% et la méthode utilise un produit de départ coûteux, l'acide *trans* cyclopentane-1,2-dicarboxylique.<sup>37</sup>

Notre stratégie possède l'avantage d'être stéréosélective et de préparer selon le même protocole les chlorhydrates de *cis*-cyclopentane-1,2-diamine **5** et de *trans*-cyclopentane-1,2-diamine **6**.

Les composés de départ (*cis* et *trans*-cyclopentane-1,2-diol) peuvent être obtenus à partir du cyclopentène selon des méthodes précédemment décrites dans la littérature. Pour disposer du diol *cis*, on effectue une oxydation selon Sharpless par action du tétraoxyde d'osmium.<sup>38</sup> Quant au diol *trans*, il peut être synthétisé par formation d'un époxyde intermédiaire, qui sera ensuite ouvert en milieu aqueux.<sup>39</sup>

Cependant, il nous a semblé plus judicieux de travailler directement à partir des diols commerciaux. En effet, le tétraoxyde d'osmium est un composé relativement coûteux et les rendements obtenus lors des synthèses sont peu satisfaisants (de l'ordre de 50%).

Les composés **3** et **4** n'ont pas pu être directement obtenus selon une réaction de Mitsunobu à partir des *cis* et *trans*-cyclopentane-1,2-diols.<sup>40</sup> Cet échec est probablement dû à des réactions parasites propres aux diols vicinaux. En effet, lors de réactions entre l'acide benzoïque et les *cis* et *trans*-cyclohexanediols (figure A-3), l'équipe d'Oyo Mitsunobu a observé la formation d'un phosphorane cyclique avec le diol *cis*, et celle d'un époxyde avec le diol *trans*.<sup>41</sup>

---

<sup>35</sup> Becker P.N., White M.A., Bergman R.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 5676. Skarzewski J., Gupta A., *Tetrahedron: Asymmetry*, **1997**, 8, 1861. Fraenkel G., Pramanik P., *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 1316.

<sup>36</sup> Or Y.S., Phan L.T., Cha D.T., Spina K.P., Hallas R., Elliot R.L., Patent WO 9717356, **1997** (CA, **1997**, 127, 34467).

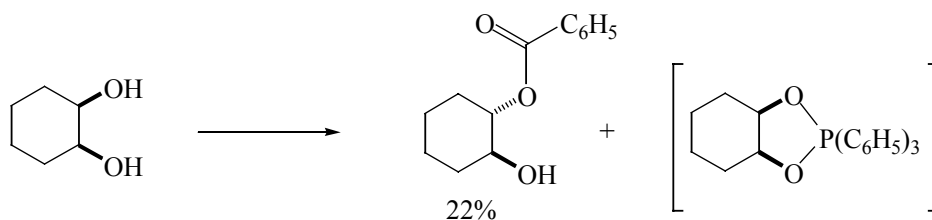
<sup>37</sup> Onger S., Aitken D.J., Husson H-P., *Syn. Commun.*, **2000**, 30, 2593.

<sup>38</sup> Sharpless K.B., Kolb H.C., *Chem. Rev.*, **1994**, 64, 2483. Bergstad K., Piet J.J.N., Backvall J.E., *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2545.

<sup>39</sup> Iranpoor N., Mohammadpour Baltork I., Shiriny Zardaloo F., *Tetrahedron*, **1991**, 47, 9861. Olah G.A., Fung A.P., Meidar D., *Synthesis*, **1981**, 280.

<sup>40</sup> Hughes D.L., *Org. React. Mech.*, **1992**, 42, 335. Hughes D.L., *Org. Prep. Proced. Int.*, **1996**, 130.

<sup>41</sup> Mitsunobu O., *Synthesis*, **1981**, 1. Mitsunobu O., Kimura J., Iizumi K-I., Yanagida N., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1976**, 49, 510.



**réactifs:** DEAD,  
 $\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$

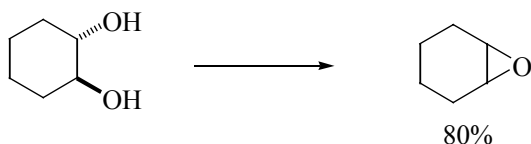


figure A-3 Réaction de Mitsunobu sur les diols vicinaux

Nous avons alors suivi une autre voie qui consiste à activer les fonctions hydroxyles en esters méthanesulfoniques **1** et **2**, puis à convertir ces derniers en diazotures **3** et **4** par traitement avec l'azoture de sodium.<sup>42</sup> Cette réaction, effectuée dans le diméthylformamide à 110°C pendant 24 heures en présence d'une quantité catalytique d'éther couronne (15-crown-5), fournit les composés désirés avec un rendement de l'ordre de 80%.<sup>43</sup>

L'étape suivante de réduction des diazides en diamines s'est avérée problématique : seule la *trans* cyclopentane-1,2-diamine **7** a pu être isolée avec un rendement de 90% en effectuant une hydrogénation avec du palladium sur charbon dans l'éthanol. Malheureusement, ce composé s'est révélé extrêmement instable, se dégradant rapidement à température ambiante. Par contre, à partir du composé **3** et quelles que soient les conditions opératoires (Pd sur charbon,  $\text{PtO}_2$ ,  $\text{SnCl}_3$ ,  $\text{LiAlH}_4$ ), nous n'avons pas pu obtenir la diamine correspondante. Soit cette dernière est trop instable et se dégrade dès sa formation, soit il y a empoisonnement du catalyseur, les diamines vicinales étant d'excellents ligands pour la chélation des métaux.<sup>44</sup>

Pour pallier ces problèmes, nous avons utilisé l'hydroxyde de palladium sur charbon en milieu acide (catalyseur de Pearlman). Ceci permet d'isoler avec de bons rendements (88% et 91%) les diamines **5** et **6** sous forme de dichlohydrates, qui ne peuvent plus ainsi exercer leur pouvoir complexant. Des analyses thermogravimétriques ont déterminé le nombre de molécules d'eau complexées aux diamines (3 pour **5** et 0 pour **6**).

<sup>42</sup> Mercedes T., Clark Still W., *Tetrahedron*, **1997**, 53, 8739. Clifton K-F., Shen, Kuo-Ming C., Chiun-Giung J., Guor-Rong H., Tien-Yau L., *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 9242.

<sup>43</sup> Benoist E., Loussouarn A., Remaud P., Chatal J.F., Gestin J.F., *Synthetic*, **1998**, 1113.

Après cette étape clef de synthèse des dichlorhydrates de diamines, nous avons alkylé les fonctions amines par le bromoacétate d'éthyle en utilisant les conditions décrites par Studer (KI et K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>).<sup>45</sup> Ceci permet d'accéder aux tétraesters **8** et **9** (figure A-4) avec des rendements respectifs de 55% et 68%.

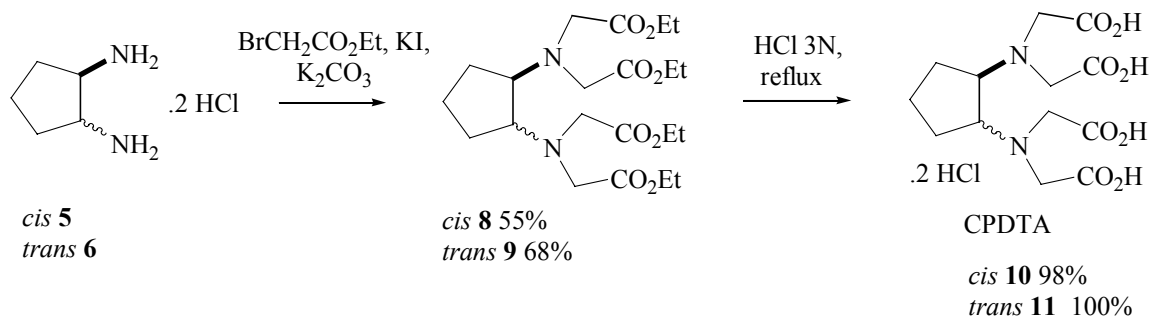


figure A-4 Synthèse des acides *cis* et *trans*-cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétique

Le rendement modeste observé pour le composé **8** par rapport au composé **9** s'explique par une réaction parasite qui conduit à la formation d'une pipérazine (figure A-5). La formation de ce bicyclic est due à l'attaque nucléophile d'une des amines sur le carbonyle d'un ester, entraînant ainsi le départ d'une molécule d'éthanol. Cette cyclisation n'est pas observée avec le dichlorhydrate de *trans*-cyclopentane-1,2-diamine **6** probablement à cause d'un éloignement trop important de ses deux atomes d'azote.

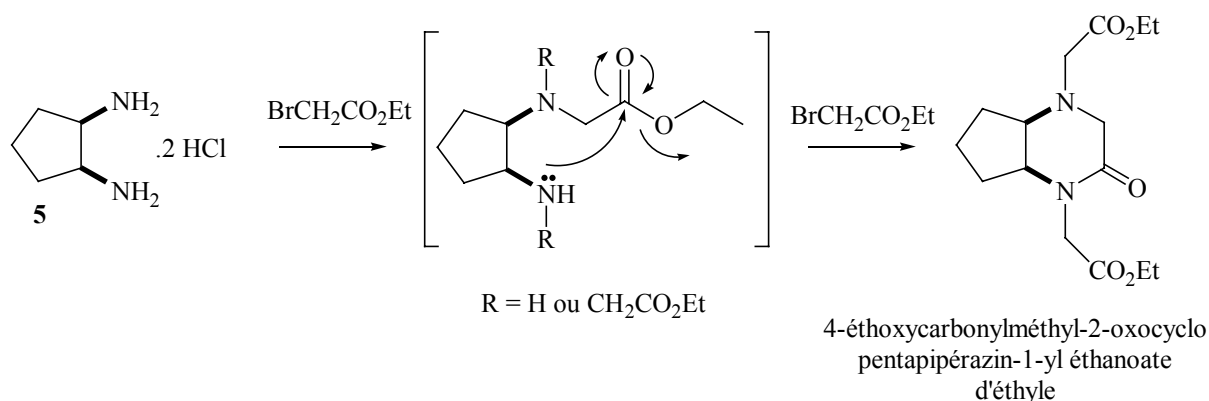


figure A-5 Formation de l'hétérocycle parasite

La dernière étape consiste en une hydrolyse des fonctions esters. Elle est effectuée dans l'acide chlorhydrique 3M pour conduire aux deux acides polyaminopolycarboxyliques **10** et **11** de façon quasi-quantitative. Après 5 étapes, le rendement global est de 35% pour le composé **10** et de 48% pour le composé **11**.

<sup>44</sup> Guan Y., Green M.A., Bergstrom D.E., *Synlett*, **1999**, 426.

<sup>45</sup> Studer M., Meares C.F., *Bioconjugate Chem.*, **1992**, 3, 420. Loussouarn A., Duflos M., Benoist E., Chatal J-F., Le Baut G., Gestin J.F., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 237.

## A-1-2 Synthèse de composés dérivés du norbornane

La deuxième structure sélectionnée (NRDTA) induit une rigidité importante au niveau des liaisons C-N portées par le bicyclic. Il est à noter que la synthèse de ce composé avec un squelette norbornane n'a pas été envisagée uniquement dans le but de disposer d'une "molécule test". Le second objectif était de synthétiser à partir d'intermédiaires communs les molécules A et B capables de complexer respectivement 1 et 2 radionucléides (figure A-6). En raison du faible degré de liberté des 4 atomes d'azote de la structure A, nous pensons qu'elle pourrait constituer un agent chélatant de radioéléments très efficace. La molécule B pourrait quant à elle complexer deux radionucléides, ce qui permettrait alors de doubler la charge radioactive délivrée lors d'une utilisation en RIT.

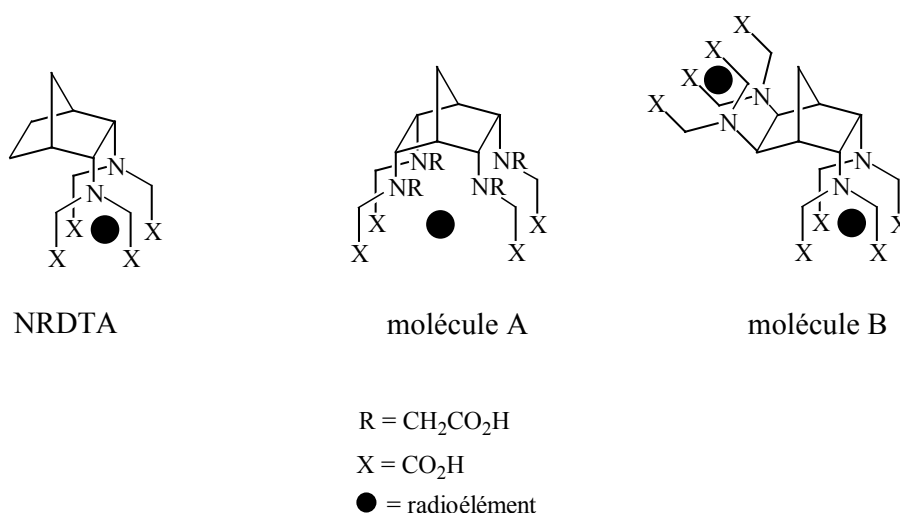


figure A-6 Molécules cibles envisagées

L'analyse rétrosynthétique figure A-7 présente les deux voies proposées pour obtenir le NRDTA. La première consiste à dihydroxyler la double liaison du norbornylène. Le diol résultant est ensuite activé par de bons groupes partants. Une substitution nucléophile (S<sub>N</sub>2) est alors possible pour générer de façon indirecte les amines protégées en position endo.

La deuxième voie envisagée pour accéder à la diamine consiste à effectuer une cycloaddition [4+2] entre un diénophile porteur d'atomes électroattracteurs convertibles en amines et le cyclopentadiène.

Le composé diaminé résultant pourra être successivement déprotégé, alkylé et les esters formés hydrolysés pour conduire au NRDTA.

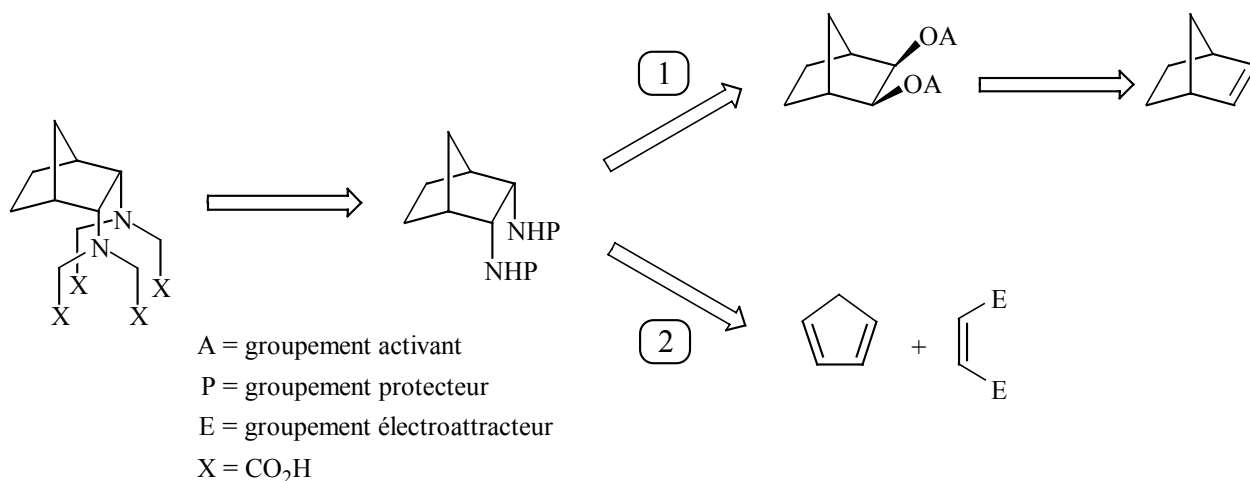


figure A-7 Stratégies de synthèse du NRDTA

### 1<sup>ère</sup> voie de synthèse

La première étape d'oxydation du norbornylène (figure A-8) est effectuée en utilisant le tétraoxyde d'osmium en quantité catalytique.<sup>46</sup> L'oxyde de *N*-méthylmorpholine (NMO) employé de façon stœchiométrique permet de réoxyder l'osmium durant la réaction (OsO<sub>3</sub> en OsO<sub>4</sub>). La face exo du bicyclic étant la plus accessible, cette dihydroxylation est très stéréosélective et nous n'avons pas observé le composé issu d'une addition en endo. Le diol **12**, déjà synthétisé auparavant,<sup>47</sup> est ensuite activé sous forme du ditosylate **13** ou du dimésylate **15**.<sup>48</sup>

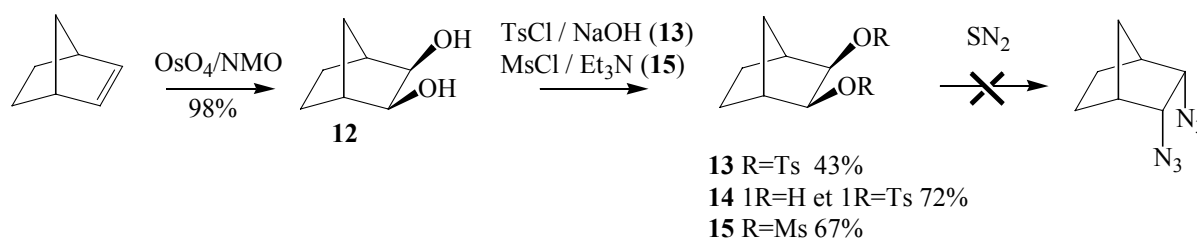


figure A-8 Synthèse des sulfonates

<sup>46</sup> Diaz M., Ibarzo J., Jiménez J.M., Ortuño R.M., *Tetrahedron: Asymmetry*, **1994**, 5, 129. Boyer S.J., Leahy J.W., *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 3976.

<sup>47</sup> Fulmer Shealey Y., Clayton J.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 3075.

<sup>48</sup> Scheurer A., Mosset P., Saalfrank R.W., *Tetrahedron: Asymmetry*, **1997**, 8, 1243. Pini D., Iuliano A., Rosini C., Salvadori P., *Synlett*, **1990**, 1023.

La réaction de tosylation, effectuée classiquement par l'emploi du couple TsCl (2,1 eq) / pyridine,<sup>49</sup> n'a pas permis de générer le composé ditosylé attendu. Les résultats exposés dans la littérature confirment que cette méthode est peu efficace sur des diols vicinaux portés par un norbornane, les rendements étant compris entre 25 et 60% après 3 semaines de réaction.<sup>50</sup> L'utilisation des conditions décrites par Ouchi (TsCl dans un mélange NaOH 5M, THF) permet de former une très faible quantité de composé **13** (3%).<sup>51</sup> Par contre, le produit monotosylé **14** est isolé de façon importante (72%), ce qui laisse supposer qu'il existe une gêne stérique défavorable à la seconde tosylation. Un excès important de chlorure de tosyloyle est nécessaire (12 eq) pour isoler le composé **13** avec un rendement relativement médiocre (43%) après 2,5 heures de réaction. Le produit **14** est là encore obtenu en quantité importante (45%). Le rendement faible de tosylation nous a conduit à utiliser du chlorure de mésyloyle pour limiter la gêne stérique. Le composé **15** est généré en utilisant un protocole classique qui consiste à effectuer la réaction de mésylation en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane.<sup>52</sup>

Une fois les fonctions alcools activées, différents essais de substitution des groupements mésylates et tosylates par l'azoture de sodium ont été entrepris.<sup>53</sup> Malheureusement, ces derniers ont été infructueux et nous n'avons pas isolé le diazide attendu.

Pour déterminer si la substitution nucléophile d'ordre 2 est possible sur ce type de structure, nous avons changé la nature du groupement nucléofuge. L'époxyde **16** est synthétisé (figure A-9) à partir du norbornylène en utilisant l'acide *mé*ta-chloroperbenzoïque (*m*CPBA).<sup>54</sup> Là encore, malgré le nombre important d'essais réalisés avec des nucléophiles variés (NaN<sub>3</sub>, NaN<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>Cl, benzylamine/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, méthylamine, diméthylamine), les deux énantiomères attendus ne sont pas obtenus.<sup>55</sup>

De plus, un durcissement des conditions opératoires entraîne, comme pour les produits **13** et **15**, une dégradation du composé **16**.

---

<sup>49</sup> Pini D., Iuliano A., Rosini C., Salvadori P., *Synthesis*, **1990**, 1023.

<sup>50</sup> Lambert J.B., Holcomb A.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 2994.

<sup>51</sup> Ouchi M., Inoue Y., Liu Y., Nagamoune S., Nakamura S., Wada K., Hakushi T., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1990**, 63, 1260.

<sup>52</sup> Oishi T., Hirama M., *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 639.

<sup>53</sup> Lakshmi B., Prabhavati Devi A., Nagarajan M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 1495. Torneiro M., Clark Still W., *Tetrahedron*, **1997**, 53, 8739.

<sup>54</sup> Barrett S., O'Brien P., Steffens H.C., Towers T.D., Voith M., *Tetrahedron*, **2000**, 56, 9633. Kunz H., *Liebigs Ann. Chem.*, **1975**, 919.

<sup>55</sup> Zhang Z., Scheffold R., *Helv. Chim. Acta.*, **1993**, 76, 2602. Posner G.H., Rogers D.Z., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 8208. Mori M., Saito F., Uesaka N., Okamura K., Date T., *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 4993.

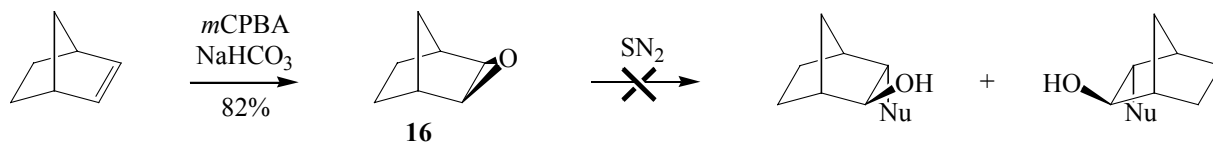


figure A-9 Synthèse de l'époxyde exo

Pour expliquer ces échecs, ainsi que l'absence quasi-totale de substitution nucléophile sur ce type de cycle dans la littérature,<sup>56</sup> nous avons émis deux hypothèses.

- La première concerne la formation de l'état de transition à 5 centres indispensable à toute  $S_N2$  (figure A-10), qui serait ici très défavorisée. La rigidité du bicyclic ne permettrait pas d'avoir une flexibilité suffisante pour disposer de façon adéquate ses groupements a,b,c,Nu,X dans l'espace.

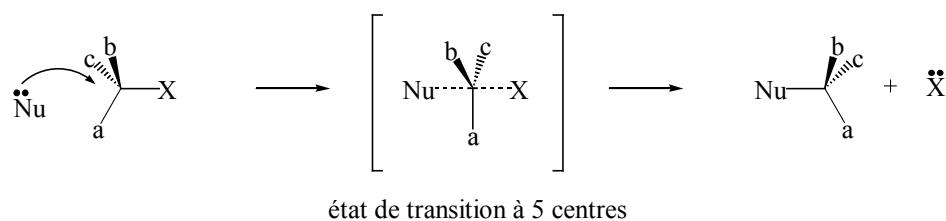


figure A-10 "Mécanisme parapluie" de la réaction  $S_N2$

- La deuxième hypothèse implique la réactivité particulière du norbornane. En effet, lorsqu'un carbocation est formé sur ce bicyclic, il peut être délocalisé par les électrons  $\sigma$  du cycle (carbocation non classique).<sup>57</sup> Les déplacements de liaisons  $\sigma$  entraînent alors des réarrangements et des réactions inattendues (figure A-11).<sup>58</sup>

<sup>56</sup> Döbler C., Kreuzfeld H.-J., Pracejus H., *J. Org. Met. Chem.*, **1988**, 344, 89.

<sup>57</sup> March J., *Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms, and Structure*, Fourth Edition, Wiley-Interscience, **1992**, 313.

<sup>58</sup> Kobayashi T., Miki K., Nikaeen B., Baba H., *Tetrahedron*, **1999**, 55, 13179. Carey F.A., Sundberg R.J., *Chimie Organique Avancée.*, Tome 1 : structure moléculaire et mécanisme réactionnel., troisième édition, **1996**, 309, De Boeck Université. Kirmse W., Siegfried R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 950. Hanack M., Dolde J., *Liebigs Ann. Chem.*, **1973**, 1557.

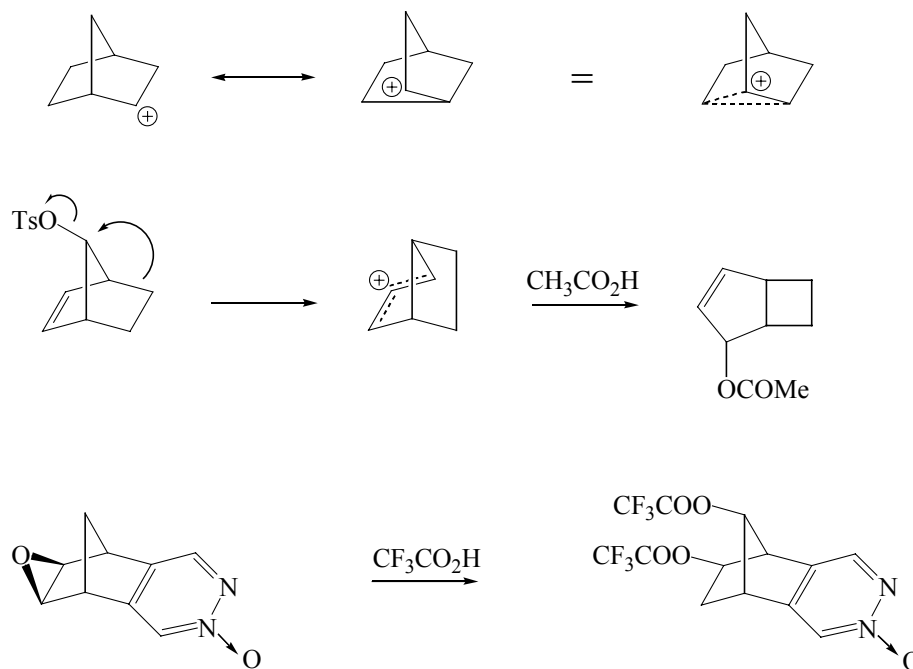


figure A-11 Réactivité du norbornane

Les problèmes rencontrés relatifs à la substitution nucléophile sur ce type de cycle nous ont conduit à adopter une nouvelle stratégie de synthèse.

### 2<sup>ème</sup> voie de synthèse

Cette nouvelle démarche consiste à construire le bicyclic par une réaction de cycloaddition [4+2], puis à transformer les groupements activants du diénophile en fonctions amines (figure A-12).

La structure norbornane est obtenue selon une réaction de Diels-Alder (figure A-12). Le cyclopentadiène, isolé par craquage du dicyclopentadiène (rétro Diels-Alder), est additionné à l'anhydride maléique pour conduire avec un bon rendement au cycloadduit endo **17**.<sup>59</sup> L'excellente stéréosélectivité observée s'explique par un état de transition endo favorable grâce à des interactions entre les substituants du diénophile et les électrons  $\pi$  du diène.

<sup>59</sup> Williamson K.L., Lacko R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 6129.



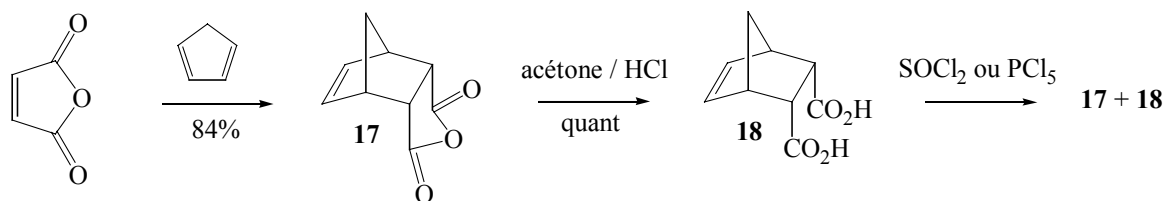


figure A-12 Synthèse du diacide **18**

L'hydrolyse de l'anhydride **17** dans un mélange acétone/HCl 10% permet l'obtention du diacide **18** avec un rendement quantitatif.<sup>60</sup>

La transformation du diacide en dichlorure d'acide pour permettre l'introduction des amines selon un réarrangement de Curtius n'a pas été possible.<sup>61</sup> En effet, après avoir fait réagir le diacide avec le chlorure de thionyle ou le pentachlorure de phosphore, nous retrouvons dans le milieu réactionnel un mélange des produits **17** et **18**.<sup>62</sup>

La présence de l'anhydride **17** dans le milieu réactionnel peut s'expliquer de deux façons :

- Le diacide **18** subit en partie une déshydratation dans le milieu réactionnel.
- Une fonction acide du composé **18** est transformée en chlorure d'acide, la disposition en cis des deux fonctions et leurs faibles degrés de liberté encouragent alors une substitution nucléophile intramoléculaire, avec départ d'acide chlorhydrique.

Devant l'impossibilité d'obtenir simultanément un double chlorure d'acide, nous avons utilisé un autre diénophile qui comporte déjà deux atomes d'azote. Notre choix s'est porté sur le synthon **19**, décrit dans la littérature et obtenu en 2 étapes à partir de l'hydantoïne.<sup>63</sup>

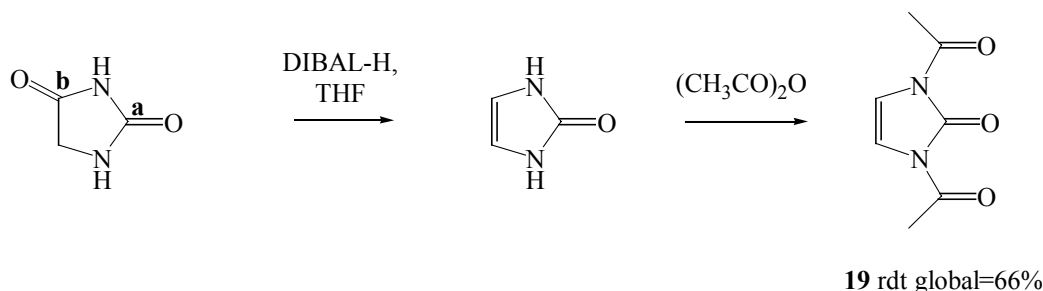


figure A-13 Synthèse du diénophile **19**

<sup>60</sup> Noland E.W., Konkel M.J., *Tetrahedron*, **1996**, 52, 4555.

<sup>61</sup> Ninomiya K., Shioiri T., Yamada S., *Tetrahedron*, **1974**, 30, 2157. Schultz A.G., Macielag M., Podhorez D.E., Suhadolnik J.C., *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 2456. Jacobi P.A., Murphree S., Rupprecht F., Zheng W., *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 2413.

<sup>62</sup> Griffin G.W., Hager R.B., Veber D.F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, 84, 1008.

La première réaction consiste à réduire sélectivement une des deux fonctions carbonyles de l'hydantoïne en utilisant l'hydrure de diisobutylaluminium dans le THF. Le carbone **b** qui ne possède qu'un seul azote en position  $\alpha$  est le plus électrophile, il est donc réduit préférentiellement. Pour cette première étape, trois équivalents de DIBAL-H sont nécessaires, les deux premiers déprotonnent les atomes d'azote et le dernier réduit le carbonyle **b** en alcoolate d'aluminium. Après addition de méthanol, la réaction se termine par une déshydratation, ce qui permet d'isoler l'imidazolone attendue. Sans purification préalable, l'imidazolone est ensuite acétylée dans l'anhydride acétique pour conduire au composé **19** avec un rendement global de 66%.<sup>64</sup>

L'équipe de Whitney a brièvement décrit l'étape suivante de cycloaddition entre le cyclopentadiène fraîchement distillé et l'imidazolone acétylée.<sup>65</sup> Cette manipulation a été effectuée par chauffage des réactifs en tube scellé dans le xylène à 180°C, pour conduire au composé attendu avec un rendement de 69%. Une modification des conditions opératoires (toluène, 140°C, 4 jours) nous permet d'améliorer le rendement de la réaction (84%). A ce stade, il est nécessaire de prouver que les deux fonctions amines sont bien situées en position endo du cycle. L'attribution des protons et des carbones du composé **22** est effectuée par RMN 400MHz grâce à la complémentarité des expériences COSY ( $^1\text{H}/^1\text{H}$ ) et HMQC ( $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ ). Une expérience NOESY permet de mettre en évidence la position endo des deux atomes d'azote par l'obtention d'un effet NOE entre les protons notés Ha et Hb (molécule **20**, figure A-14).

---

<sup>63</sup> Scholz K.-H., Hatmann W., Heine H.-G., Patent US 4238618, **1978**. Haines D.R., Leonard N.J., Wiemer D.F., *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 474.

<sup>64</sup> Fischer J.W., Hollins R.A., Lowe-Ma C.K., Nissan R.A., Chapman R.D., *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 9340.

<sup>65</sup> Whitney A.W., *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 2063. Eissenstat M.A., Weaver III J.D., *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 3387.

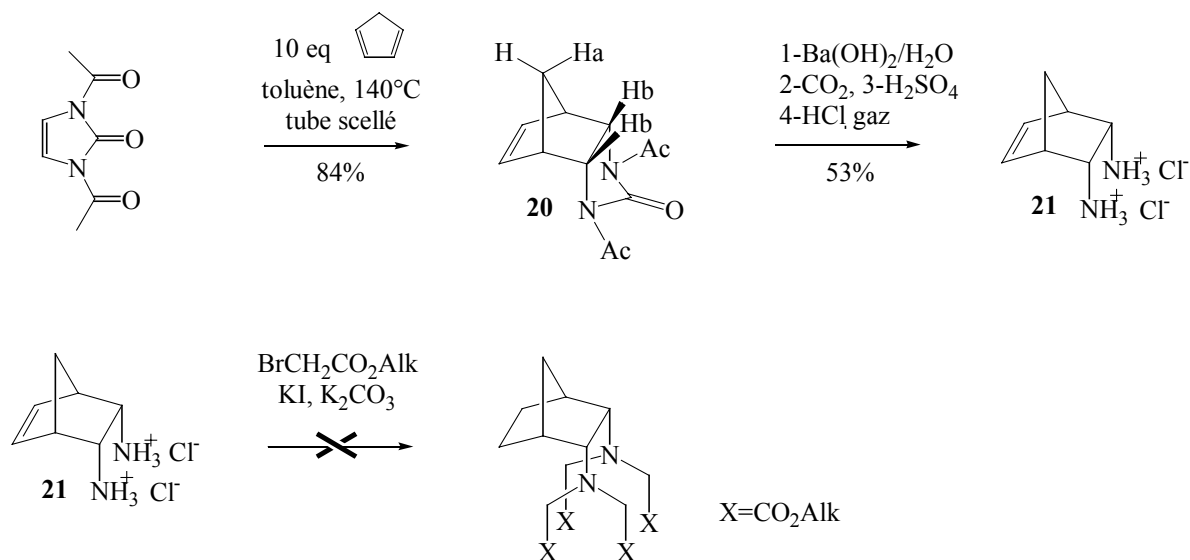


figure A-14 Synthèse des dérivés du norbornane

Une fois le produit **20** caractérisé, les amines sont déprotégées en employant des conditions drastiques selon un protocole présenté sur des structures similaires par l'équipe de Jean-Marie Lehn.<sup>66</sup> Cette réaction, qui a nécessité une mise au point difficile, consiste à chauffer en tube scellé le composé **20** avec un excès d'hydroxyde de baryum à 140°C pendant 24 heures.<sup>67</sup> Un bullage au dioxyde de carbone, puis une addition d'acide sulfurique permet d'éliminer par filtration les sels de baryum obtenus respectivement sous forme de carbonate et de sulfate. La diamine résultante s'étant révélée instable, cette dernière est transformée en dichlorhydrate **21** par un bullage d'acide chlorhydrique dans le dichlorométhane pour pouvoir être facilement conservée.

Malgré nos tentatives d'alkylation du sel **21** avec divers réactifs (BrCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et, BrCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>tBu) dans des solvants polaires (CH<sub>3</sub>CN, THF, DMF), le produit attendu (figure A-14) n'est pas isolé. Cet échec est probablement dû une nouvelle fois à la faible stabilité de la base libre de **21**.<sup>68</sup>

<sup>66</sup> Pitsinos E., Lehn J.-M., De Cian A., *Helv. Chim. Acta*, **2001**, 84, 22.

<sup>67</sup> Flaster H., Kohn H., *J. Heterocycl. Chem.*, **1981**, 18, 1425.

<sup>68</sup> Busaca C.A., Campbell S., Dong Y., Grossbach D., Ridges M., Smith L., Spinelli E., *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 4753.

Suite à cet échec, nous avons envisagé la synthèse du NRDTA sans passer par une diamine primaire. L'idée consistait à obtenir durant la synthèse des intermédiaires plus stables comportant des amines secondaires ou tertiaires. Après l'obtention de la molécule **24** (figure A-15) à partir de **20**, nous pensions éliminer sélectivement les groupements benzyliques, puis alkyler les amines secondaires formées. Le pont méthano et les esters auraient ensuite été clivés par de l'acide chlorhydrique,<sup>69</sup> le produit résultant pouvant alors subir une alkylation par l'acide chloroacétique pour générer le NRDTA.<sup>70</sup>

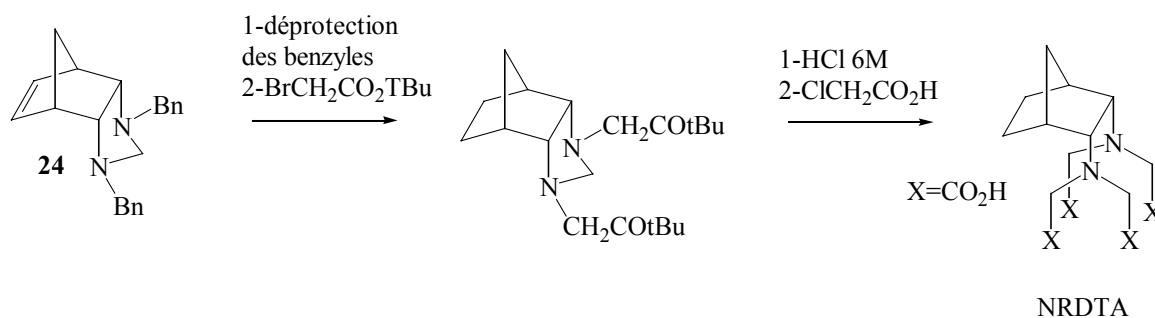


figure A-15 Stratégie d'obtention du NRDTA

La synthèse du produit **24** est effectuée en trois étapes à partir du composé **20** (figure A-16). Dans un premier temps, les groupements protecteurs acétyles, plus sensibles que le carbonyle de l'urée, sont éliminés par action du carbonate de potassium dans un mélange hydroéthanolique.<sup>71</sup> L'urée **22** est ensuite alkylée par du bromure de benzyle dans le THF en utilisant un excès d'hydruide de sodium.<sup>72</sup> Après la protection des azotes, le carbonyle du synthon **23** est facilement réduit par l'emploi d'hydruide de lithium et d'aluminium avec un rendement de 96%.<sup>73</sup> La cristallinité du composé **24** résultant nous a permis de déterminer sa structure cristallographique (figure A-17) et de confirmer ainsi la position endo des azotes sur les différents intermédiaires synthétisés.<sup>74</sup> Les nombreux essais de déprotection des amines du produit **24**, aussi bien par hydrogénéolyse (Pd/C, Pd(OH)<sub>2</sub>/C) que par l'utilisation de chloroformates, n'ont pas abouti.<sup>75, 76</sup> Nous avons seulement observé la réduction de la double liaison de **24** lors des tentatives d'hydrogénéolyse.

<sup>69</sup> Loussouarn A., Ouadi A., Morandea L., Remaud P., Giles R., Gestin J-F., Webb J., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 3539. Baily T., Burgada R., *Phosphorus, sulfur and Silicon*, **1995**, 101, 131. Easson M., Parker D., *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 6091.

<sup>70</sup> Moi M.K., Meares C.F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 6266. Aime S., Botta M., Frullano L., Genninatti Crich S., Giovenzana G., Pagliarin R., Palmisano G., Riccardi Sirtori F., Sisti S., *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 4017.

<sup>71</sup> D'Andrea S.V., Freeman J.P., Voigtlander V., Szmuskovicz J., *Tetrahedron*, **1991**, 47, 6157.

<sup>72</sup> Bates H.A., Smilowitz L., Lin J., *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 899.

<sup>73</sup> Bates H.A., Condulis N., Stein N.L., *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 2228.

<sup>74</sup> Gouin S.G., Gestin J-F., Meslin J-C., Deniaud, D., Evain M., *Acta Cryst.*, **2003**, E59, o401.

<sup>75</sup> Chen F-E., Huang Y-D., Han F., Cheng Y., Zhang D-M., Li Y-Y., Peng Z-Z., *Synthesis*, **2000**, 2004. Demaine D.A., Smith S., Barraclough P., *Synthesis*, **1992**, 1035.

<sup>76</sup> Yang B.V., O'Rourke D., Li J., *Synlett*, **1993**, 195. Gubert S., Braojos C., Sacristán A., Ortiz J.A., *Synthesis*, **1991**, 318.

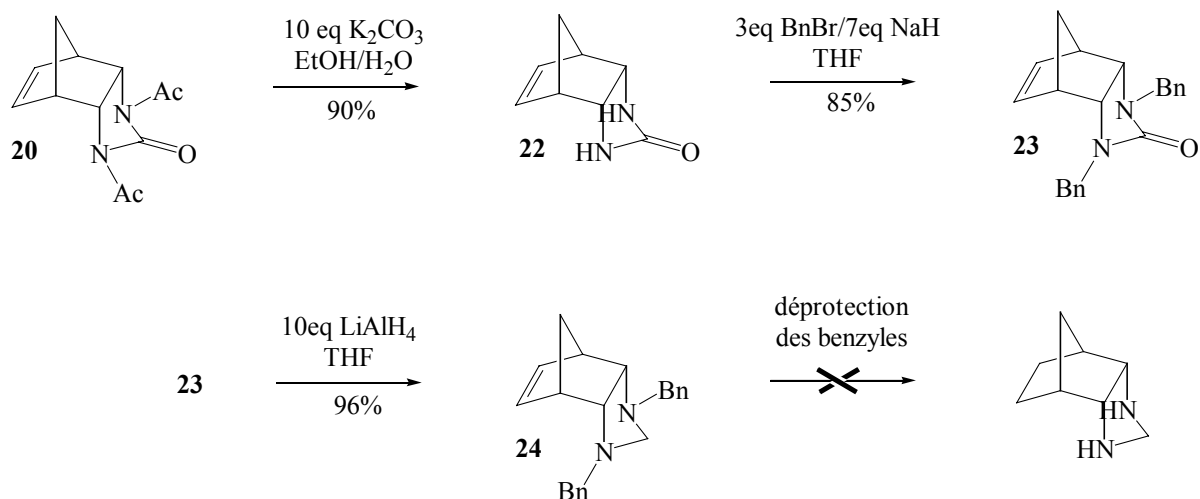


figure A-16 Réactions de protection et de déprotection sur le norbornane

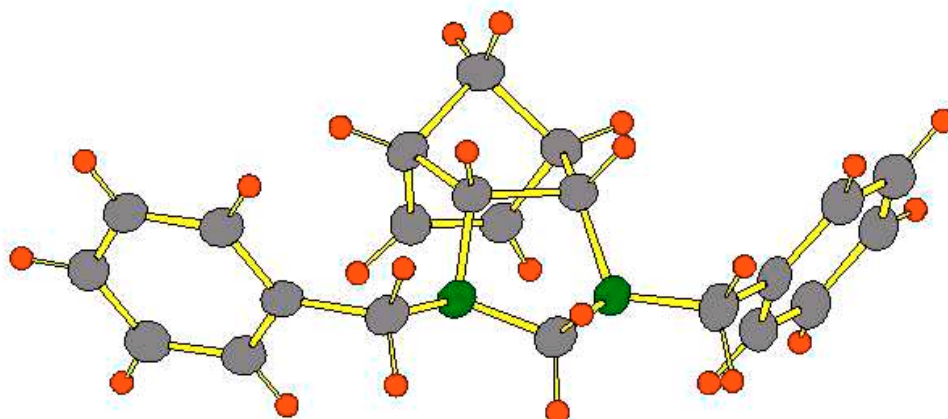


figure A-17 Structure cristallographique du 8,10-Dibenzylimidazonorbornylène **24**

Les difficultés de synthèse inhérentes à la nature même du bicyclic ne nous ont donc pas permis d'obtenir le NRDTA. De plus, compte tenu de l'instabilité de la diamine libre de **21**, il semble difficile d'accéder aux composés présentés figure A-6 (page 29) en prenant le norbornane comme squelette rigide de base. A ce stade de notre travail, nous avons donc décidé d'éliminer cette structure de notre projet.

### A-1-3 Synthèse de l'acide acide phénylène-1,2-diamine-*N, N, N', N'*-tétraacétique

Le noyau aromatique de cet analogue de l'EDTA devrait induire une rigidité importante au niveau des fonctions chélatantes. L'intérêt de ce ligand a d'ailleurs été démontré par de nombreuses études de complexation et certains de ces travaux ont notamment révélé sa faible toxicité.<sup>77, 78</sup>

Malgré les nombreuses applications de ce composé, il existe à notre connaissance une seule synthèse de l'acide phénylène-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétique (PHDTA) décrite dans la littérature. La technique employée, décrite par Otozai et Kato, consiste à alkyler la 1,2-phénylènediamine en milieu aqueux par de l'acide bromoacétique (figure A-18).<sup>79, 80</sup> Bien que le produit désiré soit formé en une seule étape, le mode opératoire délicat et le mauvais rendement de cette réaction nous ont conduit à développer une autre synthèse (figure A19).<sup>81</sup>

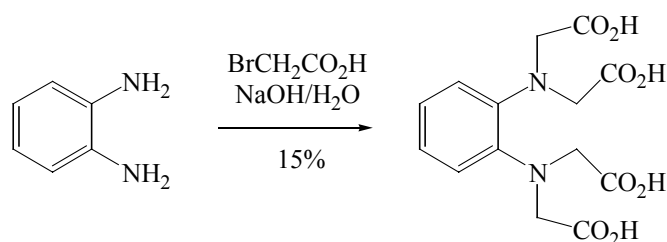


figure A-18 Synthèse du PHDTA

<sup>77</sup> Gili P., Mederos A., *Revista de la Sociedad Quimica de Mexico*, **2000**, 44, 104.

<sup>78</sup> Sanchiz J., Esparza P., Villagra D., Dominguez S., Mederos A., Brito F., Araujo L., Sanchez A., Arrieta J., Juan M., *Inorg. Chem.*, **2002**, 41, 6048. Yamamoto M., Nakasuka N., Tanaka M., *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **1992**, 65, 1722. Mederos A., Herrera J.V., Felipe J.M., *Quim. Inorg. Quim. Anal.*, **1987**, 83, 22. Maturama K., Nakasuka N., Tanaka M., *Inorg. Chem.*, **1987**, 26, 1419.

<sup>79</sup> Otozai K., Kato I., *Chem. Abstr.*, **1962**, 56, 3379.

<sup>80</sup> Mc Candlish E.F.K., Michael T.K., Neal J.A., Lingafelter E.C., Rose N.J., *Inorg. Chem.*, **1978**, 17, 1383.

<sup>81</sup> Praud E., rapport de DEA Chimie fine de Nantes, **1999**.

La première réaction mise en jeu consiste à alkyler la phénylènediamine par le bromoacétate d'éthyle. La présence d'une quantité catalytique d'iodure de potassium permet de générer *in situ* l'iodoacétate d'éthyle plus réactif que son homologue bromé.

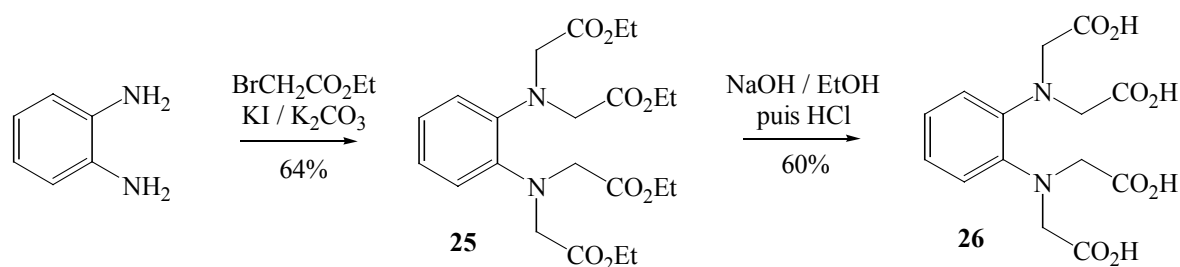


figure A-19 Synthèse du PHDTA

Durant cette étape, nous avons isolé un produit secondaire (l'azalactame **27**) en quantité importante (35%). La formation de ce composé s'explique par des réactions de cyclisations intramoléculaires (figure A-20) identiques à celles observées avec le dérivé du cyclopentane (figure A-5, page 28).

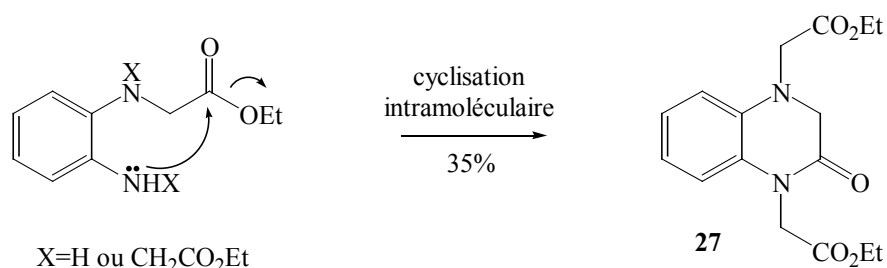


figure A-20 Formation de l'azalactame **27**

Le ligand **26**, obtenu par saponification des esters du composé **25**, est isolé par précipitation avec un rendement de 60%, après acidification du mélange réactionnel par de l'acide chlorhydrique.

## A-2 Détermination des propriétés complexantes

Le pouvoir complexant des agents chélatants hexacoordinants préalablement synthétisés a dans un premier temps été évalué sur le samarium ( $^{153}\text{Sm}$ ). Ce radioélément a été choisi en raison de ses propriétés physiques intéressantes (période physique de 47 heures, émissions  $\beta^-$  et  $\gamma$ ). D'autre part, la société Cis bio international nous fournissait gratuitement ce radionucléide.

Avant de présenter les tests employés et les résultats obtenus, nous allons effectuer un bref rappel sur les unités de mesure de la radioactivité.

### A-2-1 Rappels sur la radioactivité

L'activité radioactive peut être exprimée en becquerels (Bq) ou en curies ( $1 \text{ Ci} = 3,7 \cdot 10^{10} \text{ Bq}$ ). Un becquerel correspond à la désintégration d'un noyau radioactif par seconde. A titre d'exemple, la radioactivité naturelle d'un litre d'eau de mer est d'environ 10 becquerels,<sup>82</sup> alors qu'à la livraison, un millilitre d'une solution de samarium ( $^{153}\text{Sm}$ ) possède une radioactivité de plusieurs milliards de becquerels.

