



Porphyrines et tétraazamacrocycles dérivés du DOTA : association de deux ligands pour la chélation de métaux d'intérêt en imagerie médicale multimodale

Antoine Eggenspiller

► To cite this version:

Antoine Eggenspiller. Porphyrines et tétraazamacrocycles dérivés du DOTA : association de deux ligands pour la chélation de métaux d'intérêt en imagerie médicale multimodale. Autre. Université de Bourgogne, 2012. Français. NNT : 2012DIJOS077 . tel-00873315

HAL Id: tel-00873315

<https://theses.hal.science/tel-00873315>

Submitted on 15 Oct 2013

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

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



THÈSE

Présentée

à l'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BOURGOGNE

Mention : Chimie-Physique

Par

Antoine EGGENSPILLER

Maître ès Sciences

**Porphyrines et tétraazamacrocycles dérivés du DOTA : association de
deux ligands pour la chélation de métaux d'intérêt en imagerie
médicale multimodale**

Soutenue le 7 décembre 2012 devant la commission d'examen

Véronique BULACH	Professeur à l'Université de Strasbourg	Rapporteur
Vincent SOL	Professeur à l'Université de Limoges	Rapporteur
Philippe DURAND	Chargé de Recherche au CNRS à l'ICSN, Gif sur yvette	Examineur
Jean-Cyrille HIERSO	Professeur à l'Université de Bourgogne Membre junior de l'IUF	Examineur
Jean-Michel BARBE	Directeur de Recherche au CNRS, Dijon	Co-Directeur de thèse
Claude GROS	Professeur à l'Université de Bourgogne	Directeur de thèse

Remerciements

Ce travail a été effectué au sein de l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne (ICMUB) dans l'équipe de recherche Polyamines, Porphyrines, Développements et Applications (P2DA), Unité Mixte de Recherche 6302 entre l'Université de Bourgogne et le Centre National de la Recherche Scientifique.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame Véronique BULACH, Professeur à l'Université de Strasbourg et à Monsieur Vincent SOL, Professeur à l'Université de Limoges, pour avoir accepté de prendre la charge de rapporteurs de cette thèse.

Je remercie très sincèrement Monsieur Philippe DURAND, Chargé de Recherche au CNRS à l'ICSN de Gif sur yvette et Monsieur Jean-Cyrille HIERSO, Professeur à l'Université de Bourgogne, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Que Messieurs les Professeurs Franck DENAT et Pierre LE GENDRE soient assurés de ma très vive reconnaissance pour m'avoir accueilli et donné l'opportunité de travailler dans leur institut.

Je remercie vivement Monsieur Claude GROS, Professeur à l'Université de Bourgogne, pour m'avoir encadré durant ces trois années de thèse, ainsi que pour sa disponibilité et ses conseils avisés.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Monsieur Jean-Michel BARBE, Directeur de Recherche pour avoir co-encadré mon travail, ainsi que pour ses encouragements, ses conseils et ses remarques constructives tout au long de cette thèse.

Je remercie également Monsieur Nicolas DESBOIS, Maître de conférences à l'Université de bourgogne, qui a apporté un regard nouveau sur mon travail.

Je voudrais associer à ces remerciements Monsieur Frédéric BOSCHETTI, PDG de la société CheMatech® pour la mise à disposition des précurseurs macrocycliques qui ont été essentiels à ce travail.

Pour leur aide et leurs conseils concernant la spectrométrie de masse et la RMN je tiens à remercier Marie-José Penouilh-Suzette et Fanny Chaux. Je remercie également Marcel Soustelle pour les analyses élémentaires ainsi que pour ces conseils pragmatiques dans le laboratoire. Je tiens à remercier le Dr Philippe Richard pour son expertise et son acharnement qui a permis de résoudre l'unique structure cristallographique de cette thèse. Un grand merci à Christine Stern, Christophe Guerville et à Dominique Fraticelli pour avoir résolu tous les problèmes liés à l'informatique.

Enfin je tiens à remercier chaleureusement mes collègues et amis rencontrés durant ces trois ans de thèse, avec qui j'ai passé de très bon moments au laboratoire ou en dehors, Paulette, Semra, Sophal, Marie-Jo, Claire, Bertrand, Damien, Aline, Guillaume P., Guillaume O., Clément, Yann, Nicolas S., Sophie, Benoît, Hassib, Nicolas W., Loic, Stéphane, Eric, Pizz...

Je tiens à remercier mes parents, pour m'avoir toujours soutenu et encouragé dans mes choix, ma sœur et mon frère pour leur présence, leur bonne humeur et le recul qu'ils m'apportent.

Merci à Frédérique qui m'apporte son soutien au quotidien.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	9
LISTE DES ABREVIATIONS	15
CONTEXTE DU SUJET : IMAGERIE MEDICALE, AGENTS DE CONTRASTE ET COMPLEXES ORGANOMETALLIQUES	21
I. PRESENTATION ET HISTOIRE	23
II. TECHNIQUES D'IMAGERIE	24
II.1 L'IMAGERIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE	24
II.1.1 Principe de fonctionnement	25
II.1.2 Grandeurs caractéristiques d'un spectromètre RMN, MHz / Tesla	26
II.1.3 La théorie de la relaxation des spins	27
II.1.4 Facteurs influençant la relaxivité	28
II.1.5 Les agents de contraste de l'IRM	29
II.1.5.1 Définition	29
II.1.5.2 Agents de contraste à base de gadolinium (III)	29
II.1.5.3 Agents de contraste basés sur d'autres centres métalliques	31
II.1.5.4 Agents de contraste "CEST", "PARACEST" et agents intelligents : "smart probes"	33
II.2 LES TECHNIQUES D'IMAGERIE NUCLEAIRE	35
II.2.1 Les différents modes de décroissance radioactive	36
II.2.2 La tomographie par émission monophotonique	37
II.2.3 La tomographie par émission de positrons	38
II.2.4 Les éléments utilisés en imagerie nucléaire	39
II.3 LES TECHNIQUES D'IMAGERIE OPTIQUE	41
II.3.1 Caractéristiques photophysiques d'un fluorophore	42
II.3.2 Exemples de fluorophores utilisés en imagerie optique	44
III. AGENTS DE CONTRASTE MULTIMODAUX	45
III.1 IMAGERIE MULTIMODALE A L'HEURE ACTUELLE	46
III.2 EXEMPLES D'AGENTS DE CONTRASTE MULTIMODAUX	46
III.2.1 Association de l'imagerie nucléaire et de l'imagerie optique	47
III.2.2 Association de l'imagerie optique et de l'IRM	49
III.2.3 Association de l'imagerie nucléaire et de l'IRM	51
IV. LE PROJET D'IMAGERIE MEDICALE A DIJON	54
V. LES COMPLEXES METALLIQUES ET LA CHIMIE DES LIGANDS	55
V.1 LES MACROCYCLES ORGANIQUES	56
V.2 LES LIGANDS POLYAMINOCARBOXYLIQUES	58
V.2.1 Les agents bifonctionnels chélatants	58
V.2.2 Les chélates linéaires	60
V.2.3 Les macrocycles	61
V.2.3.1 Le NOTA (1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacétate)	62
V.2.3.2 Le TETA (1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane-1,4,8,11-tétraacétate)	63
V.2.3.3 Le DOTA (1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétate)	63
V.3 LES PORPHYRINES	65
V.3.1 Structure, nomenclature et propriétés	66
V.3.2 Méthodes de synthèse	70
V.3.2.1 Les porphyrines meso-substituées	70
V.3.2.2 Les porphyrines β -substituées	73
V.3.3 Applications	74
SYNTHESE ET CARACTERISATION DES LIGANDS	79
I. PROJET	81
I.1 CONTEXTE DU PROJET	81
I.2 BUT DU PROJET	81
I.3 EXEMPLES DE LA LITTERATURE	82
II. SYNTHESES DES LIGANDS	88

II.1	VOIE DE SYNTHÈSE	88
II.2	SYNTHÈSES DES LIGANDS	89
II.2.1	<i>Synthèse d'une série de ligands par couplage peptidique</i>	89
II.2.1.1	Synthèse du ligand composé d'une porphyrine et d'un dérivé du DOTA	90
II.2.1.2	Synthèse du ligand composé d'une porphyrine et de deux dérivés du DOTA	100
II.2.2	<i>Synthèse du ligand composé d'une porphyrine et de quatre dérivés du DOTA</i>	104
II.2.3	<i>Améliorations de la voie de synthèse</i>	109
II.2.3.1	Synthèse d'un ligand composé d'une porphyrine, d'un dérivé du DOTA et d'une fonction de greffage	111
II.2.3.2	Synthèse d'un ligand composé d'une porphyrine et de deux dérivés du DOTA	118
II.2.3.3	Structure cristallographique du composé 35	120
III.	CONCLUSION	124
	SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION ET ÉTUDE DES COMPLEXES	127
I.	CHOIX DES MÉTAUX ET DE L'ORDRE DE COMPLEXATION	129
II.	SYNTHÈSE DES COMPLEXES	130
II.1	COMPLEXES DE Gd	130
II.2	COMPLEXES HÉTÉROBIMÉTALLIQUES	138
III.	ÉTUDES DE LA RELAXIVITÉ DES COMPLEXES DE Gd	142
III.1	TECHNIQUES MISES EN ŒUVRE	142
III.2	PROTOCOLE DE MESURE DE LA RELAXIVITÉ DES SYSTÈMES	143
III.2.1	<i>Solubilité des complexes</i>	143
III.2.2	<i>Test au xylénol orange</i>	144
III.2.3	<i>Mesure de la concentration en gadolinium</i>	147
III.2.4	<i>Mesure de la vitesse de relaxation longitudinale $1/T_1$ et calcul de la relaxivité</i>	148
III.3	ANALYSE DES VALEURS DE RELAXIVITÉ	148
III.3.1	<i>Relaxivité des complexes 37, 40, 41, 42, 43 et 44</i>	149
III.3.2	<i>Relaxivité des complexes 38 et 39</i>	151
IV.	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES DE CE TRAVAIL	152
IV.1	PERSPECTIVES	152
IV.1.1	<i>Essai de complexation d'indium dans la cavité porphyrinique</i>	152
IV.1.2	<i>Amélioration de la solubilité des complexes</i>	155
IV.1.3	<i>Activation de la fonction amine libre</i>	158
IV.2	CONCLUSION	163
	SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION ET ÉTUDE DE SYSTÈMES BODIPY-PORPHYRINES	165
I.	PROJET	167
I.1	CONTEXTE DU PROJET	167
I.2	CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DES BODIPY	167
I.3	QUELQUES EXEMPLES DE LA LITTÉRATURE	169
II.	SYSTÈMES OBTENUS PAR SUBSTITUTION DES ATOMES DE FLUOR SUR L'ATOME DE BORE	170
II.1	CONTEXTE DU PROJET	170
II.2	SYNTHÈSES ET CARACTÉRISATIONS DES SYSTÈMES	171
II.3	PROPRIÉTÉS PHOTOPHYSIQUES DES SYSTÈMES	180
III.	SYSTÈMES COUPLES VIA UNE CYCLOADDITION 1,3-DIPOLAIRE D'HUISGEN	185
III.1	CONTEXTE DU PROJET	185
III.2	SYNTHÈSES ET CARACTÉRISATION DES COMPOSÉS	186
III.3	ÉTUDES DES SYSTÈMES OBTENUS	195
IV.	CONCLUSION	200
	CONCLUSION GÉNÉRALE	203
	PARTIE EXPÉRIMENTALE	209
	BIBLIOGRAPHIE	267
	COMMUNICATION DES RÉSULTATS	277

Introduction générale

La découverte de la radiographie au XIX^{ème} siècle a été une avancée majeure de la médecine. Pour la première fois, l'intérieur d'un organisme vivant devient visible sans une intervention chirurgicale, la première technique d'imagerie non invasive est née. Depuis, l'imagerie médicale n'a cessé de se diversifier et de s'améliorer. Les appareils utilisés sont devenus très performants grâce à l'évolution du traitement informatique et aux avancées technologiques. Parmi ces techniques, les plus connues du grand public sont la radiographie, l'échographie, l'imagerie par résonance magnétique (IRM), l'imagerie nucléaire ou encore l'imagerie optique qui possède de nombreuses applications dans la recherche préclinique. Les protocoles d'acquisition d'une image nécessitent dans certains cas l'emploi de complexes métalliques, pour obtenir ou pour améliorer le contraste de l'image. Ces agents de contraste sont des molécules qui possèdent des propriétés physiques particulières en fonction du type d'imagerie auquel ils sont destinés. Par exemple, l'IRM requiert des molécules qui incorporent des atomes fortement paramagnétiques et l'imagerie nucléaire nécessite l'emploi de molécules radioactives.

Les techniques d'imagerie médicale actuelles possèdent toutes des limites intrinsèques et la recherche se porte maintenant sur la complémentarité de ces outils pour obtenir des imageurs toujours plus performants. L'imagerie multimodale est à l'heure actuelle en plein essor. Elle est basée sur l'utilisation simultanée de plusieurs imageurs afin de compenser les points faibles de chaque technique par l'acquisition de données complémentaires. De plus, la combinaison de plusieurs techniques d'imagerie permet non seulement d'obtenir une image anatomique de l'organisme étudié, mais aussi d'imager, grâce à des agents de contraste spécifiques, des phénomènes biologiques comme l'expression d'une enzyme ou d'un biomarqueur. L'imagerie multimodale est un domaine de recherche pluridisciplinaire auquel le chimiste participe, notamment en élaborant de nouvelles molécules qui réunissent les caractéristiques physiques nécessaires pour être détectées par plusieurs techniques d'imagerie simultanément.

Le projet que nous avons développé se base sur le savoir-faire du laboratoire en terme de synthèse de ligands et de chimie de coordination. Nous avons choisi de synthétiser des ligands qui seraient capables de complexer deux métaux différents sur la même molécule. En effet, en développant un ligand polyvalent en terme de propriétés de complexation, plusieurs associations de métaux sont envisageables. Pour mener à bien ce projet nous avons choisi d'associer les tétraazacycloalcanes aux porphyrines. Ces macrocycles présentent des propriétés remarquables en tant que ligand de nombreux cations métalliques et tout deux sont déjà utilisés dans le domaine de la santé. En effet, certains agents de contraste de l'IRM ont comme architecture un tétraazacycloalcane et des dérivés porphyriniques sont utilisés pour la thérapie photodynamique (PDT). Le ligand que nous souhaitons synthétiser devra aussi inclure une fonction chimique libre afin de pouvoir envisager le greffage de nos complexes sur des vecteurs biologiques. L'enjeu de ce travail est donc la synthèse de ligands et de complexes hétérobimétalliques présentant des propriétés intéressantes pour l'imagerie médicale.

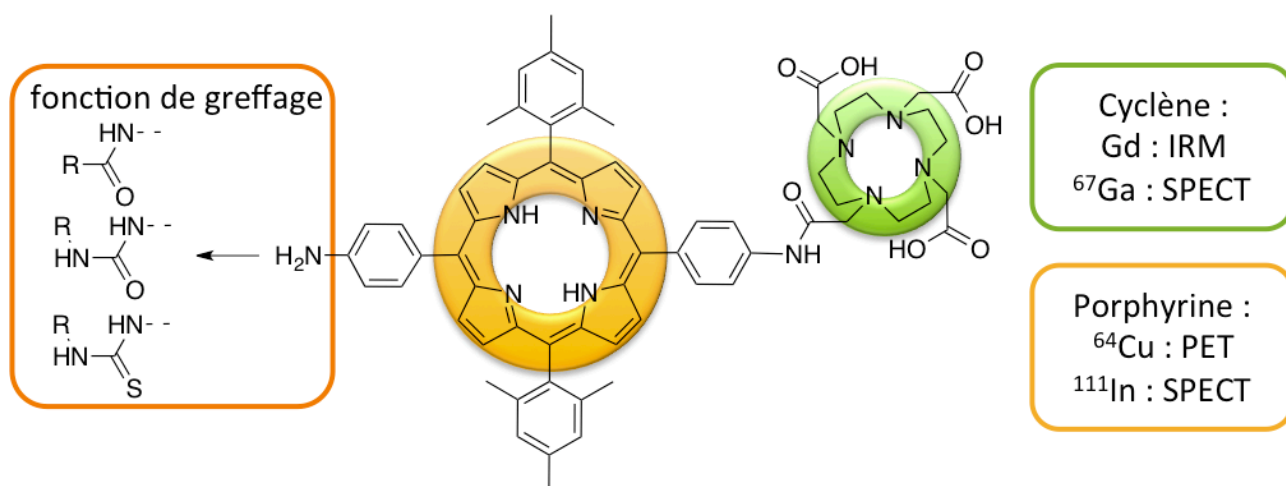


Schéma 1 : Structure d'un ligand composé d'une porphyrine et d'un dérivé du cyclène.

Dans le premier chapitre de ce manuscrit, nous allons nous nous intéresser aux différentes techniques d'imagerie, à l'imagerie multimodale ainsi qu'aux différents exemples d'agents de contraste multimodaux qui sont développés à l'heure actuelle. Le deuxième chapitre porte sur la synthèse et la caractérisation de nos ligands dont l'architecture est basée sur l'association de porphyrines et de tétraazacycloalcanes. Le troisième chapitre porte sur la synthèse de complexes hétérobimétalliques, incorporant des métaux d'intérêt pour l'imagerie médicale. Ce chapitre inclut aussi les études des propriétés de relaxivité de nos complexes.

Le quatrième chapitre de ce manuscrit traite d'un projet de recherche que nous avons développé en parallèle du projet d'imagerie médicale. Ce projet porte sur l'élaboration de systèmes incorporant des BODIPY et des porphyrines afin d'étudier les phénomènes de transfert d'énergie qui peuvent avoir lieu dans ce types de systèmes. Nous avons mis au point ce projet en collaboration avec l'équipe composée du Pr Franck Denat, du Dr Christine Goze, du Dr Bernhard Claire et de Bertrand Brizet. Nous avons développé des voies de synthèse originales pour associer sur la même molécule les deux chromophores. Le quatrième chapitre de ce manuscrit porte sur la synthèse, les caractérisations et les études photophysiques qui ont été effectuées sur ces systèmes originaux.

Liste des abréviations

AAZTA	Acide 6-amino-6-méthylperhydro-1,4-diazépinetétracétique
AcOH	Acide acétique
APTS	Acide <i>para</i> -toluène sulphonique
BODIPY	Difluoroboron dipyr romethene
BtOH	Hydroxybenzotriazole
CB-TE2A	“Cross-Bridged” 4,11-acide diacétique-1,4,8,11-tétrazabicyclo[6,6,2]hexadécane
CCM	Chromatographie sur couche mince
CEST	Chemical exchange saturation transfer
DCM	Dichlorométhane
DDQ	2,3- Dichloro -5,6- dicyano -1,4-benzoquinone
DHB	Acide 2,5- dihydroxybenzoïque
DIPEA	Diisopropyléthylamine
DIBAL	Hydruure de diisobutylaluminium
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO3AtBu	tri- <i>tert</i> -butyl 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate
DOTA	1,4,7,10-Tétrazacyclododécane-1,4,7,10-tetraacétate
DOTAtris-tBu	2-(4,7,10-Tris(2-(<i>tert</i> -butoxy)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)acétate
DOTAtris-tBu NHS	Tri- <i>tert</i> -butyl 2,2',2''-(10-(2-((2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)oxy)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacétate
DTPA	Diéthylènetriamine pentaacétate
EDC	1-éthyl-3-(3- diméthyl aminopropyl)carbodiimide
EPR	Enhanced permeation and retention effect
ESI	Electrospray ionization
EtOAc	Acétate d'éthyle
EtOH	Ethanol
FDA	Food and drug administration
¹⁸ FDG	18- Fluorodéoxyglucose
HpD	Hematoporphyrin derivative
ICP-AES	Inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry
IRM	Imagerie par résonance magnétique nucléaire
MALDI-TOF	Matrix assisted laser desorption ionisation - time of flight
MeCN	Acétonitrile
MeOH	Méthanol
NOTA	1,4,7-Triazacyclononane-1,4,7-triacétate
PARACEST	Paramagnetic chemical exchange saturation transfer
PDT	Photodynamic therapy

PET	P ositron e mission t omography
RMN	R ésonance m agnétique n ucléaire
SPECT	S ingle p hoton e mission c omputed t omography
TETA	1,4,8,11-Tétraazacyclotétradécane-1,4,8,11-tétraacétate
TFA	Acide t rifluoro a cétique
THF	T étra h ydro f urane
UV-vis	Spectroscopie UV-visible
VEGF	V ascular e ndothelial g rowth f actor

Chapitre I :

*Contexte du sujet : imagerie médicale,
agents de contraste et complexes
organométalliques*

I. Présentation et histoire

Le terme imagerie médicale regroupe les différentes techniques qui permettent d'obtenir une image d'un organisme sans que celui-ci soit endommagé par l'analyse. Ces techniques utilisent des ondes électromagnétiques ou mécaniques qui peuvent traverser la matière sans l'altérer. Depuis la fin du XIX^{ème} siècle jusqu'à nos jours plusieurs types d'imageurs ont été mis au point. Les techniques les plus connues du grand public ont été découvertes dans les années 70, cependant c'est dans les vingt dernières années que les améliorations dans ce domaine ont été les plus nombreuses (Figure 1).¹ L'apparition de ces outils pour les médecins s'est souvent traduite par des avancées médicales majeures. Dans le paragraphe suivant nous allons décrire ces techniques, celles qui nous intéressent plus particulièrement seront détaillées plus tard dans ce manuscrit.

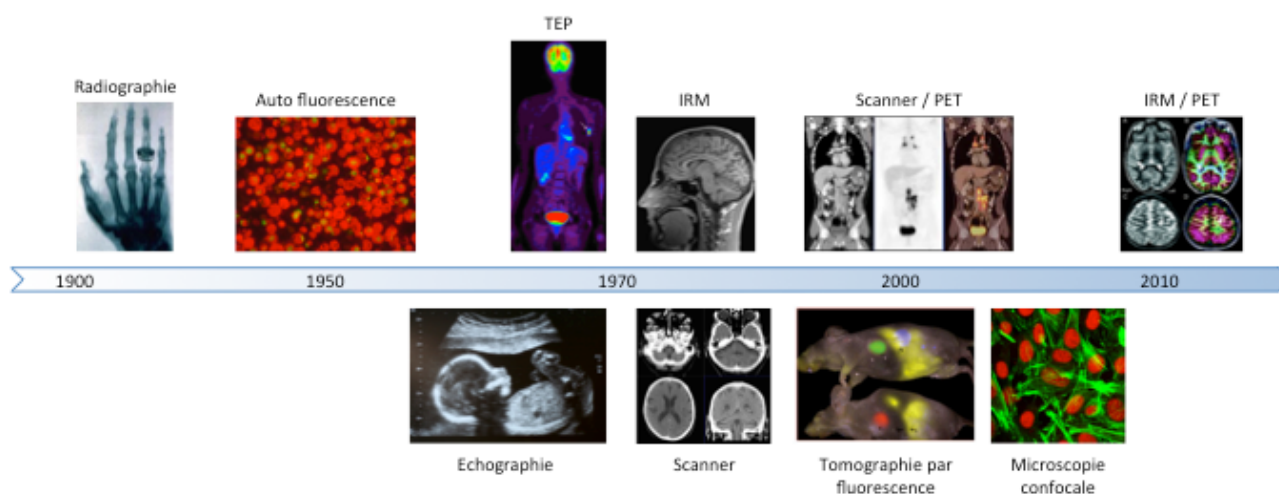


Figure 1 : Chronologie de l'apparition de différentes techniques d'imagerie médicale. D'après la revue de Weissleder et Pittet.¹

La radiographie a été découverte à la fin du XIX^{ème} siècle par Röntgen, qui constata que les rayons X étaient absorbés différemment par les tissus du corps humain. Cette technique encore largement utilisée à l'heure actuelle permet d'obtenir des images précises des os et de certains organes. Dans les années 70, grâce aux avancées dans le domaine de l'informatique, la radiographie a été améliorée en scanner par Godfrey Newbold Hounsfield et Allan MacLeod Cormack. Cette technique permet à partir de plusieurs radiographies et après traitement informatique d'obtenir des images en deux ou trois dimensions. Pour certains types d'examens, comme celui des vaisseaux sanguins il est nécessaire d'employer des agents de contraste à base d'iode. Cet élément a pour propriété d'absorber fortement les rayons X et permet d'augmenter le contraste des tissus où il est présent.

C'est aussi dans les années 70 qu'ont été découvertes plusieurs techniques largement utilisées à l'heure actuelle, comme l'imagerie nucléaire, l'Imagerie par Résonance Magnétique nucléaire (IRM) ainsi que plusieurs techniques d'imagerie optique. Les principes de fonctionnement de ces différentes techniques seront décrits en détails dans le paragraphe suivant (§ II).

Depuis une dizaine d'années, un nouveau concept a vu le jour : l'acquisition d'images selon plusieurs techniques différentes.² En effet, chacune des méthodes précédemment décrites possède de nombreux avantages mais elles présentent toutes un certain nombre d'inconvénients intrinsèques. Un moyen de résoudre ces problèmes est de superposer les images obtenues par différentes techniques d'imagerie. Les premiers appareils de ce type couplent le scanner à l'imagerie nucléaire. La résolution spatiale est apportée par le scanner et le marquage sélectif de certaines zones sont apportés par la tomographie par émission de positrons PET (pour "Positron Emission Tomography"). Ce système s'est montré si efficace qu'à l'heure actuelle les imageurs PET seuls ne sont plus commercialisés.³ Cependant plusieurs problèmes subsistent. En effet, les patients sont exposés à des rayonnements ionisants par les deux techniques et le scanner est peu performant pour différencier les tissus mous en particulier sans agent de contraste.⁴ C'est pourquoi à l'heure actuelle de nouveaux imageurs associant l'IRM à la PET voient le jour. Comme dans le cas de l'association du scanner et de la PET, il existe une grande synergie entre ces deux méthodes, du fait de la très bonne résolution anatomique de l'IRM et de la sensibilité et la sélectivité de la PET.

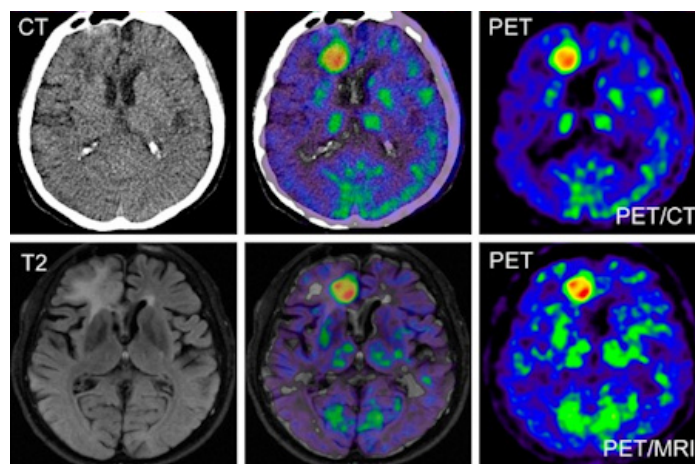


Figure 2 : Comparaison d'images obtenues par scanner / PET et par IRM / PET.

Cette technologie permet l'acquisition simultanée des images par les deux appareils, alors que dans le cas d'un imageur scanner/PET, le patient est d'abord imagé par le scanner et ensuite par la PET. De plus l'IRM permet un bien meilleur contraste sur les tissus mous que le scanner (Figure 2), cette technique très prometteuse est récente et peu d'appareils sont installés à l'heure actuelle.⁵

II. Techniques d'imagerie

II.1 L'imagerie par résonance magnétique nucléaire

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est basée sur le principe de la résonance magnétique nucléaire (RMN) découverte dans les années 40. Cependant, c'est dans les années 70 que les travaux réalisés par Lauterburg⁶ aboutissent à la construction d'images en deux ou trois

dimensions. De nos jours, l'IRM est largement utilisée en clinique. En effet, c'est un outil de choix pour les médecins grâce à l'obtention d'images avec une haute résolution spatiale et temporelle.

II.1.1 Principe de fonctionnement

Certains noyaux atomiques qui possèdent un moment cinétique de spin nucléaire, comme le ^1H , le ^{13}C ou le ^{31}P , ont la propriété de pouvoir interagir avec les champs magnétiques. L'IRM s'intéresse principalement au proton du fait de son abondance dans les organismes vivants, sous la forme de molécules d'eau. Un être humain adulte est composé de 60 % d'eau environ. Quand ils sont placés dans un champ magnétique les spins nucléaires des protons de la molécule d'eau s'alignent de manière parallèle ou antiparallèle avec ce champ. Cet équilibre est perturbé durant l'analyse par une onde électromagnétique. Une fois cette perturbation terminée, les spins nucléaires vont retourner à leur état d'équilibre. C'est le temps que met le spin à retrouver son état d'équilibre qui est mesuré par l'imageur. Ce temps de relaxation est dépendant de nombreux paramètres notamment l'environnement de la molécule d'eau. C'est donc la différence de ces temps de relaxation qui permet de donner un contraste différent selon les tissus. La relaxation du spin nucléaire du proton est un mouvement hélicoïdal autour de l'axe z , qui par convention suit le sens du champ magnétique extérieur (Figure 3). On peut donc extraire deux composantes de ce mouvement, la composante longitudinale T_1 , qui traduit le retour à l'équilibre selon l'axe z et la composante transversale T_2 qui traduit la diminution de l'aimantation selon le plan xy .

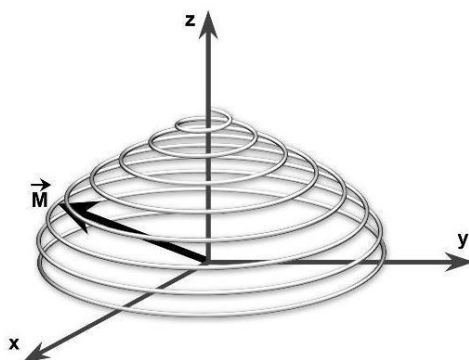


Figure 3 : Mouvement de retour à l'équilibre du spin nucléaire.

L'IRM a une très bonne résolution spatiale jusqu'à la dizaine de μm^1 , mais souffre d'un manque de sélectivité. Il est parfois difficile de différencier les tissus les uns des autres si leur temps de relaxation est proche. Un des moyens de remédier à ce problème est d'accumuler du signal pour augmenter le rapport signal sur bruit, mais de ce fait la durée de l'analyse augmente. L'autre méthode est d'employer un agent de contraste qui va modifier le temps de relaxation des spins nucléaires dans certaines parties du corps. A l'heure actuelle l'utilisation d'agents de contraste concerne environ 35% des examens IRM.⁷

Les agents de contraste de l'IRM sont élaborés à partir d'éléments paramagnétiques, comme le gadolinium (III), le manganèse (II) ou encore le fer. Ces éléments influent sur le temps de relaxation

longitudinale T_1 et sur le temps de relaxation transversale T_2 .⁸ Le gadolinium (III) et le manganèse (II) augmentent la vitesse de relaxation ($1/T_1$) des spins nucléaires des protons ce qui se traduit par un signal plus intense sur l'image obtenue. Ces éléments sont parmi les plus paramagnétiques du tableau périodique puisqu'ils possèdent sept électrons célibataires pour le gadolinium (III) et cinq pour le manganèse (II). Certains agents de contraste augmentent la vitesse de relaxation ($1/T_2$), induisant un signal plus faible sur l'image obtenue, on parle d'agents de contraste négatifs. Pour pouvoir comparer les agents de contraste entre eux une grandeur caractéristique a été introduite : la relaxivité (§ II.1.3).

II.1.2 Grandeurs caractéristiques d'un spectromètre RMN, MHz / Tesla

Les imageurs IRM utilisent des aimants d'une puissance considérable en comparaison du champ magnétique terrestre (environ 10^{-5} Tesla). Les appareils utilisés pour l'étude de sujets humains sont classés en trois catégories, les imageurs à bas champ, inférieur à 0,5 Tesla, à moyen champ entre 0,5 et 1 Tesla et à haut champ, supérieur à 1 Tesla. Il existe aussi des appareils à très haut champ pour lesquels le champ magnétique peut atteindre des valeurs supérieures à 10 Teslas.

Ces valeurs de champs magnétiques sont utilisées en médecine et caractérisent la valeur du champ de l'appareil concerné. Pour un chimiste organicien qui a pour habitude de travailler sur des spectromètres RMN, ces grandeurs sont peu parlantes et bien que les appareils soient identiques sur leur principe de fonctionnement les spectromètres RMN sont caractérisés, par convention, par la fréquence de précession pour les expériences proton, par exemple 20 MHz ou 300 MHz.

La conversion entre ces deux grandeurs caractéristiques de l'appareil utilisé s'effectue grâce au rapport gyromagnétique (Équation 1) qui est une constante du noyau étudié, le plus souvent le proton.

$$F_P = \left(\frac{\gamma}{2\pi} \right) \cdot B_0$$

Équation 1 : Fréquence de précession en fonction du champ magnétique.

F_P : fréquence de précession (MHz)

γ : rapport gyromagnétique (42,576 MHz.T⁻¹ pour le proton)

B_0 : intensité du champ magnétique (T)

Le tableau suivant donne les équivalences de quelques valeurs de champs magnétiques ainsi que leur équivalent exprimé en fréquence de précession pour le proton (Tableau 1).

B_0 (T)	0,5	1	2	4,7	6	7	11,7	14,1	23,5
F_P (MHz)	21	42	84	200	255	300	500	600	1000

Tableau 1 : Conversion de quelques grandeurs caractéristiques (MHz/Tesla).

II.1.3 La théorie de la relaxation des spins

Les phénomènes qui entrent en jeu lors de la relaxation des spins nucléaires des protons en présence d'ions paramagnétiques ont été traduits en équations mathématiques par Solomon, Bloembergen et Morgan.⁹

La vitesse de relaxation globale (obs) qui est mesurée par l'appareil est la somme des vitesses de relaxation diamagnétique et paramagnétique (Équation 2).

$$\left(\frac{1}{T_n}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_n}\right)_{dia} + \left(\frac{1}{T_n}\right)_{para} \quad \text{avec } n = 1, 2$$

Équation 2 : Vitesse de relaxation globale.

La contribution diamagnétique est la vitesse de relaxation des protons en l'absence d'agents de contraste. La contribution paramagnétique peut être exprimée comme l'augmentation de la vitesse de relaxation due à l'espèce paramagnétique en jeu, en fonction de la concentration de l'élément considéré (Équation 3). On introduit donc une grandeur r_n ($n = 1, 2$) : la relaxivité, qui s'exprime en $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. La relaxivité est une valeur qui va ainsi permettre de mesurer l'efficacité d'un agent de contraste pour pouvoir facilement le comparer aux autres.

$$\left(\frac{1}{T_n}\right)_{para} = r_n [Gd]$$

$$\left(\frac{1}{T_n}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_n}\right)_{dia} + r_n [Gd] \quad \text{avec } n = 1, 2$$

Équation 3 : Vitesse de relaxation paramagnétique pour un agent de contraste à base de gadolinium (III).

La plupart des agents de contraste utilisés en clinique possèdent une valeur de relaxivité comprise entre 4 et 10 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, pour des valeurs de champs magnétiques couramment utilisés en IRM clinique, entre 1 et 7 Teslas.⁷ Pourtant la théorie permet de calculer un maximum aux alentours de 100 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. De nombreuses équipes de recherche se sont donc intéressées à l'amélioration de cette valeur, dans le but de diminuer la dose de produit de contraste nécessaire à l'obtention d'une image correctement contrastée. En effet, la concentration nécessaire est de l'ordre de 0,1 mM ce qui représente pour un adulte une quantité d'agent de contraste de l'ordre du gramme. La nouvelle génération d'agents de contraste devrait être plus sélective, plus sensible et aussi activable pour pouvoir imager des processus biologiques sans se limiter à l'étude anatomique du patient. Les avancées dans le domaine des agents de contraste seront décrites plus loin dans ce manuscrit (§ III).

II.1.4 Facteurs influençant la relaxivité

Pour les agents de contraste à base de gadolinium (III), il existe plusieurs facteurs qui vont modifier la valeur de la relaxivité. Cette dernière est dépendante de la température et du champ magnétique, mais est aussi influencée par plusieurs facteurs microscopiques (Schéma 2). La valeur de la relaxivité augmente avec la température, ce facteur est peu pris en compte puisque les analyses se passent à température constante, celle de l'organisme étudié. Le champ magnétique influence aussi la relaxivité, en effet, à bas champ, entre 20 et 100 MHz, la relaxivité a toujours une valeur supérieure à celle mesurée à haut champ, au dessus de 200 MHz. Les facteurs microscopiques qui influencent la relaxivité sont :

- le nombre de molécules d'eau directement coordonnées au gadolinium (III) : q
- le temps moyen de résidence des molécules d'eau : τ_m
- le temps de corrélation rotationnel, qui traduit la vitesse à laquelle le complexe tourne sur lui-même : τ_R

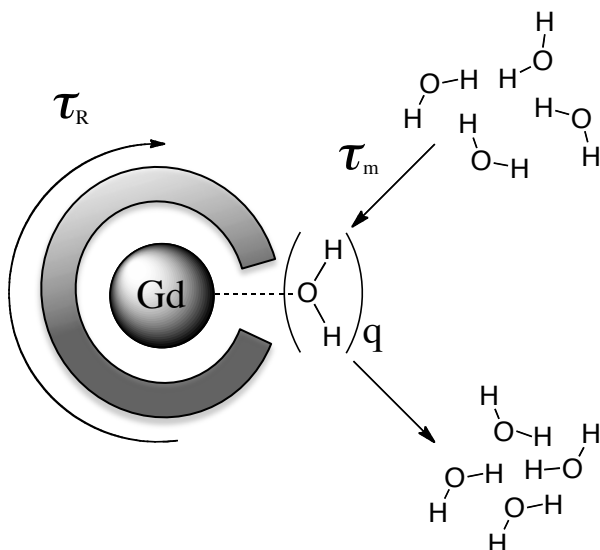


Schéma 2 : Les trois principaux facteurs qui influencent la relaxivité.

La relaxivité est directement proportionnelle au nombre de molécules d'eau coordonnées au centre métallique. Augmenter le nombre de molécules d'eau coordonnées au métal est donc un bon moyen d'augmenter la relaxivité d'un complexe. La vitesse d'échange k_{ex} ($1/\tau_m$) de la molécule d'eau joue un rôle important, plus elle est rapide et plus la relaxivité augmente. Cependant ce paramètre n'a d'influence que si le temps de corrélation rotationnel τ_R n'est pas trop rapide. Concrètement, pour les petits complexes moléculaires qui tournent vite sur eux-mêmes, il faut déjà ralentir cette rotation, en augmentant la masse molaire par exemple, avant d'optimiser les caractéristiques de la vitesse d'échange de la molécule d'eau.¹⁰

II.1.5 Les agents de contraste de l'IRM

II.1.5.1 Définition

De manière générale un agent de contraste est une molécule ou un assemblage moléculaire qui va permettre d'augmenter ou de diminuer l'intensité du signal mesuré à l'endroit où il est présent. Prenons comme exemples les agents de contraste de l'IRM à base de gadolinium. Ce lanthanide est un cation métallique trichargé, qui est toxique s'il est libre dans un organisme. En effet, le gadolinium (III) possède un rayon atomique d'environ 1,8 Å proche de celui du calcium et du sodium qui ont eux aussi un rayon atomique d'environ 1,8 Å. Le gadolinium peut donc interférer dans des processus biologiques mettant en jeu du calcium. Le moyen pour pouvoir utiliser les propriétés du gadolinium en se débarrassant de ces effets toxiques est de l'encapsuler dans un ligand organique. Le complexe ainsi formé doit répondre à plusieurs critères de stabilité pour éviter de relarguer le lanthanide durant l'analyse par des phénomènes de transmétallation ou de transchélation. Ces critères sont la stabilité thermodynamique, caractérisée par la constante de stabilité thermodynamique ($\log K$), ainsi que la stabilité cinétique, le complexe doit être inerte cinétiquement pendant la durée de l'examen.

II.1.5.2 Agents de contraste à base de gadolinium (III)

Bien qu'il existe des agents de contraste de l'IRM à base de manganèse (II) et de fer, la plus grande majorité des examens s'effectue avec des agents de contraste à base de gadolinium (III), à savoir plus de 10 millions d'analyses par an dans le monde.¹⁰

La majorité des agents de contraste de l'IRM sont élaborés à base de gadolinium (III) (Figure 4), pour deux raisons, la plus évidente est qu'il possède sept électrons célibataires sur son orbitale 4f ce qui fait de lui un atome hautement paramagnétique. La seconde est plus subtile, puisqu'il existe des lanthanides, par exemple le dysprosium (III) et l'holmium (III) qui ont un moment magnétique plus important que celui du gadolinium (III). Pour des raisons d'asymétrie des orbitales électroniques leur moment magnétique est plus important, mais cette asymétrie induit aussi une relaxation électronique très rapide. Le gadolinium (III) possède une orbitale S symétrique qui induit un taux de relaxation électronique plus lent. C'est cette contribution électronique qui est plus en accord avec la fréquence de Larmor du proton de la molécule d'eau qui permet au gadolinium (III) d'être plus efficace que tous les autres atomes pour augmenter la vitesse de relaxation des protons.⁸

Les agents de contraste utilisés couramment en IRM à l'heure actuelle (Figure 4) sont des agents extracellulaires qui ont une faible durée de circulation dans le sang et qui se distribuent rapidement dans le plasma et les espaces extravasculaires.¹¹ Les tumeurs étant souvent hypervascularisées, ces agents de contraste vont s'y accumuler et permettre d'augmenter le contraste sur ces lésions. Ils permettent aussi d'examiner l'état de la barrière hémato-encéphalique puisqu'en

l'absence de lésion elle reste totalement imperméable à ce type de molécules. Dans les cas de détériorations de cette barrière par une tumeur ou une autre lésion ces agents de contraste vont pouvoir la franchir et s'accumuler dans les zones malades.

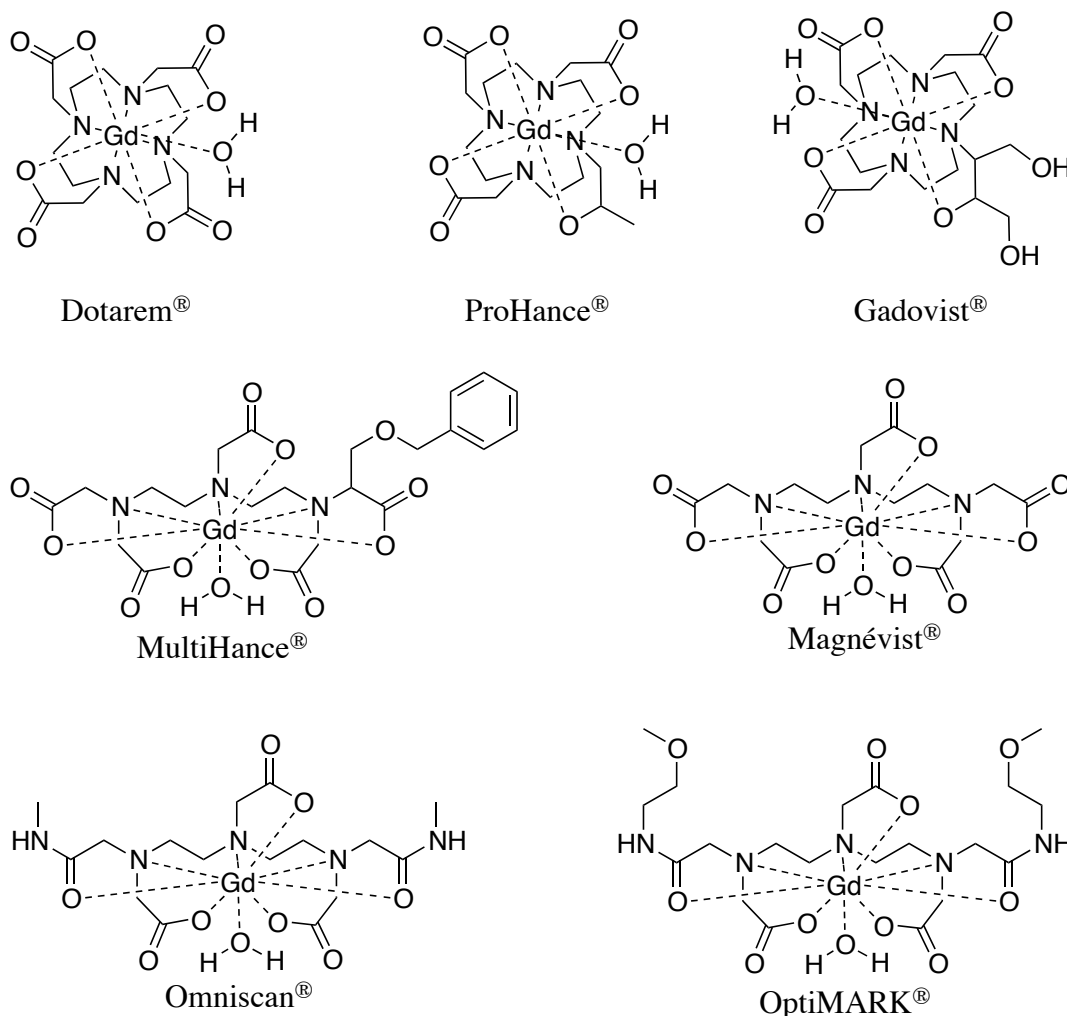


Figure 4 : Agents de contraste commerciaux à base de gadolinium (III).

Ces complexes étant fortement hydrophiles, ils sont éliminés en quelques heures par les reins. Grâce à la valeur très élevée de leur constante de stabilité thermodynamique (Tableau 2) et à la cinétique de décomplexation très lente, ces molécules sont très peu voire non toxiques même pour les fortes concentrations requises pour une analyse IRM. Des cas de fibrose systémique néphrogénique ont été observés et reliés à l'administration d'agents de contraste à ligand linéaire depuis 2006. Ces cas concernent toujours des patients ayant de gros problèmes rénaux, comme des insuffisances rénales sévères ou ayant subi des transplantations rénales. Le complexe étant très difficilement éliminé de l'organisme, il finit par se dissocier dans le corps et les effets toxiques du gadolinium se font alors ressentir.¹² Ces effets secondaires très graves ont été rapportés pour l'utilisation de ligands linéaires, mais jamais pour les ligands cycliques du gadolinium.

Caractéristiques	Structure du ligand	Constante de stabilité thermodynamique (log K)	r_1 à 1,5 T (60 MHz) ($\text{mmol}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	r_1 à 3 T (120 MHz) ($\text{mmol}^{-1}.\text{s}^{-1}$)
Magnévist®	Linéaire	22,1	4,1	3,7
Dotarem®	Cyclique	25,8	3,6	3,5
ProHance®	Cyclique	23,8	4,1	3,7
Omniscan®	Linéaire	16,9	4,3	4,0
MultiHance®	Linéaire	22,6	8,3	6,2
Gadovist®	Cyclique	21,8	4,7	3,6
OptiMARK®	Linéaire	16,6	4,7	4,5

Tableau 2 : Caractéristiques physicochimique des principaux agents de contraste commerciaux à base de gadolinium (III).

II.1.5.3 Agents de contraste basés sur d'autres centres métalliques

La recherche d'alternatives aux agents de contraste à base de gadolinium (III) se développe de plus en plus, depuis 2006 du fait des effets indésirables observés chez les patients atteints d'insuffisance rénale.¹³ Les alternatives les plus prometteuses semblent être l'utilisation du manganèse (II) ou de nano-particules de fer.

Le manganèse (II) possède cinq électrons célibataires, un temps de relaxation électronique long, et une vitesse d'échange rapide quand une molécule d'eau est coordonnée au centre métallique. Ces paramètres en font un bon candidat pour l'IRM. Le nombre de coordination du manganèse (II) est de six, il est de ce fait plus compliqué de créer des complexes d'une très grande stabilité, qui permettent l'entrée d'une ou plusieurs molécules d'eau dans la sphère de coordination.¹⁴ D'un point de vue clinique le chlorure de manganèse a été utilisé comme agent de contraste et administré par voie orale sous le nom de LumenHance®. Il est toujours utilisé sur des animaux et cette technique est connue sous le nom de MEMRI (pour Manganese-enhanced MRI), qui permet d'étudier les flux de calcium ainsi que le fonctionnement des connections neuronales. L'utilisation de fortes doses de manganèse libre est cependant toxique, l'accumulation du métal libre dans le système nerveux central provoque une dégénérescence de type maladie de Parkinson. Le seul agent de contraste injectable à base de manganèse (II) est le Teslascan® (Figure 5). La sphère de coordination du métal dans ce complexe comporte déjà 6 atomes, il n'y a donc pas de molécule d'eau directement coordonnée au manganèse, la valeur de la relaxivité du complexe est donc plutôt faible, $r_1 = 1,5 \text{ mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à 20°C et à 4,7 T.¹⁵ Il est spécifique à l'étude du foie puisqu'il est internalisé par les cellules saines du foie et est métabolisé ce qui provoque le relargage de métal libre qui interagit avec les structures intracellulaires. Ce relargage provoque une forte amélioration de la relaxivité et

de ce fait du signal. Les cellules saines du foie ressortent donc avec un contraste positif et les zones plus foncées traduisent une lésion hépatique.¹⁶

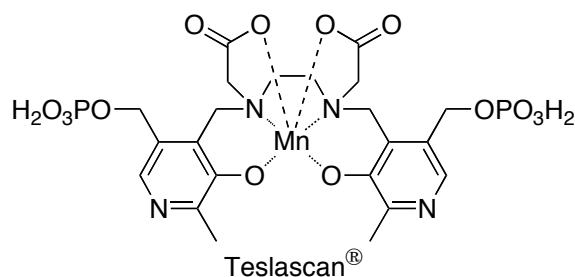


Figure 5 : Agent de contraste commercial à base de manganèse (II).

Les nanoparticules de fer utilisées en imagerie médicale sont toutes composées d'un cœur métallique entouré d'une couche de polymère organique afin d'empêcher l'agglomération et la précipitation des particules. Le cœur métallique est à base d'oxydes de fer, le plus souvent de la magnétite (Fe_3O_4) ou de la maghémite (Fe_2O_3). L'enveloppe est composée de polymères biocompatibles, par exemple le dextran, un polymère de glucose ou le polyéthylène glycol (PEG). Suivant le polymère utilisé pour l'enveloppe, les propriétés pharmacocinétiques des nanoparticules peuvent être modifiées. Les nanoparticules de fer sont très vite absorbées par le système immunitaire et se retrouvent dans les organes riches en macrophages, cependant l'utilisation du PEG pour l'enveloppe allonge le temps de circulation des nanoparticules dans le sang. La surface des nanoparticules peut aussi être fonctionnalisée par des molécules vectrices comme des anticorps ou des protéines.

