

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE BOURGOGNE EUROPE

Préparée à l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne
UMR CNRS 6302

Ecole doctorale n°553

Carnot Pasteur

Doctorat de Chimie

Par

Zoé Bonnefoy

Nouvelles stratégies de bioconjugaison : Application au *design* de sondes pour l'imagerie moléculaire

Thèse présentée et soutenue à Dijon, le 21 novembre 2025.

Composition du Jury :

S. Lamandé-Langle	Maître de Conférences à l'Université de Lorraine	Rapportrice
F. Taran	Directeur de Recherche au CEA, Paris Saclay	Rapporteur
S. Deville-Foillard	Chargée de Recherche CNRS, Paris Saclay	Examinatrice
P. Le Gendre	Professeur à l'Université de Bourgogne	Examineur
V. Goncalves	Maître de Conférences à l'Université de Bourgogne	Directeur de thèse
F. Denat	Professeur à l'Université de Bourgogne	Co-directeur de thèse

Nouvelles stratégies de bioconjugaison : Application au design de sondes pour l'imagerie moléculaire

Mots clés : Imagerie moléculaire, bioconjugaison, chimie *click*, marquage de protéines, cancer

Résumé : L'imagerie moléculaire, essentielle en médecine moderne permet un diagnostic et un accompagnement personnalisé grâce à l'utilisation de sondes imageantes couplées à des vecteurs biologiques. Les différents travaux présentés dans ce manuscrit visent à développer des outils de bioconjugaison permettant de concevoir des immunoconjugués théranostiques. Le premier projet porte sur le développement d'une nouvelle plateforme bioorthogonale permettant, après réaction avec des alcynes contraints, l'introduction de deux chélateurs de radiométaux (ou fluorophores) sur une position unique d'un anticorps monoclonal. Les bioconjugués obtenus grâce à cette méthode innovante ont été évalués *in vitro* et *in vivo* et ont permis d'obtenir des résultats prometteurs. Le motif 1,3,4-thiadiazole-*N*-oxyde émerge comme un nouvel outil pour la modification de protéines.

Le second projet présenté a été consacré à

l'utilisation de cette nouvelle plateforme bioorthogonale pour l'élaboration d'agents bimodaux à base de peptides. Une nouvelle réaction de couplage avec les alcynes vrais, sans métaux, a été développée. Le greffage de la plateforme sur deux ligands du PSMA, ainsi que la fonctionnalisation d'un alcyne vrai avec un fluorophore a démontré le potentiel de cette méthode pour la modification de biomolécules. Enfin, la dernière partie de ce manuscrit est consacrée à une méthode de bioconjugaison basée sur la chimie supramoléculaire, tirant profit de l'affinité exceptionnelle entre le cucurbit[7]uril et le motif adamantanamine afin de concevoir un bioconjugué à base d'anticorps pour l'imagerie TEP. Cette stratégie permet d'effectuer l'étape de radiomarquage sur le CB[7] dans des conditions drastiques, avant de procéder à l'assemblage avec une biomolécule couplée à l'adamantanamine dans des conditions douces.

New bioconjugation strategies: Application to the design of probes for molecular imaging

Keywords: Molecular imaging, bioconjugation, click chemistry, protein labeling, cancer

Abstract: Molecular imaging plays a key role in modern medicine offering diagnosis and monitoring of pathologies through the use of vectorized imaging probes. This manuscript presents the development of new bioconjugation tools for the design of theranostic immunoconjugates. The first project describes the development of a bioorthogonal platform enabling the introduction of two radiometal chelators (or fluorophores) onto a single position of a monoclonal antibody after reaction with strained alkynes. The 1,3,4-thiadiazole-*N*-oxide motif emerges as a new promising tool for protein modification. The second project explores the use of this new platform for the development of peptide-based bimodal probes.

A new metal free coupling reaction with linear alkynes was developed. The grafting of the platform onto PSMA ligands and the functionalization of linear alkynes with a fluorophore established a first proof of concept for the use of this method for biomolecules modification.

Finally, the last chapter presents a bioconjugation method based on supramolecular chemistry, exploiting the exceptional affinity between cucurbit[7]uril and adamantanamine to develop a bioconjugate for PET imaging. This approach allows for the radiolabeling of CB[7] under harsh conditions, followed by the assembly with a biomolecule coupled with adamantanamine under mild conditions.