La radioactivité peut être exprimée par unité de volume (Ci/mL, Bq/mL) ou par unité de masse (Ci/mg, Bq/mg). On parle alors respectivement d'activité volumique (A) et d'activité spécifique d'un corps (As). Comme l'activité est proportionnelle au nombre de noyaux radioactifs présents dans la substance, ces deux valeurs suivent la même loi de décroissance au cours du temps. Ainsi, l'activité peut donc être déterminée à un instant t par la relation suivante:

$$A_t = A_0 \cdot e^{\left(\frac{-\ln 2(t-t_0)}{T}\right)}$$

Avec T= demi-vie du radioélément (temps nécessaire à la désintégration de la moitié des atomes radioactifs) et  $A_0$ = activité à l'instant  $t_0$ .

---

<sup>82</sup> Site Internet de l'Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs (Andra). <http://www.andra.fr/>



Lorsqu'une nouvelle source radioactive arrive au laboratoire, les valeurs de l'activité volumique et de l'activité spécifique à un instant donné sont toujours précisées. Il suffit donc d'appliquer la relation précédente pour déterminer les nouvelles valeurs de  $A$  et  $A_s$  à l'instant de l'expérience. De plus, si on exprime respectivement ces données en Ci/mL et en Ci/mg, le rapport  $A/A_s$  permet alors de calculer la concentration totale en mg/mL des isotopes présents dans la solution.

Pour pouvoir travailler avec une quantité de métal toujours constante, on rajoute parfois dans les solutions radioactives un isotope stable du même élément en concentration très supérieure. Le calcul de cette concentration, qui ne change plus de façon significative au cours du temps, s'en trouve alors simplifié.

En raison de la réglementation en vigueur et des dangers liés à la radioactivité, nous avons manipulé les radioéléments émetteurs  $\beta^-$  et  $\gamma$  dans l'unité 463 de l'INSERM et les émetteurs  $\alpha$  au laboratoire Subatech de l'Ecole des Mines. En effet, ces deux organismes nantais possèdent le matériel de sécurité indispensable pour ces manipulations (hottes plombées, boucliers en plexiglas, dosifilms, compteurs de radioactivité).

## A-2-2 Tests sur les agents chélatants synthétisés

Une première expérience permet de déterminer le pourcentage de complexe formé lors de la chélation d'un radioélément par un ligand.

La méthode (figure A-21) consiste à préparer pour chaque ligand 6 tubes contenant une quantité fixe de chlorure de samarium dans une solution tampon d'acétate de sodium 0,1 M à pH = 5,5 (série A). Les réactions de marquage sont toujours effectuées dans des milieux extrêmement dilués en métal (de  $10^{-9}$  à  $10^{-15}$  mol/L) et à pH acide (entre 5 et 6) pour éviter leur hydrolyse.

Une fois la série A préparée, une quantité croissante de ligand est ajoutée dans chaque tube, sauf dans le témoin qui ne contient que du samarium en solution. Les différents tubes sont ensuite agités dans une étuve à 37°C pendant 1 heure. Après incubation, on prélève 1  $\mu$ L dans chaque tube que l'on dépose sur une plaque chromatographie couche mince (CCM). Un mélange adéquat de solvants d'éluion permet de séparer le chlorure de samarium qui ne migre pas, du samarium complexé au ligand. La radioactivité en chaque point de la plaque CCM est ensuite quantifiée par un appareil de mesure (phosphorimager).

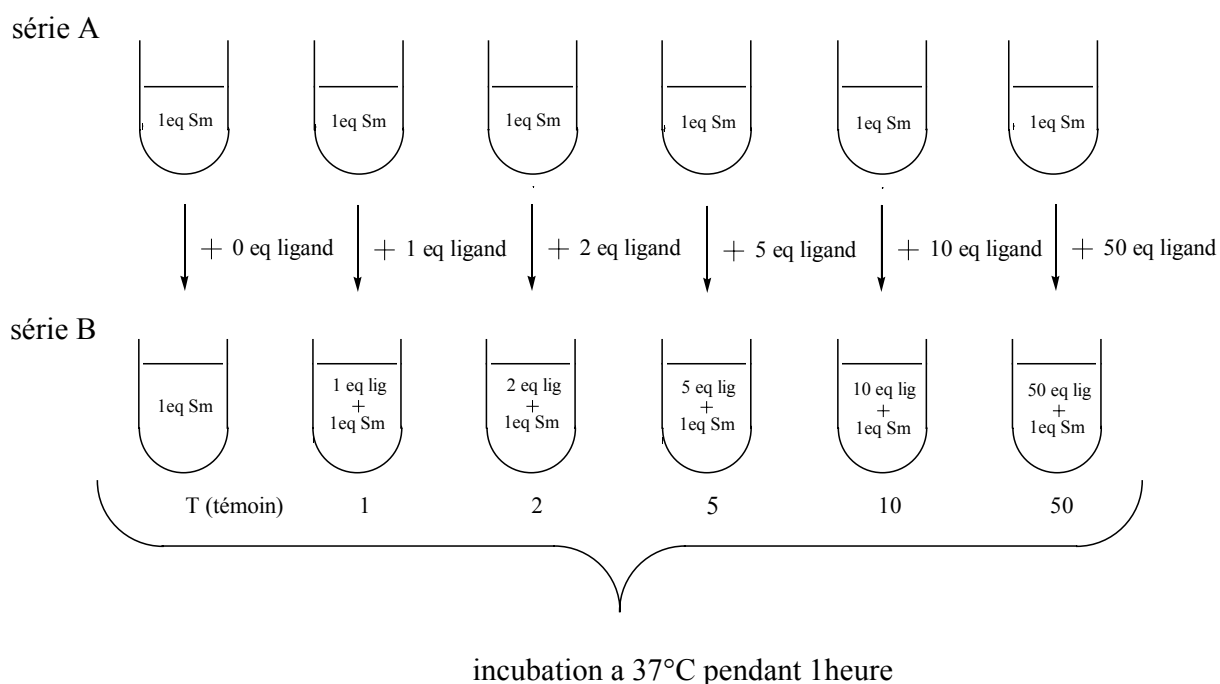


figure A-21 Préparation des solutions

L'expérience est conduite avec les trois molécules préalablement synthétisées, les acides *cis* **10**, *trans* CPDTA **11** et le PHDTA **26**, ainsi qu'avec deux agents chélatants efficaces qui vont servir de référence, l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et l'acide cyclohexane-1,2-diaminetétraacétique (CDTA).

La figure A-22 présente les résultats issus de la chromatographie couche mince des différents ligands. L'intensité des taches est fonction de la radioactivité émise. La tâche issue du tube témoin (T) montre que, contrairement au complexe formé, le chlorure de samarium ne migre pas. La radioactivité localement émise par ces deux entités peut donc être mesurée sans ambiguïté.

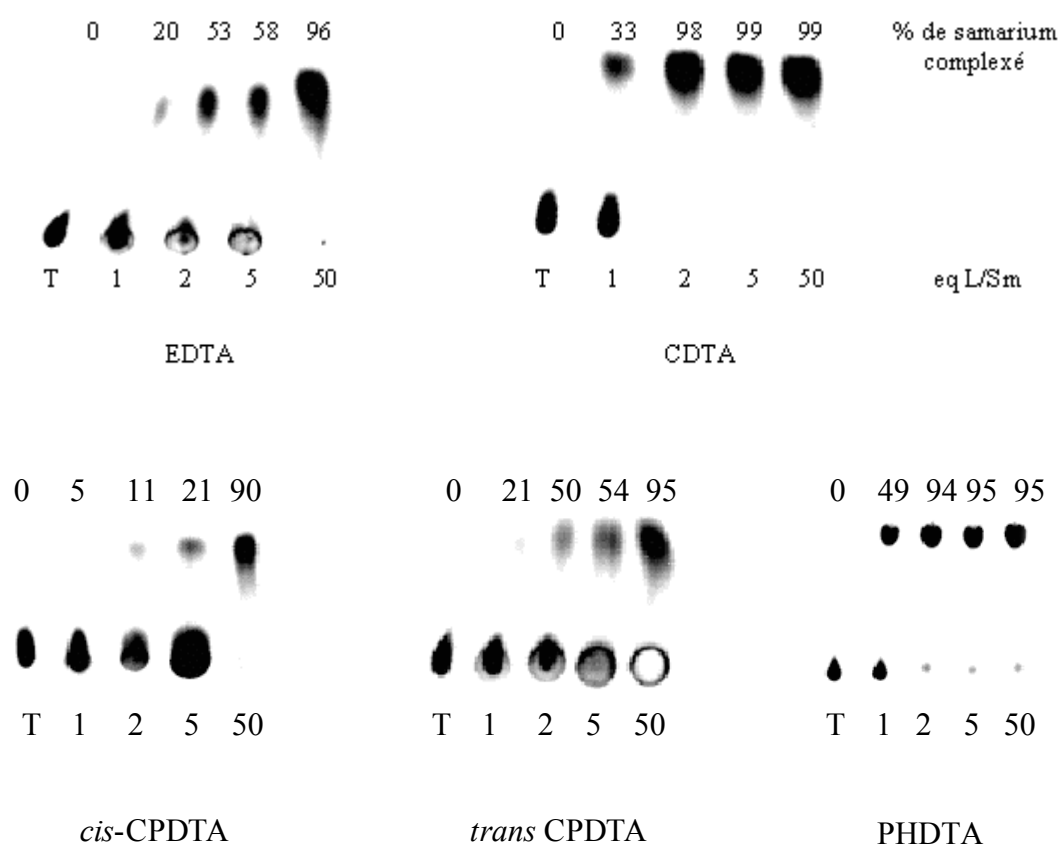


figure A-22 CCM après complexation par le samarium

Pour une comparaison plus facile des pourcentages de complexation, les résultats expérimentaux sont regroupés dans le tableau A-23. Les cinq agents chélatants montrent des différences importantes de réactivité, même si à forte concentration de ligands (50 eq) tout le samarium est complexé.

Le pourcentage moyen de complexation observé avec un rapport ligand/métal de 1 doit être attribué à un nombre insuffisant d'atomes donneurs sur l'agent chélatant. La sphère de coordination du samarium est vraisemblablement complétée par les doublets de l'oxygène des molécules d'eau.

D'une façon générale, on s'aperçoit que le pourcentage de complexation mesuré ne varie pas proportionnellement avec le nombre d'équivalents en ligand. Ce phénomène est couramment observé avec ce type de tests, il peut être expliqué par la présence de métaux non radioactifs dans la solution ainsi que par la formation de différents chélates, un radionucléide pouvant être complexé par plusieurs molécules.

La différence de réactivité entre les acides *cis* et *trans* CPDTA est fonction de la position spatiale des bras aminodiacétiques sur le squelette carboné. Lorsque les groupements polyaminocarboxyliques sont en position *cis* sur le cyclopentane, les modèles moléculaires (méthode AM1) montrent clairement une forte diminution de la taille de la cage complexante par rapport à l'analogue *trans* (3,1 contre 3,8). La cavité serait alors trop petite et pas assez modulable pour accueillir le  $^{153}\text{Sm}$ .

Les deux ligands les plus efficaces dégagés de cette étude sont le CDTA et le PHDTA. Ce dernier semble même être le plus intéressant puisqu'à un rapport ligand/métal de 1 le pourcentage de complexe formé est le plus important (49%) contre (33%).

% $^{153}\text{Sm}$ complexé					
Equivalents	EDTA	CDTA	<i>cis</i> CPDTA <b>10</b>	<i>trans</i> CPDTA <b>11</b>	PHDTA <b>26</b>
1	20	33	5	21	49
2	53	98	11	50	94
5	58	99	21	54	95
50	96	99	90	95	95

tableau A-23 Pourcentage de  $^{153}\text{Sm}$  complexé par l'EDTA et ses analogues

Les propriétés chélatantes intéressantes du PHDTA ont été confirmées par un radiomarquage à l'yttrium ( $^{90}\text{Y}$ , émetteur  $\beta^-$ , RIT). Pour obtenir une complexation totale, il est nécessaire d'utiliser un nombre d'équivalents en ligand plus important que pour un marquage au samarium. Il semble en effet que la contamination des solutions d'yttrium par des métaux froids soit plus importante que pour les solutions de samarium. En comparaison avec le DTPA (acide diéthylènetriaminepentaacétique) qui est un bon agent chélatant de radioéléments, le PHDTA montre des pourcentages de chélation équivalents.

% $^{90}\text{Y}$ complexé		
Equivalent	PHDTA <b>26</b>	DTPA
1	17	9
10	73	75
100	100	97
1000	100	97

tableau A-24 Pourcentage d'yttrium complexé par le PHDTA **26** et le DTPA

### A-3 Choix du squelette approprié

Les tests précédemment effectués, bien qu'ils n'aient pas la prétention de déterminer avec certitude le meilleur agent chélatant, ont néanmoins permis de révéler les propriétés complexantes intéressantes du PHDTA. En effet, ce ligand est capable de complexer le samarium et l'yttrium avec un pourcentage élevé et dans un délai compatible avec une utilisation en RIT.

De plus, les équipes de recherche de Noriyuki Nakasuka et d'Alfredo Mederos ont montré que cette molécule, qui possède des constantes de complexation plus faible que l'EDTA et le CDTA à pH neutre, devient le meilleur agent chélatant à pH acide en raison de la plus faible basicité de ses deux atomes d'azotes.<sup>78,83</sup> Cette information est importante puisque les radiomarquages sont effectués à pH acide pour éviter l'hydrolyse des métaux.

Les différents enseignements dégagés lors des synthèses nous ont aussi orientés vers le choix du cycle aromatique. En effet, le PHDTA est beaucoup plus facilement obtenu que le CPDTA. La cyclopentanediamine nécessite trois étapes pour sa synthèse alors que la phénylènediamine est un produit commercial et très bon marché. De plus, la présence du chromophore aromatique du PHDTA est un atout non négligeable qui devrait permettre de suivre plus facilement l'avancement des réactions par CCM.

Enfin, si les agents chélatants synthétisés montrent des propriétés complexantes intéressantes, il va être nécessaire de préparer leurs homologues bifonctionnels (§ I-2-4, page 16) en rajoutant sur le cycle une fonction isothiocyanate qui permettra le couplage à l'haptène. Le greffage de cette fonctionnalité sur des molécules à squelette cyclopentane devrait augmenter le nombre d'étapes et changer significativement la stratégie de synthèse. On espère par contre réaliser cette opération de façon simple sur les dérivés aromatiques, en remplaçant par exemple l'*o*-phénylènediamine de départ par la 4-nitro-1,2-phénylènediamine. De plus, une publication récente indique qu'il est possible de greffer directement et de façon douce un groupement nitro sur des structures aromatiques comprenant des esters. Pour effectuer cette nitration, l'équipe de David Parker utilise soit le tétrafluoroborate de nitronium (NO<sub>2</sub>BF<sub>4</sub>) dans l'acétonitrile, soit un mélange acide nitrique-acide acétique.<sup>84</sup>

---

<sup>83</sup> Nakasuka N., Kunimatsu M., Matsumura K., Tanaka M., *Inorg. Chem.*, **1985**, 24, 10. China E., Dominguez S., Mederos A., Brito F., Arrieta J M., Sanchez A., Germain G., *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 1579.

<sup>84</sup> Reany O., Gunnlaugson T., Parker D., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2000**, 1819.

Pour générer le groupement isothiocyanate attendu, la fonction nitro sera dans un premier temps réduite par hydrogénation, puis l'amine résultante subira un couplage avec le thiophosgène.<sup>85</sup> Cette conversion bien maîtrisée dans l'unité 463 de l'INSERM ne devrait pas poser de problèmes majeurs.

Toutes ces observations nous ont donc amenés à sélectionner la structure aromatique pour la suite de notre travail. Les chapitres suivants vont présenter les synthèses de nouveaux agents chélatants aromatiques ainsi que l'étude de leurs propriétés complexantes.

---

<sup>85</sup> McMurry T.J., Brechbiel M., Kumar K., Gansow O.A., *Bioconjugate Chem.*, **1992**, 3, 108. Kline S., Betebenner D.A., Johnson D.K., *Bioconjugate Chem.*, **1991**, 2, 26.

**PARTIE B: Synthèse et marquage de  
nouveaux agents chélatants oxygéné, azoté  
ou soufré**



## B-1 Synthèse d'agents chélatants oxygéné, azoté ou soufré

Les premiers travaux ont consisté à synthétiser trois nouveaux agents chélatants qui diffèrent par la nature d'un de leurs hétéroatomes (figure B-1). Ce sujet est issu d'une collaboration avec le docteur Eric Benoist qui développe de nouveaux complexes du technétium et du rhénium au Laboratoire de Chimie Inorganique de l'Université de Toulouse.

Les molécules présentées figure B-1 ont été conçues en mimant en partie la structure chélatante de l'acide *N*-(2,6-diméthylphénylcarbamoylméthyl)iminodiacétique (HIDA).<sup>86</sup> Ce ligand qui a été extrêmement étudié (153 références dans Chem. Abs.) permet de chélater efficacement le technétium (<sup>99m</sup>Tc). Le complexe [Tc(HIDA)<sub>2</sub>]<sup>-</sup> est actuellement utilisé en milieu hospitalier pour une exploration scintigraphique du foie en raison de son fort tropisme pour cet organe.<sup>87</sup>

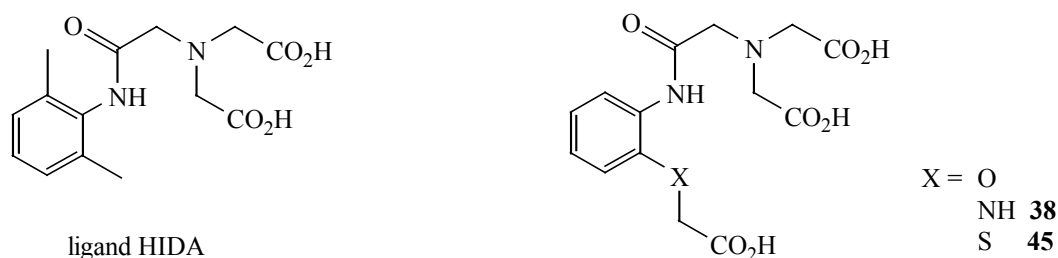


figure B-1 Ligand HIDA et analogues oxygéné, azoté ou soufré

Nous avons voulu évaluer le pouvoir chélatant de cet enchaînement sur d'autres radionucléides actuellement prometteurs en médecine nucléaire. Cependant, le ligand HIDA possède un nombre insuffisant d'hétéroatomes électrodonneurs pour une complexation efficace de ces métaux. C'est pourquoi nous avons préparé des ligands avec deux sites de coordination supplémentaires.

<sup>86</sup> Burns D., Sowa D.T., Marzilli L.G., *J. Pharm. Sci.*, **1978**, 67, 1434.

<sup>87</sup> Pinkerton T.C., Desilets C.P., Hoch D.J., Wilkelsons M.V., Wilson G.M., *J. Chem. Educ.*, **1985**, 62, 965. Lauffer R.B., Greif W.L., Stork D.D., Vincent A.C., Saini S., Wedeen V.J., Brady T.J., *J. Comput. Assisted Tomogr.*, **1985**, 9, 431.

Ces nouveaux analogues ont principalement été synthétisés pour une étude fondamentale. Nous pensons en effet pouvoir dégager deux informations des tests de complexation :

- La première concerne l'influence de la nature de l'hétéroatome O, N ou S sur la complexation de différents radioéléments. Des tests de compétition entre nos trois ligands et ces radionucléides nous permettraient de déterminer l'hétéroatome le plus efficace pour un métal donné.
- La fonction amide ayant été relativement peu étudiée, excepté dans les complexes du technétium et du rhénium au degré d'oxydation V (figure B-2),<sup>88, 89</sup> il serait intéressant d'observer son pouvoir chélatant sur d'autres radioéléments.

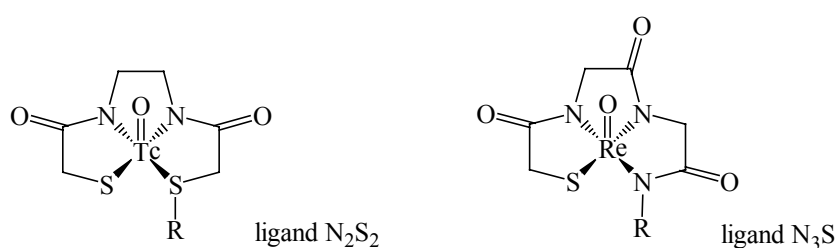


figure B-2 Complexes du technétium et du rhénium

De plus, le technétium III étant stabilisé dans des complexes hexacoordonnés octaédriques par un nombre varié de ligands (phosphines, acétylacétonate, thiourée, anions aminopolycarboxylates, bases de Schiff),<sup>90</sup> la structure de nos molécules pourrait être adaptée à sa chélation.

Les synthèses des nouvelles molécules cibles ont été effectuées au sein de notre groupe pour les deux analogues azoté ou soufré et par celui du docteur Eric Benoist pour le composé oxygéné.

<sup>88</sup> Fritzberg A.R, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1988**, 85, 4025.

<sup>89</sup> Liang F.H., Virzi F., Hnatowich D.J., *Nucl. Med. Biol.*, **1987**, 14, 555.

### B-1-1 Synthèse de l'analogue oxygéné

Les deux premières étapes sont effectuées selon le protocole précédemment décrit par l'équipe de Manuel Bermejo.<sup>91</sup> La synthèse débute par un couplage peptidique dans le THF entre l'*ortho*-aminophénol et la *N*-carbobenzyloxyglycine (figure B-3) préalablement activée par la 1,3-dicyclohexylcarbodiimide (DCC). Dans un deuxième temps, le groupement protecteur benzyloxycarbonyle est éliminé par action de palladium sur charbon à 10% dans l'éthanol en utilisant le cyclohexène comme source d'hydrogène.

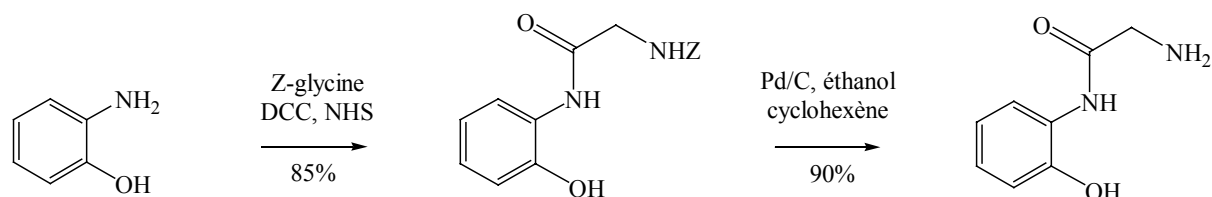


figure B-3 Synthèse du 2-amino-*N*-(2-hydroxyphényl)éthanamide

Une réaction d'alkylation réalisée à température ambiante par le bromoacétate de *tert*-butyle sur l'amine primaire permet d'isoler la molécule trialkylée avec un rendement de 77% (figure B-4). Une fois ce composé formé, une hydrolyse des esters dans l'acide trifluoroacétique pur à température ambiante fournit le produit attendu de façon quantitative. Après trois heures d'agitation, le triacide précipite sous forme d'un solide blanc qui est isolé par simple filtration.

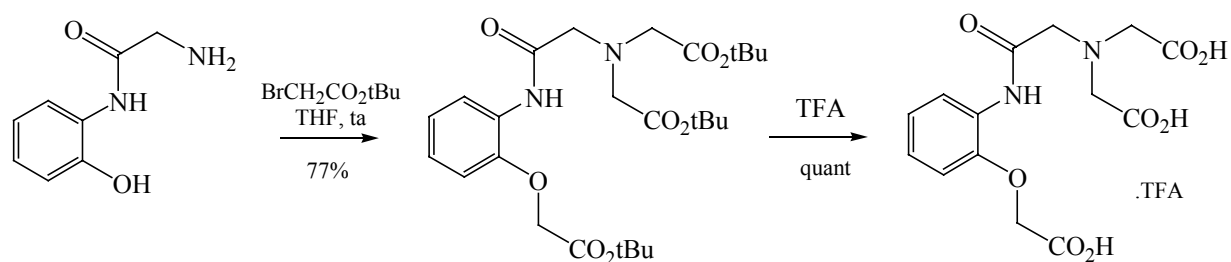


figure B-4 Synthèse de l'analogue oxygéné

<sup>90</sup> Mazzi U., *Polyhedron*, **1989**, 8, 1683.

## B-1-2 Synthèse de l'analogue azoté

La synthèse de l'analogue azoté est réalisée à partir de l'*ortho*-phénylènediamine (figure B-5). La première étape consiste, comme pour le composé oxygéné, à coupler la Z-glycine sur un des atomes d'azote de l'amine aromatique. On obtient alors le produit monoacylé **28** avec un rendement de 82%. La méthode de déprotection du groupement Z, qui donne le meilleur rendement (98%) sans purification, passe par l'utilisation de palladium sur charbon sous atmosphère d'hydrogène.<sup>92</sup> Cette technique s'est avérée plus appropriée pour obtenir le composé **29** que celle décrite par M.R. Bermejo, le rendement ne dépassant pas 80%.<sup>93, 94</sup> Il est à noter qu'une des méthodes usuelles d'élimination des benzyloxycarbonyles (HBr dans l'acide acétique) ne peut être utilisée.<sup>95</sup> En effet, nous avons constaté l'instabilité du composé **28** en milieu acide qui donne quantitativement le benzimidazole **30**, produit appartenant à une classe de pesticides.<sup>96</sup>

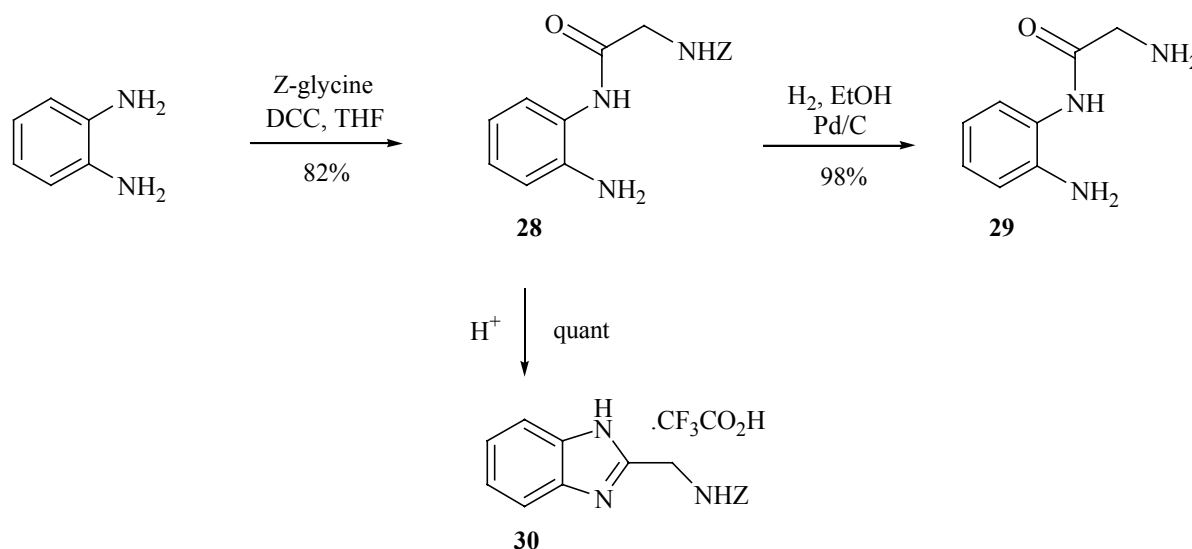


figure B-5 Synthèse du composé **29**

<sup>91</sup> Bermejo M.R., Gonzalez A.M., Fondo M., Garcia-Deibe A., Maneiro M., Sanmartin J., Hoyos O. L., Watkinson M., *New J. Chem.*, **2000**, 24, 235.

<sup>92</sup> Xu L., Zhang L., Bryant C.M., Kim C.U., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 2601. Schmidt U., Kroner M., Griesser H., *Synthesis*, **1991**, 294.

<sup>93</sup> Hoyos O.L., Bermejo M.R., Fondo M., Garcia-Deibe A., Gonzalez A.M., Maneiro M., Pedrido R., *J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1*, **2000**, 3122.

<sup>94</sup> Jackson A.E., Jonhstone R.A.W., *Synthesis*, **1976**, 685.

<sup>95</sup> Ben-Ishai D., Berger A., *J. Org. Chem.*, **1952**, 17, 1564.

<sup>96</sup> Maekawa K., Taniguchi E., Kuwano E., Shuto Y., *Environ. Qual. Saf. Suppl.*, **1975**, 3, 748.

En raison des possibilités importantes de polyalkylations, les conditions opératoires permettant de générer le produit **31** avec un rendement correct (figure B-6) ont été relativement difficiles à mettre en place.

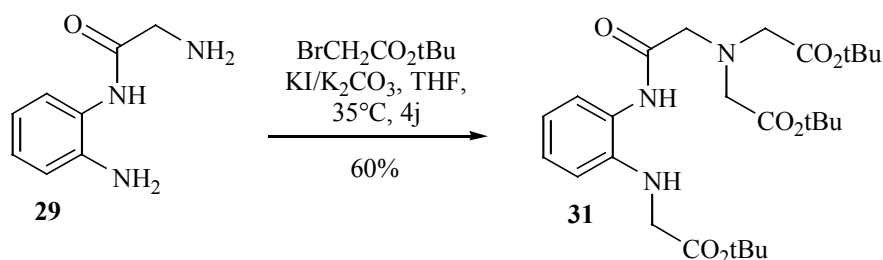


figure B-6 Synthèse du composé **31**

Les meilleurs résultats sont obtenus dans le THF à 35°C en utilisant 3,2 équivalents d'agent alkylant. On obtient ainsi le composé **31** avec un rendement de 60% en minimisant au maximum la formation des produits secondaires **32**, **33** et **34** (figure B-7). On remarque, en comparant la valeur des rendements des composés **32** (15%) et **33** (7%), que la quatrième alkylation s'effectue préférentiellement sur l'azote de l'amide plutôt que sur celui de l'amine aromatique. La structure du composé **31** attendu est déterminée sans ambiguïté par la complémentarité des techniques RMN-2D (COSY, HMQC et HMBC).

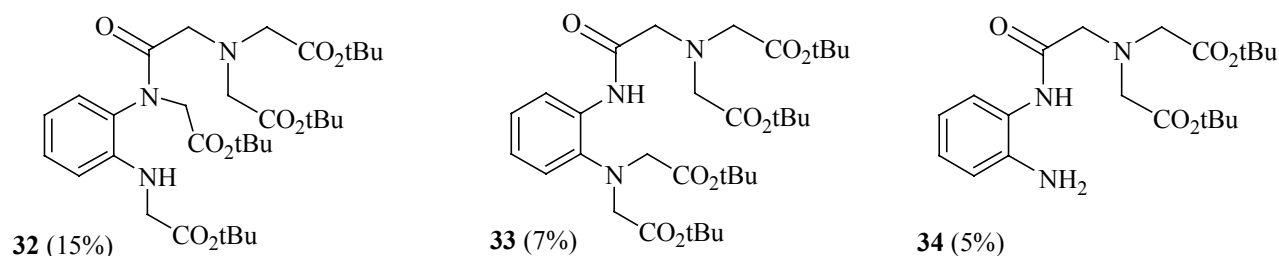


figure B-7 Structure des produits secondaires formés

A ce stade, l'hydrolyse des esters *tertio*-butyliques par l'acide trifluoroacétique n'a pas conduit au triacide attendu mais à une molécule hétérocyclique dont la masse molaire correspond à la perte d'une molécule d'eau.<sup>97</sup> Compte tenu de la précédente formation du benzimidazole **30** en milieu acide, il est très probable que le même type de réaction se soit produit selon le mécanisme de la figure B-8. Cette hypothèse est confirmée par les analyses spectroscopiques du triester méthylique **36**, formé de façon quantitative par action d'un large excès de diazométhane sur l'acide **35**.

<sup>97</sup> Brunet E., Alonso M.T., Juanes O., Velasco O., Rodríguez-Ubis., *Tetrahedron*, **2001**, 57, 3105.

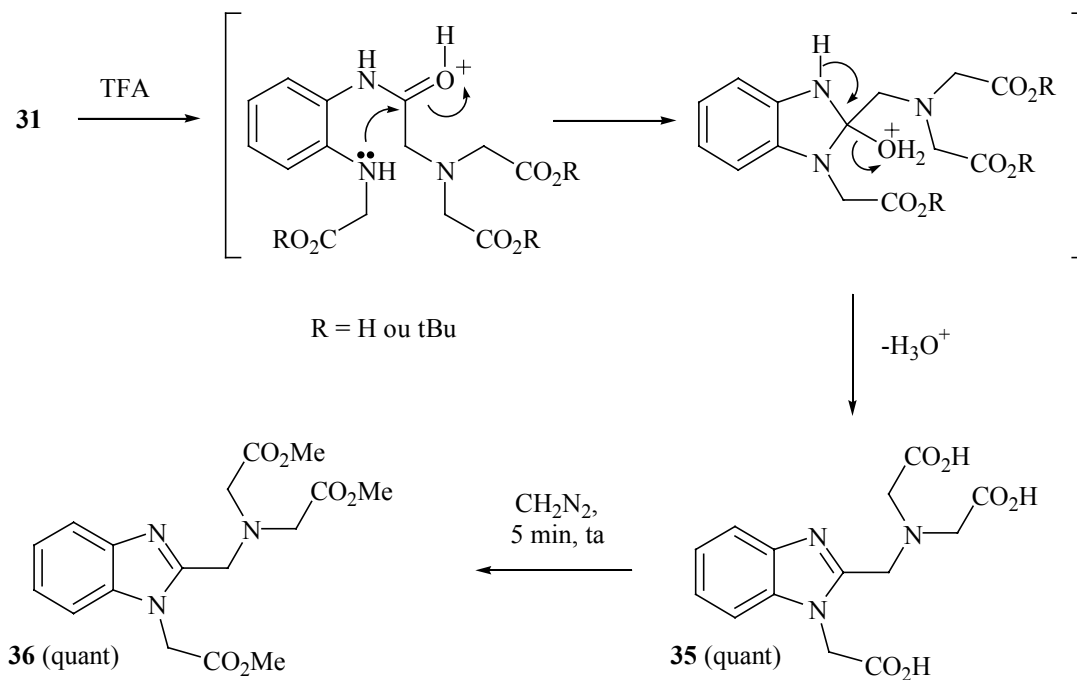


figure B-8 Mécanisme de formation du benzimidazole **35**

Une fois la structure de l'acide **35** déterminée, il est apparu nécessaire d'effectuer la déprotection des esters en milieu neutre afin d'éviter la formation de l'hétérocycle. Nous avons alors synthétisé le composé **37** qui possède des esters benzyliques. Ce produit est obtenu avec un rendement de 50% (figure B-9) selon les conditions expérimentales employées pour l'obtention du composé **31**. La dernière étape de la synthèse permet de générer de façon quantitative le produit **38** attendu. L'hydrogénolyse des groupements benzyliques est réalisée en utilisant une quantité catalytique d'hydroxyde de palladium dans le méthanol.<sup>98</sup>

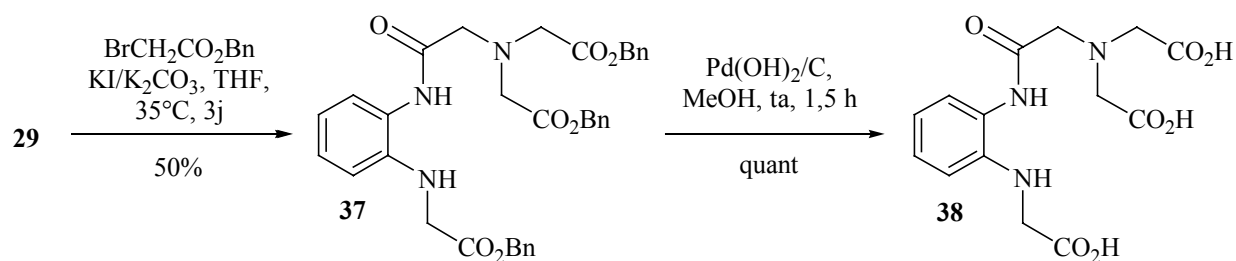


figure B-9 Synthèse du triacide **38**

<sup>98</sup> Lakshmi B., Prabhavati Devi A., Nagarajan M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 1495.

### B-1-3 Synthèse de l'analogue soufré

Dans un premier temps, nous avons envisagé de synthétiser l'analogue soufré de façon similaire aux deux autres synthèses, par une acylation sélective de l'*ortho*-aminothiophénol (figure B-10). Ce type de réaction s'effectuant préférentiellement sur un atome d'azote, nous espérons une chimiosélectivité de la réaction sur l'amine primaire par rapport à la fonction thiol. Malheureusement, après acylation,<sup>99</sup> le composé désiré est isolé avec un faible rendement de 28%, sans que les produits secondaires de la réaction ne puissent être caractérisés. De plus, la très forte insolubilité du composé **39** dans les solvants organiques usuels, excepté le DMSO, nous a rapidement contraints à changer de stratégie.

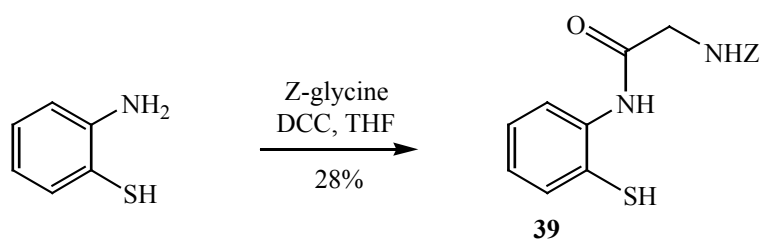


figure B-10 Etape d'acylation chimiosélective

Pour éviter ces problèmes, nous avons protégé la fonction thiol dès la première étape de la synthèse (figure B-11). Lors de l'alkylation sélective par le bromoacétate de *tert*-butyle, nous observons uniquement une substitution sur l'atome de soufre. Le composé **40** attendu est isolé avec un rendement de 76%.

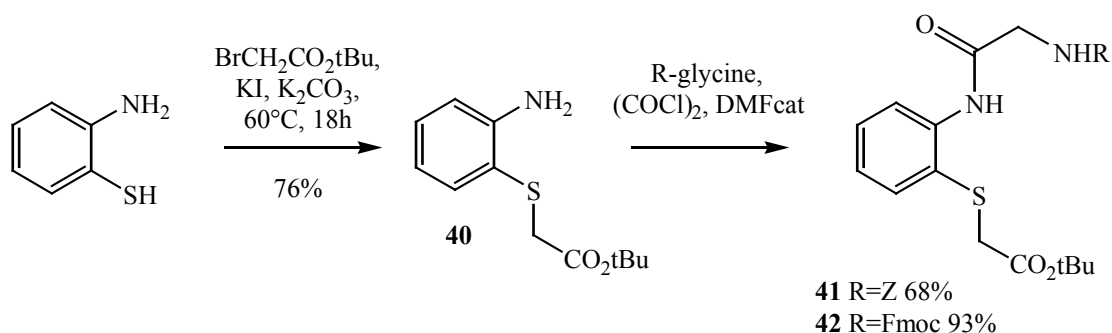


figure B-11 Etapes d'alkylation et d'acylation

<sup>99</sup> Jeganathan A., Richardson S.K., Mani R.S., Haley B.E., Watt D.S., *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 5362. Schmidt U., Kroner M., Griesser H., *Synthesis*, **1991**, 294.

L'emploi de l'ester *tertio*-butylique (plutôt qu'éthylique ou benzylique) limite fortement, probablement pour des raisons stériques, les réactions de cyclisations intramoléculaires parasites. En effet, les deux composés cycliques **46** et **47** figure B-12 sont formés en très faible quantité (Rdt total < 10%).

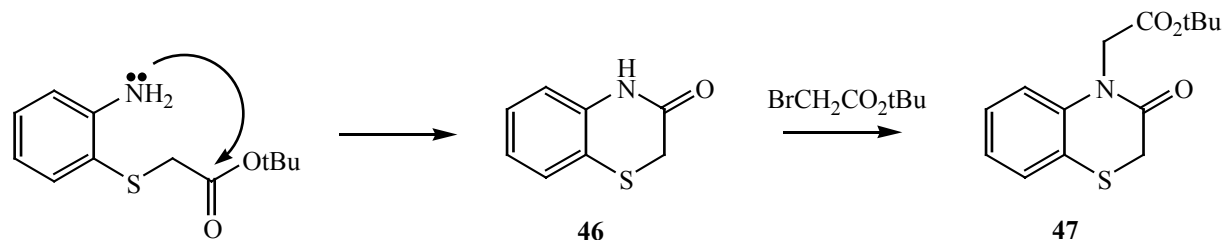


figure B-12 Produits secondaires isolés

L'étape suivante consiste à acyler le composé **40** par la *Z*-glycine préalablement activée sous forme de chlorure d'acide par addition de chlorure d'oxalyle en présence d'une quantité catalytique de DMF.<sup>100</sup> Cette méthode permet, contrairement au couplage par la DCC, d'obtenir le produit original **41** avec un rendement de 68%.

Les catalyseurs hétérogènes étant classiquement empoisonnés par de faibles traces de soufre, l'hydrogénolyse du groupement *Z* n'est pas possible en utilisant du palladium sur charbon. L'emploi de l'acide de Lewis  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  décrit pour déprotéger le groupement benzyloxycarbonyl n'est pas non plus satisfaisant.<sup>101</sup> En effet, bien que cette méthode déprotège l'amine, elle entraîne aussi l'hydrolyse de l'ester *tertio*-butylique.

Devant ces difficultés, nous avons envisagé d'utiliser un autre groupement protecteur de la glycine. Le fluorénylméthoxycarbonyl (Fmoc) semble un candidat approprié, ce dernier est facilement clivable dans des conditions basiques douces qui préservent la fonction ester. Une acylation du composé **40** par la Fmoc-glycine aboutit au produit **42** avec un rendement de 93% (figure B-11).

<sup>100</sup> Ishikura M., Mori M., Ikeda T., Terashima M., Ban Y., *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2456. Schepartz A., Breslow R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 1814. Juaristi E., Rizo B., Natal V., Escalante J., Regala I., *Tetrahedron: Asymmetry*, **1991**, 2, 821.

<sup>101</sup> Bose D.S., Thurston D.E., *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 6903. Haddad M., Imogaï H., Larchevêque M., *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 5680.



Le groupement Fmoc est éliminé par action de la pipéridine dans le dichlorométhane pour conduire à l'amine primaire **43** (figure B-13). Ce synthon s'est révélé peu stable sur colonne, il est alors préférable de cliver le Fmoc et de faire réagir le bromoacétate de *tertio*-butyle directement sur le mélange réactionnel. Après purification, le triester **44** est obtenu avec un rendement de 75% à partir de **42**.

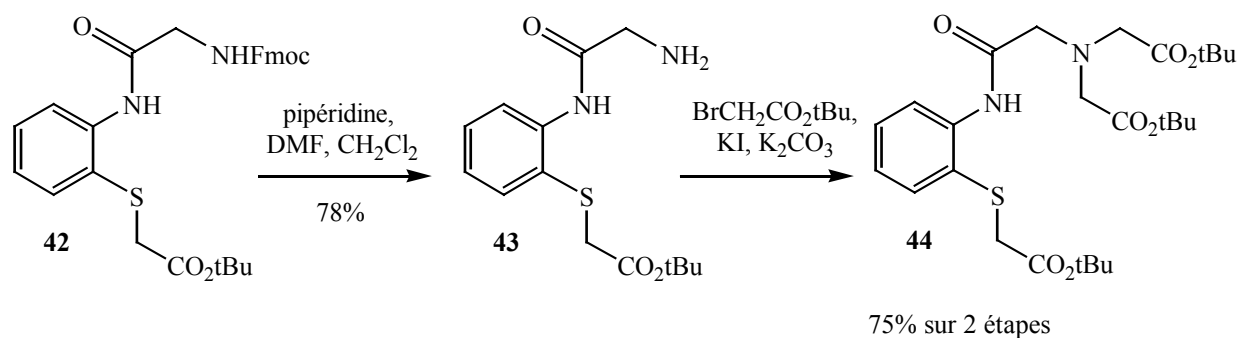


figure B-13 Synthèse du triester **44**

Enfin, le triacide attendu est isolé de façon quantitative à température ambiante par hydrolyse des groupements *tertio*-butyliques dans l'acide trifluoroacétique pur.

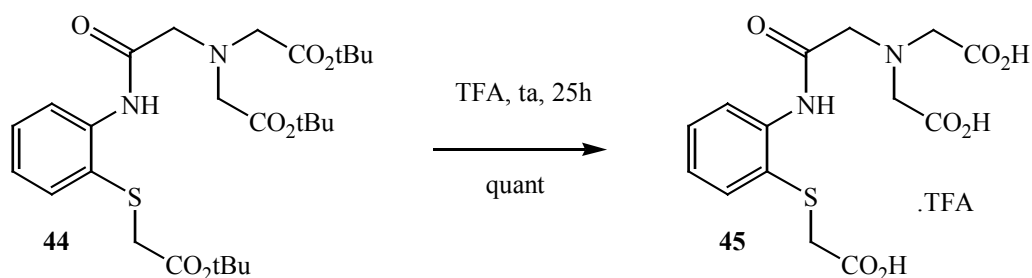


figure B-14 Synthèse du ligand **45**

Les trois analogues O, S ou N désirés sont synthétisés en peu d'étapes (4, 5 et 4) avec des rendements globaux respectifs de 41%, 53% et 40%. L'alkylation des hétéroatomes constitue l'étape limitante des trois synthèses. Par ailleurs, pour l'obtention des composés soufré ou azoté, nous avons rencontré des problèmes particuliers d'empoisonnement de catalyseur et de formation de produits secondaires issus de cyclisations intramoléculaires.

## B-2 Etude des propriétés complexantes

Le premier test est effectué entre les trois analogues oxygéné, azoté ou soufré et de l'indium non radioactif. Ce métal est choisi pour deux raisons : premièrement sa coordinence est adaptée au nombre d'hétéroatomes chélatants présents sur nos ligands ; deuxièmement, bien que l'indium soit considéré comme un métal dur selon la théorie HSAB,<sup>102</sup> sa relative mollesse permet à des atomes comme l'azote et même le soufre de le complexer.<sup>103</sup>

La spectrophotométrie UV permet de déterminer la formation éventuelle d'un complexe entre l'indium et les ligands synthétisés. L'expérience consiste à mettre en solution le ligand et du trichlorure d'indium dans de l'eau distillée à pH neutre. Le rapport ligand/métal utilisé est de 1,1 et la solution finale est ajustée à une concentration en ligand et en métal d'environ  $10^{-4}$  mol.L<sup>-1</sup>. Après une heure d'agitation à température ambiante, quelques millilitres de la solution sont prélevés et analysés par spectrométrie UV-visible entre 200 et 800 nm.

Si les agents chélatants complexent le métal, ce dernier induit une perturbation électronique au niveau du noyau aromatique (figure B-15). Une modification du spectre du ligand est alors observée.

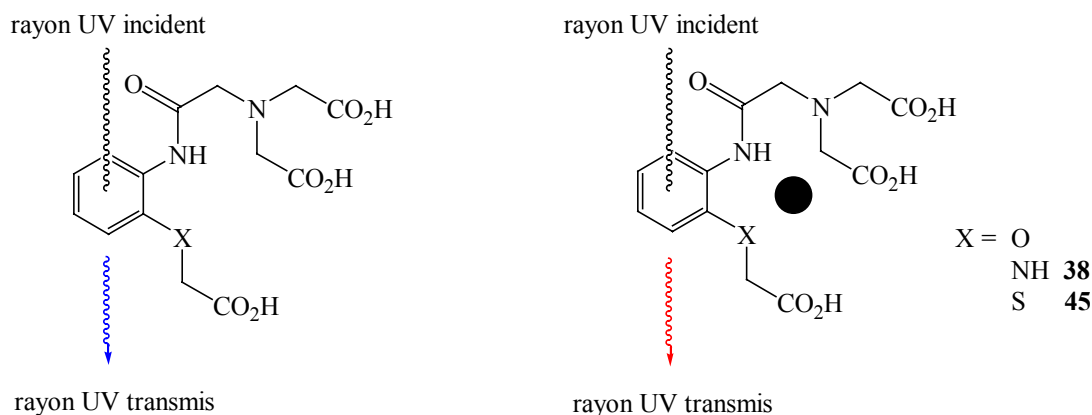


figure B-15 Principe du test UV

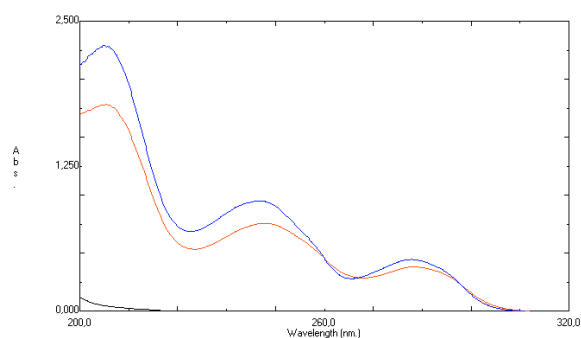
<sup>102</sup> Pearson R.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 3533.

<sup>103</sup> Martell A., Hancock R.D., *Metal Complexes in Aqueous Solution* ; Plenum :New York, **1996**. Anderson C.J., Welch M.J., *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2219.

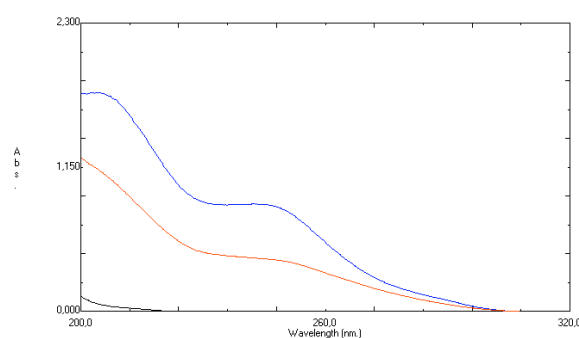
Un cas particulier doit cependant être pris en compte : si le métal est chélaté par des fonctions distantes du noyau aromatique (les acides carboxyliques par exemple), il est alors possible d'obtenir un spectre identique à celui du ligand libre. Dans ce cas, le ligand n'est pas capable de former une cage efficace, le complexe formé sera donc vraisemblablement trop instable pour être utilisé en RIT.

### B-2-1 Tests sur les ligands oxygéné ou soufré 45

La déformation du spectre UV attendue lors de la formation d'un complexe n'est pas observée avec les solutions de ligands oxygéné ou soufré (figure B-16). En effet, si l'intensité d'absorbance n'est pas prise en compte, les courbes bleues et rouges peuvent quasiment être superposées pour chacun des deux agents chélatants. Ainsi, ce premier test UV semble indiquer que ces molécules sont inefficaces pour complexer l'indium.



ligand oxygéné



ligand soufré 45

courbe bleue: ligand  
courbe rouge: ligand+InCl<sub>3</sub>  
courbe noire: InCl<sub>3</sub>

figures B-16 Spectres UV (pH=7) des ligands oxygéné ou soufré avec l'indium

Pour confirmer cette première information, une série d'expériences complémentaires est menée avec de l'indium radioactif ( $^{111}\text{In}$ ), en utilisant des conditions opératoires similaires à celles décrites dans le paragraphe A-2-2 (page 43). Les résultats obtenus montrent clairement l'absence de complexation pour ces deux ligands, même lorsque ces derniers sont en large excès (10 eq) par rapport à l'indium (figure B-17).