La biodistribution et la pharmacocinétique de ces particules sont très dépendantes de leur taille. Elles ont donc été classées en trois catégories selon leurs tailles respectives, les MPIO (pour Micrometer-sized Paramagnetic Iron Oxide) de l'ordre du micromètre, les SPIO (pour Super-Paramagnetic Iron Oxide) qui mesurent quelques centaines de nanomètres et les USPIO (pour Ultrasmall Super-Paramagnetic Iron Oxide) qui mesurent moins de 50 nanomètres de diamètre. La durée de circulation dans les vaisseaux sanguins des nanoparticules augmente quand leur taille diminue, elles sont éliminées moins rapidement par les défenses immunitaires. Plus les nanoparticules circulent longtemps plus elles peuvent profiter de l'effet EPR (pour Enhanced Permeation and Retention effect) qui permet aux nanoparticules de s'accumuler sélectivement dans les tumeurs grâce à trois facteurs spécifiques aux tissus cancéreux. En effet, comme les tumeurs sont hypervascularisées, les parois des vaisseaux sanguins sont dégradées et de ce fait perméables aux nanoparticules et enfin elles sont en général mal reliées aux canaux lymphatiques qui permettraient l'élimination des nanoparticules des tumeurs.¹⁷

Les inhomogénéités magnétiques locales créées par les particules déphasent les spins des protons et de ce fait réduisent le temps de relaxation transversale de la molécule d'eau. Cet effet est appelé susceptibilité magnétique (γB_s) et entre dans la formule du temps de relaxation transversale total (T_2^*) (Équation 4).¹⁸

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma B_s$$

Équation 4 : temps de relaxation total T_2^* .

Plusieurs produits de contraste commerciaux à base de nanoparticules de fer existent à l'heure actuelle, par exemple le Resovist[®], le Combixen[®] ou le Feridex[®]. Leurs caractéristiques principales sont résumées dans le tableau suivant (Tableau 3).

Nom commercial	enveloppe	diamètre du cœur	diamètre de la particule	r_2 (mM ⁻¹ .s ⁻¹) à 1,5 T (60 MHz)
Feridex [®]	Dextran	4,96 nm	160 nm	120
Resovist [®]	Carboxydextran	4,00 nm	60 nm	186
Combixen [®]	Dextran	5,85 nm	35 nm	65

Tableau 3 : Caractéristiques d'agents de contraste commerciaux à base de nanoparticules de fer.

Les nanoparticules de fer influent principalement sur le temps de relaxation T_2 , ce qui se traduit par une perte d'intensité sur les images obtenues. Cette perte de signal peut être un inconvénient pour produire des images d'organes où le signal est faible, et une perte de signal en IRM peut être due à d'autres causes biologiques que la présence d'agent de contraste.¹⁹ Pour pallier à cet inconvénient des nanoparticules incorporant du gadolinium ont été décrites.²⁰

II.1.5.4 Agents de contraste "CEST", "PARACEST" et agents intelligents : "smart probes"

Dans ce paragraphe nous allons nous intéresser à une avancée récente dans le domaine de l'IRM, ces molécules sont des exemples d'une nouvelle génération d'agents de contraste qui visent à améliorer la sensibilité de cette technique d'imagerie.

La technique d'imagerie CEST (pour Chemical Exchange Saturation Transfer) utilise la propriété de certains protons à pouvoir s'échanger avec les protons de la molécule d'eau. C'est dans les années 90 que ce phénomène a été utilisé pour produire du contraste en IRM. Pendant une analyse RMN il est possible de diminuer l'intensité d'un signal à un déplacement chimique connu par l'application d'une radio fréquence à la longueur d'onde adéquate, c'est le phénomène de saturation. Si cette saturation s'effectue sur des protons échangeables, il est possible de diminuer aussi l'intensité du signal des protons avec lesquels cet échange a lieu, en IRM, les molécules d'eau. Les agents CEST sont donc des molécules discrètes ou des polymères portant des fonctions avec des protons échangeables comme les amines, amides ou les groupements guanidinium. Pour obtenir une image CEST il faut faire deux acquisitions, la première où un groupe de protons est saturé par une radio fréquence, la seconde sans saturation préalable. La différence entre ces deux acquisitions est l'image CEST où les zones contenant l'agent de contraste sont mises en évidence.

Pour pouvoir saturer les protons de l'agent de contraste sans saturer directement les protons de la molécule d'eau, la différence de déplacement chimique doit être assez importante, de l'ordre de plusieurs ppm.

Ce problème peut être résolu par l'utilisation d'agents de contraste PARACEST (pour PARAMagnetic Chemical Exchange Transfert). Ces agents sont des complexes de lanthanides paramagnétiques, qui induisent un très fort déplacement chimique pour certains groupes de protons, quelques dizaines de ppm. Dans certains cas il est possible que plusieurs groupes de protons, et ainsi plusieurs fréquences, puissent être utilisées pour l'analyse.²¹

Les techniques CEST et PARACEST, apportent de nouvelles possibilités d'analyse par rapport à l'IRM, comme l'étude de plusieurs paramètres biologiques, comme le pH, la température, l'activité d'une enzyme, ou les propriétés redox de structures d'intérêts.²² Un avantage majeur par rapport aux agents de contraste classiques de l'IRM, est la possibilité "d'allumer" ou "d'éteindre" la sonde en appliquant ou non la radio fréquence adéquate.

Les agents intelligents, "smart probes" correspondent à une avancée récente dans le domaine des agents de contraste et proviennent d'un changement du concept d'agent de contraste. La première génération des agents de contraste de l'IRM s'attachait à améliorer le contraste des zones analysées, mais l'étude se limitait à l'anatomie de la zone en question. La sensibilité des agents de contraste activables est influencée par le paramètre biologique à étudier. Pour l'IRM, c'est la relaxivité de l'agent de contraste qui va être améliorée durant l'analyse. Les facteurs principaux qui influencent la relaxivité sont décrits plus avant dans ce manuscrit (§II.1.4).

La stratégie la plus utilisée pour augmenter la relaxivité d'un complexe de gadolinium est l'augmentation du nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination. L'exemple suivant (Figure 6) montre un complexe de gadolinium dont un des bras a été fonctionnalisé par du galactose, qui grâce à son encombrement stérique bloque l'accès de la molécule d'eau au gadolinium. Sous l'action de la β -galactosidase, le bras galactose va être éliminé et libérer l'accès à la molécule d'eau.⁷

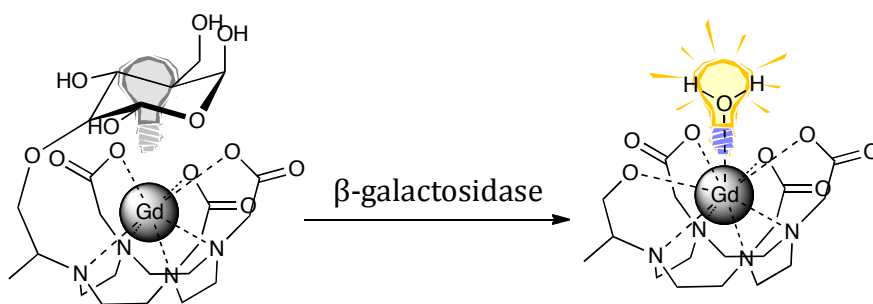


Figure 6 : Agent activable sensible à la β -galactosidase.

D'autres molécules fonctionnent sur la même principe et servent à étudier la répartition de certains cations biologiques, comme le montre l'exemple suivant (Figure 7) où la relaxivité du complexe est augmentée par la présence de Calcium. L'espaceur entre les deux complexes de gadolinium comporte quatre fonctions carboxylates qui, en l'absence de calcium vont venir compléter la sphère de coordination du lanthanide. En présence de calcium les carboxylates de

l'espaceur vont libérer de l'espace dans la sphère de coordination du gadolinium et ainsi augmenter fortement la relaxivité du complexe.²³

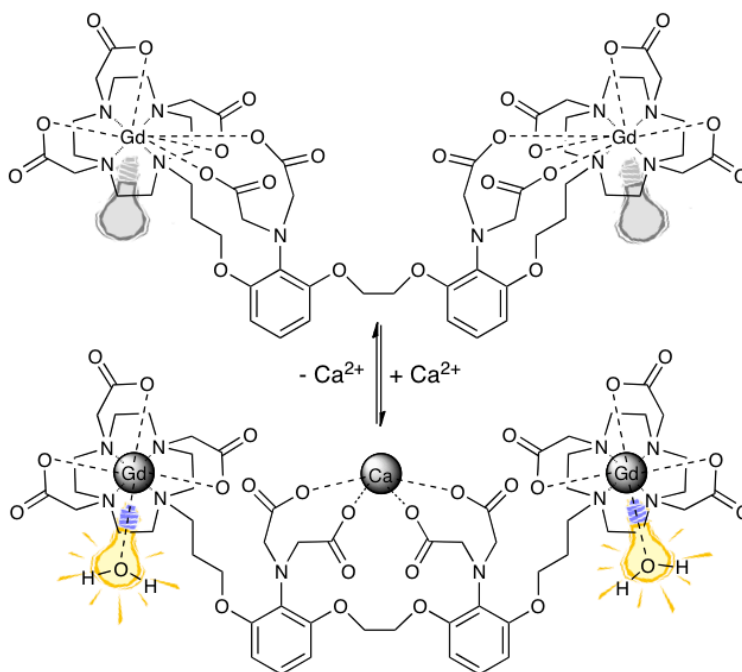


Figure 7 : Agent activable sensible au calcium.

Ces agents de contraste activables présentent de nombreux avantages notamment un rapport signal sur bruit très élevé. Ils ont le potentiel de détecter des dysfonctionnements physiologiques à des stades très précoces des maladies. Bien que de nombreux exemples soient décrits dans la littérature, ces agents de contraste activables correspondent à une avancée récente de l'imagerie moléculaire et à l'heure actuelle peu d'agents intelligents ont été utilisés *in vivo*.

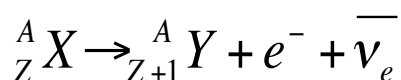
II.2 Les techniques d'imagerie nucléaire

L'imagerie nucléaire est apparue dans les années 70 et repose sur la détection de rayons γ émis par un radiotracer injecté à un patient. Le terme radiotracer désigne ici une molécule ou un assemblage moléculaire dans lequel est incorporé un atome radioactif. Les différentes techniques d'imagerie décrites dans ce paragraphe, la tomographie par émission monophotonique et la tomographie par émission de positrons ont pour caractéristique commune d'être très sensibles. La principale différence entre ces deux techniques d'imagerie est la façon dont sont générés les rayons γ qui vont être détectés par les imageurs.

II.2.1 Les différents modes de décroissance radioactive

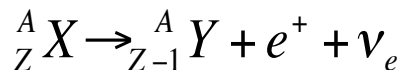
La décroissance radioactive est le retour à un état stable des atomes radioactifs, cette décroissance n'est pas régie par l'environnement ou l'état chimique d'un atome, c'est un phénomène totalement statistique qui suit une exponentielle décroissante. La valeur caractérisant cette décroissance radioactive est la demi-vie d'un élément, c'est le temps qu'il lui faut pour que la moitié des atomes à l'état excité retournent à l'état fondamental.

Selon les éléments considérés il existe plusieurs voies pour le retour à un état stable. L'émission β^- est le résultat de la transformation d'un neutron en proton, avec émission d'un électron e^- et d'un antineutrino électronique $\bar{\nu}_e$ (Équation 5). L'élément fils Y créé durant cette émission n'est pas le même que l'élément père X puisqu'il possède un proton en plus.



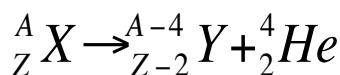
Équation 5 : Equation bilan de l'émission β^- .

L'émission β^+ est le résultat de la transformation d'un proton en neutron, avec émission d'un positron e^+ et d'un neutrino électronique ν_e (Équation 6). L'élément fils Y créé durant cette émission n'est pas le même que l'élément père X puisqu'il possède un proton en moins.



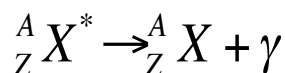
Équation 6 : Equation bilan de l'émission β^+ .

La radioactivité α désigne l'émission d'un noyau d'hélium, composé de deux protons et de deux neutrons (Équation 7). L'élément fils Y créé durant cette émission n'est pas le même que l'élément père X puisqu'il possède deux protons en moins



Équation 7 : Equation bilan de l'émission α .

Pour les éléments émetteurs de rayons γ , plusieurs types de décroissances sont possibles. La transition isomérique est un réarrangement énergétique à l'intérieur du noyau souvent d'un état excité métastable vers un état fondamental avec émission simultanée d'un photon de haute énergie : un rayon γ . Aucune particule ne se transforme durant cette émission, l'atome fils et donc le même élément que l'atome père (Équation 8).



Équation 8 : Equation bilan d'une transition isomérique.

La capture d'électron est un autre type de décroissance radioactive qui se traduit par l'émission d'un photon γ . C'est un électron de cœur qui va être capté par un proton pour former un neutron, l'orbitale électronique déficiente en électron va être comblée par une cascade de transitions électroniques en émettant un ou plusieurs photons γ . Pour certains éléments la capture d'électron peut être en compétition avec l'émission de positron.

Les rayons γ sont de même nature que les rayons X, il y a chevauchement des gammes spectrales entre les rayons γ de faibles énergies et les rayons X de hautes énergies, la seule différence entre les deux rayonnements est leur origine, une transition électronique pour les rayons X et une transition nucléaire pour les rayons γ .

II.2.2 La tomographie par émission monophotonique

La tomographie par émission monophotonique ou SPECT (pour Single Photon Emission Computed Tomographie) fonctionne grâce à des traceurs radioactifs émetteurs de rayons γ qui sont injectés au patient. Des γ caméras qui tournent autour du sujet vont capter les rayons γ et les convertir en données informatiques quantifiables, grâce aux collimateurs, scintillateurs et photomultiplicateurs (Schéma 3). Le collimateur absorbe tous les photons qui ne sont pas émis dans l'axe de la γ caméra, de façon à distinguer clairement deux zones d'émissions différentes. Le scintillateur est un matériau qui sert à transformer les photons γ en photons visibles qui vont être transformés en électrons par le photomultiplicateur, ce signal brut est ensuite traité par informatique pour reconstituer une image.

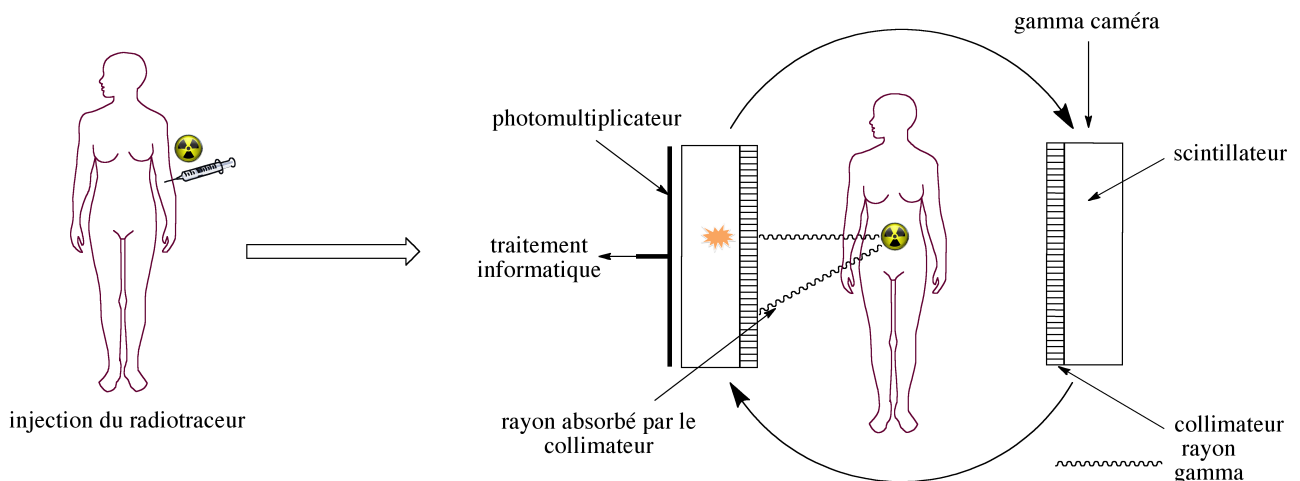


Schéma 3 : Principe de fonctionnement d'un imageur SPECT.

Les imageurs SPECT sont souvent couplés à un scanner d'une part pour apporter la résolution anatomique puisqu'un imageur SPECT seul ne détecte que les photons γ , et d'autre part le scanner, qui utilise des rayons X, permet de mesurer les coefficients d'atténuations des tissus qui sont nécessaires pour le traitement des données brutes fournies par les γ caméras, afin de reconstituer l'image avec la meilleure résolution possible.²⁴ L'atténuation des tissus peut aussi être mesurée par

un autre détecteur γ et une source de rayons γ externe simultanément à l'analyse quand l'appareil est utilisé seul sans scanner.

II.2.3 La tomographie par émission de positrons

La tomographie par émission de positrons ou PET (pour Positron Emission Tomography) fonctionne sur le même principe que la SPECT, puisque l'appareil détecte lui aussi des photons γ . C'est le moyen d'émission des rayons γ qui diffèrent entre les deux techniques d'imagerie.⁴ En imagerie PET, c'est un émetteur β^+ qui est injecté au patient et c'est le positron en se recombinant avec un électron qui va émettre simultanément deux photons γ dans des directions diamétralement opposées et d'énergie équivalente (511 Kev). Du fait de cette détection simultanée il est possible après calcul de connaître avec précision le lieu de l'émission des deux rayons γ . Un imageur PET peut aussi se passer de collimateurs qui font fortement chuter l'intensité du signal reçu par les détecteurs.

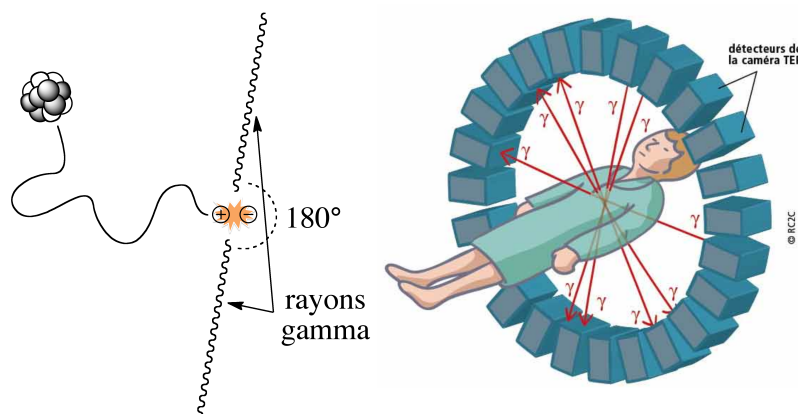


Figure 8 : Emission de deux photons γ à partir d'un élément émetteur β^+ .

Avant de se recombiner avec un électron, le positron est émis avec une certaine énergie cinétique et peut être diffusé ou diffracté par la matière. Il s'éloigne donc obligatoirement du noyau dont il est issu. Ceci pose donc un problème de résolution intrinsèque à la méthode d'analyse. La SPECT et la PET ont des résolutions assez proches, 1 à 2 mm. Cependant le traitement informatique nécessaire à une analyse PET est plus important que pour une analyse SPECT, ce qui rend cette technique plus coûteuse.¹

II.2.4 Les éléments utilisés en imagerie nucléaire

Le choix de l'élément à utiliser en imagerie nucléaire est conditionné par plusieurs critères, physiques et chimiques, à savoir :

- la demi-vie de l'élément
- l'énergie des photons γ émis durant l'analyse
- la méthode de production, la disponibilité et le coût de l'élément
- le nombre d'étapes nécessaire à la synthèse du radiotraceur

La demi-vie de l'élément doit être adaptée à la durée de l'analyse et ne doit pas être trop longue, de manière à éviter l'exposition prolongée à la radioactivité si le produit de contraste n'est pas totalement éliminé après l'analyse. La gamme des énergies des photons γ est de quelques centaines de keV de manière à garder une bonne résolution, tout en étant le moins nuisible possible pour la santé du patient. Certains éléments radioactifs utilisés en imagerie nucléaire sont des produits de désintégration d'autres éléments. Si ces éléments pères peuvent être immobilisés sur des supports solides, comme des résines échangeuses d'ions et que l'élément désiré est facilement séparable de l'élément père, il est possible de fabriquer des générateurs contenant l'élément père qui produit au court du temps l'élément désiré qui est récupéré par élution. Les éléments pour lesquels la fabrication de générateurs n'est pas possible doivent être produits à la demande dans un cyclotron et utilisés dans un délai dépendant de leur demi-vie. La décroissance radioactive d'un élément étant un phénomène purement statistique, il n'existe aucun moyen de ralentir la décroissance radioactive et donc de "stocker" la radioactivité. De ce fait le nombre d'étapes nécessaires à la synthèse du radiotraceur doit être limité au minimum de manière à gagner du temps et à contaminer le moins de matériel possible.²⁵

Pour l'imagerie SPECT, l'élément le plus utilisé est le technétium-99m, puisqu'il est employé dans plus de 80% des analyses. Le technétium-99m est dans un état métastable, c'est à dire un état instable thermodynamiquement mais dont la cinétique est lente. Cet élément a beaucoup d'avantages, il possède une demi-vie relativement courte de 6 h et émet un photon γ à une énergie de 140 keV, ce qui permet d'obtenir une image bien résolue dans des conditions de sécurité acceptables. Le technétium-99m est généralement produit grâce à un générateur $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$. Le molybdène-99 est immobilisé sur de l'alumine il suffit d'éluer avec une solution saline pour récupérer du technétium-99m dans des gammes de concentration de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-7} molaire. Il est donc facile à produire dans n'importe quel lieu pour un coût relativement faible.²⁶ Les autres éléments utilisés en SPECT sont le gallium-67, l'indium-111 ou l'iode-123, leurs caractéristiques sont décrites dans le tableau suivant (Tableau 4).

Elément	demi-vie	énergie des photons γ (keV)	production
^{99m}Tc	6,02 h	141	générateur $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$
^{111}In	2,83 jours	171, 247	cyclotron
^{67}Ga	78,3 h	93, 184, 300, 393	cyclotron
^{123}I	13,2 h	159	cyclotron

Tableau 4 : Exemples d'éléments utilisés en imagerie SPECT.

Pour l'imagerie PET, il est important que l'élément utilisé n'ait pas d'autres décroissances radioactives que l'émission d'un positron. C'est le fluor-18 qui est le plus utilisé, depuis la mise au point de la synthèse du 18-FDG (pour Fluorodéoxyglucose-18). Cet analogue fluoré du glucose va s'accumuler dans les cellules qui consomment du glucose, mais sa métabolisation est bloquée tant que le fluor-18 ne s'est pas transformé en oxygène-18. Le 18-FDG s'accumule donc dans les cellules du cerveau, du foie et les cellules cancéreuses. L'utilisation de ce produit a été une des avancées majeures pour la technique PET.

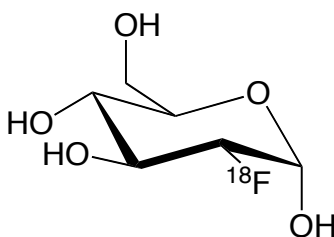


Schéma 4 : Structure du 18-FDG.

D'autres éléments peuvent être utilisés comme le carbone-11, l'azote-13 ou l'oxygène-15. Ils sont cependant moins faciles à manipuler que le ^{18}F , puisqu'ils possèdent des temps de demi-vie plus courts et qu'il faut souvent plusieurs étapes de synthèse ou de purification pour obtenir un radiotraceur contenant ces éléments. Certains métaux sont aussi de bons candidats pour l'imagerie PET, ils présentent un avantage en terme de radiosynthèse par rapport aux éléments présentés précédemment. En effet, un ligand adapté peut être préalablement préparé et seulement la dernière étape de complexation du centre métallique sera une étape impliquant un élément radioactif. De manière non exhaustive on peut citer le cuivre-64, le gallium-68 ou le zirconium-89, leurs propriétés sont rappelées dans la tableau suivant (Tableau 5).

Elément	demi-vie	énergie des positrons (keV)	production
^{11}C	20,4 min	960	cyclotron
^{13}N	10 min	1190	cyclotron
^{15}O	2,1 min	1720	cyclotron
^{18}F	1,83 h	640	cyclotron
^{64}Cu	12,7 h	656	cyclotron
^{68}Ga	1,10 h	1880, 770	générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$
^{89}Zr	78,5 h	897	cyclotron

Tableau 5 : Exemple d'éléments utilisés en imagerie PET.

II.3 Les techniques d'imagerie optique

Le terme imagerie optique regroupe les méthodes qui utilisent les photons du visible ou proche infrarouge pour obtenir des informations structurales ou fonctionnelles sur le sujet de l'étude. L'imagerie optique est largement utilisée depuis les années 80 en biologie dans de nombreuses méthodes de dosages biologiques et d'imagerie *in vitro* ou *ex vivo*. Les techniques d'imagerie optique présentent les avantages d'être très sélectives, très sensibles et faciles à mettre en œuvre. De nouvelles méthodes d'imagerie *in vivo* se développent à l'heure actuelle et permettent d'imager des sujets aussi bien à l'échelle d'un petit animal qu'à celle d'une cellule. De nombreuses techniques comme la tomographie par fluorescence sur petit animal, la microscopie confocale ou la microscopie par fluorescence se sont développées et sont utilisées en biologie et en clinique à l'heure actuelle.²⁷ L'imagerie optique *in vivo* comporte des limitations intrinsèques, les inconvénients majeurs sont la faible pénétration des rayonnements dans les tissus du fait de la diffusion, ainsi que l'auto fluorescence des milieux biologiques. Selon leur longueur d'onde les photons n'interagissent pas de la même façon avec le milieu biologique, une « fenêtre d'imagerie » peut ainsi être définie en considérant l'absorption des composants principaux des tissus vivants, par exemple l'eau, l'hémoglobine ou la mélanine. Cette plage de longueur d'onde où les tissus absorbent le moins est située entre 650 nm et 1450 nm (Figure 9).²⁸

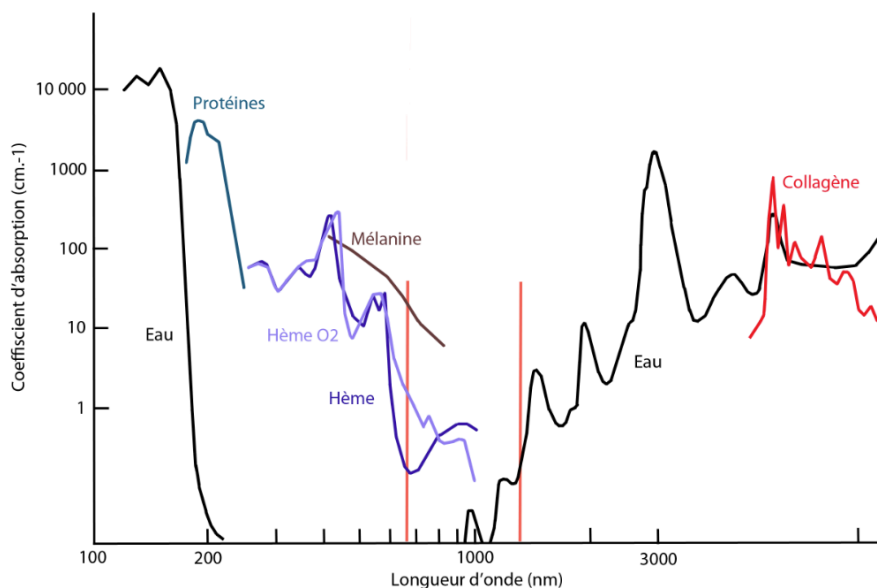


Figure 9 : Absorption de différents tissus en fonction de la longueur d'onde. D'après la revue de Pansare *et al.*²⁸

II.3.1 Caractéristiques photophysiques d'un fluorophore

Les différentes techniques d'imagerie optique, qui utilisent des fluorophores comme moyen de détection, reposent sur le même principe physique, à savoir la capacité qu'ont certaines molécules d'absorber des photons à une certaine longueur d'onde et à en réémettre à une longueur d'onde plus élevée : la fluorescence ou la phosphorescence. Les différents états excités ou fondamentaux par lesquels passent les fluorophores ainsi que les événements qui permettent ces transitions sont représentés dans le diagramme de Jablonski (Figure 10), du nom du physicien polonais qui proposa ce diagramme dans les années 30.²⁹

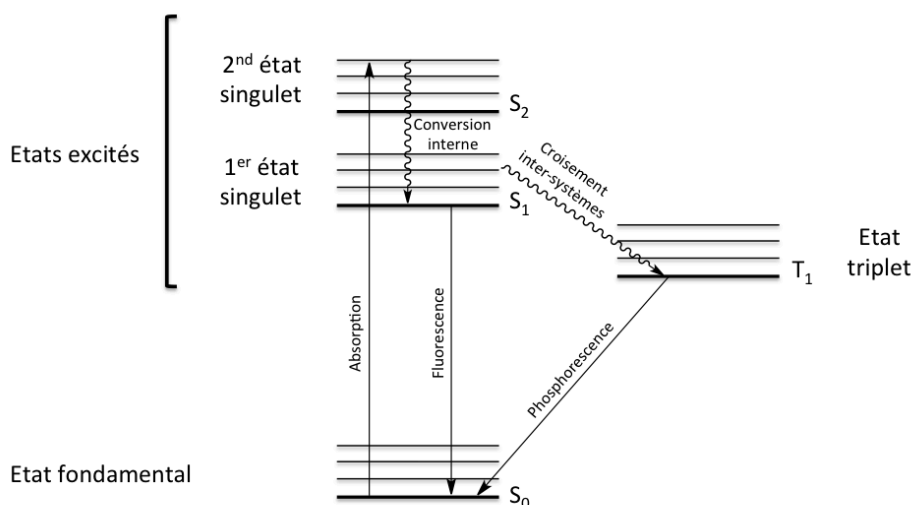


Figure 10 : Diagramme de Jablonski.²⁹

Il est important de noter la différence fondamentale qu'il existe entre la fluorescence et la phosphorescence. Les deux phénomènes débutent par l'absorption d'un photon, le fluorophore passe d'un état fondamental à un état excité singulet. Des phénomènes de désexcitation non radiative de la molécule vers le milieu, regroupés sous le terme conversion interne vont avoir lieu. Le fluorophore atteint son état singulet excité le plus bas en énergie S_1 . C'est le passage de l'état S_1 à l'état S_0 , qui se produit avec l'émission d'un photon qui est appelé fluorescence. La phosphorescence implique un changement d'état de spin, généralement du premier état singulet excité S_1 vers l'état triplet T_1 par un croisement inter-systèmes. C'est le passage de l'état T_1 à l'état S_0 , qui se produit avec l'émission d'un photon qui est appelé phosphorescence. Les changements d'état de spin sont interdits par la physique quantique, l'état triplet de certaines molécules a de ce fait une très longue durée de vie en comparaison des transitions autorisés, jusqu'à la seconde pour la phosphorescence, 10^{-15} s pour l'absorption, 10^{-12} s pour la conversion interne et 10^{-8} s pour la fluorescence.

Du fait du nombre important de niveaux excités rotationnels et vibrationnels et de la conversion interne, l'émission en fluorescence s'effectue toujours à une longueur d'onde plus élevée que l'absorption, cet écart entre les maximums d'absorption et d'émission est appelé déplacement de Stokes (Figure 11). Il est important que ce déplacement ne soit pas trop faible afin que les photons émis ne puissent pas être réabsorbés par le fluorophore lui même.

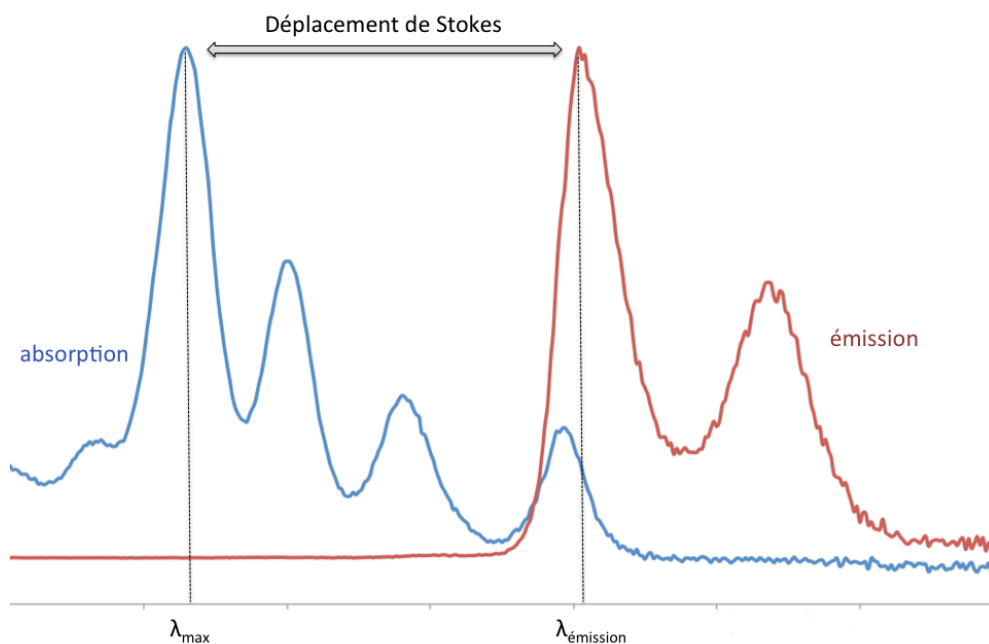


Figure 11 : Exemple d'un déplacement de Stokes pour une porphyrine.

Une autre caractéristique importante est le rendement quantique de fluorescence ou de phosphorescence, suivant le phénomène mis en jeu. Cette valeur sans unité traduit l'efficacité du fluorophore, c'est globalement le nombre de photons émis par une molécule divisé par le nombre de photons absorbés. La brillance permet de comparer les fluorophores entre eux, puisqu'elle est le produit du coefficient d'extinction molaire et du rendement quantique.³⁰ La durée de vie de l'état excité est aussi une propriété importante puisque certaines analyses peuvent s'effectuer en temps

résolu, ce qui permet de sélectionner le fluorophore à imager si sa durée de vie est relativement différente de celle des autres fluorophores présents dans le milieu. La stabilité chimique et la stabilité photochimique sont aussi à prendre en compte pour l'imagerie.

II.3.2 Exemples de fluorophores utilisés en imagerie optique

Il existe une grande variété de fluorophores organiques utilisés en biologie et répertoriés dans des revues récentes.^{28, 30} Les exemples présentés dans ce paragraphe sont les dérivés les plus courants et les seuls composés organiques qui sont autorisés pour une utilisation en clinique à l'heure actuelle.³¹ Les fluorophores organiques sont des dérivés aromatiques fortement conjugués à base de cycles benzéniques et de différents hétérocycles.

La fluorescéine est très utilisée à l'heure actuelle en recherche dans plusieurs domaines comme la biochimie, la biologie ou la médecine (Schéma 5). Ce fluorophore est connu depuis la fin du XIX^{ème} siècle puisqu'il a été synthétisé pour la première fois par Baeyer en 1871. Cette molécule, très soluble dans l'eau existe sous plusieurs formes protonées ou neutres qui dépendent du pH. De nombreux dérivés de la fluorescéine ont été synthétisés pour modifier ses propriétés de fluorescence, de photostabilité, de basicité, de sensibilité au pH ou encore pour la greffer à diverses molécules afin de l'utiliser dans des tests biologiques.

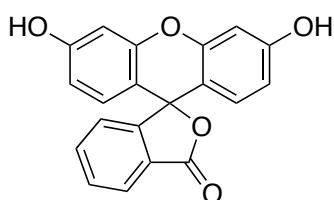


Schéma 5 : Structure de la fluorescéine.

Un autre exemple de molécules aux propriétés intéressantes pour l'imagerie optique est la famille des cyanines et plus particulièrement l'indocyanine verte (Schéma 6). En effet, l'indocyanine verte est à l'heure actuelle la seule molécule organique ayant des propriétés d'absorption et d'émission dans le proche infrarouge (λ_{ABS} : 775 nm, λ_{EM} : 831 nm) à être autorisée par la FDA (pour Food and Drug Administration, aux Etats-Unis) pour des tests sur des patients humains.²⁸

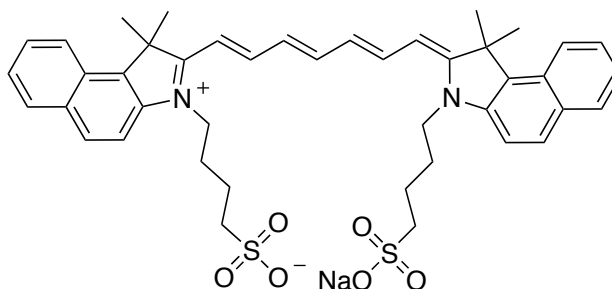


Schéma 6 : Structure de l'indocyanine verte.

Les dérivés de la famille des cyanines sont hydrosolubles et ont des coefficients d'absorption élevés (environ $200\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), mais souffrent de rendements quantiques plutôt faibles (1-18%). Il est possible de déplacer fortement les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission vers le proche infrarouge en augmentant la taille du pont polyméthène entre les deux hétérocycles. De nombreux dérivés de ces molécules ont été synthétisés pour améliorer les propriétés photophysiques de ces systèmes, pour les fonctionnaliser et les vectoriser.³²

III. Agents de contraste multimodaux

Les techniques d'imageries détaillées dans le paragraphe précédent sont très performantes et correspondent toutes à de grandes avancées technologiques dans le domaine. Cependant toutes ces techniques souffrent de points faibles ou de limitations intrinsèques, la sensibilité pour l'IRM, la profondeur d'analyse pour l'imagerie optique ou encore l'absence d'images anatomiques, l'utilisation de rayons ionisants ou la résolution pour l'imagerie nucléaire (Tableau 6).

Technique	IRM	Imagerie nucléaire		Imagerie optique
		PET	SPECT	
Rayons ionisants	Non	Oui	Oui	Non
Profondeurs d'analyse	Pas de limite	Pas de limite	Pas de limite	1-2 cm
Sensibilité	mM	μM - pM	μM - pM	μM - pM
Résolution	100 μm	1 mm	1 mm	2 mm

Tableau 6 : Récapitulatif des caractéristiques des différentes techniques d'imagerie.

Une nouvelle approche pour améliorer les systèmes existants est de coupler plusieurs techniques d'imagerie afin de pouvoir obtenir, après reconstruction informatique, des images superposées en cumulant les points forts de chaque technique et de s'affranchir de leurs points faibles respectifs. Ce concept porte le nom d'imagerie multimodale, plusieurs approches sont possibles pour obtenir le maximum d'informations lors d'un seul examen :

- Détecter plusieurs signaux grâce à plusieurs techniques d'imagerie (association PET/CT par exemple).
- Détecter des signaux de longueurs d'onde différentes grâce à une seule technique (Imagerie multicolore en imagerie optique par exemple).
- Détecter un signal sur un seul appareil mais en retirer plusieurs informations grâce à plusieurs séquences différentes (expériences en T_1 et en T_2 pour l'IRM par exemple).

Les agents de contraste utilisés en clinique qui représentent la première génération des agents de contraste, voient leur efficacité limitée intrinsèquement par plusieurs paramètres. En effet, ils ne sont détectables que par une seule technique d'imagerie et ainsi ne permettent d'analyser qu'un seul paramètre à la fois. Dans le cas où plusieurs informations en terme de précision anatomique ou de comportement physiologique sont nécessaires il faut utiliser plusieurs agents de contraste sur plusieurs appareils. Les agents de contraste de première génération émettent un signal en continu ce qui réduit leur efficacité dans le cas où ils ciblent spécifiquement certaines structures biologiques puisqu'une molécule qui aura atteint sa cible sera détectée de la même manière qu'une molécule ne l'ayant pas encore rejoint ou l'ayant déjà quitté ce qui réduit considérablement le contraste. Les objectifs pour les agents de contraste de deuxième génération sont donc :

- L'amélioration du rapport signal sur bruit, en maximisant l'intensité du signal dans la zone ciblée, en diminuant l'intensité du bruit de fond, ou les deux à la fois. Pour ceci il est nécessaire de développer de nouveaux agents vectorisés biologiquement ou de rendre ces agents activables.
- Le développement de nouveaux agents qui peuvent être détectés par plusieurs imageurs et ainsi donner accès en un seul examen à plusieurs types de données : les agents multimodaux.

III.1 Imagerie multimodale à l'heure actuelle

A l'heure actuelle l'imagerie multimodale est encore une discipline naissante. En effet, seule la tomographie par émission de positrons associée au scanner rayons X est courante en clinique. Les protocoles établis à l'heure actuelle sont en majorité basés sur l'utilisation du Fluorodéoxyglucose-18 qui va s'accumuler dans les tissus ayant une consommation de glucose anormalement élevée et fournir ainsi une information métabolique. La partie scanner de l'appareil est en charge de fournir une image anatomique précise, afin de pouvoir situer après superposition des deux images, les zones qui présentent des activités métaboliques anormales.

Les examens sur ce type d'appareil couramment appelés PET-scan s'effectuent en un seul examen, les deux détecteurs étant présents sur le même appareil.

III.2 Exemples d'agents de contraste multimodaux

Les techniques d'imagerie médicale utilisées en clinique à l'heure actuelle utilisent des agents de contraste spécifiques qui sont performants dans leur domaine d'application. (§ II) Les enjeux pour le développement de nouvelles sondes sont de les rendre détectables par plusieurs imageurs différents. Ceci peut en effet limiter l'emploi de plusieurs produits de contraste, mais surtout

garantit la même biodistribution de l'agent de contraste et permet d'imager les mêmes structures biologiques.

Dans les paragraphes suivants nous détaillerons quelques exemples de la littérature de structures élaborées dans le but d'associer plusieurs techniques d'imagerie.

III.2.1 Association de l'imagerie nucléaire et de l'imagerie optique

Les sondes multimodales conçues pour l'imagerie nucléaire et l'imagerie optique sont des outils de choix, du fait de la sensibilité des deux techniques, pour cibler des processus physiologiques, l'expression d'enzymes ou encore pour cibler des tumeurs.²

Dans ce type d'agents de contraste le traceur radioactif permet de déterminer la biodistribution de la molécule dans l'organisme. Le traceur optique qui nécessite une infrastructure et un équipement beaucoup moins lourd peut être visualisé en temps réel durant une intervention chirurgicale ou endoscopique par exemple.

Cette approche permettrait dans le cas idéal d'injecter un produit de contraste à un patient, ce produit s'accumulerait spécifiquement dans les tissus ciblés. Ces zones seraient détectées avec précision par une technique d'imagerie nucléaire et dans un laps de temps très court après l'acquisition de l'image, un chirurgien assisté d'un détecteur optique pourrait enlever toute la zone marquée par l'agent de contraste optique.

L'équipe de Van Leeuwen a récemment décrit la synthèse d'une molécule (Schéma 7) couplant un dérivé du DTPA qui a été utilisé pour chélater de l'indium-111 pour la SPECT, avec un fluorophore de la famille des cyanines, les deux traceurs étant vectorisés par un polypeptide cyclique, l'Ac-TZ14011.³³

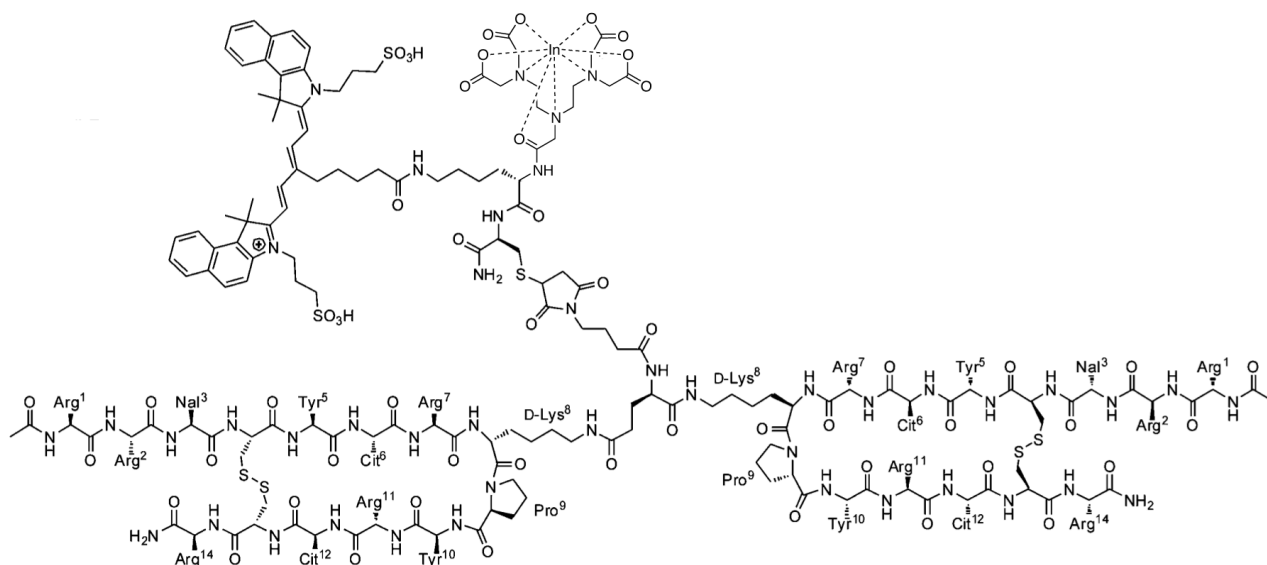


Schéma 7 : Structure du dimère (Ac-TZ14011)₂-MSAP. D'après la publication de Van Leeuwen *et al.*³³

L'enjeu de ce type de traceur vectorisé biologiquement est de garder la sélectivité et une bonne affinité du vecteur, ici le polypeptide, pour sa cible, dans ce cas les récepteurs à chemokine 4 qui sont surexprimés sur beaucoup de cellules cancéreuses. En effet, les agents de contraste sont des molécules dont la taille n'est pas négligeable et ils auront un effet sur la biodistribution de la molécule finale. Dans cette étude le groupe de Van Leeuwen a synthétisé plusieurs molécules comprenant un, deux ou quatre motifs polypeptidiques. C'est dans le cas du dimère que la sélectivité et l'affinité du vecteur pour sa cible sont les meilleures et que la molécule a moins d'influence sur la viabilité des cellules.

L'équipe de Sevick-Muraca³⁴ a décrit en 2010 la fonctionnalisation d'un anticorps, le trastuzumab, qui se lie avec les récepteurs HER-2 qui sont surexprimés sur certaines lignées de cellules cancéreuses ainsi que sur leurs métastases. Cet anticorps a été marqué par un chélateur du cuivre-64, un dérivé du DOTA commercial et par un fluorophore commercial l'IRDye® 800CW (Schéma 8).

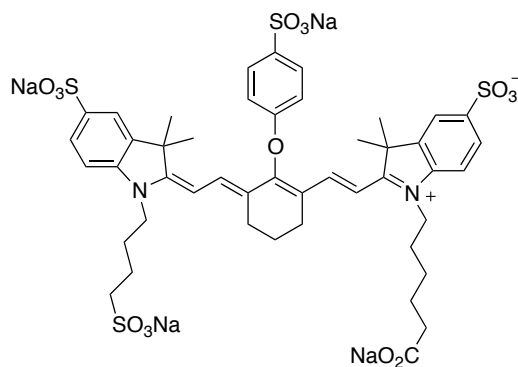


Schéma 8 : Structure de l'IRDye® 800CW.

L'anticorps marqué par en moyenne deux complexes de ⁶⁴Cu et deux molécules d'IRDye® 800CW a été injecté en intraveineuse à des souris porteuses de tumeurs de cancer du sein hautement métastatiques et son efficacité a été comparée à celle du 18-FDG. Le nouvel agent de contraste multimodal est aussi efficace que le 18-FDG pour cibler la tumeur mais est beaucoup plus sensible pour détecter les métastases.

En 2008, l'équipe de Chen a décrit l'étude de l'efficacité d'un assemblage d'un dérivé du DOTA complexant du cuivre-64 sur une nanoparticule semi-conductrice fluorescente à base de cadmium et de sélénium, un "quantum dot" commercial. Cet assemblage est fonctionnalisé par une protéine, la VEGF (pour Vascular Endothelial Growth Factor). Les récepteurs cellulaires de cette protéine, responsables de la croissance des vaisseaux sanguins, sont surexprimés dans les tumeurs qui, du fait de leur croissance non contrôlée, ont besoin d'un accroissement constant des vaisseaux sanguins les irriguant. Le système décrit est donc vectorisé par la VEGF et marqué par le cuivre-64 et par le "quantum dot" qui fluoresce à 703 nm. Le vecteur employé montre une bonne affinité pour sa cible, ce système présente quelques inconvénients notamment l'emploi de métaux lourds dans la nanoparticule qui peuvent se révéler toxiques s'ils ne sont pas entièrement éliminés de l'organisme.³⁵

De nombreux autres exemples sont disponibles dans la littérature, notamment les BODIPY associés à des complexes de métaux pour l'imagerie nucléaire décrits par une équipe de notre institut.³⁶ Des chélateurs de type DOTA ont été associés avec des dérivés de cyanines par l'équipe de Coogan.³⁷ L'équipe de Pandey³⁸ a marqué à l'iode-124 un dérivé de la chlorophylle-a, cette structure a des applications en imagerie mais aussi pour le traitement du cancer par thérapie photodynamique, qui sera détaillée plus loin dans ce manuscrit. (§V.3.3)

III.2.2 Association de l'imagerie optique et de l'IRM

Les avantages d'associer l'IRM à l'imagerie optique sont : la résolution très élevée de l'IRM et la sensibilité de l'imagerie optique. La combinaison de ces deux techniques peut conduire à des applications très diverses, allant de la chirurgie assistée à la validation ou au suivi de l'efficacité d'un traitement.³⁹ La différence de sensibilité entre les deux techniques, d'un facteur 1000 environ, est un des enjeux de la conception de ce type d'agents de contraste.

Pour remédier à ce problème l'équipe de Lukeš⁴⁰ a synthétisé en 2010 un dendrimère avec pour base une β -cyclodextrine fonctionnalisée par des complexes de gadolinium chélatés par un dérivé du DOTA pour le contraste en IRM et portant aussi des groupements fonctionnalisés par de la fluorescéine pour l'imagerie optique. En moyenne leur édifice contient 6,9 complexes de gadolinium et 0,1 fluorescéine par β -cyclodextrine (Schéma 9).

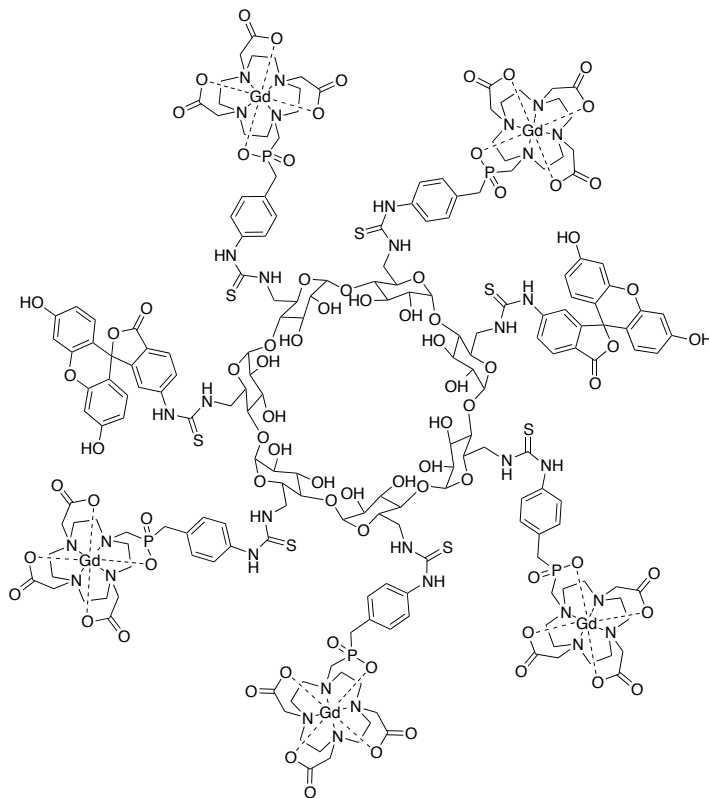


Schéma 9 : Structure d'une cyclodextrine fonctionnalisée par des complexes de gadolinium et de la fluorescéine. D'après l'article de Lukeš *et al.*⁴⁰

Les études réalisées sur ces systèmes montrent qu'ils possèdent des caractéristiques intéressantes pour l'IRM. En effet, la relaxivité des systèmes est de $22 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ à 20 MHz et à 25°C . Des études de cytotoxicité ont aussi été entreprises et les résultats montrent une absence de toxicité de ces édifices.

