

---

# THÈSE

*Présentée*

**À L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE FRANCHE-COMTÉ**

UFR Sciences et Techniques

Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne – UMR CNRS 6302

*Par*

**Coline CANOVAS**

*Maître ès Sciences*

*Pour obtenir le titre de*

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE  
FRANCHE-COMTÉ**

*Discipline : Chimie*

---

**Développement de stratégies de bioconjugaison innovantes :  
Application à l'élaboration d'agents d'imagerie moléculaire**

---

Thèse soutenue le 9 novembre 2018, devant la commission d'examen composée de :

M-C. VIAUD-MASSUARD	Professeur à l'Université de Tours	Rapporteur
C. SABOT	Chargé de recherche au CNRS, Rouen	Rapporteur
T. LAHOUTTE	Directeur du Dépt. de Médecine Nucléaire, Bruxelles	Examineur
A. ROMIEU	Professeur à l'Université de Bourgogne, Dijon	Examineur
F. DENAT	Professeur à l'Université de Bourgogne, Dijon	Directeur
V. GONCALVES	Maître de conférences à l'Université de Bourgogne, Dijon	Co-Directeur

## Développement de stratégies de bioconjugaison innovantes : application à l'élaboration d'agents d'imagerie moléculaire

**Mots clés :** Bioconjugaison, imagerie nucléaire, site-spécifique, bimodalité, fluorescence, tétrazine

**Résumé :** L'élaboration d'agents de ciblage pour le diagnostic du cancer repose sur le couplage d'une molécule imageante à un vecteur, souvent une protéine, capable de cibler spécifiquement les tissus cancéreux. Cette étape de bioconjugaison peut se révéler complexe et très délicate à contrôler. En effet, les protéines vectrices sont constituées d'un grand nombre de fonctions chimiques, potentiellement réactives, qui peuvent interférer lors du greffage. Ces travaux de thèse ont pour finalité l'élaboration de stratégies de bioconjugaison sélective innovantes afin de faciliter la préparation des agents d'imagerie moléculaire.

Nos efforts ont notamment abouti à la mise au point d'une approche simple et efficace permettant la modification d'une protéine par un fluorophore, au moyen d'une réaction de bioconjugaison site-spécifique. Grâce à cette technique, il est possible d'obtenir des agents fluorescents proche infrarouge en une seule étape.

Nous nous sommes également intéressés à la conception d'agents imageants bimodaux nucléaires/fluorescents vectorisés.

Cette génération de traceurs possède un fort potentiel dans le domaine de l'imagerie médicale. Cependant, leur synthèse requiert le couplage de deux molécules imageantes à la protéine, ce qui rend l'étape de bioconjugaison particulièrement critique. Nous avons répondu à cette problématique par la mise au point de stratégies permettant la double modification site-spécifique de protéines. Les approches développées sont basées sur l'utilisation d'une plateforme trifonctionnelle, la dichlorotétrazine, et sont ainsi très versatiles. Nous avons pu obtenir et tester en préclinique, plusieurs agents imageants bimodaux nucléaires/optiques.

Ce mémoire présente également l'élaboration d'un radiotracer capable de détecter le cancer de la prostate par ciblage spécifique de la PSMA. Les résultats prometteurs obtenus lors de l'évaluation préclinique de ce composé, métallé au cuivre-64, en font un candidat intéressant pour le diagnostic du cancer de la prostate par tomographie par émission de positons chez l'homme.

## New site-specific bioconjugation strategies and their application to the development of molecular imaging agents for cancer diagnostic

**Keywords:** Bioconjugation, site-specific, bimodal imaging, nuclear imaging, fluorescence, tetrazine

**Abstract:** The preparation of targeted imaging agents suitable for cancer diagnostic involves the coupling of an imaging probe to a vector, generally a protein, able to specifically target cancerous tissues. Unfortunately, this bioconjugation step is often problematic. Indeed, proteins present a large variety of reactive functions that can potentially interfere with the coupling reaction. The purpose of this work is the design of innovative selective bioconjugation strategies that can facilitate the synthesis of molecular imaging agents.

Our research led to the development of a simple and efficient approach allowing the modification of a protein with a fluorophore by using a site-specific bioconjugation reaction. Thanks to this technique, it is possible to obtain near infrared fluorescent agents in a single step.

We also focused our work on the design of bimodal nuclear/fluorescent imaging tracers based on protein vectors.

These bimodal imaging agents show high potential for numerous medical applications. However, their synthesis requires the coupling of two distinct imaging molecules to the protein, which makes the bioconjugation step even more challenging. In this context, we developed different strategies suitable for the site-specific dual-modification of proteins. These approaches are based on a highly modular trifunctional platform, dichlorotetrazine. Several bimodal nuclear/optical imaging agents were obtained and shown convenient *in vivo* diagnostic properties.

This thesis also presents the elaboration of a new PSMA-specific radiotracer able to detect prostate cancer. The promising results obtained during the preclinical evaluation of this compound labeled with copper-64, make it an interesting candidate for the diagnosis of prostate cancer by positron emission tomography in human.