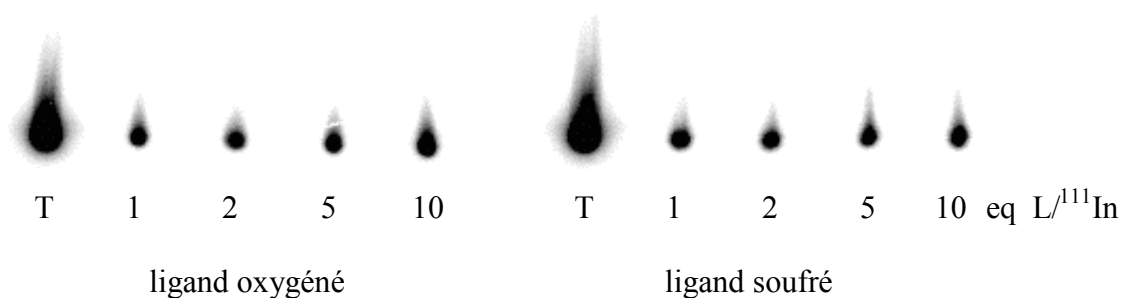


figure B-17 Tests de complexation avec l'indium 111

De plus, nous avons aussi évalué le potentiel chélatant de ces deux molécules sur le bismuth ( $^{213}\text{Bi}$ ) qui possède un rayon ionique plus important et une mollesse supérieure à celle de l'indium. Ce radioélément est actuellement un des émetteurs  $\alpha$  les plus prometteurs en RIT. Là encore, les résultats des tests ont été négatifs pour les deux analogues. En effet, nous n'observons pas la formation du couple ligand-bismuth désiré.

### B-2-2 Tests sur le ligand azoté 38

Contrairement à ceux enregistrés avec les composés oxygéné ou soufré, le spectre UV de l'analogue azoté **38** subit une légère modification en présence d'indium (figure B-19). Ce faible déplacement des bandes ne permet pas de tirer de réelles conclusions quant à la faculté du ligand **38** à complexer ce métal.

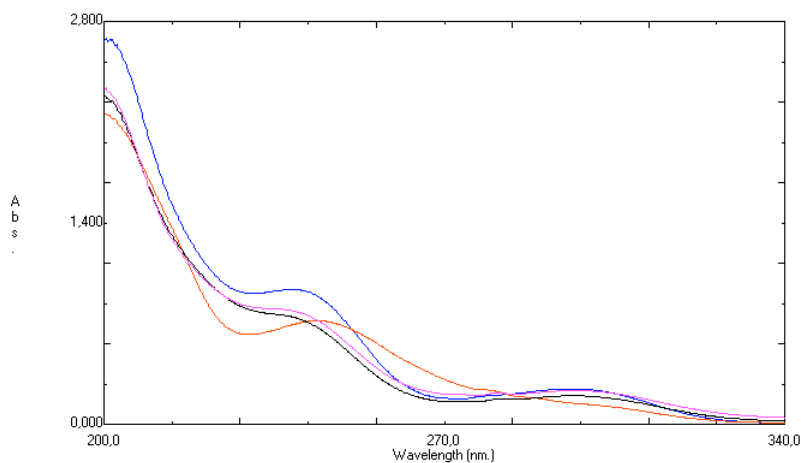
Une expérience complémentaire est donc réalisée avec de l'indium radioactif (figure B-18). Le test montre clairement la formation d'un complexe avec des pourcentages de chélation de 57 et 75% à 1 et 10 équivalents du composé **38**. En comparaison avec le DTPA, ces résultats restent médiocres, puisque cet agent chélatant complexe quantitativement l'indium à 1 équivalent de ligand.

Equivalents de ligand	% <sup>111</sup> In complexé	
	DTPA	Ligand <b>38</b>
1	100	57
10	100	75

Figure B-18 Pourcentages de chélation avec l'indium

Pour savoir si l'analogue azoté est capable de chélater d'autres métaux, nous l'avons mis en solution avec du trichlorure d'yttrium puis avec du trichlorure de samarium.

Les résultats exposés figure B-19 montrent encore des courbes superposables à celle du ligand **38**. Ce dernier est donc inefficace pour le piégeage de ces deux métaux.



courbe bleue: ligand azoté  
 courbe rouge: ligand+InCl<sub>3</sub>  
 courbe noire: ligand+YCl<sub>3</sub>  
 courbe mauve: ligand+SmCl<sub>3</sub>

figure B-19 Test UV (pH=7) de l'analogue azoté **38** avec l'indium, l'yttrium et le samarium

De plus, comme pour les dérivés oxygéné ou soufré, l'agent chélatant azoté **38** est testé sur du bismuth radioactif. Une fois encore, aucune migration de bismuth traduisant la formation d'un complexe n'est détectée.

A travers ces différents essais, les trois analogues synthétisés se sont révélés être des agents chélatants peu efficaces sur les métaux utilisés. Ces résultats négatifs ne nous ont pas permis de mener une étude approfondie de l'influence de l'hétéroatome sur la chélation de différents radionucléides.

Les tests avec l'indium ont néanmoins pu mettre en évidence l'importance de la nature de l'hétéroatome sur la complexation de ce métal. La substitution d'un atome d'azote par un atome d'oxygène ou de soufre a entraîné une chute très importante du pouvoir complexant. En effet, inversement au composé azoté **38** qui complexe l'indium, les analogues oxygéné ou soufré **45** ne chélatent pas ce radioélément.

Il semblerait que la fonction amide soit la cause principale du mauvais pouvoir complexant de nos ligands, contrairement aux constats relevés dans la littérature avec des structures similaires sur le technétium et le rhénium.

## **PARTIE C: Synthèse et marquage du Ph-DTPA et du Ph-TTHA**





## C-1 Synthèse du Ph-DTPA et du Ph-TTHA

Nous décrivons ici les synthèses du Ph-DTPA et du Ph-TTHA (figure C-1), analogues rigides de deux ligands efficaces pour la chélation de nombreux métaux : le DTPA et le TTHA.



figure C-1 Structure du Ph-DTPA et du Ph-TTHA

Comme nous l'avons vu précédemment (figure I-12, page 18), l'enchaînement hétéroatomique du DTPA permet de complexer des radionucléides utilisables dans le domaine de la radioimmunothérapie et du radiodiagnostic.<sup>104, 105</sup>

Cette molécule est également utilisée pour chélater le gadolinium,<sup>106</sup> le complexe DTPA-Gd formé est maintenant couramment employé pour l'imagerie par résonance magnétique (IRM) où il constitue un agent de contraste efficace.<sup>107</sup>

<sup>104</sup> Liu G., Edwards S.D., *Bioconjugate Chem.*, **2001**, 12, 7. Deal K.A., Davis I.A., Mirzadeh S., Kennel S.J., Brechbiel M.W., *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 2988. Volkert W.A., Hoffman T.J., *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2269. Jang Y.H., Blanco M., Dasgupta S., Keire D.A., Shively J.E., Goddard W.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 6142.

<sup>105</sup> Anderson C.J., Welch M.J., *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2219.

<sup>106</sup> Baker W.C., Choi M.J., Hill D.C., Thompson J.L., Petillo P.A., *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2683. Anelli P.L., Bertini I., Fragai M., Lattuada L., Luchinat C., Parigi G., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2000**, 625. Zhang S., Wu K., Sherry A.D., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38, 3192. Caravan P., Ellison J.J., McMurry T.J., Lauffer R.B., *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2293.

<sup>107</sup> Carr D.W., Brown J., Bydder G.M., *Lancet*, **1984**, 1, 484. Lauffer R.B., *Chem. Rev.*, **1987**, 87, 901.

En raison des différents champs d'application du DTPA, de nombreux composés comportant une structure chélatante identique ont été synthétisés, notamment par l'équipe d'Henri Rapoport.<sup>108</sup> Cependant, les travaux les plus prometteurs, aussi bien pour la RIT que pour l'IRM, sont certainement à attribuer au groupe de Martin Brechbiel. En effet, ce dernier a mis en évidence que des analogues du DTPA avec une structure semi-rigide de type cyclohexyle (Cy-DTPA),<sup>109</sup> pipéridinyle (PIP-DTPA) ou azaparyle (AZEP-DTPA),<sup>110</sup> ont une stabilité *in vivo* accrue.

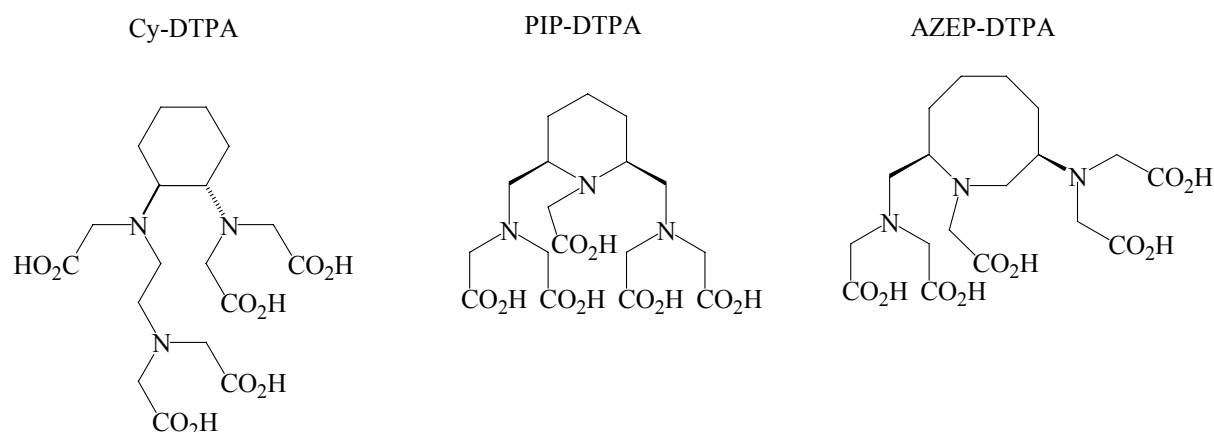


figure C-2 Analogues semi-rigides du DTPA

En revanche, très peu de travaux portent sur la rigidification du squelette de l'acide triéthylènetétraaminehexaacétique (TTHA). Ceci a permis à l'équipe de R.C. Mease de déposer un brevet en collaboration avec Jean François Gestin (INSERM U463).<sup>111</sup> Ce travail décrit la synthèse du cyclohexyl-TTHA qui s'est avéré être un agent complexant efficace du samarium.

<sup>108</sup> Williams M.A., Rapoport H., *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 3616. Grote C.W., Jin Kim D., Rapoport H., *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 6987. Pickersgill I.F., Rapoport H., *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 4048.

<sup>109</sup> Pathar P.M., Hamlin D.K., Wilbur D.S., Brechbiel M.W., Bray L.A., *J. Labelled Cpd. Radiopharm.*, **XLI**, **1998**, 595. McMurry T.J., Pippin C.G., Wu C., Deal K.A., Brechbiel M.W., Mirzadeh S., Gansow O.A., *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 3546.

<sup>110</sup> Chong H-S., Garmestani K., Bryant H., Brechbiel M.W., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 7745.

<sup>111</sup> Mease R.C., Srivastava S.C., Gestin J-F., Patent WO 5089663, **1992**.

### C-1-1 Synthèse de Ph-DTPA

Avant de rapporter la synthèse de cette molécule, on doit préciser qu'elle a déjà été présentée dans un brevet de 1984, parmi un grand nombre d'agents chélatants aromatiques.<sup>112</sup> Cependant, ni la voie de synthèse employée, ni les caractéristiques physico-chimiques du produit final n'ont été précisées, ce qui nous a conduit à développer notre propre stratégie.

Dans un premier temps, nous avons réduit la fonction carbonyle du composé **29** précédemment synthétisé en deux étapes (figure B-5, page 53). Cette réaction est effectuée avec un excellent rendement en utilisant le complexe BH<sub>3</sub>-DMS comme agent réducteur (figure C-3). Un bullage d'acide chlorhydrique dans l'éthanol permet d'isoler la triamine attendue qui précipite sous forme du trichlorhydrate **48**.<sup>113</sup> Ce composé a déjà fait l'objet d'une publication en 1945 selon une stratégie de synthèse totalement différente et avec un rendement global médiocre ne dépassant pas 29%.<sup>114</sup>

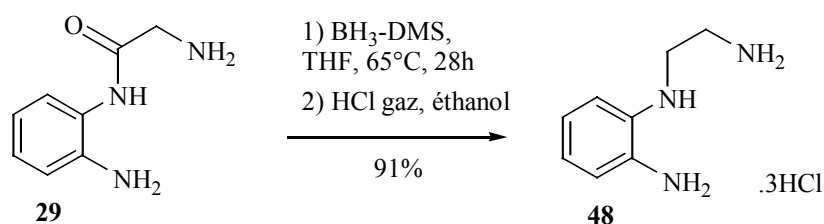


figure C-3 Synthèse du trichlorhydrate de *N*-(2-aminophényl)éthylènediamine **48**

<sup>112</sup> Lauffer R.B., Patent WO 4880008, **1989**.

<sup>113</sup> Moreau P., Tinkl M., Tsukazaki M., Bury P.S., Griffen E.J., Snieckus V., Maharajh R.B., Kwok C.S., Somayaji V.V., Peng Z., Sykes T.R., Noujaim A.A., *Synthesis*, **1997**, 1010. Achmatowicz M., Jurczak J., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, 12, 487.

<sup>114</sup> Linsker F., Evans R.L., *J. Org. Chem.*, **1945**, 10, 283.

Une méthode classique d'alkylation utilisant un excès de bromoacétate de *tertio*-butyle conduit ensuite au pentaester **49** avec un rendement de 65% (figure C-4).<sup>115</sup>

Les premiers essais de clivage des esters tertibutyliques ont été réalisés dans l'acide trifluoroacétique pur.<sup>116</sup> Malheureusement, ces conditions ne permettent pas de déprotéger quantitativement toutes les fonctions acides carboxyliques. Une hydrolyse partielle est également observée si l'on fait réagir le composé **49**, à température ambiante, dans l'acide chlorhydrique 6M. Lors de ces deux expériences, une augmentation de la température a entraîné une dégradation du produit.

C'est finalement par une réaction de saponification, conduite à 60°C dans un mélange d'éthanol et de soude 2M, que l'hydrolyse totale des esters a lieu en évitant toute dégradation. Dans cette expérience, nous avons développé une méthode originale pour isoler le Ph-DTPA du milieu réactionnel. Cette molécule, d'abord obtenue en milieu basique sous forme de carboxylates, est protonée par ajout d'acide chlorhydrique. Une fois le pH acide, la solution est évaporée sous vide jusqu'à l'obtention d'un solide blanc composé du Ph-DTPA **50** et de chlorure de sodium. Ce dernier étant insoluble dans l'acétone, le Ph-DTPA est extrait du mélange par ce solvant avec un rendement de 88%.

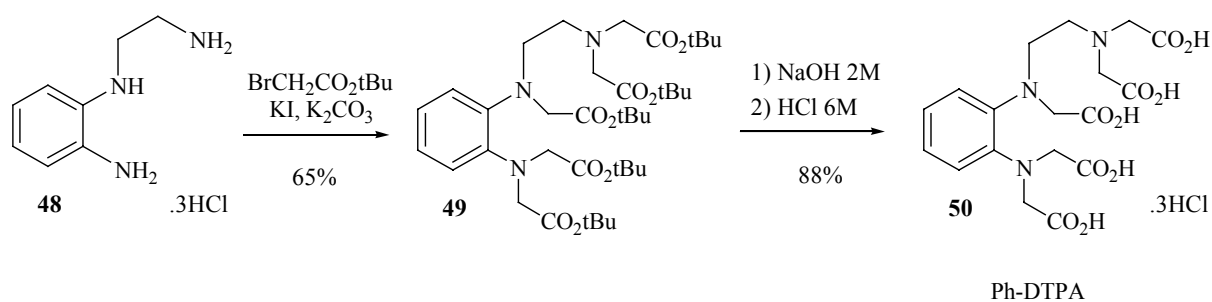


figure C-4 Synthèse du Ph-DTPA

<sup>115</sup> Gestin J-F., Loussouarn A., Bardiès M., Gautherot E., Gruaz-Guyon A., Saï Maurel C., Bardet J., Curtet C., Chatal J-F., Faivre Chauvet A., *J. Nucl. Chem.*, **2001**, 42, 1. Galaup C., Couchet J-M., Picard C., Tisnès P., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 6275.

<sup>116</sup> Brunet E., Alonso M.T., Juanes O., Velasco O., Rodriguez-Ubis J.C., *Tetrahedron*, **2001**, 57, 3105. Rodriguez-Ubis J. C., Alonso M.T., Brunet E., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 8461.

## C-1-2 Synthèse de Ph-TTHA

La synthèse du Ph-TTHA est effectuée de façon comparable à celle du Ph-DTPA.

La première étape de la synthèse (figure C-5) consiste à acyler l'*ortho*-phénylènediamine par la Z-glycine préalablement activée sous forme de chlorure d'acide. Ce dernier est formé par addition de chlorure d'oxalyle en présence d'une quantité catalytique de DMF.<sup>117</sup> Contrairement à un couplage classique par la DCC, cette méthode permet d'isoler le composé **51** de façon quantitative.

Une hydrogénolyse du groupement Z dans le méthanol ou l'éthanol n'a pas déprotégé les fonctions amines du produit **51**. Par contre, cette opération est réalisée dans un mélange HCl/MeOH 1/1 par le catalyseur de Pearlman (Pd(OH)<sub>2</sub>).<sup>118</sup> On obtient ainsi le dichlorhydrate **53** avec un rendement quantitatif.

A ce stade, il n'a pas été possible de réduire les fonctions amides par le borane. Cet échec est probablement dû à la totale insolubilité de la forme protonée **53** dans les solvants organiques usuels.

Les différentes tentatives de déprotonation du composé **53** en **54** n'ayant pas abouti, il a été nécessaire de reprendre la synthèse en modifiant le groupement protecteur de la glycine. La fonction benzyloxycarbonyle (Z) est alors remplacée une nouvelle fois (§ B-1-3, page 56) par le groupement 9-fluorénylméthoxyxycarbonyle (Fmoc). Après acylation par le chlorure d'acide correspondant, le produit **52** est déprotégé par action de la pipéridine dans le DMF.<sup>119</sup> La base libre **54** est isolée avec un rendement de 94% pour ces deux étapes.

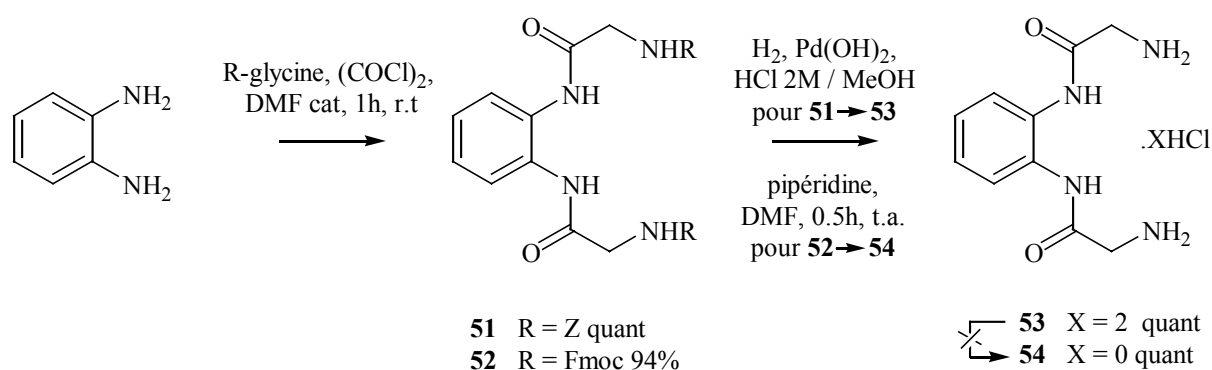


figure C-5 Synthèse du dichlorhydrate **53** et de la diamine **54**

<sup>117</sup> Ishikura M., Mori M., Ikeda T., Terashima M., Ban Y., *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2456. Schepartz A., Breslow R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 1814. Juaristi E., Rizo B., Natal V., Escalante J., Regala I., *Tetrahedron: Asymmetry*, **1991**, 2, 821.

<sup>118</sup> Guan Y., Green M.A., Bergstrom D.E., *Synlett*, **1999**, 426.

<sup>119</sup> Atherton E., Sheppard R.C., *The Peptides Academic Press*, **1987**, 9, 11.

Une réduction classique par le complexe  $\text{BH}_3\cdot\text{DMS}$  dans le THF permet d'obtenir l'intermédiaire **55** avec un rendement de 58% (figure C-6). Contrairement au composé **48**, la tétraamine **55** n'est pas isolée sous forme de tétrachlorhydrate, ce dernier étant trop hygroscopique pour être aisément conservé. Nous avons donc déprotoné les atomes d'azote par de la soude et extrait la tétraamine formée de la solution aqueuse par du dichlorométhane.

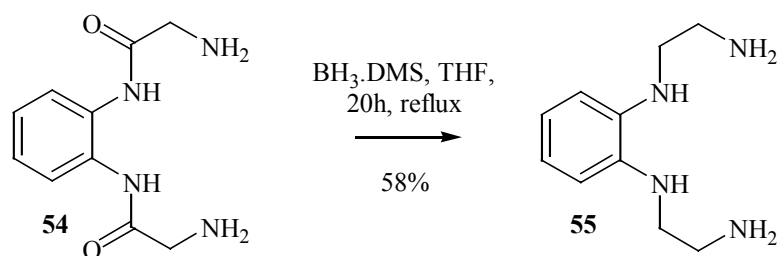


figure C-6 Synthèse de la tétraamine **55**

Après alkylation du composé **55** (figure C-7) par le bromoacétate de tertiobutyle et deux chromatographies sur gel de silice, le produit **56** est isolé avec un rendement de 41%.<sup>120</sup>

Comme dans le cas du Ph-DTPA, la déprotection totale est réalisée dans un mélange d'éthanol et de soude 2M maintenu à 60°C pendant 12 heures. Après acidification du milieu, la purification du produit **57** a été difficile à mettre au point. En effet, contrairement au Ph-DTPA, ce dernier n'est pas soluble dans l'acétone. Il a donc été nécessaire de trouver un autre solvant capable de le séparer du chlorure de sodium. Bien que l'éthanol se soit révélé efficace pour solubiliser le Ph-TTHA, ce solvant dissout légèrement le sel.<sup>121</sup> C'est finalement en employant un mélange d'éthanol et de dichlorométhane (90/10) que le Ph-TTHA est isolé pur.

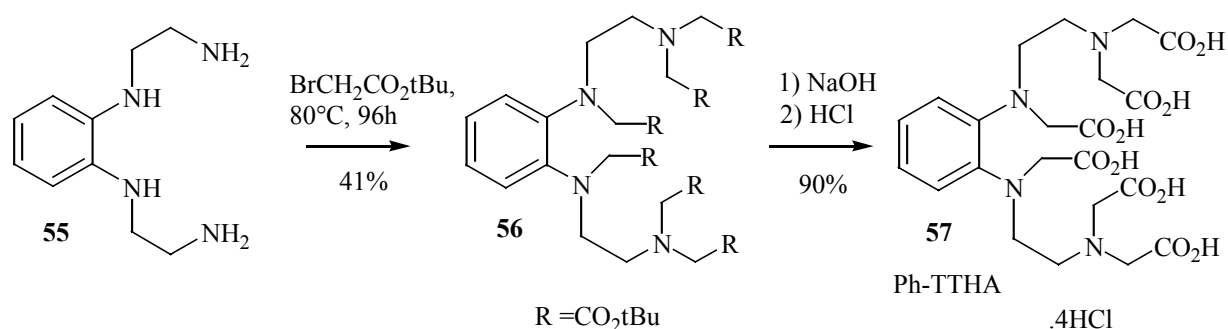


figure C-7 Synthèse du Ph-TTHA

<sup>120</sup> Heppler A., Froidevaux S., Mäcke H.R., Jermann E., *Chem. Eur. J.*, **1999**, 7, 1974.

<sup>121</sup> Weast R.C., Selby S.M., Hodgman C.D., *Handbook of chemistry and physics*, **1964**.

## C-2 Propriétés complexantes des nouveaux analogues du DTPA et du TTHA

### C-2-1 Détermination de la complexation par spectrophotométrie UV

Le premier test (cf § B-2) effectué sur l'indium, l'yttrium et le samarium froid a permis de déterminer la capacité des ligands Ph-DTPA et Ph-TTHA à complexer ces métaux. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de deux graphiques exposés figure C-8.

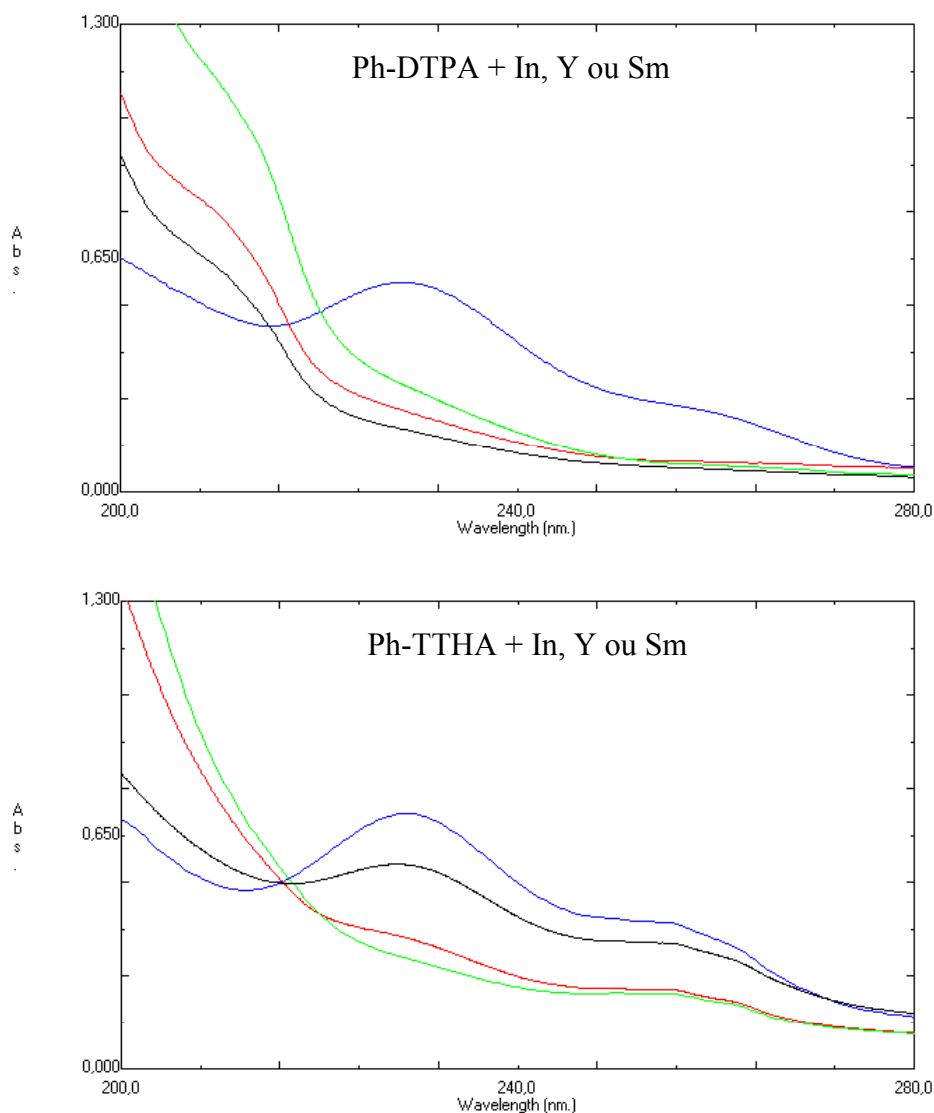


figure C-8 Spectres UV (pH=7) des ligands et de leurs complexes

courbe bleue: ligand  
courbe rouge: ligand+YCl<sub>3</sub>  
courbe verte: ligand+InCl<sub>3</sub>  
courbe noire: ligand+SmCl<sub>3</sub>

Ces résultats encourageants montrent clairement une déformation importante du spectre après l'addition d'un métal. Il en résulte que dans un rapport équimolaire entre ces deux entités et dans les conditions de l'expérience, le Ph-DTPA et le Ph-TTHA constituent des agents chélatants efficaces de l'indium, de l'yttrium et du samarium. Précisons que la variation du spectre pour la solution de Ph-TTHA et de samarium est relativement faible par rapport à celle obtenue pour le Ph-TTHA seul. Dans ce cas particulier, il est donc probable que la réaction de complexation ne soit pas totale.

### C-2-2 Mesure de la formation de complexes radioactifs par CCM

En complément de l'étude précédente, il est nécessaire de tester les ligands dans des conditions de marquage proches de celles utilisées en médecine nucléaire. Ces expériences sont effectuées de manière similaire à celles exposées au paragraphe A-2-2. Deux ligands, le DTPA et le CHX-DTPA (figure C-9) sont choisis comme référence car ils possèdent le même enchaînement d'atomes coordinants que le Ph-DTPA et complexent rapidement les radionucléides étudiés.

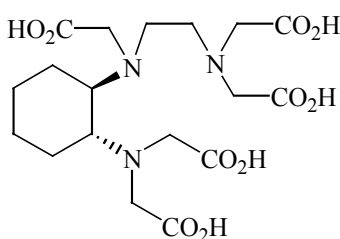


figure C-9 Structure du CHX-DTPA

Il est à noter que les expériences sur l'yttrium, le bismuth ou l'actinium sont conduites dans des milieux extrêmement dilués en radioéléments. De plus, les sources radioactives fournies ainsi que les solutions tampons préparées contiennent une proportion variable et inconnue de métaux parasites. On comprend alors aisément que ces métaux entrent en compétition avec le radionucléide utilisé.

Pour observer une complexation avec le radioélément, il est nécessaire de mettre un excès important de ligand. L'efficacité d'un nouvel agent chélatant sera déterminée en comparaison avec le pourcentage de complexation enregistré avec le ligand référence.



Résultats sur les émetteurs  $\beta$  et  $\gamma$

Comme nous l'avons précédemment constaté lors des analyses par spectrométrie UV, les résultats présentés tableau C-10 montrent globalement un pouvoir complexant élevé du Ph-DTPA et du Ph-TTHA pour les trois radionucléides testés. De plus, comparé au DTPA, les pourcentages de complexes formés avec ces deux molécules sont du même ordre de grandeur.

Equivalents de ligand	% $^{111}\text{In}$ complexé ( $\gamma$ )		
	DTPA	Ph-DTPA <b>50</b>	Ph-TTHA <b>57</b>
1	100	98	100
2	100	100	100

Equivalents de ligand	% $^{153}\text{Sm}$ complexé		
	DTPA	Ph-DTPA <b>50</b>	Ph-TTHA <b>57</b>
1	76	73	/
2	100	95	/
5	100	100	/

Equivalents de ligand	% $^{90}\text{Y}$ complexé		
	DTPA	Ph-DTPA <b>50</b>	Ph-TTHA <b>57</b>
1	9	23	6
10	75	93	37
$10^2$	97	97	43
$10^3$	97	100	56

tableau C-10 Pourcentages d'émetteurs  $\beta^-$  et  $\gamma$  complexés par les ligands **50** et **57**

- Avec l'indium, les deux agents chélatants sont très efficaces, seulement un équivalent de Ph-DTPA ou de Ph-TTHA est nécessaire pour complexer quantitativement ce métal.
- Le fort pouvoir chélatant du Ph-DTPA est également observé avec le samarium. Les pourcentages de complexation obtenus avec le composé **50**, comparables à ceux du DTPA, sont de 73% à 1 équivalent de ligand et de 95% à deux équivalents. En raison du récent rachat de la société Cis bio international par Schering, nous n'avons plus disposé des solutions de samarium, le Ph-TTHA n'a donc pas pu être testé pour le moment avec ce radionucléide. Etant donné l'allure de la courbe UV après chélation, il est fort probable que les pourcentages de complexation seront médiocres.

- En complexant de façon quasi-quantitative l'yttrium à 10 équivalents de ligands, le Ph-DTPA est ici nettement plus efficace que le Ph-TTHA. En effet, même avec un excès de  $10^3$  équivalents, le ligand **57** ne chélate que 56% d'yttrium.
- Ces deux ligands, ainsi que le DOTA utilisé comme composé de référence, ont également été testés avec le lutétium ( $^{177}\text{Lu}$ ) à l'hôpital Fremantle de Perth (Australie). Dans les conditions opératoires, le Ph-DTPA s'est montré compétitif par rapport au DOTA (tableau C-11), contrairement au Ph-TTHA qui ne complexe que 55% du lutétium pour un rapport ligand/métal de 100.

Equivalents de ligand	% $^{177}\text{Lu}$ complexé		
	DOTA	Ph-DTPA <b>50</b>	Ph-TTHA <b>57</b>
1	87	55	0
2	100	100	0
100	100	100	55

tableau C-11 Etude de complexation sur le lutétium

#### Résultats sur les émetteurs $\alpha$

- Les résultats obtenus avec le bismuth 213 montrent la supériorité du Ph-DTPA et du Ph-TTHA par rapport au CHX-DTPA (tableau C-12), qui est actuellement considéré comme le meilleur agent chélatant de ce métal.<sup>122</sup> En effet, par rapport aux ligands **50** et **57**, il est nécessaire d'utiliser un excès plus important de CHX-DTPA pour commencer à complexer le bismuth.
- Par contre, le Ph-DTPA et le Ph-TTHA sont des ligands inefficaces pour chélater l'actinium. En effet, aucune complexation n'est observée, même avec un excès important de ligand ( $10^6$  eq). Ce faible pouvoir chélatant a également été observé avec le CHX-DTPA qui complexe modestement l'actinium (23%) dans ces mêmes conditions. Les résultats médiocres obtenus avec ce radioélément étaient relativement prévisibles, l'actinium préférant les ligands macrocycliques aux agents chélatants linéaires.<sup>123</sup>

<sup>122</sup> Milenic D.E., Roselli M., Mirzadesh S., Pippin C.G., Gansow O.A., Colcher D., Brechbiel M.W., Schlom J., *Cancer. Biother. Radiopharm.*, **2001**, 16, 133. Nikula T.K., McDevitt M.R., Finn R.D., *J. Nucl. Med.*, **1999**, 40, 166.

<sup>123</sup> Deal K.A., Davis I.A., Mirzadeh S., Kennel S.J., Brechbiel M.W., *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 2988.

Equivalents de ligand	% <sup>213</sup> Bi complexé		
	CHX-DTPA	Ph-DTPA <b>50</b>	Ph-TTHA <b>57</b>
10 <sup>2</sup>	0	17	17
10 <sup>3</sup>	0	49	67
10 <sup>4</sup>	69	71	70
10 <sup>5</sup>	86	73	88

Equivalents de ligand	% <sup>225</sup> Ac complexé		
	CHX-DTPA	Ph-DTPA <b>50</b>	Ph-TTHA <b>57</b>
10 <sup>5</sup>	0	0	0
10 <sup>6</sup>	23	0	0

tableau C-12 Pourcentages d'émetteurs  $\alpha$  complexés par les ligands **50** et **57**

En conclusion, ces tests ont mis en évidence les excellentes propriétés complexantes du Ph-DTPA sur une large gamme de radioéléments. Ce ligand est même parfois plus efficace que le DTPA et que le CHX-DTPA, notamment avec l'yttrium et le bismuth.

Les résultats obtenus avec le Ph-TTHA sont plus nuancés. Cet agent chélatant qui est peu ou pas efficace pour la complexation de l'yttrium, du lutétium et de l'actinium, permet par contre de chélater avec des pourcentages élevés l'indium et le bismuth.

Les propriétés chélatantes intéressantes du Ph-DTPA et du Ph-TTHA nous conduisent maintenant à déterminer la stabilité des complexes formés dans le sérum humain,<sup>124</sup> condition indispensable pour une utilisation en RIT.

<sup>124</sup> Camera L., Kinuya S., Garmestani K., Wu C., Brechbiel M.W., *J. Nucl. Med.*, **1994**, 35, 882. Li W.P., Ma D.S., Higginbotham C., Hoffman T., Ketring A.R., Cutler C.S., Jurisson S.S., *Nucl. Med. Biol.*, **2001**, 28, 145.

## C-2-1 Détermination de la stabilité sérique

Le sérum humain contient des protéines capables de chélater les métaux. Si on introduit un complexe ligand-métal, il va s'établir au cours du temps un équilibre où une certaine proportion des atomes métalliques sera désormais complexée par les protéines. Ce phénomène doit être limité au maximum pour que les complexes proposés puissent être utilisés en RIT.

L'étude de stabilité sérique peut être décomposée en trois étapes (figure C-13).

- 1) La totalité du radioélément présent dans une solution tampon T1 est chélatée par ajout d'un excès de ligand.
- 2) Après complexation totale, un faible volume de solution T1 (quelques dizaines de microlitres) est introduit dans 5 mL de sérum humain. Cette nouvelle solution T2 est ensuite incubée à 37°C sous agitation.
- 3) On prélève alors à différents intervalles de temps, un volume fixe (500µL) de solution T2 que l'on dépose sur une colonne chromatographique d'exclusion stérique. En raison d'une différence importante de masse moléculaire, le complexe ligand-radioélément est alors facilement séparé du radioélément fixé par les protéines du sérum.

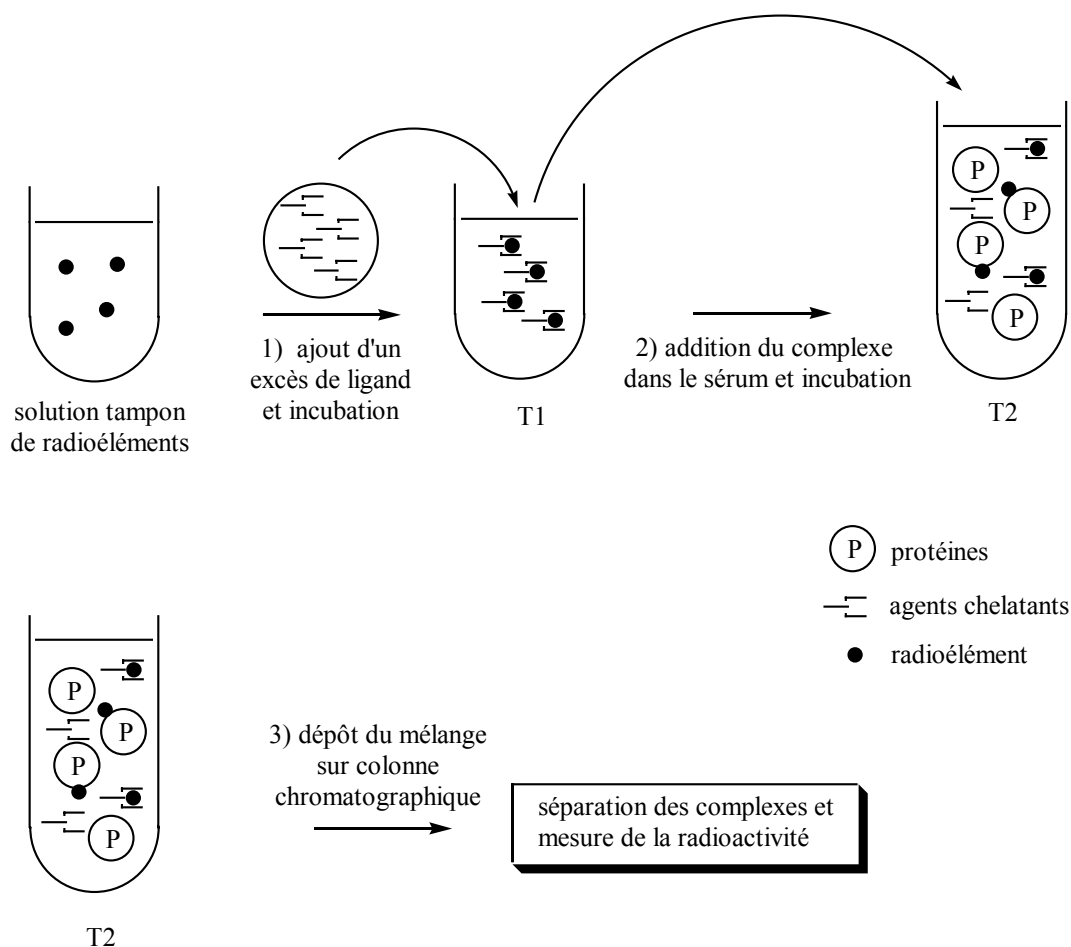


figure C-13 Principe de l'étude de stabilité sérique

Une mesure de la radioactivité contenue dans chaque tube d'élution permet alors d'évaluer à différents instants la proportion de radioélément relargué. Pour déterminer dans quelle série de tubes sort le métal fixé aux protéines, une solution témoin de radioélément libre dans le sérum est chromatographiée dans les mêmes conditions. Les résultats peuvent être présentés sous forme de courbes qui indiquent la radioactivité mesurée dans chaque tube en fonction du volume d'élution.

### *Résultats obtenus avec le Ph-DTPA*

Le Ph-DTPA étant capable de complexer quantitativement l'yttrium, le samarium, le lutétium et l'indium, nous avons voulu déterminer si les chélates formés sont stables dans le sérum. En règle générale, très peu de nouveaux ligands forment des complexes suffisamment stables dans le sang pour être utilisés en RIT.

Pour éviter de surcharger inutilement les figures C-14 à C-16, toutes les mesures effectuées ne sont pas représentées.

La première expérience est conduite avec le complexe Ph-DTPA-yttrium (figure C-14). La courbe bleue qui correspond à la solution témoin, indique que l'yttrium fixé aux protéines est élué de la colonne après un volume de solvant d'environ 7 à 8 millilitres. Quant au volume d'élution nécessaire pour récupérer le complexe ligand-yttrium, il est indiqué par la courbe rouge qui correspond au prélèvement de la solution T2 à l'instant 0, soit 12 à 13 mL.

L'apparition d'un épaulement au niveau des tubes 7 et 8, d'abord relativement faible après 4h et qui devient important après 15h, montre clairement l'instabilité du complexe Ph-DTPA-yttrium. En effet, comme le témoin l'indique, l'apparition du nouveau pic de radioactivité à un volume de 7 et 8 mL correspond à l'yttrium fixé par les protéines du sérum.

La même instabilité est constatée entre le Ph-DTPA et le samarium (figure C-15). Après 11 h d'incubation, on observe qu'une proportion importante de ce métal est relarguée du ligand. De plus, le test de stabilité sérique effectué sur le lutétium révèle également une stabilité médiocre, 60% de ce radionucléide étant capté par les protéines après 48 heures d'incubation.

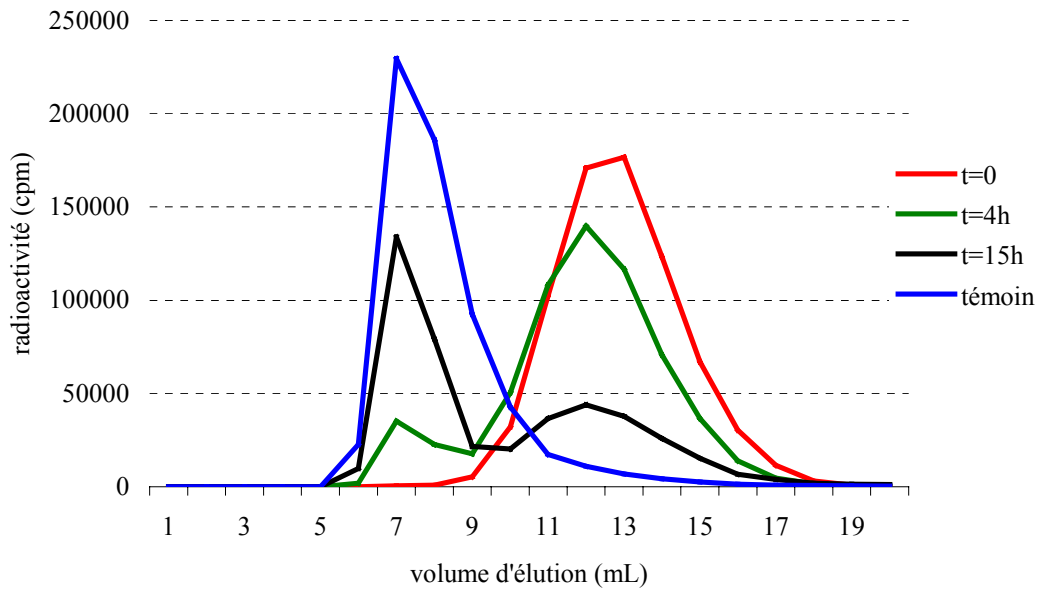


figure C-14 Stabilité sérique Ph-DTPA-Y

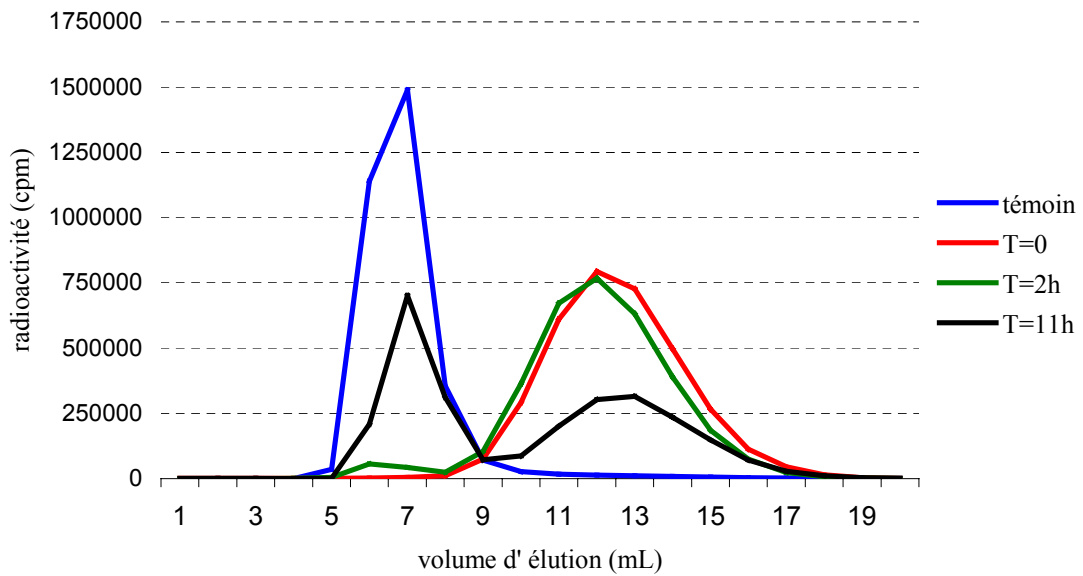


figure C-15 Stabilité sérique Ph-DTPA-Sm

Contrairement aux résultats obtenus précédemment, le Ph-DTPA et l'indium forment un complexe très stable dans le sérum humain. En effet, après 145 heures d'incubation (6 jours), nous n'avons mesuré qu'une très faible quantité d'indium relargué (seulement 6%). Ces résultats indiquent que le chélate formé entre le Ph-DTPA et l'indium possède une stabilité encourageante pour une application potentielle en médecine nucléaire.

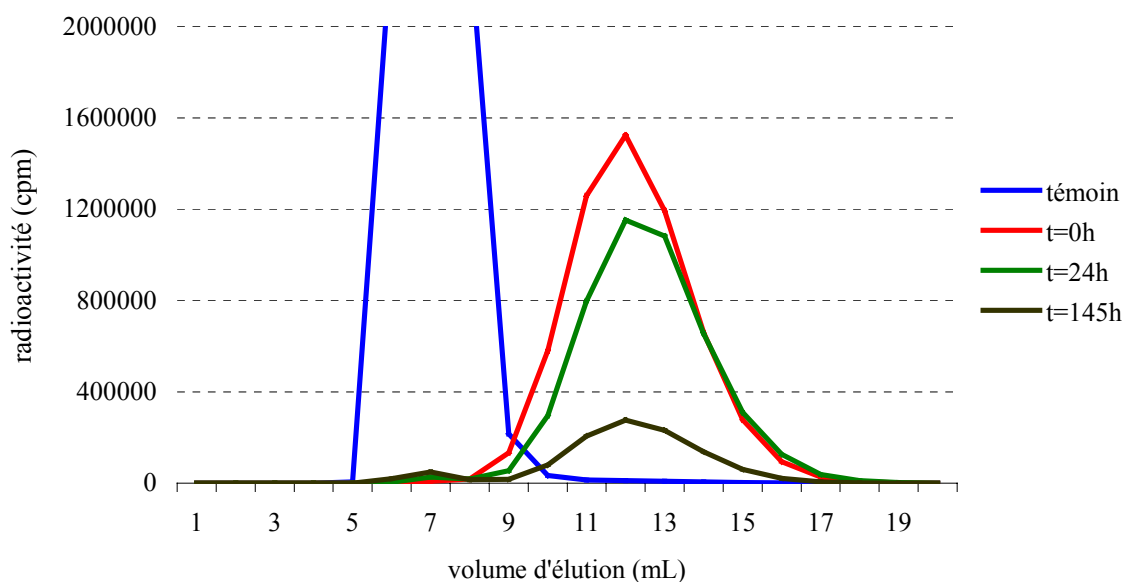


figure C-16 Stabilité sérique du Ph-DTPA-In

#### Résultats obtenus avec le Ph-TTHA

Comme le Ph-TTHA est capable de chélater l'indium de façon quantitative, nous avons testé la stabilité du complexe Ph-TTHA-In en milieu sérique (figure C-17). Il est étonnant de constater qu'il existe une différence très importante entre la stabilité sérique des complexes Ph-DTPA-In et Ph-TTHA-In. En effet, après 24 heures d'incubation, pratiquement tout le radionucléide est relargué avec ce dernier agent chélatant. Ce résultat est en accord avec les observations de Martell et Smith : une fois la coordinence du métal dépassée, une augmentation excessive du nombre de fonctions chélatantes d'un ligand entraîne bien souvent la formation de complexes moins stables.<sup>125</sup>

<sup>125</sup> Martell A.E., Smith R.M., Critical stability constants, volume 4 : Inorganic complexes, Plenum Press, New York, 1976.

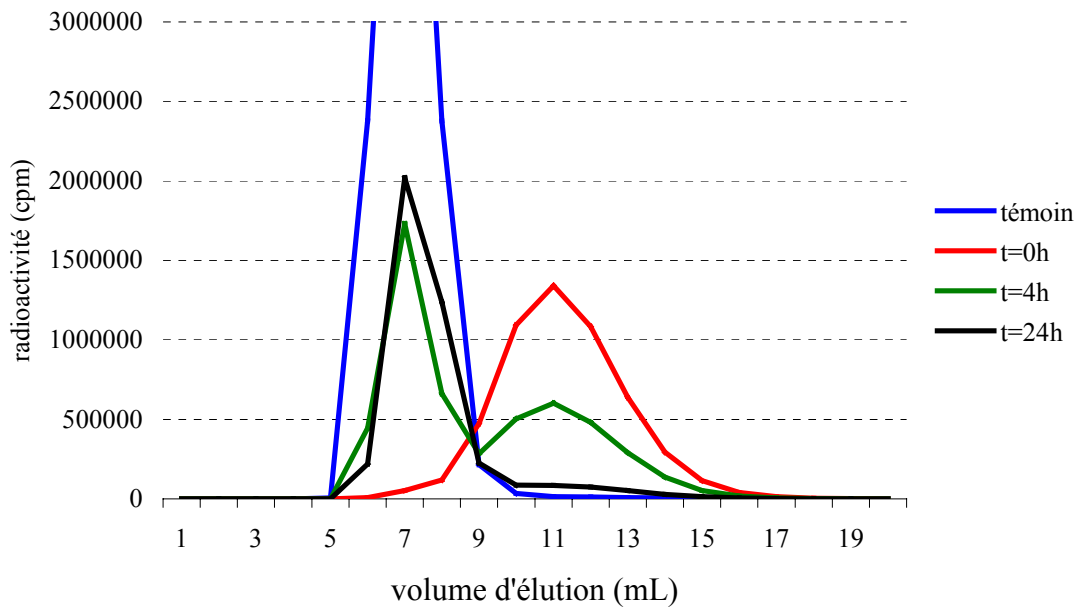


figure C-17 Stabilité sérique du Ph-TTHA-In

Les résultats enregistrés entre le Ph-DTPA, le Ph-TTHA et les radionucléides peuvent être représentés sous forme de courbes où le pourcentage de radioactivité relarguée est exprimé en fonction du temps. Les graphiques des figures C-18 et C-19 permettent alors d'avoir une vision globale de la stabilité des deux complexes. On observe ainsi une légère différence dans la vitesse de décomplexation des deux entités Ph-DTPA-yttrium et Ph-DTPA-samarium.