En 2011, l'équipe d'Engelmann⁴¹ a mis au point un agent bimodal ciblant une enzyme la β -galactosidase. Leur stratégie est de permettre aux molécules détectables d'être internalisées et accumulées dans des cellules exprimant l'enzyme β -galactosidase grâce à un fragment polypeptidique terminé par un galactose (Schéma 10). Le sucre est d'autre part fonctionnalisé par un complexe de gadolinium et une fluorescéine. Les molécules fragmentées par l'enzyme dans certaines cellules sont donc retenues et s'accumulent dans ces cellules tandis que les autres molécules qui ne rencontrent pas l'enzyme sont éliminées de l'organisme.

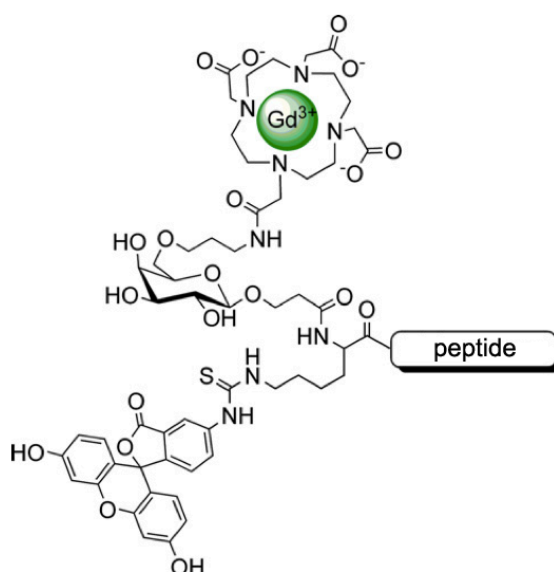


Schéma 10 : Structure d'un peptide fonctionnalisé grâce à un lien galactose consommable par la β -galactosidase portant un complexe de gadolinium et une fluorescéine. Tiré de l'article de Engelmann *et al.*⁴¹

Les tests *in vitro* ont été effectués sur des cellules exprimant la β -galactosidase et des cellules où l'enzyme n'est pas exprimée. Les auteurs signalent une accumulation préférentielle dans les cellules exprimant l'enzyme, mais ont noté une internalisation non négligeable dans les cellules n'exprimant pas la β -galactosidase. Ils ont néanmoins pu prouver que le concept de détection de l'activité d'une enzyme par deux méthodes, l'IRM et l'imagerie optique était possible.

Une autre approche pour compenser le manque de sensibilité de l'IRM vis à vis de l'imagerie optique est l'utilisation de nanoparticules. Ces entités présentent les avantages de pouvoir transporter une grande quantité de principe actif sur une seule particule, elles peuvent aussi selon leur taille tirer profit de l'effet EPR (§ II.1.5.3) et leur fonctionnalisation peut elle aussi influencer sur la biodistribution par l'incorporation de divers vecteurs biologiques. De nombreux exemples de nanoparticules avec des applications dans le domaine de l'imagerie multimodale IRM/optique sont regroupés dans plusieurs revues récentes.^{2-3, 17b} Le principal inconvénient de l'emploi de

nanoparticules de fer pour l'IRM est qu'elles sont responsables d'une atténuation de signal. Cette baisse de l'intensité est dans certains cas plus difficile à mettre en évidence qu'une augmentation de l'intensité du signal. Pour pallier à cet inconvénient des nanoparticules de silice incorporant du gadolinium et divers lanthanides luminescents ont récemment été décrites.⁴²

III.2.3 Association de l'imagerie nucléaire et de l'IRM

Les techniques d'imagerie nucléaire, en particulier la PET, sont très sensibles et particulièrement adaptées pour l'étude des mécanismes biologiques, si l'expérimentateur dispose des agents de contraste adéquats. Après les avancées et le succès du couplage de la PET et du scanner, l'évolution logique est de coupler les techniques d'imagerie nucléaire avec l'IRM. La très bonne résolution anatomique de l'IRM et l'utilisation d'ondes magnétiques non-ionisantes sont des avantages, qui additionnés à la sensibilité de la PET, font que cette association semble très prometteuse. Les imageurs réalisant les deux analyses à l'échelle du corps humain sont encore rares et beaucoup de modèles à l'heure actuelle sont composés des deux détecteurs séparés qui utilisent le même lit qui se déplace d'un appareil à l'autre (Figure 12).

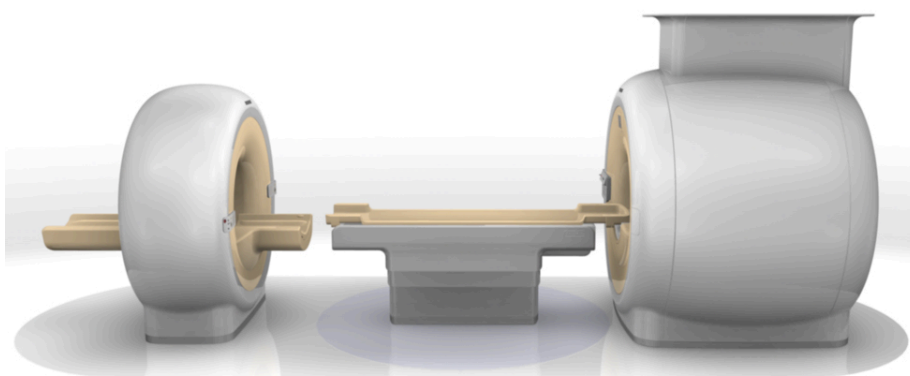


Figure 12 : Schéma d'un imageur PET/IRM.

La difficulté de l'incorporation d'un insert PET dans une machine IRM est d'ordre technologique puisqu'il est impératif d'empêcher les interférences mutuelles, en effet, l'IRM nécessite l'emploi de forts champs magnétiques et de radiofréquences qui perturbent les détecteurs PET et cette dernière déstabilise et rend inhomogène le champ magnétique, ce qui perturbe l'analyse IRM. Récemment la société Siemens a développé et mis sur le marché un appareil corps entier, couplant les deux techniques d'imagerie. Des études sont en cours à l'heure actuelle pour découvrir et évaluer les possibilités apportées par ce nouvel outil.⁴³



Figure 13 : Schéma de l'appareil IRM/PET intégré corps entier développé par Siemens.

Récemment l'équipe de Caravan⁴⁴ a décrit l'utilisation d'un agent de contraste déjà utilisé pour l'IRM, en le fonctionnalisant par deux centres métalliques le gadolinium et le cuivre-64. La molécule utilisée porte le nom de EP-2104R, il s'agit d'un peptide composé de six acides aminés qui sont fonctionnalisés par quatre complexes de gadolinium dans un macrocycle dérivé du DOTA (Schéma 11). Cet agent de contraste cible sélectivement la fibrine présente principalement dans les caillots sanguins responsables des occlusions artérielles, des infarctus, des embolies ou des accidents vasculaires cérébraux.

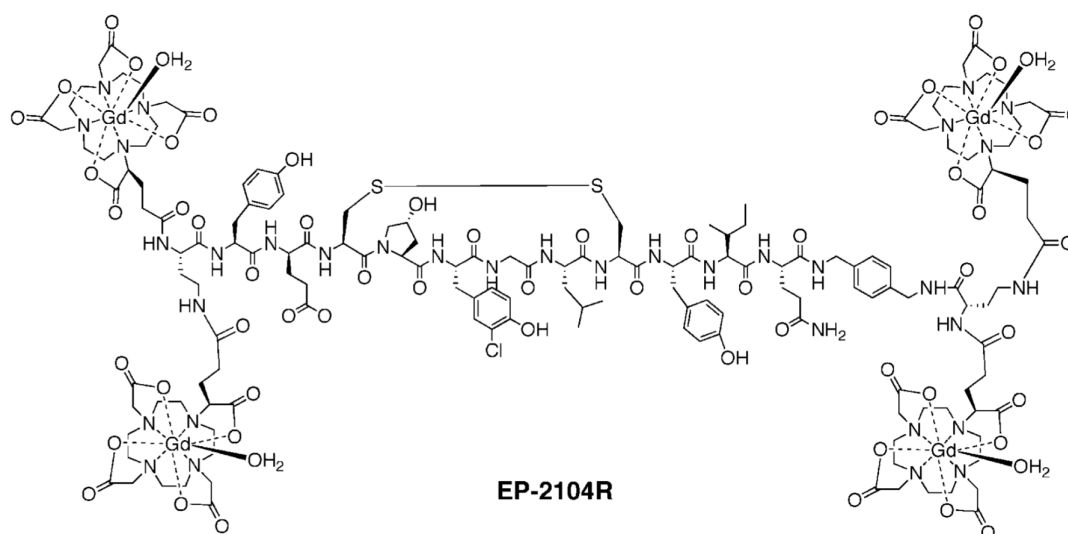


Schéma 11 : Structure de l'EP-2104R.

En remplaçant une partie, environ 5% d'après les études HPLC, des atomes de gadolinium de la molécule par des atomes de cuivre-64 cet agent de contraste devient bimodal. Les images et études *in-vivo* menées montrent une bonne efficacité de l'agent de contraste en terme de sélectivité et de contraste pour les deux techniques l'IRM et la PET.⁴⁵

L'équipe de Scolastico⁴⁶ a récemment décrit plusieurs molécules à base d'un peptide synthétique, le DB58 mimant une séquence naturelle d'acides aminés : Arginine-Glycine-acide aspartique (Schéma 12). Ce peptide sert de vecteur pour la molécule puisqu'il présente une forte

affinité, sous sa forme contrainte ici par un azabicycloalcane, pour l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ qui est surexprimée sur les cellules des néovaisseaux qui irriguent les tumeurs.

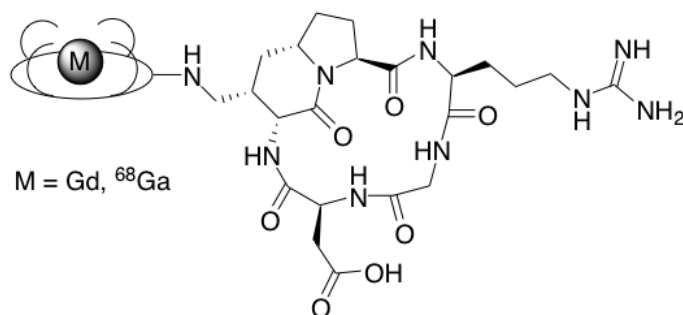


Schéma 12 : Structure du peptide biomimétique DB58 fonctionnalisé. D'après l'article de Scolastico *et al.*⁴⁶

Ce polypeptide cyclique a été fonctionnalisé par plusieurs macrocycles, afin de complexer une grande variété de métaux utiles pour l'imagerie. Les résultats les plus prometteurs en termes de sensibilité pour l'IRM et de stabilité du complexe formé avec les métaux radioactifs utilisés pour la PET, ont été obtenus en fonctionnalisant le polypeptide par un macrocycle dérivé de l'AAZTA (Schéma 13) complexant du gallium-68 ou du gadolinium.

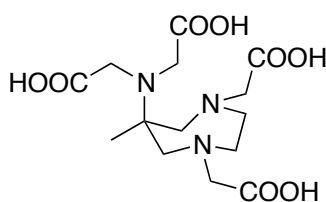


Schéma 13 : Structure d'un macrocycle AAZTA (acide 6-amino-6-méthylperhydro-1,4-diazépinetétracétique).

En 2010 l'équipe de Caravan⁴⁷ a synthétisé un agent de contraste sensible au pH des tissus. La mesure du pH dans les tissus biologiques par une méthode non invasive est une mesure utile pour la détection de certaines maladies ou le suivi de l'évolution d'un traitement. L'agent de contraste employé est un complexe de gadolinium dérivé du DOTA marqué au fluor-18 grâce à une réaction de chimie "click" (Schéma 14).

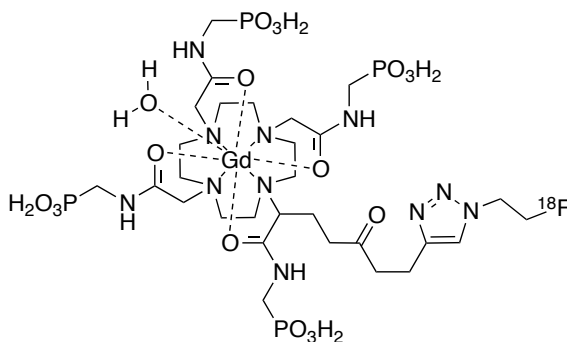


Schéma 14 : Structure d'un complexe de gadolinium sensible au pH, marqué au fluor-18. D'après l'article de Caravan *et al.*⁴⁷

La mesure du pH par l'IRM existait déjà, le protocole nécessitait cependant l'enregistrement de deux images avec deux complexes de gadolinium différents, en estimant que leur répartition était équivalente et en considérant les variations d'intensité entre les deux images comme la variation du pH dans les tissus. En effet, c'est la relaxivité du système qui est modifiée par un changement de pH, mais cette valeur varie aussi avec la concentration de gadolinium. Pour une mesure fiable il faut donc évaluer la concentration en agent de contraste dans les tissus à analyser. L'introduction d'un atome de fluor-18 sur la molécule permet de doser la concentration en agent de contraste avec une précision de l'ordre de la millimole. De plus le développement d'insert PET adapté dans un imageur IRM permet de mesurer simultanément la concentration et la relaxivité.⁴⁷

Plusieurs équipes ont envisagé d'utiliser des nanoparticules comme agent de contraste de l'imagerie IRM/PET. Des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (SPION) ont été fonctionnalisées par des macrocycles azotés adaptés pour complexer du cuivre-64.⁴⁸ Des nanoparticules à base de gadolinium recouvertes d'une couche de silice ont été ensuite marquées par de l'indium-111 par l'équipe de Billotey.⁴⁹ Des nanoparticules de fer dopées au manganèse ont été fonctionnalisées par de la tyrosine, un atome d'iode-124 a ensuite été substitué sur ce groupement tyrosine par l'équipe de Cheon.⁵⁰

IV. Le projet d'imagerie médicale à Dijon

Depuis plusieurs années, la volonté de développer un pôle d'imagerie médicale de pointe à Dijon s'est traduite par la mise en place de plusieurs projets regroupant des partenaires publics et privés. Tout d'abord par la création du GIE (Groupement d'Intérêt Economique) Pharmimage[®] qui associe plusieurs entreprises privées à des laboratoires publics dont l'ICMUB. Le GIE Pharmimage[®] est un projet transversal axé sur la mise au point de traceurs et la détermination de biomarqueurs capables de permettre le suivi de l'efficacité des traitements et la sélection de molécules plus actives. En parallèle l'ICMUB est fortement impliqué, au même titre que le conseil régional de Bourgogne et le CNRS, dans la convention 3MIM (pour Marquage de Molécules par les Métaux pour l'Imagerie Médicale) qui a pour but de développer des agents chélatants destinés à une utilisation en imagerie médicale. Récemment, le projet d'Equipex IMAPPI (pour Integrated Magnetic resonance And Positron emission tomography in Preclinical Imaging) a été retenu et sera développé à Dijon. Ce projet se base sur la collaboration des équipes de recherches et de la société Bioscan et a pour but d'implanter un prototype d'IRM-TEP petit animal à Dijon. L'ICMUB intervient dans ce projet au niveau de la synthèse de molécules complexantes des métaux d'intérêt pour l'imagerie.

V. Les complexes métalliques et la chimie des ligands.

Comme nous l'avons vu dans les différents exemples du paragraphe précédent (§III.2), de nombreux agents de contraste sont constitués de complexes métalliques. En effet, les caractéristiques de certains métaux comme le gadolinium et son fort paramagnétisme sont à la base des agents de contraste performants pour l'IRM par exemple.

Pour l'imagerie nucléaire des éléments autres que des radiométaux sont fréquemment utilisés comme le fluor-18, l'oxygène-15 ou le carbone-11. Les agents de contraste développés en majorité jusqu'à présent sont de petite taille et de faible durée de vie biologique, ils sont donc bien adaptés à l'utilisation de noyaux radioactifs qui possèdent une faible durée de demi-vie, qui sont peu encombrants stériquement et n'influencent pas fortement les caractéristiques de biodistribution de la molécule marquée. Malgré les avancées amenées par les petites molécules comme le 18-FDG, ces agents de contraste souffrent de quelques inconvénients liés à la courte demi-vie des éléments utilisés. Ils permettent d'imager uniquement des processus biologiques rapides de l'ordre de la minute jusqu'à quelques heures grâce à des vecteurs à faible durée de vie biologique. L'isotope radioactif doit être incorporé par une réaction chimique sur la molécule vectrice ce qui peut poser des problèmes d'ordre synthétique, enfin l'utilisation d'isotope à faible durée de vie implique que la production d'éléments radioactifs par un cyclotron doit être locale du fait des temps de transport forcément limités.⁵¹ L'utilisation d'autres vecteurs comme des peptides, des anticorps ou des fragments d'anticorps qui ne sont pas forcément compatibles avec les méthodes chimiques utilisées pour le marquage implique le développement d'une autre stratégie de marquage. L'emploi des métaux radioactifs représente une alternative viable qui nécessite l'insertion d'un chélateur sur le vecteur biologique.

Le fait de vouloir injecter un métal dans un organisme n'est pas anodin puisque la majorité des métaux sont toxiques à des doses relativement faibles. Il faut donc rendre ces métaux inertes vis-à-vis du milieu biologique, en utilisant un ligand organique qui va emprisonner fortement le métal qui ne pourra pas être libéré dans le milieu biologique et ne sera plus toxique. Il faut prêter une attention toute particulière à la stabilité thermodynamique et cinétique du complexe formé et ainsi éviter les phénomènes de transmétallation, de transchélation ou d'oxydo-réduction qui peuvent mener au relargage du métal.

Dans ce paragraphe nous allons nous intéresser aux ligands organiques qui sont utilisés à l'heure actuelle ainsi qu'à ceux qui pourraient l'être pour de futurs agents de contraste.

V.1 Les macrocycles organiques

Les macrocycles sont une catégorie de molécules cycliques généralement composées d'une répétition de sous-unités. A la différence des polymères, la structure d'un macrocycle est toujours finie et identique pour toutes les molécules.

Les macrocycles organiques se divisent en plusieurs familles (Schéma 15), les cyclodextrines qui sont un assemblage de sucres, les éthers couronnes et les cryptands sont composés de fonctions éther et sont respectivement des macrocycles et des polymacrocycles, les calixarènes ont pour unité de base des phénols et les annulènes qui sont des hydrocarbures cycliques aromatiques.

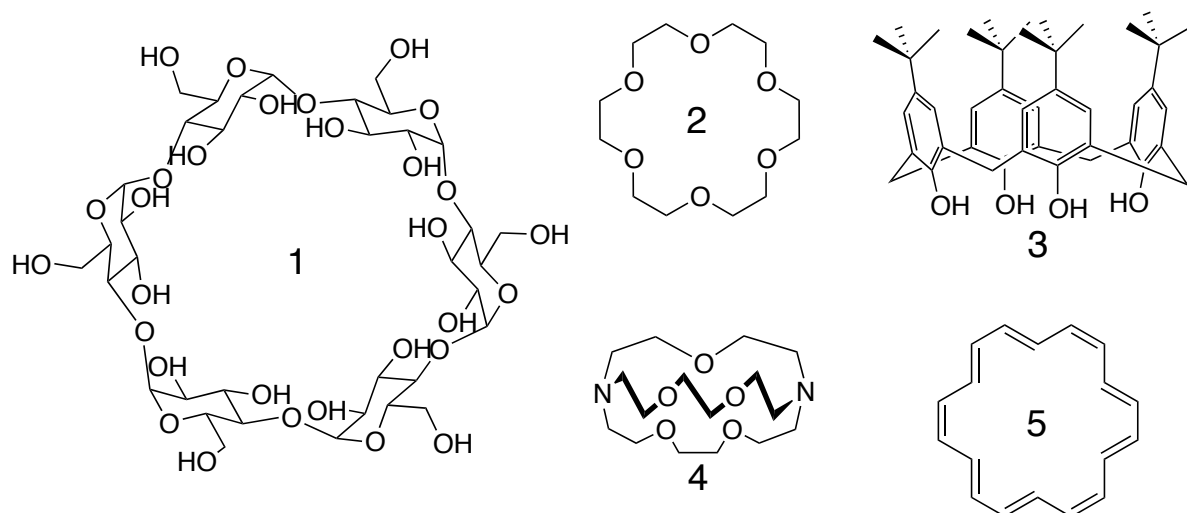


Schéma 15 : Exemples des différentes familles de macrocycles. 1) Cyclodextrines, 2) Ethers couronne, 3) Calixarènes, 4) Cryptands, 5) Annulènes.

Du fait de leur géométrie cyclique les macrocycles possèdent une certaine rigidité qui en font des briques élémentaires de choix pour la chimie supramoléculaire. Ils comportent aussi une cavité dont la géométrie, la taille et l'accessibilité dépendent du type de macrocycle considéré. Cette cavité peut accueillir une molécule organique ou inorganique, de ce fait les macrocycles sont des molécules très utilisées dans la chimie hôte-invité. Les macrocycles trouvent des applications dans des domaines très différents comme le transport de principes actifs, le piégeage de composés, la complexation de centres métalliques et peuvent être utilisés pour augmenter la solubilité de certains substrats ou trouvent des applications en catalyse.

Les macrocycles se différencient des ligands monodentates par le fait qu'ils incorporent plusieurs atomes ou fonctions coordinantes sur la même molécule. Les ligands polydentates linéaires forment ainsi des complexes métalliques plus stables que les ligands monodentates, cet effet est appelé effet chélate. Les macrocycles polydentates forment des complexes plus stables que les chélates linéaires, cet effet est appelé l'effet macrocyclique. Enfin les cryptands forment les complexes plus stables du fait de la préorganisation du ligand qui forme une cage autour du centre métallique. (Schéma 16).

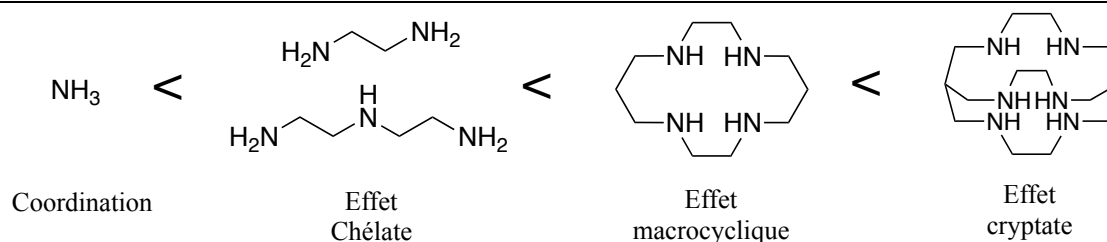


Schéma 16 : Augmentation de la stabilité des complexes formés avec l'augmentation de la préorganisation et des contraintes de symétrie sur le ligand. D'après la revue de Busch.⁵²

De manière générale le gain de stabilité d'un complexe peut être relié au degré de préorganisation du ligand, plus celui-ci sera contraint dans une symétrie très adaptée pour le métal en question, plus le complexe sera stable. L'effet associé est souvent lié à la cinétique de complexation qui peut être plus longue dans le cas de ligands très rigides.⁵²

Prenons pour exemple la constante de la formation de complexes de cuivre (II) avec trois ligands différents, l'acide iminodiacétique, le DTPA et le DOTA. La constante thermodynamique de formation du complexe augmente avec le nombre de fonctions chélatantes sur le ligand ainsi qu'avec le degré de préorganisation du ligand (Tableau 7).

Ligand	Acide iminodiacétique	DTPA	DOTA
Log K (Cu^{2+}) (M + L)	10,6	21,5	22,3

Tableau 7 : Constantes de complexation du cuivre (II) avec l'acide iminodiacétique, le DTPA et le DOTA. D'après la revue de Popov *et. al.*⁵³

Les macrocycles azotés peuvent être divisés en deux familles celle des cycles saturés avec comme exemple le cyclène et le cyclame, et celle des macrocycles aromatiques azotés comme par exemple les porphyrines ou les phtalocyanines. Dans le prochain paragraphe nous allons nous intéresser plus particulièrement à ces deux familles de macrocycles azotés saturés et insaturés.

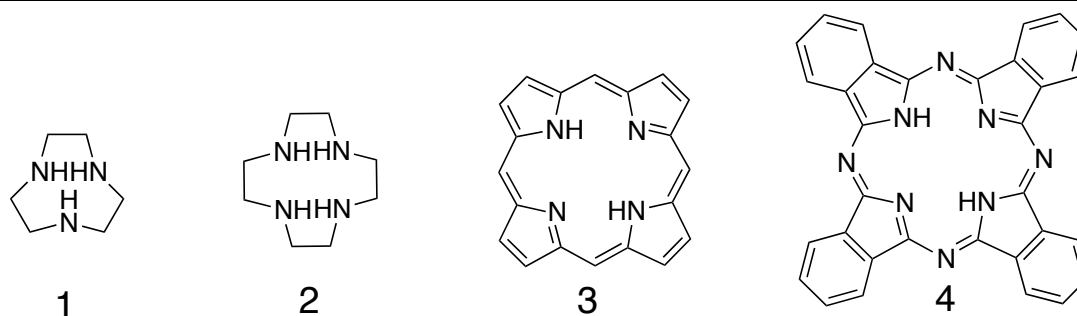


Schéma 17 : Exemples de macrocycles azotés 1) 1,4,7-Triazacyclononane, 2) 1,4,7,10-Tétraazacyclododécane, 3) Porphyrine, 4) Phtalocyanine.

V.2 Les ligands polyaminocarboxyliques

Les ligands azotés saturés dont il est question dans ce paragraphe sont des aminoacides cycliques ou linéaires qui ont pour propriété principale de former des complexes très stables et solubles avec quasiment tous les ions métalliques connus. Les fortes valeurs de constantes de stabilité sont dues au cumul de plusieurs effets, la basicité des fonctions amines, les charges négatives des groupements carboxylates, la formations de plusieurs cycles à cinq chaînons avec le centre métallique et le caractère préorganisé et flexible des ligands qui s'adaptent ainsi à la taille du métal.⁵³ Les anions polyaminocarboxylates ont des applications dans de nombreux domaines notamment pour la régulation de la concentration des métaux. La production annuelle d'EDTA et des autres ligands polyaminocarboxyliques est de l'ordre du millier de tonnes. En effet, leurs utilisations sont multiples dans des domaines comme les détergents, le textile, les solutions de développement photographique, les procédés de galvanisation ou la polymérisation.

Ces ligands ont trouvé des applications en médecine et en biologie. Depuis les années 40 et le développement de la fission nucléaire, ils se sont révélés être de bons décontaminants pour les organismes pollués par des métaux lourds ou des éléments radioactifs. Ils sont également très utilisés dans le domaine de l'imagerie médicale comme le montre les exemples cités dans ce manuscrit.

V.2.1 Les agents bifonctionnels chélatants

La nécessité de créer des agents de contraste sensibles qui permettent d'obtenir des images avec un bon rapport signal sur bruit ou qui ciblent un phénomène biologique particulier implique l'utilisation de vecteurs biologiques. Pour marquer une molécule plusieurs méthodes sont possibles, le marquage direct par substitution d'un atome de la molécule par un atome radioactif par exemple, cette méthode ne s'applique pas pour toutes les molécules du fait des conditions de radiomarquage qui ne sont pas compatibles avec tous les vecteurs biologiques et se limite aux agents de contraste de l'imagerie nucléaire. De manière plus générale l'utilisation d'un agent bifonctionnel chélatant

donne accès à un très grand nombre de combinaisons possibles entre les métaux utilisés en imagerie et les vecteurs.

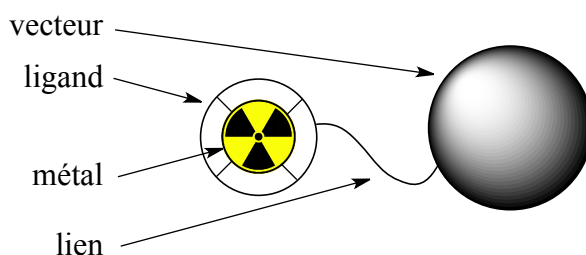


Figure 14 : Structure d'un agent de contraste vectorisé biologiquement

Un agent de contraste vectorisé se compose de quatre parties auxquelles il faut porter une attention particulière lors de son élaboration. Le vecteur va déterminer quelle structure ou phénomène biologique est ciblé par le produit de contraste. L'agent bifonctionnel regroupe le lien et le ligand, c'est généralement un ligand dont la structure a été modifiée pour lui apporter une fonction de greffage qui va créer une liaison covalente entre le vecteur et le ligand. Le métal incorporé dans le ligand est bien entendu choisi en fonction du type d'imagerie visée.²⁶

Les points importants dans l'élaboration d'un agent de contraste vectorisé sont la conservation de la stabilité du complexe pour éviter tout relargage de métal en milieu biologique et la conservation de l'efficacité et de la sélectivité du vecteur employé. En effet, la modification de la structure du vecteur par un complexe organométallique peut complètement modifier la pharmacocinétique du vecteur notamment si ce dernier est de taille proche de celle du complexe. La modification du ligand par l'incorporation d'une fonction de greffage ne doit pas se faire au détriment de la stabilité des complexes.

Les fonctions chimiques qui sont introduites sur les ligands sont choisies de manière à pouvoir réagir facilement avec les fonctions présentes sur les vecteurs envisagés, qui sont souvent des structures composées de protéines ou d'acides aminés. Les stratégies les plus utilisées sont de créer des liaisons avec les amines primaires ou les fonctions thiols présentes sur certains acides aminés. Les fonctions utilisées le plus fréquemment sont donc des acides carboxyliques et leurs dérivés activés, les anhydrides, les maléimides, la fonction isocyanate ou isothiocyanate qui vont former respectivement des liaisons urées et thiourées avec les amines primaires. D'autres combinaisons sont bien sûr possibles mais moins courantes dans la littérature (Figure 15).⁵⁴

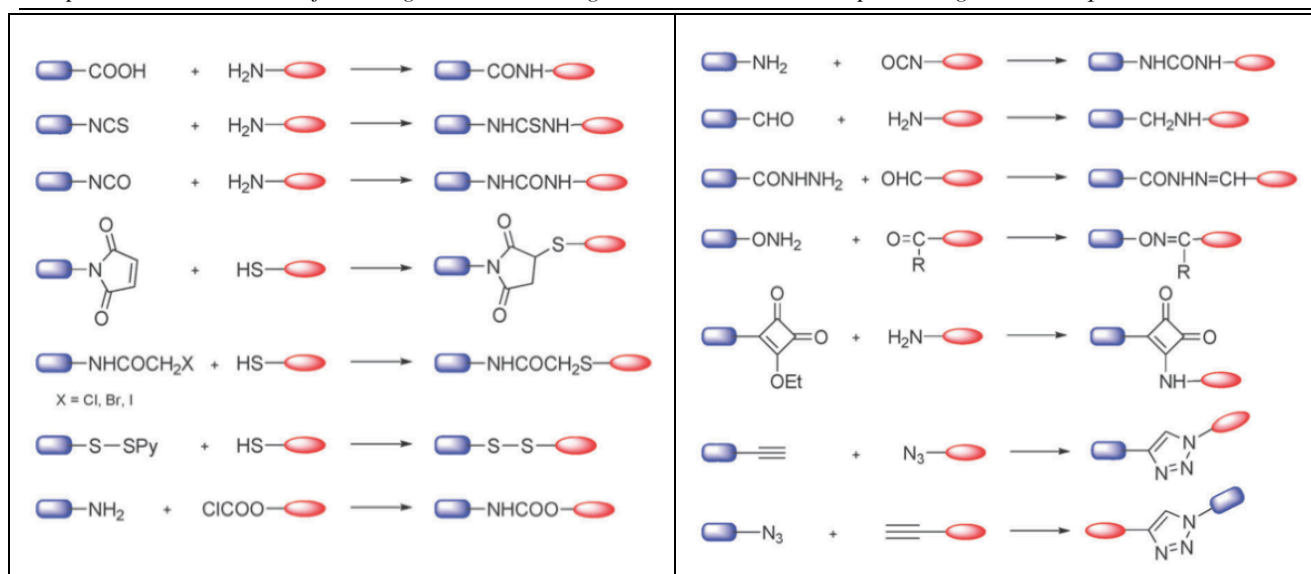


Figure 15 : Exemples de liaisons utilisés pour des agents bifonctionnel chélatants. D'après la revue de Tei *et al.*⁵⁴

V.2.2 Les chélates linéaires

Le composé polyaminocarboxylique linéaire le plus utilisé en imagerie est le DTPA. Le sigle DTPA est l'abréviation du nom IUPAC de la molécule à savoir diéthylènetriamine pentaacétate (Schéma 18). La première synthèse de ce composé fut décrite en 1956 par l'équipe de Frost, il s'agissait de la réaction de la diéthylènetriamine et du formaldéhyde en présence de cyanure de sodium.⁵⁵

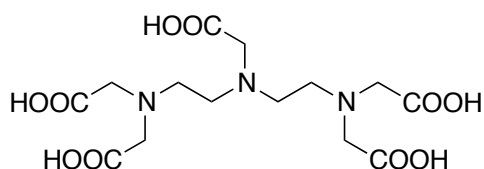


Schéma 18 : Structure du DTPA

Le complexe de gadolinium du DTPA est le premier produit autorisé pour l'utilisation en clinique comme agent de contraste de l'IRM. Ce produit de contraste porte le nom de Magnevist® et est toujours utilisé à l'heure actuelle. Grâce à la grande variété de métaux que ce ligand peut complexer, il a aussi été utilisé comme agent de contraste de l'imagerie nucléaire en formant des complexes avec l'indium-111, le technétium-99m ou le gallium-67/68. Dans les années 90, l'équipe de Lamberts a développé l'Octreoscan® qui est un octréotide radiomarké à l'indium-111 complexé par un dérivé du DTPA.⁵⁶ Le lien entre le DTPA et l'octréotide est en fait un des bras acide carboxylique du DTPA qui a été utilisé pour créer une liaison amide.

L'un des premiers exemples d'agent bifonctionnel chélatant à base de DTPA a été décrit par l'équipe de Colcher (Schéma 19).⁵⁷

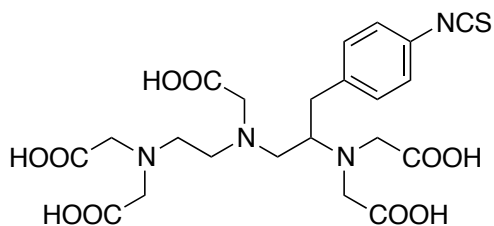


Schéma 19 : Structure d'un agent bifonctionnel chélatant dérivé du DTPA. D'après l'article de Colcher *et al.*⁵⁷

Ce dérivé incorpore une fonction benzylisothiocyanate sur un des ponts éthylène de la molécule. Cette fonction va permettre de former une liaison thio-urée en réagissant avec les amine primaire (Figure 15) de certains acides aminés, principalement les résidus lysine. Une grande avancée dans le domaine du DTPA fonctionnalisé a été apportée par Williams et Rapoport en 1993.⁵⁸ La stratégie utilisée est rapide avec de bons rendements avec comme produit de départ des acides aminés commerciaux.

Les dérivés linéaires présentent pour la majorité des métaux des cinétiques de complexation très rapides dans des conditions de réaction très douces. Cet avantage certain se traduit aussi de manière logique par des cinétiques de décomplexation relativement rapides qui peuvent parfois poser problème en cas de relargage de métal dans l'organisme étudié.

V.2.3 Les macrocycles

L'utilisation des ligands polyaminocarboxyliques macrocycliques vient du fait qu'ils possèdent des propriétés de complexation et de stabilité excellentes vis-à-vis d'une large gamme de cations métalliques de degré d'oxydation +II ou +III. Ils apportent surtout une très grande amélioration par rapport aux ligands polyaminocarboxyliques linéaires au niveau de la cinétique de formation et de dissociation des complexes. En effet, d'un point de vue cinétique les complexes à ligand macrocyclique sont quasiment inertes dans les conditions physiologiques, ce qui les rend très peu sensibles aux réactions de transmétallation vis-à-vis des métaux endogènes comme le zinc (II) ou le calcium (II). Cette propriété est très importante notamment pour les agents de contraste de l'IRM qui sont injectés à des concentrations élevées.⁵⁹

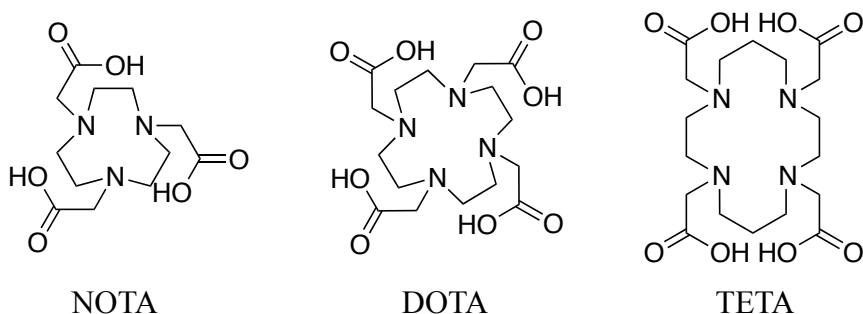


Schéma 20 : Structure des ligands polyaminocarboxyliques macrocycliques les plus courants

Il existe une grande diversité de ligands polyaminocarboxyliques macrocycliques, dans ce paragraphe nous nous intéresserons aux structures les plus courantes, les dérivés du NOTA, du DOTA et du TETA.

Depuis leurs premières méthodes de synthèse dans les années 80, les travaux sur les synthèses et les fonctionnalisations de ces dérivés macrocycliques ont été nombreux. Les stratégies pour synthétiser des agents bifonctionnels chélatants à partir des macrocycles de départ sont au nombre de trois. L'utilisation d'une des fonctions acide carboxylique pour créer une liaison amide et apporter une autre fonction sur la molécule est la seule méthode qui ne nécessite pas de changer la voie de synthèse du macrocycle de départ. Cependant la sphère de coordination du métal ne sera pas la même puisqu'une fonction acide carboxylique est transformée en amide, ce qui induit une baisse de la stabilité thermodynamique du complexe. Les deux autres solutions consistent à introduire des fonctions supplémentaires sur le squelette carboné de la molécule, soit sur les atomes de carbone du cycle, on parle de C-fonctionnalisation, ou sur les atomes de carbone des bras acétates, on parle de N-fonctionnalisation. De cette manière le ligand conserve ses quatre fonctions acide carboxylique disponibles pour la complexation du centre métallique.

V.2.3.1 Le NOTA (1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacétate)

Le NOTA est le plus petit macrocycle de la famille des ligands polyaminocarboxyliques, c'est un des dérivés du TACN, le triazacyclononane. La synthèse du NOTA a été décrite pour la première fois par l'équipe de Takamoto en 1977.⁶⁰ Depuis, beaucoup de méthodes de synthèse de NOTA fonctionnalisés ont vu le jour.⁵⁴ La fonctionnalisation directe du NOTA en transformant un des bras acide en liaison amide est relativement récente et pose des problèmes de synthèse et de stabilité des complexes.

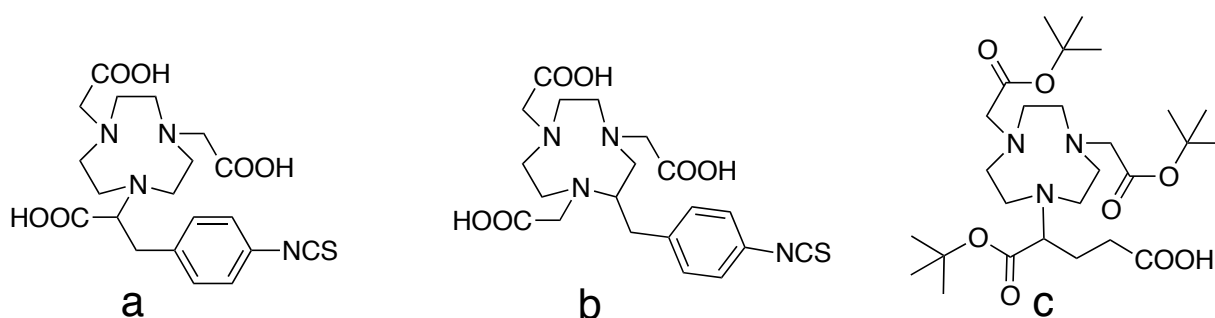


Schéma 21 : Exemples d'agent bifonctionnels chélatants à base de NOTA.

D'après la revue de Tei *et al.*⁵⁴

Des agents bifonctionnels chélatants à base de NOTA ont été développés en utilisant les méthodes de N- et C-fonctionnalisation en apportant diverses fonctions au ligand sans modifier la sphère de coordination du métal.⁶¹ Du fait de sa petite taille et de la présence de six fonctions coordinantes le NOTA complexe de manière plus forte les métaux comme le gallium ou l'indium. Le complexe formé entre le gallium et le NOTA est plus stable que celui avec le DOTA et la

formation du complexe peut se faire dans des conditions plus douces.⁶² L'équipe de Mäcke⁶³ a développé un NOTA *N*-fonctionnalisé par une fonction acide carboxylique, les bras chélatants étant protégés par des esters *tert*-butyliques (Schéma 21 (C)). Il est possible de mettre en jeu ce précurseur dans des synthèses peptidiques sur support solide. Ce précurseur a été couplé à un octréotide et la molécule a été marquée à l'indium-111 ou au gallium-68.

V.2.3.2 Le TETA (1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane-1,4,8,11-tétraacétate)

Le TETA est un ligand polyaminocarboxylique très similaire au DOTA, en effet, seule la taille du cycle diffère entre les deux macrocycles, ce qui implique des propriétés de complexation différentes. Ceci permet d'élargir la gamme des métaux stabilisés par les ligands polyaminocarboxyliques. La première méthode de synthèse du TETA a été décrite en 1981 par l'équipe de Stetter.⁶⁴ Dans la littérature il existe de nombreux exemples d'agents bifonctionnels chélatants à base de TETA.^{51, 54}

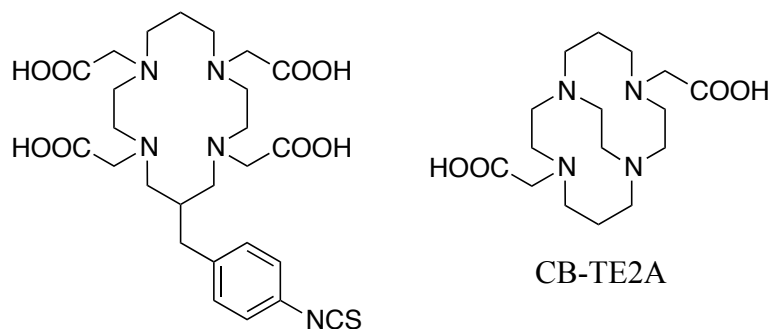


Schéma 22 : Structures de TETA fonctionnalisé et du TE2A. D'après la revue de Zeglis et Lewis.⁵¹

Plus récemment un bismacrocycle dérivé du TETA a été développé, il s'agit du CB-TE2A (pour "Cross-Bridged" 4,11-acide diacétique-1,4,8,11-tétraazabicyclo[6,6,2]hexadécane) (Schéma 22). Ce macrocycle comporte six fonctions chélatantes et sa structure est fortement rigidifiée par la présence du pont éthylène entre deux azotes du cycle. Cette structure plus contrainte semble plus adaptée à la stabilisation du cuivre en milieu biologique.⁶⁵

V.2.3.3 Le DOTA (1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétate)

La synthèse du DOTA a été décrite pour la première fois par Stetter et Franck en 1976,⁶⁶ depuis il est devenu l'un des macrocycles les plus utilisés du fait de la stabilité des complexes qu'il forme avec beaucoup de centres métalliques et notamment avec les lanthanides. En effet, les complexes du DOTA ont en commun une très bonne stabilité thermodynamique et cinétique.⁶⁷ Cette stabilité remarquable est due au fait que le DOTA est un ligand octadentate, macrocyclique et flexible, ce qui lui permet de s'adapter à la taille du métal qu'il complexe et de conserver en permanence et

quelle que soit la conformation du ligand un grand nombre de fonctions chélatantes à proximité du centre métallique.

La fonctionnalisation directe en transformant une des fonctions acide en amide modifie la sphère de coordination du métal. La stabilité thermodynamique diminue de deux ou trois ordres de grandeur pour la majorité des métaux, néanmoins cette modification n'influe pas sur la stabilité cinétique des complexes.⁸ Cependant cette méthode de fonctionnalisation directe du DOTA comporte plusieurs inconvénients. En effet, il est impossible de totalement empêcher l'activation de plusieurs fonctions acide et les esters activés employés pour former les liaisons amide sont tous sensibles à l'hydrolyse ce qui peut nuire au rendement du couplage.

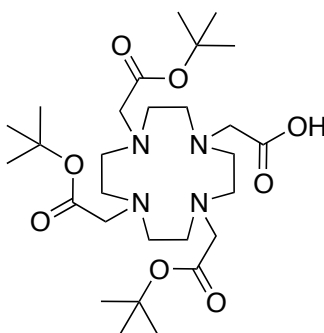


Schéma 23 : Structure du DOTA-tris-tBu

Une amélioration de la voie de synthèse pour obtenir le dérivé DOTA-tris-tBu a été développée en 1999 par l'équipe de Hennig.⁶⁸ Cette voie de synthèse avec pour produit de départ le cyclène se compose d'une série de protections déprotections mettant en jeu des esters *tert*-butyliques et un ester benzylique ce qui permet de déprotéger sélectivement une fonction acide carboxylique. Cette méthode de synthèse utilisant des esters *tert*-butyliques rend ce dérivé du DOTA soluble en milieu organique (Schéma 23). De ce fait, leur utilisation devient possible pour des synthèses organiques classiques ou pour de la synthèse peptidique sur support solide.⁶⁸ Un autre intermédiaire intéressant pour apporter une fonctionnalisation par une liaison amide est le DO3AtBu, qui comporte une amine secondaire sur le cycle qui peut facilement être substituée par une molécule comportant une fonction halogénoacétamide (Schéma 24). Le seul inconvénient de l'utilisation des ester *tert*-butyliques est la déprotection qui implique un traitement acide qui est relativement long et qui peut être incompatible avec certaines molécules.

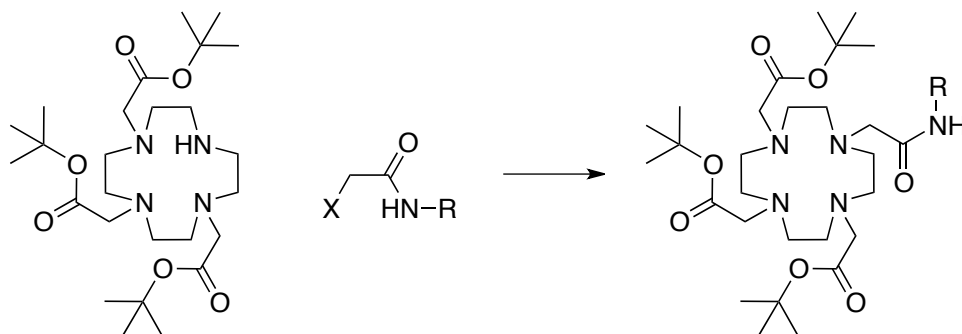


Schéma 24 : Exemple de substitution du DO3AtBu.

De nombreux dérivés C- et N-fonctionnalisés ont été développés pour former divers agents bifonctionnels chélatants en faisant varier les fonctions de greffage compatibles avec les fonctions chimiques présentes sur les vecteurs biologiques (Figure 15). Ces différents produits sont disponibles sous forme protégée ou non de façon à pouvoir être utilisés aussi bien en milieu organique qu'en milieu aqueux (Schéma 25). La plupart des agents bifonctionnels chélatants sont à l'heure actuelle commercialisés par plusieurs sociétés, dont la société Chematech® à Dijon.

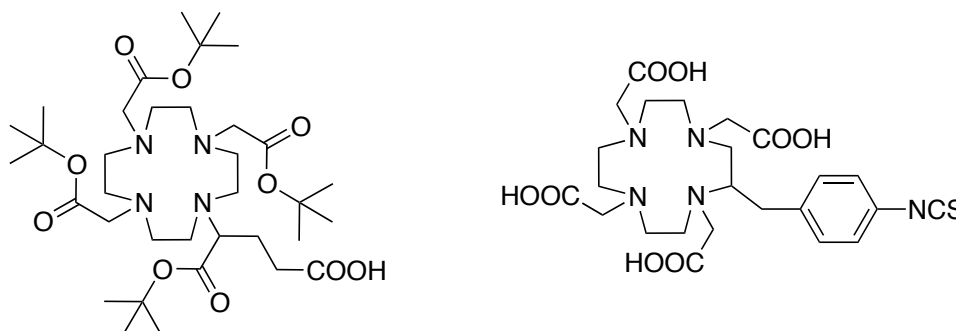


Schéma 25 : Exemples d'agents bifonctionnels chélatants dérivés du DOTA.^{54,69}

V.3 Les porphyrines

La synthèse de tétraazamacrocycles azotés est l'un des domaines de recherche de l'ICMUB, nous allons présenter dans ce paragraphe un autre domaine de recherche de notre laboratoire, la synthèse des porphyrines.

Les porphyrines font partie de la famille des macrocycles azotés aromatiques. La coloration intense de ces macrocycles est à l'origine de leur nom porphyrine (du grec *porphyra*) qui signifie pourpre. La découverte des porphyrines remonte au milieu du XIX^{ème} siècle avec les études de Verdeil qui a suggéré une relation structurale entre les pigments de la chlorophylle et de l'hème, après avoir transformé le pigment vert de la chlorophylle en pigment rouge. La structure exacte de la porphyrine a été décrite par Fisher au début du XX^{ème} siècle.⁷⁰ Les dérivés porphyriniques comportent tous une structure cyclique composée de quatre entités pyrroliques reliées entre elles par des ponts méthènes. La structure la plus simple de cette famille de molécule est appelée porphine (Schéma 26).

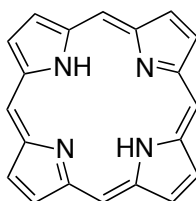


Schéma 26 : Structure de la porphine.

La structure même de la porphyrine, son caractère de ligand macrocyclique tétradendate qui lui permet de complexer une large variété de métaux et sa forte absorption des photons du spectre

visible du fait de l'aromaticité de la molécule, lui confèrent des capacités dont la nature a très largement tiré partie. En effet, les porphyrines sont des intermédiaires clés de plusieurs processus naturels fondamentaux et complémentaires, la photosynthèse chez les végétaux et la respiration chez de nombreuses espèces animales.

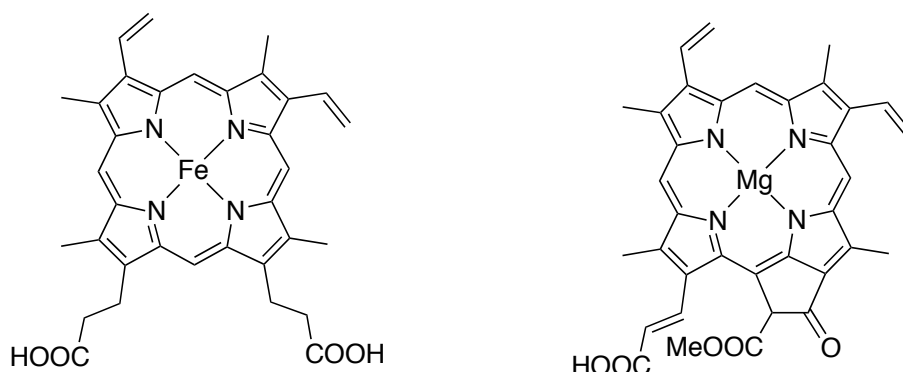


Schéma 27 : Structures du site actif de l'hémoglobine et de la chlorophylle c2.

L'hémoglobine est la protéine responsable du transport de l'oxygène, le site actif de la molécule est une porphyrine de Fer. La chlorophylle est en charge de collecter l'énergie lumineuse pour la transformer en énergie chimique, il existe plusieurs types de chlorophylles avec un site actif à base de porphyrines de magnésium.

V.3.1 Structure, nomenclature et propriétés

Les cycles porphyriniques non substitués ont une structure plane du fait de l'aromaticité du cycle. En effet, une porphyrine comporte 11 liaisons doubles carbone-carbone, 22 électrons π , dont 18 participent à l'aromaticité du cycle, conformément à la règle de Hückel ($4n+2$, ici $n = 4$). Les doubles liaisons qui ne participent pas à l'aromaticité du cycle peuvent être réduites et forment ainsi deux dérivés porphyriniques, les chlorines à 20 électrons π dont 18 aromatiques et les bactériochlorines à 18 électrons π .

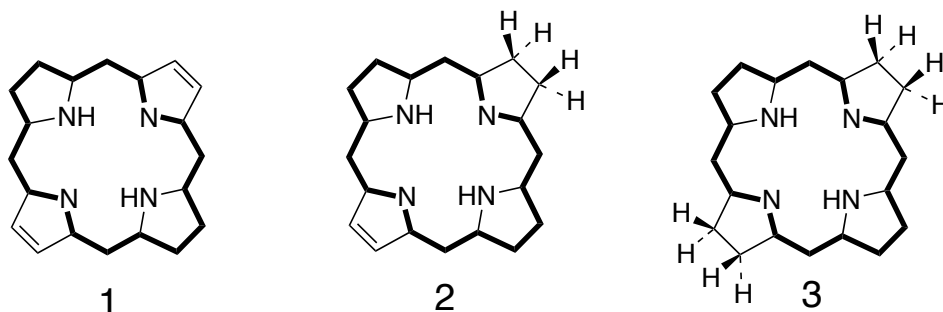


Schéma 28 : Représentation de la délocalisation des électrons aromatiques pour une porphyrine (1), une chlorine (2) et une bactériochlorine (3).

La nomenclature des porphyrines a évolué au cours du temps. Jusque dans les années 30, le système de nomenclature de Fisher utilisait un grand nombre de noms triviaux pour la grande

famille que forment les nombreuses structures porphyriniques. Ce système trop compliqué a été remplacé au fur et à mesure par la nomenclature systématique IUPAC qui a quand même gardé quelques nom triviaux essentiellement pour des dérivés naturels.⁷¹ Par convention les porphyrines substituées sur les atomes de carbone des pont méthènes (positions 5, 10, 15 et 20) sont appelées porphyrines *meso*-substituées, celles qui portent des substituants sur les atomes de carbone pyrroliques (positions 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 et 18) sont appelées β -substituées par analogie à la nomenclature des positions α et β d'un pyrrole.

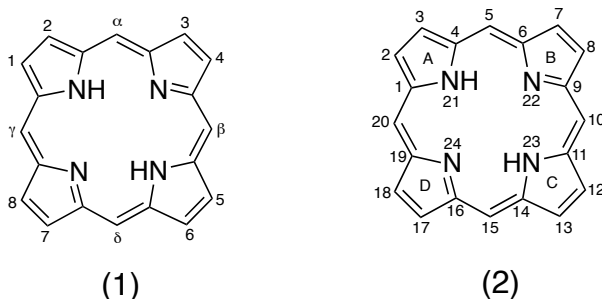


Schéma 29 : Nomenclature des porphyrines : (1) nomenclature de Fisher, (2) nomenclature IUPAC

Comme nous l'avons vu précédemment dans ce chapitre les structures macrocycliques ont une cavité qui peut accueillir un substrat. La cavité porphyrinique du fait de sa taille, de sa rigidité et de la présence de quatre atomes d'azote coordinants est très adaptée à la chélation de la plupart des éléments du tableau périodique (Figure 16). Quand aucun métal n'est dans la cavité, on parle de porphyrines bases libres, deux protons sont présents dans la cavité et partagés par les quatre atomes d'azote suivant les différentes formes tautomères. Classiquement les porphyrines sont représentées sous leur forme tautomère la plus stable avec les protons sur les atomes d'azote 21 et 23.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Li												B	C	
Na	Mg											Al	Si	P
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb
Cs	Ba	Ln	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi
		Ac												

Figure 16 : Tableau des éléments qui forment des complexes stables avec les porphyrines, les éléments en gris ont plusieurs d'états d'oxydations possibles dans un complexe porphyrinique.

D'après le Porphyrin Handbook.⁷²

Les propriétés des métalloporphyrines dépendent du métal présent dans la cavité de la porphyrine. Comme la taille des ions d'une même ligne varie du plus gros au plus petit, et que la cavité de la porphyrine a une taille constante du fait de la rigidité du cycle aromatique, certains métaux de transition sont trop gros pour la cavité porphyrinique et se situent hors du plan défini par

les quatre atomes d'azote du cycle (Schéma 30). Certains complexes métalloporphyriniques sont suffisamment stables même mis en présence d'acide sulfurique pur, alors que d'autres complexes se décomposent en présence d'eau. La plupart des métaux à l'intérieur de la cavité porphyrinique peuvent compléter leur sphère de coordination par des ligands axiaux, qui sont typiquement des molécules de solvant et sont donc relativement labiles.⁷²

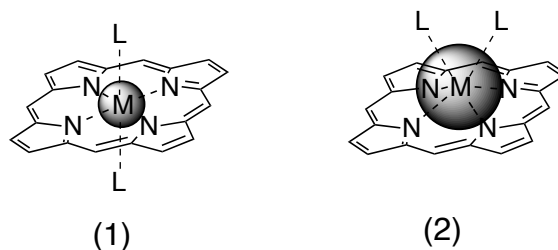


Schéma 30 : Schéma de coordination de métal dans la cavité porphyrinique, (1) métal de taille adaptée à la cavité, (2) métal plus gros que la cavité. D'après le Porphyrin Handbook.⁷²

La coloration caractéristique d'une porphyrine aussi bien à l'état solide qu'en solution provient des fortes interactions avec les photons du visible. Les spectres d'absorption UV-visible sont donc caractéristiques à cette famille de molécule. Sur un spectre UV-visible de porphyrines on peut distinguer deux types de bandes d'absorption qui ont pour origine des transitions électroniques différentes. La bande de Soret très intense entre 350 et 450 nm qui vient de la transition de l'état S_0 vers l'état S_2 . On peut parfois observer un épaulement vers le bleu sur cette bande, il s'agit de la transition de l'état S_0 vers le premier état vibronique du second état excité singulet, $S_2(1,0)$. Les bandes d'absorption qui sont responsables de la couleur des porphyrines sont les bandes Q qui se situent entre 500 et 650 nm. Selon la géométrie de la porphyrine, elles sont au nombre de deux pour la forme la plus symétrique (de type D_{4h}), quand la porphyrine est métallée et au nombre de quatre quand la porphyrine base libre a perdu en symétrie (de type D_{2h}). Dans le cas d'une porphyrine métallée les deux bandes résultent des transitions de l'état S_0 vers le premier état singulet excité S_1 et son premier état vibronique, respectivement $Q(0,0)$ et $Q(1,0)$ (Figure 17). Dans le cas de porphyrine base libre la perte de symétrie de la molécule induit un dédoublement de ces deux bandes pour en former quatre, respectivement $Q_x(0,0)$, $Q_y(0,0)$, $Q_x(1,0)$ et $Q_y(1,0)$.⁷³

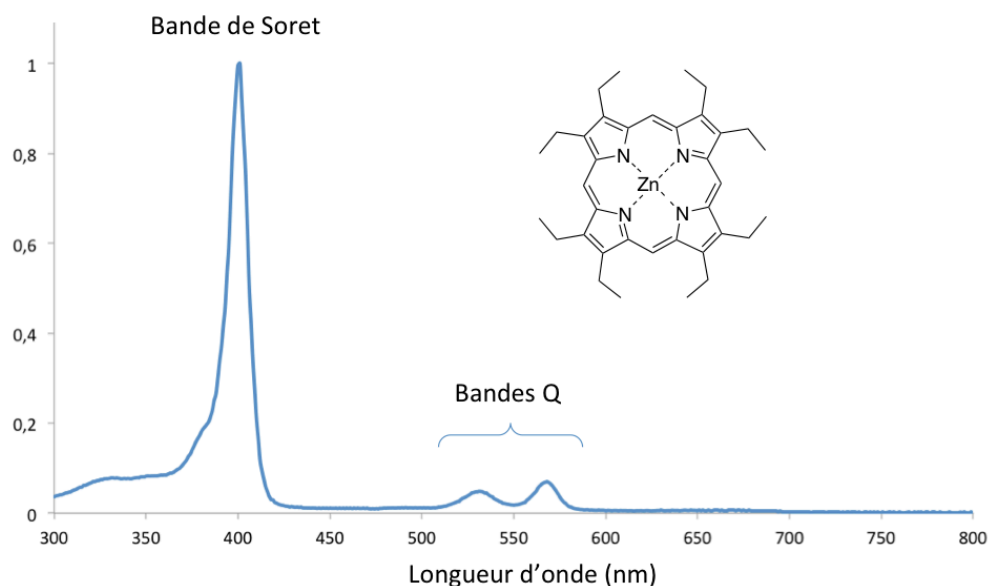


Figure 17 : Spectre UV-Visible de l'octaéthylporphyrine de zinc

D'autres structures macrocycliques aromatiques azotées existent, on peut notamment citer les corroles, les porphyrazines et les phtalocyanines. A l'instar des porphyrines tous ces macrocycles ont des propriétés remarquables et particulières en termes de complexation de centres métalliques et de photophysique.

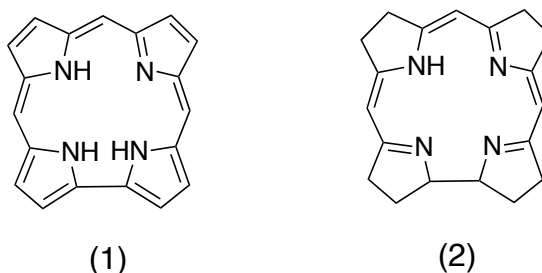


Schéma 31 : Structures d'un corrole (1) et d'une corrine (2)

Les corroles ont une structure analogue à celle des porphyrines si ce n'est qu'un des ponts méthènes entre deux pyrroles a été remplacé par une liaison directe entre les deux hétérocycles. Ces macrocycles sont présents à l'état naturel dans le site actif de la vitamine B12, dans ce cas il s'agit d'une corrine, la forme réduite d'un corrole (Schéma 31 (2)).⁷⁴

Les porphyrazines sont des porphyrines où les atomes de carbone des ponts méthènes ont été remplacés par des atomes d'azote. Les phtalocyanines sont des porphyrazines qui comportent des cycles benzéniques géminés aux cycles pyrroliques (Schéma 32).

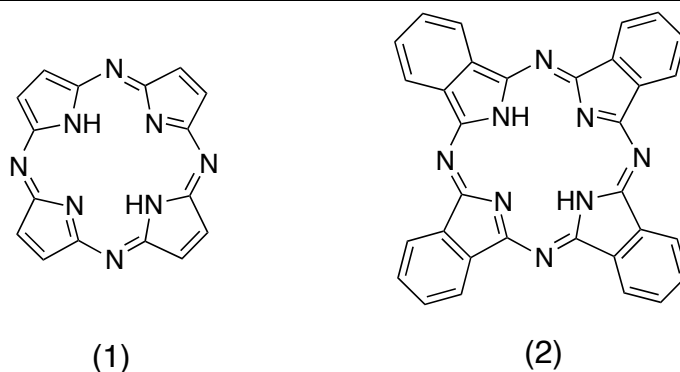


Schéma 32 : Structures d'une porphyrazine (1) et d'une phtalocyanine (2).

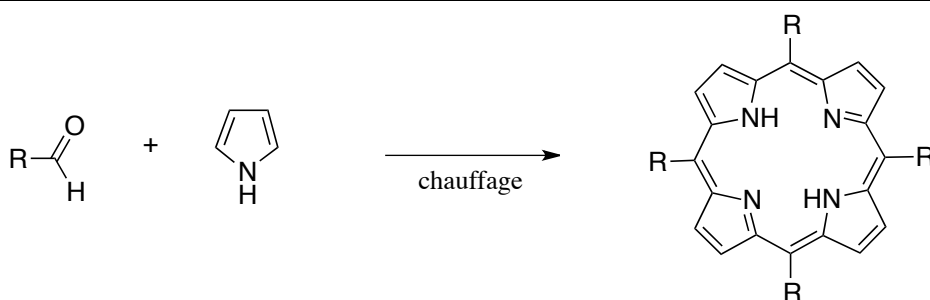
V.3.2 Méthodes de synthèse

Comme nous avons pu le voir précédemment dans ce chapitre les porphyrines sont des molécules connues depuis le début du XX^{ème} siècle, de nombreuses équipes ont développé des méthodes de synthèse donnant accès aux porphyrines. Malgré leur abondance dans le milieu naturel et leur stabilité, les porphyrines sont des molécules relativement difficiles à synthétiser, ceci est dû à la réactivité particulière du pyrrole et à divers phénomènes de réarrangement ou de statistique durant la synthèse. De nombreux facteurs restent difficiles à contrôler et à l'heure actuelle mis à part quelques cas particuliers de porphyrines très symétriques, les rendements sont en général de l'ordre de 20 % pour l'étape de cyclisation de la porphyrine.

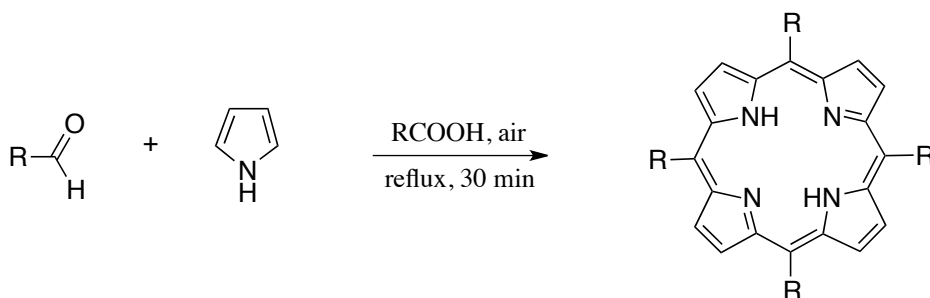
Dans ce paragraphe nous nous intéresserons aux différentes méthodes de synthèse des porphyrines *meso*-substituées qui n'ont pas d'équivalents naturels mais qui sont plus faciles à synthétiser puis aux dérivés β -substitués plus proches des composés naturels.

V.3.2.1 Les porphyrines *meso*-substituées

Les premières synthèses de porphyrines ont été décrites en 1935 par Rothmund.⁷⁵ La méthode générale développée à cette époque était le mélange d'un aldéhyde, de pyrrole et d'un solvant dans un réacteur scellé et chauffé à haute température. Les rendements obtenus étaient bas et allaient de 1 à 10% pour la synthèse de la tétraphénylporphyrine. Dans la plupart des cas les synthèses de ce type donnaient lieu à un second produit de structure très proche, ce produit sera identifié plus tard comme étant une chlorine. La méthode développée par Rothmund est donc une réaction à haute concentration et haute température en absence d'oxydant dans un réacteur scellé.⁷⁶

Schéma 33 : Méthode de Rothemund.⁷⁷

Dans les années 60, Adler et Longo ont mis au point une nouvelle méthode de synthèse de porphyrines *meso*-substituées (Schéma 34). La méthode utilisée met en présence une quantité égale d'aldéhyde et de pyrrole dans un acide organique, classiquement de l'acide acétique, propionique ou butyrique, après trente minute de reflux à l'air la porphyrine cristallise dans le milieu et peut être isolée par filtration.⁷⁸ Dans certains cas les rendements décrits sont relativement bons, de l'ordre de 30 à 40%. Grace à plusieurs études pour améliorer le rendement de cette méthode de synthèse, plusieurs paramètres importants ont été identifiés.⁷⁹ L'oxygène joue un rôle prépondérant puisque sous atmosphère d'azote les rendements chutent fortement. La concentration idéale se situe aux alentours de 0,05 M et le choix de l'acide joue un rôle central. En effet, l'acide utilisé influe sur la vitesse de réaction, joue le rôle de catalyseur et doit permettre au produit final de cristalliser.

Schéma 34 : Méthode d'Adler et Longo.⁷⁷

Au cours des années 80 Lindsey met au point une méthode de synthèse améliorée qui utilise des conditions beaucoup plus douces que les méthodes précédemment décrites (Schéma 35). L'élaboration de ce protocole part de plusieurs constatations, notamment que les pyrroles et les aldéhydes sont généralement des composés très réactifs et qu'il est fortement probable qu'ils n'aient pas besoin de fortes températures pour réagir ensemble. De plus en observant les étapes de biosynthèses des porphyrines il apparaît qu'un des intermédiaires clé est le porphyrinogène, qui est en fait une porphyrine non-aromatique. Lindsey met donc en place un protocole en deux étapes, la première étant la formation du porphyrinogène par une catalyse acide dans des conditions douces et de haute dilution. La deuxième étape est l'oxydation de ce porphyrinogène par un oxydant chimique.⁸⁰ Les conditions générales de la méthode de Lindsey sont donc d'ajouter à une solution de pyrrole et de benzaldéhyde à 10 mM dans le dichlorométhane une quantité catalytique d'acide généralement de l'acide trifluoroacétique ou de l'étherate de BF_3 et d'agiter le mélange durant environ une heure. L'oxydation est ensuite réalisée par un ajout stoechiométrique de para-chloranil

ou de dichlorodicyanobenzoquinone (DDQ). Les rendements de ces synthèses vont de 30 à 40%, le principal avantage de cette méthode est l'utilisation de conditions plus douces qui sont compatibles avec un plus grand nombre de substituants des aldéhydes et des pyrroles.

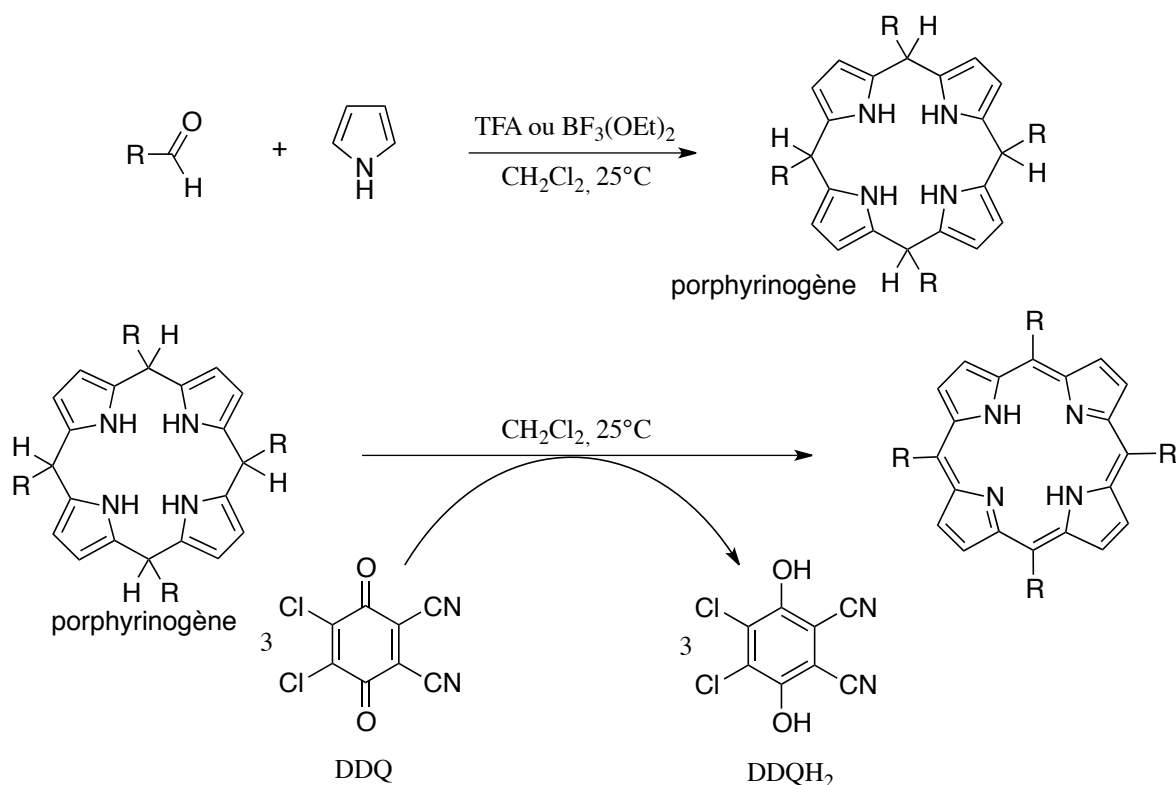


Schéma 35 : Méthode de Lindsey.⁷⁷

Cette méthode de synthèse permet aussi d'envisager la cyclisation à partir de produits plus évolués que le pyrrole, donnant ainsi accès à des porphyrines différemment substituées sur les positions *meso*. Un précurseur utile dans ce type de synthèse est le dipyrrométhane qui résulte de la réaction d'un aldéhyde avec un excès de pyrrole. Il est donc possible de mettre en jeu plusieurs aldéhydes et plusieurs dipyrrométhanes dans la même réaction, on parle dans ce cas de condensation [2+2] de MacDonald (Schéma 36).⁸¹ Le principal inconvénient de ce type de condensation est la formation de mélanges statistiques d'isomères qui peuvent se révéler très difficiles à séparer et font forcément diminuer les rendements si un seul des isomères est désiré.

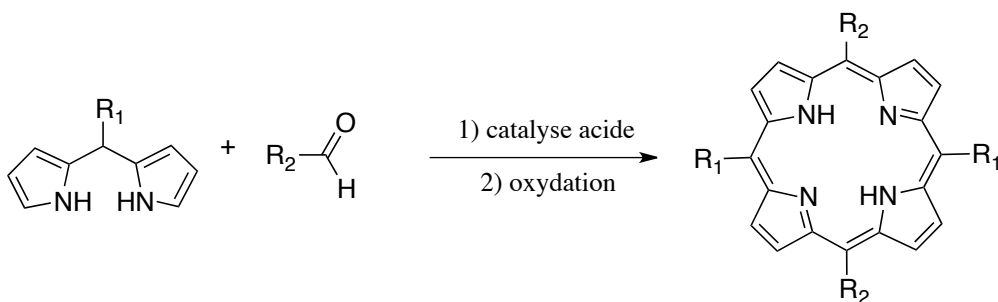


Schéma 36 : Condensation [2+2] de MacDonald.⁸¹

V.3.2.2 Les porphyrines β -substituées

L'introduction de groupements sur les positions β -pyrroliques d'une porphyrine implique de préparer des précurseurs déjà fonctionnalisés. Ces précurseurs sont tous des dérivés du pyrrole, il s'agit soit de pyrroles simples, de dipyrrométhanones ou d'assemblages plus complexes comme par exemples les *a,c*-biladiènes qui sont des oligomères de quatre pyrroles (Schéma 39).

Les pyrroles sont les briques élémentaires des porphyrines aussi bien dans les cas des biosynthèses naturelles que lors de synthèses au laboratoire. Un moyen pour obtenir une porphyrine substituée par des fonctions différentes de manière contrôlée est de construire le macrocycle par étapes en utilisant les méthodes de synthèse de pyrroles qui ont été déjà largement étudiées.

Un exemple de ces méthodes de synthèse est la méthode de Knorr qui permet d'obtenir des pyrroles hautement fonctionnalisés à partir de produit de départ relativement simples (Schéma 37).⁸² La réaction décrite par Knorr en 1886 est le mélange stoechiométrique d'acétoacétate d'éthyle et d'une oxime préparée préalablement par un traitement au nitrite de sodium, qui est réduit par du zinc en poudre dans de l'acide acétique.

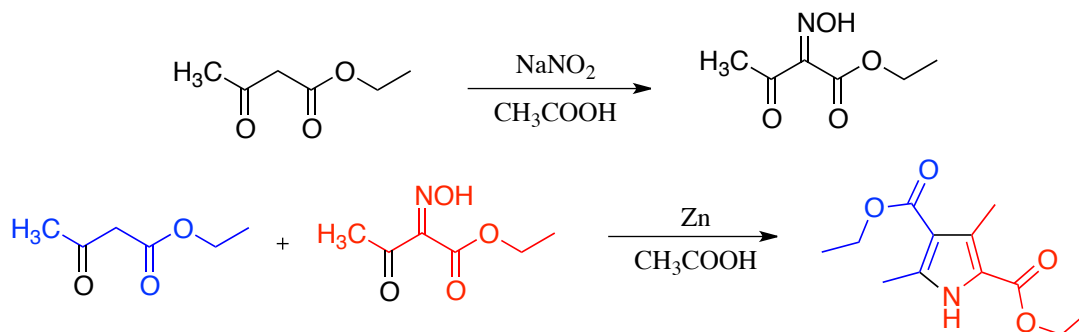


Schéma 37 : Synthèse d'un pyrrole substitué selon la méthode de Knorr.⁸²

Cette réaction a été depuis largement utilisée sur de nombreux précurseurs et a permis d'obtenir un grand nombre de pyrroles.

Une autre réaction importante pour la synthèse de pyrroles précurseurs de porphyrine est la méthode de Barton-Zard⁸³ (Schéma 38). Cette méthode de synthèse met en jeu un nitroacétate qui après départ du groupement acétate en présence de base va former un nitroalcène qui va réagir avec un dérivé isocynoacétate, pour former après cyclisation et départ du groupement NO₂ le pyrrole désiré.

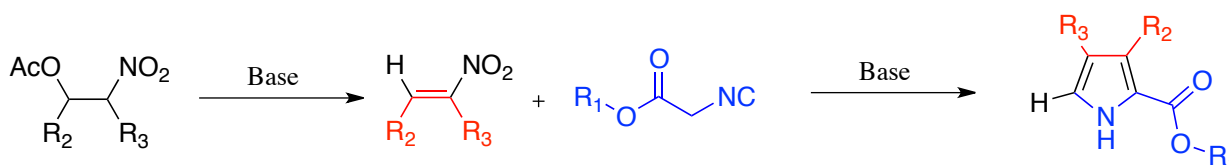


Schéma 38 : Synthèse de pyrrole selon la méthode de Barton-Zard.⁸³

Ces différentes méthodes de synthèse donnent accès à de nombreux pyrroles substitués qui peuvent être utilisés pour former des précurseurs qui sont généralement des oligomères de pyrroles.

comprenant de deux à quatre entités pyrroliques qui pourront être cyclisées pour former des porphyrines (Schéma 39)⁸⁴

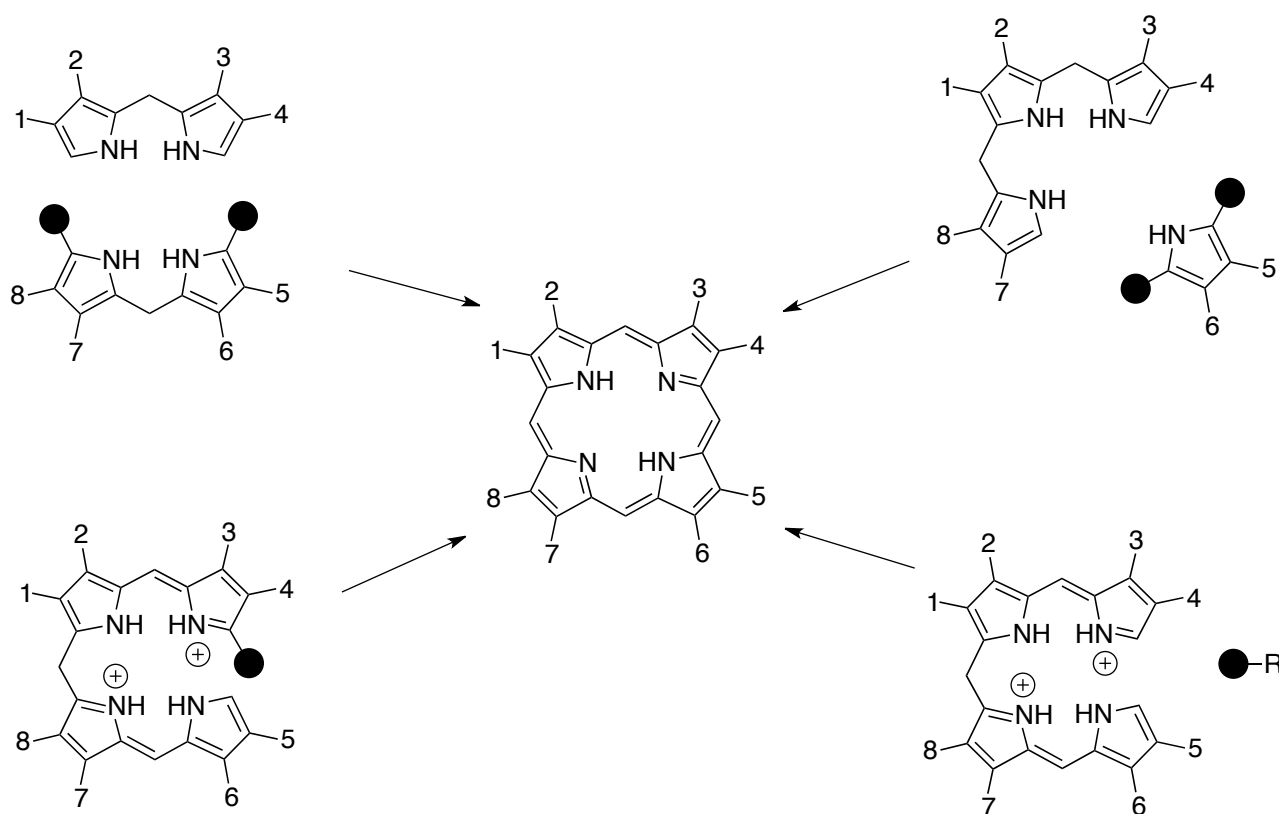


Schéma 39 : Différentes méthodes envisageables pour la synthèse d'une porphyrine à partir de précurseurs oligopyrroliques. D'après le Porphyrin Handbook.⁸⁴

V.3.3 Applications

Grâce à leurs propriétés remarquables en terme d'interactions avec la lumière, de complexation de centres métalliques, de symétrie et du fait de leur rôle central dans le système photosynthétique et pour le transport de l'oxygène, les porphyrines et leurs dérivés ont été utilisés dans des domaines très variés. Dans ce paragraphe nous nous intéresserons à certains de ces domaines d'applications notamment ceux liés à la santé comme l'utilisation des porphyrines en thérapie photodynamique ou comme intercalants de l'ADN, ainsi qu'aux applications dans le domaine de l'énergie puisque par analogie aux systèmes naturels les porphyrines ont été utilisées pour transformer l'énergie solaire en énergie électrique.

La thérapie photodynamique ou PDT (pour PhotoDynamic Therapy) est une méthode de traitement qui vise à détruire sélectivement des cellules d'un organisme. Cette technique repose sur la production localisée d'oxygène singulet. La PDT a donc pour principe d'utiliser un produit chimique (photosensibilisateur) et une source lumineuse pour produire de l'oxygène singulet. Pris séparément ces deux composants sont inoffensifs, mais l'exposition du photosensibilisateur à la

lumière va produire de l'oxygène singulet et des espèces réactives de l'oxygène fortement cytotoxiques. Le photosensibilisateur est choisi en fonction de sa capacité à passer de son premier état excité singulet S_1 vers un état excité triplet T_1 par un croisement intersystème (Figure 18). C'est en effet cet état triplet excité T_1 qui va transférer son énergie à l'oxygène triplet fondamental et former ainsi de l'oxygène singulet ou des radicaux libres dans le milieu, qui sont dans les deux cas très toxiques. La PDT permet donc de traiter par exposition au rayonnement approprié des zones très précises laissant les parties saines des tissus intactes si elles n'ont pas été exposées à la lumière. La profondeur de pénétration de la lumière dans les tissus est un obstacle majeur de cette thérapie.

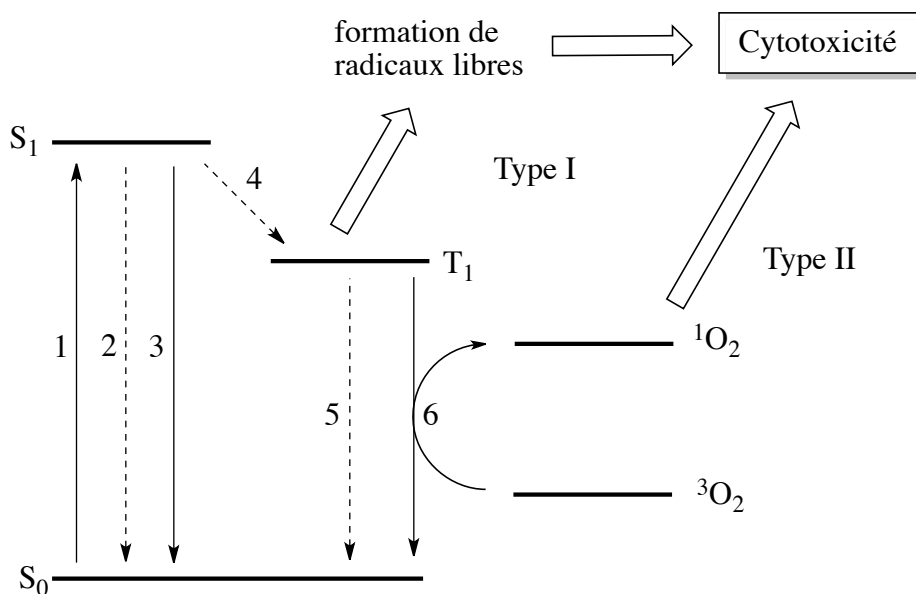


Figure 18 : Diagramme de Jablonski d'un photosensibilisateur. (1) Absorption, (2) phénomènes non radiatifs, (3) fluorescence, (4) Croisement intersystème, (5) Phosphorescence, (6) transfert d'énergie. D'après le Porphyrin Handbook.⁸⁵

Historiquement les porphyrines présentes dans un dérivé de l'hème appelé hématorporphyrine ont été étudiées du début du XX^{ème} siècle jusque dans les années 50 principalement pour la mise en évidence de tumeurs grâce à leur fluorescence. C'est dans les années 70 que le rôle d'agent thérapeutique de dérivés de l'hématorporphyrine dite HpD (pour Hematorporphyrin Derivative) a été plus largement étudié, notamment par l'équipe de Dougherty.⁸⁶ Après plusieurs tests chez l'homme, la fraction active de l'HpD a pu être isolée et a été commercialisée sous le nom de Photofrin[®] en 1985. Le médicament Photofrin[®] est un mélange complexe de monomères et d'oligomères porphyriniques, dont le composé majoritaire est un oligomère constitué de trois cycles porphyriniques (Schéma 40).

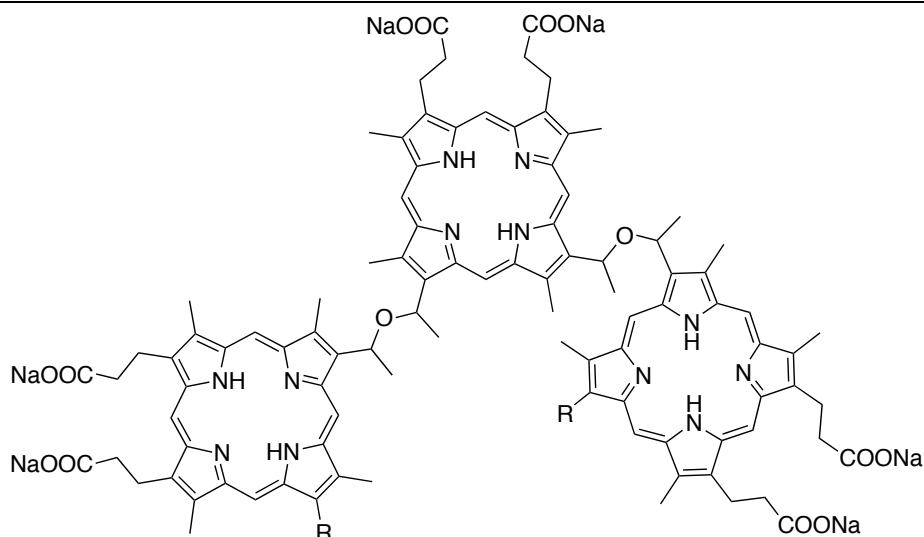


Schéma 40 : Structure du composé majoritaire du Photofrin® (R : CH₂CHOH ou -CH=CH₂).⁸⁵

L'utilisation du Photofrin® pour le traitement de diverses maladies comme certains cancers, la dégénérescence maculaire liée à l'âge ou certaines maladies dermatologiques a été autorisée dans plusieurs pays dont les Etats-Unis, le Canada, les Pays-Bas, la France et le Japon.⁸⁵

Depuis la fin des années 80 d'autres photosensibilisateurs à base de porphyrines ou de dérivés porphyriniques^{86b, 87} ont été développés pour se rapprocher du médicament idéal qui doit répondre à un cahier des charges strict. En effet, le photosensibilisateur idéal doit avoir un coefficient d'extinction molaire élevé dans le rouge ou le proche infra-rouge, un rendement quantique en oxygène singulet élevé, doit être très peu, voire non toxique en absence de lumière, doit être sélectif pour le tissu à traiter et doit être éliminé rapidement de l'organisme après le traitement.

Pour les rendre encore plus performants et sélectifs, la prochaine génération de photosensibilisateurs comportera des produits vectorisés en les greffant sur des molécules biologiques ou des photosensibilisateurs activables, c'est à dire dont la production d'oxygène singulet sera bloquée en permanence et sera activée uniquement par la reconnaissance de certaines structures biologiques.⁸⁸

Dans le paragraphe précédent l'une des caractéristiques importantes pour un photosensibilisateur était son caractère inoffensif pour l'organisme en l'absence de lumière. D'autres travaux, dont le but est de développer de nouveaux outils pour le traitement du cancer par chimiothérapie, se sont intéressés à la cytotoxicité que pouvait avoir une porphyrine ou un dérivé porphyrinique.⁸⁹ En effet, les macrocycles porphyriniques ont la capacité d'interagir avec l'ADN⁹⁰ et d'induire la mort cellulaire à la manière du cisplatine, l'un des agents anti-cancéreux les plus utilisés à l'heure actuelle et dont l'efficacité est due à sa forte interaction avec l'ADN. Les porphyrines ont des caractéristiques structurales adaptées à une bonne interaction avec l'ADN du fait de leur symétrie plane et de leur caractère hydrophobe.⁹¹ Sur certaines lignées cellulaires des complexes de tétraphénylporphyrine d'or (III) ont montré des résultats prometteurs en terme de toxicité.⁹²

Chapitre II :

Synthèse et caractérisation des ligands

I. Projet

I.1 Contexte du projet.

Le projet de thèse que j'ai pu développer au sein de l'ICMUB s'inscrit dans le cadre de la convention 3MIM (Marquage de Molécules par les Métaux pour l'Imagerie Médicale). Cette convention implique le Conseil Régional de Bourgogne, le CNRS et l'Université de Bourgogne. L'un des enjeux de 3MIM pour l'ICMUB est de développer de nouvelles molécules complexantes de centres métalliques en vue d'applications dans le domaine des agents de contraste pour l'imagerie médicale. Le projet d'associer des porphyrines et des tétraazacycloalcanes a vu le jour car l'ICMUB a une expertise reconnue dans les domaines de la synthèse aussi bien des porphyrines que des tétraazamacrocycles. De plus le laboratoire peut s'appuyer sur le savoir faire de la société Chematech® qui commercialise des macrocycles azotés. Durant ma thèse encadrée par le Pr Gros Claude et le Dr Barbe Jean-Michel, je me suis intéressé à la synthèse des précurseurs porphyriniques ainsi qu'aux méthodes de couplages avec des dérivés du cyclène. Les dérivés des tétraazacycloalcanes ont été fournis par la société Chematech®.

I.2 But du projet

Le domaine de l'imagerie médicale a été marqué par plusieurs avancées majeures notamment au niveau des appareils et des méthodes de traitement de l'information.¹ En vue d'apporter des améliorations pour des diagnostics toujours plus pertinents à des stades précoces des maladies ou pour des suivis de l'efficacité de thérapies, le développement de l'imagerie moléculaire et de l'imagerie multimodale sont actuellement des axes de recherche majeurs.

Par nature, ces sujets de recherche pluridisciplinaires requièrent des savoir-faire de domaines différents. Les chimistes sont impliqués dans le développement de molécules aux propriétés nouvelles qui peuvent potentiellement devenir des agents de contraste, si elles se révèlent être performantes. Dans le chapitre précédent (§ Chap I.III), nous avons vu que de nombreux exemples d'agents de contraste multimodaux sont basés sur l'assemblage de deux fragments, une molécule et un complexe métallique.

Le projet que nous souhaitons développer est basé sur l'association non plus d'une molécule et d'un ligand mais de deux ligands différents au niveau de la même structure. Si les deux chélateurs utilisés sont adaptés pour former des complexes avec plusieurs métaux, une large gamme de complexes hétérobimétalliques est ainsi accessible. Dans la stratégie que nous avons utilisée les métaux choisis sont à l'origine des propriétés de contrastes de la molécule. Ainsi à partir du même ligand, plusieurs agents de contraste multimodaux peuvent être obtenus et permettent de limiter le travail de synthèse très lourd et souvent long à mettre en place pour des molécules très élaborées.

L'utilisation des métaux comme agents de contraste de l'imagerie médicale est dans le cas de l'IRM bien établi, puisque la majorité des agents de contraste de l'IRM sont des complexes de gadolinium (III). Pour l'imagerie nucléaire, il existe des agents de contraste qui n'utilisent pas de métaux, mais la plupart des éléments radioactifs non métalliques ont des temps de demi-vie courts et impliquent une réaction chimique pour être intégrés à une molécule injectable. De ce point de vue les métaux radioactifs présentent un avantage car leurs temps de demi-vie plus longs leur permettent de cibler des phénomènes biologiques inaccessibles avec les agents de contraste disponibles à l'heure actuelle.⁵¹ De plus, la formation d'un complexe métallique peut se faire dans des conditions douces, mieux compatibles avec certains vecteurs biologiques à l'inverse de certaines réactions chimiques.

Dans notre projet les étapes de complexation ont donc un rôle central et devront être optimisées. En effet chaque centre métallique doit être complexé par le ligand qui lui est destiné et l'utilisation de plusieurs métaux implique forcément des phénomènes de compétition, de transmétallation ou de transchélation. Pour réduire ces différents problèmes, nous avons choisi d'utiliser deux ligands aux propriétés de complexation très différentes, d'une part des dérivés du DOTA (pour 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétate) qui sont déjà utilisés dans le domaine de l'imagerie médicale, et d'autre part des macrocycles porphyriniques qui possèdent des propriétés de complexation très intéressantes. Du point de vue de la synthèse l'association de tétraazacycloalcanes et de porphyrines sur la même molécule pose quelques problèmes, notamment en terme de solubilité. En effet, les acides polyaminocarboxyliques sont dans leur grande majorité solubles en milieux aqueux alors que les porphyrines sont solubles en milieu organique.

Comme nous avons pu le voir dans le chapitre précédent, les agents de contraste bifonctionnels chélatants développés à l'heure actuelle sont vectorisés en milieu biologique ou sont activables par des processus biologiques particuliers. Les ligands que nous souhaitons développer devront aussi comporter une fonction de greffage vers un vecteur biologique. Cette fonction de greffage, dans le cas idéal, devra elle aussi être utilisable pour différents vecteurs biologiques.

I.3 Exemples de la littérature

Dans ce paragraphe nous allons détailler plusieurs exemples de structures dans lesquelles les porphyrines ont été associées à des tétraazacycloalcanes. Depuis les années 90 les deux macrocycles ont été utilisés presque exclusivement dans des systèmes biomimétiques de protéines où le site actif est une métalloporphyrine. Au début des années 2000 d'autres thèmes de recherche se sont intéressés à des assemblages de porphyrines et de tétraazamacrocycles. On peut notamment citer leur utilisation comme systèmes de ligand et d'antenne pour des études de luminescence impliquant des lanthanides et comme agents de contraste et de thérapie pour le domaine de la santé.

Les métalloporphyrines notamment les porphyrines de fer sont présentes dans le site actif de plusieurs protéines qui sont au centre de processus biologiques essentiels comme le transport du dioxygène par l'hémoglobine, la réduction du dioxygène par la cytochrome c oxydase, le transport

d'électron par la cytochrome c ou encore l'oxygénation de molécules organiques par la cytochrome P-450.⁹³ L'activité de ces protéines est en grande partie due à la symétrie aux alentours du site actif, notamment au niveau des ligands axiaux du métal de la cavité porphyrinique.

Une stratégie de mimétisme du site actif des systèmes naturels a été mise en place au début des années 90 en synthétisant des porphyrines substituées par différents tétraazamacrocycles afin de moduler l'environnement du métal de la cavité porphyrinique.

On peut citer par exemple les travaux de Véronique Bulach dans l'équipe de Raymond Weiss⁹⁴ (Schéma 41) qui a synthétisé un dérivé de la tétraphénylporphyrine portant une fonction amine sur une position *ortho* d'un des groupements phényle. Le dérivé cyclène de la molécule est introduit en deux étapes, une substitution nucléophile sur le chlorure d'acryloyle suivi d'une addition de Michaël du cyclène.

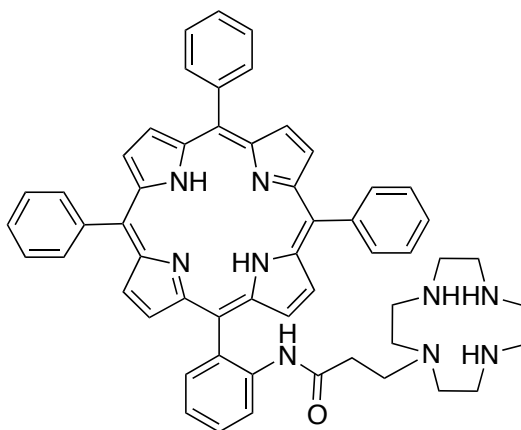
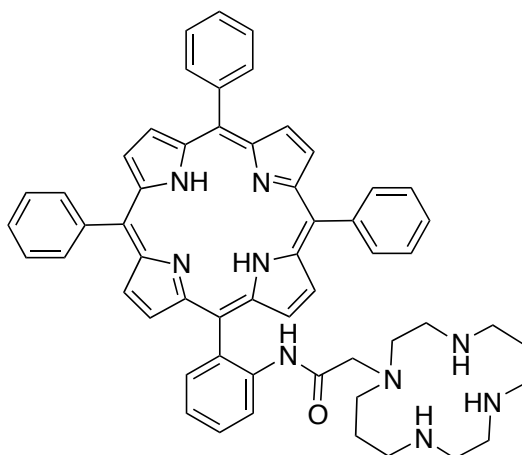


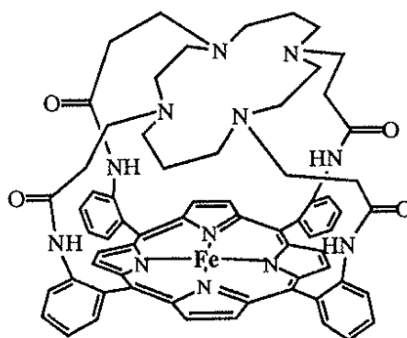
Schéma 41 : Structure du ligand développé par Véronique Bulach *et al.*⁹⁴

Un complexe hétérobimétallique a été obtenu à partir de la porphyrine de fer en incorporant dans une dernière étape du cuivre dans la cavité du cyclène, afin de mimer le site actif de la cytochrome c oxydase, enzyme terminale de la chaîne respiratoire, qui réduit le dioxygène en eau selon un processus à quatre électrons. Les études faites sur ce complexe montrent que la structure est trop flexible pour que les centres métalliques entrent en interaction.

Lors de sa thèse à l'université de Bourgogne sous la direction du Pr Roger Guillard, Sylvain Koeller a synthétisé des systèmes composés d'un cyclame et d'une porphyrine (Schéma 42). Bien que la structure du ligand soit relativement proche de celle décrite par Véronique Bulach,⁹⁴ la synthèse est différente. En effet le cyclame est introduit en deux étapes tout d'abord une réaction de couplage peptidique entre la tétraphénylporphyrine portant une fonction amine et le bromure de chloroacétyle suivi d'une substitution nucléophile du cyclame à la place de l'atome de brome.⁹⁵ Ce ligand a été utilisé pour former des complexes homo- ou hétérobimétalliques à base de cuivre, de zinc ou de cobalt. La réactivité de ces complexes avec le dioxygène a été étudiée et les travaux ont pu mettre en évidence la formation d'un complexe μ -peroxo intermoléculaire dans le cas du complexe homobimétallique de cobalt.⁹⁵

Schéma 42 : Structure du ligand synthétisé par Sylvain Koeller.⁹⁵

Par la suite des systèmes plus contraints et cofaciaux ont été synthétisés. Les travaux de l'équipe de Collman⁹³ et de Bernard Boitrel⁹⁶ à Dijon ont mené à l'élaboration de structures porphyriniques coiffées par un dérivé du cyclame. Ce type de molécule a pu être synthétisé par plusieurs additions de Michaël.

Schéma 43 : Structure d'une porphyrine de fer coiffée par un dérivé du cyclame. Tiré de l'article de Collman *et al.*⁹³

Les travaux de l'équipe de Collman⁹³ ont montré qu'une porphyrine de fer coiffée par un dérivé du cyclame (Schéma 43) était capable d'incorporer du dioxygène dans la cavité et ceci sélectivement par rapport au dioxyde de carbone.