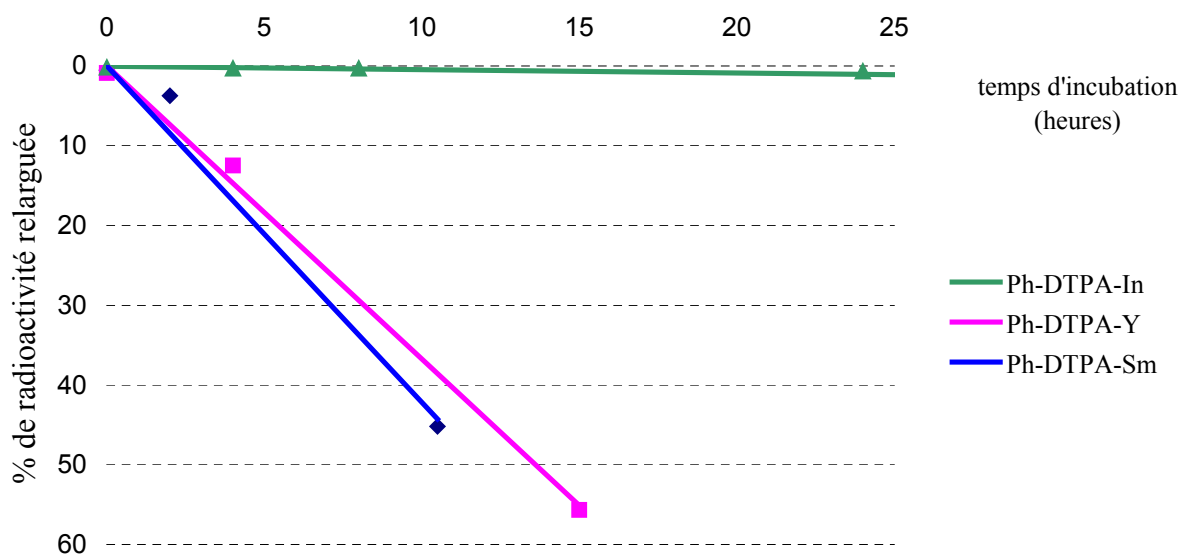


figure C-18 Stabilité sérique du Ph-DTPA



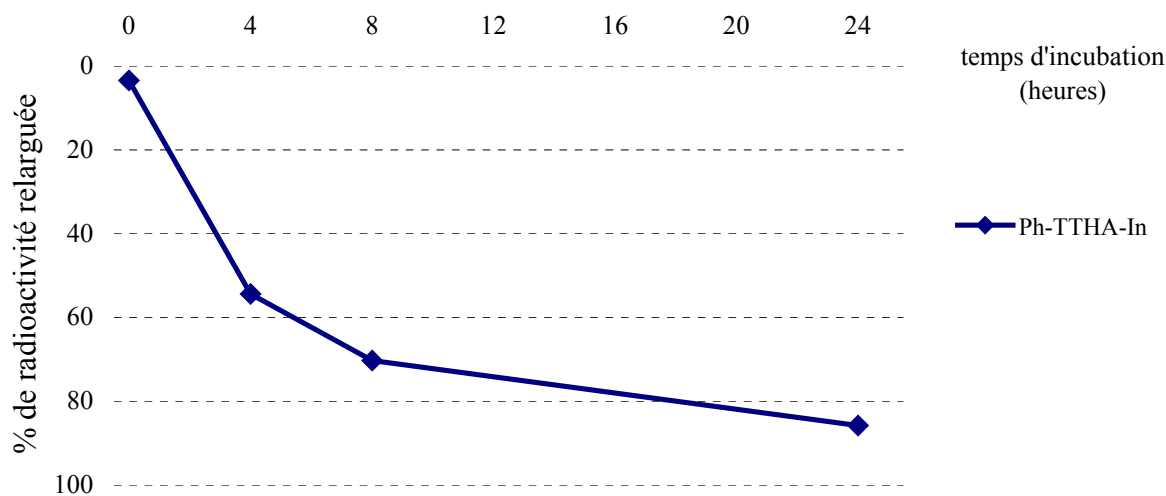


figure C-19 Stabilité sérique du Ph-TTHA

Il nous reste maintenant à évaluer l'inertie des complexes du Ph-DTPA et du Ph-TTHA avec le bismuth 213, qui est actuellement considéré comme un des émetteurs  $\alpha$  les plus prometteurs pour une utilisation en RIT. Nous espérons donc disposer prochainement d'un générateur de bismuth pour effectuer ces tests.

Ainsi, au travers de ce chapitre, nous avons développé deux synthèses originales d'analogues du DTPA et du TTHA. Les synthèses des ligands Ph-DTPA **50** et Ph-TTHA **57** se font en 5 étapes avec des rendements respectifs de 42 et 20%.

De plus, nous avons montré la forte aptitude de ces agents chélatants à complexer de nombreux radionucléides et nous avons mis en évidence la très forte stabilité du complexe Ph-DTPA-In dans le sérum humain.

Ces résultats encourageants seront complétés sur différents radioéléments, par des tests de compétitions entre les composés **50** et **57** et les meilleurs agents chélatants disponibles actuellement. De plus, la valeur de la constante de complexation de l'entité Ph-DTPA-In est actuellement en cours de détermination.

**PARTIE D: Vers la synthèse de nouveaux  
composés macrocycliques**

Les agents chélatants macrocycliques sont généralement capables de former des complexes thermodynamiquement plus stables et possédant une plus grande inertie cinétique que leurs homologues linéaires.<sup>126</sup> Cette meilleure stabilité est principalement due au phénomène appelé "effet macrocyclique" qui est illustré figure D-1 ou l'on peut comparer les valeurs des constantes de stabilité entre les complexes du cuivre formés par le ligand 2,3,2-tet (*N,N'*-di(2-aminoéthyl)propylènediamine) et le macrocycle *méso* tet *a* (5,7,7,12,14,14-hexaméthyl-1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane). Lorsque ces deux agents chélatants sont complexés, le chélate macrocyclique rouge Cu(tet *a*)<sup>2+</sup> est 10 000 fois plus stable que le linéaire Cu(2, 3, 2-tet)<sup>2+</sup>.<sup>127</sup> La configuration et la solvation particulière du macrocycle tet *a* explique en grande partie ce gain de stabilité.

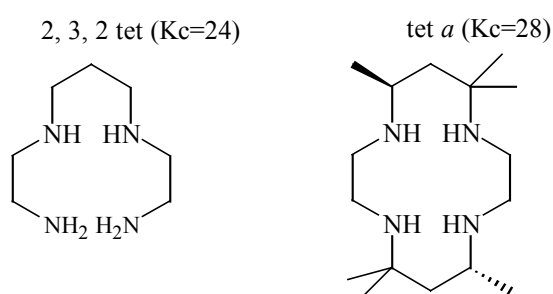


figure D-1 Structure des ligands 2,3,2 tet et tet *a*

En raison du fort pouvoir chélatant de ces molécules, de nombreuses équipes travaillent actuellement sur la synthèse de nouveaux macrocycles polyazotés.<sup>128</sup> Nous avons envisagé pour notre part la synthèse de l'analogue aromatique du HEHA (acide 1,4,7,10,13,16-hexaazacyclooctadécane-*N,N',N'',N''',N''''',N''''''*-hexaacétique), le Ph-HEHA présenté figure D-2, qui possède la faculté de former des complexes stables avec l'actinium 225, métal prometteur pour la RIT  $\alpha$ . De plus, même si le Ph-HEHA reste la cible prioritaire, il pourrait être également intéressant de disposer de son analogue à cinq atomes d'azote : le Ph-PEPA (modèle du PEPA).

<sup>126</sup> Lukeš I., Kotek J., Vojtišek P., Hermann P., *Coord. Chem. Rev.*, **2001**, 216-217, 287. Bianchi A., Calabi L., Corana F., Fontana S., Losi P., Maiocchi A., Paleari L., Valtancoli B., *Coord. Chem. Rev.*, **2000**, 204, 309.

<sup>127</sup> Cabbiness D.K., Margerum D.W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 6540.

<sup>128</sup> Couchet J.M., Galaup C., Tisnès P., Picard C., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 4869. Burguete M.I., Escuder B., García-España E., Luis S.V., Miravet J.F., *Tetrahedron*, **2002**, 58, 2839. Kim B.M., Mog So S., Choi J.H., *Org. Lett.*, **2002**, 4, 949. Charbonnière L.J., Weibel N., Ziessel R.F., *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 3933. Manning H.C., Goebel T., Marx J.N., Bornhop D.L., *Org. Lett.*, **2002**, 4, 1075. Choi H-J., Bae Y-K., Kang S-C., Park Y.S., Park J.W., Kim W-I., Bell T.W., *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 9385. Vlassa M., Huang R., Jackson E.J., Dye J.L., *Tetrahedron*, **2002**, 58, 5849.

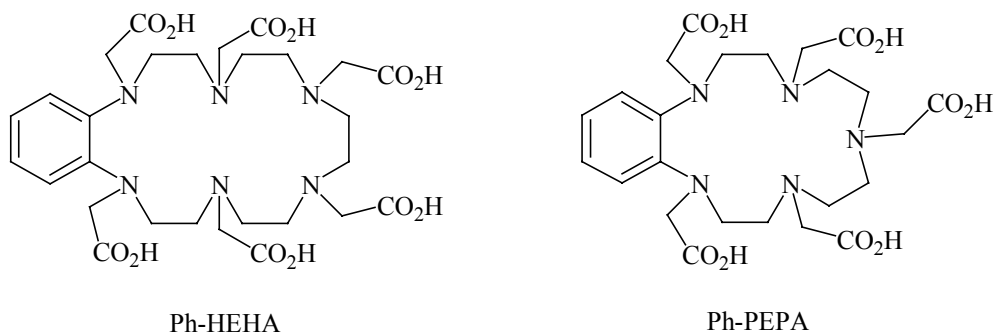


figure D-2 Structure du Ph-HEHA et du Ph-PEPA

### D-1-1 Voie de "synthèse peptidique"

Dans un premier temps, nous avons envisagé la synthèse de ces deux nouveaux composés en utilisant l'intermédiaire **54** comme produit de départ. Ce dernier, qui a déjà été employé pour l'obtention du Ph-TTHA, pourrait maintenant permettre de synthétiser le Ph-HEHA et le Ph-PEPA selon un protocole similaire exposé figure D-3.

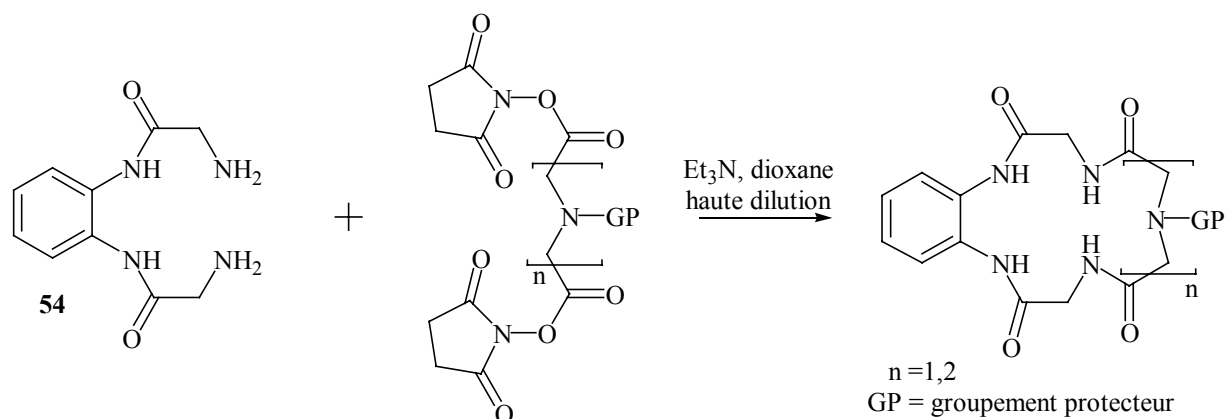


figure D-3 Voie de synthèse peptidique

Précédemment utilisée par l'équipe de Martin Brechbiel, cette voie peptidique s'est révélée efficace pour synthétiser un macrocycle comprenant 4 atomes d'azote (DOTA) avec un rendement de 44% lors de l'étape de cyclisation.<sup>129</sup> Afin d'éviter la formation de polymères, il est nécessaire de travailler dans un milieu fortement dilué.

<sup>129</sup> McMurry T.J., Brechbiel M., Kumar K., Gansow O.A., *Bioconjugate Chem.*, **1992**, 3, 108.

La synthèse du composé **58** décrite par cette même équipe n'a pas pu être reproduite. Elle consiste à protéger les atomes d'azote de l'acide éthylènediamine-*N,N'*-diacétique par le réactif commercial Boc-ON,<sup>130</sup> puis à faire précipiter le produit résultant en ajoutant de l'éther de pétrole. A ce stade, nous n'avons pas observé de précipitation, probablement à cause de la plus faible quantité de produit utilisé (environ 100 fois moins). En raison du prix important du Boc-ON et surtout du diacide de départ, nous n'avons pas reproduit la manipulation sur une quantité équivalente. Nous avons préféré utiliser le réactif Boc<sub>2</sub>O qui permet de protéger les amines dans un mélange dioxane/soude, pour obtenir les produits **58** et **60** avec des rendements respectifs de 52% et 63% (figure D-4).

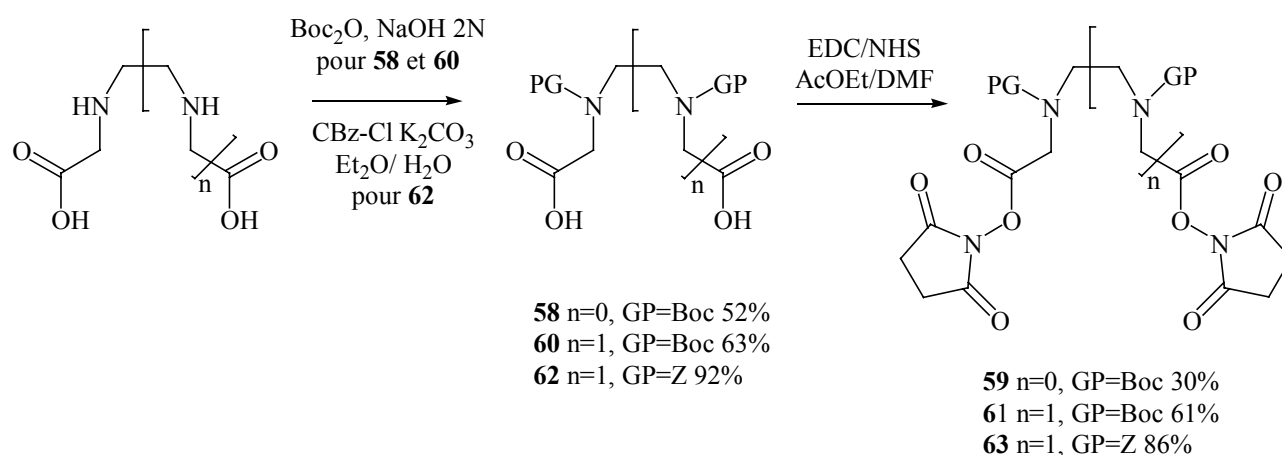


figure D-4 Synthèse des esters activés

L'étape suivante est réalisée dans un mélange DMF/acétate d'éthyle en utilisant l'EDC (1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide) qui active les fonctions acides pour permettre ensuite l'attaque du *N*-hydroxysuccinimide. Après précipitation des produits, nous obtenons des rendements peu satisfaisants et inférieurs à ceux décrits par Martin Brechbiel. Ces deux synthèses d'amines protégées par un groupement *tert*-butoxycarbonyl étant relativement peu efficaces, nous avons substitué cet agent protecteur par un autre carbamate. Le groupement Z est alors introduit sur les azotes par le chloroformate de benzyle. Cette réaction, effectuée dans un mélange biphasique composé d'éther diéthylique et d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium, entraîne la formation du composé **62** avec un rendement de 92%.<sup>131,132</sup> L'étape suivante d'activation des acides par l'EDC puis par le NHS permet de générer le produit **63** avec un rendement de 86%.

<sup>130</sup> Garriges B., Lazraq M., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 1685.

<sup>131</sup> Pitt C.G., Bao Y., Thompson J., Wani M.C., Rosenkrantz H., Metterville J., *J. Med. Chem.*, **1986**, 29, 1231.

<sup>132</sup> Arnaud N., Picard C., Cazaux L., Tisnès P., *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 5531.

Une fois les molécules **59**, **61** et **63** obtenues, différents essais de cyclisation sur la diamine **54** ont été entrepris dans le dioxane. Malheureusement, malgré les conditions de haute dilution utilisées, nous n'avons pas observé la formation des tétraamides macrocycliques attendues.

Cette absence de cyclisation nous a conduit à changer la nature de l'électrophile. Le composé **64** est alors synthétisé à partir de l'éthylènediamine et du bromure de bromoacétyle (figure D-5). Malgré le rendement modeste, identique à celui décrit dans la littérature,<sup>133</sup> cette voie d'accès au *bis*-bromoamide **64** reste intéressante étant donnée sa facilité de mise en œuvre et le faible coût des réactifs de départ. De plus, l'emploi de ce composé permet d'éviter les étapes supplémentaires de protection et de déprotection des amines. En effet, les carbonyles des fonctions amides protègent les atomes d'azote en permettant une délocalisation de leurs doublets.

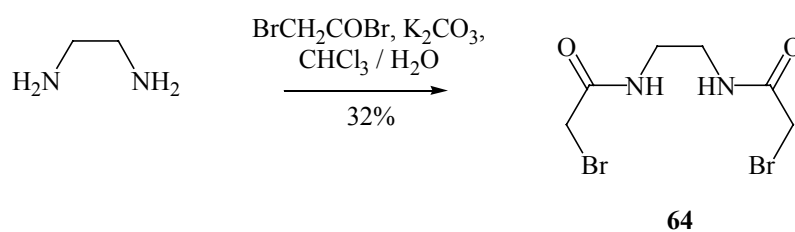


figure D-5 Synthèse du *bis*-bromoamide **64**

Les essais de formation d'un macrocycle avec cet agent alkylant ont permis d'obtenir le composé **65** (figure D-6). Le rendement de 33% est relativement correct pour ce type de cyclisation étant donnée la possibilité de nombreuses réactions parasites conduisant à la formation de polymères.<sup>134</sup> Les meilleures conditions expérimentales consistent à faire réagir les deux réactifs **54** et **64** dans le DMF et à température ambiante, en présence de triéthylamine. Nous avons éprouvé de grandes difficultés à isoler le macrocycle **65** de façon totalement pure. Pour réaliser cette opération, le brut réactionnel subit après filtration un bullage d'acide chlorhydrique dans le méthanol. Ces conditions opératoires entraînent alors la précipitation du composé qui est isolé sous forme de dichlorhydrate.

<sup>133</sup> Ueda T., Yamada H., Hirata M., Imoto T., *Biochemistry*, **1985**, 24, 6316.

<sup>134</sup> Krakowiak K.E., Bradshaw J.S., Izatt R.M., *J. Heterocycl. Chem.*, **1990**, 27, 1585.

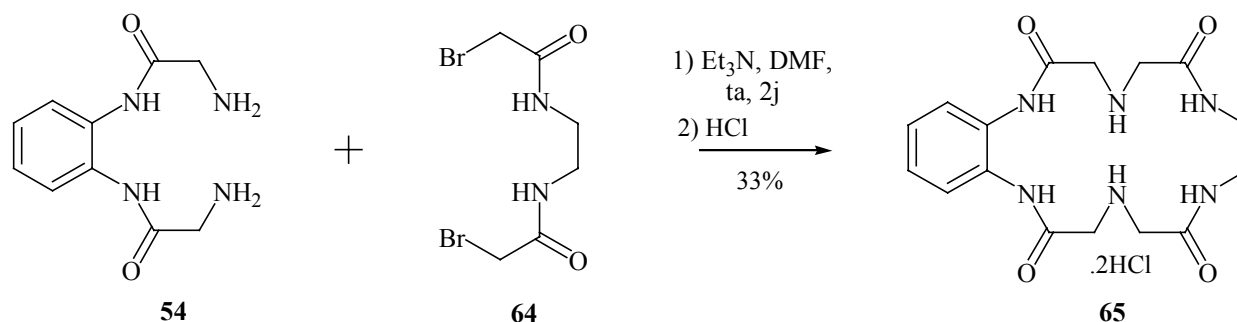


figure D-6 Synthèse du macrocycle **65**

La réduction des fonctions amides du macrocycle en utilisant le complexe borane-diméthylsulfure ou par l'utilisation d'hydrure de lithium et d'aluminium n'a pas permis de former l'hexaamine désirée.<sup>135, 136</sup> Les substrats employés dans ce type de réactions sont souvent des produits sous forme de bases libres, c'est pourquoi nous avons essayé d'isoler le macrocycle **65** sous forme d'amines non protonées. Malheureusement, même après une déprotection des deux chlorhydrates, le produit obtenu est encore soluble en phase aqueuse et nous n'avons pas pu l'extraire des solutions basiques utilisées ( $K_2CO_3$ , NaOH 2M).

Les différents essais de réduction des fonctions amides s'étant révélés infructueux, nous avons décidé d'employer une autre stratégie de synthèse.

### D-1-2 Voie de synthèse selon la méthode de Richman-Atkins

Développée en 1974 par Jack Richman et Thomas Atkins, cette méthode s'est rapidement imposée comme une technique de référence pour la synthèse de macrocycles polyazotés de taille variable.<sup>137</sup> Encore très utilisée actuellement,<sup>138</sup> elle offre une alternative intéressante aux réactions de cyclisations par couplage peptidique ou aux réactions de substitutions nucléophiles faisant intervenir une base inorganique.<sup>139, 140</sup>

<sup>135</sup> Moreau P., Tinkl M., Tsukazaki M., Bury P.S., Griffen E.J., Snieckus V., Maharajh R.B., Kwok C.S., Somayaji V.V., Peng Z., Sykes T.R., Noujaim A.A., *Synthesis*, **1997**, 1010.

<sup>136</sup> Uoto K., Tomohiro T., Okuno H.Y., *J. Heterocycl. Chem.*, **1990**, 27, 893.

<sup>137</sup> Atkins T.J., Richman J.E., Oettle W.F., *Org. Synth.*, 58, 86. Richman J.E., Atkins T.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, 96, 7, 2268.

<sup>138</sup> Bazzicalupi C., Bencini A., Berni E., Bianchi A., Ciattini S., Giorgi C., Maoggi S., Paoletti P., Valtancoli B., *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 9107. Chong H-S., Garmestani K., Ma D., Milenic D.E., Overstreet T., Brechbiel M.W., *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3458.

<sup>139</sup> Cathala B., Cazaux L., Picard C., Tisnès P., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 1863.

<sup>140</sup> Favre-Réguillon A., Segat-Dioury F., Nait-Bouda L., Cosma C., Siaugue J-M., Foss J., Guy A., *Synlett*, **2000**, 868. Chavez F., Sherry D., *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 2990.

Cette technique de cyclisation possède la particularité de conduire aux produits désirés, souvent avec de bons rendements, sans qu'il soit nécessaire d'utiliser la haute dilution. Elle consiste le plus couramment à faire réagir des sels disodiques de polyamines tosylées ou métylées avec des fragments contenant des halogènes substituables ou des alcools activés.

Pour expliquer que cette réaction ne nécessite pas un milieu très dilué afin d'éviter la formation d'oligomères, une hypothèse a été émise. Il semblerait que les bons résultats observés ne soient pas essentiellement dûs à un effet template du cation utilisé,<sup>141</sup> mais plutôt à l'encombrement des groupements tosyloxy qui permettraient de restreindre la libre rotation des produits de départ. Une fois les réactifs préorganisés dans l'espace, la macrocyclisation est alors favorisée.<sup>142</sup>

Ces considérations nous ont conduit à utiliser cette méthode pour la construction de nos structures macrocycliques. Là encore, l'intermédiaire **55** employé préalablement lors de la synthèse du Ph-TTHA a été sélectionné comme réactif de départ.

Dans un premier temps, la tosylation du composé **55** est effectuée selon des conditions classiques, en utilisant quatre équivalents de chlorure de tosyloxy dans la pyridine (figure D-7).<sup>143</sup> Ce mode opératoire ne permet pas d'isoler le produit **67**, par contre nous observons la formation du composé tritosylé **66** avec un rendement de 67%. C'est en doublant le nombre d'équivalents de chlorure de tosyloxy que le produit tétratosylé est généré avec un rendement médiocre de 34%. Les essais entrepris à différentes températures et en substituant la pyridine par de la triéthylamine n'ont pas permis d'augmenter le rendement. D'autres tentatives devront néanmoins être effectuées dans un mélange de soude et de tétrahydrofurane.<sup>144</sup>

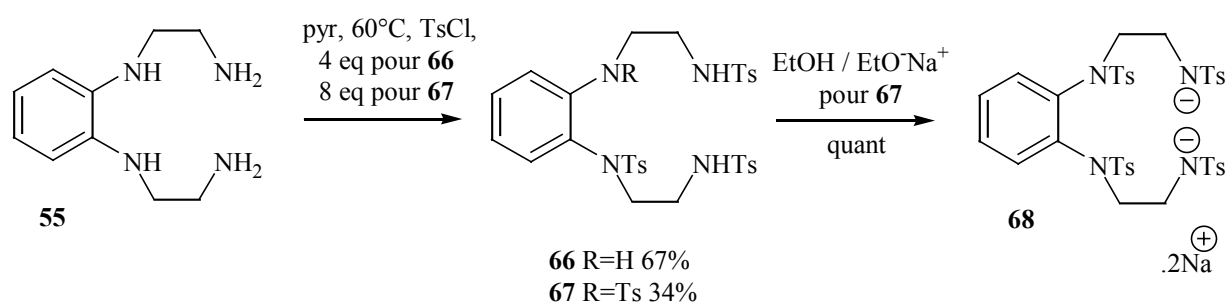


figure D-7 Protection des amines et formation du sel **68**

<sup>141</sup> Formica M., Fusi V., Giorgi L., Micheloni M., Palma P., Pontellini R., *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 402.

<sup>142</sup> Liu S., Edwards S., *Bioconjugate Chem.*, **2001**, 12, 7.

<sup>143</sup> Iwata M., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2000**, 73, 693.



Il semble donc que la protection du second azote aromatique soit particulièrement difficile. Deux facteurs peuvent expliquer ce manque de réactivité occasionné par le premier groupement tosyle porté par un des azotes aromatiques.

Ce dernier peut tout d'abord produire une gêne stérique importante qui rend le deuxième azote difficilement accessible. La fonction sulfonyle, en exerçant un effet électroattracteur important, doit aussi fortement désactiver la deuxième amine aromatique qui perd alors son pouvoir nucléophile.

L'étape de formation du sel disodé **68** (figure D-7) est effectuée en utilisant comme base l'éthanolate de sodium fraîchement préparé.<sup>137</sup> Une fois la réaction terminée, le produit est isolé de façon quantitative par précipitation, en rajoutant de l'éther anhydre dans le milieu réactionnel.

Après la synthèse du sel disodique **68** il est nécessaire de préparer les deux réactifs électrophiles selon les méthodes décrites dans la littérature.

Le composé **69** qui permet l'obtention du Ph-PEPA, est synthétisé en une étape en faisant réagir la diéthanolamine avec le chlorure de tosyle dans la triéthylamine (figure D-8).<sup>145</sup>

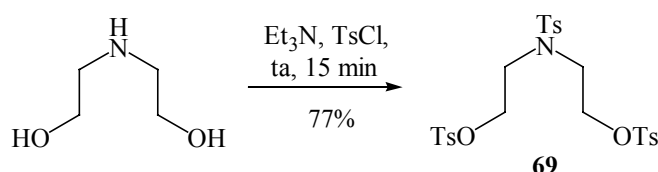


figure D-8 Synthèse du composé **69**

Par contre, la synthèse du composé diazoté **72**, présenté figure D-9, nécessite un plus grand nombre d'étapes.<sup>146</sup> Après une tosylation des atomes d'azote de l'éthylènediamine selon des conditions classiques, le composé **70** subit une réaction d'alkylation par le carbonate d'éthylène dans le DMF. Selon le principe HSAB, l'amine tosylée attaque préférentiellement sur un des deux méthylènes qui constituent un centre plus mou que le carbonyle. L'ouverture du cycle s'accompagne ici d'un dégagement de dioxyde de carbone. La dernière étape de cette synthèse consiste à tosyler les deux fonctions alcool du composé **71**. Cette opération est réalisée dans le dichlorométhane avec un rendement de 87%, en présence de diméthylaminopyridine (DMAP) qui active le chlorure de tosyle.

<sup>144</sup> Wagler T.R., Burrows C.J., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 277. Marecek J.F., Burrows C.J., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 5943.

<sup>145</sup> Bazzicalupi C., Bencini A., Fusi V., Micheloni M., Paoletti P., Valtancoli B., *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 7508.

<sup>146</sup> Pulacchini S., Watkinson M., *Eur. J. Org. Chem.*, **2001**, 4233.

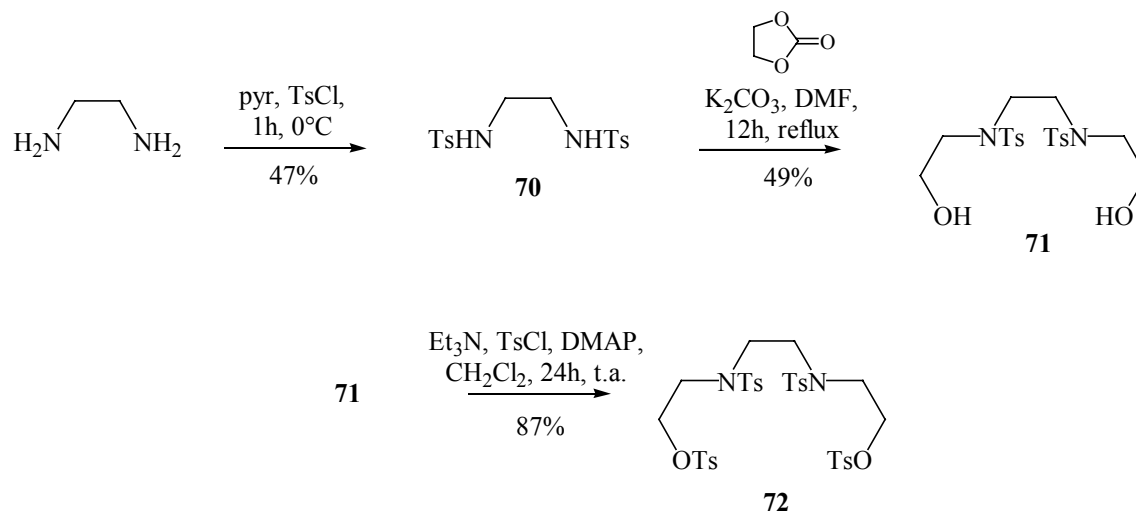


figure D-9 Synthèse du composé **72**

Une fois les produits **68**, **69** et **72** obtenus, il reste à mettre en place l'étape critique de macrocyclisation selon les conditions développées par Richman-Atkins (figure D-10). Dans un premier temps, le composé **68** est chauffé à 110°C dans le diméthylformamide en présence des réactifs **69** ou **72**. Ces conditions opératoires ont permis de générer les macrocycles **73** et **74** avec des rendements respectifs de 39% et de 25%. En introduisant simultanément les deux produits de départ à l'aide de pousse-seringues et en travaillant à haute dilution, nous avons augmenté significativement le rendement de la réaction pour le composé **74**. Il nous reste maintenant à appliquer cette méthode de haute dilution à la synthèse du macrocycle pentaazoté **73**.

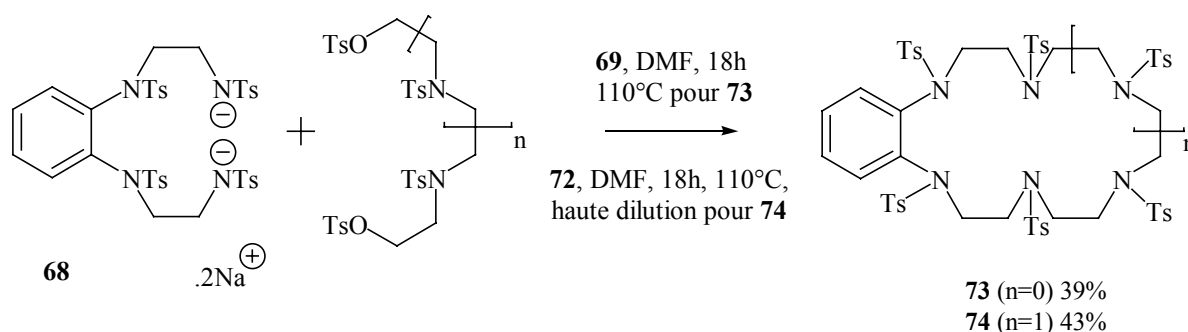


figure D-10 Synthèse des macrocycles **73** et **74**

Les azotes des macrocycles **73** et **74** devront être déprotégés puis alkylés afin d'obtenir les composés finaux déca ou dodécacoordinants.

### D-1-3 Voie de macrocyclisation en utilisant un chlorure d'acide

Parallèlement à ces travaux, nous avons entrepris la synthèse de la pentaamine macrocyclique **81** (figure D-14) décrite dans la littérature.<sup>147</sup> Contrairement à la voie que nous avons précédemment évoquée (§ D-1-2), celle-ci ne permettra pas de disposer du Ph-PEPA et du Ph-HEHA à partir d'un intermédiaire commun. Le Ph-HEHA pourra néanmoins être synthétisé selon un protocole similaire.

Les premières étapes consistent à tritosyler la diéthylènetriamine, puis à former le sel disodique correspondant.<sup>148</sup> Une fois le composé **76** obtenu, il est dialkylé par le chloroacétate de méthyle dans le diméthylformamide pour conduire au diester **77** avec un rendement de 76%. La saponification des esters méthyliques est effectuée par de la soude 2M à température ambiante. La molécule **78** est isolée par précipitation dans une solution diluée d'acide chlorhydrique (figure D-11).

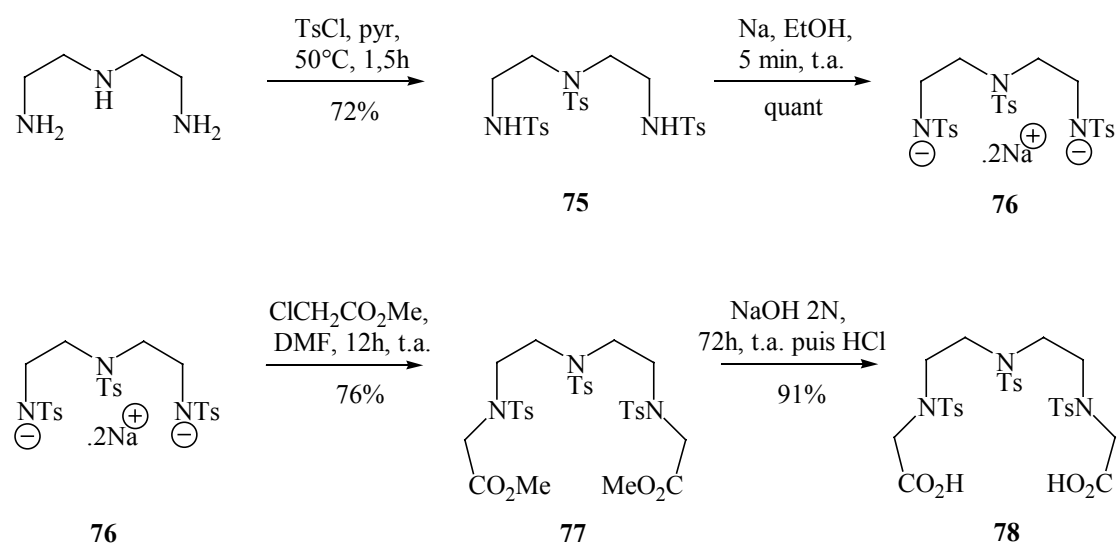


figure D-11 Synthèse du diacide **78**

<sup>147</sup> Aston K.W., Lennon P.J., Modak A.S., Neuman W.L., Riley D.P., Weiss R.H., *Eur. Pat. Appl.*, **1993**, EP0524161A1.

<sup>148</sup> Ciampolini M., Micheloni M., Nardi N., Paoletti P., Dapporto P., Zanobini F., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1984**, 1357. Chen D., Motekaitis R.J., Murase I., Martell A.E., *Tetrahedron*, **1994**, 51, 77.

Pour former le dichlorure de diacide **79**, le composé **78** est mélangé à du chlorure d'oxalyle pur à température ambiante (figure D-12) . Le produit **79**, obtenu avec un rendement de 96%, est stable à l'air et peut être conservé plusieurs semaines avant utilisation.

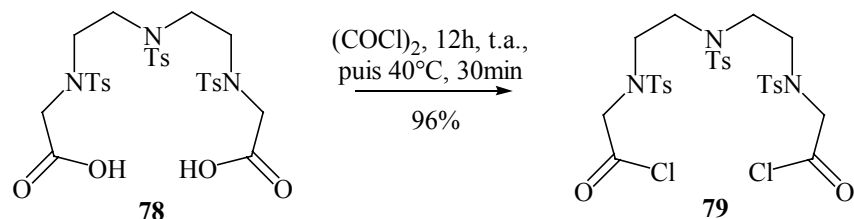


figure D-12 Synthèse du dichlorure d'acide **79**

L'étape limitante de cyclisation a lieu en introduisant au goutte à goutte et simultanément le composé **79** et l'*ortho*-phénylènediamine dans du dichlorométhane anhydre (figure D-13). En raison de sa faible solubilité, la diamide macrocyclique **80** est isolée par précipitation dans le dichlorométhane.

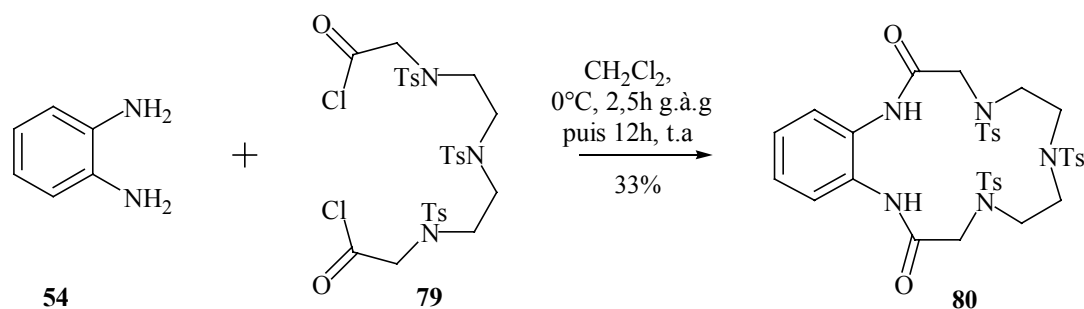


figure D-13 Synthèse de la diamide macrocyclique **80**

La réduction des fonctions amides et l'élimination des groupements tosyloxy sont réalisées en une étape. Comme le présente la figure D-14, l'emploi d'une solution commerciale d'hydrure de lithium et d'aluminium dans le diméthoxyéthane est particulièrement efficace et la pentaamine **81** est isolée avec un bon rendement de 82%.

Ce mode opératoire décrit par l'équipe de Dennis Riley, permet de disposer en 7 étapes du composé macrocyclique **81**.<sup>147</sup>

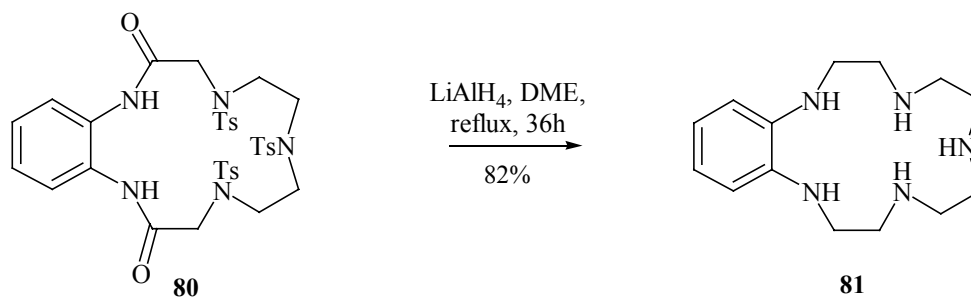


figure D-14 Synthèse de la pentaamine macrocyclique **81**

Parmi les différentes voies synthétiques envisagées, celle qui consiste à utiliser la réaction de Richman-Atkins lors de l'étape limitante de cyclisation s'est révélée particulièrement intéressante. En effet, elle devrait permettre de synthétiser le Ph-HEHA et le Ph-PEPA à partir du même intermédiaire **68** (figure D-10). Faute de temps, nous n'avons pas encore déprotégé les groupements tosyloxy des macrocycles **73** et **74**.

Même si de nombreuses méthodes sont décrites pour effectuer ce type de déprotection,<sup>149</sup> une détosylation complète est parfois difficile à mettre au point. Dans ce cas, pour la synthèse du Ph-HEHA, on pourra employer la voie de macrocyclisation par un chlorure d'acide, selon une série de réactions similaire à celles permettant l'obtention du macrocycle **81**.

Les réactions d'alkylation des polyazamacrocycles étant largement décrites dans la littérature,<sup>150</sup> cette étape ne devrait pas poser de problèmes et nous espérons accéder rapidement aux deux nouveaux agents chélatants souhaités.

<sup>149</sup> Hosseini M.W., Lehn J-M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 7047. Hosseini W., Lehn J-M., Duff S.R., Gu K., Mertes M.P., *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 1662. Itoh K., Fujishima A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 6267. Zheltvay I., Popkov Y., Shevchuk S., Korovin Y., Nazarenko N., *Polyhedron*, **1998**, 17, 145.

<sup>150</sup> Ouadi A., Loussouarn A., Remaud P., Morandea L., Apostolidis C., Musikas C., Faivre-Chauvet A., Gestin J-F., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 7207.

# **Conclusion**

Le concept de préorganisation qui intervient de façon importante dans la stabilité des complexes métalliques a orienté nos travaux. Le premier objectif de notre recherche a été de sélectionner parmi trois structures semi-rigides ou rigides, susceptibles d'induire une préorganisation, celle qui semble la plus appropriée pour l'élaboration de ligands. Nous avons pour cela synthétisé et étudié le pouvoir chélatant d'analogues de l'EDTA comportant un squelette cyclopentane pour les acides *cis*-CPDTA et *trans*-CPDTA ou aromatique pour le PHDTA. Egalement envisagé, le NRDTA n'a pas pu être synthétisé, probablement à cause de la réactivité particulière du bicyclic.

La synthèse des acides *cis* et *trans*-CPDTA a été effectuée selon un protocole similaire et avec de bons rendements. En raison du large champ d'application de l'EDTA, nous espérons que le *cis*-CPDTA plus rigide et qui n'avait jamais été synthétisé à notre connaissance, puisse également se révéler efficace, notamment pour la chélation de métaux de transition.

La facilité d'obtention du PHDTA, ses bonnes propriétés complexantes, ainsi que sa possible fonctionnalisation, nous ont conduits à sélectionner le cycle aromatique pour développer 5 nouveaux agents chélatants.

Nous avons mis au point la synthèse de trois ligands hexacoordinants aromatiques, qui varient uniquement par la nature d'un de leurs hétéroatomes (O, N ou S). Ces molécules ont principalement été élaborées pour déterminer l'influence de l'hétéroatome électrodonneur sur la chélation.

Le mauvais pouvoir complexant de ces ligands ne nous a pas permis de mener une étude approfondie concernant le rôle de l'hétéroatome. Cependant, suite aux tests de complexation, nous avons dégagé deux informations importantes :

- La modification d'un des hétéroatomes entraîne une variation importante de comportement lors de la complexation avec l'indium. En effet, inversement à l'analogue azoté, les analogues soufré ou oxygéné ne chélatent pas ce radioélément.
- Contrairement aux bons résultats décrits avec le technétium et le rhénium sur des structures proches, la fonction amide semble peu ou pas efficace pour complexer l'indium, le samarium, l'yttrium et le bismuth.

Ces deux données nous indiquent que l'étude pourrait être reconduite avec succès sur les mêmes ligands ne comportant pas la fonction amide.

Parallèlement, nous avons développé deux structures originales avec 8 et 10 centres de coordination et mimant l'enchaînement complexant du DTPA et du TTHA. Lors des nombreux tests de complexation, ces agents chélatants se sont révélés particulièrement efficaces. Notamment le Ph-DTPA qui complexe une large gamme de radionucléides ( $^{111}\text{In}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ) à pH acide et dans des conditions de haute dilution. Les pourcentages de chélation obtenus avec ce ligand sont du même ordre de grandeur et parfois supérieurs au DTPA. De plus, des études de stabilité sérique sur le Ph-DTPA ont montré sa capacité à former un complexe stable avec l'indium dans le sérum humain. Ces résultats très encourageants nous incitent maintenant à déterminer la stabilité sérique du complexe Ph-DTPA-Bi. En effet, ce métal constitue un émetteur  $\alpha$  très prometteur pour une utilisation en radioimmunothérapie.

Nous envisageons de fonctionnaliser prochainement le Ph-DTPA afin de disposer d'un ligand greffable sur des vecteurs chimiques ou biologiques pour une éventuelle utilisation en médecine nucléaire.

Le Ph-DTPA étant capable de complexer une variété importante de métaux, il pourrait faire l'objet d'autres applications. La fixation sur support solide de cette molécule pourrait par exemple être envisagée pour permettre la décontamination des effluents.

Les résultats prometteurs obtenus avec le Ph-DTPA, et dans une moindre mesure le Ph-TTHA, nous ont conduits à synthétiser d'autres analogues aromatiques. La faculté qu'ont de nombreux agents chélatants macrocycliques à former des complexes thermodynamiquement stables et inertes vis-à-vis de la décomplexation rendent ces structures particulièrement intéressantes. Nos efforts ont donc porté sur l'élaboration de polyazamacrocycles avec 10 ou 12 centres de coordination, analogues du PEPA et du HEHA, en vue de chélater un émetteur  $\alpha$  de forte coordinence : l'actinium 225. L'étape clef des synthèses étant accomplie, nous devrions disposer prochainement de ces nouvelles structures complexantes.

Pour compléter ce travail il sera nécessaire de déterminer si la structure aromatique des ligands synthétisés forme des complexes plus stables que les homologues linéaires ou à squelette semi-rigide. Actuellement, la modélisation moléculaire ne permet pas de déterminer ou de comparer la stabilité des complexes de lanthanides et d'actinides, cette opération est principalement effectuée de façon expérimentale et prédictive. Des tests de compétition entre le Ph-DTPA et le DTPA, ainsi que la mesure de la constante de complexation de l'entité Ph-DTPA-In sont actuellement en cours et devraient nous apporter un premier élément de réponse.



## **Partie expérimentale**



## Caractérisation des produits et modes opératoires

### R.M.N. $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ :

Les spectres ont été enregistrés au moyen d'un spectromètre BRUKER AC 200, BRUKER AVANCE 300 ou BRUKER ARX 400 avec le tétraméthylsilane (0.00 ppm) comme référence interne pour les échantillons en solution dans le  $\text{CDCl}_3$  (sauf indication contraire). Les abréviations suivantes indiqueront la multiplicité des signaux : s = singulet, se = singulet élargi, d = doublet, dd = doublet dédoublé, t = triplet, td = triplet dédoublé, q = quadruplet, m = multiplet.

### Spectrométrie Infra-Rouge :

Les spectres des différentes huiles et solides (pastilles de KBr) ont été enregistrés au moyen d'un spectromètre BRUKER Vector 22 et traités par le logiciel Opus sous OS/2.

Les abréviations suivantes indiqueront les intensités des signaux : tF= très forte, F= forte.

### Spectrométrie de masse :

Les spectres basse résolution ont été enregistrés au moyen d'un spectromètre HELWETT PACKARD 5989 A à impact électronique (70 eV) et à ionisation chimique positive ou avec un appareil BRUKER Esquire LC à trappe d'ions en mode électrospray.

La masse haute résolution a été déterminée au Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest à Rennes ou au centre de Spectrométrie de Masse Bio-Organique de l'université de Rouen.

### Chromatographies :

#### *Sur couche mince.*

Les réactions ont été suivies par chromatographie sur couche mince (CCM) Kieselgel 60 F<sub>254</sub> MERCK Art. 5714.

#### *Sur colonne.*

La purification de la majorité des produits a été effectuée par flash chromatographie sur gel de silice MERCK Kieselgel 60 Art. 7734 ou 9385.

### Mesures physiques :

#### *Températures de fusion :*

Elles ont été déterminées à l'aide d'un microscope RCH (C.REICHERT) à platine chauffante KOFLER et ne sont pas corrigées.

#### *Analyse thermique :*

Les analyses thermogravimétriques (ATG) ont été obtenues à l'aide d'une thermobalance Perkin Elmer TGS2 sous courant d'air. La température varie de 30°C à 300°C à raison de 1°C/mn ou 2°C/mn.

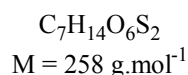
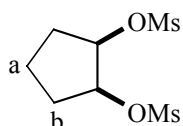
#### *Analyses élémentaires :*

Elles ont été effectuées au Service Central d'Analyse de Vernaison ou à l'Université de pharmacie de Châtenay-Malabry.

## Synthèse du 1,2-diméthylsulfonyloxycyclopentane *cis* (1) et *trans* (2)

Du chlorure de méthanesulfonyle (100 mmol) est additionné goutte à goutte sous argon à une solution de cyclopentane-1,2-diol *cis* pour **1** et *trans* pour **2** (20 mmol) et de triéthylamine (156 mmol) dans du dichlorométhane (100 mL) à 0°C. L'agitation est maintenue à 0°C pendant 4 heures puis 3 heures à température ambiante. La solution est lavée par une solution d'acide chlorhydrique 1M (2x100 mL) puis par une solution de soude 2M (1x100 mL) et enfin par de l'eau (1x100 mL). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé sous pression réduite. La purification du composé est achevée par cristallisation dans l'éthanol et le produit **1** ou **2** est isolé sous forme de cristaux jaunes.

### *Cis*-1,2-diméthylsulfonyloxycyclopentane (1)



F=69°C; Rdt=90%.

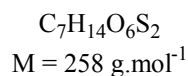
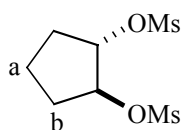
**RMN <sup>1</sup>H** : 1,60-2,20 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 3,09 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 5,00 (m, 2H, 2CH).

**RMN <sup>13</sup>C** : 18,4 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 28,6 (2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 38,7 (2CH<sub>3</sub>), 80,5 (2CH).

**SM** m/e (I%) ; **CI** : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>=276 (100). **EI** : 162 (13), 101 (34), 83 (100), 55 (62).

**IR** : 2975 (F), 2951 (F), 1392 (F), 1362 (tF).

### *Trans*-1,2-diméthylsulfonyloxycyclopentane (2)



F=95°C; Rdt=91%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,75-2,35 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 3,07 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 5,07 (m, 2H, 2CH).

**RMN <sup>13</sup>C** : 21,0 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 30,6 (2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 38,5 (2CH<sub>3</sub>), 84,9 (2CH).

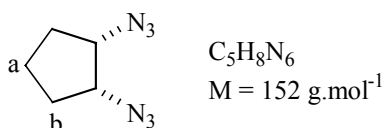
**SM** m/e (I%) ; **CI** : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>=276 (100). **EI** : 258, 162 (17), 101 (32), 83 (100), 55 (53).

**IR** : 2941 (F), 1344 (tF), 1181 (F), 980 (F).

## Synthèse du 1,2-diazidocyclopentane *cis* (3) et *trans* (4)

Le composé **1** ou **2** (6,4 mmol), de l'azoture de sodium (31,4 mmol) et une quantité catalytique d'éther couronne (15-crown-5) sont ajoutés dans du diméthylformamide anhydre (30 mL) sous argon. Le mélange réactionnel est porté à 110°C et l'agitation est maintenue pendant 3 jours. Après refroidissement, le mélange est repris par du dichlorométhane (1x100 mL), lavé par de l'eau (4x100 mL) et séché sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé et le résidu est chromatographié. L'élution par du dichlorométhane fournit les diazides **3** ou **4** qui sont obtenus sous forme d'huiles incolores.

### *Cis* -1,2-diazidocyclopentane (3)



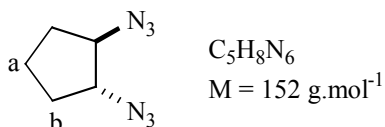
Rdt=83%.

**RMN  $^1\text{H}$**  : 1,50-2,10 (m, 6H, 3 $CH_2$ ), 3,82 (m, 2H, 2 $CH$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  : 20,0 ( $C_aH_2$ ), 28,0 (2 $C_bH_2$ ), 64,5 (2 $CH$ ).

**SM m/e (I%)** ; EI : 152 (100).

### *Trans* -1,2-diazidocyclopentane (4)



Rdt=86%.

**RMN  $^1\text{H}$**  : 1,50-2,10 (m, 6H, 3 $CH_2$ ), 3,74 (m, 2H, 2 $CH$ ).

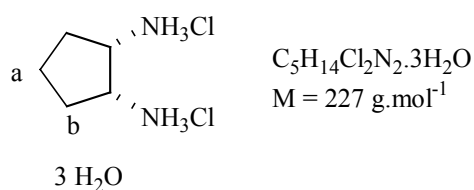
**RMN  $^{13}\text{C}$**  : 20,9 ( $C_aH_2$ ), 29,3 (2 $C_bH_2$ ), 67,0 (2 $CH$ ).

**SM m/e (I%)** ; EI : 152 (100).

## Synthèse du dichlorhydrate de cyclopentane-1,2-diamine *cis* (5) et *trans* (6)

Le composé 3 ou 4 (1,6 mmol) est mélangé au catalyseur de Pearlman (0,2 mmol) dans une solution méthanol / acide chlorhydrique 2M (10 mL, 1/1). Après 16 heures d'agitation à température ambiante sous atmosphère d'hydrogène, la solution est filtrée sur célite qui est rincée par du méthanol (120 mL). Le solvant est évaporé sous pression réduite pour conduire à un solide vert qui est repris par une solution éthanol / dichlorométhane (4/1). Le précipité obtenu est essoré sur millipore pour conduire au composé 5 ou 6 sous forme d'un solide blanc.

### Dichlorhydrate de *cis*-cyclopentane-1,2-diamine (5)



F=270°C; Rdt=88%.

**RMN  $^1H$**  ( $D_2O$ ) : 1,93 (m, 4H,  $2C_bH_2$ ), 2,26 (m, 2H,  $C_aH_2$ ), 3,94 (m, 2H, 2CH).

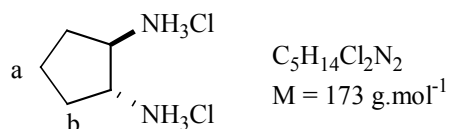
**RMN  $^{13}C$**  ( $D_2O$ ) : 22,4 ( $C_aH_2$ ), 30,5 ( $2C_bH_2$ ), 56,3 (2CH).

**SM** m/e (I%) ; CI :  $M+H^+ - 2HCl = 101$  (12), 82 (34), 56 (95), 36 (100).

**IR** : 3520 (F), 3349 (F), 1500 (F), 1090 (F).

**TGA** : de 25°C à 300°C, 23,8% d'eau perdue.

### Dichlorhydrate de *trans*-cyclopentane-1,2-diamine (6)



F=280°C; Rdt=91%.

**RMN  $^1H$**  ( $D_2O$ ) : 1,86 (m, 4H,  $2C_bH_2$ ), 2,33 (m, 2H,  $C_aH_2$ ), 3,79 (m, 2H, 2CH).

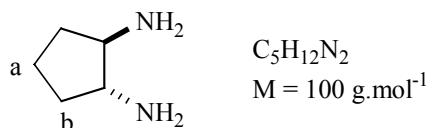
**RMN  $^{13}C$**  ( $D_2O$ ) : 25,2 ( $C_aH_2$ ), 33,2 ( $2C_bH_2$ ), 58,7 (2CH).

**SM** m/e (I%) ; CI :  $M^+ - HCl = 136$  (100).

**IR** : 3400 (F), 3339 (F), 1500 (F), 1492 (F).

**TGA** : de 25°C à 300°C, 0% d'eau perdue.

## Synthèse de la *trans*-cyclopentane-1,2-diamine (7)



Le composé **4** (2,07 mmol) est mélangé a du palladium (10%) sur charbon (0,05 mmol) dans de l'éthanol absolu (15 mL). Le mélange est agité pendant 6 heures à température ambiante sous atmosphère d'hydrogène. La solution est filtrée sur célite et rincée par de l'éthanol (100 mL). Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite pour conduire au composé **7** sous forme d'une huile incolore.

Rdt=90%.

**RMN  $^1H$**  ( $D_2O$ ) : 1,50-1,80 (m, 8H,  $2C_bH_2+2NH_2$ ), 1,96 (m, 2H,  $C_aH_2$ ), 3,73 (m, 2H, 2CH).

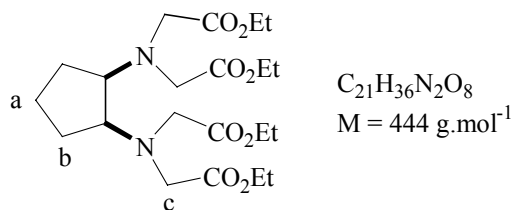
**RMN  $^{13}C$**  ( $D_2O$ ) : 20,2 ( $C_aH_2$ ), 33,7 ( $2C_bH_2$ ), 61,5 (2CH).

**SM** m/e (I%) ; CI :  $M^+$  = 100 (100).

## Synthèse du cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétate de tétraéthyle *cis* (**8**) et *trans* (**9**).

Le composé **5** ou **6** (2,2 mmol) et du carbonate de potassium (14,5 mmol) sont agités dans de l'acétonitrile anhydre (30 mL) pendant 24 heures à 60°C sous argon. De l'iodure de potassium (3,2 mmol) est ajouté à la solution ainsi que du bromoacétate d'éthyle (14,8 mmol) dilué dans de l'acétonitrile anhydre (7 mL). Le mélange est agité pendant 48 heures à 60°C sous argon. Après filtration puis concentration du filtrat, l'huile résultante est dissoute dans de l'acide chlorhydrique 0,5M (125 mL). La phase aqueuse est lavée par de l'éther diéthylique (125 mL) et rendue basique par une solution de soude 0,56M (125 mL). Une nouvelle extraction par de l'éther diéthylique (100 mL) permet de récupérer le produit dans la phase organique. Le solvant est évaporé et le résidu repris par du dichlorométhane est chromatographié. Après élution par un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (9/1) le composé **8** ou **9** est obtenu sous forme d'une huile incolore.

**Cis- cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétate de tétraéthyle (8)**



Rdt=55%.

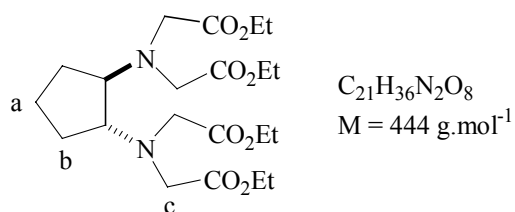
**RMN  $^1H$**  (400MHz): 1,26 (t, 12H, 4 $CH_3$ ,  $J^3 = 7,2$  Hz), 1,30-2,00 (m, 6H,  $C_aH_2+2C_bH_2$ ), 3,38 (m, 2H, 2 $CH$ ), 3,67+3,80 (2d, 8H, 4 $C_cH_2$ ,  $J^2 = 17,4$  Hz), 4,14 (q, 8H, 4 $CH_2CH_3$ ,  $J^3 = 7,2$  Hz).

**RMN  $^{13}C$**  (100MHz): 14,3 (4 $CH_3$ ), 21,6 ( $C_aH_2$ ), 28,4 (2 $C_bH_2$ ), 53,8 (4 $C_cH_2$ ), 60,2 (4 $CH_2CH_3$ ), 62,9 (2 $CH$ ), 172,2 (4 $C=O$ ).

**SM m/e (I%)** ; CI :  $M+H^+ = 445$  (100). EI : 444 (13), 228 (57), 168 (65), 29 (100).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 56,76 ; H, 8,11 ; N, 6,31. Exp. C, 56,52 ; H, 8,23 ; N, 6,44.

**Trans- cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétate de tétraéthyle (9)**



Rdt=68%.

**RMN  $^1H$**  : 1,24 (t, 12H, 4 $CH_3$ ,  $J^3 = 7,1$  Hz), 1,35-1,96 (m, 6H,  $C_aH_2+2C_bH_2$ ), 3,29 (m, 2H, 2 $CH$ ), 3,59 et 3,71 (2d, 8H, 4 $C_cH_2$ ,  $J^2 = 17,4$  Hz), 4,13 (q, 8H, 4 $CH_2CH_3$ ,  $J^3 = 7,1$  Hz).

**RMN  $^{13}C$**  : 14,3 (4 $CH_3$ ), 22,0 ( $C_aH_2$ ), 27,8 (2 $C_bH_2$ ), 53,2 (4 $C_cH_2$ ), 60,5 (4 $CH_2CH_3$ ), 66,6 (2 $CH$ ), 171,8 (4 $C=O$ ).

**SM m/e (I%)** ; EI : 444 (7), 371 (10), 228 (13), 168 (23), 116 (19), 29 (100).

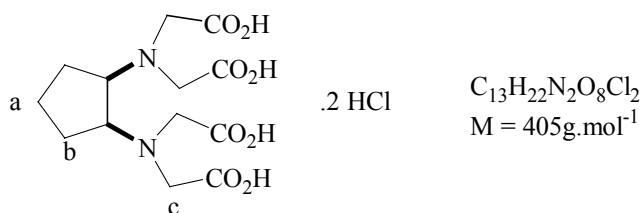
**Analyse élémentaire** : Calc. C, 56,76 ; H, 8,11 ; N, 6,31. Exp. C, 56,64 ; H, 8,36 ; N, 6,28.



## Synthèse du dichlorure de diammonium de l'acide cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétique *cis* (10) et *trans* (11)

Le composé **8** ou **9** (0,6 mmol) mis en solution dans de l'acide chlorhydrique 3M (30 mL) est porté à reflux pendant 12 heures. Le solvant est évaporé à 70°C. Le résidu est repris par de l'acide chlorhydrique 3M (30 mL) puis la solution est de nouveau évaporée à 85°C. Après séchage sous vide, le composé **10** ou **11** est obtenu sous forme d'une poudre beige.

### Dichlorure de diammonium de l'acide *cis*-cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétique (10)

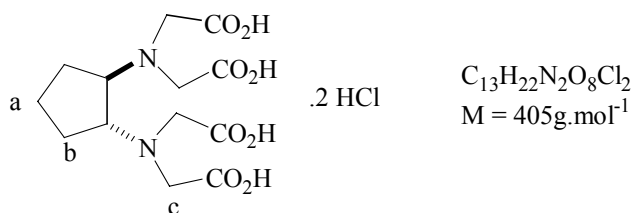


Rdt=98%.

**RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 1,50-2,20 (m, 6H,  $\text{C}_a\text{H}_2+2\text{C}_b\text{H}_2$ ), 3,70-4,20 (m, 10H, 2CH et  $4\text{C}_c\text{H}_2$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 20,7 ( $\text{C}_a\text{H}_2$ ), 26,0 ( $2\text{C}_b\text{H}_2$ ), 54,5 ( $4\text{C}_c\text{H}_2$ ), 66,0 (2CH), 172,6 ( $4\text{C}=\text{O}$ ).

### Dichlorure de diammonium de l'acide *trans*-cyclopentane-1,2-diamine-*N,N,N',N'*-tétraacétique (11)

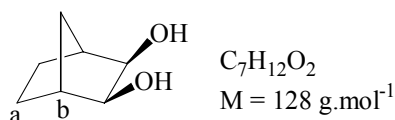


Rdt=98%.

**RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 1,60-2,18 (m, 6H,  $\text{C}_a\text{H}_2+2\text{C}_b\text{H}_2$ ), 3,74 -4,12 (m, 10H, 2CH et  $4\text{C}_c\text{H}_2$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 23,5 ( $\text{C}_a\text{H}_2$ ), 34,0 ( $2\text{C}_b\text{H}_2$ ), 52,6 ( $4\text{C}_c\text{H}_2$ ), 65,3 (2CH), 170,4 ( $4\text{C}=\text{O}$ ).

## Synthèse de l'exo-2,3-dihydroxybicyclo[2.2.1]heptane (**12**)



Du norbornylène (10,6 mmol) et du tétraoxyde d'osmium (0,05 mmol) en solution à 2,5% dans le 2-méthylpropan-2-ol sont ajoutés à de l'oxyde de *N*-méthylmorpholine (12,0 mmol) dans un mélange acétone / eau (80 mL, 4/1). Le mélange réactionnel est chauffé à 40°C pendant 24 heures. Du thiosulfate de sodium pentahydraté (11 mmol) est ajouté et le mélange est agité 3 heures à température ambiante. Après évaporation sous vide, une solution saturée de chlorure d'ammonium (60 mL) est additionnée et le produit est extrait par de l'acétate d'éthyle (3x100 mL). La phase organique est séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée sous vide pour conduire au composé **12** sous forme d'un solide blanc.

F=140°C; Rdt=98%.

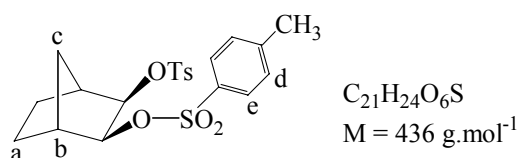
**RMN  $^1H$**  : 1,03-1,13 (m, 3H, 3CH), 1,40-1,48 (m, 2H, 2CH), 2,13 (m, 2H, 2CH), 2,72-2,79 (m, 1H, CH), 3,27 (se, 2H, 2OH), 3,67 (s, 2H, 2CHOH).

**RMN  $^{13}C$**  : 24,6 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 31,7 (C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 43,1 (2CH), 74,9 (2CHOH).

**SM** m/e (I%) ; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 146 (100).

**IR** : 3397 (F), 3249 (tF), 2959 (F), 1069 (F).

## Synthèse de l'exo-2,3-di(*p*-toluènesulfonyloxy)bicyclo[2.2.1]heptane (**13**)



Une solution de diol **12** (4,7 mmol) dissous dans du tétrahydrofurane (6 mL) est additionnée dans de la soude 5M (2,8 mL). Du chlorure de tosyloxy (59 mmol) est ajouté en 5 portions sur une période de 2,5 heures puis le mélange est agité 30 minutes à 6°C. De l'eau froide est ajoutée (50 mL), puis le mélange est extrait par du dichlorométhane (2x100 mL). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le solide obtenu est repris par du dichlorométhane et chromatographié. Après élution par un mélange dichlorométhane / éther de pétrole (3/1) le composé **13** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=131°C; Rdt=43%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,02-1,21 (m, 3H, 3CH), 1,47-1,51 (m, 2H, 2CH), 1,89-1,94 (m, 1H, CH), 2,34 (se, 2H, 2CH), 2,44 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 4,43 (s, 2H, 2CHOTs), 7,30 (d, 4H, 4C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,3 Hz), 7,78 (d, 4H, 4C<sub>e</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,3 Hz).

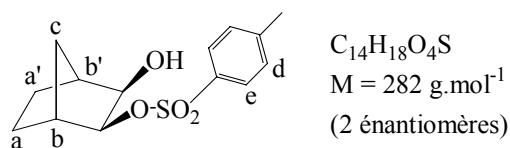
**RMN <sup>13</sup>C** : 21,8 (2CH<sub>3</sub>), 24,0 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 33,1 (C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 41,8 (2C<sub>b</sub>H), 81,5 (2CHOTs), 128,1 (4C<sub>d</sub>H), 129,9 (4C<sub>e</sub>H), 133,9 (2CCH<sub>3</sub>), 144,9 (2CSO<sub>3</sub>).

**SM m/e (I%)** ; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 454 (100).

**IR** : 2977 (F), 1372 (tF), 1177 (tF).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 57,78 ; H, 5,54 Exp. C, 57,85 ; H, 5,62.

### Synthèse de l'exo-3-hydroxy-2-*p*-toluènesulfonylbicyclo[2.2.1]heptane (14)



Une solution de diol **12** (1,6 mmol) dissous dans du tétrahydrofurane (2 mL) est additionnée dans de la soude 2M (0,93 mL). Du chlorure de tosyloxy (3,3 mmol) est ajouté par petites portions et le mélange est agité une heure à 6°C. De l'eau froide est ensuite ajoutée (5 mL) puis le mélange est extrait par du dichlorométhane (2x20 mL). La phase organique est séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le solide obtenu repris par du dichlorométhane est chromatographié. Après élution par du dichlorométhane, le composé **14** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=71°C; Rdt=72%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,00-1,17 (m, 3H, 3CH), 1,40-1,51 (m, 2H, 2CH), 1,83-1,89 (m, 1H, CH), 2,24 (se, 2H, 2CH), 2,42 (d, 1H, OH, J = 4,2 Hz), 2,46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,80 (m, 1H, CHOH), 4,33 (d, 1H, CHOTs, J = 5,5 Hz), 7,34 (d, 2H, 2C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,5 Hz), 7,81 (d, 1H, C<sub>e</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,5 Hz).

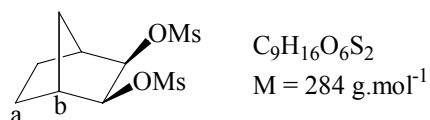
**RMN <sup>13</sup>C** : 21,8 (1CH<sub>3</sub>), 24,2 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub> ou C<sub>a'</sub>H<sub>2</sub>), 24,5 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub> ou C<sub>a'</sub>H<sub>2</sub>), 32,7 (C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 41,6 (C<sub>b</sub>H ou C<sub>b'</sub>H), 43,2 (C<sub>b</sub>H ou C<sub>b'</sub>H), 75,8 (CHOTs), 84,3 (CHOH), 128,0 (2C<sub>d</sub>H), 130,1 (2C<sub>e</sub>H), 133,4 (CCH<sub>3</sub>), 145,2 (CSO<sub>3</sub>).

**SM m/e (I%)** ; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 300 (100).

**IR** : 3525 (tF), 2969 (tF), 1345 (tF).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 59,55 ; H, 6,43 Exp. C, 59,61 ; H, 6,47.

### Synthèse de l'exo-2,3-diméthylsulfonyloxybicyclo[2.2.1]heptane (15)



Le diol **12** (2,7 mmol) et la triéthylamine (4,32 mmol) sont mis en solution dans du dichlorométhane (20 mL) à 0°C puis du chlorure de mésyle (13,5 mmol) est additionné au goutte à goutte. Le mélange résultant est agité 12 heures à température ambiante, lavé par une solution d'acide chlorhydrique 1M (2x20 mL), par de la soude 2M (20 mL) et enfin par de l'eau (20 mL). La phase organique est évaporée sous pression réduite et le solide résultant est cristallisé dans l'éthanol pour conduire au composé **15** sous forme d'un solide blanc.

F=114°C; Rdt=67%.

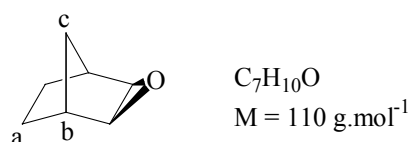
**RMN  $^1H$**  : 1,17-1,35 (m, 3H, 3CH), 1,60-1,73 (m, 2H, 2CH), 1,95-2,01 (m, 1H, CH), 2,51 (se, 2H, 2CH), 3,06 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 4,61 (se, 2H, 2CHOMs).

**RMN  $^{13}C$**  : 23,0 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 33,2 (2C<sub>b</sub>H), 38,6 (2CH<sub>3</sub>), 42,3 (CH), 81,7 (2CHOMs).

**SM m/e (I%)** ; EI : 284 (5), 189 (53), 93(100), 39 (21).

**IR** : 1353 (F), 1330 (tF), 1173 (tF).

### Synthèse de l'exo-2,3-époxybicyclo[2.2.1]heptane (16)



Le norbornylène (42 mmol) est mis en solution dans du dichlorométhane anhydre (250 mL) à 0°C. De l'hydrogénocarbonate de sodium (76 mmol), puis de l'acide métachloroperbenzoïque (58 mmol) sont additionnés et le mélange est agité 6 heures à 0°C, puis 14 heures à température ambiante. Une solution aqueuse de sulfite de sodium (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) à 20% (200 mL) est ajoutée au mélange réactionnel qui est alors extrait par du dichlorométhane (2x150 mL). Les phases organiques sont lavées par une solution de sulfite de sodium à 20% (200 mL) puis par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium à 5% (200mL) et enfin par de l'eau (200 mL). Après séchage sur sulfate de magnésium, la phase organique est filtrée et évaporée sous pression réduite pour conduire au produit **16** qui est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=123°C; Rdt=82%.

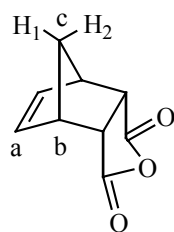
**RMN <sup>1</sup>H** : 0,70 (d, 1H, C<sub>c</sub>H, J = 9,6 Hz), 1,18-1,50 (m, 5H, 2CH<sub>2</sub>+C<sub>c</sub>H), 2,44 (se, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 3,06 (s, 2H, 2CHOC)

**RMN <sup>13</sup>C** : 25,2 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 26,3 (C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 36,7 (2C<sub>b</sub>H), 51,5 (2COC).

**SM m/e (I%)** ; EI : 81 (100), 67 (32), 54 (38).

**IR** : 2965 (tF), 1719 (F), 1287 (F).

### Synthèse de l'anhydride *endo*-norborn-5-ène-2,3-dicarboxylique (17)



C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>  
M = 164 g.mol<sup>-1</sup>

Une solution de cyclopentadiène fraîchement distillé (27 mmol) et d'anhydride maléique (33 mmol) dans de l'*ortho*-xylène (60 mL) est chauffée 24 heures à 105°C sous agitation. Après évaporation du solvant, le solide obtenu est cristallisé dans un mélange éther/hexane (4/1) pour conduire au composé **17** sous forme de cristaux blancs à odeur piquante.

F=85°C; Rdt=84%.

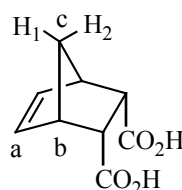
**RMN <sup>1</sup>H** : 1,58 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>1</sub>, J<sup>2</sup> = 9,0 Hz), 1,78 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>2</sup> = 9,0 Hz), 3,50 (m, 2H, 2CHCO), 3,59 (m, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 6,31 (m, 2H, 2C<sub>a</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** : 46,1 (2C<sub>a</sub>H), 47,1 (2CCO), 52,8 (C<sub>c</sub>H), 135,6 (2C<sub>a</sub>H), 171,5 (2C=O).

**SM m/e (I%)** ; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 182 (100). EI : M<sup>+</sup> = 164 (3), 91 (35), 66 (100), 39(15).

**IR** : 2981 (F), 1854 (tF), 1772 (tF), 1230(F).

### Synthèse de l'acide *endo*-norborn-5-ène-2,3-dicarboxylique (18)



C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>  
M = 182 g.mol<sup>-1</sup>

Le composé **17** (32 mmol) est dissout dans un mélange acétone (200 mL) / HCl (10%, 100 mL) et chauffé à 55°C pendant 8 heures. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par du dichlorométhane (100 mL) pour conduire au composé **18** sous forme de cristaux blancs.

F=140°C; Rdt=quant.

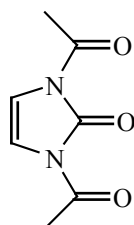
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 1,24 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>1</sub>, J<sup>2</sup> = 8,4 Hz), 1,32 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>2</sup> = 8,4 Hz), 3,00 (s, 2H, 2CHCO), 3,18 (s, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 6,10 (s, 2H, 2C<sub>a</sub>H), 83 (se, 2H, 2CO<sub>2</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 45,8 (2C<sub>a</sub>H), 47,7 (2CCO), 48,1 (C<sub>c</sub>H), 134,6 (2CH<sub>a</sub>), 173,3 (2C=O).

**SM** m/e (I%) ; M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>=200 (100). M<sup>+</sup>=164 (3), 91 (38), 66 (100), 39 (16).

**IR** : 3020 (tF), 1708 (tF), 1417 (F), 1234 (F).

### Synthèse de la 1,3-diacétylimidazol-2-one (**19**)



C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
M = 168 g.mol<sup>-1</sup>

L'hydantoïne (20 mmol) est agitée dans du THF anhydre (20 mL) à 0°C, sous atmosphère d'azote avec une garde de chlorure de calcium. De l'hydrure de diisobutylaluminium (60 mmol) en solution dans de l'hexane (1M) est ajouté au goutte à goutte et le mélange résultant est agité pendant 2 heures à 0°C. Un dégagement d'hydrogène est observé. Du méthanol à 90% (120 mL) est ensuite ajouté très lentement puis le mélange est porté à reflux pendant 18 heures. Après refroidissement, la solution est filtrée sur célite et le solide obtenu est abondamment rincé par du dichlorométhane. Le filtrat est évaporé sous pression réduite pour conduire à un solide blanc qui est directement acylé. Le solide est dissout dans l'anhydride acétique (20 mL) et le mélange est chauffé à reflux 4 heures sous argon. Le solvant est évaporé sous vide puis le résidu repris par du dichlorométhane est chromatographié. Après élution par du dichlorométhane, le composé **19** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=105°C; Rdt=66%.

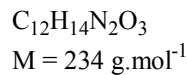
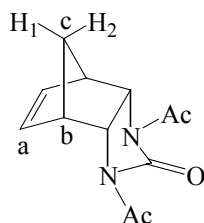
**RMN <sup>1</sup>H** : 2,65 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 7,08 (s, 2H, 2CH).

**RMN <sup>13</sup>C** : 24,2 (2CH<sub>3</sub>), 109,6 (2CH), 149,6 (N<sub>2</sub>C=O), 167,7 (2CH<sub>3</sub>C=O).

**SM** m/e (I%) ; EI : M<sup>+</sup>=168 (9), 84 (100), 56 (13), 43 (69).

**IR** : 3131 (F), 1730 (F), 1384 (F).

## Synthèse du 1,3-diacétyl-1,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-méthanobenzoimidazol-2-one (**20**)



Le composé **19** (2,4 mmol) et du cyclopentadiène (24 mmol) fraîchement distillé sont additionnés dans du toluène anhydre et introduit en tube scellé sous vide puis agités à 140°C pendant trois jours. La solution est évaporée et le résidu, repris par du dichlorométhane, est chromatographié. Après élution par un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (6/1), le composé **20** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=120°C ; Rdt=70%.

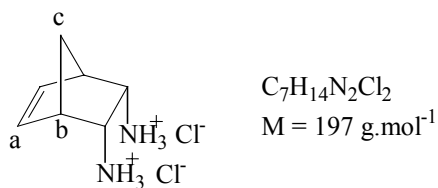
**RMN <sup>1</sup>H** : 1,40 (dt, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>2</sup> = 9,8 Hz, J<sup>3</sup> = 2,0 Hz), 1,70 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>1</sub>, J<sup>2</sup> = 9,8 Hz), 2,47 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3,53 (m, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 4,42 (dd, 2H, 2CHN, J<sup>3</sup> = 2,0 Hz, J<sup>4</sup> = 2,0 Hz), 6,04 (dd, 2H, C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 2,0 Hz, J<sup>4</sup> = 2,0 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** : 24,2 (2CH<sub>3</sub>), 45,3 (C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 45,6 (2C<sub>b</sub>H), 54,9 (2CHN), 134,8 (2C<sub>a</sub>H), 152,8 (N<sub>2</sub>C=O), 170,6 (2CH<sub>3</sub>C=O).

**SM m/e (I%) CI** : M+H<sup>+</sup>=235 (100). EI : 168 (28), 126 (64), 84 (100), 43 (25).

**IR** : 1745 (F), 1700 (tF), 1365 (F), 1231 (F).

## Synthèse du dichlorhydrate de l'endo-2,3-diaminobicyclo[2.2.1]hept-5-ène (21)



Le composé **20** (1,07 mmol) et de l'hydroxyde de baryum (35,2 mmol) sont additionnés dans de l'eau (6 mL) et introduits en tube scellé. Le mélange est agité à 140°C pendant 24 heures. Après refroidissement, de l'eau (100 mL) est additionnée et un bullage au dioxyde de carbone est effectué pendant 20 minutes. Le précipité est essoré sur célite et rincé par de l'eau chaude (3x50 mL) et les eaux mères sont acidifiées (pH= 1) par de l'acide sulfurique 1M (50 mL). Le nouveau précipité est essoré sur célite et lavé par de l'eau et les eaux mères sont concentrées sous pression réduite jusqu'à un volume de 100 mL. De l'éthanol est ajouté (300 mL) et le mélange est agité à 0°C pendant 12 heures. Le précipité obtenu est essoré sur fritté et séché sous vide. Le solide résultant est additionné dans du chloroforme (100 mL) et un bullage d'ammoniaque est effectué dans la solution pendant 1 heure. Le précipité est essoré sur fritté, dissout à nouveau dans du chloroforme (100 mL) et le bullage est effectué une seconde fois. Les deux filtrats sont combinés et évaporés sous vide. Le résidu est dissout dans de l'éther (20 mL), les impuretés sont filtrées, et un bullage à l'acide chlorhydrique est effectué pendant 15 minutes. Après évaporation sous pression réduite, le composé **21** est obtenu sous forme d'un solide marron.

F=275 C; Rdt=53%.

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO): 1,52 (m, 2H,  $C_cH_2$ ), 3,12 (s, 2H,  $2C_bH$ ), 3,92 (s, 2H,  $2CHN$ ), 6,31 (s, 2H,  $2C_aH$ ), 8,47 (s, 6H,  $2NH_3^+$ ).

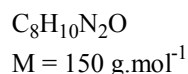
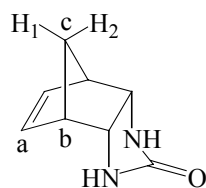
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO): 38,0 (1C,  $C_cH_2$ ), 45,4 ( $2C_bH$ ), 51,6 ( $2CHN$ ), 136,6 ( $2C_aH$ ).

**SM** m/e ; **CI** :  $M+H^+-3HCl=125$ .

**IR** : 2500-3200 (tF), 1573 (tF).



## Synthèse du 1,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-méthanobenzoimidazol-2-one (**22**)



Le composé **20** (17 mmol) est dissous dans un mélange éthanol / eau (250 mL, 2/1). La solution est portée à reflux pendant 6 heures puis le solvant est évaporé sous pression réduite. De l'eau (75 mL) est additionnée au résidu et la phase aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (5x100 mL). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite pour conduire au produit **22** sous forme d'un solide blanc.

F= 203°C ; Rdt=90%.

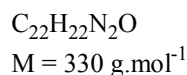
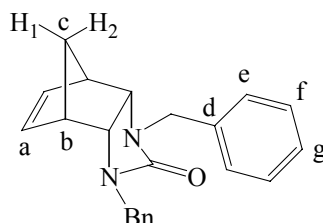
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 1,11 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>2</sup> = 9,0 Hz), 1,34 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>1</sub>, J<sup>2</sup> = 9,0 Hz), 2,88 (s, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 3,91 (s, 2H, 2CHN), 6,03 (s, 2H, C<sub>a</sub>H), 6,18 (s, 2H, 2NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO): 44,0 (C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 46,3 (2C<sub>b</sub>H), 55,9 (2CHN), 134,6 (2C<sub>a</sub>H), 163,4 (N<sub>2</sub>C=O).

**SM** m/e (I%) ; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 168 ; M+H<sup>+</sup> = 151 (100).

**IR** : 3217 (F), 2972 (F), 1685 (tF).

## Synthèse du 1,3-dibenzyl-1,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-méthanobenzoimidazol-2-one (**23**)



Le composé **23** (13,3 mmol) et de l'hydruure de sodium (93,4 mmol) sont additionnés dans du THF anhydre (120 mL). La solution est agitée à 65°C pendant 1,5 heures sous atmosphère d'argon. Du bromure de benzyle (40,3 mmol) est additionné et le mélange est agité à 65°C pendant 20 heures. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par du dichlorométhane (60 mL). Le mélange est refroidi à 0°C et de l'eau (150 mL) est ajoutée au goutte à goutte. La phase aqueuse est extraite par du dichlorométhane (4x50 mL) et les phases organiques sont rassemblées et lavées par de l'eau (60 mL). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié par un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (19/1) puis (9/1) pour conduire au composé **23** sous forme d'un solide blanc.

F= 128 C ; Rdt=85%.

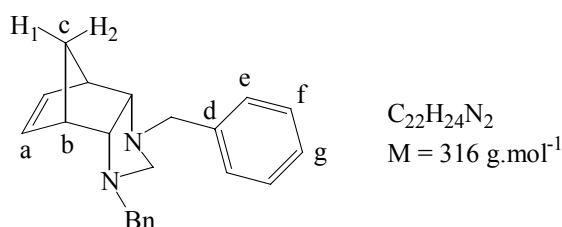
**RMN <sup>1</sup>H** : 1,02 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>2</sup> = 9,3 Hz), 1,47 (dt, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>1</sub>, J<sup>2</sup> = 9,3 Hz, J<sup>3</sup> = 1,8 Hz), 2,89 (s, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 3,75 (m, 2H, 2CHN), 4,00 (d, 2H, 2NCHH, J<sup>2</sup> = 15 Hz), 4,65 (d, 2H, NCHH, J<sup>2</sup> = 15 Hz), 5,81 (m, 2H, 2C<sub>a</sub>H), 7,32 (m, 10H, 10C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** : 44,8 (1C, C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 45,7+46,9 (2C<sub>b</sub>H+2CHN), 58,0 (2CH<sub>2</sub>N), 127,5 (2C<sub>g</sub>H), 128,6 (4C<sub>e</sub>H+4C<sub>f</sub>H) 134,3 (2C<sub>a</sub>H), 137,8 (2C<sub>d</sub>), 160,3 (N<sub>2</sub>C=O).

**SM** m/e (I%) ; CI : M<sup>+</sup> = 330 (100).

**IR** : 1673 (tF), 1227 (F), 702 (F).

### Synthèse du 1,3-dibenzyl-(1,3,3a,4,7,7a)-hexahydro-4,7-méthanobenzoimidazole (**24**)



Le composé **23** (2,67 mmol) et de l'hydrure de lithium et d'aluminium (26,7 mmol) sont additionnés dans du THF anhydre (35 mL). Le mélange est agité sous argon à 60°C pendant 21 heures. La solution est refroidit à 0°C puis de l'eau est ajoutée au goutte à goutte (1 mL), suivie d'une solution de soude à 15% (1 mL) et d'eau (3 mL). Après 10 minutes d'agitation, le précipité blanc formé est essoré sur célite et rincé par de l'éther diéthylique (250 mL). Les eaux mères sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est chromatographié par un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (19/1) pour conduire au composé **24** sous forme d'un solide blanc.

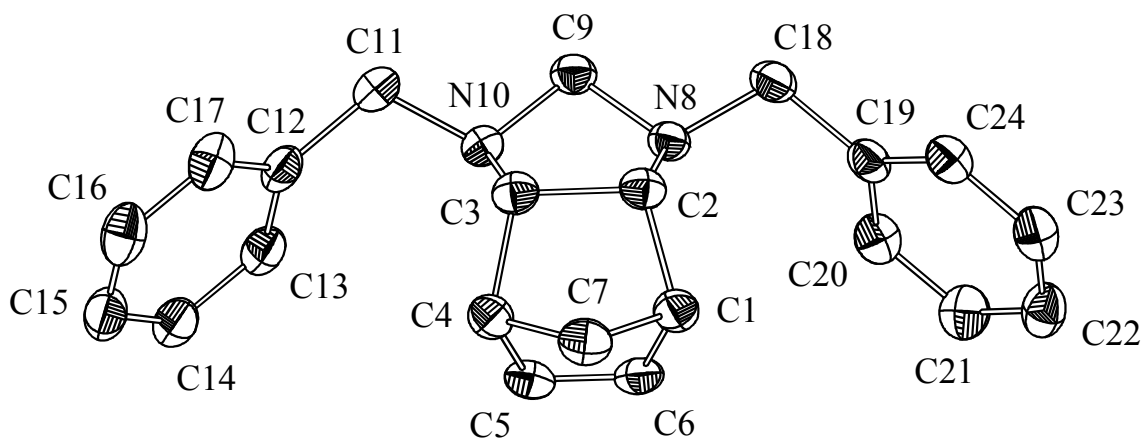
F= 66 C; Rdt=82%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,07 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>2</sup> = 9,4 Hz), 1,17 (d, 1H, C<sub>c</sub>H<sub>1</sub>, J<sup>2</sup> = 9,4 Hz), 1,87 (s, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 3,10 (s, 2H, 2CHN), 3,21 (d, 1H, NCHHN, J<sup>2</sup> = 4,1 Hz), 3,32 (d, 2H, 2NCHHC<sub>d</sub>, J<sup>2</sup> = 12,4 Hz), 3,76 (d, 2H, NCHHC<sub>d</sub>, J<sup>2</sup> = 12,4 Hz), 3,97 (d, 1H, NCHHN, J<sup>2</sup> = 4,1 Hz), 5,99 (s, 2H, 2C<sub>a</sub>H), 7,25 (m, 10H, 10C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** : 45,6 (2C<sub>b</sub>H), 48,8 (C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 58,7 (2NCH<sub>2</sub>C<sub>d</sub>), 72,0 (2CHN), 82,7 (NCH<sub>2</sub>N), 127,2 (2C<sub>g</sub>H), 128,2+129,3 (4C<sub>e</sub>H+4C<sub>f</sub>H), 135,3 (2C<sub>a</sub>H), 139,2 (2C<sub>d</sub>).

**SM** m/e (I%) ; CI : M+H<sup>+</sup> = 317 (100).

**IR** : 2974 (F), 1454 (F), 1118 (F).




---

**Principales données cristallographiques 24**

---

Formule	$C_{22}H_{24}N_2$
M ( $g \times mol^{-1}$ )	316,4
a (Å)	15,4338(4)
b (Å)	8,2487(2)
c (Å)	13,8748(3)
$\beta$ (°)	92,7699(8)
V (Å <sup>3</sup> )	1764,32(7)
Z	4
Système cristallin	monoclinique $P2_1/c$
Groupe d'espace	$P2_1/c$ (No.)
$\rho$ ( $Mg \times m^{-3}$ )	1,190

---

**Conditions d'enregistrement**

---

T (K)	25
Diffractomètre	Nonius KappaCDD
$\lambda$ MoK-L <sub>2,3</sub> (Å),	0,71073
Dimensions du cristal (mm <sup>3</sup> )	0,31 × 0,23 × 0,31
$\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	0,07

---

**Affinement**

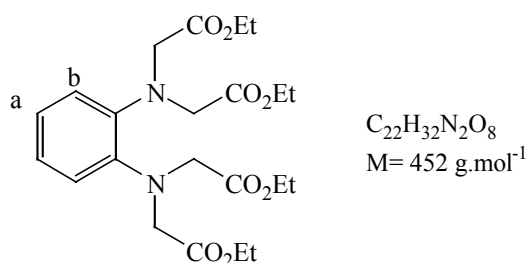
---

Nombre de réflexions ( $I > 2\sigma(I)$ )	6050
Nombre de paramètres	217
$R(F_o)^a$	0,059
$wR_{F^2}^a$	0,147

## Synthèse du phénylène-1,2-diamino-*N, N, N', N'*-tétraacétate de tétraéthyle (**25**) et du benzo-1,2,3,4-tétrahydropirazin-2-one-*N, N'*-diacétate de diéthyle (**27**)

De l'iodure de potassium (13,9 mmol) et du carbonate de potassium (61,1 mmol) sont ajoutés sous argon à une solution de phénylène-1,2-diamine (13,9 mmol) dans de l'acétonitrile anhydre (60 mL). Le mélange est chauffé à 80°C puis du bromoacétate d'éthyle (61,1 mmol) est additionné. Le chauffage est maintenu pendant 5 jours sous agitation. Après refroidissement et évaporation sous pression réduite, le résidu est dissout dans du dichlorométhane (2x50 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (100 mL). La phase organique est évaporée sous pression réduite et de la triéthylamine (32,2 mmol) est ajoutée au résidu dissous dans du dichlorométhane (50 mL). L'agitation est maintenue pendant 24 heures à température ambiante. La phase organique est lavée par de l'eau (2x100 mL), séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié par du dichlorométhane puis cristallisé dans de l'éthanol pour conduire au produit **25** sous forme de cristaux jaunes. Le produit **27**, est isolé après élution par un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (9/1).

### Phénylène-1,2-diamino-*N, N, N', N'*-tétraacétate de tétraéthyle (**25**)



F=69°C; Rdt=50%.

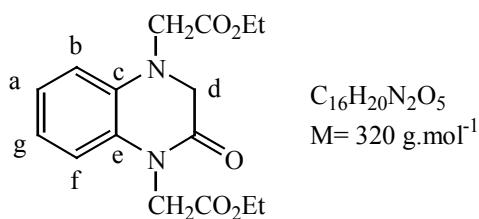
**RMN <sup>1</sup>H** : 1,20 (t, 12H, 4CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, J<sup>3</sup>= 7,2 Hz), 4,11 (q, 8H, 4CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, J<sup>3</sup>= 7,2 Hz), 4,30 (s, 8H, 4CH<sub>2</sub>CO), 7,00 (m, 4H, C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** : 14,1 (4CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 52,5 (NCH<sub>2</sub>), 60,5 (4CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 121,5 (2C<sub>b</sub>H), 123,1 (2C<sub>a</sub>H), 141,5 (2CN), 171,0 (4CO).

**SM m/e (I%)** ; EI : M<sup>+</sup> = 452 (18), 379 (40), 292 (82), 291 (100), 219 (97), 131 (41).

**IR** : 2982 (F), 2928 (F), 2360 (F), 1740 (tF).

### 1,4-diéthoxycarbonylméthyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoxalin-2-one (27)



F=93°C; Rdt=35%.

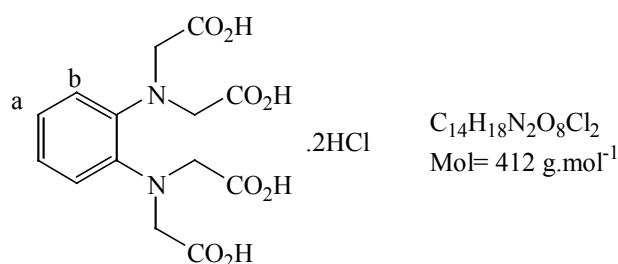
**RMN  $^1H$**  : 1,27+1,29 (2t, 6H,  $2CH_3CH_2$ ,  $J^3= 7,2 \text{ Hz}$ ), 4,00+4,11 (2s, 4H,  $2CH_2CO$ ), 4,25 (2q, 4H,  $2CH_3CH_2$ ,  $J^3= 7,2 \text{ Hz}$ ), 4,68 (s, 2H,  $C_dH_2CO$ ), 6,56 (dd, 1H,  $C_bH$ ,  $J^3= 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4= 1,5 \text{ Hz}$ ), 6,73 (dd, 1H,  $C_fH$ ,  $J^3= 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4= 1,4 \text{ Hz}$ ), 6,85 (td, 1H,  $C_gH$ ,  $J^3= 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4= 1,4 \text{ Hz}$ ), 7,00 (td, 1H,  $C_aH$ ,  $J^3= 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4= 1,5 \text{ Hz}$ ).

**RMN  $^{13}C$**  : 14,1+14,3 ( $2CH_3CH_2$ ), 43,8+51,6+53,7 ( $3NCH_2$ ), 61,3+61,7 ( $2CH_3CH_2$ ), 112,1+114,5 ( $C_bH+C_gH$ ), 119,9+124,1 ( $C_aH+C_fH$ ), 128,9+136,0 ( $C_cN+ C_eN$ ), 166,0+168,3+169,7 ( $3CO$ ).

**SM m/e (I%)** ; EI :  $M^{+} = 320 (50)$ , 247 (100), 233 (42), 219 (92), 145 (74), 132 (78), 131 (78).

**IR** : 2982 (F), 2928 (F), 2360 (F), 1740 (tF).

### Synthèse de l'acide phénylène-1,2-diamino-*N, N, N', N'*-tétraacétique (26)



Le composé **25** (1,1 mmol) est ajouté à une solution hydroéthanolique de soude 2 M (1/1, 10 mL). Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 2 heures. Après refroidissement, la solution est acidifiée (pH=1) par une solution molaire d'acide chlorhydrique. La solution est évaporée et le solide blanc résultant est repris dans un minimum d'eau, centrifugé et essoré sur membrane millipore. Après lavage par de l'éther diéthylique, le composé **26** est isolé sous forme de cristaux blancs.

F=215°C; Rdt=60%.

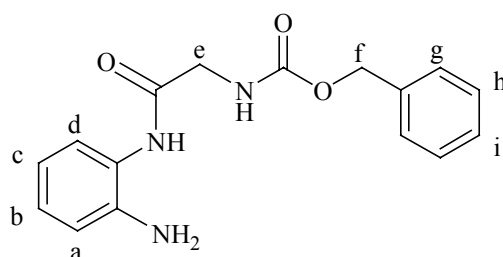
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 4,20 (s, 8H, 4NCH<sub>2</sub>), 6,88 (m, 4H, 4C<sub>ar</sub>H), 11,13 (se, 4H, 4COOH).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO): 51,6 (4NCH<sub>2</sub>), 120,4 (2C<sub>b</sub>H), 121,8 (2C<sub>a</sub>H), 141,1 (2CN), 172,2 (4CO).

**SM** m/e (I%); ESI<sup>-</sup> : M-H<sup>+</sup>-2HCl= 339 (100)

**IR** : 2928 (tF), 1700 (tF).

### Synthèse du *N*-(2-aminophényl)-2-benzoxycarbonylaminoéthanamide (**28**)



C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>  
M= 299 g.mol<sup>-1</sup>

L'*o*-phénylènediamine (46,2 mmol) et de la *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (46,2 mmol) sont ajoutés à une solution de carbobenzyloxyglycine (46,2 mmol) dans le THF (100 mL). Après 4 heures d'agitation à température ambiante, le mélange est filtré sur célite et le filtrat résultant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris par de l'acétate d'éthyle (100 mL). Après précipitation par ajout d'éther de pétrole, le composé **28** est isolé sous forme d'un solide blanc.

F=145°C; Rdt=60%.

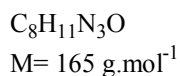
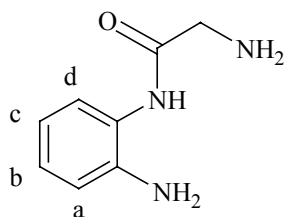
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 3,83 (d, 2H, C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 6,0 Hz), 4,88 (se, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,06 (s, 2H, C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 6,53 (t, 1H, C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,2 Hz), 6,70 (d, 1H, C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz), 6,91 (t, 1H, C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz), 7,13 (d, 1H, C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,2 Hz), 7,36 (s, 5H, 5C<sub>ar</sub>H), 7,54 (t, 1H, NHCOO, J<sup>3</sup> = 6,0 Hz), 9,15 (s, 1H, NHCO).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO): 43,9 (C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 65,5 (C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 115,6 (C<sub>a</sub>H), 116,0 (C<sub>c</sub>H), 122,8 (C<sub>d</sub>H), 125,6 (C<sub>b</sub>H), 126,0 (CNHCO), 127,7 (2C<sub>g</sub>H+C<sub>i</sub>H), 128,3 (2C<sub>h</sub>H), 137,0 (CC<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 142,2 (CNH<sub>2</sub>), 156,6 (NHCOO), 168,0 (NHCO).

**SM** m/e (I%) CI : M+H<sup>+</sup> = 300 (100).

**IR** : 3383 (F), 3338 (F), 1708 (tF), 1545 (tF).

## Synthèse du 2-amino-*N*-(2-aminophényl)éthanamide (**29**)



Le composé **28** (0,27 mmol) et du palladium (10%) sur charbon (0,009 mmol) sont additionnés dans de l'éthanol absolu (5 mL). Le mélange est agité pendant 24 heures à température ambiante sous atmosphère d'hydrogène. La solution est filtrée sur célite qui est rincée par de l'éthanol (25 mL). Le solvant est évaporé sous pression réduite pour conduire au composé **28** sous forme d'une huile incolore.

Rdt=98%.

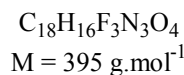
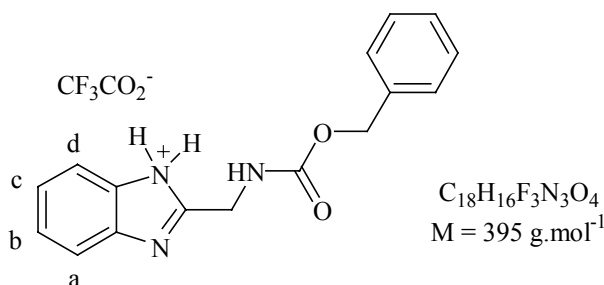
**RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 3,46 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 6,68 (td, 1H,  $\text{C}_c\text{H}$ ,  $J^3 = 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,4 \text{ Hz}$ ), 6,84 (dd, 1H,  $\text{C}_a\text{H}$ ,  $J^3 = 7,2 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,4 \text{ Hz}$ ), 7,02 (td, 1H,  $\text{C}_b\text{H}$ ,  $J^3 = 7,2 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,4 \text{ Hz}$ ), 7,16 (dd, 1H,  $\text{C}_d\text{H}$ ,  $J^3 = 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,4 \text{ Hz}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO): 45,4 ( $\text{CH}_2$ ), 118,3 ( $\text{C}_d\text{H}$ ), 119,4 ( $\text{C}_c\text{H}$ ), 124,6 ( $\text{C}_b\text{H}$ ), 126,9 ( $\text{C}_a\text{H}$ ) 128,2 ( $\text{CNH}$ ), 143,2 ( $\text{CNH}_2$ ), 174,2 ( $\text{NHCO}$ ).

**SM** m/e (I%); CI :  $\text{M}+\text{H}^+ = 166$  (100).

**IR** : 3336 (F), 1668 (F), 1623 (F), 1458 (F).

## Synthèse du trifluoroacétate de 2-benzoxycarbonylaminométhylbenzoimidazole (**30**)



Le composé **28** (0,5 mmol) et l'acide trifluoroacétique (1,2 mL) sont additionnés dans du dichlorométhane anhydre. La solution est agitée pendant 6 jours à température ambiante. Après cristallisation par ajout d'éther de pétrole, le composé **30** est isolé sous forme d'un solide blanc.