Les travaux de Boitrel⁹⁷ ont quant à eux conduit à la synthèse d'une porphyrine de fer coiffée par un dérivé du cyclame incorporant du cuivre (II). Le macrocycle est lié seulement par deux liaisons covalentes à la porphyrine, ce qui est suffisant pour maintenir les deux centres métalliques à une distance très courte. Dans cet exemple l'autre face de la porphyrine est encombrée volontairement par un groupement aromatique lui aussi lié deux fois à la porphyrine, de manière à empêcher les réactions parasites sur la face libre de la porphyrine (Schéma 44).

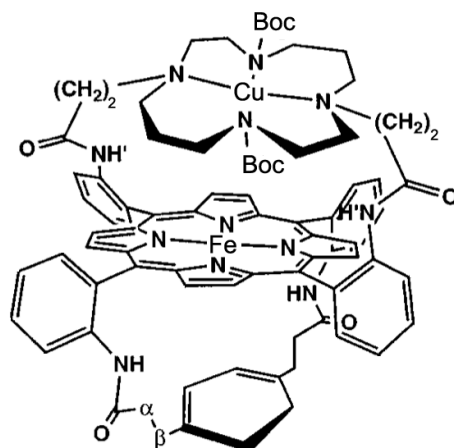


Schéma 44 : Structure d'un complexe hétérobimétallique à base de porphyrines et de cyclame. Tiré de l'article de Boitrel *et al.*⁹⁷

Plusieurs systèmes de ce type ont été synthétisés notamment en faisant varier la longueur de la chaîne carbonée entre les macrocycles afin de trouver la configuration idéale pour que les métaux soient en interaction et accueillent une molécule à l'intérieur de la cavité. Les études RMN ^1H et RPE menées sur ces structures ont montré de bonnes interactions entre les métaux pour des liaisons composées de trois atomes de carbone.⁹⁷

Selon une stratégie de synthèse analogue mais à partir d'une porphyrine substituée par huit fonctions amines primaires sur les positions *ortho* des groupements phényle, l'équipe de Rose a pu synthétiser une porphyrine coiffée sur chaque face par des dérivés du cyclène (Schéma 45).⁹⁸

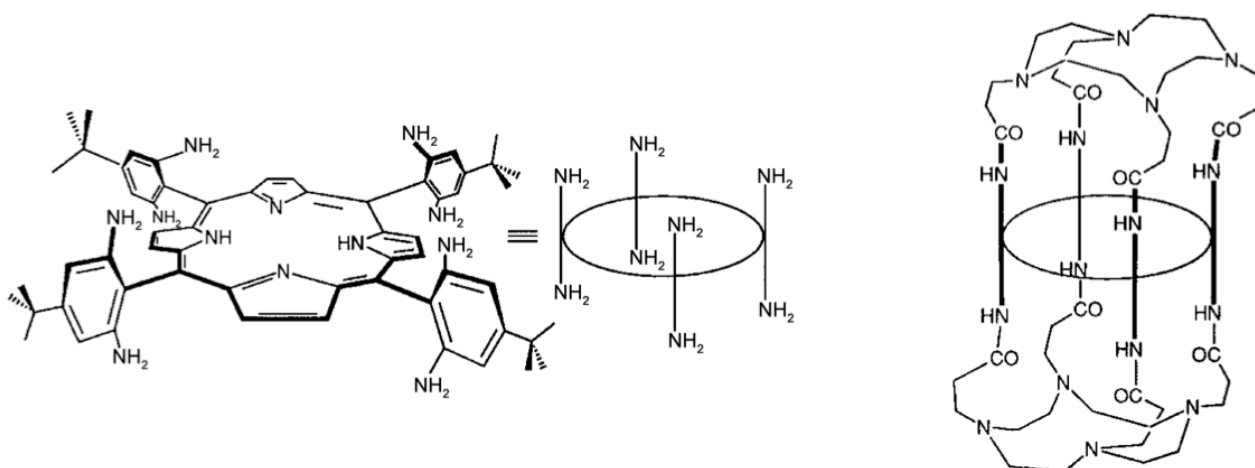


Schéma 45 : Structure d'une porphyrine coiffée par deux dérivés du cyclène. D'après l'article de Rose *et al.*⁹⁸

Des systèmes incorporant une porphyrine et un tétraazacycloalcane ont été utilisés pour permettre la luminescence des lanthanides grâce à l'effet d'antenne. En effet, les lanthanides sont des chromophores particuliers du fait des transitions électroniques interdites entre leurs orbitales f. Ils se caractérisent par de faibles coefficients d'absorption molaire et sont phosphorescents, ainsi pour les exciter directement il est nécessaire d'utiliser des sources laser de forte puissance. Pour

palier à ce problème, il est possible de tirer partie de l'effet d'antenne. Dans ce cas un chromophore organique avec de bons coefficients d'absorption molaire et des niveaux d'énergie en adéquation avec ceux du lanthanide peut être utilisé pour capter l'énergie lumineuse et la transférer, depuis un état excité triplet ou singulet, à l'état excité du lanthanide. Un des critères essentiels de ce type de systèmes est la proximité du chromophore et du lanthanide. Plusieurs systèmes utilisant des porphyrines comme antennes pour capter l'énergie lumineuse et la transférer à un lanthanide ont été décrits,⁹⁹ nous allons nous intéresser aux structures qui utilisent des tétraazacycloalcanes et des porphyrines sur le même ligand.

L'équipe de Williams¹⁰⁰ a synthétisé un système couplant une porphyrine de palladium à un complexe d'ytterbium d'un dérivé du cyclène (Schéma 46). La porphyrine de palladium a été utilisée du fait de la longue durée de vie de son état triplet ; c'est en effet l'état triplet de la porphyrine qui doit transmettre son énergie au lanthanide. Le système montre un bon transfert d'énergie entre la porphyrine et le lanthanide sous atmosphère inerte, mais en présence d'oxygène le transfert d'énergie de l'état triplet de la porphyrine vers l'oxygène entre en compétition avec le mécanisme de luminescence de l'ytterbium.

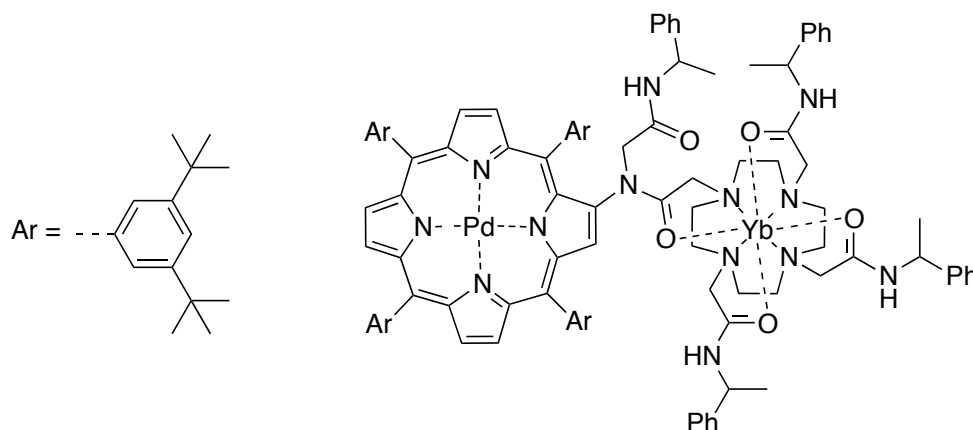


Schéma 46 : Structure d'un complexe hétérobimétallique Pd/Yb. Tiré de l'article de Williams *et al.*¹⁰⁰

Un dérivé de la tétraphénylporphyrine substituée par du DTPA incorporant du lutétium a été synthétisé par l'équipe de Korovin (Schéma 47).¹⁰¹ Les études photophysiques réalisées sur ce dérivé porphyrinique ne mettent pas directement en évidence la luminescence du lanthanide, mais les auteurs ont noté une augmentation de la durée de la fluorescence de la porphyrine base libre qui s'apparente à un phénomène de fluorescence retardée. Ceci peut être dû à un transfert d'énergie en retour de l'état triplet du lanthanide vers l'état triplet de la porphyrine et ensuite vers son état excité singulet. Ce phénomène de transfert en retour peut être observé si les différences d'énergie entre ces différents états excités sont faibles.

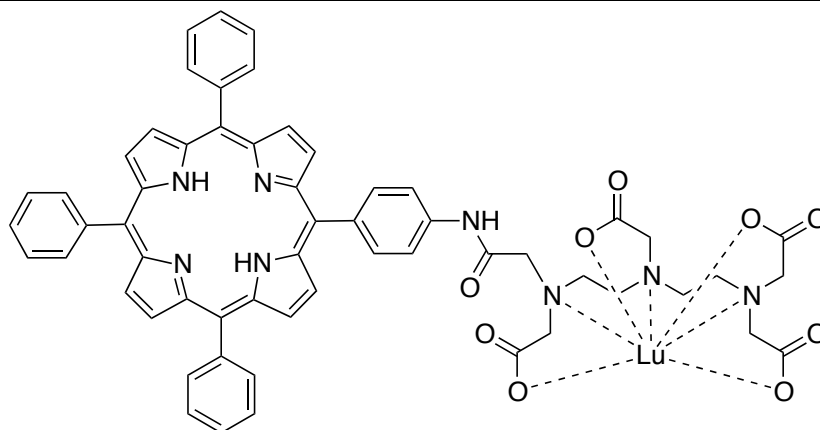


Schéma 47 : Structure d'un dérivé de la tétraphénylporphyrine substitué par un complexe de Lu.

D'après l'article de Korovin *et al.*¹⁰¹

Du fait de leurs propriétés de fluorescence et de complexation de centres métalliques l'utilisation de structures incorporant des porphyrines et des tétraazacycloalcanes a aussi été envisagée pour l'imagerie médicale.

L'équipe de Murugesan¹⁰² a synthétisé un ligand à base de tétraphénylporphyrine incorporant quatre motifs cyclane autour de la porphyrine (Schéma 48). Dans cet exemple la partie cyclane de la molécule a été utilisée pour complexer du technétium 99m et la partie porphyrinique comme vecteur de la molécule. En effet, les dérivés porphyriniques ont tendance à s'accumuler dans les tissus cancéreux comme nous avons pu le voir précédemment dans ce manuscrit (§ Chap I.V.3.3). Le radiotraceur obtenu a été injecté à deux séries de rats porteurs de tumeurs différentes. Dans les deux cas les auteurs ont noté une accumulation préférentielle du produit dans les tumeurs et ont mesuré le ratio entre la quantité de radiotraceur présente dans la tumeur et la quantité présente dans les muscles. Ce ratio varie de 5,6 à 6,9 suivant le type de tumeur.

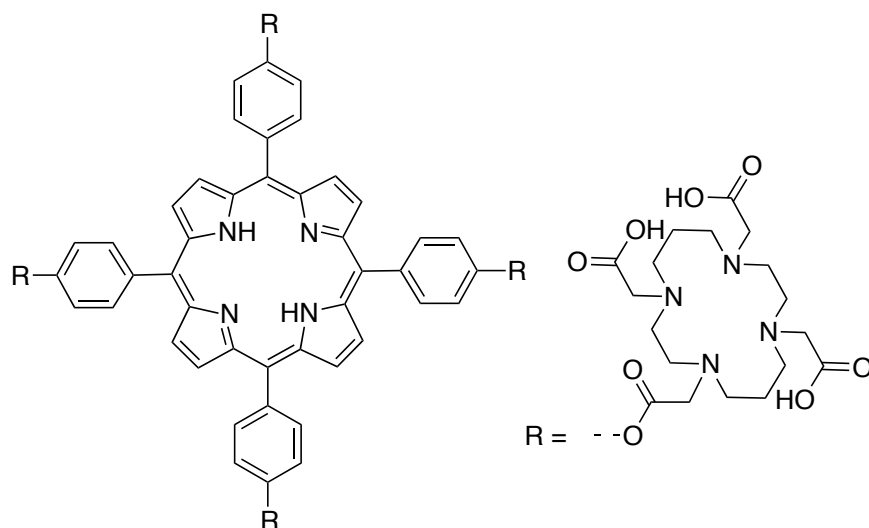


Schéma 48 : Structure d'une tétraphénylporphyrine substituée par quatre dérivés du cyclane.

D'après l'article de Murugesan *et al.*¹⁰²

L'équipe de Pandey¹⁰³ a décrit la synthèse d'une série de dérivés de type chlorine fonctionnalisés par plusieurs complexes de gadolinium dans un chélateur linéaire dérivé du DTPA. Dans cette structure la partie chlorine joue le rôle de vecteur pour cibler les zones cancéreuses et aussi le rôle d'agent thérapeutique puisque des chlorines analogues ont été utilisées pour la thérapie photodynamique. La partie DTPA de la molécule apporte le contraste en IRM grâce aux complexes de gadolinium (III). Cet assemblage permet donc d'apporter un suivi IRM de la répartition de l'agent thérapeutique et de traiter les zones ciblées par la thérapie photodynamique.

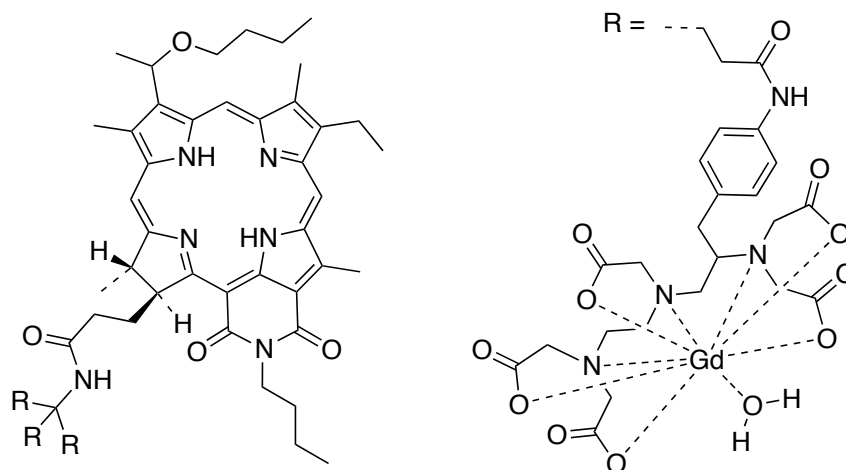


Schéma 49 : Structure d'une chlorine substituée par des complexes de Gd-DTPA. D'après l'article de Pandey *et al.*¹⁰³

II. Synthèses des ligands

II.1 Voie de synthèse

Dans les différents exemples de la littérature cités dans le paragraphe précédent la synthèse de molécules qui incorporent une porphyrine et un tétraazacycloalcane est basée dans la majorité des cas sur la création de liaisons amide. Les liaisons amide sont très courantes dans les molécules biologiques puisqu'elles sont présentes comme lien entre la majorité des acides aminés pour former des protéines. Elles sont naturellement très utilisées en chimie organique et de nombreuses conditions pour les créer sont disponibles dans la littérature.¹⁰⁴ La réaction d'un fragment acide carboxylique et d'une fonction amine pour former une liaison amide commence par la conversion du fragment hydroxyle en un meilleur groupe partant comme par exemple un halogénure d'acide, un anhydride ou un ester activé.

De par sa stabilité, sa compatibilité avec les milieux biologiques et la palette de conditions de synthèse qui sont décrites à l'heure actuelle, la liaison amide nous a semblé tout à fait en adéquation avec les molécules que nous souhaitons développer. De plus, les porphyrines et les tétraazacycloalcane sont tous deux fonctionnalisables par des groupements amine ou acide carboxylique et différentes voies de synthèses de ces dérivés sont maîtrisées au laboratoire.

II.2 Synthèses des ligands

Nous avons vu précédemment dans ce manuscrit (§ Chap I.V.2.3) que les bras acide carboxylique des dérivés du DOTA pouvaient être utilisés pour créer des liaisons amide. La transformation d'un des bras acide, qui sont à l'origine présents pour stabiliser les complexes formés, en amide entraîne une baisse de deux ou trois ordres de grandeur de la stabilité thermodynamique des complexes mais n'affecte en rien leur stabilité cinétique.⁸

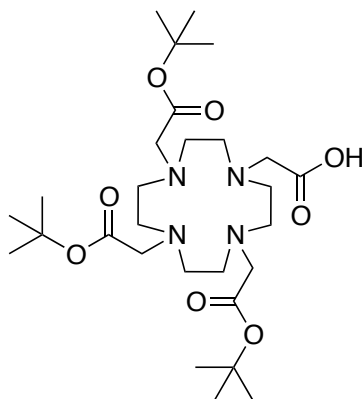


Schéma 50 : Structure du DOTA-tris(*t*Bu).

Nous avons donc choisi d'utiliser comme produit de départ une porphyrine substituée par une fonction amine primaire et un dérivé du DOTA fonctionnalisé comportant une fonction acide libre le DOTA-tris(*t*Bu) (Schéma 50).

II.2.1 Synthèse d'une série de ligands par couplage peptidique

Nous avons tout d'abord choisi de mettre en place un protocole de synthèse qui nous permettrait d'avoir facilement accès à une petite série de ligands. En effet grâce aux précurseurs des tétraazacycloalcanes commerciaux et une fois le protocole du couplage peptidique maîtrisé, plusieurs ligands sont accessibles en préparant des précurseurs porphyriniques différemment substitués par des fonctions amine primaire. De plus, en gardant à l'esprit que les ligands que nous souhaitons synthétiser devront être solubles en milieu aqueux, nous avons choisi d'utiliser les bras acide carboxylique des tétraazamacrocycles pour rendre nos ligands solubles. De ce fait il nous a semblé opportun de multiplier les fonctions acide carboxylique des systèmes afin d'augmenter cette solubilité. Nous avons donc décidé de synthétiser trois ligands composés d'une porphyrine et respectivement d'un, deux ou quatre macrocycles dérivés du DOTA (Schéma 51).

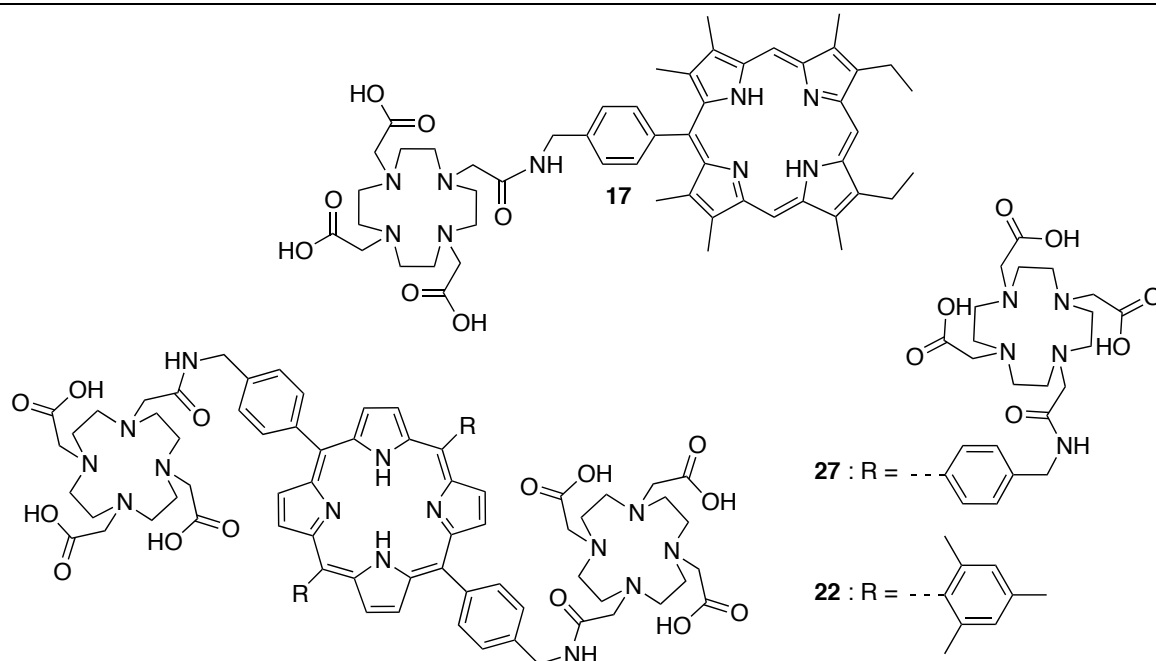
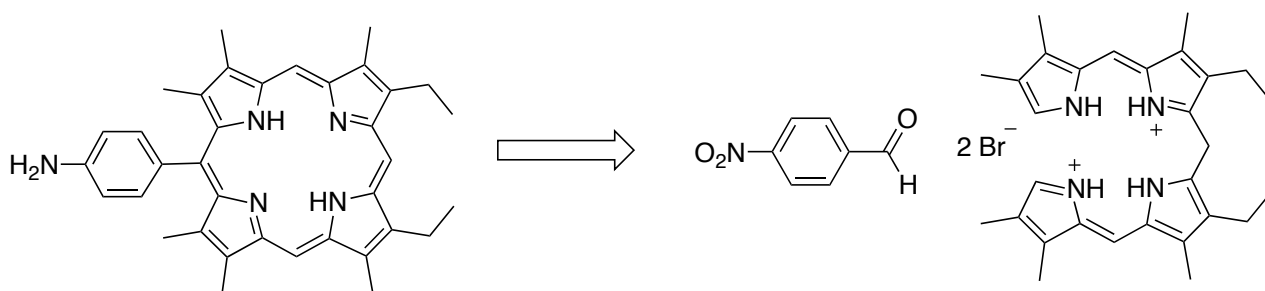


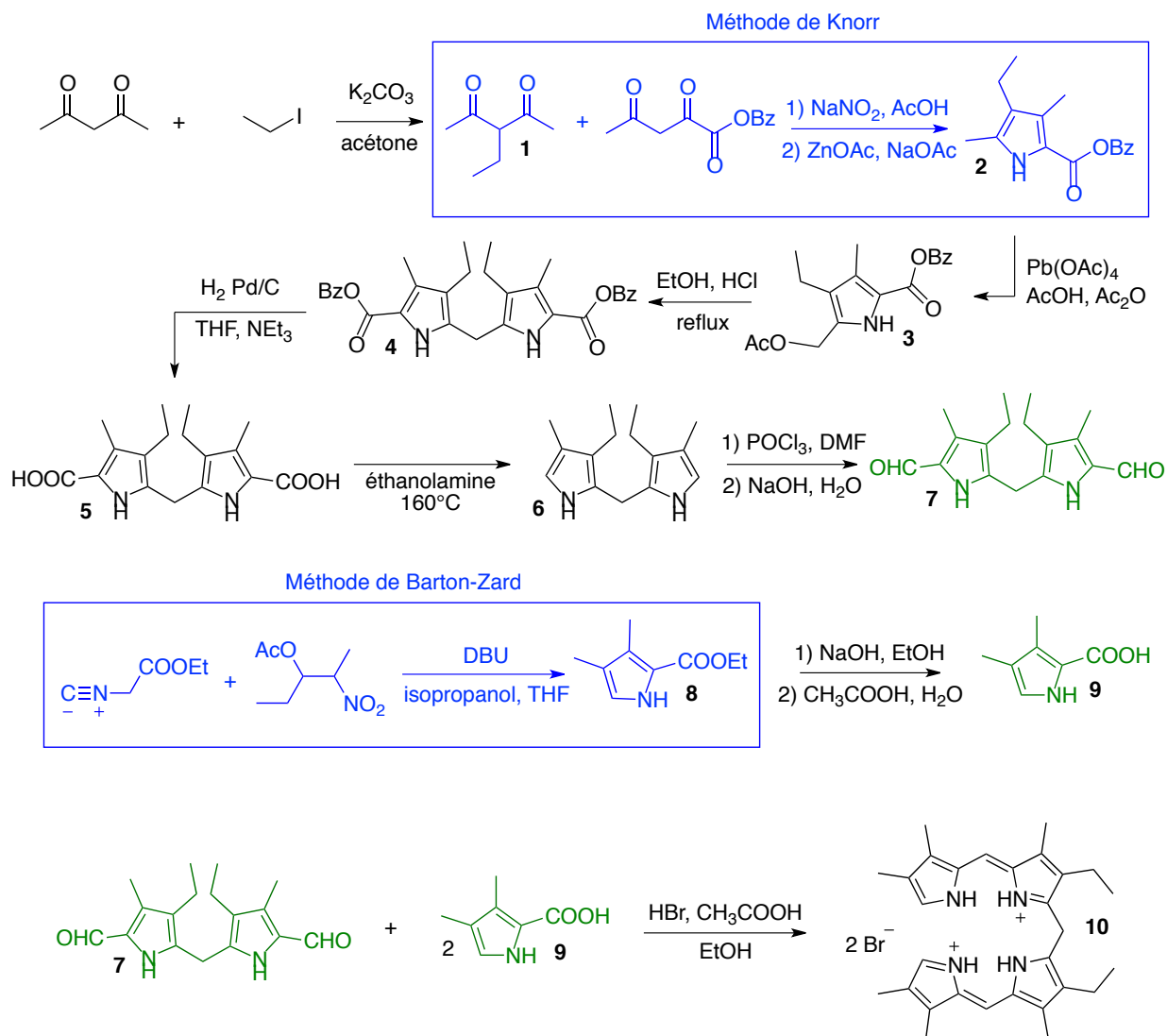
Schéma 51 : Ligands synthétisés par couplage peptidique.

II.2.1.1 Synthèse du ligand composé d'une porphyrine et d'un dérivé du DOTA.

Parmi les voies de synthèses qui permettent d'obtenir des porphyrines mono fonctionnalisées, nous avons choisi de nous affranchir des méthodes statistiques qui forment plusieurs produits secondaires et qui impliquent le plus souvent des étapes de purification assez longues. La méthode que nous avons choisie a pour intermédiaire clé un *a,c*-biladiène qui est un composé tétrapyrrolique non cyclisé (Schéma 52), dont la synthèse a été décrite dans les années 80 par l'équipe de Harris.¹⁰⁵ Cet intermédiaire synthétique est utilisé au laboratoire car il permet d'avoir accès facilement à plusieurs structures porphyriniques mono substituées en faisant varier l'aldéhyde mis en jeu lors de l'étape de cyclisation. Les rendements de cyclisation sont généralement bons et peuvent atteindre 90% pour les aldéhydes les plus réactifs.¹⁰⁵ L'étape de purification est relativement facile puisque les produits secondaires de la réaction sont généralement des polymères de pyrrole ainsi que le corrole qui peut se former par condensation de l'*a,c*-biladiène sur lui-même et l'aldéhyde de départ.

Schéma 52 : Rétrosynthèse d'une porphyrine *meso* substituée par une amine primaire.

La synthèse de l'*a,c*-biladiène **10** que nous avons utilisé est une synthèse convergente qui comporte deux voies (Schéma 53). La première est la synthèse en sept étapes du dipyrrométhane **7** disubstitué par deux groupements formyle sur ses positions α . L'étape clé de cette voie de synthèse est la formation du pyrrole **2** selon la méthode de Knorr. La seconde voie est basée sur la méthode de synthèse de Barton-Zard pour former le pyrrole **8** qui fournira après saponification le pyrrole **9**. Ces étapes de synthèse suivent des protocoles bien établis au laboratoire et sont généralement réalisées sur des quantités importantes de produit de départ, ce qui permet d'obtenir les précurseurs **7** et **9** dans des quantités de l'ordre de la dizaine de grammes. La dernière étape de formation de l'*a,c*-biladiène **10** est la condensation des deux précurseurs dans l'éthanol à reflux, sous atmosphère inerte en présence d'acide bromhydrique. Dans ces conditions, la formation de l'*a,c*-biladiène est très rapide et la réaction est généralement stoppée après cinq minutes afin d'éviter la formation de corrole par cyclisation intramoléculaire. Le produit est ensuite précipité dans l'éther et peut être conservé sous cette forme au congélateur. Les rendements de cette étape sont relativement bons (80 %) et la synthèse est généralement réalisée de manière à obtenir une quantité d'*a,c*-biladiène de l'ordre d'une dizaine de grammes.

Schéma 53 : Synthèse de l'*a,c*-biladiène.

La formation de la porphyrine amino **11** est une synthèse en deux étapes mise au point au laboratoire par Benoît Habermeyer durant sa thèse (Schéma 54).¹⁰⁶ La première étape est la condensation de l'a,c-biladiène **10** sur le *para*-nitrobenzaldéhyde commercial en solution dans l'éthanol à reflux grâce à un ajout lent d'une solution de sept équivalents d'acide *para*-toluènesulfonique dans l'éthanol durant 48h. Après purification, la porphyrine mono nitro obtenue est introduite dans l'étape de réduction en présence d'un excès de chlorure d'étain et d'acide chlorhydrique dans un mélange d'éther et de chloroforme. Après purification par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant un mélange DCM : MeOH (100 : 5) la porphyrine amino **11** est obtenue avec un rendement de 38 % en deux étapes.^{106b}

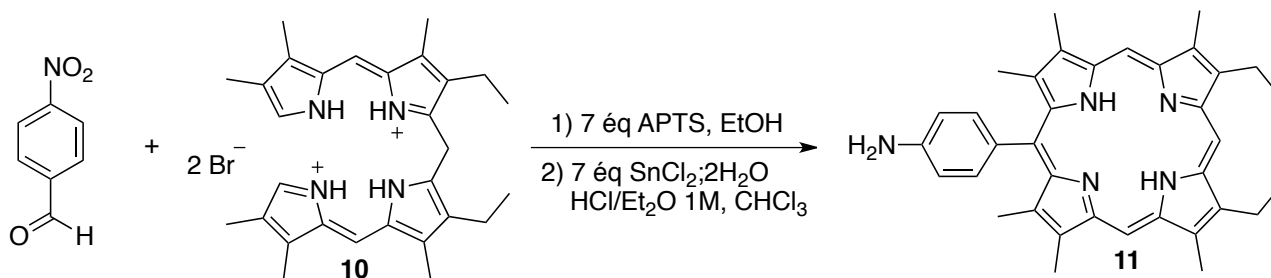
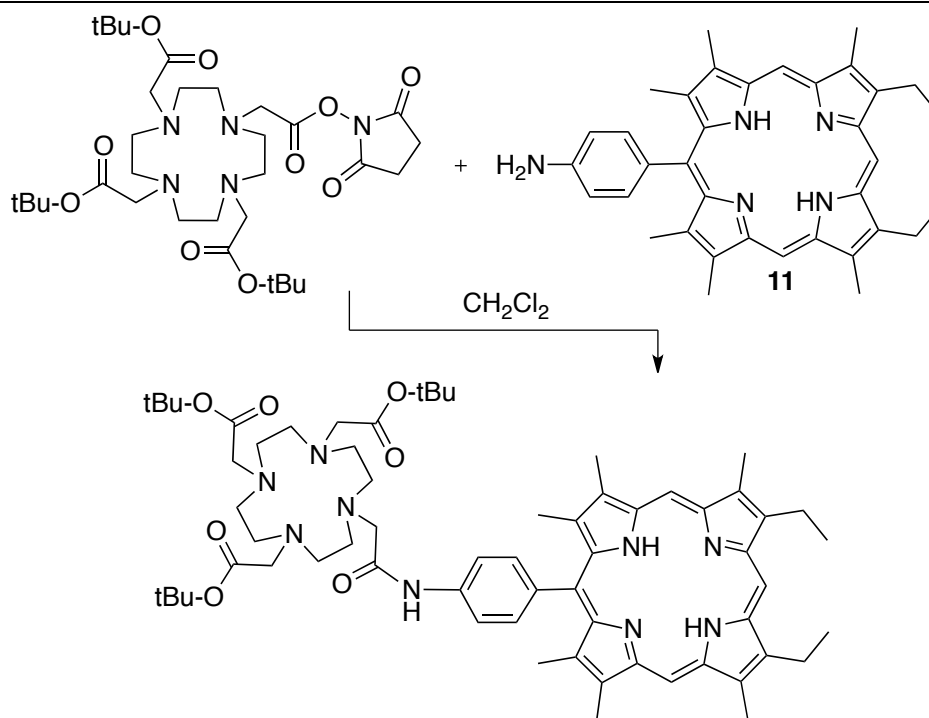


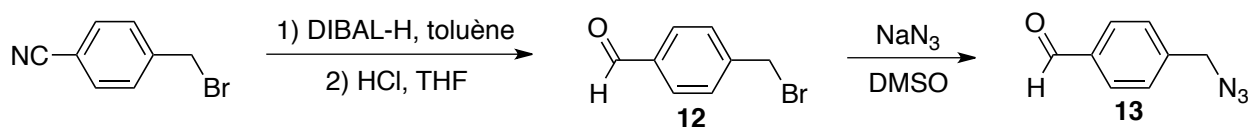
Schéma 54 : Synthèse de la 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-*para*(amino)phénylporphyrine **11**.

La porphyrine amino **11** a ensuite été mise en jeu dans une étape de couplage peptidique en présence d'un équivalent de DOTA-tris(*t*Bu)NHS dans le dichlorométhane (Schéma 55). Le mélange a été porté à reflux et agité durant 24 h. Le produit désiré a pu être observé par spectrométrie de masse MALDI-TOF, mais n'a jamais été isolé.

Ce résultat peut s'expliquer par le fait que la fonction amine que nous utilisons est un mauvais nucléophile du fait de la présence du cycle porphyrinique qui a un effet électro attracteur fort et que le doublet non liant de l'azote est conjugué avec les doublets π du noyau aromatique. L'utilisation d'un ester activé durant cette synthèse ne semble pas compenser la perte de nucléophilie de l'aniline. De plus cette perte de nucléophilie avait déjà été observée au laboratoire durant la thèse de Gabriel Canard lors de la synthèse de dérivés corroles substitués par une fonction aniline.¹⁰⁷

Schéma 55 : Essai de couplage entre la porphyrine amino **11** et le DOTA-tris(*t*Bu)NHS.

Nous avons donc choisi de préparer un précurseur porphyrinique où la fonction amine ne serait plus directement reliée au cycle aromatique mais espacée d'un carbone. Nous avons utilisé le précurseur *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13** (Schéma 56) dont la synthèse a été mise au point par Gabriel Canard durant sa thèse. La première étape de cette synthèse est la réduction de la fonction nitrile en aldéhyde par le DIBAL-H pour former le *para*-(bromométhyl)benzaldéhyde **12**. La deuxième étape est la substitution nucléophile de l'atome de brome par le groupement azoture pour former l'aldéhyde **13** désiré avec un rendement global de 88%. Cette dernière étape s'effectue dans le DMSO afin de solubiliser aussi bien l'azoture de sodium que l'aldéhyde **12**. Le produit peut facilement être extrait du DMSO par des lavages à l'éther.

Schéma 56 : Synthèse du *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13**.

Dans ce travail nous avons utilisé le groupement azoture comme une protection d'amine. La fonction azoture permet d'accéder à de nouveaux dérivés porphyriniques, notamment grâce à la cycloaddition 1,3-dipolaire d'Huisgen, qui seront décrits dans le quatrième chapitre (§ Chap IV) de ce travail. La synthèse de la porphyrine mono azoture **14** a été développée au laboratoire durant la thèse de Mohammed Chkounda¹⁰⁸ et a donné lieu à des assemblages moléculaires obtenus par chimie "click".¹⁰⁹

Une fois l'aldéhyde **13** synthétisé nous avons pu le mettre en jeu dans l'étape de formation de la porphyrine mono-fonctionnalisée **14** en le faisant réagir comme précédemment avec le précurseur

a,c-biladiène **10** (Schéma 57). Dans cette réaction un équivalent d'aldéhyde est utilisé par rapport à l'*a,c*-biladiène. Un excès d'aldéhyde permet généralement d'augmenter le rendement de la réaction mais dans notre cas l'aldéhyde est difficile à séparer de la porphyrine. Le milieu est agité à reflux et sept équivalents d'acide *para*-toluènesulfonique en solution dans l'éthanol sont additionnés lentement grâce à une pompe péristaltique.

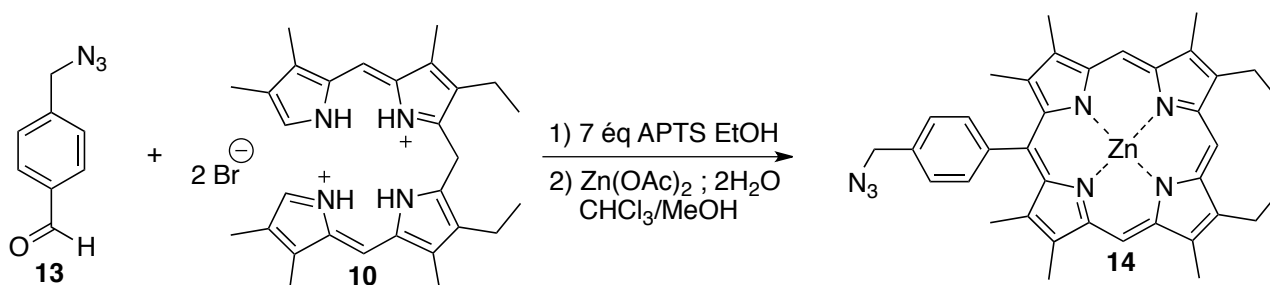
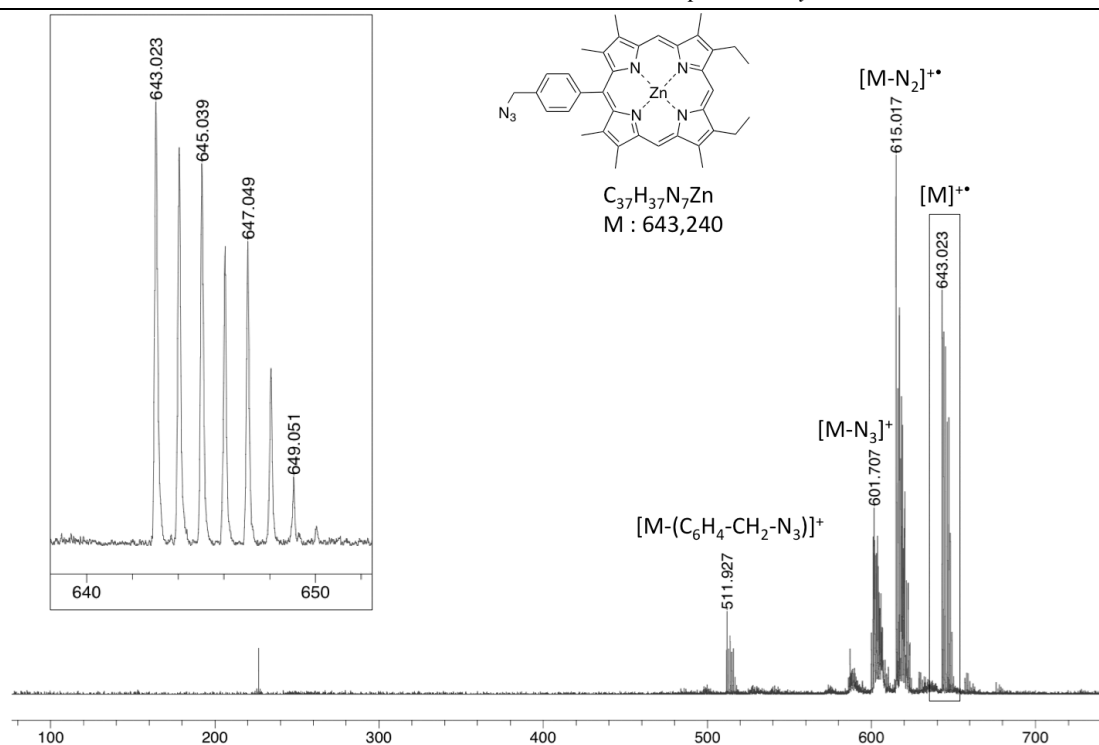


Schéma 57 : Synthèse de la 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-*para*(azidométhyl)phénylporphyrine **14**

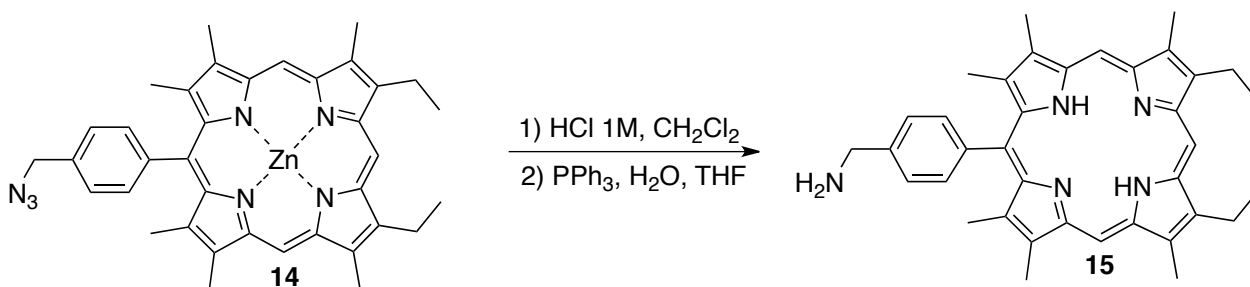
Le traitement de cette réaction débute par une filtration du brut réactionnel sur silice afin d'éliminer des sous-produits très polaires ou insolubles. Un atome de zinc est ensuite introduit dans la cavité porphyrinique afin de diminuer la polarité de la porphyrine et faciliter la purification. Le zinc présente l'avantage de pouvoir être, par la suite, facilement et quantitativement retiré de la cavité porphyrinique. La porphyrine base libre est ainsi traitée par un excès d'acétate de zinc en présence d'acétate de sodium dans un mélange chloroforme/MeOH. Après lavage à l'eau de la phase organique, la porphyrine peut facilement être séparée des sous-produits de réaction par une colonne de silice avec pour éluant du DCM.

La porphyrine mono azoture **14** a pu être caractérisée par spectroscopie UV-visible, par spectroscopie RMN ¹H et par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Malgré le fait que le mode d'ionisation MALDI (pour Matrix Assisted by Laser Desorption Ionization) soit une méthode d'ionisation relativement douce on peut observer sur le spectre de la porphyrine **14** plusieurs amas isotopiques qui proviennent de la fragmentation de la molécule, du fait de la présence de la fonction azoture. Sur la Figure 19 on peut noter la présence du pic moléculaire [M]⁺⁺ à 643,023 et des fragmentations, [M-N₂]⁺⁺ à 615,017, [M-N₃]⁺ à 604,005 et [M-(C₆H₄-CH₂-N₃)]⁺ à 511,927.

Figure 19 : Spectre de masse MALDI-TOF de la porphyrine **14**.

L'étape suivante de notre voie de synthèse est la réduction de la fonction azoture en amine. Nous avons tout d'abord essayé de réduire la fonction azoture par hydrogénation catalytique, en suivant un protocole décrit en 1992 par l'équipe de Corey.¹¹⁰ Nous avons mis la porphyrine **14** en solution dans l'acétate d'éthyle en présence de 10 % molaire de palladium sur charbon sous atmosphère de dihydrogène. Malgré plusieurs essais, en changeant de lot de catalyseur et en augmentant la quantité de palladium nous n'avons pas observé la formation du produit désiré. Nous avons donc décidé d'utiliser la méthode décrite par Gabriel Canard dans sa thèse qui consiste à réduire la fonction azoture par la méthode de Staudinger.^{107,111}

Avant de réduire la fonction azoture de la porphyrine **14**, nous l'avons mis en solution dans du chloroforme et traitée par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1M afin de retirer l'atome de zinc de la cavité porphyrinique. Une agitation forte est dans ce cas suffisante pour acidifier la phase organique et retirer l'atome de zinc en 2h. L'avancement de la réaction peut facilement être suivi par chromatographie sur couche mince. La phase organique est lavée plusieurs fois à l'eau distillée et la porphyrine base libre obtenue est directement mise en jeu dans l'étape de réduction.

Schéma 58 : Synthèse de la 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-*para*(aminométhyl)phénylporphyrine **15**

La porphyrine base libre est mise en solution en présence d'un léger excès de triphénylphosphine et d'eau dans le THF. Le mélange est porté à reflux durant 7h. Après évaporation, le brut réactionnel est chromatographié sur colonne d'alumine. En effet, la porphyrine amino **15** se révèle trop polaire pour pouvoir être purifiée sur colonne de silice. Cette réaction fonctionne avec un rendement de 40% pour les deux étapes de démétallation et de réduction, ce faible rendement est probablement lié à une trop grande stabilité de l'intermédiaire iminophosphorane.

Nous avons ensuite envisagé de coupler la porphyrine amino **15** à un dérivé du DOTA, le DOTA-tris(*t*Bu). Parmi les nombreuses conditions d'activation de la fonction acide carboxylique lors d'un couplage peptidique,¹⁰⁴ nous avons décidé d'utiliser des agents de couplage assez polyvalents, comme le couple EDC, BtOH (EDC pour 1-éthyl-3-(diméthylaminopropyl)carbodiimide et BtOH pour Hydroxybenzotriazole, Schéma 59).

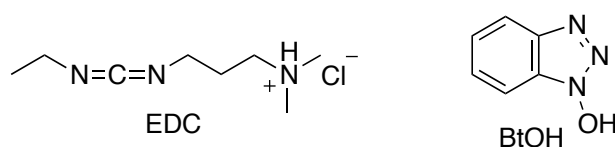


Schéma 59 : Structure des agents de couplage EDC et BtOH.

Les conditions de réaction sont assez simples puisque la porphyrine est mise en solution dans le DMF en présence d'un équivalent de DOTA-tris(*t*Bu) et d'un léger excès d'EDC et de BtOH. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante durant 24 h. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince et par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Une fois que la réaction n'évolue plus, le brut réactionnel est repris dans du chloroforme et la phase organique est lavée à l'eau distillée afin d'éliminer l'EDC. Le produit **16** est ensuite purifié par une colonne chromatographique d'alumine avec comme éluant tout d'abord un mélange DCM/MeOH (100/10), le produit désiré est ensuite décroché par un mélange DCM/AcOH (4/1).

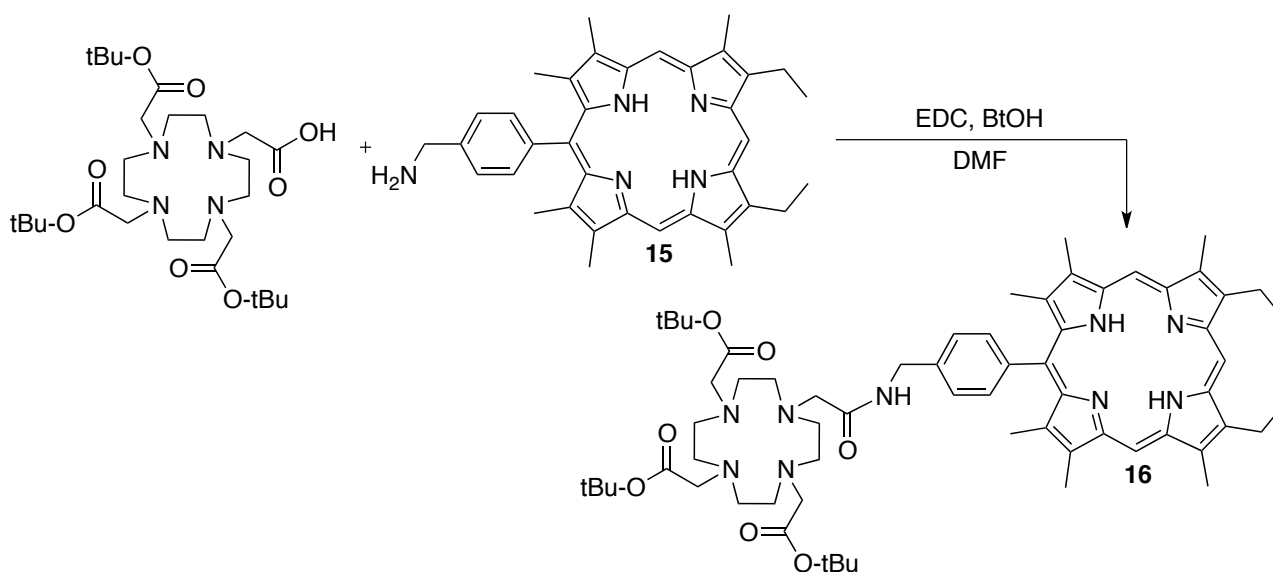


Schéma 60 : Synthèse de la 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(((DO3AtBuAM)N-méthylène)phényl) porphyrine **16**.

La formation du composé **16** a été mise en évidence par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure 20) et par spectroscopie RMN ^1H à une et deux dimensions et à différentes températures.

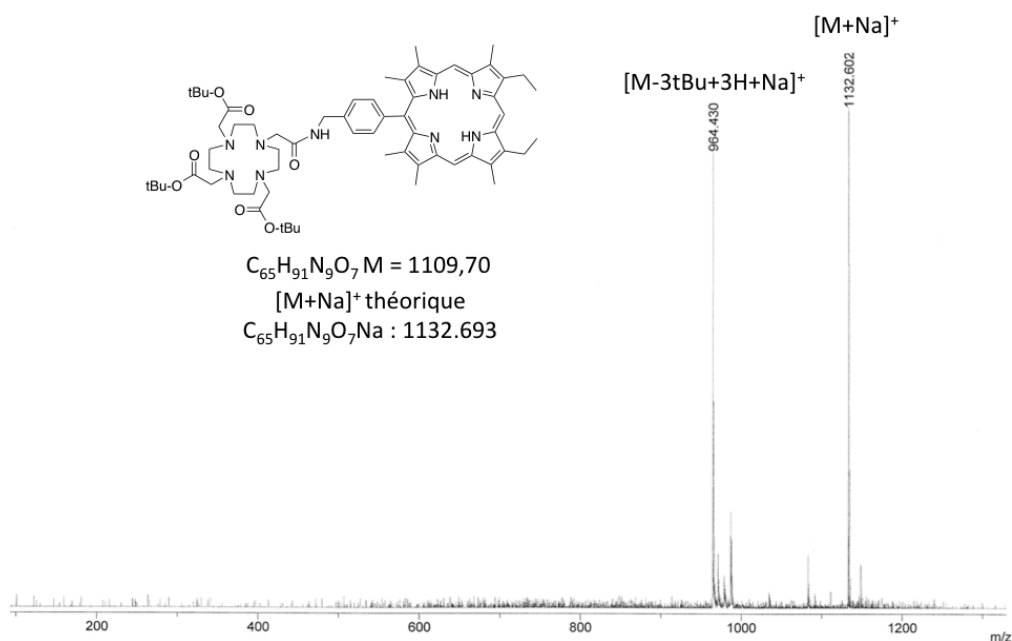


Figure 20 : Spectre de masse MALDI-TOF du composé **16**.

Sur le spectre de masse MALDI-TOF de la molécule **16**, on peut noter la présence de l'amas isotopique correspondant à un adduit de sodium sur la molécule, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ à 1132,602 et à un amas isotopique correspondant à la perte de toutes les fonctions ester *tert*-butylique et d'un adduit de sodium, $[\text{M}-3\text{tBu}+3\text{H}+\text{Na}]^+$ à 964,430.