F=154°C, Rdt=quant.

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 4,71 (d, 2H, CH<sub>2</sub>NH, J<sup>3</sup> = 5,5 Hz), 5,09 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 7,37 (s, 5H, 5C<sub>ar</sub>H), 7,49 (m, 2H, C<sub>ar</sub>H), 7,76 (m, 2H, 2C<sub>ar</sub>H), 8,24 (t, 1H, NH, J<sup>3</sup> = 5,5 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO): 37,5 (CH<sub>2</sub>NH), 66,2 (CH<sub>2</sub>O), 114,1 (2C<sub>ar</sub>), 125,0 (2C<sub>ar</sub>), 128,0 (2C<sub>ar</sub>), 128,4 (2C<sub>ar</sub>), 132,2+136,5 (4C<sub>ar</sub>), 152,5 (NCN), 156,6 (NHCO).

**SM m/e (I%)** CI : M+H<sup>+</sup>-CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H = 282 (100).

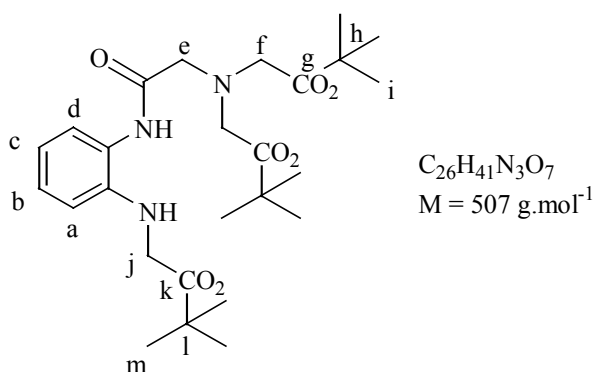
**IR** : 3368 (tF), 1707 (F), 1655 (tF), 1542 (F), 1267(F), 1207 (F).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 59,04 ; H, 4,08 ; N, 10,63 Exp. C, 54,19 ; H, 4,11 ; N, 10,92.

### Synthèse des esters (31), (32), (33), (34)

Le composé **28** (0,91 mmol), de l'iodure de potassium (0,19 mmol), du bicarbonate de potassium (9,1 mmol) puis du bromoacétate de *tert*iobutyle (2,8 mmol) sont additionnés dans du THF anhydre (10 mL). Le mélange est agité pendant 4 jours à 35 °C. Après évaporation sous pression réduite, le résidu obtenu est repris par du dichlorométhane (30 mL). La phase organique est lavée par de l'eau (20 mL) puis séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration et évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par du dichlorométhane. Une chromatographie dans un mélange éther de pétrole / dichlorométhane / triéthylamine (94/4/2) conduit aux composés **31**, **32**, **33**, **34** sous forme d'huiles incolores.

### *N*-(2-*tert*iobutoxycarbonylméthylaminophényl)-2-di(*tert*iobutoxycarbonylméthyl)aminoéthanamide (31)





Rdt=60%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,46 (s, 9H, 3C<sub>m</sub>H<sub>3</sub>), 1,47 (s, 18H, 6C<sub>i</sub>H<sub>3</sub>), 3,54 (s, 6H, C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 3,83 (d, 2H, C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 2,9 Hz), 5,13 (t, 1H, NHCH<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 2,9 Hz), 6,59 (d, 1H, C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,9 Hz), 6,77 (t, 1H, C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz), 7,10 (t, 1H, C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,9 Hz), 7,43 (d, 1H, C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz).

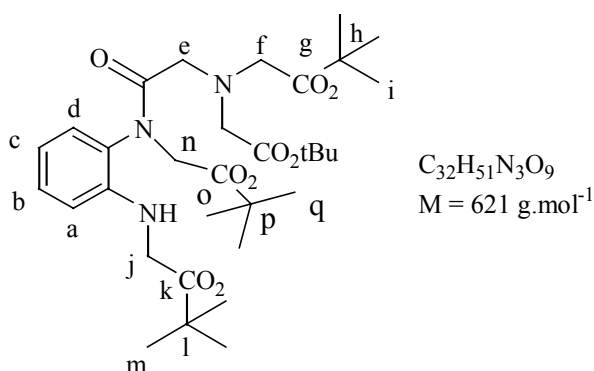
**RMN <sup>13</sup>C** : 28,3 (6C<sub>i</sub>+3C<sub>m</sub>), 46,9 (C<sub>j</sub>), 57,4 (2C<sub>f</sub>), 59,5 (C<sub>e</sub>), 81,7 (C<sub>l</sub>), 82,1 (2C<sub>h</sub>), 112,2 (C<sub>a</sub>), 118,1 (C<sub>c</sub>), 124,0 (CNHCO), 125,2 (C<sub>d</sub>), 126,9 (C<sub>b</sub>), 141,3 (CNH), 170,2 (C<sub>k</sub>O), 170,4 (NHCO), 170,8 (2C<sub>g</sub>).

**SM** m/e (I%); CI : M+H<sup>+</sup> = 508 (100), 394, 202.

**HRMS** : Calc 507,2945, Exp 507,2957.

**IR** : 3288 (F), 2978 (F), 1733 (tF), 1368 (F), 1150 (tF).

### Synthèse du *N-tertio-butoxycarbonylméthyl-N-(2-tertio-butoxycarbonylméthylaminophényl)-2-di(tertio-butoxycarbonylméthyl)aminoéthamide (32)*



Rdt=15%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,41 (s, 18H, 6C<sub>i</sub>H<sub>3</sub>), 1,43 (s, 9H, 3C<sub>q</sub>H<sub>3</sub>), 1,46 (s, 9H, 3C<sub>m</sub>H<sub>3</sub>), 3,42 (s, 6H, C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 3,82 (d, 2H, C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 6,1 Hz), 3,94 (d, 1H, C<sub>n</sub>H, J<sup>2</sup> = 16,8 Hz), 4,27 (d, 1H, C<sub>n</sub>H, J<sup>2</sup> = 16,8 Hz), 6,01 (t, 1H, NH, J<sup>3</sup> = 6,1 Hz), 6,52 (d, 1H, C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz), 6,66 (t, 1H, C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz), 7,14 (m, 2H, C<sub>b</sub>H+C<sub>d</sub>H).

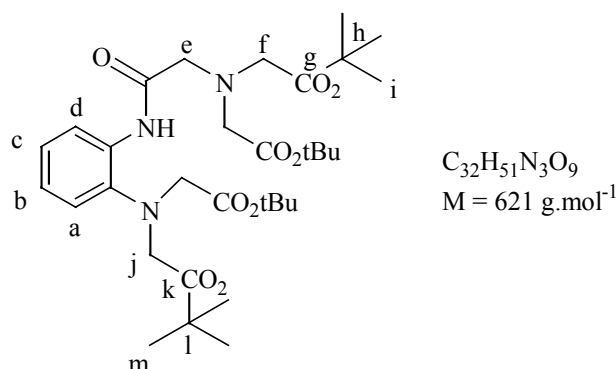
**RMN <sup>13</sup>C** : 28,2 (6C<sub>i</sub>+3C<sub>m</sub>+3C<sub>q</sub>), 46,0 (C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>), 51,8 (C<sub>n</sub>H<sub>2</sub>), 55,4 (C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 56,2 (2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 80,8 (2C<sub>h</sub>), 81,6+82,1 (C<sub>p</sub>+C<sub>l</sub>), 111,4 (C<sub>a</sub>H), 117,5 (C<sub>c</sub>H), 127,8+129,3+129,8 (CNHCO+C<sub>d</sub>H+C<sub>b</sub>H), 144,6 (CNH), 169,4+169,9+172,0 (C<sub>k</sub>O+NHCO+C<sub>o</sub>O), 170,7 (2C<sub>g</sub>O).

**SM** m/e (I%); CI : M+H<sup>+</sup> = 622 (100), 508, 380, 246.

**HRMS** : [M+H<sup>+</sup>] Calc 622,3704, Exp 622,3706.

**IR** : 3337 (F), 2978 (F), 2933 (F), 1739 (tF), 1671 (F), 1606 (F), 1368 (tF), 1155 (tF).

**Synthèse du *N*-(2-di-*tert*io-butoxycarbonylméthylaminophényl)-2-di(*tert*io-butoxycarbonylméthyl)aminoéthamide (33)**



Rdt=7%.

**RMN  $^1\text{H}$**  : 1,36 (s, 18H,  $6C_mH_3$ ), 1,44 (s, 18H,  $6C_iH_3$ ), 3,55 (s, 2H,  $C_eH_2$ ), 3,60 (s, 4H,  $2C_fH_2$ ) + 3,88 (s, 4H,  $2C_jH_2$ ), 6,99 (t, 1H,  $C_bH$ ,  $J^3 = 7,6 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,6 \text{ Hz}$ ), 7,12 (t, 1H,  $C_cH$ ,  $J^3 = 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,6 \text{ Hz}$ ), 7,40 (d, 1H,  $C_aH$ ,  $J^3 = 7,6 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,6 \text{ Hz}$ ), 8,40 (d, 1H,  $C_dH$ ,  $J^3 = 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,6 \text{ Hz}$ ).

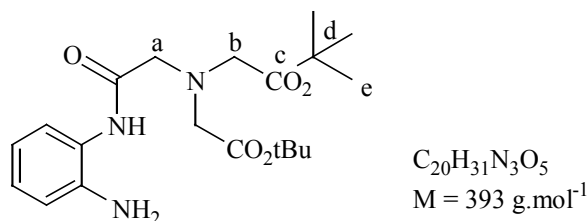
**RMN  $^{13}\text{C}$**  : 28,2 ( $6C_iH_3$ ), 28,3 ( $6C_mH_3$ ), 55,8 ( $2C_jH_2$ ), 56,4 ( $2C_fH_2$ ), 58,8 ( $C_eH_2$ ), 81,2+81,4 ( $2C_l+2C_h$ ), 119,8 ( $C_dH$ ), 123,5 ( $C_bH$ ), 125,6 ( $C_aH$ ), 126,0 ( $C_cH$ ), 135,0 (CNHCO), 139,0 (CN), 169,7 (NHCO), 170,2 ( $2C_g+2C_k$ ).

**SM m/e (I%)**; CI :  $M+H^+ = 622$  (100), 508, 246, 147.

**HRMS** : Calc 621,3625, Exp 621,3618.

**IR** : 3282, 2978 (F), 2931, 1738 (tF), 1685, 1589, 1522, 1457, 1147 (tF).

**Synthèse du *N*-(2-aminophényl)-2-di(*tert*io-butoxycarbonylméthyl)aminoéthamide (34)**



Rdt=5%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,47 (s, 18H, 6C<sub>e</sub>H<sub>3</sub>), 3,50 (s, 6H, C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 6,78 (m, 2H, 2C<sub>ar</sub>H), 7,00 (t, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,0 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz), 7,51 (d, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz).

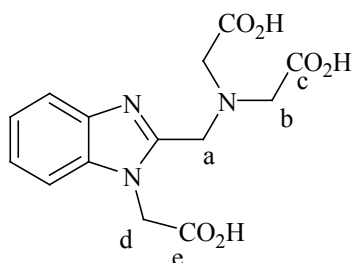
**RMN <sup>13</sup>C** : 28,3 (6C<sub>e</sub>H<sub>3</sub>), 57,4 (2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 59,6 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 82,2 (2C<sub>d</sub>), 117,2+118,9+124,2+126,3+139,8 (6C<sub>ar</sub>H), 169,6 (NHCO), 170,8 (2C<sub>g</sub>O).

**SM m/e (I%) EI** : M<sup>+</sup> = 393, 236, 146, 121, 57.

**HRMS** : [M+H<sup>+</sup>] Calc 394.2342, Exp 394.2345.

**IR** : 2977, 1730 (tF), 1526 (F), 1368 (F), 1147 (tF).

### Synthèse de l'acide 2-(N,N-dicarboxyméthylaminométhyl)benzoimidazol-1-yl-N-acétique (35)



C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>  
M = 321 g.mol<sup>-1</sup>

Le composé **31** (1,18 mmol) dissous dans du méthanol (12 mL) puis additionné à une solution d'acide chlorhydrique 6M (18 mL). Après agitation à 60°C pendant 2 jours, la solution est évaporée sous pression réduite. Le résidu est dissout dans une solution d'acide chlorhydrique 6M (20 mL) et chauffé sous agitation à 60°C pendant 2 jours. Après évaporation sous pression réduite, le composé **35** est obtenu sous forme d'un solide jaune légèrement hygroscopique.

F=109°C ; Rdt=quant.

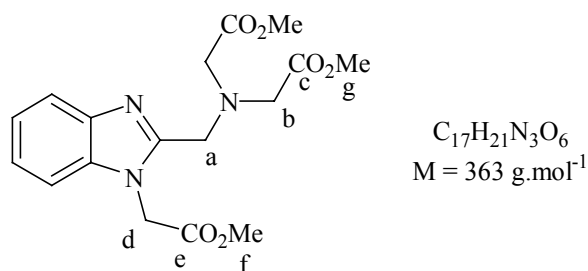
**RMN <sup>1</sup>H** (D<sub>2</sub>O): 3,63 (s, 4H, 2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 4,48 (s, 2H, C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 5,45 (s, 2H, C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 7,53-7,76 (m, 4H, C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (D<sub>2</sub>O) : 50,4 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 53,9 (C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 62,3 (2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 113,8+121,9+126,1+126,7+138,9+144,3 (6C<sub>ar</sub>), 156,1 (NCN), 178,7 (C<sub>e</sub>O), 182,6 (2C<sub>c</sub>O).

**SM m/e (I%) (L-SIMS+)**: = 322,0 (M+H<sup>+</sup>), 344,1 (M+Na<sup>+</sup>) ; (L-SIMS-) = 320,2 (M-H<sup>+</sup>), 342,1 (M-2H<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>).

**IR** : 3424 (tF), 2937 (F), 1735 (F), 1219 (F).

**Synthèse du 2-(*N,N*-diméthoxycarbonylméthyl)aminométhylbenzoimidazol-1-yl-*N*-acétate de méthyle (36)**



Un large excès de diazométhane (<1,95 mmol) dans de l'éther diéthylique (1,5 mL) est additionné au composé **35** (0,093 mmoles) dissous dans du méthanol (1 mL). La solution est agitée pendant 5 minutes à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le composé **36** est obtenu sous forme d'une huile incolore.

Rdt=quant.

**RMN  $^1H$**  : 3,48 (s, 4H,  $2C_bH_2$ ), 3,69 (s, 6H,  $2C_gH_3$ ), 3,76 (s, 3H,  $C_fH_3$ ), 4,22 (s, 2H,  $C_aH_2$ ), 5,45 (s, 2H,  $C_dH_2$ ), 7,26 (m, 4H,  $4C_{ar}H$ ).

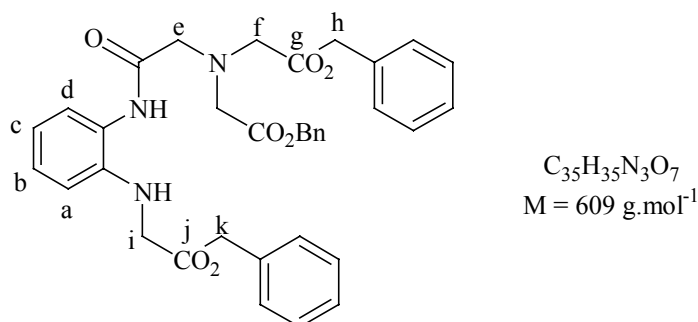
**RMN  $^{13}C$**  : 45,2 ( $C_dH_2$ ), 51,6 ( $C_fH_3$ ), 51,8 ( $2C_gH_3$ ), 52,6 ( $C_aH_2$ ), 54,5 ( $2C_bH_2$ ), 109,1+120,1+122,5+123,4+136,3+142,3+150,8 ( $6C_{ar}+NCN$ ), 168,9 ( $C_eO$ ), 171,1 ( $2C_cO$ ).

**SM** m/e (I%); CI :  $M+H^+ = 364$  (100), 204.

**HRMS** :  $[M+H^+]$  Calc 364,1509, Exp 364,1513.

**IR** : 2955 (F), 1751 (F), 1208 (F).

**Synthèse du *N*-(2-benzoxycarbonylméthylaminophényl)-2-di(benzoxycarbonylméthyl)aminoéthamide (37)**



Le composé **29** (1,31 mmol), de l'iodure de potassium (0,27 mmol) et du bicarbonate de potassium (13,0 mmol) sont additionnés dans du THF anhydre (15 mL). Du bromoacétate de benzyle (4,32 mmol) est ajouté et le mélange est agité pendant 72 heures à 35°C. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par du dichlorométhane (45 mL). La phase organique est lavée par de l'eau (30 mL) et séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est chromatographié par élution croissante dans du dichlorométhane, puis par un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (9/1). Le composé **37** est obtenu sous forme d'une huile incolore.

Rdt=50%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 3,54 (s, 2H, C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 3,67 (s, 4H, 2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 3,96 (d, 2H, C<sub>i</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 5,6 Hz), 5,00 (t, 1H, NHCH<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 5,6 Hz), 5,15 (s, 4H, 2C<sub>h</sub>H<sub>2</sub>), 5,16 (s, 2H, C<sub>k</sub>H<sub>2</sub>), 6,58 (dd, 1H, C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz, J<sup>4</sup> = 1,2 Hz), 6,80 (dt, 1H, C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz, J<sup>4</sup> = 1,2 Hz), 7,05 (dt, 1H, C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz), 7,32 (m, 10C<sub>ar</sub>H), 7,41 (dd, 1H, C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz).

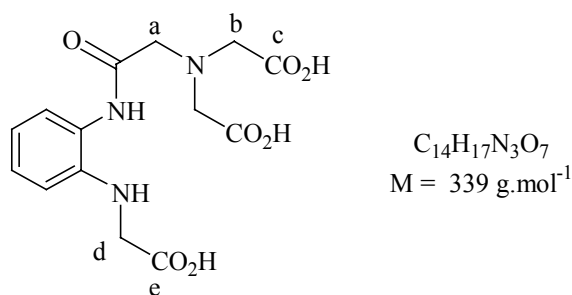
**RMN <sup>13</sup>C** : 46,3 (C<sub>i</sub>), 56,5 (2C<sub>f</sub>), 59,6 (C<sub>e</sub>), 66,9 (C<sub>k</sub>), 67,1 (2C<sub>h</sub>), 112,5+118,6+124,2+125,0+126,8+128,4+128,5+128,7+128,8+135,3+135,6+140,8 (24C, Car), 169,5+171,1 (NHCO+C<sub>j</sub>O), 171,2 (2C<sub>g</sub>O).

**SM m/e (I%)**; CI : M+H<sup>+</sup> = 610 (100), 502, 364, 236.

**HRMS** : [M+Na<sup>+</sup>] Calc 632,2373, Exp 632,2370.

**IR** : 3288 (F), 3033, 2954, 1740 (tF), 1684 (F), 1606, 1525, 1456, 1190 (tF).

### Synthèse de l'acide *N*-[2-(*N*-2-carboxyméthylaminophényl)amino-2-oxoéthyl]amine-*N,N*-diacétique (**38**)



Le composé **37** (0,2 mmol) et le catalyseur de Pearlman (0,03 mmol) sont additionnés dans du méthanol. Après 1,5 heures d'agitation à température ambiante sous atmosphère d'hydrogène, la solution est filtrée sur célite qui est rincée par du méthanol (10 mL). Le solvant est évaporé sous pression réduite pour conduire au composé **38** sous forme d'un solide blanc.

F=109°C, Rdt=quant.

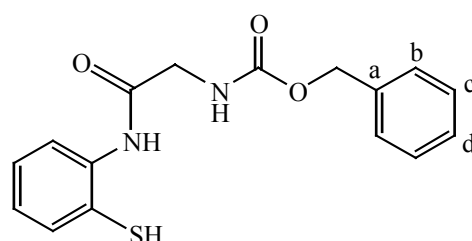
**RMN <sup>1</sup>H** (CD<sub>3</sub>OD) : 3,66 (s, 2H, C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 3,69 (s, 4H, 2C<sub>b</sub>H), 3,93 (s, 2H, C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 6,62 (d, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,8 Hz), 6,71 (t, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,7 Hz), 7,11 (t, 1H, C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,7 Hz), 7,27 (d, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,8 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (CD<sub>3</sub>OD) : 46,2 (C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 57,6 (2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 59,6 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 112,8+118,5+124,0+127,7+128,8+143,9 (6C<sub>ar</sub>), 172,6 (NHCO), 174,5 (2C<sub>c</sub>O), 175,2 (C<sub>e</sub>O).

**SM m/e** (I%); ES- : M-H<sup>+</sup> = 338, 320 (100), 302, 276, 232.

**IR** : 3436 (tF), 1746, 1664, 1612, 1513, 1355, 1242.

### Synthèse du *N*-2-mercaptophényl-2-benzoxycarbonylaminoéthamide (**39**)



C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S  
M = 316 g.mol<sup>-1</sup>

Du dicyclohexylcarbodiimide (2 mmol), de la *Z*-β-glycine (2 mmol) et de l'*o*-aminothiophénol (2 mmol) sont additionnés dans du THF anhydre (8 mL). Le mélange est agité sous argon pendant 4 heures à température ambiante. Le précipité blanc est essoré sur millipore et le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le résidu est cristallisé dans de l'acétate d'éthyle (5 mL). Après essorage du précipité sur millipore et séchage sous vide, le composé **39** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=135°C, Rdt=28%.

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 3,37 (s, 1H, SH), 3,87 (d, 2H, NCH<sub>2</sub>CO, J<sup>3</sup> = 6,0 Hz), 5,07 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 7,47 (m, 9H, C<sub>ar</sub>H), 7,68 (t, 1H, NHCOO, J<sup>3</sup> = 6,0 Hz), 9,77 (s, 1H, NHCOCH<sub>2</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 43,9 (NHCH<sub>2</sub>CO), 65,6 (CH<sub>2</sub>O), 125,5+126,4+3x127,2+2x127,8+128,4+129,5+130,6+136,0+137,0 (12C<sub>ar</sub>), 156,6 (NHCOO), 168,7 (NHCOCH<sub>2</sub>).

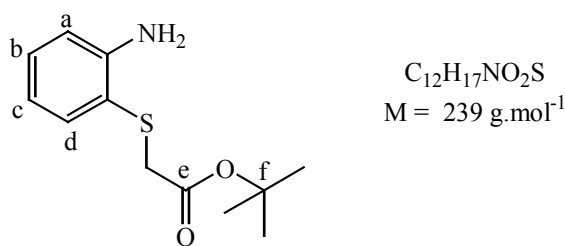
**IR** : 3352, 3265, 1700 (tF), 1681 (tF), 1538 (tF), 1289 (F).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 60,74; H, 5,10; N, 8,85 Exp. : C, 60,82; H, 4,98; N, 8,62.

## Synthèse des composés (40), (46) et (47)

De l'*o*-aminothiophénol (8 mmol), du carbonate de potassium (47,9 mmol), du bromoacétate de *tertio*-butyle (8 mmol) et un cristal d'iodure de potassium sont additionnés dans du THF anhydre (40 mL). Le mélange est agité sous argon pendant 18 heures à 60°C. Après évaporation sous pression réduite, le solide résultant est repris par du dichlorométhane (80 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (80 mL) puis séchée sur sulfate de magnésium. La solution est évaporée sous pression réduite et le résidu est chromatographié dans un mélange éther de pétrole / dichlorométhane / triéthylamine (93/5/2). Les composés **40** et **47** sont isolés sous la forme d'huiles incolores et le composé **46** sous la forme d'un solide blanc.

### 2-aminophénylsulfanylacétate de *tertio*-butyle (40)



Rdt= 76%.

**RMN  $^1H$**  : 1,38 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3,38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,70 (m, 2H, C<sub>a</sub>H+C<sub>c</sub>H), 7,13 (t, 1H, C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,2 Hz, J<sup>4</sup> = 1,7 Hz), 7,44 (d, 1H, C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,8 Hz, J<sup>4</sup> = 1,7 Hz).

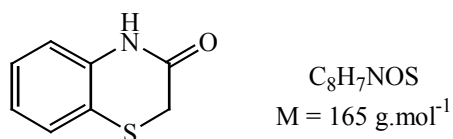
**RMN  $^{13}C$**  : 30,0 (3CH<sub>3</sub>), 38,2 (CH<sub>2</sub>), 81,8 (C<sub>g</sub>), 115,1 (C<sub>a</sub>H), 116,7 (CS), 118,4 (C<sub>c</sub>H), 130,5 (C<sub>b</sub>H), 136,6 (C<sub>d</sub>H), 148,7 (CNH<sub>2</sub>), 169,4 (C<sub>e</sub>O).

**SM m/e (I%)**; EI : M<sup>+</sup> = 239, 183, 124, 93(100), 57.

**IR** : 3456, 3357, 1722 (tF), 1298 (F), 1137 (tF).

**Analyse élémentaire** : Calc. C 60,22; H 7,16; N 5,85. Exp. C 60,13; H 7,25; N, 5,95.

### benzodihydro[1.4]thiazin-3-one (46)



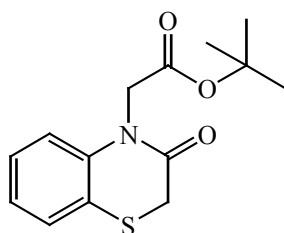
**RMN <sup>1</sup>H** : 3,45 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,93 (dd, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,9 Hz, J<sup>4</sup> = 1,4 Hz), 7,04 (td, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz, J<sup>4</sup> = 1,4 Hz), 7,18 (td, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,8 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz), 7,32 (d, 1H, J<sup>3</sup> = 7,8 Hz), 9,04 (s, 1H, NH).

**RMN <sup>13</sup>C** : 28,9 (CH<sub>2</sub>), 117,2 (C<sub>ar</sub>H), 119,0 (C<sub>ar</sub>S), 122,9+126,9+127,3 (3C<sub>ar</sub>H), 137,4 (C<sub>ar</sub>N), 165,2 (CO).

**SM m/e (I%)**; EI : M<sup>+</sup> = 165 (100), 136, 120, 96.

**IR** : 3197, 3063, 1662 (F), 1593, 1479 (tF), 1386, 740.

**4-*tertio*-Butoxycarbonylméthylbenzodihydro[1.4]thiazin-3-one (47).**



C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>S  
M = 279 g.mol<sup>-1</sup>

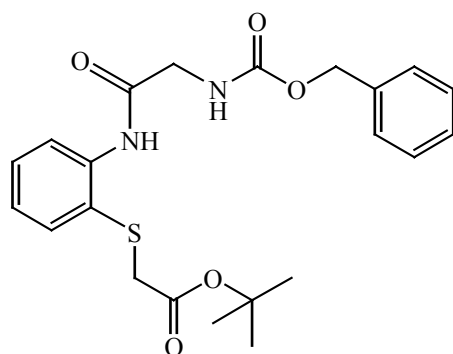
**RMN <sup>1</sup>H** : 1,47 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3,45 (s, 2H, SCH<sub>2</sub>), 4,58 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 6,87 (dd, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,1 Hz, J<sup>4</sup> = 1,2 Hz), 7,03 (td, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz, J<sup>4</sup> = 1,1 Hz), 7,23 (td, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,8 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz), 7,38 (dd, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** : 28,1 (3CH<sub>3</sub>), 31,3 (SCH<sub>2</sub>), 47,8 (NCH<sub>2</sub>), 82,6 (CCH<sub>3</sub>), 117,3+123,8+127,5+128,5 (4C<sub>ar</sub>H+2C<sub>ar</sub>), 139,7 (C<sub>ar</sub>), 165,8 (SCO), 167,6 (CO<sub>2</sub>).

**SM m/e (I%)**; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 297, 280, 241 (100), 224.

**IR** : 2978 (F), 1743 (tF), 1679 (tF), 1586, 1480, 1367 (tF), 1154 (tF).

**Synthèse du *N*-(2-*tertio*-butoxycarbonylméthylsulfanylphényl)-2-benzoxycarbonyl-aminoéthanamide (41)**



C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S  
M = 430 g.mol<sup>-1</sup>



De la carbobenzyloxyglycine (6,54 mmol) et du chlorure d'oxalyle (7 mmol) sont additionnés à 0°C et sous atmosphère inerte dans du dichlorométhane anhydre (20 mL). Une quantité catalytique de DMF (0,5 mmol) est ajoutée et le mélange est agité à température ambiante pendant 2 heures. La solution est canulée sous atmosphère inerte dans un mélange contenant le composé **40** (2,9 mmol) et de la triéthylamine (20 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (20 mL). La solution résultante est agitée pendant 18 heures à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu obtenu est repris par du dichlorométhane (60 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (2x40 mL) puis séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration et évaporation sous pression réduite, le résidu obtenu est cristallisé dans de l'éther diéthylique à -20°C pendant deux jours. Le précipité est essoré sur fritté et séché sous vide pour conduire au composé **41** sous forme d'un solide blanc.

F= 74°C; Rdt=68%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,34 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3,35 (s, 2H, SCH<sub>2</sub>), 4,14 (d, 2H, NHCH<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 5,8 Hz), 5,18 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 5,82 (se, 1H, NHCH<sub>2</sub>), 7,05 (td, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz, J<sup>4</sup> = 1,4 Hz), 7,36 (m, 6H, 6C<sub>ar</sub>H), 7,57 (dd, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,8 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz), 8,35 (d, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,9 Hz), 9,60 (s, 1H, NHCOCH<sub>2</sub>).

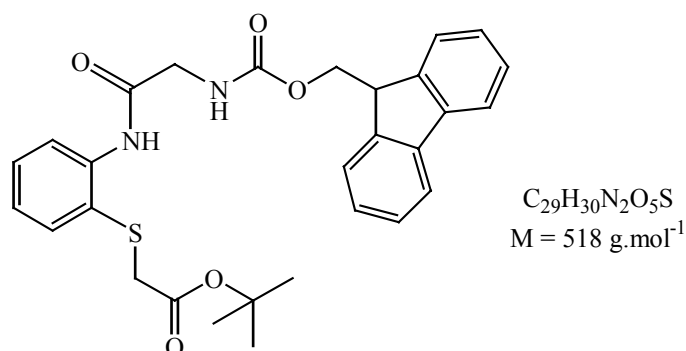
**RMN <sup>13</sup>C** : 27,9 (3CH<sub>3</sub>), 40,4 (SCH<sub>2</sub>), 45,5 (NCH<sub>2</sub>), 67,3 (OCH<sub>2</sub>), 82,8 (CCH<sub>3</sub>), 120,7+122,4+124,6+3x128,2+2x128,6+130,8+136,4+136,6+139,9 (12C<sub>ar</sub>), 156,6 (NHCOO), 167,4 (NHCO), 169,7 (SCH<sub>2</sub>CO).

**SM m/e (I%)**; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 448, 431, 392, 375 (100).

**HRMS** : [M+Na<sup>+</sup>] Calc 453,1460, Exp 453,1465.

**IR** : 3324, 2982, 1719 (tF), 1521 (F), 1137 (tF).

### Synthèse du *N*-(2-*tertio*-butoxycarbonylméthylsulfanylphényl)-2-(fluorén-9-yl)méthyl-oxycarbonylaminoéthamide (**42**)



De la *N*-(9-fluorenylméthoxycarbonyl)glycine (1,01 mmol) et du chlorure d'oxalyle (1,08 mmol) sont additionnés à 0°C et sous atmosphère inerte dans du THF anhydre (5 mL). Une quantité catalytique de DMF (0,11 mmol) est ajoutée et le mélange est agité à température ambiante pendant 0,5 heures. La solution est canulée sous atmosphère inerte dans un mélange contenant le composé **40** (0,84 mmol) et de la diisopropyléthylamine (3,16 mmol) dans du THF anhydre (20 mL). La solution résultante est agitée pendant 1 heure à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu obtenu est repris par du dichlorométhane (20 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (2x20 mL) puis séchée sur sulfate de magnésium. La phase organique est évaporée sous pression réduite puis le résidu obtenu est chromatographié par élution croissante à partir de dichlorométhane pur jusqu'à un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (19/1). Le composé **42** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=38°C; Rdt=93%.

**RMN <sup>1</sup>H (200 MHz)** : 1,34 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3,38 (s, 2H, SCH<sub>2</sub>), 4,23 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub>), 4,44 (s, 1H, OCHH), 4,48 (s, 1H, OCHH), 5,86 (se, 1H, NHCOO), 7,07 (td, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz, J<sup>4</sup> = 1,2 Hz), 7,31-7,67 (m, 9H, 9C<sub>ar</sub>H), 7,77 (d, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,0 Hz), 8,39 (d, 1H, C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,1 Hz), 9,68 (s, 1H, NHCOCH<sub>2</sub>).

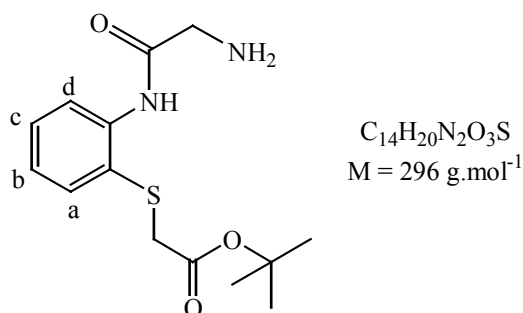
**RMN <sup>13</sup>C** : 28,0 (3CH<sub>3</sub>), 40,6 (SCH<sub>2</sub>), 45,5 (NCH<sub>2</sub>), 47,2 (CHCH<sub>2</sub>), 67,5 (OCH<sub>2</sub>), 82,9 (CCH<sub>3</sub>), 2x120,1+120,7+122,3+124,6+2x125,2+2x127,2+2x127,8+130,9+2x136,7+139,9+2x141,4+143,9 (18C<sub>ar</sub>), 156,6 (NHCOO), 167,5 (NHCO), 169,9 (SCH<sub>2</sub>CO).

**SM m/e (I%) CI** : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>=537, M+H<sup>+</sup>=519, 297, 214(100).

**HRMS** : [M+Na<sup>+</sup>] Calc 541,17731, Exp 541,17730.

**IR** : 3054, 1723, 1507, 1265 (tF).

### Synthèse du *N*-(2-*tertio*-butoxycarbonylméthylsulfanylphényl)-2-aminoéthanamide (**43**)



Le composé **42** (1,08 mmol) et de la pipéridine (4 mL) sont additionnés dans du dichlorométhane anhydre (20 mL). La solution est agitée sous atmosphère inerte pendant 20 minutes à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est chromatographié dans un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle / triéthylamine (83/15/2) pour conduire au composé **43** sous forme d'une huile incolore.

Rdt=78%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,33 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3,43 (s, 2H, SCH<sub>2</sub>), 3,57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 7,05 (td, 1H, C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz), 7,34 (m, 1H, C<sub>c</sub>H), 7,58 (dd, 1H, C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,6 Hz, J<sup>4</sup> = 1,5 Hz), 8,47 (d, 1H, C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,0 Hz), 10,46 (s, 1H, NHCO).

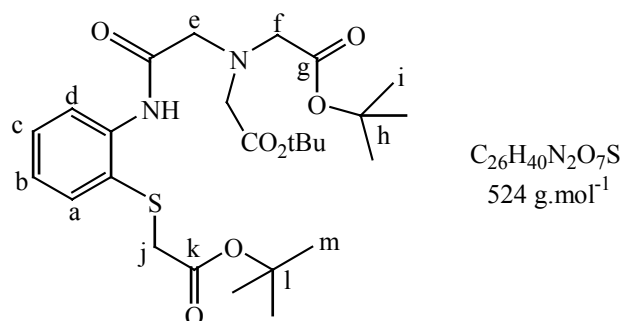
**RMN <sup>13</sup>C** : 27,8 (3CH<sub>3</sub>), 39,2 (SCH<sub>2</sub>), 45,9 (NCH<sub>2</sub>), 82,1 (CCH<sub>3</sub>), 120,2+122,0+124,0+130,2+135,7+139,6 (6C<sub>ar</sub>), 168,7 (NHCO), 171,3 (COO).

**SM** m/e (I%); CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>=314, M+H<sup>+</sup>= 297(100), 241, 84.

**HRMS** : [M+Na<sup>+</sup>] Calc 319.1092, Exp 319,1092.

**IR** : 3255, 2980, 1724 (F), 1684 (F), 1516 (tF).

### Synthèse du *N*-(2-*tertio*-butoxycarbonylméthylsulfanylphényl)-2-di(*tertio*-butoxycarbonylméthyl)aminoéthanamide (**44**)



Le composé **42** (0,74 mmol) et la pipéridine (4 mL) sont additionnés dans du dichlorométhane anhydre (20 mL). La solution est agitée sous atmosphère inerte pendant 20 minutes à température ambiante. Après concentration sous pression réduite, le résidu est repris plusieurs fois avec du dichlorométhane, puis il est additionné avec de l'iodure de potassium (0,15 mmol), du carbonate de potassium (7,74 mmol) et du bromoacétate de *tertio*butyle (9,9 mmol) dans du THF anhydre (10 mL). Le mélange est agité pendant 5 heures à 70°C sous atmosphère inerte. Après évaporation sous pression réduite, le résidu obtenu est dissout dans du dichlorométhane (30 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (20 mL) puis séchée sur sulfate de magnésium. Le filtrat est évaporé sous pression réduite et le résidu chromatographié dans un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (24/1) pour conduire au composé **44** sous forme d'une huile incolore.

Rdt=75%.

**RMN  $^1\text{H}$**  : 1,36 (s, 9H,  $3\text{C}_\text{m}\text{H}_3$ ), 1,45 (s, 18H,  $6\text{C}_\text{i}\text{H}_3$ ), 3,43 (s, 2H,  $\text{SC}_\text{j}\text{H}_2$ ), 3,55 (s, 2H,  $\text{C}_\text{e}\text{H}_2$ ), 3,58 (s, 4H,  $2\text{C}_\text{f}\text{H}_2$ ), 7,05 (td, 1H,  $\text{C}_\text{b}\text{H}$ ,  $J^3 = 7,5 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,4 \text{ Hz}$ ), 7,35 (t, 1H,  $\text{C}_\text{c}\text{H}$ ,  $J^3 = 7,6 \text{ Hz}$ ), 7,58 (dd, 1H,  $\text{C}_\text{a}\text{H}$ ,  $J^3 = 7,8 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,4 \text{ Hz}$ ), 8,40 (d, 1H,  $\text{C}_\text{d}\text{H}$ ,  $J^3 = 8,2 \text{ Hz}$ ), 10,43 (se, 1H,  $\text{NHCO}$ ).

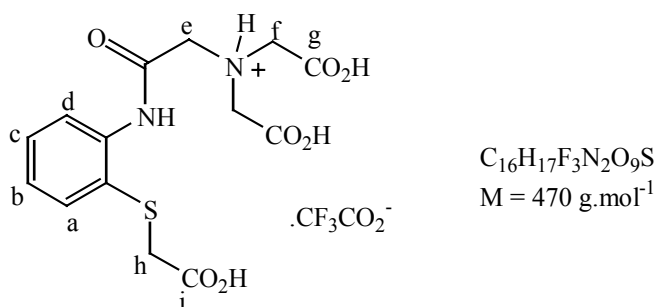
**RMN  $^{13}\text{C}$**  : 27,8 ( $3\text{C}_\text{i}\text{H}_3$ ), 28,2 ( $6\text{C}_\text{m}\text{H}_3$ ), 38,8 ( $\text{SC}_\text{j}\text{H}_2$ ), 56,5 ( $2\text{C}_\text{f}\text{H}_2$ ), 59,1 ( $\text{C}_\text{e}\text{H}_2$ ), 81,7 ( $2\text{C}_\text{h}$ ), 81,8 ( $\text{C}_\text{l}$ ), 120,8 ( $\text{C}_\text{d}\text{H}$ ), 122,9 ( $\text{CS}$ ), 124,1 ( $\text{C}_\text{b}\text{H}$ ), 130,0 ( $\text{C}_\text{c}\text{H}$ ), 135,6 ( $\text{C}_\text{a}\text{H}$ ), 139,4 ( $\text{CN}$ ), 168,6 ( $\text{NHCO}$ ), 169,5 ( $\text{C}_\text{k}\text{O}$ ), 169,8 ( $2\text{C}_\text{g}\text{O}$ ).

**SM** m/e (I%); CI :  $\text{M}+\text{H}^+=525(100)$ , 216, 150.

**HRMS** : Calc 524.25562, Exp 524.25560.

**IR** : 3055, 2984, 1731, 1518, 1265 (tF).

### Synthèse du trifluoroacétate d'ammonium de l'acide *N*-[2-(*N*-2-carboxyméthylsulfanylphényl)-2-amino-2-oxoéthyl]amine-*N,N*-diacétique (**45**)



Le composé **44** (0,25 mmol) est additionné dans de l'acide trifluoroacétique (1 mL) et la solution est agitée pendant 15 heures à température ambiante avant d'être évaporée sous pression réduite. Cette opération est répétée deux nouvelles fois. Le résidu obtenu est repris par du méthanol puis par du dichlorométhane pour conduire au composé **45** sous forme d'un solide blanc.

F=53°C; Rdt=quant.

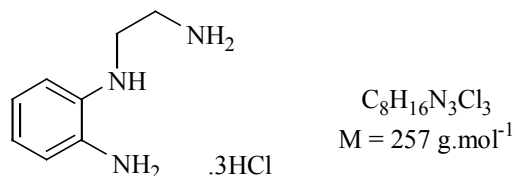
**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 3,61 (s, 2H, SC<sub>h</sub>H<sub>2</sub>), 3,76 (s, 2H, C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 3,83 (s, 4H, 2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 7,14 (t, 1H, C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,2 Hz), 7,34 (t, 1H, C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,2 Hz), 7,60 (d, 1H, C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz), 8,11 (d, 1H, C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO) : 38,8 (SC<sub>h</sub>H<sub>2</sub>), 56,4 (2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 59,5 (C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 123,3+126,4 (2C<sub>ar</sub>H), 126,6 (C<sub>ar</sub>S), 130,5+136,0 (2C<sub>ar</sub>H), 139,8 (C<sub>ar</sub>N), 171,1 (NHCO), 173,1 (C<sub>i</sub>O), 173,4 2C<sub>g</sub>O).

**SM** m/e (I%) ; L-SIMS+ : M+H<sup>+</sup>-TFA= 357,1, M+Na<sup>+</sup>-TFA=378,9. L-SIMS- : M-H<sup>+</sup>-TFA=355,1.

**IR** : 3345(F), 3016 (F), 1730 (tF), 1695 (tF), 1193 (tF).

### Synthèse du trichlorure de triammonium de la *N*-(2-aminophényl)éthylènediamine (**48**)



Le composé **29** (2,47 mmol) et le complexe BH<sub>3</sub>.DMS (12,2 mmol) à 2M dans du THF sont additionnés dans du THF anhydre (10 mL) à 0°C. La solution est chauffée à reflux sous atmosphère d'azote pendant 28 heures. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est dissout dans du méthanol (25 mL). Un bullage d'acide chlorhydrique gazeux est effectué pendant 30 minutes à 0°C. La solution est évaporée sous pression réduite et le résidu est dissout dans de l'éthanol absolu (10 mL). Un bullage d'acide chlorhydrique gazeux est de nouveau effectué dans les conditions précédemment décrites. Le précipité est essoré sur fritté et séché sous pression réduite pour conduire au composé **48** sous forme d'un solide rose.

F=211°C; Rdt=91%.

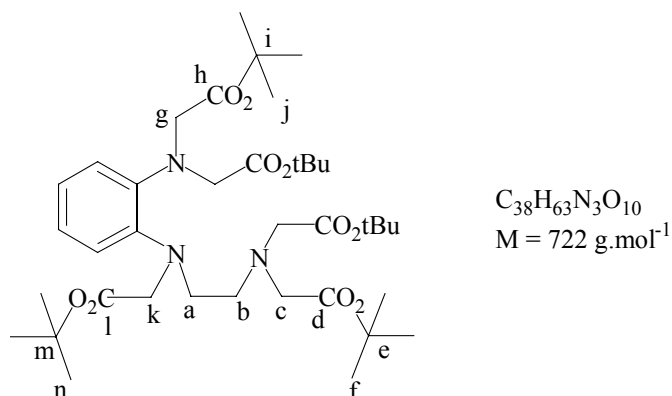
**RMN <sup>1</sup>H** (CD<sub>3</sub>OD) : 3,27 (t, 2H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 5,8 Hz), 3,58 (t, 2H, NHCH<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 5,8 Hz), 7,00 (m, 2H, 2C<sub>ar</sub>H), 7,40 (m, 2H, 2C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (CD<sub>3</sub>OD) : 39,7 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 41,8 (NHCH<sub>2</sub>), 115,7 (C<sub>ar</sub>H), 119,4 (C<sub>ar</sub>), 121,0+125,5 +132,0 (3C<sub>ar</sub>H), 142,9 (C<sub>ar</sub>).

**SM** m/e (I%); L-SIMS- : M-H<sup>+</sup>=256,6.

**IR** : 3429 (F), 2879 (tF), 1507 (F), 1326 (F).

**Synthèse de la *N,N,N'*-tri-*tertio*-butoxycarbonylméthyl-*N'*-*tertio*-butoxycarbonylméthyl-*N'*-[2-di(*tertio*-butoxycarbonylméthyl)aminophényl]éthylènediamine (49)**



Le composé **46** (2,3 mmol), du carbonate de potassium (23 mmol), de l'iodure de potassium (0,36 mmol) et du bromoacétate de *tertio*-butyle (22,9 mmol) sont additionnés dans de l'acétonitrile anhydre (40 mL). Le mélange est agité pendant 72 heures à 80°C sous argon. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par du dichlorométhane (100 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (80 mL) puis séchée sur sulfate de magnésium. La solution est filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié dans un mélange éther de pétrole / triéthylamine (49/1). Le résidu obtenu est chromatographié dans un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (19/1) pour conduire au composé **49** sous forme d'une huile incolore.

Rdt=65%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,37 (s, 27H, 6C<sub>i</sub>H<sub>3</sub>+3C<sub>n</sub>H<sub>3</sub>), 1,44 (s, 18H, 6C<sub>l</sub>H<sub>3</sub>), 2,83 (t, 2H, C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 5,8 Hz), 3,41 (m, 6H, C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 4,10 (s, 4H, 2C<sub>g</sub>H<sub>2</sub>), 4,15 (s, 2H, C<sub>k</sub>H<sub>2</sub>), 6,90-7,10 (m, 4H, C<sub>ar</sub>H).

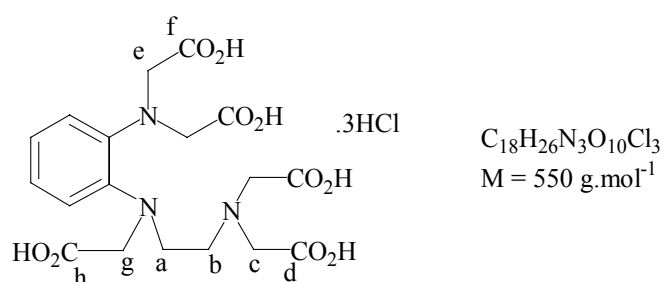
**RMN <sup>13</sup>C** : 28,2 (6C<sub>l</sub>H<sub>3</sub>+6C<sub>j</sub>H<sub>3</sub>+3C<sub>n</sub>H<sub>3</sub>), 48,9 (C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 51,9 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 53,5 (2C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 53,6 (C<sub>k</sub>H<sub>2</sub>), 56,1 (2C<sub>g</sub>H<sub>2</sub>), 80,6 (2C<sub>e</sub>), 81,0 (2C<sub>i</sub>+C<sub>m</sub>), 120+121,5+122,3+122,5 (4C<sub>ar</sub>H), 141,3 +141,8 (2C<sub>ar</sub>N), 170,3 (2C<sub>d</sub>O), 170,7 (2C<sub>h</sub>O), 171,0 (C<sub>f</sub>O).

**SM** m/e (I%); CI : M<sup>+</sup> = 722(100), 608, 450.

**HRMS** : Calc 722,4592, Exp 722,4593.

**IR** : 2978 (F), 2931, 1740 (tF), 1367 (F), 1149 (F).

Synthèse du trichlorure de triammonium de l'acide *N*-(2-*N,N*-dicarboxyméthylaminophényl)éthylènediamine-*N,N',N'*-triacétique (50)



Le composé **49** (0,34 mmol) est dissout dans de l'éthanol (12 mL). Une solution de soude 2M (12 mL) est ajoutée sous agitation et le mélange est chauffé à 60°C pendant 12 heures. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est dissout dans de l'eau (12 mL) à 0°C. Une solution d'acide chlorhydrique 6M est additionnée jusqu'à pH acide. La solution est ensuite évaporée sous pression réduite et le résidu agité à température ambiante dans de l'acétone (40 mL) pendant 10 minutes. Après filtration sur frité, le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris trois fois par de l'acide chlorhydrique 6M pour conduire au composé **50** sous forme d'un solide blanc hygroscopique.

F=126°C; Rdt=88%.

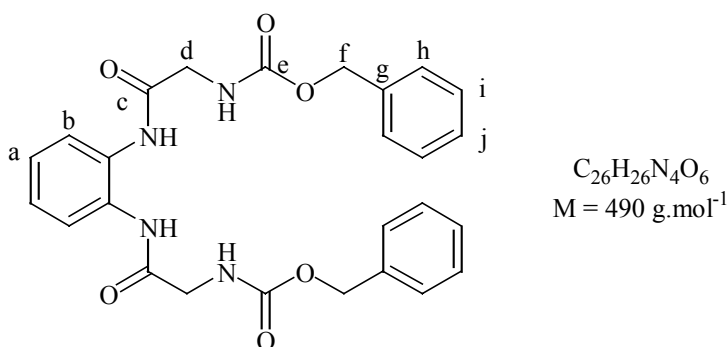
**RMN <sup>1</sup>H** (D<sub>2</sub>O) : 3,47 (se, 2H, C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 3,52 (se, 2H, C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 4,07 (s, 2H, C<sub>g</sub>H<sub>2</sub>), 4,20+4,26 (2s, 8H, 2C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 7,09-7,17 (m, 4H, 4C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (D<sub>2</sub>O) : 51,3 (C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 56,6 (C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 56,7 (2C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 58,2 (2C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>+C<sub>g</sub>H<sub>2</sub>), 125,1+126,3+128,2+129,1 (4C<sub>ar</sub>H), 144,3+146,1 (2C<sub>ar</sub>N), 172,3 (2C<sub>d</sub>O), 178,0 (2C<sub>f</sub>O), 178,3 (C<sub>h</sub>O).

**SM m/e (I%)** L-SIMS+ : M+H<sup>+</sup>-3HCl= 442,0, M+Na<sup>+</sup>-3HCl=464,1. L-SIMS-: M-H<sup>+</sup>-3HCl = 440,2, M-2H<sup>+</sup>+Na<sup>+</sup>-3HCl = 464,1.

**IR** : 3428(tF), 3005 (F), 1734 (tF), 1419 (F), 1218 (tF).

Synthèse de l'*o*-phénylène-*N,N*-bis-(2-benzoxycarbonylaminoéthamide) (51)



De la carbobenzyloxyglycine (4,48 mmol) et du chlorure d'oxalyle (4,9 mmol) sont additionnés à 0°C et sous atmosphère inerte dans du dichlorométhane anhydre (15 mL). Une quantité catalytique de DMF (0,3 mmol) est ajoutée et le mélange est agité à température ambiante pendant 90 minutes. La solution est canulée sous atmosphère inerte dans un mélange contenant de l'*o*-phénylènediamine (2,39 mmol) et de la triéthylamine (9 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (20 mL). La solution résultante est agitée pendant 1,5 heures à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu obtenu est repris par du dichlorométhane (50 mL) et la phase organique est lavée par une solution d'acide chlorhydrique 2M (60 mL) puis par de l'eau (60 mL). Après évaporation sous pression réduite de la phase organique, le composé **51** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F = 180°C ; Rdt=quant.