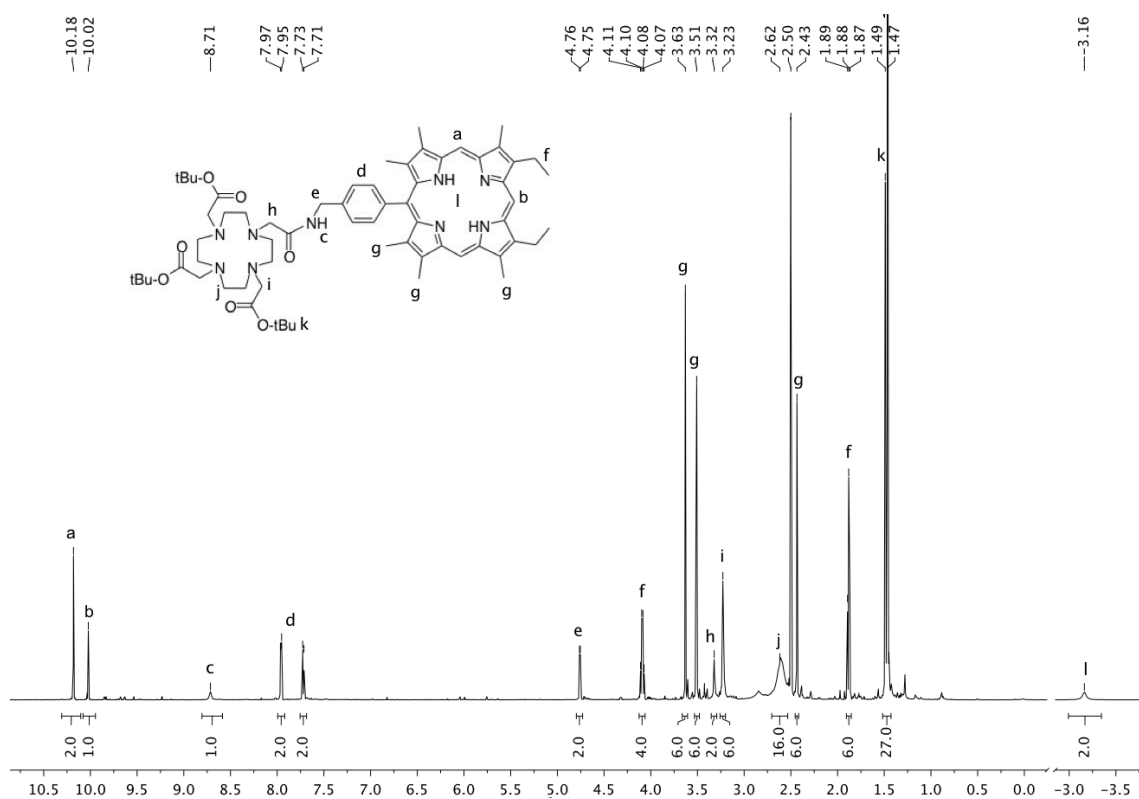


Figure 21 : Spectre RMN ^1H (DMSO D6, 400 K, 600 MHz) du composé **16**.

Le spectre RMN ^1H du composé **16** a été enregistré à 400 K de manière à obtenir la meilleure résolution possible pour les signaux des protons du tétraazamacrocycle. En effet, à température ambiante, les protons aliphatiques sont mal résolus du fait de l'existence de nombreux conformères en solution en échange lent à l'échelle de temps de la RMN. Sur la Figure 21, on peut noter quelques uns des signaux caractéristiques du composé **16**, comme les deux singulets intégrant pour deux protons et un proton à respectivement 10,18 ppm et 10,02 ppm qui correspondent aux protons des positions *meso* de la porphyrine. Le signal triplet intégrant pour un proton à 8,71 ppm correspond au proton de la fonction amide qui couple, avec une constante de 6 Hz, avec le signal doublet intégrant pour deux protons à 4,75 ppm (CH_2 du groupe benzyle de la porphyrine). Le signal singulet à -3,16 ppm intégrant pour deux protons correspond aux protons de la cavité porphyrinique.

La dernière étape de la synthèse de notre ligand est la déprotection des esters *tert*-butyliques en acides carboxyliques du dérivé du DOTA afin de rendre la molécule soluble en milieu aqueux et de permettre au macrocycle de complexer fortement les centres métalliques qui nous intéressent. Le composé **16** est solubilisé dans du dichlorométhane et un large excès d'acide trifluoroacétique est ajouté à la solution, qui passe d'une coloration rouge à une couleur verte caractéristique des porphyrines protonées. L'agitation est maintenue à température ambiante durant 24 h. Le milieu réactionnel est ensuite évaporé à sec. Tous les sous-produits tels que le *tert*-butanol ou réactifs de cette synthèse sont volatils. Les résidus sont à nouveau dissouts dans du dichlorométhane et le mélange est évaporé à sec. Cette procédure est répétée quatre fois. A ce stade le produit est généralement dissout directement dans du DMSO deutérié anhydre pour une analyse RMN en température variable.

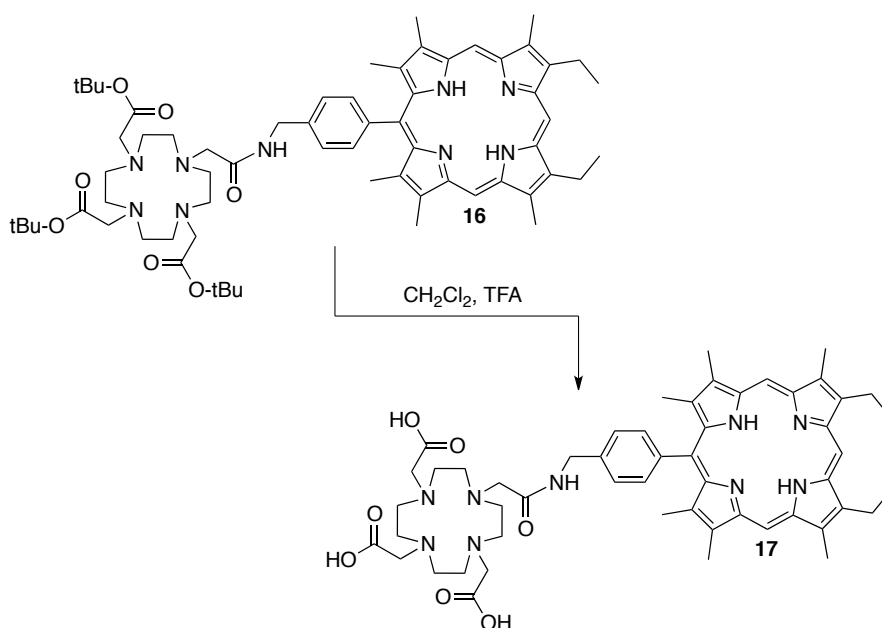


Schéma 61 : Synthèse de la 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(((DO3AAM)N-méthylène)phényl) porphyrine **17**

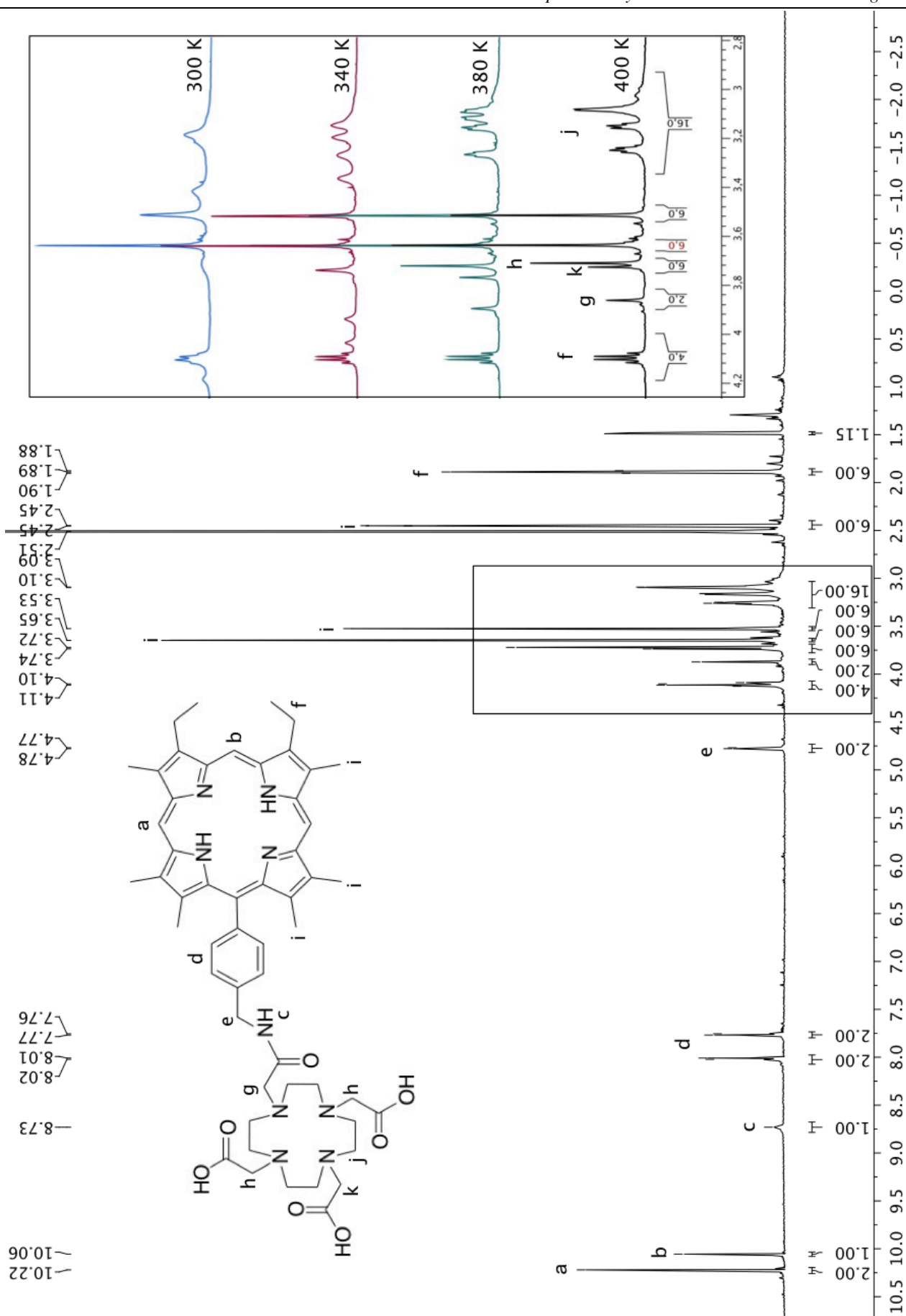


Figure 22 : Spectre RMN ^1H (DMSO D6, 400 K, 600 MHz) du composé **17**, zoom à différentes températures sur la zone des protons aliphatiques.

De la même manière que précédemment, le spectre RMN du composé **17** a été enregistré à 400 K afin d'obtenir la meilleure résolution possible. Sur la Figure 22 on peut voir un agrandissement de la région des protons aliphatiques enregistrée à 300, 340, 380 et 400 K qui illustre bien le gain de résolution lors de l'augmentation de la température d'analyse. Sur ce spectre on peut noter la présence d'un pic résiduel à 1,5 ppm correspondant aux protons des esters *tert*-butyliques. Ce pic intègre pour environ un proton au lieu de vingt-sept ce qui correspond à une déprotection quasi quantitative des fonctions ester. On peut aussi noter la disparition du signal correspondant aux protons de la cavité porphyrinique à 400 K, ceci est seulement dû à l'augmentation de la température puisque le singulet à -3,5 ppm qui intègre pour deux protons est tout à fait visible à température ambiante.

II.2.1.2 Synthèse du ligand composé d'une porphyrine et de deux dérivés du DOTA

Une fois le protocole de synthèse mis au point pour l'association d'un dérivé du DOTA et d'une porphyrine, il a suffi de synthétiser un autre précurseur porphyrinique substitué par deux fonctions benzylamine pour avoir facilement accès à un autre ligand de structure assez proche du composé **17**.

La synthèse d'une porphyrine substituée par deux fonctions identiques est d'ailleurs plus simple que la synthèse d'une porphyrine mono fonctionnalisée. En effet, par la cycloaddition [2+2] de type McDonald,⁸¹ on peut obtenir en une seule étape une porphyrine substituée par deux groupements différents en position *trans* sur les positions *meso*. Les produits de départ de la synthèse d'une porphyrine *trans*-A₂B₂ sont un dipyrrométhane substitué sur le carbone du pont (A) et un aldéhyde (Schéma 62).

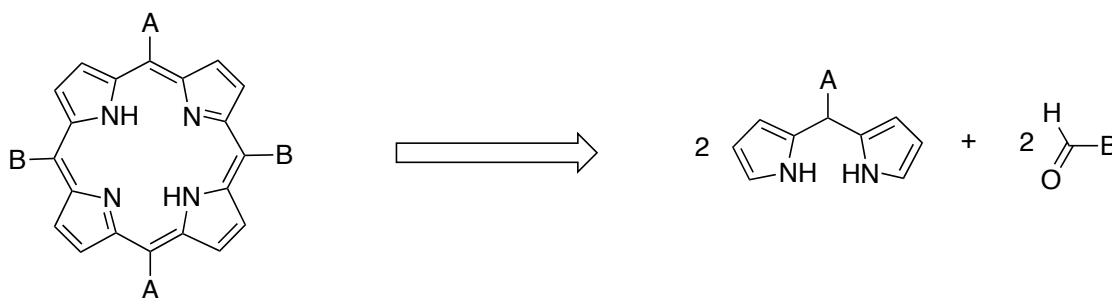


Schéma 62 : Rétrosynthèse d'une porphyrine *trans*-A₂B₂

La première étape de cette synthèse est la préparation du mésityldipyrrométhane selon la méthode décrite par l'équipe de Lindsey en 1999 (Schéma 63).¹¹² L'utilisation du mésitaldéhyde, encombré sur les positions ortho du cycle aromatique permet de limiter les réarrangements qui peuvent avoir lieu durant la synthèse de la porphyrine, ce qui facilite le traitement et permet d'obtenir de bons rendements.⁸¹ Le groupement mésityle joue aussi un rôle dans la solubilité de la porphyrine en milieu organique.

Le mésityldipyrrométhane est préparé en mettant le mésitaldéhyde en solution à une concentration de 0,2 M dans du pyrrole fraîchement distillé, sous atmosphère inerte. La réaction est catalysée par 10% molaire d'acide trifluoroacétique. Après deux heures d'agitation l'acide est neutralisé par ajout d'un excès de soude en poudre qui n'est pas soluble dans le pyrrole et peut donc être facilement éliminée par filtration. Le pyrrole est ensuite évaporé et peut ainsi être récupéré. Le produit **18** est purifié par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant du DCM.

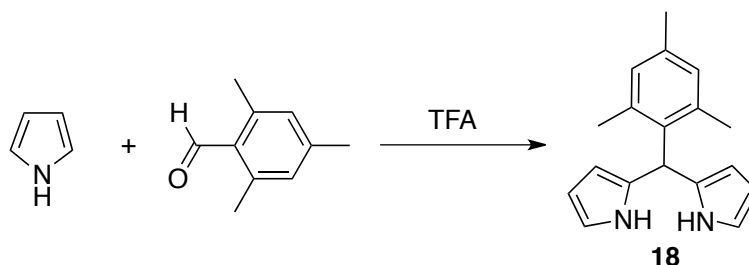


Schéma 63 : Synthèse du mésityldipyrrométhane **18**.

Le mésityldipyrrométhane **18** est ensuite mis en jeu avec le *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13** pour former la porphyrine *trans*-A₂B₂ **19** selon les conditions classiques de cycloaddition [2+2] de type McDonald (Schéma 64). Les réactifs **13** et **18** sont mis en solution dans du chloroforme à une concentration d'environ 0,2 M sous atmosphère inerte. La réaction est catalysée par l'étherate de BF₃ à une concentration d'environ 3 mM. Après deux heures d'agitation à température ambiante le porphyrinogène formé est oxydé par l'addition dans le milieu de *para*-chloranil. Le solvant est ensuite évaporé et la porphyrine **19** est purifiée par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant du DCM.

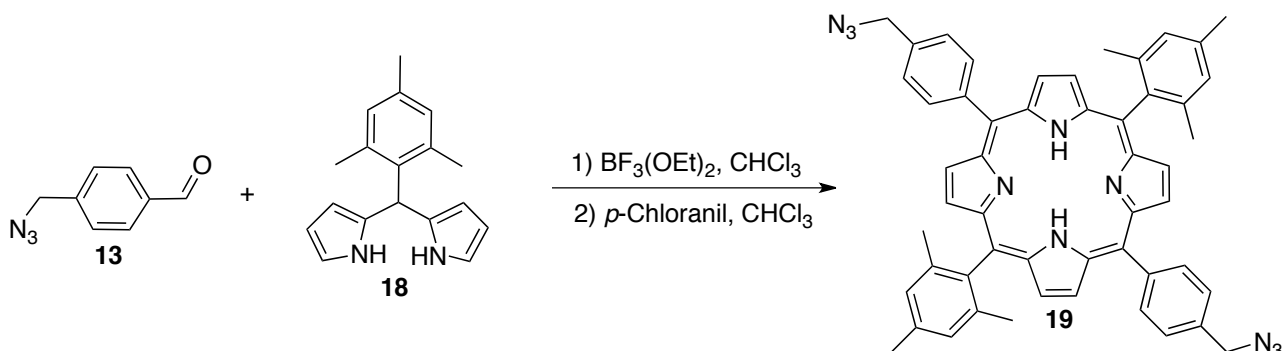


Schéma 64 : Synthèse de la 5,15-bis(4-(azidométhyl)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **19**.

Comme la réaction de Staudinger utilisée précédemment pour réduire la porphyrine **14** substituée par une seule fonction azoture a donné un rendement moyen de 40%, nous avons décidé d'utiliser des conditions de réduction un peu plus fortes grâce au tétrahydruroaluminate de lithium. La porphyrine **19** est donc mise en solution dans du THF distillé et additionnée lentement sur un large excès de LiAlH₄ en solution dans le THF sous atmosphère inerte à -80°C. Le mélange est ensuite agité durant une heure à température ambiante puis à nouveau refroidi à -80°C pour l'hydrolyse de la réaction par ajout d'eau dans le milieu. Le produit **20** est extrait du milieu par du chloroforme puis purifié par colonne de silice avec comme éluant un mélange DCM/MeOH.

(100/10). Le produit se révèle être trop polaire pour éluer correctement sur silice. Il est décroché par ajout d'ammoniac dans l'éluant, ce qui peut expliquer le rendement moyen de 44% de cette étape.

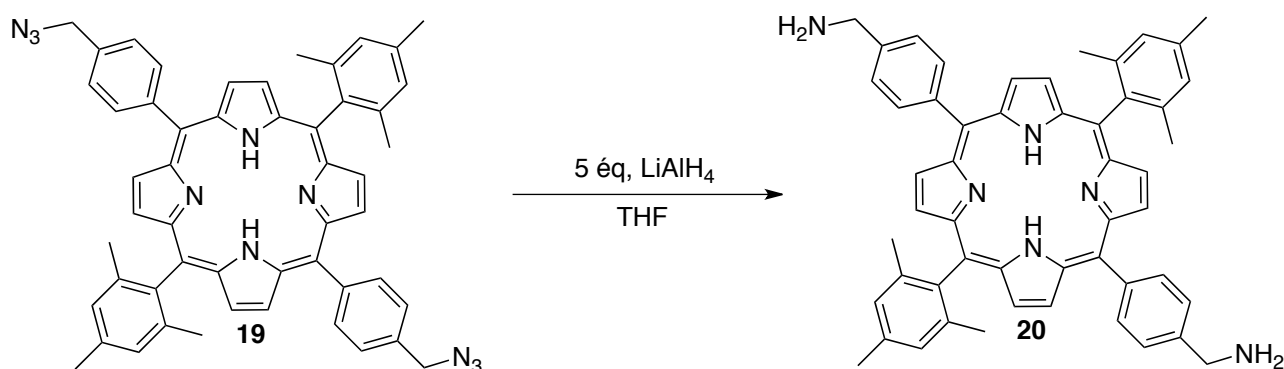


Schéma 65 : Synthèse de la 5,15-bis(4-(aminométhyl)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **20**.

La formation de la porphyrine **20** qui porte deux fonctions benzylamine peut être mise en évidence par spectroscopie RMN ^1H (Figure 23), notamment grâce au blindage des protons voisins de l'atome d'azote, de 4,73 ppm pour la fonction azoture à 4,16 ppm pour la fonction amine. Les protons échangeables des fonctions amines ne sont pas visibles sur le spectre du composé **20**, ceci est dû à la présence de traces d'eau dans le tube RMN comme le montre le pic à 1,56 ppm. Les autres signaux du spectre restent très peu affectés par la réaction.

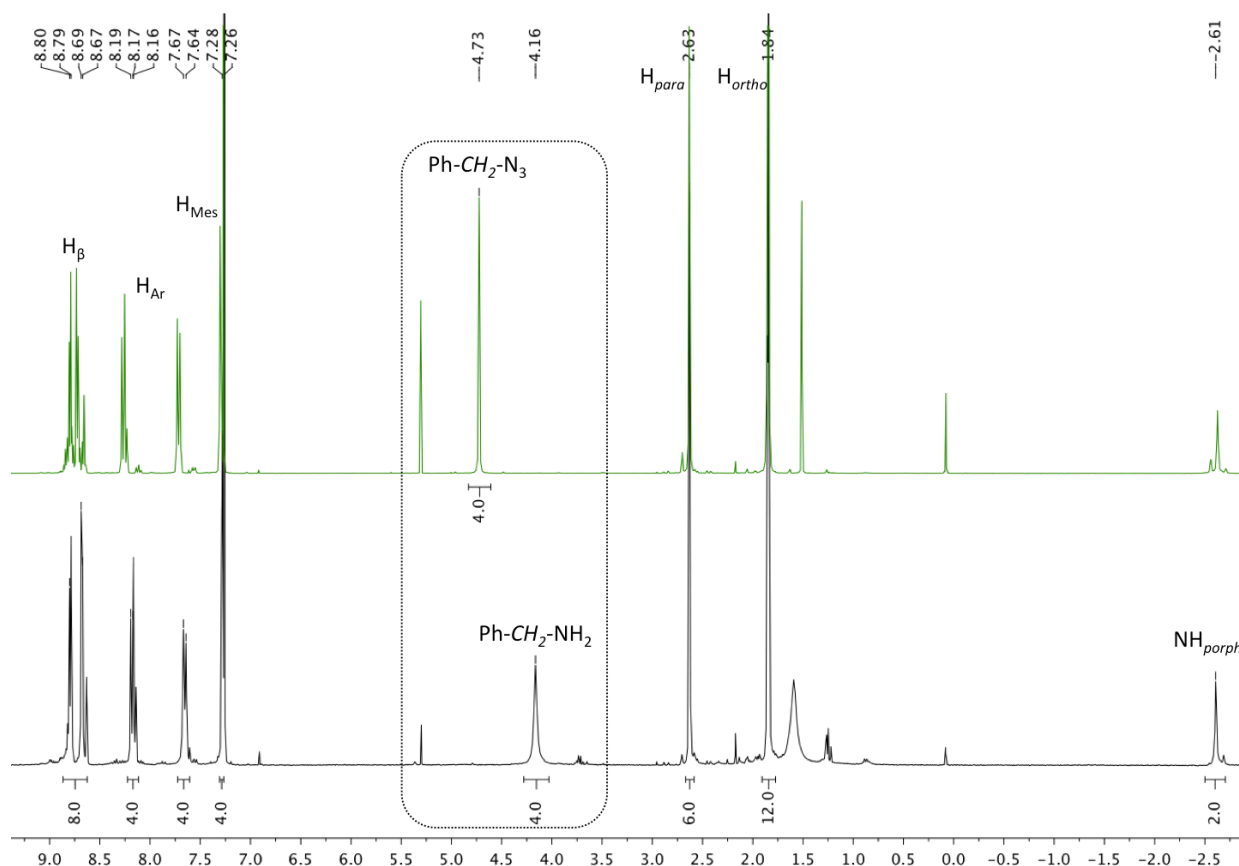


Figure 23 : Spectres RMN ^1H (CDCl₃, 300 MHz, 300 K) des composés **19** (en vert) et **20** (en noir).

L'étape suivante de la voie de synthèse est le couplage peptidique entre la porphyrine **20** et le DOTA-tris(*t*Bu)NHS, l'ester activé par un groupement succinimide du DOTA-tris(*t*Bu) (Schéma 66). L'utilisation d'un ester activé permet de s'affranchir de la présence en solution de deux agents de couplage en excès par rapport aux produits de départ. Ces agents de couplage peuvent être difficiles à séparer durant le traitement de la réaction. Ici, le sous produit de la réaction de couplage, le *N*-hydroxysuccinimide, peut être éliminé par un lavage avec un acide faible qui sera suffisant pour protoner la fonction amine et rendre le sous-produit soluble dans la phase aqueuse.

La porphyrine **20** a été mise en solution dans du dichlorométhane en présence d'un léger défaut (1,9 éq) de DOTA-tris(*t*Bu)NHS de manière à faciliter les purifications. En effet le produit désiré **21** et le DOTA-tris(*t*Bu) ont des polarités voisines et sont difficiles à séparer. Le milieu réactionnel est agité durant trois heures à température ambiante. L'avancement de la réaction est contrôlé par chromatographie sur couche mince. Lorsque la réaction n'évolue plus, la phase organique est lavée par une solution d'acide citrique à pH = 5. Le produit **21** est purifié par une colonne chromatographique de silice avec pour éluant un mélange DCM/MeOH (100/5).

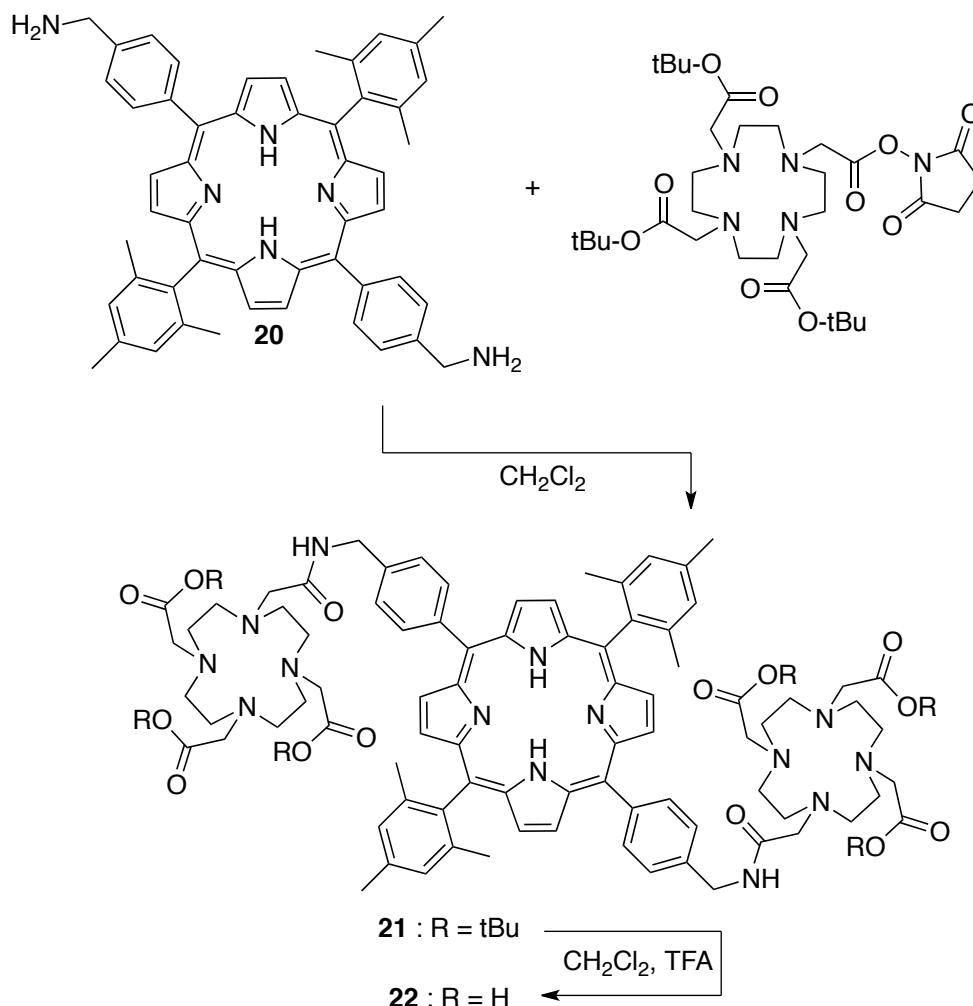


Schéma 66 : Synthèse de la 10,15-bis((DO3AtBuAM)N-méthylène)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **21** et de la 10,15-bis((DO3AAM)N-méthylène)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **22**.

Comme précédemment les six fonctions acide sont déprotégées par un traitement à l'acide trifluoroacétique du produit **21** pour donner le ligand **22**.

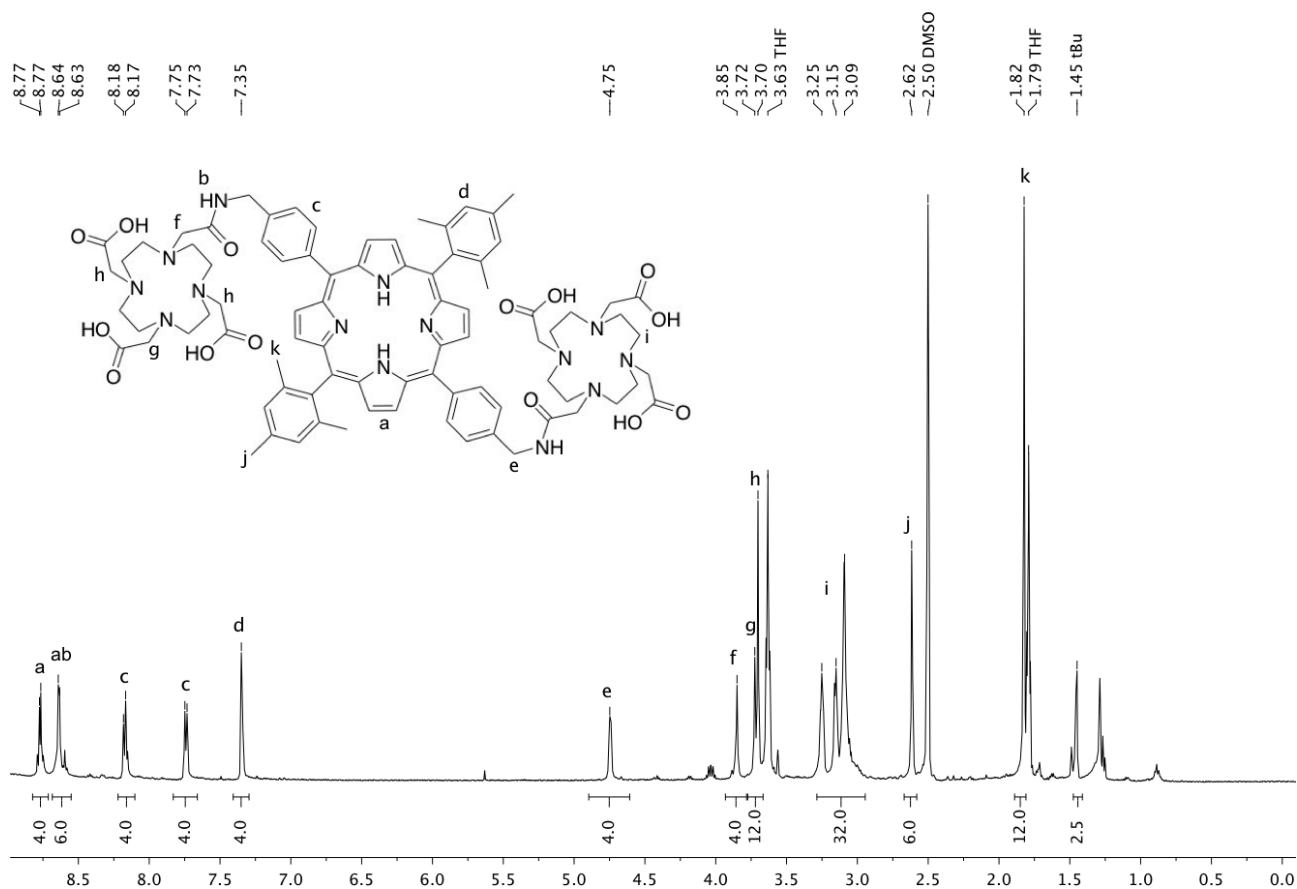


Figure 24 : Spectre RMN ^1H (DMSO D6, 400 K, 500 MHz) du composé **22**.

Le ligand **22** a été caractérisé par spectrométrie de masse MALDI-TOF et Electrospray et par spectroscopie RMN ^1H à 400 K. Sur la Figure 24 on peut noter la présence de signaux caractéristiques, notamment le doublet à 4,75 ppm intégrant pour quatre protons correspondant au CH_2 benzylique qui couple avec le proton de la fonction amide, lui-même confondu avec le signal correspondant aux protons des positions β de la porphyrine à 8,63 ppm. On peut aussi noter la présence d'un pic résiduel des groupements *tert*-butyle à 1,45 ppm intégrant pour 2,5 protons au lieu de 56, ce qui correspond à une déprotection quasi quantitative.

II.2.2 Synthèse du ligand composé d'une porphyrine et de quatre dérivés du DOTA

Une fois les ligands **17** et **22** préparés, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'une porphyrine portant de quatre fonctions benzylamine, de manière à pouvoir incorporer quatre dérivés du DOTA autour de la porphyrine.

La synthèse de la tétra-*para*-(benzylamine)porphyrine a été décrite en 1993 par l'équipe de Pina avec un rendement global de 10 %.¹¹³ Le groupe de Pina a mis au point une synthèse où la fonction amine est protégée grâce à l'introduction d'une fonction phthalimide sur un précurseur

aldéhydique qui a ensuite été mis en jeu dans une synthèse de porphyrines de type Adler-Longo.⁷⁷ C'est l'étape de déprotection de la fonction amine qui s'est révélée être l'étape limitante de cette voie de synthèse.

Pour notre part, nous avons à notre disposition le précurseur *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13**, déjà utilisé pour la synthèse des ligands **17** et **22**. Nous avons donc décidé de former la tétra-*para*-(benzylazoture)porphyrine comme précurseur de la porphyrine substituée par quatre fonctions benzylamine. La synthèse de la tétra-*para*-(benzylazido)porphyrine **24** a été décrite en 2011 par l'équipe d'Harriman avec un rendement global de 12% par la condensation du *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde sur du pyrrole catalysée par l'étherate de trifluorure de bore dans le dichlorométhane.¹¹⁴

Pour la synthèse de la tétra-*para*-(benzylazoture)porphyrine **24**, nous avons décidé, pour notre part, d'explorer deux voies de synthèses différentes A et B (Schéma 67). La voie A passe par une cycloaddition [2+2] de type McDonald, mettant en jeu un dipyrrométhane qu'il faudra synthétiser au préalable. La voie B est la synthèse directe selon la méthode d'Adler-Longo de la porphyrine A₄.

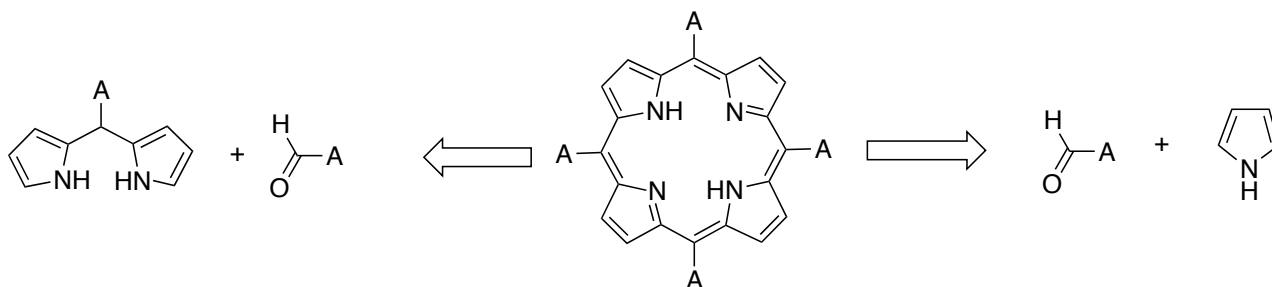


Schéma 67 : Voies de synthèses envisagées.

Le 5-(*para*-(azidométhyl)phényl)dipyrrométhane **23**, dont la synthèse a déjà été décrite par notre groupe,¹¹⁵ est préparé en mettant le *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13** en solution à une concentration de 0,2 M dans du pyrrole fraîchement distillé, sous atmosphère inerte. La réaction est catalysée par 10% molaire d'acide trifluoroacétique. Après deux heures d'agitation l'acide est neutralisé par ajout d'un excès de soude en poudre qui n'est pas soluble dans le pyrrole et peut donc être facilement éliminé par filtration. Le pyrrole est ensuite évaporé et récupéré. Le dipyrrométhane **23**, après purification par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant du DCM, est obtenu avec un rendement de 82%.

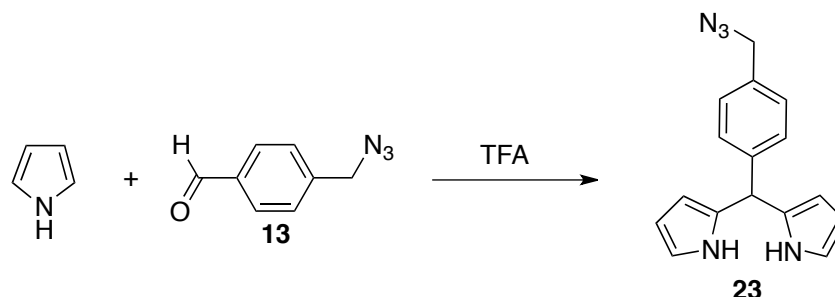


Schéma 68 : Synthèse du 5-(*para*-(azidométhyl)phényl)dipyrrométhane **23**.

Nous avons comparé deux méthodes de cyclisation de la porphyrine tétra-*para*-(benzylazoture)porphyrine **24**, (Schéma 69). Pour retenir la meilleure méthode, nous avons tenu compte du rendement, de la facilité de purification ainsi que du temps nécessaire pour obtenir le produit.

Au niveau du rendement les deux méthodes se valent, puisque si l'on tient compte de la formation du dipyrrométhane **23**, la voie A opère avec un rendement global de 26% et la voie B de 24%. Au niveau du temps nécessaire pour obtenir la porphyrine **24**, la voie B est un peu plus rapide puisqu'elle est composée d'une seule étape. C'est cependant au niveau de la facilité de purification que la voie A est bien supérieure à la voie B. En effet, pour la voie B, après avoir chauffé le pyrrole et l'aldéhyde au reflux de l'acide propionique, la porphyrine a beaucoup de mal à précipiter même après neutralisation de l'acide à froid. Le brut réactionnel ainsi formé est relativement dur à purifier. En revanche la voie A, qui consiste à condenser l'aldéhyde **13** sur le dipyrrométhane **23** par une catalyse à l'étherate de trifluorure de bore dans le chloroforme, permet une purification plus facile de la porphyrine **24**.

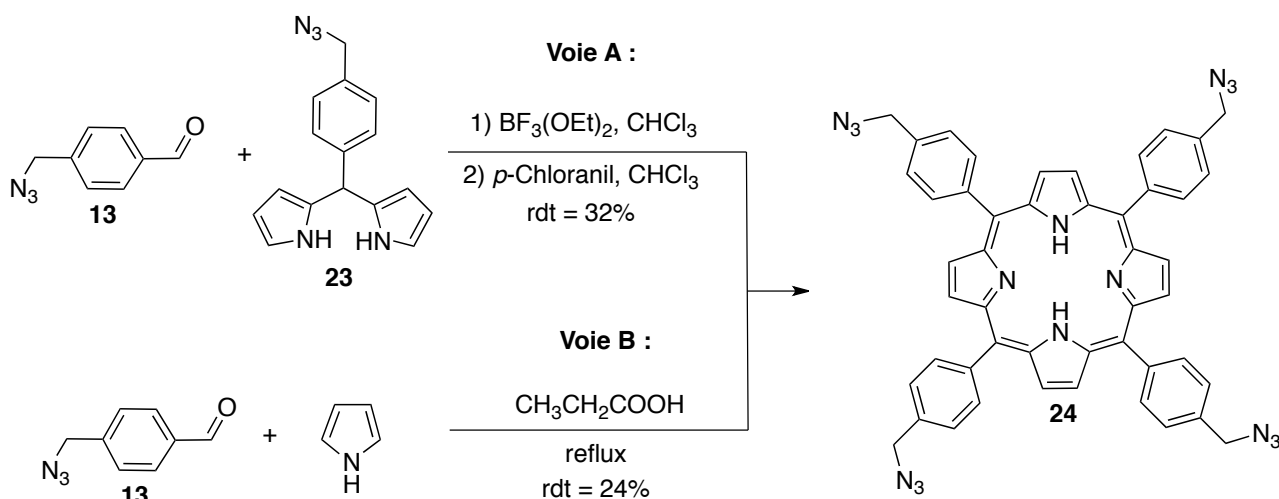
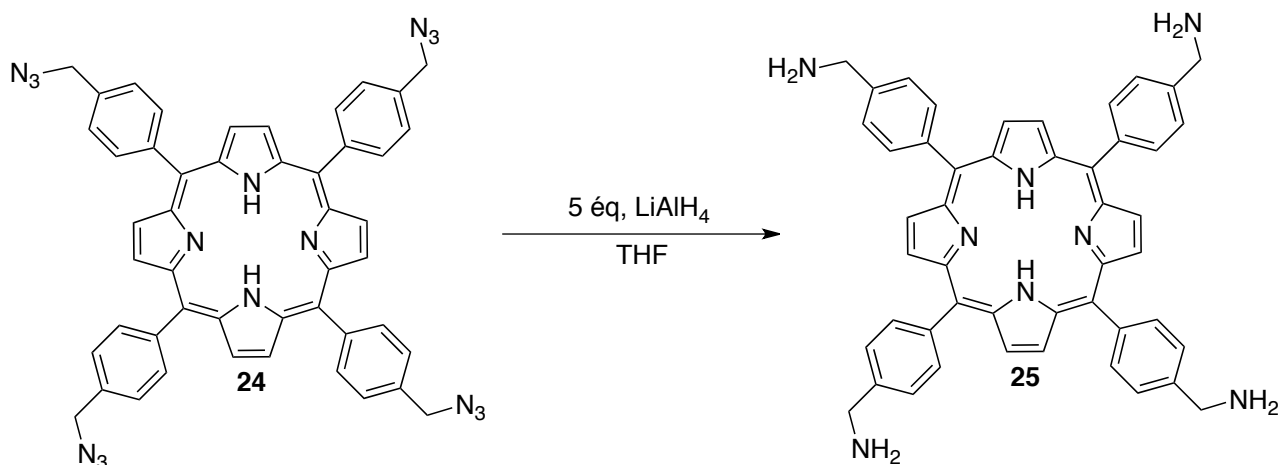


Schéma 69 : Voies de synthèse de la tétra-*para*-(benzylazoture)porphyrine **24**.

Nous avons donc mis au point une nouvelle méthode de synthèse de la tétra-*para*-(benzylazoture)porphyrine **24** en deux étapes avec un rendement global de 26%. Ce rendement est plus de deux fois supérieur à celui référencé dans la littérature.¹¹⁴

L'étape de réduction des fonctions azoture en fonctions amine a comme précédemment été effectuée par traitement de la porphyrine **24** avec un excès de tétrahydrualuminate de lithium dans le THF distillé (Schéma 70). Cette étape de réduction est réalisée avec un rendement de 70%. La difficulté majeure de la purification vient du fait que les traces d'acidité des solvants chlorés, tels que le dichlorométhane ou le chloroforme, sont suffisantes pour protoner une ou plusieurs fonctions amine de la molécule, la rendant rapidement insoluble en milieu organique. Pour palier à ce problème les solvants chlorés ont été mis en contact avec du K_2CO_3 et filtrés juste avant d'être utilisés.



Comme précédemment le couplage peptidique est effectué entre la porphyrine **25** qui porte quatre fonctions amine et le DOTA-tris(*t*Bu)NHS (Schéma 71). Dans cette synthèse nous avons utilisé un excès de l'ester activé dérivé du DOTA pour augmenter le rendement de la réaction. Malgré cet excès et après une purification délicate du fait de la polarité proche des produits à séparer, nous obtenons le produit **26** avec un rendement de 25% pour cette étape.

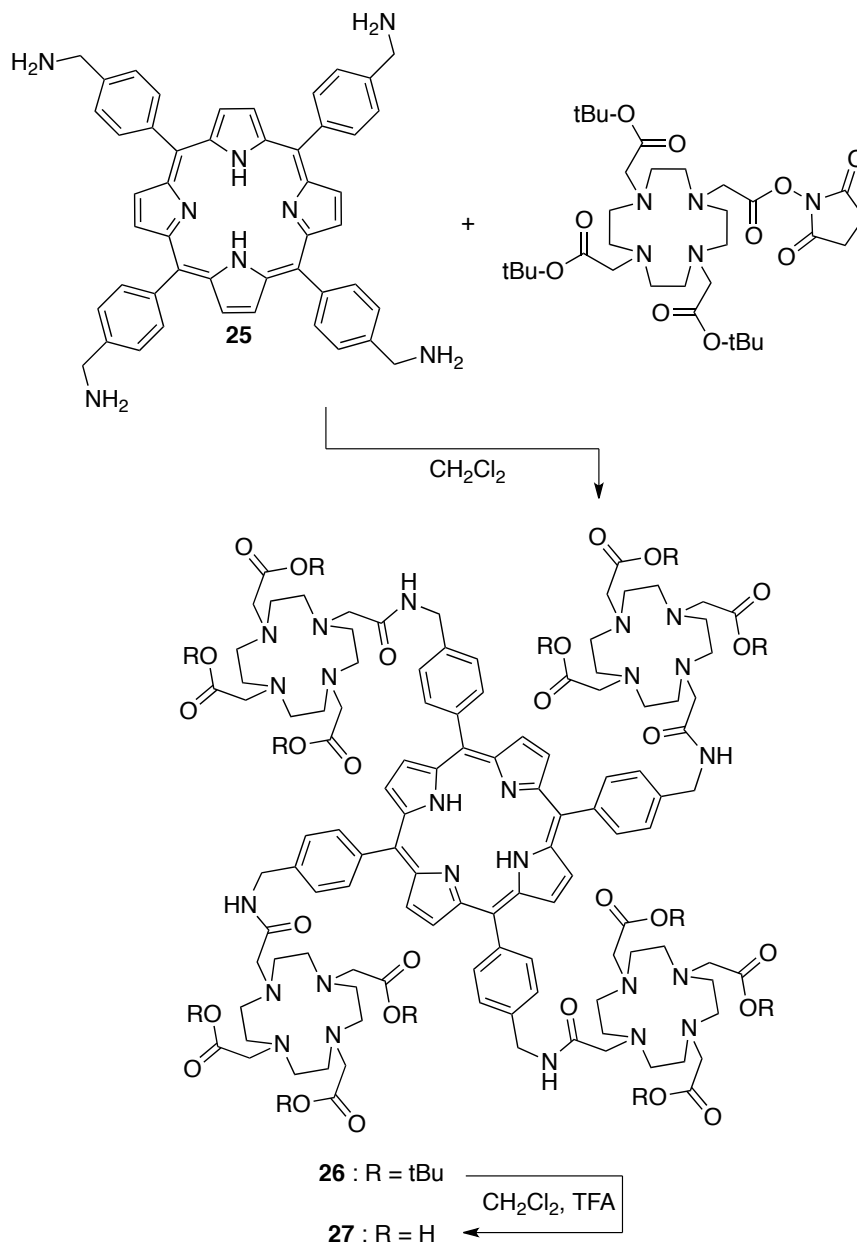


Schéma 71 : Synthèse de la 5,10,15,20-tétrakis((DO3AtBuAM)N-méthylène)phénylporphyrine **26** et de la 5,10,15,20-tétrakis((DO3AAM)N-méthylène)phénylporphyrine **27**.

Les fonctions acide de la molécule, protégées sous forme d'esters *tert*-butyliques, ont été libérées par un excès d'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane à température ambiante et durant 24h.

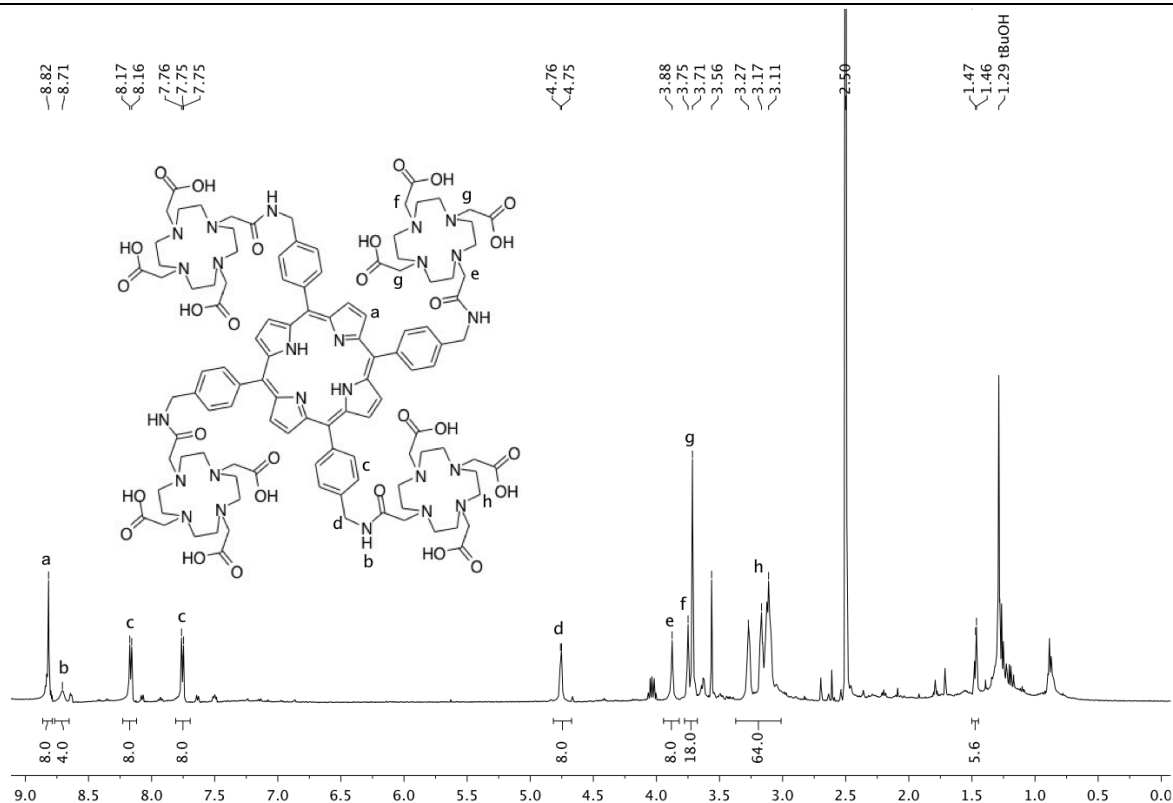


Figure 26 : Spectre RMN ^1H (DMSO D6, 400 K, 500 MHz) du composé **27**.

Le ligand **27** a été caractérisé par spectrométrie de masse MALDI-TOF et Electrospray et par spectroscopie RMN ^1H à 400 K dans le DMSO deutérié anhydre. Sur la Figure 26, on peut noter la présence de signaux caractéristiques, notamment le doublet à 4,75 ppm intégrant pour huit protons correspondant au CH_2 benzylique qui couple avec le signal de la fonction amide, à 8,71 ppm. On peut aussi noter la présence d'un pic résiduel des groupements tert-butyle à 1,46 ppm intégrant pour 5,6 protons au lieu de 108 ce qui correspond à une déprotection quasi quantitative.

II.2.3 Améliorations de la voie de synthèse

Une fois les ligands **17**, **22** et **27** synthétisés nous nous sommes intéressés aux améliorations pouvant être apportées à la voie de synthèse. En effet, les synthèses développées jusqu'à présent souffrent de plusieurs points faibles, les rendements globaux sont relativement faibles, la structure des ligands n'intègre pas de fonction de greffage vers un vecteur biologique, ce qui est une caractéristique indispensable pour pouvoir qualifier nos ligands d'agents bifonctionnels chélatants. Enfin le précurseur *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13** utilisé comme protection d'amine n'est pas commercial et le produit de départ permettant de l'obtenir est relativement cher (environ 90€ les 10 g pour le *para*-(bromométhyl)benzonitrile).

Nous avons mis au point une nouvelle voie de synthèse où la porphyrine joue le rôle de ligand et en même temps le rôle d'espaceur pour intégrer une fonction activable et lier de façon covalente un dérivé du DOTA (Figure 27).

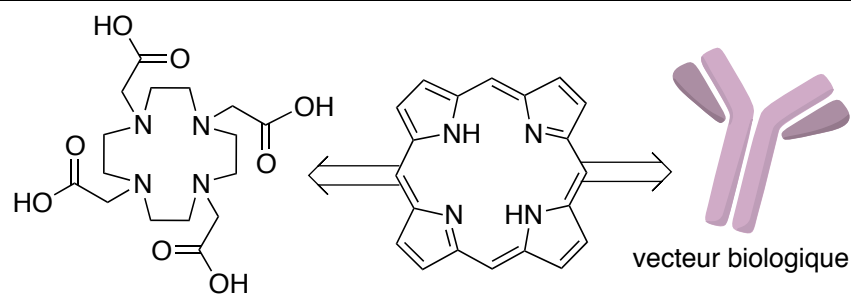


Figure 27 : Plateforme porphyrinique jouant le rôle de ligand et d'espaceur.

La porphyrine que nous voulons utiliser doit être substituée par des fonctions différentes. Il existe plusieurs solutions pour créer une porphyrine asymétrique. On peut envisager soit une cyclisation statistique qui implique un lourd travail de purification, soit une synthèse multi-étapes qui ne fournit que le produit désiré lors de la cyclisation et qui implique un travail de synthèse important. Nous avons privilégié une troisième approche qui se base sur la cyclisation d'une porphyrine symétrique dont une seule des deux fonctions peut être substituée par une méthode statistique. Cette approche est viable si nous mettons au point une synthèse qui comporte peu d'étapes et dont les purifications sont faciles et rapides.

Lors de la synthèse des ligands **17**, **22** et **27**, nous avons vu que pour créer une liaison amide à partir d'une porphyrine substituée par une amine et d'un macrocycle substitué par une fonction acide il fallait employer des agents de couplage ou une forme activée de la fonction acide carboxylique, et que les porphyrines substituées par une fonction aniline étaient trop désactivées pour pouvoir être utilisées dans ce type de synthèse. Nous avons donc choisi une autre approche rétrosynthétique afin de former le même produit, en passant cette fois par une substitution nucléophile sur le dérivé du DOTA et non plus par un couplage peptidique (Schéma 72).

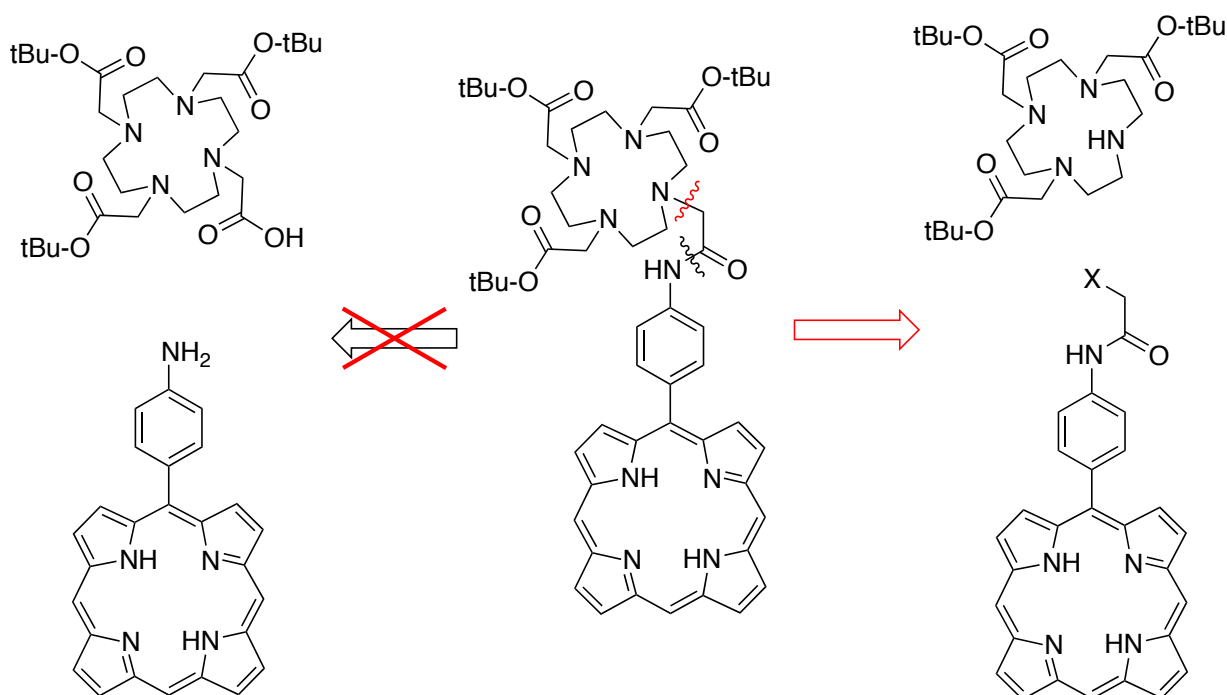


Schéma 72 : Changement de stratégie dans la voie de synthèse.

II.2.3.1 Synthèse d'un ligand composé d'une porphyrine, d'un dérivé du DOTA et d'une fonction de greffage

Dans la voie de synthèse suivante, nous avons choisi d'utiliser la fonction acétamide comme précurseur de fonction amine. La synthèse de la 5,15-bis(4-(amino)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **29** a été décrite en 2006 par l'équipe de Lee.¹¹⁶ La première étape est une cyclisation [2+2] de type McDonald entre le 4-(acétamido)benzaldéhyde et le mésityldipyrrrométhane **18** précédemment décrit (Schéma 73). Après purification et recristallisation dans un mélange DCM/heptane, la porphyrine A₂B₂ **28** désirée est obtenue avec un rendement de 13%.

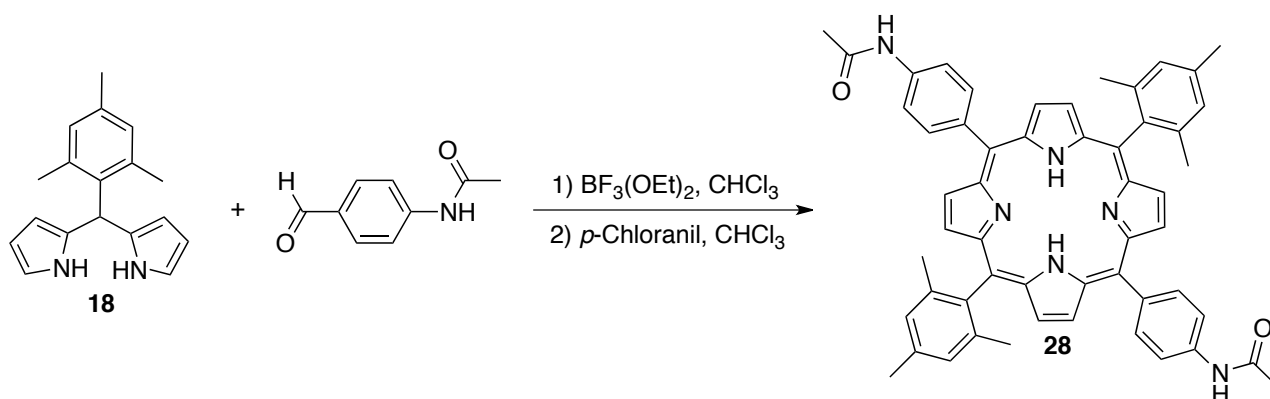


Schéma 73 : Synthèse de la 5,15-bis(4-(acétamido)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **28**.

Lors de la déprotection des fonctions amine nous n'avons pas utilisé le protocole décrit dans la littérature qui utilise de grandes quantités d'acide chlorhydrique (160 mL d'HCl concentré pour 500 mg de produit de départ) qu'il faut ensuite neutraliser. Nous avons préféré utiliser un léger excès d'acide *para*-toluènesulfonique, 4,4 équivalents par rapport à la porphyrine **28** à reflux dans l'éthanol durant 24 h (Schéma 74). Après neutralisation, purification par une colonne chromatographique de silice et recristallisation la porphyrine A₂B₂ **29** est obtenue avec un rendement de 83%.

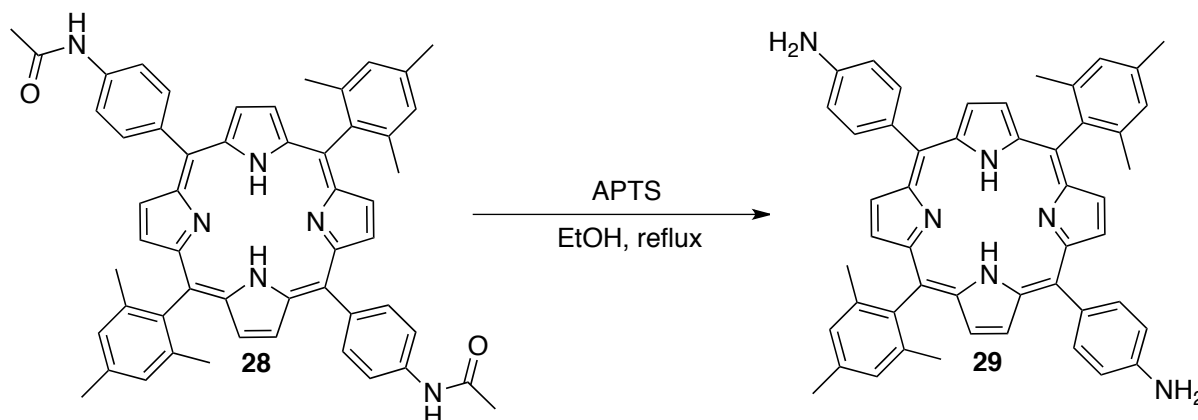


Schéma 74 : Synthèse de la 5,15-bis(4-(amino)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **29**.

La formation du composé **29** a été mise en évidence par spectroscopie RMN ^1H . On peut noter sur la Figure 28, la disparition des signaux des fonctions acétamide équivalentes, les singulets à 7,48 et 2,36 ppm intégrant respectivement pour deux et six protons, ainsi que l'apparition du singulet à 4,01 ppm intégrant pour deux protons correspondant aux fonctions amine équivalentes. La transformation des fonctions amide en amine modifie aussi la richesse électronique des cycles aromatiques, les doublets sont blindés de 8,17 à 8,00 ppm et de 7,88 à 7,05 ppm respectivement.

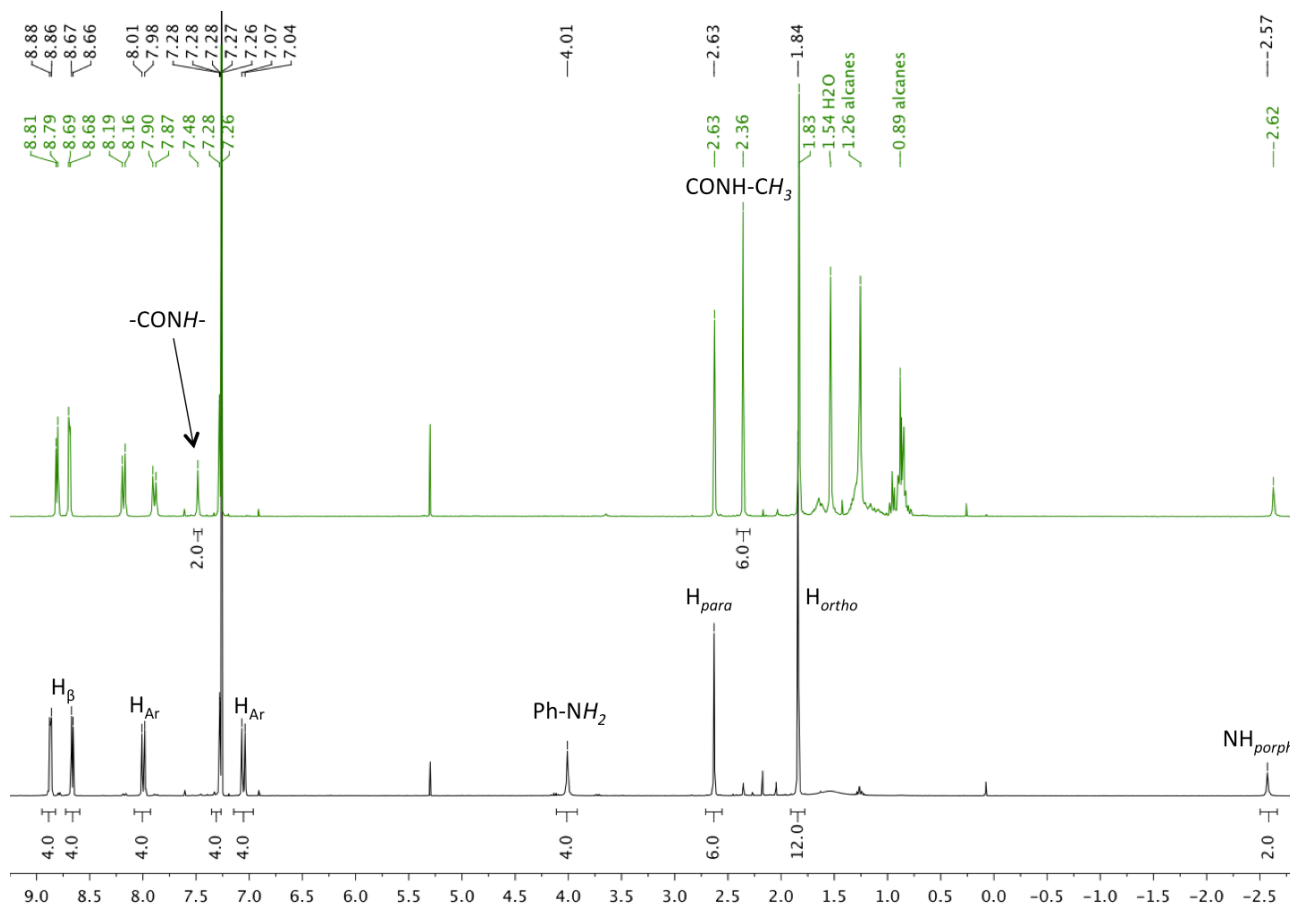


Figure 28 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) des composés **28** (en vert) et **29** (en noir).

L'étape clé de cette voie de synthèse est la fonctionnalisation d'une seule fonction aniline de la porphyrine **29**. Nous avons décidé de créer une fonction amide en faisant réagir la porphyrine **29** avec du chlorure de chloroacétyle. Nous espérons lors de cette synthèse que la formation de la première fonction aniline aurait une influence sur la réactivité de la seconde. Malheureusement, cette réaction est purement statistique. Nous avons tenté de modifier les conditions de réaction, en refroidissant et en faisant varier le nombre d'équivalents de chlorure de chloroacétyle. Le meilleur compromis que nous ayons trouvé est l'ajout d'un équivalent de chlorure de chloroacétyle à la porphyrine **29** en présence de diisopropyléthylamine dans le dichlorométhane à température ambiante (Schéma 75). Cette réaction est rapide et le suivi par chromatographie sur couche mince montre l'apparition des produits en quelques minutes et au bout de 2h la réaction n'évolue plus. Les produits formés lors de cette réaction sont donc les produits de mono et bis-addition avec des

rendements respectifs de 33% et 32%. On récupère aussi 35% du produit de départ suite à l'utilisation de chlorure de chloroacétyle en défaut.

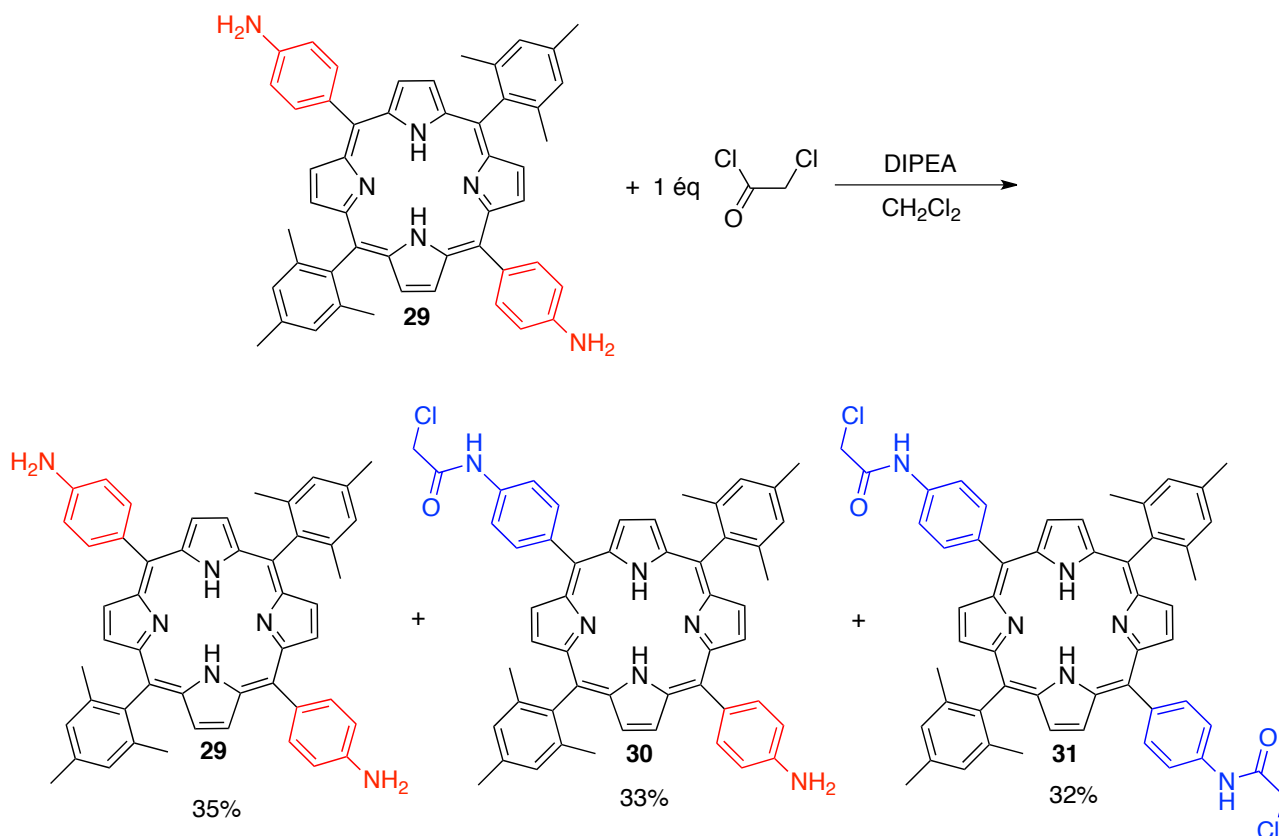
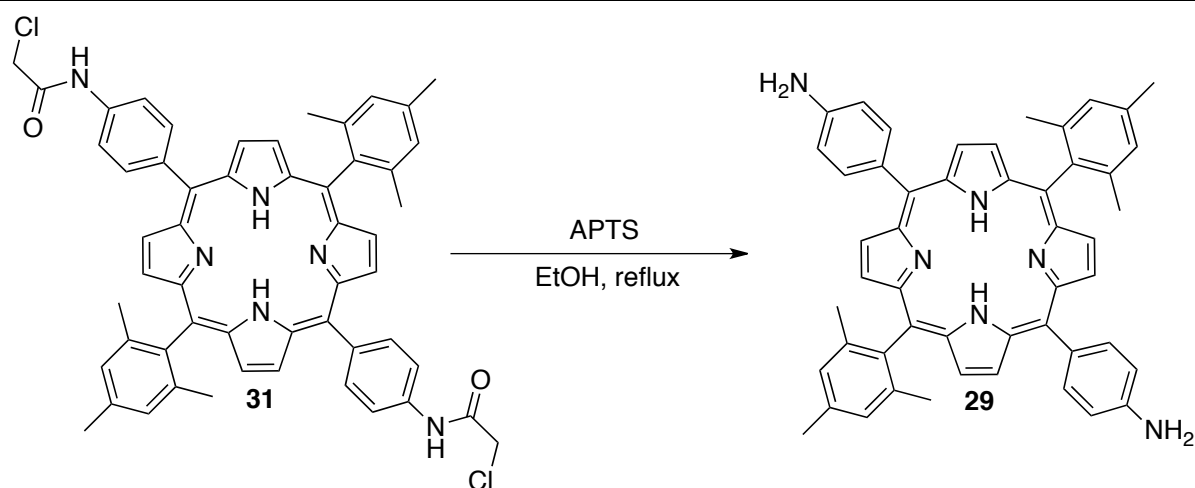
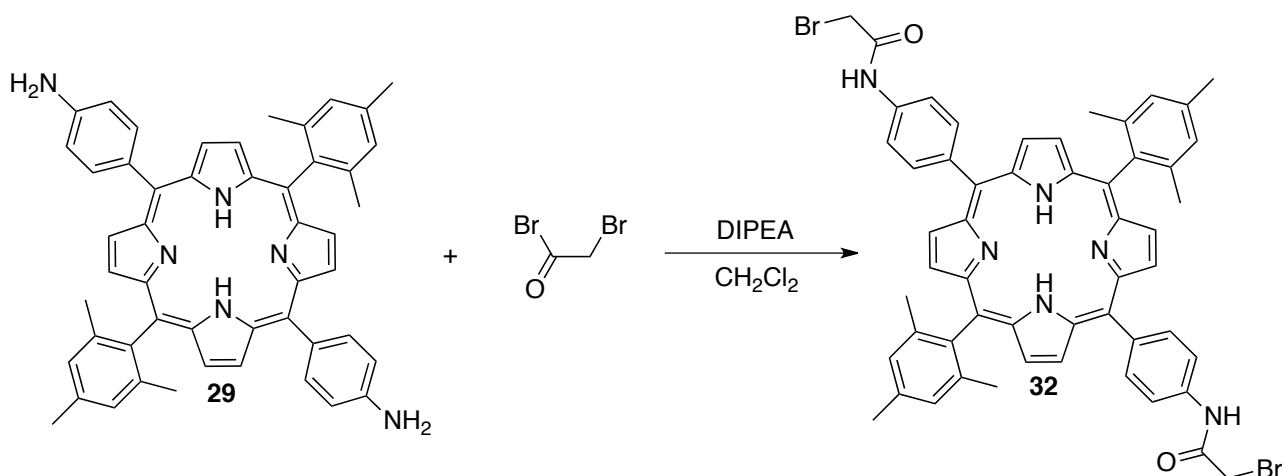


Schéma 75 : Synthèse des composés **30** et **31**.

Puisque nous n'avons pas pu optimiser les conditions de réaction pour former un seul produit mais que cette réaction est rapide, nous avons décidé d'optimiser les conditions de purification de manière à pouvoir obtenir des quantités raisonnables de la porphyrine **30**. Les trois produits **29**, **30** et **31** présents dans le brut réactionnel peuvent être séparés en une seule colonne chromatographique sur silice fine avec pour éluant un mélange ternaire de chloroforme, d'heptane et d'acétate d'éthyle. Le produit de départ **29** peut donc être réutilisé pour une nouvelle réaction et bien que le produit de bis addition **31** soit lui aussi intéressant et que nous l'ayons utilisé pour développer un nouveau ligand, il est possible de reformer le produit de départ à partir de la porphyrine **31** (Schéma 76) en utilisant le protocole de déprotection des fonctions acétamide précédemment décrit (Schéma 74).

Schéma 76 : Retour au produit de départ **29** depuis le composé **31**.

Nous avons effectué la même réaction en remplaçant le chlorure de chloroacétyle par son analogue bromé (Schéma 77). Lors de cette réaction nous n'avons pas observé le produit de mono addition bien que nous ayons refroidi le milieu réactionnel à 0°C afin de ralentir la vitesse de réaction. La porphyrine **32** nous a quand même été utile puisque la présence de brome permet un meilleur rendement de l'étape de substitution nucléophile que nous décrirons plus loin dans ce manuscrit.

Schéma 77 : Synthèse de la 5,15-bis(4-(bromométhène)amidophényl)-10,20-diméthylporphyrine **32**.

Pour la suite de la synthèse, nous allons d'abord décrire les réactions réalisées à partir de la porphyrine AB₂C **30** et ensuite les réactions qui utilisent les porphyrines A₂B₂ **31** et **32**.

L'étape de couplage entre la porphyrine AB₂C **30** et le DO3AtBu commercial a été faite dans le diméthylformamide en présence d'un excès de carbonate de potassium. Après purification sur colonne chromatographique de silice le produit désiré **33** est isolé avec un rendement de 90%.

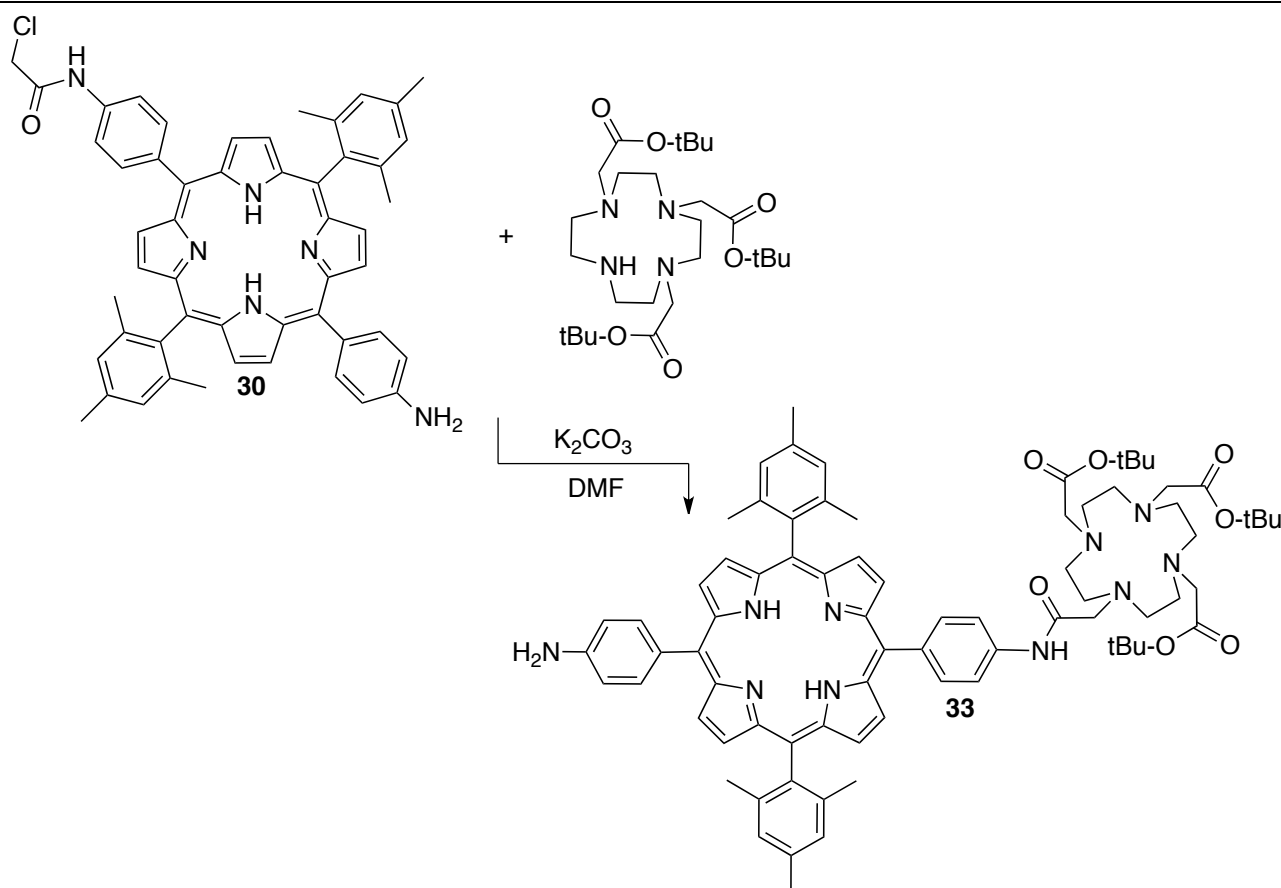


Schéma 78 : Synthèse de la 5-(4-(amino)phényl)-15-(*N*-(DO3AtBuAM)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **33**.

Le composé **33** possède peu de protons équivalents, le spectre RMN ^1H de la molécule comporte donc plusieurs signaux caractéristiques. Il a été enregistré dans le DMSO D6 à 400 K pour obtenir la meilleure résolution possible pour les protons aliphatiques du tétraazamacrocyclique (Figure 29). On peut noter la présence du singulet intégrant pour un proton à 10,24 ppm correspondant à la fonction amide, ainsi que le singulet intégrant pour deux protons à 5,14 ppm correspondant à la fonction amine. Les protons des positions β de la porphyrine sortent sous forme de trois doublets avec une constante de couplage caractéristique de 4,8 Hz à 8,88, 8,77 et 8,59 ppm et intègrent respectivement pour deux, deux et quatre protons. Les protons des cycles aromatiques apparaissent sous forme de deux groupes de deux doublets intégrant pour deux protons chacun, à 8,15 et 8,04 ppm pour le cycle portant la fonction amide et à 7,85 et 7,04 ppm pour le cycle portant la fonction amine. Les protons du groupement mésityle apparaissent sous forme de trois singulets à 7,33, 2,61 et 1,82 ppm intégrant respectivement pour quatre, six et douze protons. Les protons aliphatiques des bras portant des fonctions amides et des ester *tert*-butyliques apparaissent sous forme de trois singulets à 3,42, 3,31 et 3,27 ppm et intègrent pour respectivement deux, quatre et deux protons. Les protons aliphatiques du tétraazamacrocyclique sont moins bien résolus et apparaissent sous forme d'un signal large intégrant pour seize protons entre 2,4 et 2,8 ppm. Les protons des *tert*-butyles résonnent sous forme de deux singulets à 1,47 et 1,41 ppm et intègrent

respectivement pour dix-huit et neuf protons. Enfin les protons de la cavité porphyrinique apparaissent en un singulet intégrant pour deux protons avec un déplacement caractéristique de -2,40 ppm (Figure 29).

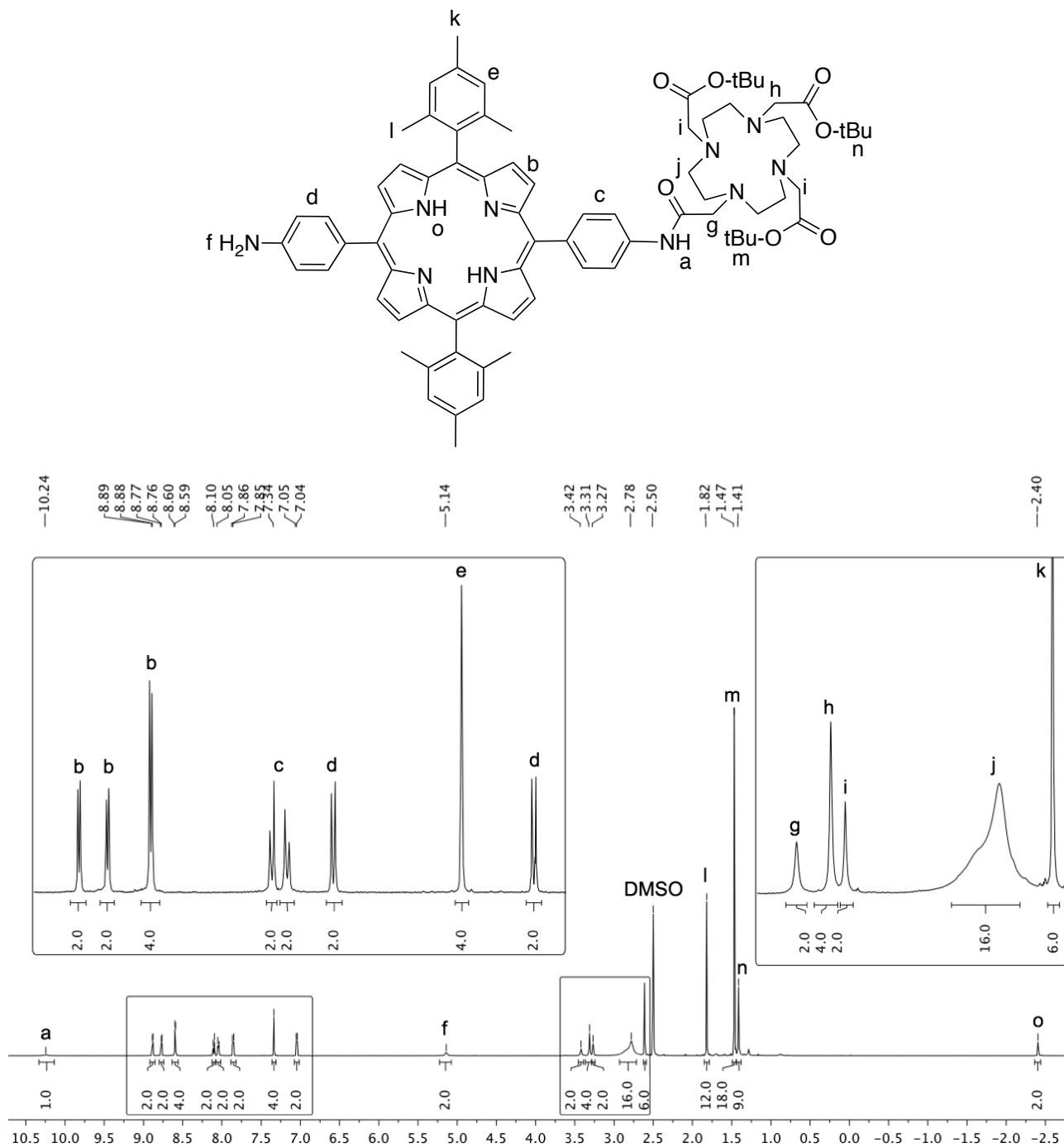


Figure 29 : Spectre RMN ^1H (DMSO D6, 400 K, 500 MHz) du composé **33**.

Comme pour les synthèses des ligands précédents, les fonctions acide carboxylique de la partie tétraazacycloalcane de la molécule sont libérées par un traitement à l'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane et les sous-produits volatils sont éliminés par des évaporations successives du milieu réactionnel (Schéma 79).

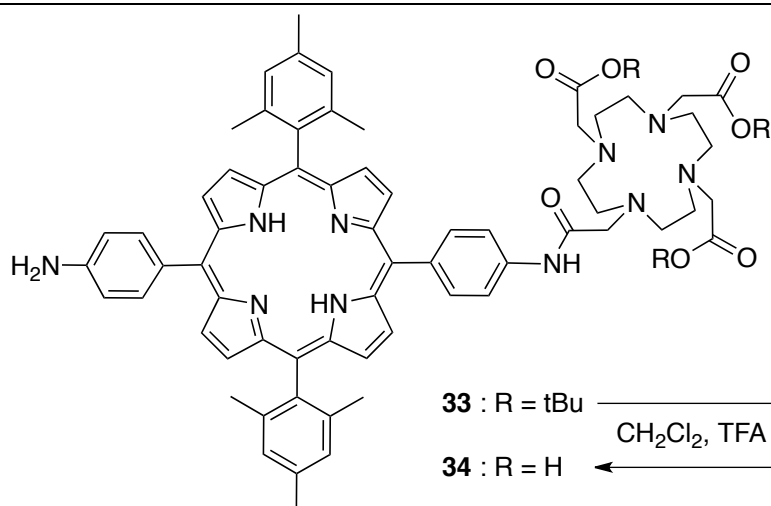


Schéma 79 : Synthèse de la 5-(4-(amino)phényl)-15-(N-(DO3AAM)phényl)-10,20-diméthylporphyrine **34**.

La formation du ligand **34** a été mise en évidence par spectroscopie RMN ¹H et par spectrométrie de masse Electrospray haute résolution. Sur la Figure 30, on peut noter que le composé **34** apparaît sous forme dichargée avec plusieurs adduits mettant en jeu du sodium et du potassium qui sont en contact avec la molécule à plusieurs étapes de la préparation des échantillons et dans l'appareil d'analyse en lui même.

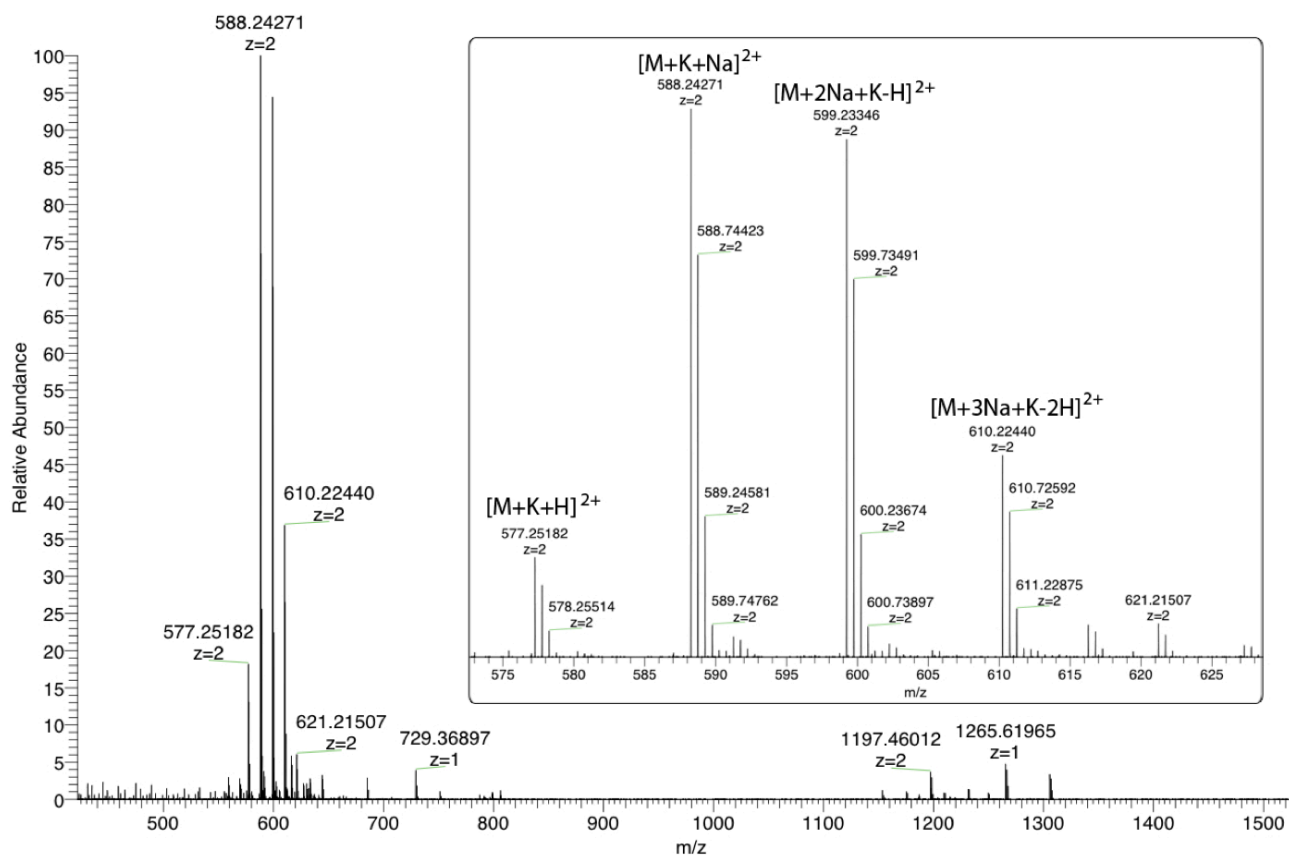


Figure 30 : Spectre de masse ESI du composé **34**.

Les amas isotopiques des espèces dichargées $[M+K+Na]^{2+}$ et $[M+2Na+K-H]^{2+}$ ont été comparés avec les amas isotopiques théoriques correspondant à la formule brute envisagée, respectivement $C_{66}H_{70}N_{10}O_7KNa^{2+}$ et $C_{66}H_{69}N_{10}O_7KNa_2^{2+}$ (Figure 31). Les écarts relatifs entre les amas théoriques et expérimentaux sont de 8,3 et 8,5 ppm respectivement. Cette très faible différence est la preuve que les amas isotopiques correspondent bien à des adduits du ligand **34**.

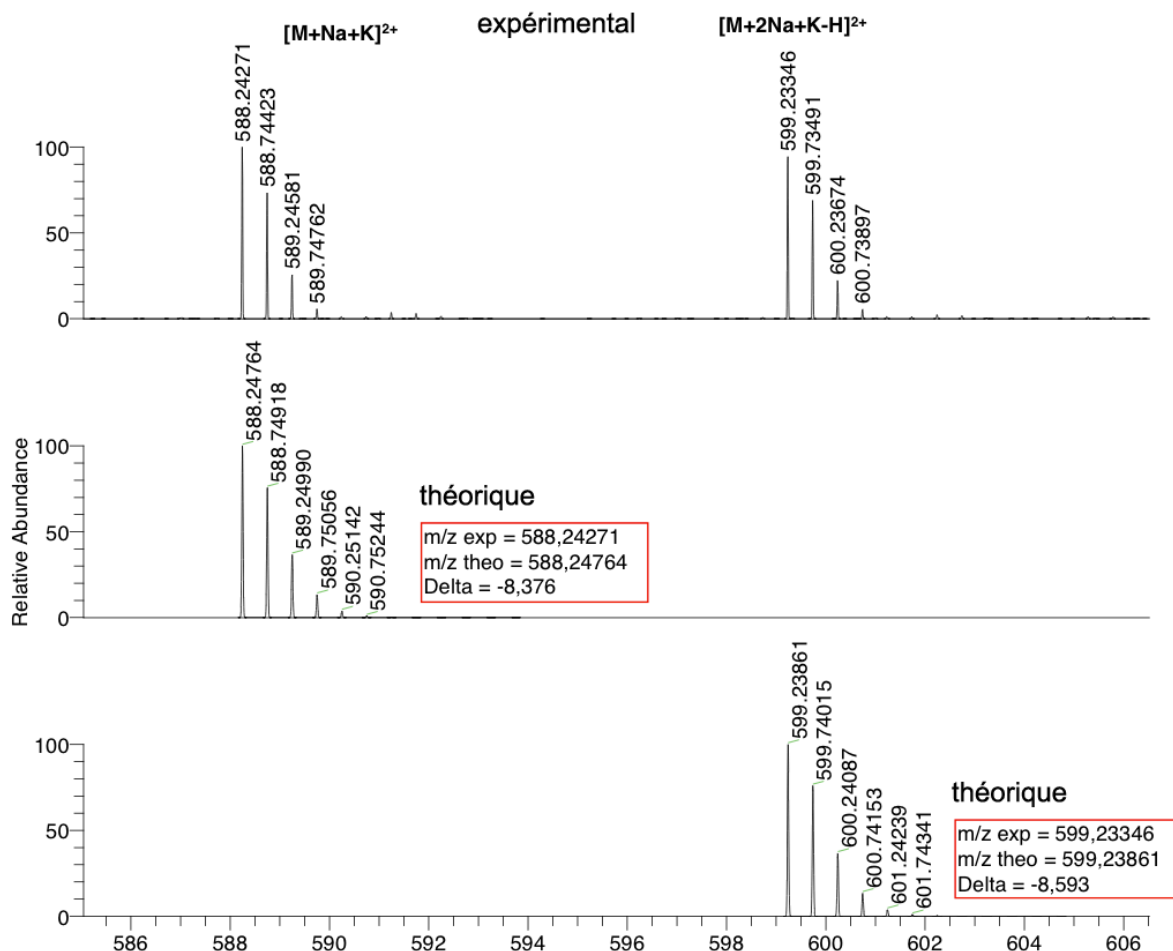


Figure 31 : Comparaison du spectre de masse ESI expérimental du composé **34** et les spectres théoriques.

II.2.3.2 Synthèse d'un ligand composé d'une porphyrine et de deux dérivés du DOTA

Les porphyrines A_2B_2 substituées par des halogènes, du chlore pour le composé **31** et du brome pour le composé **32** ont été mises en jeu dans une étape de substitution nucléophile avec le DO3AtBu commercial, comme précédemment en présence d'un excès de carbonate de potassium dans le diméthylformamide (Schéma 80). Nous avons observé une grande différence de rendement entre ces deux porphyrines de départ. En effet, le composé chloré a beaucoup de mal à réagir avec le DO3AtBu et le meilleur rendement de 26 % a été obtenu par chauffage de la solution à 70°C durant douze heures et ceci après plusieurs essais infructueux. Ce résultat est surprenant puisque lors de la synthèse du ligand précédent nous n'avions pas observé de problèmes de réactivité pour la

porphyrine AB₂C **30** substituée par un atome de chlore. Nous n'arrivons toujours pas à expliquer cette différence de réactivité.

Le composé bromé donne quant à lui le produit désiré avec un très bon rendement de 94% et un temps de réaction d'une heure à température ambiante.

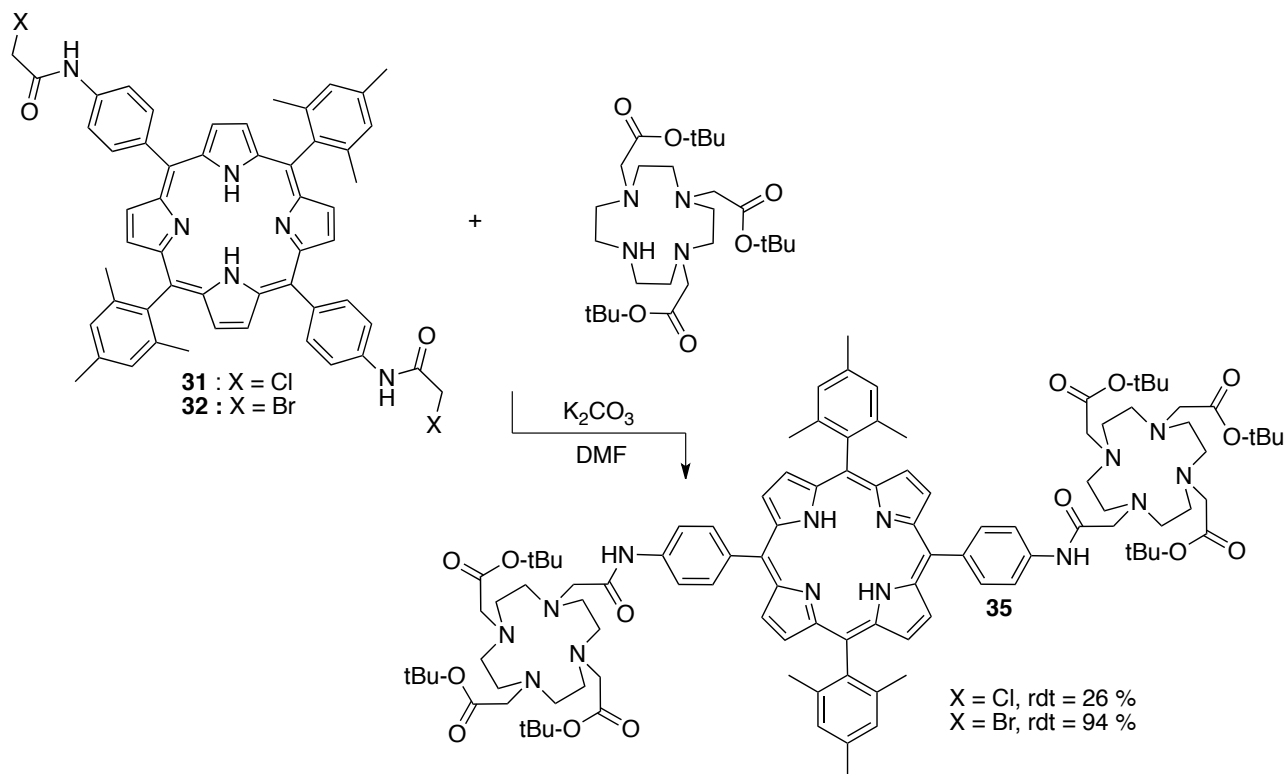


Schéma 80 : Synthèse de la 5,15-bis(DO3AtBuAMphényl)-10,20-dimésitylporphyrine **35**.

Une structure cristallographique du composé **35** a pu être obtenue et sera décrite en détail dans le prochain paragraphe (§ II.2.3.3). La dernière étape de synthèse pour obtenir le ligand **36** est la déprotection classique des fonctions acide carboxylique par traitement à l'acide trifluoroacétique (Schéma 81).

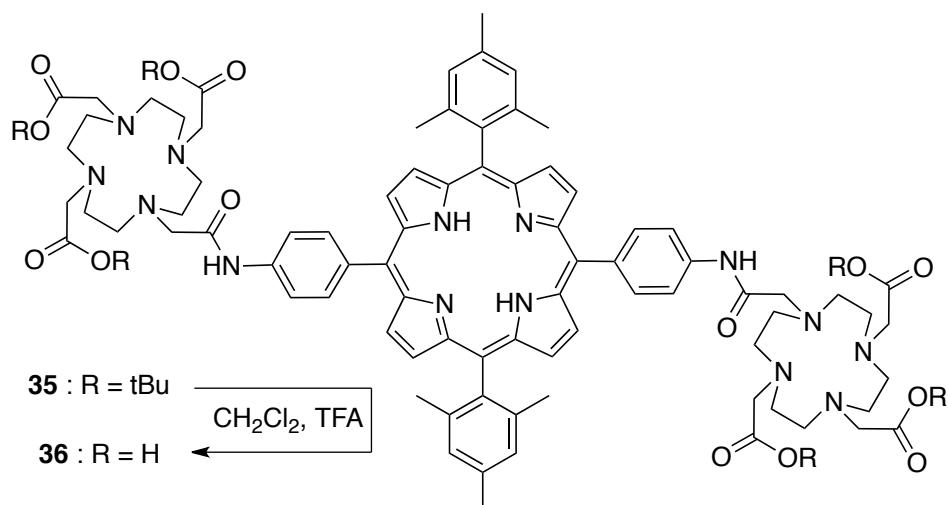


Schéma 81 : Synthèse de la 5,15-bis(DO3AAMphényl)-10,20-dimésitylporphyrine **36**.