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 3,84 (d, 4H, 2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 5,6 Hz), 5,06 (s, 4H, 2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 7,14-7,19 (m, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 7,35 (s, 10H, 10C<sub>ar</sub>H), 7,52-7,63 (m, 4H, 2C<sub>a</sub>H+2CH<sub>2</sub>NH), 9,35 (se, 2H, 2C<sub>ar</sub>NH).

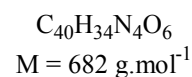
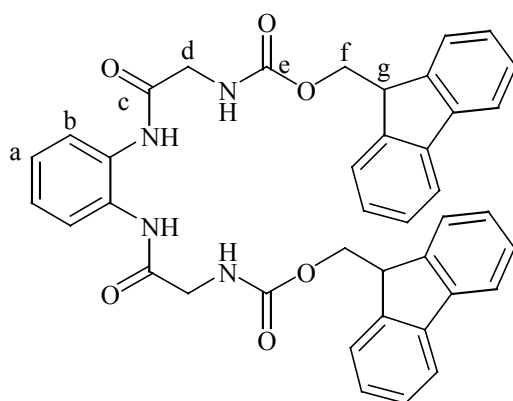
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 44,2 (2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 65,7 (2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 124,7 (2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 125,1 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 127,8 (4C<sub>h</sub>H+2C<sub>j</sub>H), 128,4 (4C<sub>i</sub>H), 130,3 (2C<sub>ar</sub>N), 136,9 (2C<sub>g</sub>), 156,7 (2NHC<sub>e</sub>OO), 168,4 (2NHC<sub>c</sub>O).

**SM m/e (I%)** CI: 152, 126 (100), 108.

**IR** : 3421(F), 3268 (F), 1705 (tF), 1681 (tF), 1543 (tF).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 63,66; H, 5,34; N, 11,42 Exp. C, 63,60; H, 5,38; N, 11,42.

### Synthèse de l'*o*-phénylène-*N,N*-bis-[2-(fluorén-9-yl)méthoxy]carbonylamino éthanamide] (**52**)





De la *N*-(9-fluorenylméthoxycarbonyl)glycine (3,36 mmol) et du chlorure d'oxalyle (3,60 mmol) sont additionnés à 0°C et sous atmosphère inerte dans du THF anhydre (15 mL). Une quantité catalytique de DMF (0,33 mmol) est ajoutée et le mélange est agité à température ambiante pendant 45 minutes. La solution est canulée sous atmosphère inerte dans un mélange contenant de l'*o*-phénylènediamine (1,40 mmol) et de la diisopropyléthylamine (10,6 mmol) dans du THF anhydre (15 mL). La solution résultante est agitée pendant 1 heure à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu obtenu est repris par du dichlorométhane (50 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (40 mL). Le précipité de la phase organique est essoré sur fritté et rincé par du dichlorométhane (10 mL) pour conduire au composé **52** sous forme d'un solide blanc.

F=169°C; Rdt=94%.

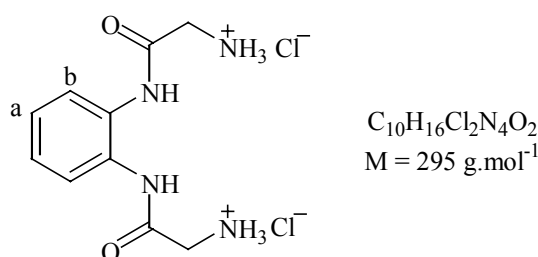
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 3,88 (s, 4H, 2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 4,24 (s, 2H, 2C<sub>g</sub>H), 4,32 (s, 4H, 2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 7,10-7,90 (m, 20H, 20C<sub>ar</sub>H), 9,36 (s, 2H, 2C<sub>ar</sub>NHCO).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 44,2 (2C<sub>g</sub>H), 46,7 (2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 65,9 (2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 120,1+121,4+124,7+125,3+127,1+127,6+128,9+130,3+140,7+143,8 (10C<sub>ar</sub>+20C<sub>ar</sub>H), 156,8 (2NHC<sub>c</sub>O), 168,5 (2NHC<sub>c</sub>O).

**IR** : 3316 (F), 1708 (tF), 1676 (tF), 1526 (tF), 1253 (F).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 72,12; H, 5,61; N, 8,21 Exp. : C, 72,27; H, 5,28; N, 8,10.

### Synthèse du dichlorure de diammonium de *o*-phénylène-*N,N*-bis(2-aminoéthanamide) (**53**)



Le composé **51** (2,0 mmol) et le catalyseur de Pearlman (0,4 mmol) sont additionnés dans un mélange méthanol / acide chlorhydrique 2M (100 mL, 1/1). Après 20 heures d'agitation à température ambiante sous atmosphère d'hydrogène, la solution est filtrée sur célite qui est rincée par un mélange éthanol / eau (200 mL, 9/1). Le filtrat est évaporé sous pression réduite et le résidu est repris par du dichlorométhane (20 mL). Après évaporation sous pression réduite, le composé **53** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=248°C; Rdt=quant.

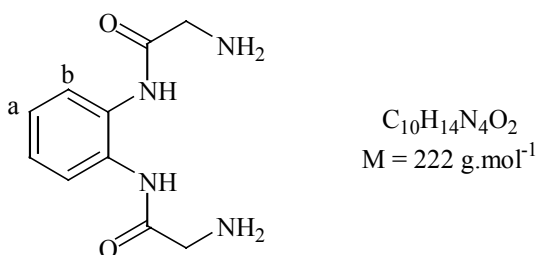
**RMN <sup>1</sup>H** (D<sub>2</sub>O): 4,07 (s, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 7,41 (s, 2H, 2C<sub>a</sub>H), 7,52 (s, 2H, 2C<sub>b</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 42,4 (2CH<sub>2</sub>), 127,7 (2C<sub>b</sub>H), 129,0 (2C<sub>a</sub>H), 131,0 (2C<sub>ar</sub>N), 167,6 (2CO).

**SM m/e** (I%); L-SIMS+ : M+H<sup>+</sup>-2HCl=223,0, M+Na<sup>+</sup>-2HCl=245,0. (L-SIMS-) : M-H<sup>+</sup>-2HCl = 220,9, M-H<sup>+</sup>-2HCl +2Na<sup>+</sup> = 256,9.

**IR** : 3035 (tF), 1668 (tF), 1525 (F), 1458 (F), 1308 (F).

### Synthèse du *o*-phénylène-*N,N*-bis(2-aminoéthamide) (**54**).



Le composé **52** (0,90 mmol) et de la pipéridine (4 mL) sont additionnés dans du DMF anhydre (20 mL). La solution est agitée sous atmosphère inerte pendant 40 minutes à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par de l'éther diéthylique (100 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (60 mL). La phase aqueuse est évaporée sous pression réduite et reprise plusieurs fois par de l'eau pour conduire au composé **54** sous forme d'une huile incolore.

Rdt=quant.

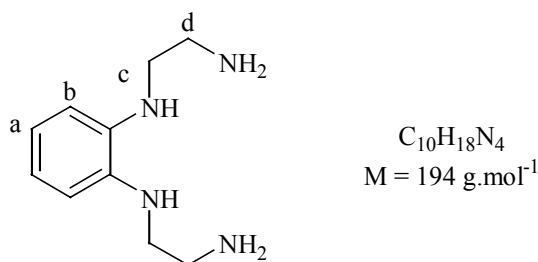
**RMN <sup>1</sup>H** (CD<sub>3</sub>OD): 3,48 (s, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 7,23 (s, 2H, 2C<sub>a</sub>H), 7,60 (s, 2H, 2C<sub>b</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (CD<sub>3</sub>OD) : 45,4 (2CH<sub>2</sub>), 126,0 (2C<sub>b</sub>H), 127,1 (2C<sub>a</sub>H), 131,6 (2C<sub>ar</sub>N), 173,9 (2CO).

**SM m/e** (I%); CI : M+H<sub>4</sub><sup>+</sup>= 223 (100), 180.

**IR** : 3258, 1669 (F), 1598 (F), 1525 (tF), 1296 (F).

## Synthèse de l'*o*-phénylène-*N,N*-bis(éthylènediamine) (**55**)



Le composé **53** (3,00 mmol) et le complexe  $BH_3\cdot DMS$  (15,0 mmol) à 2M dans du THF sont additionnés dans du THF anhydre (25 mL) à 0°C. Le mélange est chauffé à reflux sous atmosphère d'azote pendant 23 heures. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est dissout dans du méthanol (25 mL). Un bullage d'acide chlorhydrique gazeux est effectué pendant 30 minutes à 0°C. La solution est évaporée sous pression réduite et le résidu est dissout dans de l'éthanol absolu (18 mL). Un bullage d'acide chlorhydrique gazeux est de nouveau effectué dans les conditions précédemment décrites. Le précipité est essoré sur fritté, séché sous pression réduite, puis additionné dans une solution de soude 5M (80 mL). Le produit est extrait de la phase aqueuse par du dichlorométhane (3x100 mL). La phase organique est séchée sur du sulfate de magnésium, filtré et évaporée sous pression réduite pour conduire au composé **55** sous forme d'une huile incolore.

Rdt=58%.

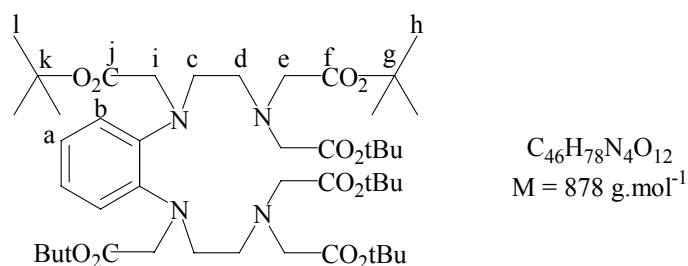
**RMN  $^1H$**  : 2,43 (se, 4H,  $2NH_2$ ), 2,97 (t, 4H,  $2C_dH_2$ ,  $J^3 = 5,2 \text{ Hz}$ ), 3,16 (t, 4H,  $2C_cH_2$ ,  $J^3 = 5,2 \text{ Hz}$ ), 6,65 (m, 2H,  $2C_bH$ ), 6,78 (m, 2H,  $2C_aH$ ).

**RMN  $^{13}C$**  : 41,2 ( $2C_dH_2$ ), 46,9 ( $2C_cH_2$ ), 111,6 ( $2C_bH$ ), 119,1 ( $2C_aH$ ), 137,4 ( $2CN$ ).

**SM m/e (I%)**; L-SIMS+ :  $M+H^+=195$ .

**IR** : 3345, 2936, 2861, 1598 (F).

## Synthèse de l'*o*-phénylène-*N,N*-bis(éthylènediamine-*N,N,N'*-triacétate de tri-*tertio*-butyle) (**56**).



Le composé **55** (0,73 mmol), du carbonate de potassium (7,33 mmol), de l'iodure de potassium (0,15 mmol) et du bromoacétate de *tertio*-butyle (7,33 mmol) sont additionnés dans de l'acétonitrile anhydre (15 mL). Le mélange est agité pendant 96 heures à 80°C sous argon. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par du dichlorométhane (40 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (20 mL) puis séchée sur sulfate de magnésium. La solution est filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié dans un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (19/1). Le résidu obtenu est chromatographié dans un mélange éther de pétrole / dichlorométhane / triéthylamine (93/5/2) pour conduire au composé **56** sous la forme d'une huile incolore.

Rdt=41%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 1,36 (s, 18H, 6C<sub>1</sub>H<sub>3</sub>), 1,44 (s, 36H, 12C<sub>h</sub>H<sub>3</sub>), 2,81 (t, 4H, 2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 7,0 Hz), 3,40 (m, 12H, 2C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>+4C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 4,08 (s, 4H, 2C<sub>i</sub>H<sub>2</sub>), 6,88 (m, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 7,06 (m, 2H, 2C<sub>a</sub>H).

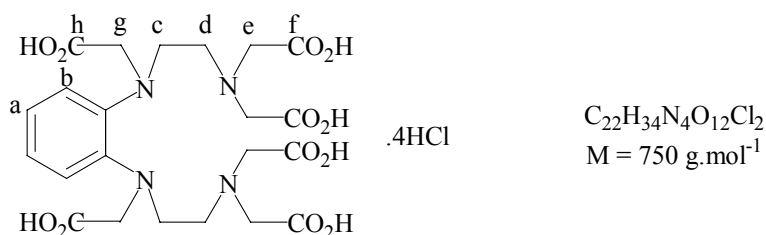
**RMN <sup>13</sup>C** : 28,3 (12C<sub>h</sub>H<sub>3</sub>+6C<sub>1</sub>H<sub>3</sub>), 49,1 (2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 52,1 (2C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 53,6 (2C<sub>i</sub>H<sub>2</sub>), 56,1 (4C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 80,6 (2C<sub>k</sub>), 81,0 (4C<sub>g</sub>), 121,4+122,2 (2C<sub>a</sub>H+2C<sub>b</sub>H), 141,7 (2C<sub>ar</sub>N), 170,7 (4C<sub>f</sub>O), 170,9 (2C<sub>j</sub>O).

**SM m/e (I%)**; CI : M+H<sup>+</sup> = 879, 607, 362, 336 (100).

**HRMS** : [M+Na<sup>+</sup>] Calc 901,5514, Exp 901,5512.

**IR** : 2978(F), 2933 (f), 1742 (tF), 1148 (tF).

### Synthèse du tétrachlorure de tétraammonium de l'acide l'*o*-phénylène-*N,N*-bis(éthylènediamine-*N,N,N'*-triacétique) (**57**)



Le composé **56** (0,068 mmol) est dissout dans de l'éthanol (2,5 mL). Une solution de soude 2M (2,5 mL) est ajoutée sous agitation et le mélange est chauffé à 60°C pendant 12 heures. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est dissout dans de l'eau (2,5 mL) à 0°C. Une solution d'acide chlorhydrique 6M est additionnée jusqu'à pH acide. La solution est ensuite évaporée sous pression réduite et le résidu agité à température ambiante dans un mélange éthanol / dichlorométhane (9/1) pendant 40 minutes. Après filtration sur frité, le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris trois fois par de l'acide chlorhydrique 6M pour conduire au composé **57** sous la forme d'un solide blanc cassé hygroscopique.

F>300°C; Rdt=90%.

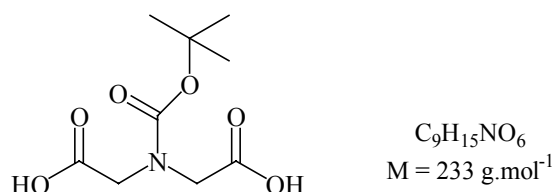
**RMN <sup>1</sup>H** (D<sub>2</sub>O) : 3,49+3,68 (2m, 8H, 2C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 4,09 (s, 4H, 2C<sub>g</sub>H<sub>2</sub>), 4,19 (s, 8H, 4C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 7,13 (m, 4H, 4C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (D<sub>2</sub>O) : 50,4 (2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 56,5 (2C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 57,3 (2C<sub>g</sub>H<sub>2</sub>), 58,5 (4C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 125,7 (2C<sub>b</sub>H), 128,8 (2C<sub>a</sub>H), 145,0 (2CN), 171,9 (4C<sub>f</sub>O), 178,2 (2C<sub>h</sub>O).

**SM m /e** (I<sup>o</sup>); L-SIMS+ : M+H<sup>+</sup>-4HCl= 605,0.

**IR** : 3419(tF), 2969 (F), 1733 (tF), 1256.

### Synthèse de l'acide *N*-*tert*-butoxycarbonylamine-*N,N'*-diacétique (**58**)



De l'acide iminodiacétique (7,5 mmol) et du (BOC)<sub>2</sub>O (8,3 mmol) dissout dans du dioxane (1 mL) sont additionnés dans un mélange dioxane / NaOH 2M (20 mL, 1/1) à 0°C. Le mélange est agité 3 heures à 0°C, puis 40 heures à température ambiante. Le mélange est lavé par de l'acétate d'éthyle (10 mL) et la phase aqueuse est acidifiée (pH=1,5) avec une solution d'acide chlorhydrique 2M. Le composé attendu est extrait de la phase aqueuse par de l'acétate d'éthyle (2x40 mL) puis la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris plusieurs fois par de l'éther diéthylique pour conduire au composé **58** sous forme d'un solide blanc.

F=131°C; Rdt=52%.

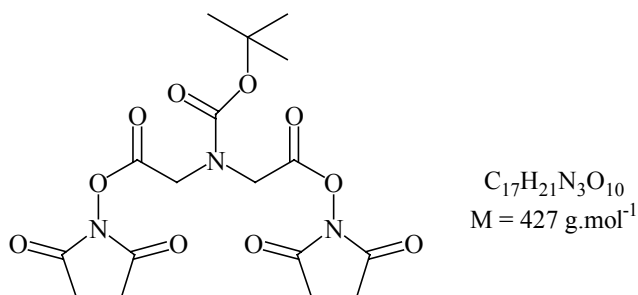
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 1,35 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3,87+3,90 (2CH<sub>2</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 27,7 (3CH<sub>3</sub>), 49,1+49,6 (2NCH<sub>2</sub>CO), 79,5 (CCH<sub>3</sub>), 154,7 (NCO<sub>2</sub>), 171,1 (2CH<sub>2</sub>CO).

**SM m /e** CI: M+H<sup>+</sup>=234 (100).

**IR** : 3171 (F), 2981 (F), 1746, 1661 (tF), 1248.

## Synthèse du *N*-*tert*-butoxycarbonylamine-*N,N'*-diacétate de disuccinimidyle (**59**)



Le composé **58** (1,29 mmol), du *N*-hydroxysuccinimide (2,60 mmol) et de l'EDC (2,64 mmol) sont additionnés dans de l'acétate d'éthyle (10 mL). La réaction est agitée pendant 2 heures à température ambiante puis du DMF est ajouté (2 mL). Après 18 heures de réaction à température ambiante, le mélange est lavé par une solution saturée de NaCl (10 mL), par une solution de NaHCO<sub>3</sub> à 5% (10 mL) et de nouveau par une solution saturée de NaCl (10 mL). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium et concentrée au quart de son volume initial. Après cristallisation par ajout d'éther de pétrole (3 mL) et essorage du précipité formé sur frité, le composé **59** est isolé sous forme d'un solide blanc.

F=153°C; Rdt=90%.

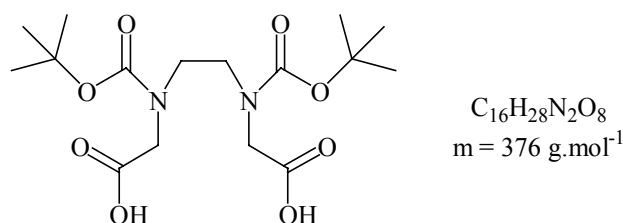
**RMN** <sup>1</sup>H (DMSO) : 1,39 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 2,80 (s, 8H, 2COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3,87+3,90 (s, 4H, 2CH<sub>2</sub>).

**RMN** <sup>13</sup>C (DMSO) : 25,2 (2COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 27,4 (3CH<sub>3</sub>), 47,2+47,7 (2NCH<sub>2</sub>CO), 81,3 (CCH<sub>3</sub>), 154,1 (NCO<sub>2</sub>), 165,7 (CH<sub>2</sub>CO), 169,8 (4NCOCH<sub>2</sub>), 172,7 (CH<sub>2</sub>CO).

**SM** m/e CI: M+H<sup>+</sup>=428 (100).

**IR** : 2984 , 1739 (F), 1707 (F), 1451, 1205.

## Synthèse de l'acide *N,N'*-di(*tert*-butoxycarbonyl)éthylènediamine-*N,N'*-diacétique (**60**)



De l'acide éthylènediamine-*N,N'*-diacétique (1,7 mmol) et du (BOC)<sub>2</sub>O (3,74 mmol) solubilisés dans du dioxane (1 mL) sont additionnés dans un mélange dioxane / NaOH 2M (7 mL, 1/1) à 0°C. Le mélange est agité 3 heures à 0°C, puis 40 heures à température ambiante. Le mélange est lavé par de l'acétate d'éthyle (10 mL) et la phase aqueuse est acidifiée (pH=1,5) avec une solution d'acide chlorhydrique 2M. Le composé attendu est extrait de la phase aqueuse par de l'acétate d'éthyle (2x20 mL) puis la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris plusieurs fois par de l'éther diéthylique pour conduire au composé **60** sous forme d'un solide blanc.

F=158°C; Rdt=63%.

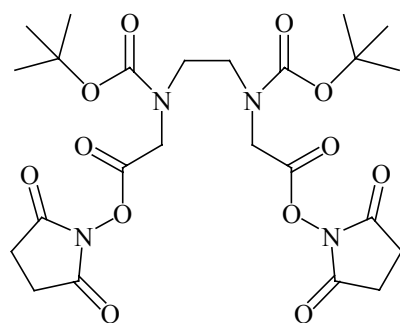
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 1,33+1,38+1,39 (3m, 18H, 6CH<sub>3</sub>), 3,28 (s, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3,81+3,84 +3,86 (3s, 4H, 2CH<sub>2</sub>CO).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 27,8+27,9 (6CH<sub>3</sub>), 45,3+45,6+45,7+45,9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 48,3+49,1 (2CH<sub>2</sub>CO), 78,9+79,0 (2C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 154,5+154,7 (2NCOO), 171,1+171,25 (2COO).

**SM** m/e CI : 221, 177.

**IR** : 3548, 3420, 1746, 1686.

### Synthèse du *N,N'*-di(*tertio*-butoxycarbonyl)éthylènediamine-*N,N'*-diacétate de disuccinimidyle (**61**)



C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>  
m = 570 g.mol<sup>-1</sup>

Le composé **60** (0,80 mmol), du *N*-hydroxysuccinimide (1,64 mmol) et de l'EDC (1,64 mmol) sont additionnés dans un mélange acétate d'éthyle / DMF (10 mL, 4/1). Après 18 heures de réaction à température ambiante, le précipité formé est essoré sur fritté et lavé par de l'acétone (10 mL) pour conduire au composé **61** sous forme d'un solide blanc.

F = 212°C; Rdt=61%.

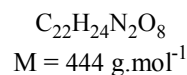
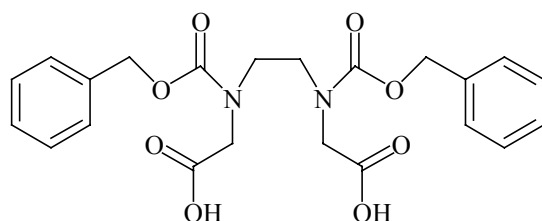
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 1,36+1,39+1,40 (3s, 18H, 6CH<sub>3</sub>), 2,80 (s, 8H, 2COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3,36 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 4,37 (s, 4H, 2CH<sub>2</sub>COO).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 25,4 (2COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 27,5+27,9 (6CH<sub>3</sub>), 45,3+45,5+45,7+46,0+46,4+47,0 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N + 2CH<sub>2</sub>COO), 80,1 (2C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 154,0+154,4 (2NCOO), 166,2+166,4 (2CH<sub>2</sub>COO), 169,8 (4NCOCH<sub>2</sub>).

**SM** m/e; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 588, M+H<sup>+</sup> = 571.

**IR** : 1840, 1803, 1759, 1708.

### Synthèse de l'acide *N,N'*-bis(benzoxycarbonyl)éthylènediamine-*N,N'*-diacétique (**62**)



De l'acide éthylènediamine diacétique (1,42 mmol) et du bicarbonate de sodium (7,0 mmol) sont additionnés dans de l'eau (7 mL) et le mélange résultant est agitée à température ambiante jusqu'à ce que la solution soit limpide. Une solution de chloroformiate de benzyle (3,16 mmoles) dans de l'éther diéthylique (7 mL) est ajoutée au goutte à goutte. La solution résultante est agitée pendant 20 heures à température ambiante. La phase aqueuse est décantée et ajustée à pH=2 par une solution d'acide chlorhydrique 2M. Après extraction par du dichlorométhane (3x5 mL), la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium et évaporée sous pression réduite. Le résidu est repris plusieurs fois par de l'éther diéthylique pour conduire au composé **62** sous forme d'un solide blanc.

Rdt=92%.

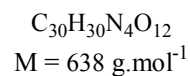
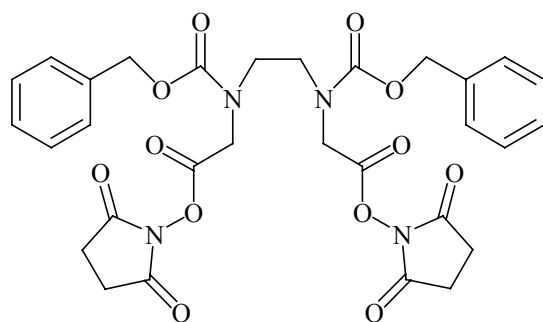
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 3,41 (s, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3,89+3,95+3,97 (3s, 4H, 2CH<sub>2</sub>CO), 4,99+5,03+5,05+5,07 (4s, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 7,30 (m, 10H, 10C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 45,6+46,1+46,6 (2NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 49,0+49,1 (2CH<sub>2</sub>CO), 62,9+66,3+66,5 (2OCH<sub>2</sub>), 126,5+126,7+127,0+127,5+127+127,8+128,1+128,4 (10C<sub>ar</sub>H), 136,8+136,9 (2C<sub>ar</sub>), 155,6 (2NCOO), 171,4 (2COOH).

**SM** m/e (I%) ; L-SIMS+ : M+Na<sup>+</sup>=465,2.



Synthèse du *N,N'*-di(benzoxycarbonyl)éthylènediamine-*N,N'*-diacétate de disuccinimidyle (**63**)



Le composé **61** (0,42 mmol), du *N*-hydroxysuccinimide (0,86 mmol) et de l'EDC (0,86 mmol) sont additionnés dans un mélange acétate d'éthyle / diméthyle formamide (10 mL, 4/1). La réaction est agitée pendant 18 heures à température ambiante. La solution est évaporée sous pression réduite et le résidu est repris par du dichlorométhane (30 mL). La phase organique est lavée par de l'eau (3 x 20 mL) et séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation sous pression réduite, le composé **63** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=63°C; Rdt=86%.

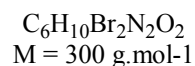
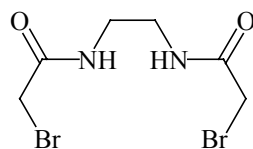
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 2,72+2,81+2,89 (3s, 8H, 2COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3,49 (s, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 4,45+4,50+4,53 (3s, 4H, 2CH<sub>2</sub>COO), 5,00+5,05+5,08 (3s, 4H, 2OCH<sub>2</sub>), 7,32 (s, 10H, 10C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 25,5 (2COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 46,1+46,8 (2NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N+2CH<sub>2</sub>COO), 66,9 (2OCH<sub>2</sub>), 127,3+127,6+127,7+128,0+128,3 (10C<sub>ar</sub>H), 136,3 (2C<sub>ar</sub>), 155,0+155,4 (2NCOO), 166,2+166,4 (2CH<sub>2</sub>COO), 169,9 (4NCOCH<sub>2</sub>).

**SM** m/e, CI : 400, 252 (100), 235, 133.

**IR** : 2948 (f), 1741 (tF), 1712 (F), 1204.

Synthèse de l'éthylène-*N,N'*-di(2-bromoéthanamide) (**64**)



Une solution d'éthylènediamine (20 mmol) et de bromure de bromoacétyle (60 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (45 mL) est additionnée au goutte à goutte pendant 4 heures dans une solution aqueuse (20 mL) de carbonate de potassium (100 mmol). Le mélange est agité pendant 2 heures à température ambiante. De l'eau est ajoutée (20 mL) et la phase organique est filtrée sur fritté. Le précipité est séché sous pression réduite pour conduire au composé **64** sous forme d'un solide blanc.

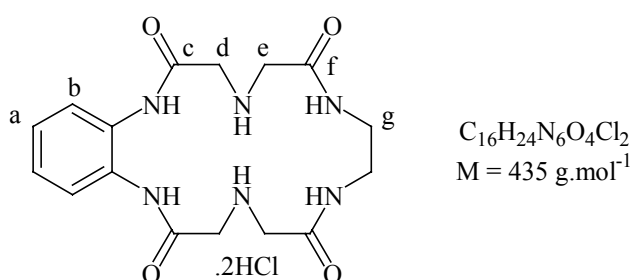
F= 136°C; Rdt=32%

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 3,13 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3,84 (s, 4H, 2CH<sub>2</sub>CO), 8,35 (s, 2H, NHCO).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 29,5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 38,1 (2CH<sub>2</sub>CO), 166,2 (NHCO).

**IR** : 3323 (F), 3289 (F), 1637 (F), 1535.

### Synthèse du dichlorhydrate du 2,3-benzo-1,4,7,10,13,16-hexaazacyclooctadécane-5,9,14,18-tétraone (**65**)



Le composé **54** (1,5 mmol), le bisbromoamide **64** (1,5 mmol) et de la triéthylamine sont additionnés dans du DMF anhydre (40 mL). Le mélange est agité pendant 48 heures à température ambiante. Le mélange est filtré sur fritté et le filtrat évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris par du méthanol (20 mL) et le mélange est filtré une seconde fois. Un bullage d'acide chlorhydrique gazeux est effectué dans le filtrat pendant 15 minutes à 0°C, puis le filtrat est évaporé sous pression réduite. Après cristallisation dans l'éthanol absolu (15 mL), le composé **65** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=242°C; Rdt=33%.

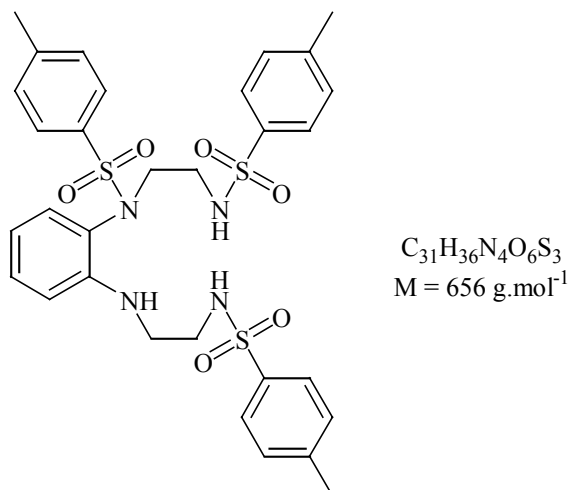
**RMN <sup>1</sup>H** (D<sub>2</sub>O) : 3,40 (s, 4H, 2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 3,90 (s, 4H, 2C<sub>g</sub>H<sub>2</sub>), 4,07 (s, 4H, 2C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 7,40 (s, 4H, 4C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** (D<sub>2</sub>O) : 38,4 (2C<sub>g</sub>H<sub>2</sub>), 47,8+48,1 (2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 126,4+127,9 (2C<sub>a</sub>H+2C<sub>b</sub>H), 130,1 (2C<sub>ar</sub>N), 165,6+166,8 (2C<sub>c</sub>O+2C<sub>f</sub>O).

**SM** m/e L-SIMS+ :M+H<sup>+</sup>-2HCl= 363,1.

**IR** : 3287 (F), 2999 (F), 1691 (F), 1528, 1432, 1296.

## Synthèse du *N*-[2-(2-tosylaminoéthylamino)phényl]-*N,N'*-ditosyléthylènediamine (66)



Le composé **55** (0,77 mmol) dissout dans de la pyridine (1 mL) est additionné dans une solution de chlorure de tosyloxy (0,77 mmol) dissout dans de la pyridine (1 mL). Le mélange est agité pendant 10 heures à 60°C. Du dichlorométhane est ajouté au mélange (25 mL) puis la phase organique est lavée par de l'eau (3x20 mL) et séchée sur sulfate de magnésium. La solution est filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié dans un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (49/1) pour conduire au composé **66** sous forme d'un solide jaune.

F=82°C; Rdt=67%.

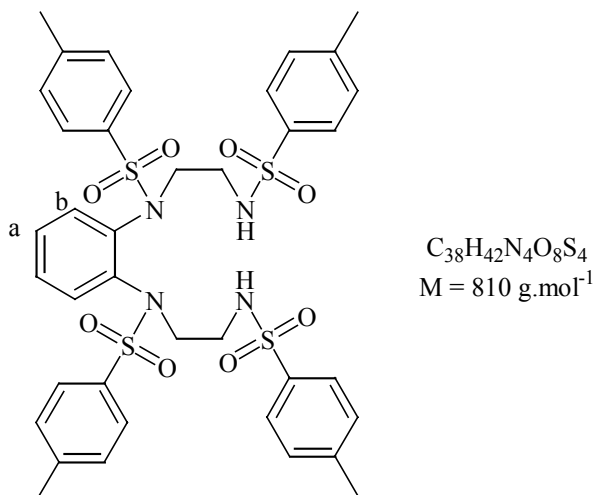
**RMN  $^1\text{H}$**  : 2,39+2,42+2,44 (3s, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 2,80-3,40 (m, 8H, 4 $\text{CH}_2$ ), 5,01 (se, 1H,  $\text{NHC}_{\text{ar}}$ ), 5,80 (m, 2H, 2 $\text{NHTs}$ ), 6,11 (dd, 1H,  $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 7,8 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 1,5 \text{ Hz}$ ), 6,52 (t,  $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 7,5 \text{ Hz}$ ), 7,10-7,40 (m, 8H, 8 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ), 7,49 (d, 2H, 2 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 8,4 \text{ Hz}$ ), 7,61 (d, 2H, 2 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 8,1 \text{ Hz}$ ), 7,80 (d, 2H, 2 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 8,4 \text{ Hz}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  : 21,5 ( $\text{CH}_3$ ), 21,6 (2 $\text{CH}_3$ ), 42,0 (2 $\text{CH}_2\text{NHTs}$ ), 43,3 ( $\text{CH}_2\text{NTsC}_{\text{ar}}$ ), 52,3 ( $\text{CH}_2\text{NHC}_{\text{ar}}$ ), 112,8+118,0+125,7+127,0+127,1+128,0+128,2+129,6+129,7+130,0+133,7+136,6+137,3+143,2+144,4+146,6 (16 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ +8 $\text{C}_{\text{ar}}$ ).

**SM m/e FAB $^+$** :  $\text{M}+\text{H}^+ = 657,4 (100), 502,2, 472,4$ .

**IR** : 3284, 1330 (F), 1160 (tF), 1090 (F).

## Synthèse de l'*o*-phénylène-*N,N*-bis(*N,N'*-ditosyléthylènediamine) (**67**)



Le composé **55** (5,2 mmol) dissout dans de la pyridine (6mL) est additionné dans une solution de chlorure de tosylo (44,7 mmol) dissout dans de la pyridine (5,6 mL). Le mélange est agité pendant 48 heures à 70°C. Du dichlorométhane est ajouté au mélange (50 mL) puis la phase organique est lavée par une solution d'acide chlorhydrique 3M (3x40 mL) et séchée sur sulfate de magnésium. La solution est filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié dans un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (24/1) pour conduire au composé **67** sous forme d'un solide jaune.

F=88°C; Rdt=34%.

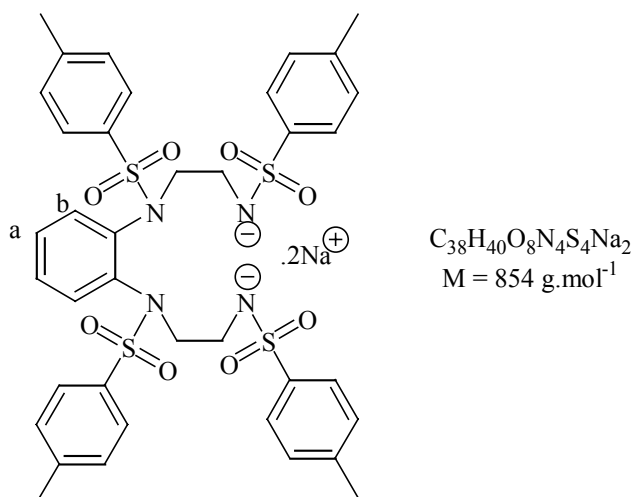
**RMN  $^1\text{H}$**  : 2,40+2,49 (2s, 12H, 4 $\text{CH}_3$ ), 3,38 (m, 6H, 2 $\text{CH}_2\text{NHTs}$ + 2 $\text{CHHNTsC}_{\text{ar}}$ ), 3,88 (m, 2H, 2 $\text{CHHNTsC}_{\text{ar}}$ ), 5,15 (t, 2H,  $\text{NHTs}$ ,  $J^3 = 7,8 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 6,3 \text{ Hz}$ ), 6,66 (dd, 2H, 2 $\text{C}_b\text{H}$ ,  $J^3 = 5,7 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 3,6 \text{ Hz}$ ), 7,22 (dd, 2H, 2 $\text{C}_a\text{H}$ ,  $J^3 = 5,7 \text{ Hz}$ ,  $J^4 = 3,6 \text{ Hz}$ ), 7,26 (d, 4H, 4 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 8,2 \text{ Hz}$ ), 7,36 (d, 4H, 4 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 8,2 \text{ Hz}$ ), 7,60 (d, 4H, 4 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 8,2 \text{ Hz}$ ), 7,71 (d, 4H, 4 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ ,  $J^3 = 8,2 \text{ Hz}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  : 21,5 (2 $\text{CH}_3$ ), 21,7 (2 $\text{CH}_3$ ), 42,4 (2 $\text{CH}_2\text{NHTs}$ ), 52,3 (2 $\text{CH}_2\text{NTsC}_{\text{ar}}$ ), 127,1+128,7+129,1+129,3+129,6+129,8+133,8+137,0+140,6+143,2+144,6 (20 $\text{C}_{\text{ar}}\text{H}$ +10 $\text{C}_{\text{ar}}$ ).

**SM m/e FAB $^+$** :  $\text{M}+\text{H}^+=811,8$  (100), 691,0, 655,4, 613,7.

**IR** : 3285 (F), 2923, 1598, 1330 (tF), 1061 (tF).

## Synthèse du sel disodique de l'*o*-phénylène-*N,N*-bis(*N,N'*-ditosyléthylènediamine) (68)



Du sodium (1 mmol) est additionné sous atmosphère d'argon et sous agitation dans de l'éthanol anhydre (3 mL). Après réaction complète, la solution est canulée dans une solution de composé **67** (0,25 mmol) dissout dans de l'éthanol anhydre. Le mélange est agité 45 minutes à température ambiante. Le solvant est évaporé à 50°C sous pression réduite jusqu'à l'obtention d'une huile. Le résidu est cristallisé dans de l'éther diéthylique anhydre (15 mL). Après essorage du précipité sur fritté et sous argon, le composé **68** est isolé sous forme d'un solide blanc.

F=88°C; Rdt=34%.

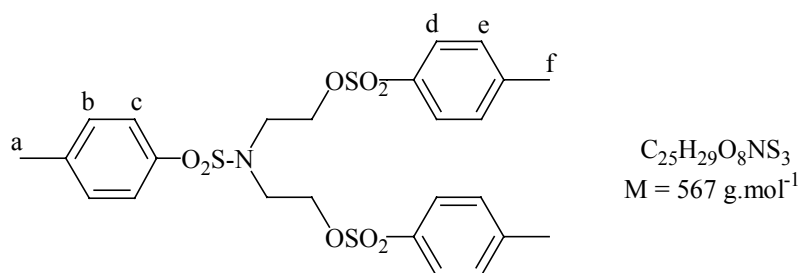
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 2,31+2,40 (2s, 12H, 4CH<sub>3</sub>), 3,44 (m, 8H, 2CH<sub>2</sub>NHTs+ 2CH<sub>2</sub>NTsCar), 6,77 (se, 2H, 2C<sub>b</sub>H), 7,13 (d, 4H, 4C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz), 7,22 (se, 2H, 2C<sub>a</sub>H), 7,31 (d, 4H, 4C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz), 7,42 (d, 4H, 4C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz), 7,62 (s, 4H, 4C<sub>ar</sub>H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO): 18,5 (2CH<sub>3</sub>), 18,7 (2CH<sub>3</sub>), 40,3 (2CH<sub>2</sub>NTs), 50,3 (2CH<sub>2</sub>NTsCar), 123,9+125,4+125,9+127,2+128,1+134,7+135,7+136,9+140,8+142,0 (20C<sub>ar</sub>H+10C<sub>ar</sub>).

**IR** : 2921, 1597 (F), 1117 (F), 1070 (F).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 53,38; H, 4,72; N, 6,55 Exp. C, 53,35; H, 4,75; N, 6,46.

## *N,O,O'*-tritosyldiéthanolamine (69)



De la diéthanolamine (4,8 mmol) et du chlorure de tosylate (15,0 mmol) sont dissout dans de la triéthylamine (6 mL). Le mélange est agité pendant 15 minutes à température ambiante puis de l'eau (20 mL) est additionnée. Le précipité formé est essoré sur fritté et recristallisé dans de l'éthanol. Après essorage du précipité sur fritté et séchage sous pression réduite, le solide blanc obtenu est dissout dans du dichlorométhane (30 mL). La phase organique est extraite par de l'eau (2x20 mL) et séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation sous pression réduite, le composé **69** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=101°C; Rdt=77%.

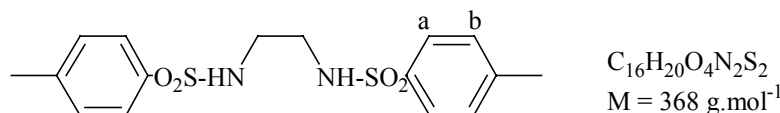
**RMN <sup>1</sup>H** : 2,42 (s, 3H, C<sub>a</sub>H<sub>3</sub>), 2,45 (s, 6H, 2C<sub>t</sub>H<sub>3</sub>), 3,37 (t, 4H, 2NCH<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 5,8 Hz), 4,11 (t, 4H, 2OCH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J = 5,8 Hz), 7,29 (d, 2H, 2C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz), 7,36 (d, 4H, 4C<sub>e</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz), 7,61 (d, 2H, 2C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz), 7,76 (d, 4H, 4C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,0 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** : 21,6 (CH<sub>3</sub>), 21,7 (2CH<sub>3</sub>), 48,5 (2NCH<sub>2</sub>), 68,3 (2OCH<sub>2</sub>), 127,3 (2C<sub>c</sub>H), 128,0 (4C<sub>d</sub>H), 130,1 (2C<sub>b</sub>H+4C<sub>e</sub>H), 132,4+135,2+144,2+145,2 (6C<sub>ar</sub>).

**SM m/e** CI: M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>=585 (68), M+H<sup>+</sup>=568 (1), 242 (100), 174 (88).

**IR** : 1598, 1359 (tF), 1177 (tF), 1096.

### Synthèse du *N, N'*-ditosyléthylènediamine (**70**)



De l'éthylènediamine (50 mmol) est dissoute dans de la pyridine (18 mL) à 0°C. Du chlorure de tosylate (100 mmol) et de l'eau (30 mL) sont additionnés à la solution et le mélange est maintenu à 0°C pendant 1 heure sous agitation. Le précipité résultant est essoré sur fritté et rincé par un mélange éthanol / eau (4/1). Après recristallisation dans un mélange éthanol / eau (4/1) et essorage du précipité, le composé **70** est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

F=162°C; Rdt=47%.

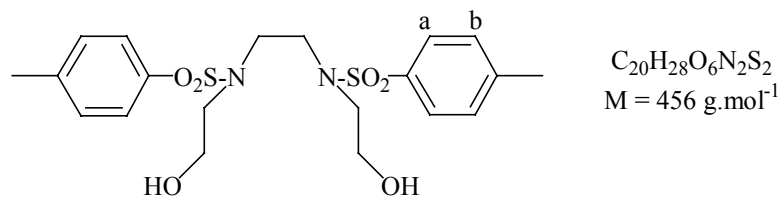
**RMN <sup>1</sup>H** : 2,44 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3,06 (s, 4H, 2NCH<sub>2</sub>), 4,88 (se, 2H, 2NH), 7,31 (d, 4H, 4C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,2 Hz), 7,71 (d, 4H, 4C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,2 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO): 20,9 (2CH<sub>3</sub>), 42,1 (2NCH<sub>2</sub>), 126,4+129,6 (4C<sub>a</sub>H+4C<sub>b</sub>H), 137,3+142,7 (2CSO<sub>2</sub>+2CCH<sub>3</sub>).

**SM m/e**; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>=383 (100), M+H<sup>+</sup>=369 (8).

**IR** : 3288 (tF), 1333 (tF), 1156 (tF), 1061.

### Synthèse du *N,N'*-di(2-hydroxyéthyl)-*N,N'*-ditosyléthylènediamine (71)



Le composé **70** (10,9 mmol), du carbonate d'éthylène (43,4 mmol) et du bicarbonate de potassium (23,9 mmol) sont additionnés dans du diméthylformamide anhydre (22 mL). Le mélange est chauffé à 130°C sous agitation pendant 12 heures. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est trituré dans de l'eau distillée (25 mL) puis essoré sur fritté. Après cristallisation dans de l'éthanol absolu et essorage du précipité, le composé **71** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=153°C; Rdt=49%.

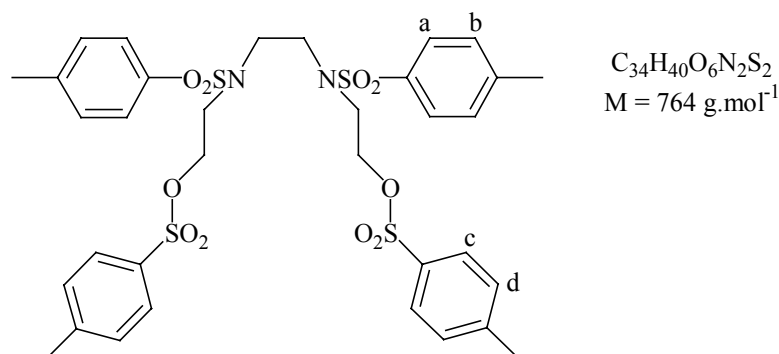
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 2,43 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3,24 (t, 4H, 2NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, J<sup>3</sup> = 5,1 Hz), 3,39 (s, 4H NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3,81 (t, 4H, 2CH<sub>2</sub>OH, J<sup>3</sup> = 5,1 Hz), 7,33 (d, 4H, 4C<sub>b</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,2 Hz), 7,71 (d, 4H, 4C<sub>a</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,2 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO): 21,5 (2CH<sub>3</sub>), 50,4+53,1 (4NCH<sub>2</sub>), 61,1 (2CH<sub>2</sub>OH), 127,4+129,9 (4C<sub>a</sub>H+4C<sub>b</sub>H), 134,9+143,9 (2CSO<sub>2</sub>+2CCH<sub>3</sub>).

**SM** m/e; CI : M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>= 474 (68), M+H<sup>+</sup>= 457 (96), 412 (49), 303 (67), 259 (40), 228 (34), 174 (100), 139 (32), 74 (28).

**IR** : 2997, 1342 (tF), 1159 (tF).

### Synthèse du *N,N'*-ditosyl-*N,N'*-di(2-tosloxyéthyl)éthylènediamine (72)



Le composé **71** (5,1 mmol), du chlorure de tosylo (11,2 mmol), de la triéthylamine (12,2 mmol) et une quantité catalytique de DMAP (0,05 mmol) sont additionnés dans du dichlorométhane (60 mL). Le mélange est agité 24 heures à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est trituré dans une solution d'acide chlorhydrique à 10 % (25 mL) et le précipité est essoré sur fritté et lavé par de l'eau distillée. Après recristallisation dans de l'éthanol absolu et essorage du précipité, le composé **72** est obtenu sous forme d'un solide blanc.

F=144°C; Rdt=87%.

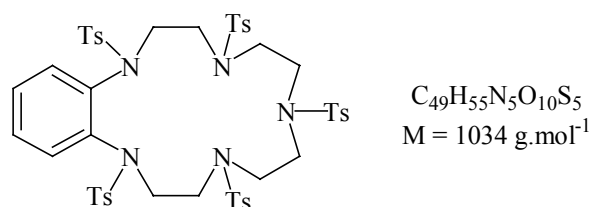
**RMN <sup>1</sup>H** : 2,45 (s, 12H, 4CH<sub>3</sub>), 3,30 (s, 4H, NTsCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NTs), 3,36 (t, 4H, 2NTsCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OTs, J<sup>3</sup> = 5,3 Hz), 4,15 (t, 4H, 2CH<sub>2</sub>OTs, J<sup>3</sup> = 5,1 Hz), 7,34 (d, 8H, 4C<sub>b</sub>H+4C<sub>d</sub>H, <sup>3</sup>J = 8,2 Hz), 7,71 (d, 4H, 4C<sub>a</sub>H, <sup>3</sup>J = 8,2 Hz), 7,77 (d, 4H, 4C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,2 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO, ppm): 21,6+21,7 (4CH<sub>3</sub>), 49,4+49,9 (4NCH<sub>2</sub>), 69,0 (2CH<sub>2</sub>OTs), 127,4+128,1 (4C<sub>a</sub>H+4C<sub>c</sub>H), 130,1 (4C<sub>b</sub>H+4C<sub>d</sub>H), 132,3+135,1+144,0+145,2 (4CSO<sub>2</sub>+4CCH<sub>3</sub>).

**SM m/e**; CI: 412 (18), 344 (100), 241 (15), 218 (36), 190 (30), 174 (73), 139 (23), 85 (29).

**IR** : 1598, 1177 (tF), 1160 (tF).

### Synthèse du 2,3-benzo-1,4,7,10,13-pentatosyl-1,4,7,10,13-pentaazacyclopentadécane (**73**)



Le composé **68** (0,117 mmoles) et le composé **69** (0,117 mmoles) sont dissout sous argon dans du DMF anhydre (5 mL). Le mélange est agité pendant 18 heures à 100°C. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par du dichlorométhane (25 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (25 mL). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié dans un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (19/1) pour conduire au composé **73** sous forme d'un solide blanc.

F=122°C; Rdt=39%.

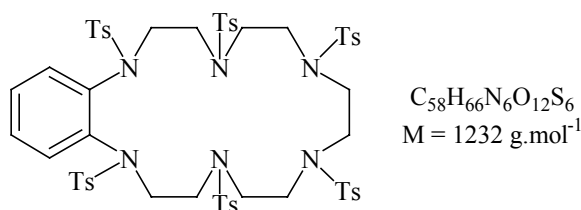


**RMN <sup>1</sup>H** : 2,42, (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,45 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2,46 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2,70-4,00 (m, 16H, 8NCH<sub>2</sub>), 7,00-8,00 (m, 24H, 32C<sub>ar</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** : 21,6+21,7 (5CH<sub>3</sub>), 49,4+50,2+51,6 (8NCH<sub>2</sub>), 127,4+127,6+128,4+128,6+129,4+129,6+129,8+129,9+133,6+134,8+138,9+144,0+144,6 (24C<sub>ar</sub>H+2C<sub>ar</sub>+5CSO<sub>2</sub>+ 5CCH<sub>3</sub>).

**SM m/e**; FAB<sup>+</sup>: M+K<sup>+</sup>=1072,5, M+Na<sup>+</sup>=1056,5.

### Synthèse du 2,3-benzo-1,4,7,10,13,16-hexatosyl-1,4,7,10,13,16-hexaazacyclooctadécane (74)



Le composé **68** (0,29 mmol) dissout dans du DMF anhydre (5 mL) et le composé **72** (0,29 mmol) dissout dans du DMF anhydre (5 mL) sont additionnés au goutte à goutte, sous argon pendant 5 heures dans du DMF anhydre (5 mL) à 100°C. Le mélange est agité pendant 18 heures à 100°C. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par du dichlorométhane (50 mL) et la phase organique est lavée par une solution d'acide chlorhydrique 2M (50 mL) puis par de l'eau (50 mL). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié dans un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle (49/1) pour conduire au composé **74** sous la forme d'un solide blanc.

F=128°C; Rdt=43%.

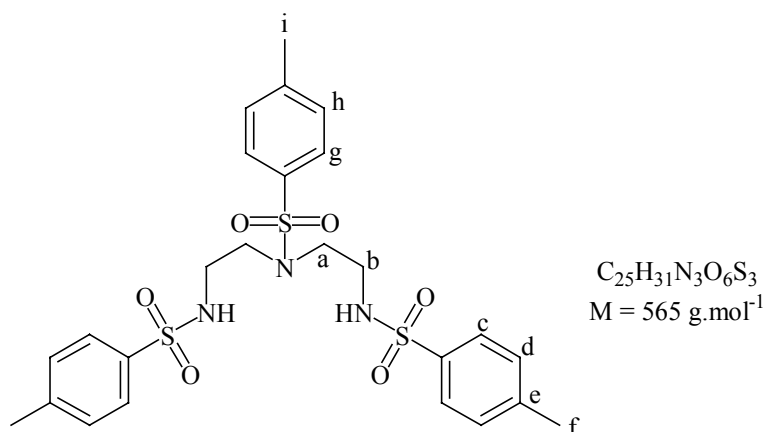
**RMN <sup>1</sup>H** : 2,42 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2,44 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2,49 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3,08-4,00 (m, 20H, 10NCH<sub>2</sub>), 6,70 (m, 2H, 2C<sub>ar</sub>H), 7,25-7,39 (m, 14H, 14C<sub>ar</sub>H), 7,50-7,80 (m, 12H, 12C<sub>ar</sub>H).

**RMN <sup>13</sup>C** : 21,5+21,6 (6CH<sub>3</sub>), 46,2+47,6+49,6+50,4+54,04 (10NCH<sub>2</sub>), 127,3+127,6+128,4+128,6+129,0+129,9+134,0+135,5+136,3+142,3+143,5+143,7+144,6 (30C<sub>ar</sub>+ 6CSO<sub>2</sub>+ 6CCH<sub>3</sub>).

**SM m/e**; FAB<sup>+</sup>: M+H<sup>+</sup>=1232,9, 1078,9, 922,2 (100), 766,9.

**IR** : 2924, 1346 (tF), 1159 (tF), 1090.

## Synthèse de la *N,N',N''*-tris(tosyl)diéthylènetriamine (**75**)



Du chlorure de tosylo (373 mmol) est dissout dans de la pyridine (150 mL) à 50°C. De la diéthylènetriamine (124 mmol) dans de la pyridine (16 mL) est additionnée au goutte à goutte dans la solution pendant 1 heure. Le mélange est agité pendant 30 minutes à 50°C. De l'eau (52 mL) est additionnée et le mélange est agité pendant 12 heures à température ambiante puis refroidi à 0°C. Le précipité résultant est essoré sur fritté et rincé par de l'éthanol à 95% (50 mL) pour conduire au composé **75** sous forme d'un solide blanc.

F=173°C; Rdt=72%.

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 2,38 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 2,84 (s, 4H, 2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 6,3 Hz), 3,02 (s, 4H, 2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 6,3 Hz), 7,35-7,41 (m, 6H, 4C<sub>d</sub>H+2C<sub>h</sub>H), 7,56 (d, 2H, 2C<sub>g</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,1 Hz), 7,65-7,73 (m, 6H, 4C<sub>e</sub>H+2NHTs).

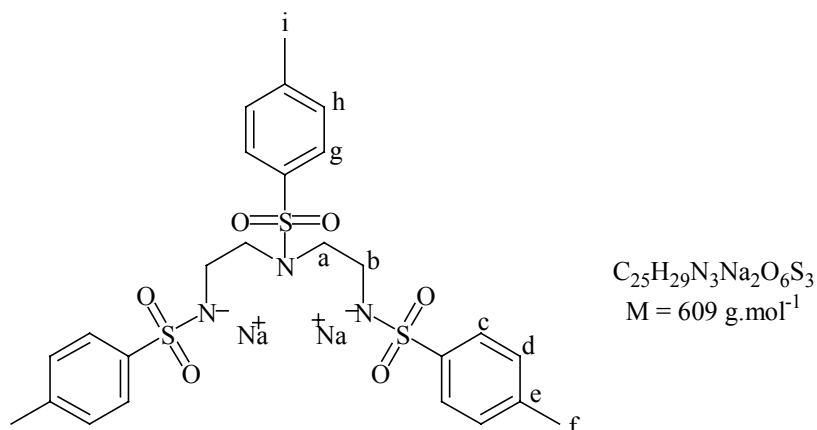
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 21,0 (3CH<sub>3</sub>), 41,6 (2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 48,4 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 126,6 (4C<sub>c</sub>H), 126,9 (2C<sub>g</sub>H), 129,7 (4C<sub>d</sub>H), 129,9 (2C<sub>g</sub>H), 135,4 (C<sub>g</sub>HCSO<sub>2</sub>), 137,4 (2C<sub>c</sub>HCSO<sub>2</sub>), 142,8 (2C<sub>d</sub>HCCH<sub>3</sub>), 143,5 (C<sub>h</sub>HCCH<sub>3</sub>).

**SM** m /e; CI : 412, 189, 174.

**IR** : 2289 (tF), 1323, 1161 (tF), 1093.

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 53,08; H, 5,52; N, 7,43 Exp. : C, 53,10; H, 5,59; N, 7,48.

## Synthèse du sel disodique de la *N,N',N''*-tris(tosyl)diéthylènetriamine (76)



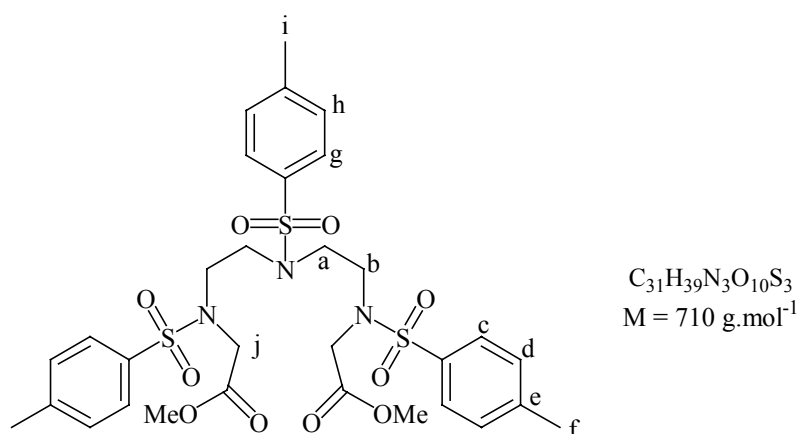
Du sodium (4 mmol) est additionné sous atmosphère d'argon et sous agitation dans de l'éthanol anhydre (4 mL). Après réaction complète, la solution est canulée dans une solution de composé **67** (0,88 mmol) dissout dans de l'éthanol anhydre (3 mL). Le mélange est agité 1 heure à température ambiante. Le solvant est évaporé à 50°C sous pression réduite jusqu'à l'obtention d'une huile. Le résidu est cristallisé dans de l'éther diéthylique anhydre (6 mL). Après essorage du précipité sur fritté et sous argon et séchage à 85°C sous vide, le composé **76** est isolé sous la forme d'un solide blanc.

F>280°C; Rdt=quant.

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO) : 2,30 (s, 6H, 2C<sub>f</sub>H<sub>3</sub>), 2,36 (s, 3H, C<sub>i</sub>H<sub>3</sub>), 2,62 (s, 4H, 2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 6,7 Hz), 2,90 (s, 4H, 2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>, J<sup>3</sup> = 6,7 Hz), 7,12 (d, 4H, 4C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,1 Hz), 7,28 (d, 2H, 2C<sub>h</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,1 Hz), 7,46 (d, 6H, 2C<sub>g</sub>H+4C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,1 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 21,0 (3CH<sub>3</sub>), 45,2 (2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 51,0 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 126,2 (4C<sub>c</sub>H), 126,6 (2C<sub>g</sub>H), 128,2 (4C<sub>d</sub>H), 129,4 (2C<sub>h</sub>H), 137,0 (C<sub>g</sub>HCSO<sub>2</sub>), 137,8 (2C<sub>c</sub>HCSO<sub>2</sub>), 142,4 (2C<sub>d</sub>HCCH<sub>3</sub>), 144,9 (C<sub>h</sub>HCCH<sub>3</sub>).

## Synthèse du *N,N',N''*-tritosyldiéthylènetriamine-*N,N''*-diacétate de diméthyle (77)



Le composé **76** (3,28 mmol) est dissout dans du DMF anhydre à 0°C. Du chloroacétate de méthyle (9,40 mmol) est additionné au goutte à goutte pendant 10 minutes puis le mélange est agité pendant 12 heures à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par de l'acétate d'éthyle (30 mL) et la phase organique est lavée par de l'eau (2x30 mL). La phase aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (20 mL) et les phases organiques sont lavées par une solution saturée en NaCl (2x13 mL), filtrées et évaporées sous pression réduite. Le résidu est repris par un minimum de dichlorométhane et cristallisé par ajout de méthanol (50 mL). Après essorage du précipité sur fritté et rinçage par de l'éther diéthylique, le composé **77** est isolé sous forme d'un solide blanc.

F=141°C; Rdt=76%.

**RMN <sup>1</sup>H** : 2,42 (s, 6H, 2C<sub>f</sub>H<sub>3</sub>), 2,44 (s, 3H, C<sub>i</sub>H<sub>3</sub>), 3,41 (s, 8H, 2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 3,60 (s, 6H, 2CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4,08 (s, 4H, 2C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>), 7,26 (d, 2H, 2C<sub>h</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,4 Hz), 7,33 (d, 4H, 4C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,4 Hz), 7,71 (d, 6H, 2C<sub>g</sub>H+4C<sub>e</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,4 Hz).

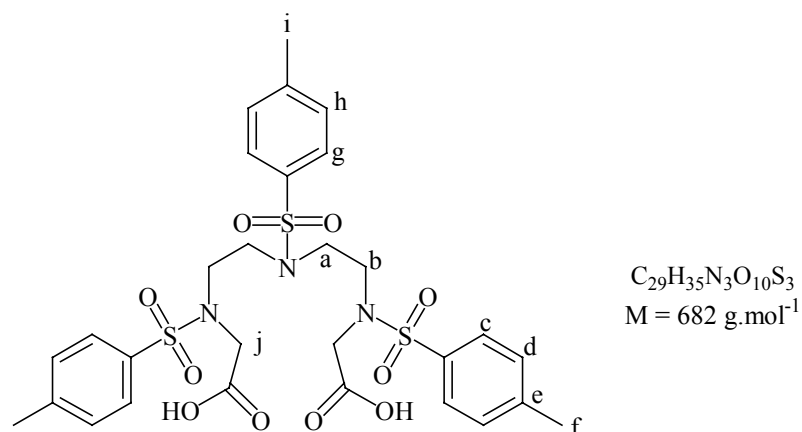
**RMN <sup>13</sup>C** : 21,6 (3CH<sub>3</sub>), 48,5+49,3+49,8 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>), 52,2 (2OCH<sub>3</sub>), 127,5+129,7+129,9+134,7+135,6+143,8 (12C<sub>ar</sub>H+6C<sub>ar</sub>), 169,3 (2CO).

**SM m /e**; CI: M+H<sup>+</sup> = 711 (100).

**IR** : 1751 (tF), 1345 (tF), 1160 (tF).

**Analyse élémentaire** : Calc. C, 52,45; H, 5,54; N, 5,92 Exp. C, 52,62; H, 5,72; N, 5,70.

### Synthèse de l'acide *N,N',N''*-tritosyldiéthylènetriamine-*N,N''*-diacétique (**78**)



Le composé **77** est additionné dans du THF et de la soude 2M (16 mL) est additionné au goutte à goutte pendant 1 heure à température ambiante puis le mélange est agité 72 heures. Après évaporation sous pression réduite, de l'acide chlorhydrique 1M est ajouté jusqu'à pH acide. La phase aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (2x50 mL) et la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis évaporée sous pression réduite. Le résidu est repris par du dichlorométhane (2x50 mL) pour conduire au composé **78** sous forme d'un solide blanc.

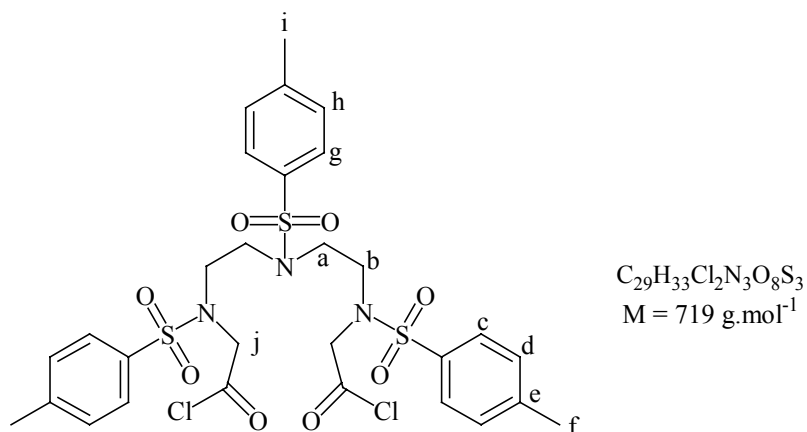
F=141°C; Rdt=91%.

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 2,43 (s, 6H, 2C<sub>f</sub>H<sub>3</sub>), 2,45 (s, 3H, C<sub>i</sub>H<sub>3</sub>), 3,29 (s, 8H, 2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 4,04 (s, 4H, 2C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>), 7,42 (d, 2H, 2C<sub>h</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,7 Hz), 7,47 (d, 4H, 4C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,7 Hz), 7,69 (d, 6H, 2C<sub>g</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,7 Hz), 7,73 (d, 4H, 4C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,7 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO) : 20,9 (3CH<sub>3</sub>), 47,3+49,0 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>), 126,2 (2C<sub>g</sub>H), 126,5 (4C<sub>c</sub>H), 129,2 (4C<sub>d</sub>H), 129,7 (2C<sub>h</sub>H), 135,0 (C<sub>g</sub>HCSO<sub>2</sub>), 136,1 (2C<sub>c</sub>HCSO<sub>2</sub>), 143,3 (2C<sub>d</sub>HCCH<sub>3</sub>), 143,6 (C<sub>h</sub>HCCH<sub>3</sub>), 170,2 (2CO).

**IR** : 2939, 1734 (F), 1340, 1155 (tF).

### Synthèse du dichlorure de l'acide *N,N,N'*-tritosyldiéthylènetriamine-*N,N'*-diacétique (**79**)



Le composé **78** (1,4 mmol) est additionné sous argon dans du chlorure d'oxalyle (6,8 mL). Le mélange est agité à température ambiante pendant 12 heures puis pendant 30 minutes à 40°C. Après évaporation sous pression réduite et reprise du résidu par du dichlorométhane, le composé **79** est isolé sous forme d'un solide blanc.

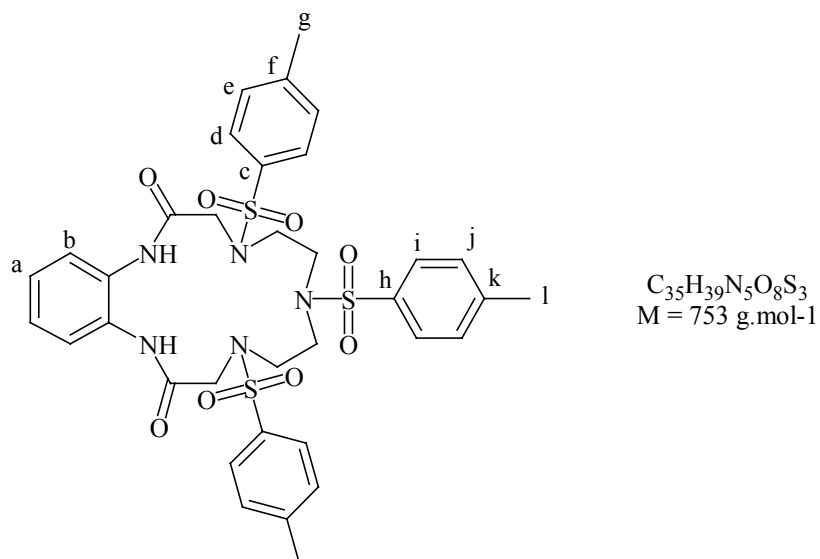
F=136°C; Rdt=91%.

**RMN <sup>1</sup>H**: 2,44 (s, 6H, 2C<sub>f</sub>H<sub>3</sub>), 2,46 (s, 3H, C<sub>i</sub>H<sub>3</sub>), 3,33 (m, 4H, 2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 3,43 (m, 4H, 2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>), 4,56 (s, 4H, 2C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>), 7,32 (m, 6H, 4C<sub>d</sub>H+2C<sub>h</sub>H), 7,73 (d, 6H, 2C<sub>g</sub>H+4C<sub>c</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,4 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** : 21,6 (3CH<sub>3</sub>), 48,5+49,6 (2C<sub>a</sub>H<sub>2</sub>+2C<sub>b</sub>H<sub>2</sub>), 59,9 (2C<sub>j</sub>H<sub>2</sub>), 127,4+129,9+130,0 (6C<sub>ar</sub>), 134,0 (2C<sub>g</sub>HCSO<sub>2</sub>), 135,0 (4C<sub>c</sub>HCSO<sub>2</sub>), 144,3 (4C<sub>d</sub>HCCH<sub>3</sub>), 144,5 (2C<sub>h</sub>HCCH<sub>3</sub>), 171,1 (2CO).

**IR** : 2925, 1733 (F), 1341, 1158 (tF).

### Synthèse du 2,3-benzo-7,10,13-tristosyl-1,4,7,10,13-pentazacyclopentadécan-5,15-dione (80)



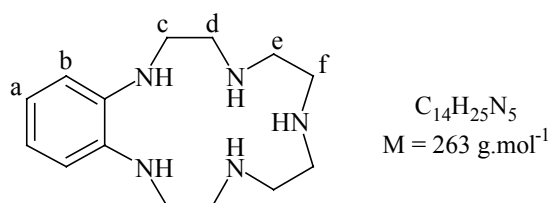
Le composé **79** (6,27 mmol) dissout dans du dichlorométhane anhydre (100 mL) et de l'*o*-phénylènediamine (6,27 mmol) dissoute dans du dichlorométhane anhydre (100 mL) sont additionnés au goutte à goutte, sous argon pendant 2,5 heures dans du dichlorométhane anhydre à 0°C. Le mélange est agité pendant 12 heures à température ambiante. Après concentration sous pression réduite jusqu'à 140 mL, de l'eau (100 mL) est ajouté et le mélange est agité pendant 2 heures à température ambiante. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. Après cristallisation puis recristallisation du résidu dans un mélange dichlorométhane / éther de pétrole (260 mL, 10/3), le composé **80** est isolé sous forme d'un solide blanc.

F=301°C; Rdt=33%.

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO): 2,40 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3,03 (m, 4H, 2NTsCH<sub>2</sub>), 3,27 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>NTs), 4,07 (s, 4H, 2NCH<sub>2</sub>CO), 7,18+7,29 (2m, 4H, 2C<sub>a</sub>H+2C<sub>b</sub>H), 7,43 (m, 6H, 2C<sub>i</sub>H+2C<sub>e</sub>H), 7,53 (d, 2H, 2C<sub>i</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,4 Hz), 7,73 (d, 4H, 4C<sub>d</sub>H, J<sup>3</sup> = 8,1 Hz), 9,40 (s, 2H, 2NHCO).

**RMN <sup>13</sup>C** : 21,6 (3CH<sub>3</sub>), 50,8 (2CH<sub>2</sub>NTs), 52,6 (2CH<sub>2</sub>NTs), 55,2 (2COCH<sub>2</sub>N), 125,6+127,1+127,6+127,8+130,0+130,2+133,2+133,7+144,2+144,8 (8Car+16CarH), 167,4 (2CO).

### Synthèse du 2,3-benzo-1,4,7,10,13-pentazacyclopentadécane (**81**)



Le composé **80** (0,384 mmol) est additionné dans du diméthoxyéthane anhydre (6 mL) à 0°C. De l'hydru de lithium et d'aluminium (4 mmol) en solution dans du diméthoxyéthane 0,5M est additionné pendant 5 minutes. Le mélange est porté à reflux pendant 36 heures sous atmosphère inerte. Après refroidissement à 0°C, de l'eau est ajoutée (0,15 mL) puis une solution de soude 2M (0,15 mL), puis de l'eau (0,45 mL). Le mélange est agité pendant 2 heures à température ambiante. Après filtration sur fritté et sous atmosphère inerte, le filtrat est évaporé et cristallisé dans de l'acétonitrile (5 mL) pour conduire au composé **81** sous forme de cristaux incolores.

F=152°C; Rdt=82%.

**RMN <sup>1</sup>H**: 2,67 (m, 4H, 2C<sub>f</sub>H<sub>2</sub>), 2,89 (m, 4H, 2C<sub>e</sub>H<sub>2</sub>), 3,00 (m, 4H, 2C<sub>d</sub>H<sub>2</sub>), 3,14 (m, 4H, 2C<sub>c</sub>H<sub>2</sub>), 6,60 (m, 2H, 2C<sub>a</sub>H), 6,70 (m, 2H, 2C<sub>b</sub>H).

## Tests de complexation

### Radiomarquages avec l'yttrium ( $^{90}\text{Y}$ )

- *Calcul de la molarité de la solution d'yttrium*

A la calibration, la solution d'yttrium a une activité  $A = 1850 \text{ MBq}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Soit  $N$  le nombre de noyaux radioactifs dans 1 litre de solution  $N = A \cdot T / \ln 2$  ; avec  $T =$  période du radioélément en secondes et  $A$  exprimé en Bq.  $N = 1850 \cdot 10^6 \cdot 230688 / (\ln 2)$ ;  $N = 6,16 \cdot 10^{14}$  noyaux. En divisant ce résultat par le nombre d'avogadro on obtient alors la concentration en yttrium dans 1 litre de solution  $[^{90}\text{Y}] = 6,16 \cdot 10^{14} / 6,022 \cdot 10^{23} = 1,023 \cdot 10^{-9} \text{ mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

- *Préparation des solutions*

Une masse  $m_A$  (mg) d'agent chélatant de masse molaire  $M_A$  est dissoute dans une solution tampon d'acétate de sodium 0,1M dont le pH est préalablement ajusté à 5,5. Une série de dilutions successives au  $1/10^{\text{ème}}$  est effectuée afin d'obtenir différentes solutions de concentrations  $C_m, C_{10}^{-1}, C_{10}^{-2}, C_{10}^{-3}, C_{10}^{-4}$  ( $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

Agent chélatant	$M_A$	$m_A$	$C_m$	$C_{10}^{-1}$	$C_{10}^{-2}$	$C_{10}^{-3}$	$C_{10}^{-4}$
PHDTA <b>26</b>	413	1,4	3496	357	36,5	3,7	0,37
DTPA	393	2,3	6027	619	64,7	6,70	0,67
Ph-DTPA <b>50</b>	550	2,2	3944	405	40,4	4,20	0,42
Ph-TTHA <b>57</b>	750	2,5	3747	377	37,6	3,70	0,37

Un volume  $V_X$  ( $\mu\text{L}$ ) des solutions de ligands de concentration  $C_X$  ( $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) est prélevé et additionné dans un volume  $V_T$  de tampon acétate de sodium (0,1M, pH 5,5). Sous hotte blindée, un volume de 2  $\mu\text{L}$  de la solution radioactive d' $\text{YCl}_3$  ( $1,023 \text{ pmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), est additionné dans chaque solution de ligand. Un témoin (T) est préparé en additionnant un même volume de 2  $\mu\text{L}$  de cette solution dans du tampon acétate de sodium (48  $\mu\text{L}$ ).

Le volume final des différents échantillons est de 50  $\mu\text{L}$ . Les échantillons sont ensuite incubés à 37°C pendant 1 heure. Un volume de solution (1 $\mu\text{L}$ ) est prélevé dans chaque tube et déposé sur une plaque CCM de silice. Après élution par un mélange acétate de sodium 0,1M / méthanol (2/1), le pourcentage de chélation est mesuré par un appareil phosphorimager (445SI).



L/ <sup>90</sup> Y	DTPA			Ph-DTPA 50			Ph-TTHA 57		
	V <sub>X</sub>	C <sub>X</sub>	V <sub>T</sub>	V <sub>X</sub>	C <sub>X</sub>	V <sub>T</sub>	V <sub>X</sub>	C <sub>X</sub>	V <sub>T</sub>
1	3	0,67	45	4,8	0,42	43,2	5,5	0,37	42,5
10	3	6,70	45	4,8	4,20	43,2	5,5	3,70	42,5
100	3,1	64,7	44,9	5	40,4	43	5,3	37,6	42,7
1000	3,2	619	44,8	5	405	43	5,3	377	42,7

L/ <sup>90</sup> Y	PHDTA 26		
	V <sub>X</sub>	C <sub>X</sub>	V <sub>T</sub>
1	5,5	0.37	42,5
10	5,5	3.70	42,5
100	5,5	36,5	42,5
1000	5,5	357	42,5

- *Etude de stabilité sérique*

La solution de Ph-DTPA de rapport ligand/yttrium de 1000eq (40 µL) est additionnée dans du sérum humain (4 mL, solution résultante= **Ls**). Parallèlement, une solution témoin **Ts** est effectuée en additionnant la solution de témoin **T** (40 µL) dans du sérum humain (4 mL). Ces échantillons sont incubés à 37°C sous agitation. A l'instant **i=0**, un volume fixe des deux solutions (500 µL) est déposé simultanément sur deux colonnes chromatographiques d'exclusion stérique (PD10), préalablement conditionnées avec du tampon phosphate PBS (10 mL). L'élution des colonnes par du PBS (20x1 mL) permet de récolter 2 lots de 20 tubes dont la quantité de radioactivité est mesurée par un compteur (PerkinElmer WALLAC WIZARD 3). Ces mesures de radioactivité sont répétées à différents instants **i** pour la solution **Ls**, les résultats obtenus sont exprimés en coups par minutes. Un double contrôle est effectué par plaque CCM pour s'assurer du relargage du radioélément.

volume d'élution (mL)	témoin Ts	Ph-DTPA 50 (Ls)		
	i=0	i=0	i=4h	i=15h30
1	14,2	0	0	2,2
2	19,3	0	0	4,2
3	7,2	0	0	0
4	0	0	2,2	0
5	9	0	0	0
6	22685,3	0	1947,4	9784,5
7	229634,7	432,3	35189,7	134005,6
8	185885,7	868,4	22670,4	79130,4
9	92610,7	5239,9	17698,7	21710,6
10	42686,3	32125,8	50508,9	20180,6
11	17408,7	102296,2	108204,6	36599,8
12	11033,4	170891,7	139711,1	44040,4
13	6875,2	176607,7	116659,3	37770,4
14	4345,7	123357,1	70826,4	25913,3
15	2549,8	66886,8	36575,8	15261,8
16	1405,6	30324,1	13883,2	6630,1
17	934,6	11514,5	4698,4	3983,3
18	721,3	3146	1495,8	1880,6
19	504,9	872,3	1007,2	1344
20	368,2	197,8	432,8	1117,9

### Radiomarquages avec le samarium ( $^{153}\text{Sm}$ )

- *Calcul de la molarité de la solution de samarium*

A la calibration, la solution radioactive de samarium a une activité  $A_0 = 5200 \text{ MBq.mL}^{-1}$  et une activité spécifique  $A_S = 1,25 \text{ mCi.}\mu\text{g}^{-1}$ . Dans cet échantillon  $[^{152}\text{Sm}] \gg [^{153}\text{Sm}]$ , il en résulte que la masse molaire moyenne du samarium présent en solution peut être approximée à celle de l'isotope stable ( $^{152}\text{Sm}$ ). Soit la concentration totale en samarium  $[\text{Sm}] = A_0/A_S = 112,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Soit,  $[\text{Sm}] = (112,4 \cdot 10^{-6})/152 = 740 \text{ nmol.mL}^{-1}$ . Pour disposer d'une dose radioactive moins importante, la solution est diluée 10 fois dans un tampon acétate de sodium (0,1M, pH=5,5).

• *Préparations des solutions*

Une masse  $m_A$  (mg) d'agent chélatant de masse molaire  $M_A$  est dissoute dans une solution tampon d'acétate de sodium 0,1M dont le pH est préalablement ajusté à 5,5. Une série de dilutions successives au  $1/10^{\text{ème}}$  est effectuée afin d'obtenir différentes solutions de concentrations  $C_m, C_{10^{-1}}, C_{10^{-2}}, C_{10^{-3}}, C_{10^{-4}}$  (nmol.mL<sup>-1</sup>).

<b>Agent chélatant</b>	$M_A$	$m_A$	$C_m$	$C_{10^{-1}}$	$C_{10^{-2}}$	$C_{10^{-3}}$
EDTA	292	2,2	7666	768	77	8
CDTA	346	2,0	5889	587	58	6
PHDTA <b>26</b>	412	2,0	4900	491	49,1	4,9
DTPA	393	1,1	2827	283	28	2,8
<i>cis</i> -CPDTA <b>10</b>	405	3,1	7755	803	75,3	7,7
<i>trans</i> -CPDTA <b>11</b>	405	1,5	3633	369	37,6	3,8
Ph-DTPA <b>50</b>	550	1,6	3900	385	38	4

Un volume  $V_X$  ( $\mu\text{L}$ ) des solutions de ligands de concentration  $C_X$  (nmol.mL<sup>-1</sup>) est prélevé et additionné dans un volume  $V_T$  de tampon acétate de sodium (0,1M, pH 5,5). Sous hotte blindée, une solution radioactive de  $\text{SmCl}_3$  (74 nmol.mL<sup>-1</sup>, 5  $\mu\text{L}$ ) est additionnée dans chaque solution de ligand. Un témoin (T) est préparé en additionnant une solution radioactive de  $\text{SmCl}_3$  (74 nmol.mL<sup>-1</sup>, 5  $\mu\text{L}$ ) dans du tampon acétate de sodium (495  $\mu\text{L}$ ).

Le volume final des différents échantillons est de 500  $\mu\text{L}$ . Les échantillons sont ensuite incubés à 37°C pendant 1 heure. Un volume de solution (1 $\mu\text{L}$ ) est prélevé dans chaque tube et déposé sur une plaque CCM de silice. Après élution par un mélange acétate de sodium 0,1M / méthanol (2/1) le pourcentage de chélation est mesuré par un appareil phosphorimager (445SI).

$L/^{153}\text{Sm}$	<b>EDTA</b>			<b>CDTA</b>			<b><i>cis</i>-CPDTA</b>			<b><i>trans</i>-CPDTA</b>		
	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$
1	46,2	8	449	62	6	433	47,7	7,7	447	97,5	3,8	397
2	92,5	8	402	123	6	372	95,4	7,7	400	194	3,8	301
5	231	8	264	308	6	187	238	7,7	256	49,2	37,6	446
10	48	77	447	64	58	431	49,1	75,3	446	98,4	37,6	397
50	240	77	255	319	58	176	246	75,3	249	50	369	445

L/ <sup>153</sup> Sm	DTPA			Ph-DTPA			PHDTA		
	V <sub>X</sub>	C <sub>X</sub>	V <sub>T</sub>	V <sub>X</sub>	C <sub>X</sub>	V <sub>T</sub>	V <sub>X</sub>	C <sub>X</sub>	V <sub>T</sub>
1	13	28	482	9,7	38	485	76	4,9	447
2	26	28	469	19	38	476	152	4,9	400
5	66	283	429	47	385	448	380	4,9	256
10	13	283	482	9,6	385	485	75	49,1	446
50	65	2827	430	48	3900	447	375	49,1	120

- *Etude de stabilité sérique*

La solution de Ph-DTPA à un ratio ligand / samarium de 5eq (40 µL) est additionnée dans du sérum humain (4 mL, solution résultante= **Ls**). Parallèlement, une solution témoin **Ts** est effectuée en additionnant la solution de témoin **T** (40 µL) dans du sérum humain (4 mL). Ces échantillons sont incubés à 37°C sous agitation. A l'instant  $i=0$ , un volume fixe des deux solutions (500 µL) est déposé simultanément sur deux colonnes chromatographiques d'exclusion stérique (PD10), préalablement conditionnées avec du tampon phosphate PBS (10 mL). L'élution des colonnes par du PBS (20x1 mL) permet de récolter 2 lots de 20 tubes dont la quantité de radioactivité est mesurée par un compteur (PerkinElmer WALLAC WIZARD 3). Ces mesures de radioactivité sont répétées à différents instants  $i$  pour la solution **Ls**, les résultats obtenus sont exprimés en coups par minutes. Un double contrôle est effectué par plaque CCM pour s'assurer du relargage du radioélément.

volume d'élution (mL)	témoin Ts	Ph-DTPA Ls		
	i=0	i=0	i=4h	i=15h30
1	14,2	0	0	2,2
2	19,3	0	0	4,2
3	7,2	0	0	0
4	0	0	2,2	0
5	9	0	0	0
6	22685,3	0	1947,4	9784,5
7	229634,7	432,3	35189,7	134005,6
8	185885,7	868,4	22670,4	79130,4
9	92610,7	5239,9	17698,7	21710,6
10	42686,3	32125,8	50508,9	20180,6
11	17408,7	102296,2	108204,6	36599,8
12	11033,4	170891,7	139711,1	44040,4
13	6875,2	176607,7	116659,3	37770,4
14	4345,7	123357,1	70826,4	25913,3
15	2549,8	66886,8	36575,8	15261,8
16	1405,6	30324,1	13883,2	6630,1
17	934,6	11514,5	4698,4	3983,3
18	721,3	3146	1495,8	1880,6
19	504,9	872,3	1007,2	1344
20	368,2	197,8	432,8	1117,9

### Radiomarquages avec l'indium(<sup>111</sup>In)

- *Calcul de la molarité de la solution d'indium*

A la calibration, la solution radioactive d'indium à une activité  $A_0 = 370 \text{ MBq.mL}^{-1}$ . L'activité de la solution à la date de l'expérience, 5 jours plus tard, est  $A = 107 \text{ mBq.mL}^{-1}$ . Soit N le nombre de noyaux radioactifs dans 1 millilitre de solution ( $N = A \times T / \ln 2$ ). Avec T = période du radioélément en secondes et A exprimée en Bq.  $N = 107 \cdot 10^6 \times 241920 / (\ln 2)$ ;  $N = 3,7 \cdot 10^{13}$  noyaux. En divisant ce résultat par le nombre d'Avogadro on obtient la concentration d'indium dans 1 millilitre de solution  $[^{111}\text{In}] = 3,7 \cdot 10^{13} / 6,022 \cdot 10^{23} = 0,62 \cdot 10^{-10} \text{ mol.mL}^{-1}$ .

- *Préparation des solutions*

Une masse  $m_A$  (mg) d'agent chélatant de masse molaire  $M_A$  est dissoute dans une solution tampon d'acétate de sodium 0,1M dont le pH est préalablement ajusté à 5,5. Une série de dilutions successives au  $1/10^{\text{ème}}$  est effectuée afin d'obtenir différentes solutions de concentrations  $C_m, C_{10}^{-1}, C_{10}^{-2}, C_{10}^{-3}, C_{10}^{-4}$  (nmol.mL<sup>-1</sup>).

<b>Agent chélatant</b>	$M_A$	$m_A$	$C_m$	$C_{10}^{-1}$	$C_{10}^{-2}$	$C_{10}^{-3}$
Analogue O	454	1,1	2494	233	22,5	2,2
Analogue S <b>45</b>	470	1,0	2174	189	18,1	1,7
Ph-TTHA <b>57</b>	750	1,5	2145	204	19,6	1,8
Ph-DTPA <b>50</b>	550	1,2	2144	207	20	1,9

Un volume  $V_X$  ( $\mu\text{L}$ ) des solutions de ligands de concentration  $C_X$  (nmol.mL<sup>-1</sup>) est prélevé et additionné dans un volume  $V_T$  de tampon acétate de sodium (0,1M, pH 5,5). Sous hotte blindée, une solution radioactive d' $\text{InCl}_3$  (62 pmol.mL<sup>-1</sup>, 10  $\mu\text{L}$ ) est additionnée dans chaque solution de ligand. Du chlorure d'indium non radioactif en concentration 48 pmol.  $\mu\text{L}^{-1}$  dans une solution d'acide chlorhydrique 0,06M est additionné dans chaque échantillon (4,2  $\mu\text{L}$ , 200 pmol). Un témoin (T) est préparé en additionnant une solution radioactive d' $\text{InCl}_3$  (62 pmol.mL<sup>-1</sup>, 10  $\mu\text{L}$ ) et la solution non radioactive (4,2  $\mu\text{L}$ ) dans du tampon acétate de sodium (150  $\mu\text{L}$ , pH=5,5).

Le volume final des différents échantillons est de 150  $\mu\text{L}$ . Les échantillons sont ensuite incubés à 37°C pendant 1 heure. Un volume de solution (1 $\mu\text{L}$ ) est prélevé dans chaque tube et déposé sur une plaque CCM de silice. Après élution par un mélange acétate de sodium 0,1M / méthanol (2/1) le pourcentage de chélation est mesuré par un appareil phosphorimager (445SI).

L/In	<b>Analogue O</b>			<b>Analogue S</b>			<b>Ph-TTHA</b>			<b>Ph-DTPA</b>		
	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$
1	8,9	22,5	127	11	18,1	125	10,2	19,6	126	9,9	20	126
2	17,8	22,5	118	22	18,1	114	20,4	19,6	115	19,9	20	116
5	44,5	22,5	91	55	18,1	81	51,1	19,6	85	49,6	20	86
10	89,0	22,5	47	110	18,1	25	102	19,6	34	99	20	37

• *Etude de stabilité sérique*

Les solutions de Ph-DTPA et de Ph-TTHA de rapport ligand / indium de 5eq (125 µL) sont additionnées dans du sérum humain (4 mL, solutions résultantes= **Ls**). Parallèlement, une solution témoin **Ts** est effectuée en additionnant la solution de témoin **T** (125 µL) dans du sérum humain (4 mL). Ces échantillons sont incubés à 37°C sous agitation. A l'instant **i=0**, un volume fixe des solutions (500 µL) est déposé sur des colonnes chromatographiques d'exclusion stérique (PD10), préalablement conditionnées avec du tampon phosphate PBS (10 mL). L'élution par du PBS (20x1 mL) permet de récolter des lots de 20 tubes dont la quantité de radioactivité est mesurée par un compteur (PerkinElmer WALLAC WIZARD 3). Ces mesures de radioactivité sont répétées à différents instants **i** pour les solutions **Ls**, les résultats obtenus sont exprimés en coups par minutes. Un double contrôle est effectué par plaque CCM pour s'assurer du relargage du radioélément

V élution (mL)	témoin <b>Ts</b>	<b>Ph-DTPA 50 (Ls)</b>					
	<b>i=0</b>	<b>i=0</b>	<b>i=4h</b>	<b>i=8h</b>	<b>i=24h</b>	<b>i=97h</b>	<b>i=145h</b>
1	28,7	0	0	30,7	103,2	19,7	0
2	36,2	289	18	55,2	54,2	8,7	0
3	9,2	17	9,6	69,7	90,3	4,2	0
4	6,2	0	0	62,3	56,3	2,7	0
5	5393	0	18	44,2	75,3	43,2	58,3
6	2377342	2760	4827	2075	4844	18503,1	19361,9
7	6335472	8916	13474	16029	26819	55648,4	48986,9
8	2377913	17636	16301	14757	18111	20626,8	15344,2
9	216125	133574	127299	63246	54816	24735,2	16513,4
10	33870	580467	584110	348369	295584	122577,5	80270,7
11	14023	1260098	1250824	911221	797395	308061,2	206809,3
12	11484	1524423	1470175	1326379	1152244,2	449497,9	276380,6
13	8677	1193215	1149305	1218956	1082509	369099,1	232103,2
14	5116	658724	608126	792450	654778	222197,6	137088,5
15	2731	277295	255172	386481	309498	104350,8	59843,7
16	1471	93705	86665	155279	126811	37265,9	21364,8
17	786	27138	24825	53418	37591	11822,2	6300,1
18	508	6711	6069	14853	10739	3210,1	1763,6
19	414	1509	1473	3867	2723	836,5	504
20	349	365	347	985	646	211,1	177,2

V élution (mL)	témoin Ts	Ph-TTHA 57 (Ls)			
	i=0	i=0	i=4h	i=8h	i=24h
1	28,7	0	5,3	50,7	70,2
2	36,2	16,2	0	50,2	59,2
3	9,2	11,2	0	26,2	75,2
4	6,2	0	2,2	35,2	62,4
5	5393	15,2	598	216,7	119,8
6	2377342	7469	444216	321936	219112
7	6335472	53246	1730913	2093089	2019998
8	2377913	119123,9	662422	1069061	1237948
9	216125	472547	283341	370092	226424
10	33870	1092993,6	502964	226588	87324
11	14023	1340455,3	601983	288992	84552
12	11484	1083479	480638	261595	74823
13	8677	638711	289848	171632	51485
14	5116	293679,9	136698	89565	28504
15	2731	115182,6	53157	39116	13772
16	1471	40117	19045	14559	5665
17	786	13752	6060	5238	2355
18	508	4671	2080	1837	939
19	414	1959	802	682	384
20	349	965	442	378	204

### Radiomarquages avec le bismuth ( $^{213}\text{Bi}$ )

- *Préparation des solutions*

Une masse  $m_A$  (mg) d'agent chélatant de masse molaire  $M_A$  est dissoute dans une solution tampon d'acétate de sodium 0,1M dont le pH est préalablement ajusté à 5,5. Une série de dilutions successive au  $1/10^{\text{ème}}$  est effectuée afin d'obtenir différentes solutions de concentrations  $C_m, C_{10}^{-1}, C_{10}^{-2}, C_{10}^{-3}, C_{10}^{-4}$  (nmol.mL $^{-1}$ ).



<b>Agent chélatant</b>	$M_A$	$m_A$	$C_m$	$C_{10}^{-1}$	$C_{10}^{-2}$	$C_{10}^{-3}$	$C_{10}^{-4}$	$C_{10}^{-5}$
Analogue N 38	339	1,6	3883	388	39,0	3,80	0,383	0,038
Analogue O	454	1,6	3535	339	33,0	3,30	0,331	0,032
Analogue S 45	470	1,3	2767	271	27,1	2,70	0,260	0,026
CHXDTPA	556	1,7	3090	304	28,6	2,86	0,283	0,028
Ph-TTHA 57	750	2,2	2743	272	27,2	2,68	0,265	0,026
Ph-DTPA 50	550	1,8	3351	332	33,8	3,50	0,325	0,033

Un volume  $V_X$  ( $\mu\text{L}$ ) des solutions de ligands de concentration  $C_X$  ( $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) est prélevé et additionné dans un volume  $V_T$  de tampon acétate de sodium (0,1M, pH 5,5). Sous hotte blindée, une solution radioactive de bismuth ( $1,34 \text{ pmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 50  $\mu\text{L}$ ) est additionnée dans chaque solution de ligand. Un témoin (T) est préparé en additionnant de la solution radioactive de bismuth ( $1,34 \text{ nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 50  $\mu\text{L}$ ) dans du tampon acétate de sodium (50  $\mu\text{L}$ ).

Le volume final des différents échantillons est de 100  $\mu\text{L}$ . Les échantillons sont ensuite incubés à 37°C pendant 30 minutes. Un volume de solution (1 $\mu\text{L}$ ) est prélevé dans chaque tube et déposé sur une plaque CCM de silice. Après élution par de l'acétate de sodium 0,1M, le pourcentage de chélation est mesuré par un appareil phosphorimager (445SI).

$L/^{213}\text{Bi}$	<b>Analogue N</b>			<b>Analogue O</b>			<b>Analogue S</b>		
	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$
$10^2$	17	0,383	33	20	0,331	30	26	0,260	24
$10^3$	17	3,80	33	20	3,30	30	26	2,70	24
$10^4$	17	39,0	33	20	33,0	30	26	27,1	24
$10^5$	17	388	33	20	339	30	26	271	24

$L/^{213}\text{Bi}$	<b>CHX-DTPA</b>			<b>Ph-TTHA</b>			<b>Ph-DTPA</b>		
	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$
$10^2$	24	0,283	32	25	0,265	25	21	0,325	24
$10^3$	24	2,86	32	25	2,68	25	21	3,50	24
$10^4$	24	28,6	32	25	27,2	25	21	33,8	24
$10^5$	24	304	32	25	272	25	21	332	24

## Radiomarquages avec l'actinium ( $^{225}\text{Ac}$ )

- *Calcul de la molarité de la solution d'actinium*

Après élution d'un générateur  $^{225}\text{Ac}$ , l'activité de la solution mesurée est de  $185.10^4 \text{ Bq.mL}^{-1}$ . Soit N le nombre de noyaux radioactifs dans 1 millilitre de solution  $N=A\lambda T/\ln 2$  ; avec  $T$ =période du radioélément en secondes et A exprimé en Bq.  $N=185.10^4 \times 10 \times 24 \times 3600 / (\ln 2)$ ;  $N= 2,3.10^{12}$  noyaux. En divisant ce résultat par le nombre d'Avogadro on obtient alors la concentration de l'actinium dans 1 millilitre de solution  $[^{225}\text{Ac}] = 2,3.10^{12} / (6,022.10^{23})=3,8 \text{ pmol.mL}^{-1}$ .

NB : En raison de la différence importante entre la période de l'actinium 225 (10 jours) et celle du bismuth 213 (45,5 minutes), la concentration en bismuth dans la solution radioactive a été négligée pour les calculs. En effet, dans la solution, l'activité de l'actinium est identique à celle du bismuth, la formule  $N= A\lambda T/\ln 2$  entraîne donc  $n(^{225}\text{Ac}) / n(^{213}\text{Bi})= T (^{225}\text{Ac})/ T (^{213}\text{Bi})=316$ .

- *Préparation des solutions*

Une masse  $m_A$  (mg) d'agent chélatant de masse molaire  $M_A$  est dissoute dans une solution tampon d'acétate de sodium 0,1M dont le pH est préalablement ajusté à 5,5. Une série de dilutions successives au  $1/10^{\text{ème}}$  est effectuée afin d'obtenir différentes solutions de concentrations  $C_m, C_{10}^{-1}, C_{10}^{-2}, C_{10}^{-3}, C_{10}^{-4}$  (nmol.mL $^{-1}$ ).

Agent chélatant	$M_A$	$m_A$	$C_m$	$C_{10}^{-1}$	$C_{10}^{-2}$	$C_{10}^{-3}$	$C_{10}^{-4}$	$C_{10}^{-5}$
CHX-DTPA	556	1,7	3090	304	28,6	2,86	0,283	0,028
Ph-TTHA <b>57</b>	750	2,2	2743	272	27,2	2,68	0,265	0,026
Ph-DTPA <b>50</b>	550	1,8	3351	332	33,8	3,50	0,325	0,033

Un volume  $V_x$  ( $\mu\text{L}$ ) des solutions de ligands de concentration  $C_x$  (nmol.mL $^{-1}$ ) est prélevé et additionné dans un volume  $V_T$  de tampon acétate de sodium (0,1M, pH 5,5). Sous hotte blindée, une solution radioactive d'actinium (0,19 pmol, 50  $\mu\text{L}$ ) est additionnée dans chaque solution de ligand. Un témoin (T) est préparé en additionnant de la solution radioactive d'actinium (0,19 pmol, 50  $\mu\text{L}$ ) dans du tampon acétate de sodium (710  $\mu\text{L}$ ).

Le volume final des différents échantillons est de 760  $\mu\text{L}$ . Les échantillons sont ensuite incubés à 37°C pendant 50 minutes. Un volume de solution (1 $\mu\text{L}$ ) est prélevé dans chaque tube et déposé sur une plaque CCM de silice. Après élution par de l'acétate de sodium 0,1M, le pourcentage de chélation est mesuré par un appareil phosphorimager (445SI).

$L/^{213}\text{Bi}$	<b>CHX-DTPA</b>			<b>Ph-TTHA</b>			<b>Ph-DTPA</b>		
	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$	$V_X$	$C_X$	$V_T$
$10^3$	679	0,283	31	707	0,265	3	590	0,325	120
$10^4$	679	2,86	31	707	2,68	3	590	3,50	120
$10^5$	679	28,6	31	707	27,2	3	590	33,8	120
$10^6$	379	304	31	707	272	3	590	332	120

## Procédure générale des Tests UV

Du trichlorure d'indium (20 mg,  $9,04 \cdot 10^{-4}$  mol.L<sup>-1</sup>), de samarium (20 mg,  $5,48 \cdot 10^{-4}$  mol.L<sup>-1</sup>) ou d'yttrium (20 mg,  $6,59 \cdot 10^{-4}$  mol.L<sup>-1</sup>) est additionné dans de l'eau distillée (100 mL). Une quantité du ligand testé (5 mg) est additionné dans de l'eau distillée (100mL).

Un volume fixe de la solution de ligand (10 mL,  $n_L = C_L V_L$ ) est prélevé et additionné dans un volume  $V_M$  de solution de sel métallique ( $n_M = C_M V_M$ ) tel que ( $C_L V_L = 1,1 C_M V_M$ ). Le volume final de chaque solution est ajusté à 15 mL par de l'eau distillée.

Des solutions témoins de ligands et de métaux dans de l'eau distillée, comprenant une concentration équivalente et un volume total de 15 mL sont préparées.

Les différentes solutions sont ensuite agitées à température ambiante et sous agitation pendant 1 heure. Les spectres sont enregistrés entre 200 et 800 nm avec un appareil SHIMADZU-UV 2501 PC.

## Résumé

Ce travail décrit la conception et la réalisation d'agents chélatants pour une utilisation en radioimmunothérapie, nouvelle méthode de traitement du cancer. Nous présentons les synthèses multiétapes de ligands rigides et l'étude de leurs propriétés complexantes. Les nouvelles molécules décrites possèdent des groupements chélatants acides polyaminopolycarboxyliques portés par un squelette aromatique facilement fonctionnalisable pour être greffé à un vecteur biologique. Les synthèses passent par la construction d'enchaînements polyazotés linéaires ou macrocycliques qui sont ensuite pourvus des fonctions carboxyliques pour générer les composés désirés. Le pouvoir complexant de ces nouveaux agents chélatants a été évalué sur une large gamme de radionucléides émetteurs de rayonnements  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ . Lors de ces tests, l'analogue du DTPA synthétisé a montré une affinité particulièrement intéressante avec ces radioéléments, notamment lors des études de stabilité sérique.

## Summary

This work describes the design and synthesis of chelating agents used in radioimmunotherapy, a new treatment modality for cancer. We developed multistep syntheses of rigid ligands and assessed their respective complexing power. The new molecules described are composed of a polyaminocarboxylic acid chelator bound to an aromatic skeleton to which groups can easily be added and which can be bound to a biological vector. Syntheses consist in building linear or macrocyclic nitrogen chains which are then supplemented with carboxylic groups to generate the desired compounds. The complexing power of these new chelating agents was assessed using a broad range of alpha, beta, and gamma ray emitting radionuclides. Our results, especially those from serum stability assays, showed that DTPA analogue have particularly interesting affinities for these radionuclides.