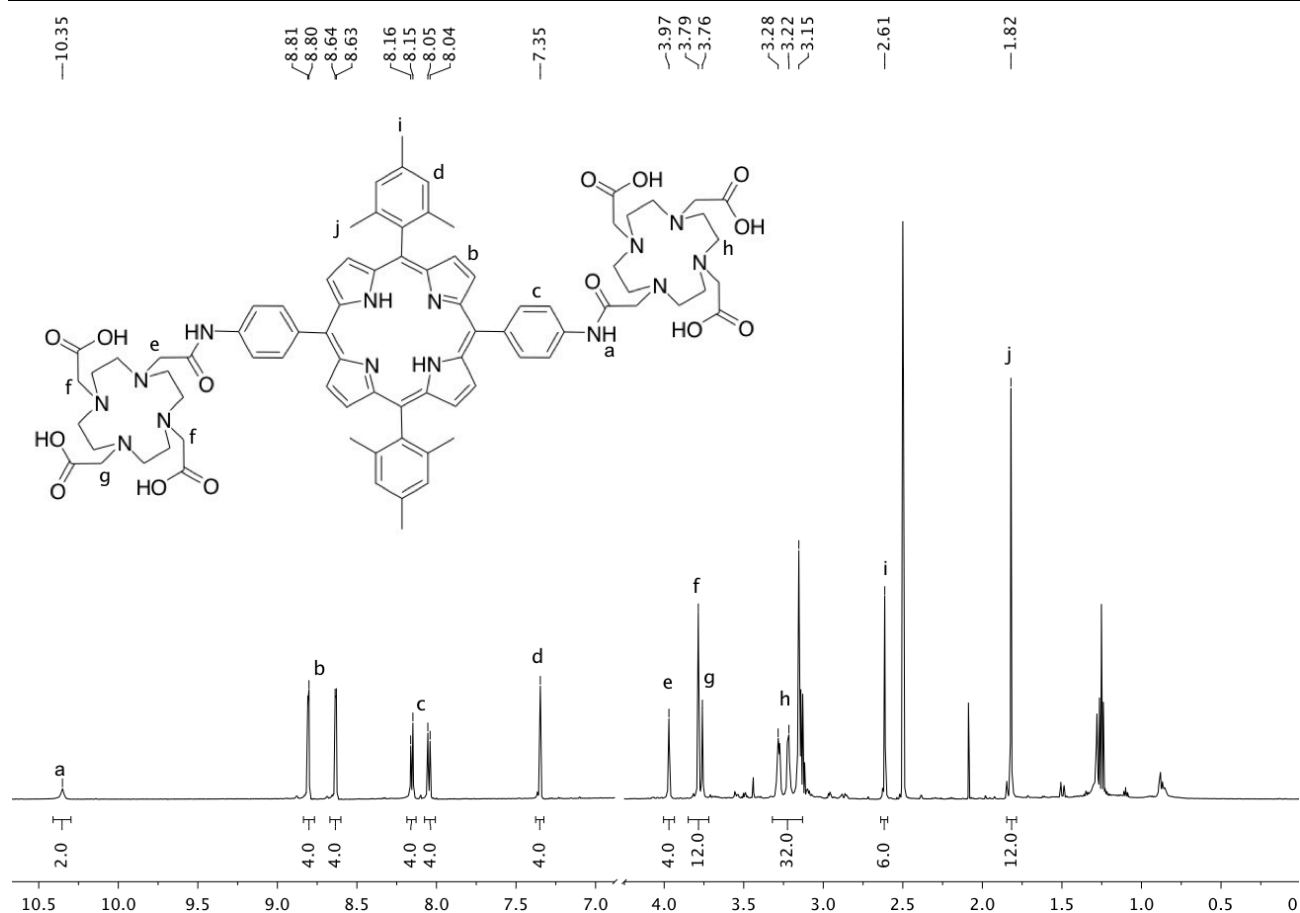
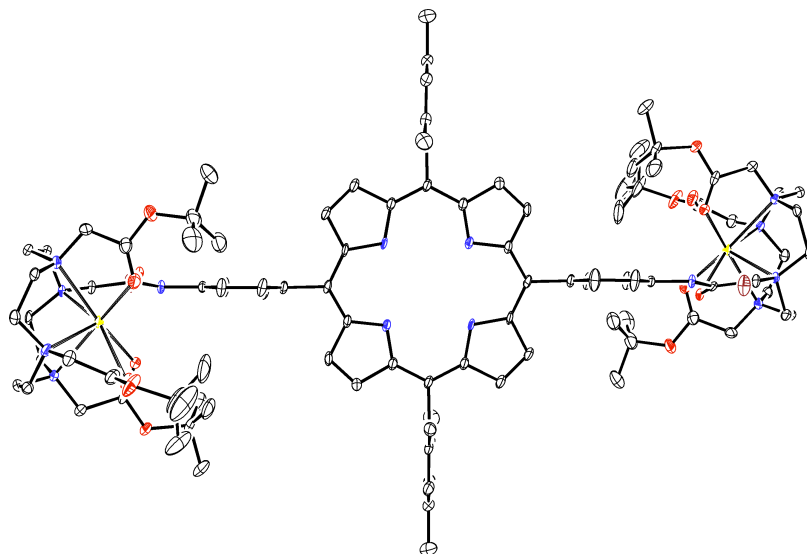


Figure 32 : Spectre RMN ^1H (DMSO D6, 400 K, 600 MHz) du composé **36**.

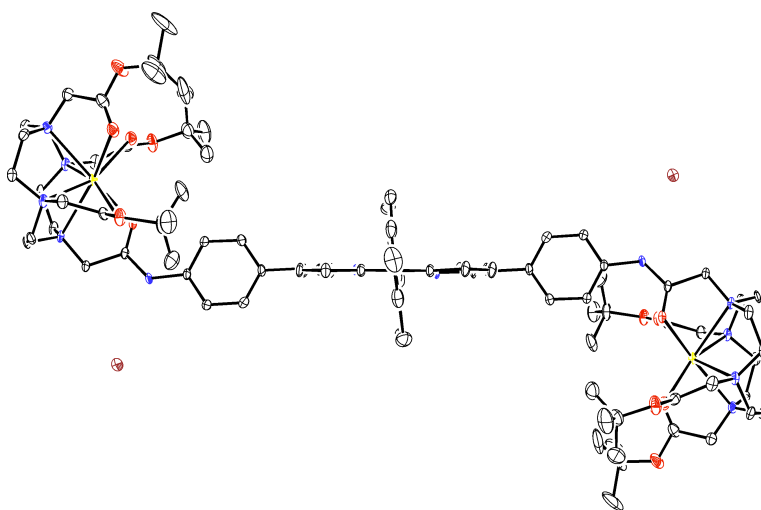
Le spectre RMN ^1H du ligand **36** a été enregistré dans le DMSO D6 à 400 K pour obtenir la meilleure résolution possible pour les protons aliphatiques du tétraazamacrocycle (Figure 32). On peut noter la présence du singulet intégrant pour deux protons à 10,35 ppm correspondant à la fonction amide. Les protons aliphatiques des bras portant des fonctions amide et des esters *tert*-butylique apparaissent sous forme de trois singulets à 3,97, 3,79 et 3,76 ppm et intègrent pour respectivement deux, quatre et deux protons. Les protons aliphatiques du tétraazamacrocycle sont relativement bien résolus et apparaissent sous forme d'un multiplet intégrant pour trente-deux protons entre 3,1 et 3,3 ppm. Les protons des esters *tert*-butyliques ne sont plus visibles sur le spectre.

II.2.3.3 Structure cristallographique du composé **35**.(NaBr) $_2$

Des cristaux ont pu être obtenus par diffusion de cyclohexane dans une solution saturée du composé **35**, dans le chloroforme, dans des tubes de cristallisation à température ambiante. La molécule cristallise dans un groupe d'espace $\text{P2}_1/\text{c}$ avec dix molécules de chloroforme qui ne sont pas représentées par souci de clarté sur les Figures 33 et 34. La structure montre clairement la formation de la liaison amide entre les dérivés du DOTA et la porphyrine centrale.

Figure 33 : Vue ORTEP de dessus du composé **35.(NaBr)₂**.

Le composé **35.NaBr** cristallise autour d'un centre de symétrie situé à l'intérieur de la cavité porphyrinique et de fait la partie asymétrique de la structure est composée de seulement la moitié de la molécule. La cavité du tétraazamacrocycle est tournée vers la porphyrine et les dérivés du DOTA sont de part et d'autre du plan formé par le cycle porphyrinique.

Figure 34 : Vue ORTEP de côté du composé **35.(NaBr)₂**.

Le cycle aromatique porphyrinique est plan et n'est donc pas du tout influencé par la présence des dérivés du DOTA. Le tétraazamacrocycle, qui coordine un atome de sodium avec un atome de brome comme contre-ion, cristallise selon une géométrie que nous avons comparé avec la structure de la littérature du NaBr(DOTAtBu) (Figure 35).¹¹⁷ Les deux structures sont superposables, la porphyrine ne modifie donc en rien la symétrie de coordination du tétraazamacrocycle.

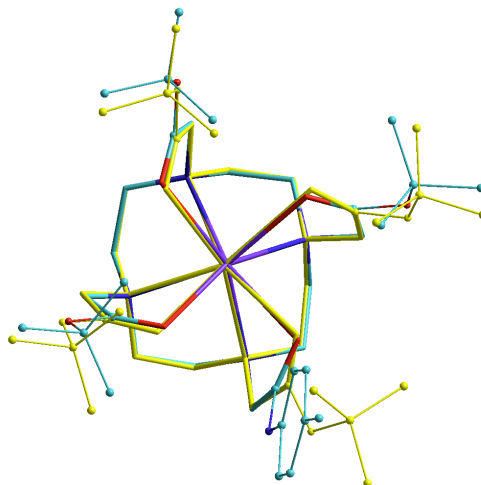


Figure 35 : Superposition de la partie du dérivé du DOTA du composé **35** en bleu et la structure du NaBr(DOTA tBu) en jaune.

Les données des mesures cristallographiques ainsi que les données de traitement et de résolution de la structure du composé **35** sont disponibles dans le Tableau 8.

Formula	C ₁₀₆ H ₁₄₄ N ₁₄ Na ₂ O ₁₄ ,10(CDCl ₃),2(Br)
M	3237.84
Crystal system	monoclinic
Space group	P2 ₁ /c
a; Å	27.3358(9)
b; Å	12.1925(4)
c; Å	24.1057(8)
β;	110.1920(10)
°V; Å ³	7540.5(4)
Z	2
F(000)	3324
Dcalc; g/cm ³	1.426
Diffractometer	Nonius KappaCCD
scan type	φ rot. and ω scans
λ; Å	0.71073
μ; mm ⁻¹	1.133
Crystal size; mm ³	0.35 x 0.25 x 0.05
sin(θ)/λ max; Å ⁻¹	0.65
T; K	115
Index ranges	h:-33; 33 k:-12; 14 l:-29; 29
RC = Refl. Collected	24913
IRC = independent RC	14130 [R (Int) = 0.0427]
IRCGT = IRC and [I>2σ (I)]	10121
Refinement method	Full-matrix L.S. on F ²
Data / restraints / param.	14130 / 0 / 806
R for IRCGT	R1 = 0.124, wR2 = 0.304
R for IRC	R1 = 0.163, wR2 = 0.335
Goodness-of-fit	1.117
Δρ, max, min; e.Å ⁻³	1.491 and -1.229

Tableau 8 : Données cristallographiques pour le composé **35**.

III. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté la synthèse d'une série de cinq ligands composés d'une porphyrine et d'un ou plusieurs macrocycles dérivés du DOTA. Cette association va nous permettre de former des complexes hétérobimétalliques incorporant des métaux d'intérêt pour l'imagerie médicale qui seront décrits dans le chapitre suivant de ce manuscrit.

Une première méthode de synthèse basée sur le couplage peptidique entre des précurseurs porphyriniques fonctionnalisés par des fonctions benzylamine et un dérivé commercial du DOTA fonctionnalisé par une fonction acide carboxylique nous a permis de synthétiser les ligands **17**, **22** et **27**, formés d'une porphyrine et de respectivement un, deux et quatre macrocycles dérivés du DOTA (Schéma 82).

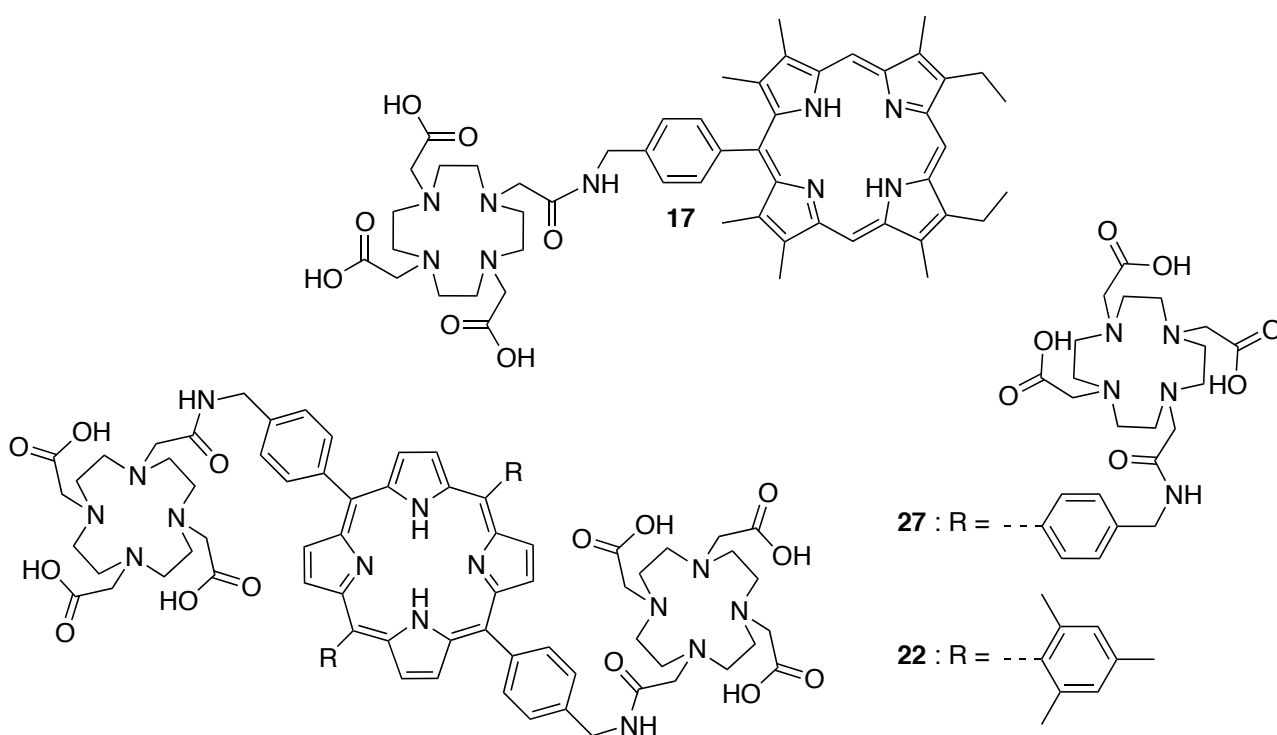


Schéma 82 : Ligands développés grâce à des précurseurs porteurs de fonctions benzylamines.

Une seconde méthode de synthèse de ligands associant des porphyrines et des macrocycles dérivés du DOTA a été développée de manière à optimiser les étapes de synthèse pour les rendre plus faciles et améliorer les rendements obtenus précédemment. Ces nouveaux protocoles de synthèse nous ont permis de développer deux nouveaux ligands **34** et **36** qui incorporent respectivement un et deux macrocycles dérivés du DOTA autour d'une porphyrine (Schéma 83). Cette nouvelle voie de synthèse nous a aussi permis de synthétiser le ligand **34** qui incorpore une fonction amine libre. Cette fonction pourra être utilisée par la suite pour créer une fonction réactive afin d'ajouter à ce ligand une molécule vectrice qui va permettre de cibler et de visualiser une structure ou un phénomène biologique particulier.

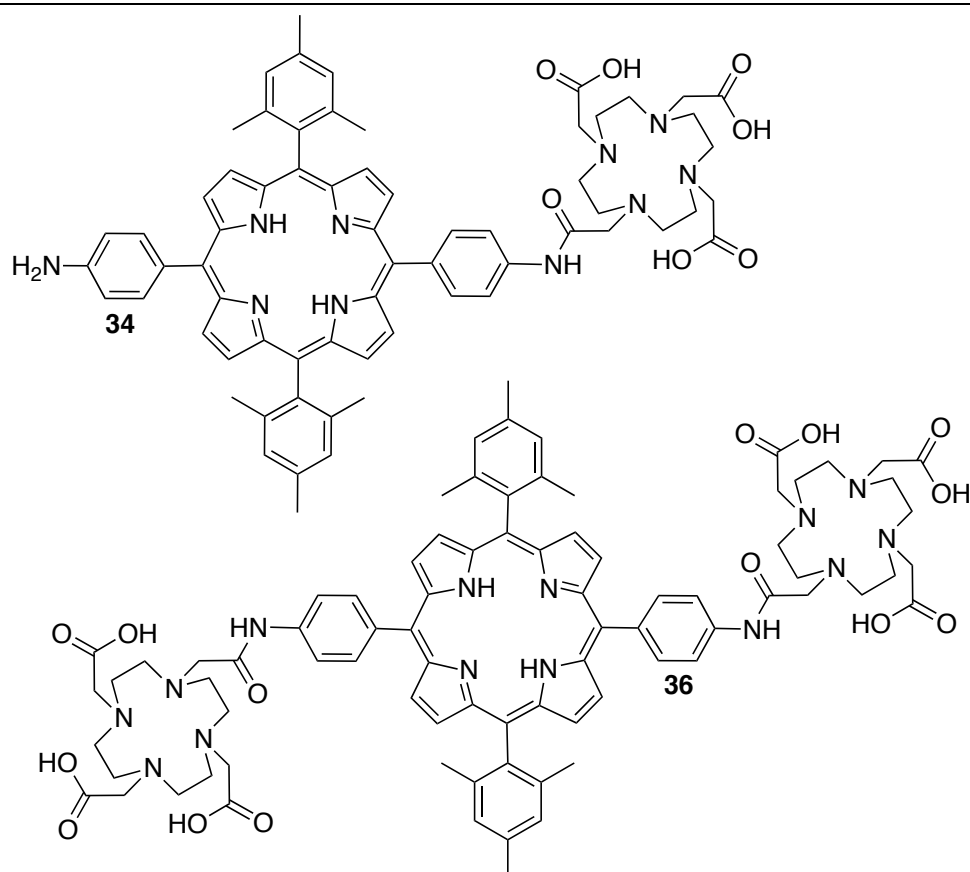


Schéma 83 : Ligands développés à partir de précurseurs porteurs de fonctions anilines.

Chapitre III :

Synthèse, caractérisation et étude des complexes

Dans ce chapitre nous allons nous intéresser aux travaux effectués à partir des cinq ligands présentés dans le chapitre précédent. Nous aborderons tout d'abord le choix des métaux que nous avons utilisés pour former des complexes aux propriétés intéressantes pour l'imagerie médicale. Nous décrirons ensuite les travaux de synthèse et les analyses qui ont été effectués pour caractériser et évaluer les propriétés des complexes formés. Enfin nous conclurons et présenterons les perspectives de ce travail.

I. Choix des métaux et de l'ordre de complexation

Nous avons décidé de viser en priorité des complexes hétérobimétalliques pour des applications dans le domaine de l'imagerie nucléaire et de l'IRM. Plusieurs raisons ont motivé ce choix.

Premièrement, l'ICMUB est impliqué dans le projet Equipex IMAPPI (Integrated Magnetic resonance And Positron emission tomography in Preclinical Imaging) dont le but est l'implantation à Dijon d'un imageur intégrant la technologie PET à un imageur IRM. L'ICMUB est l'un des acteurs de ce projet au niveau du développement de sondes détectables par les deux techniques d'imagerie IRM et PET. De manière plus triviale, les macrocycles dérivés du DOTA que nous avons utilisés sont particulièrement adaptés pour la chélation des lanthanides, notamment du gadolinium (III) et sont déjà utilisés comme agents de contraste en IRM. Enfin nous avons aussi choisi de viser des applications dans le domaine de l'imagerie nucléaire puisque les métaux utilisables comme agents de contraste sont relativement nombreux (§ Chap I.II.2.4).

La plus grande partie de ma thèse a été dédiée à la synthèse des ligands et l'ICMUB ne possède ni l'équipement, ni les autorisations nécessaires à la manipulation de composés radioactifs. De ce fait, nous avons décidé de mettre au point les conditions de complexation avec des centres métalliques non radioactifs dit "froids".

Le cuivre nous a semblé particulièrement intéressant notamment son isotope radioactif, le cuivre-64. Ce dernier présente des propriétés de décroissance radioactive intéressantes, ainsi qu'une demi-vie relativement longue (12,7 h). A l'heure actuelle les méthodes de production du Cuivre-64 en cyclotron se développent et il fait l'objet d'un intérêt croissant dans la littérature.¹¹⁸ Nous souhaitons aussi tirer partie du fait que les porphyrines de cuivre (II) sont très stables,¹¹⁹ ce qui n'est pas le cas des complexes de cuivre (II) utilisés à l'heure actuelle pour l'imagerie qui souffrent de problèmes de stabilité vis-à-vis des réducteurs biologiques qui transforment le cuivre (II) en cuivre (I).¹²⁰ Des macrocycles rigidifiés de type cross-bridged cyclame et cyclène ont d'ailleurs été développés dans le but de stabiliser le cuivre (II) en milieu biologique.¹²¹

Les complexes hétérobimétalliques que nous souhaitons synthétiser dans un premier temps devront donc complexer du gadolinium (III) et du cuivre (II). Pour choisir l'ordre d'introduction des métaux dans nos molécules, nous avons tenu compte de l'affinité de chaque ligand pour les centres métalliques mis en jeu. Nous avons imaginé notre voie de synthèse pour qu'elle puisse être adaptée à l'utilisation de métaux radioactifs, l'étape de radiochimie devra être la dernière étape.

Les tétraazamacrocycles sont déjà utilisés comme chélateurs du gadolinium (III) dans des produits de contraste commerciaux, nous avons donc choisi de complexer le gadolinium (III) dans

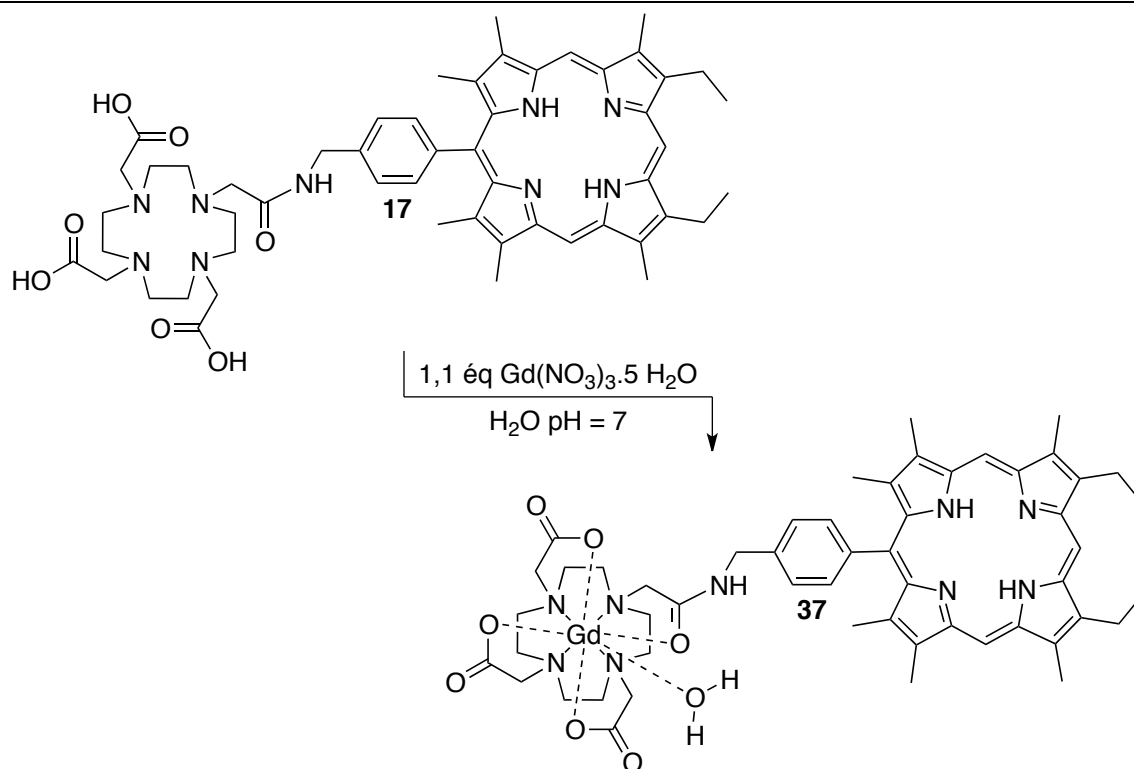
la partie dérivée du cyclène de nos ligands. Le macrocycle porphyrinique sera utilisé pour complexer le cuivre (II). Il est intéressant de noter que dans notre cas l'affinité des deux ligands pour le gadolinium est très différente et nous pouvons en tirer un avantage. En effet les conditions utilisées pour insérer un atome de gadolinium dans un macrocycle dérivé du DOTA sont douces, en termes de température et de pH. En revanche les exemples de porphyrines de gadolinium sont beaucoup moins nombreux et les conditions de métallation (température et pH) sont beaucoup plus dures.¹²² Nous avons donc complexé en premier le gadolinium (III) dans la cavité du tétraazamacrocycle. Dans les conditions que nous souhaitons utiliser, le gadolinium ne pourra pas être complexé par la porphyrine. Nous introduirons ensuite le cuivre (II) dans la cavité porphyrinique en utilisant les conditions les plus douces possibles afin de ne pas remplacer le gadolinium par du cuivre dans le tétraazamacrocycle.

II. Synthèse des complexes

Dans un premier paragraphe nous allons détailler les méthodes de synthèse des complexes de gadolinium (III) que nous avons formés, puis dans un second les complexes hétérobimétalliques à base de gadolinium (III) et de cuivre (II) que nous avons synthétisés.

II.1 Complexes de Gd

Nous avons choisi, pour les raisons évoquées précédemment, des conditions douces de formation des complexes de gadolinium. Le ligand **17** a été mis en solution dans de l'eau ultrapure, les fonctions acide carboxylique sont dans ce cas suffisantes pour solubiliser le ligand. Le pH de la solution a été ajusté à une valeur de 8 par une solution de soude 1M. Une fois le léger excès de nitrate de gadolinium ajouté dans le milieu réactionnel, la valeur du pH chute à 6 du fait de la libération de protons venant des fonctions acétate qui contribuent à la chélation du gadolinium (III). La valeur du pH est ramenée à 7 de manière à éviter de se trouver dans des conditions trop acides où les protons entrent en compétition avec le métal ou trop basiques qui pourraient entraîner la formation d'hydroxyde de gadolinium insoluble (Schéma 84). Une fois que le ligand et le métal sont en solution et que la valeur du pH a été ajustée, le milieu réactionnel est chauffé à 50°C durant une nuit de manière à augmenter la cinétique de la complexation et s'assurer ainsi qu'elle soit totale.

Schéma 84 : Synthèse du complexe de gadolinium (III) **37**.

Après une nuit à 50°C, nous avons laissé le milieu réactionnel revenir à température ambiante et nous avons constaté la formation d'un précipité en solution. En effet les fonctions acide carboxylique qui assuraient la solubilité du ligand sont impliquées dans la complexation du gadolinium (III), le complexe n'est donc plus soluble dans le milieu réactionnel. Ce manque de solubilité est un inconvénient pour les applications que nous visions pour ces complexes puisque nous pensions qu'ils garderaient les mêmes propriétés de solubilité que les ligands. Cependant d'un point de vue synthétique le traitement de la réaction est facilité. Nous pouvons filtrer ce précipité et le laver à l'eau ultrapure afin d'éliminer les sels présents en solution.

Le gadolinium (III) étant fortement paramagnétique, nous ne pouvons pas utiliser la RMN pour caractériser le complexe formé. Nous avons analysé le complexe **37** par spectroscopie de masse MALDI-TOF, Electrospray haute résolution et par spectroscopie UV-visible afin de s'assurer que la porphyrine n'a pas complexé le gadolinium. En effet, la spectroscopie UV-visible est une méthode de choix pour mettre en évidence la formation de complexes porphyriniques. En effet l'introduction d'un métal dans la cavité d'une porphyrine modifie la symétrie de la molécule. Le complexe est plus symétrique qu'une porphyrine base libre. Ce changement de symétrie se traduit en spectroscopie UV-visible par la présence de quatre bandes Q dans le cas d'une porphyrine base libre et de deux bandes Q dans le cas d'une porphyrine métallée.

Le spectre de masse MALDI-TOF du complexe **37** (Figure 36) a été enregistré en utilisant l'acide 2,5-dihydroxybenzoïque (DHB) comme matrice en raison de la solubilité du complexe dans des solvants polaires protiques comme le méthanol. Sur le spectre de masse on peut voir clairement la présence de l'amas isotopique à 1097 Daltons correspondant à un adduit d'un proton sur le complexe $[\text{M}+\text{H}]^+$ (la masse calculée pour la formule brute $\text{C}_{53}\text{H}_{65}\text{GdN}_9\text{O}_7^+$ est de 1097,425), l'amas

isotopique est lui aussi caractéristique de la présence de gadolinium dans la molécule comme le montre le zoom de la Figure 36. Il est aussi important de noter l'absence de pics correspondant au ligand libre.

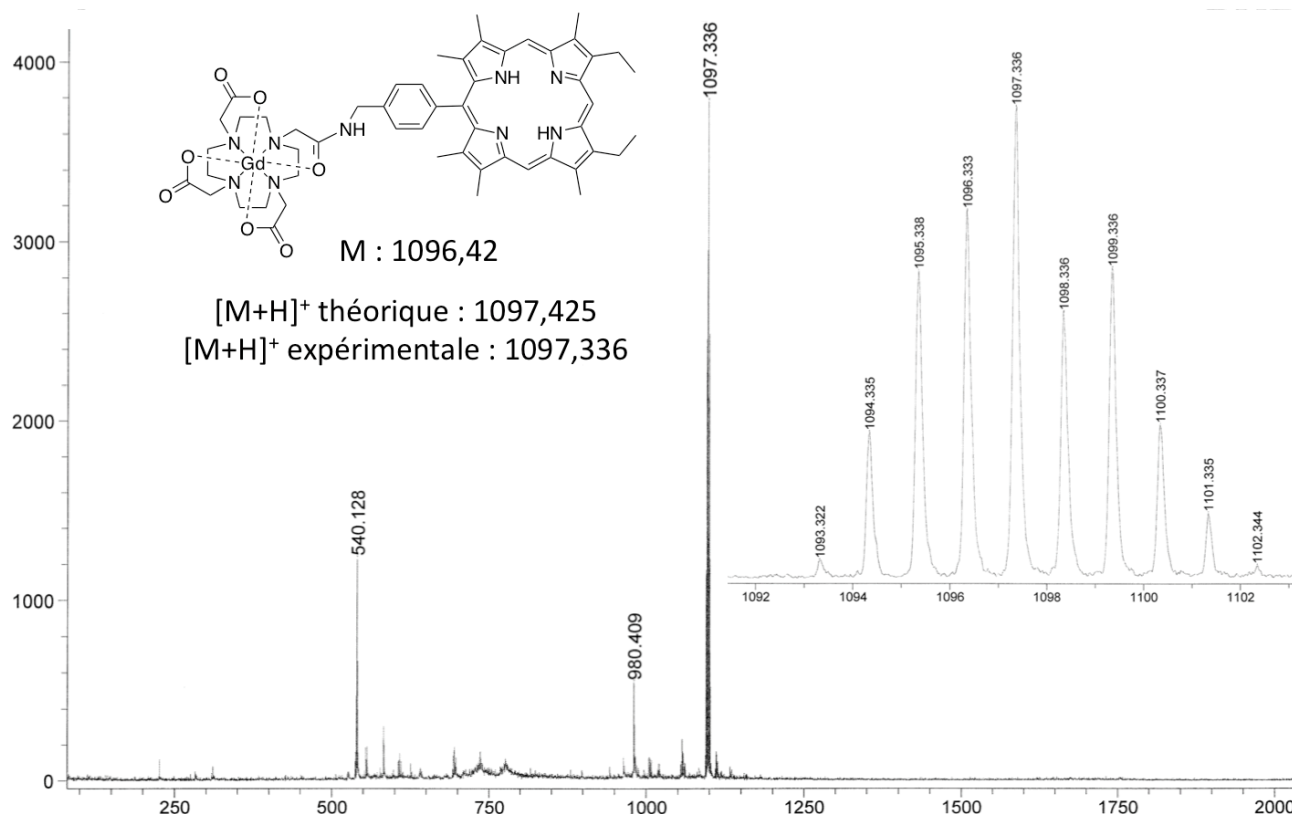
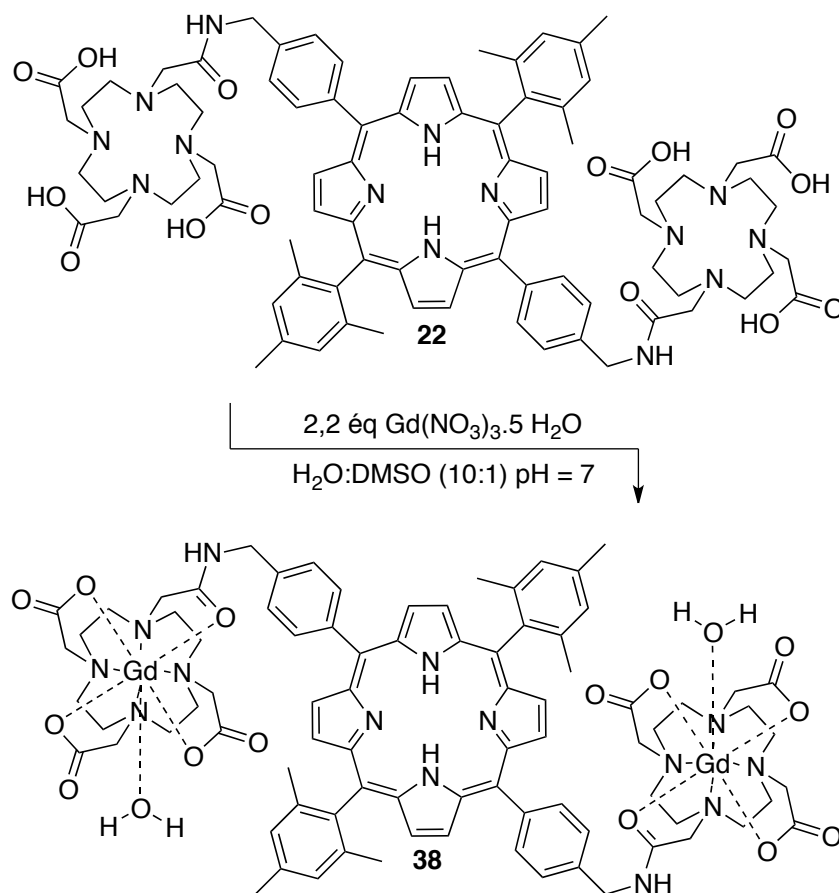


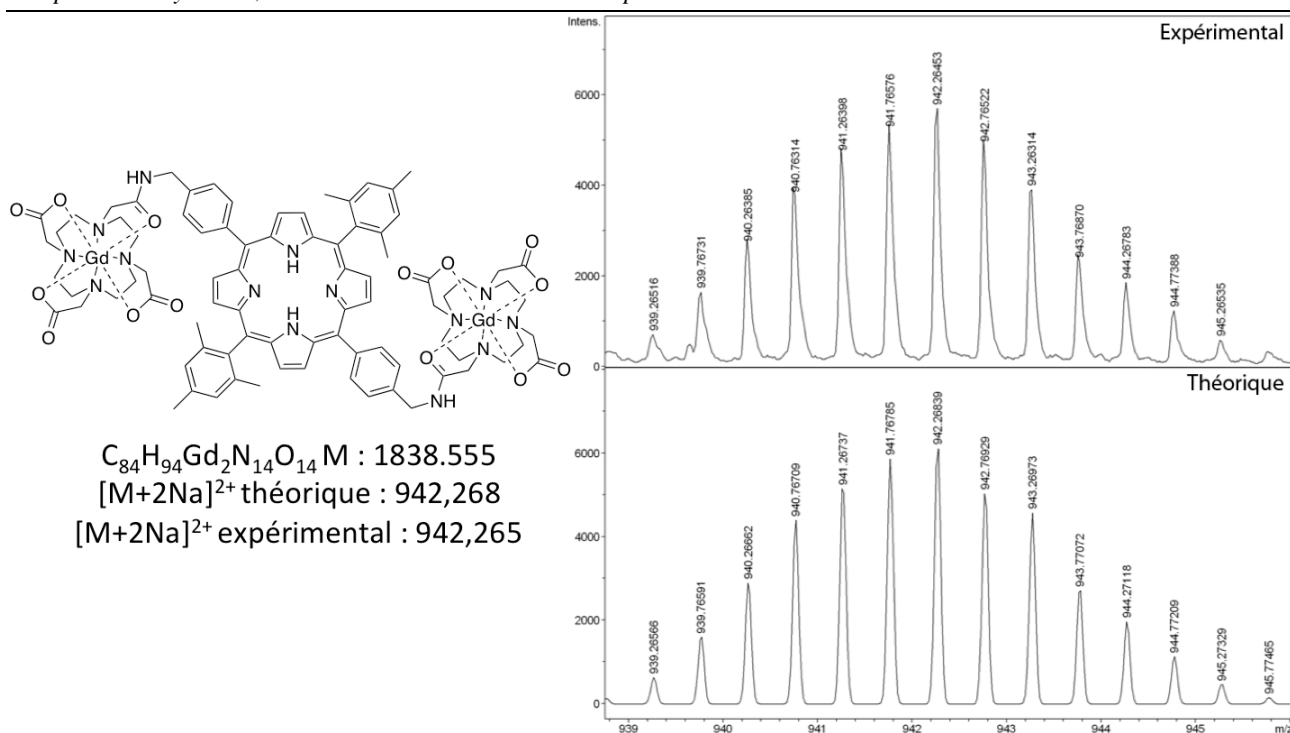
Figure 36 : Spectre de spectrométrie de masse MALDI-TOF du complexe **37**.

Pour la synthèse des autres complexes, nous avons modifié légèrement le protocole de synthèse. En effet, nous avons tout d'abord solubilisé le ligand dans une petite quantité de DMSO, environ un dixième du volume d'eau de la réaction. Nous avons utilisé cette petite quantité de DMSO pour faciliter la solubilisation du solide dans l'eau ultrapure.

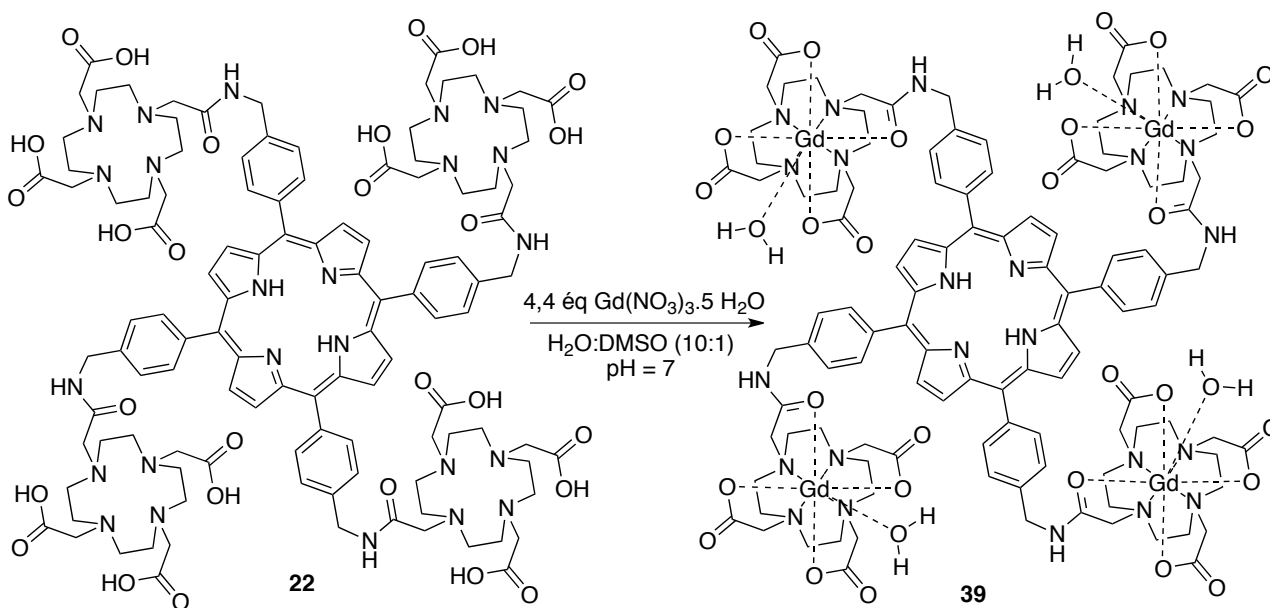
Pour former le complexe **38** (Schéma 85), nous avons placé le ligand **22** en solution dans un mélange H₂O/DMSO (10/1) en présence d'un excès de nitrate de gadolinium à pH contrôlé à une valeur de 7. Le milieu réactionnel a été agité à 50°C durant une nuit et refroidi à température ambiante, le complexe précipite en solution. Le complexe **38** a été filtré et lavé à l'eau ultrapure afin de se débarrasser des sels en solution.

Schéma 85 : Synthèse du complexes de gadolinium (III) **38**.

La formation du complexe **38** a été mise en évidence par spectrométrie de masse Electrospray haute résolution, l'amas isotopique dichargé à 942,2645 Daltons correspond à un adduit de deux ions sodium à la molécule $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ (la masse exacte calculée pour la formule brute $\text{C}_{84}\text{H}_{94}\text{Gd}_2\text{N}_{14}\text{O}_{14}\text{Na}_2^{2+}$ est de 942,2683). Sur le spectre on ne détecte pas de pics correspondants au ligand **22** de départ. Malgré plusieurs tentatives, la spectrométrie de masse MALDI-TOF n'a donné aucun résultat aussi bien avec une matrice de dithranol que d'acide 2,5-dihydroxybenzoïque (DHB). Le spectre UV-visible du complexe est caractéristique de celui d'une porphyrine base libre avec la présence d'une bande de Soret et quatre bandes Q.

Figure 37 : Spectre électrospray haute résolution du complexe **38**.

Pour la formation du complexe **39** l'ajout de DMSO avant d'ajouter l'eau ultrapure pour pouvoir contrôler le pH de la réaction était indispensable. Etrangement c'est le ligand avec le plus de fonctions acide carboxylique qui est le moins soluble. Après solubilisation dans 10% de DMSO, le ligand est soluble en milieu aqueux. La complexation du gadolinium a été effectuée comme précédemment à pH contrôlé en présence d'un excès de nitrate de gadolinium (III) à 50°C durant une nuit (Schéma 86). Le complexe a pu être filtré et lavé à l'eau ultrapure.

Schéma 86 : Synthèse du complexe de gadolinium (III) **39**.

Une fois le complexe formé, il a été caractérisé par spectrométrie de masse électrospray haute résolution. Le spectre obtenu montre la présence de nombreux adduits de proton et de sodium

trichargés qui correspondent au complexe **39** (Figure 38). L'analyse des amas isotopiques ne montre pas de ligand libre ou partiellement métallé. Le complexe n'a pas pu être détecté par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

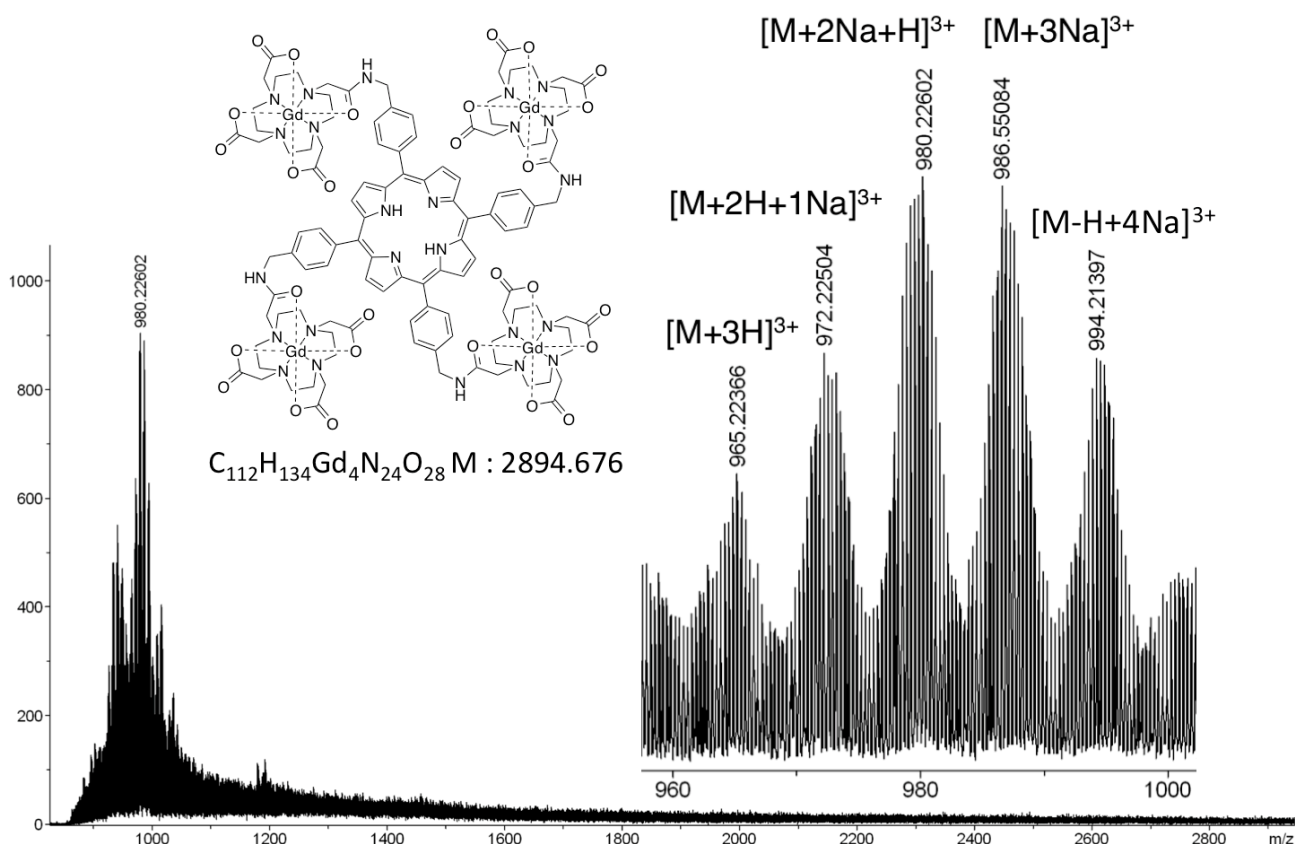
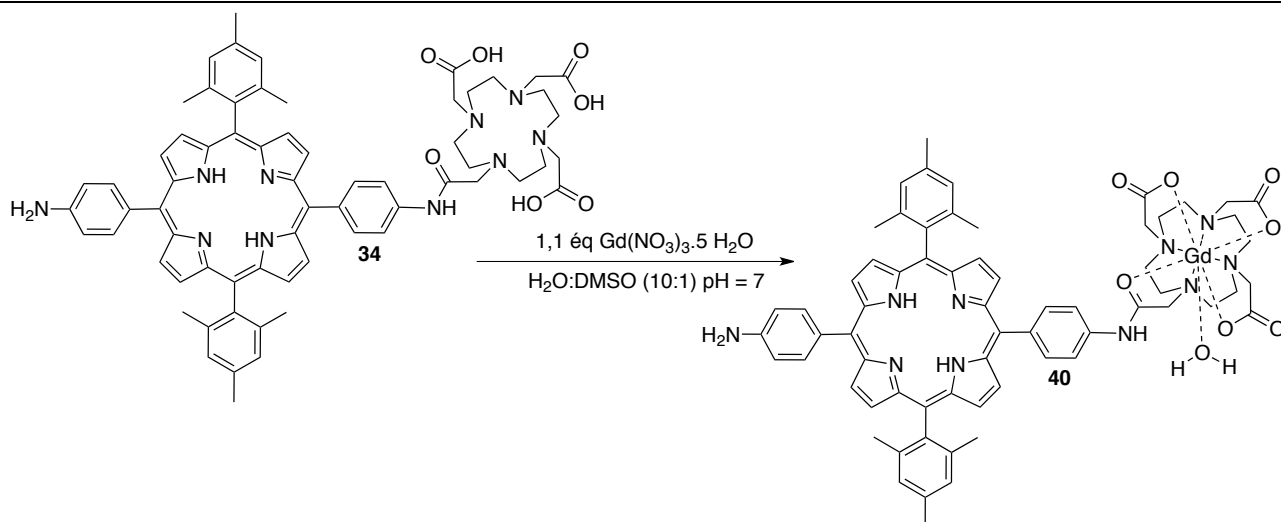
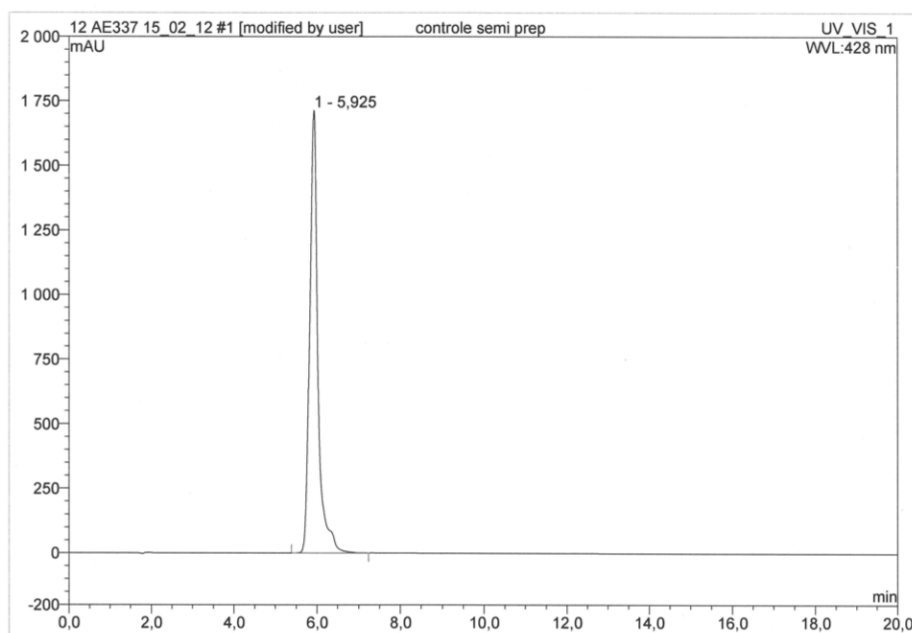


Figure 38 : Spectre électrospray haute résolution du complexe **39**.

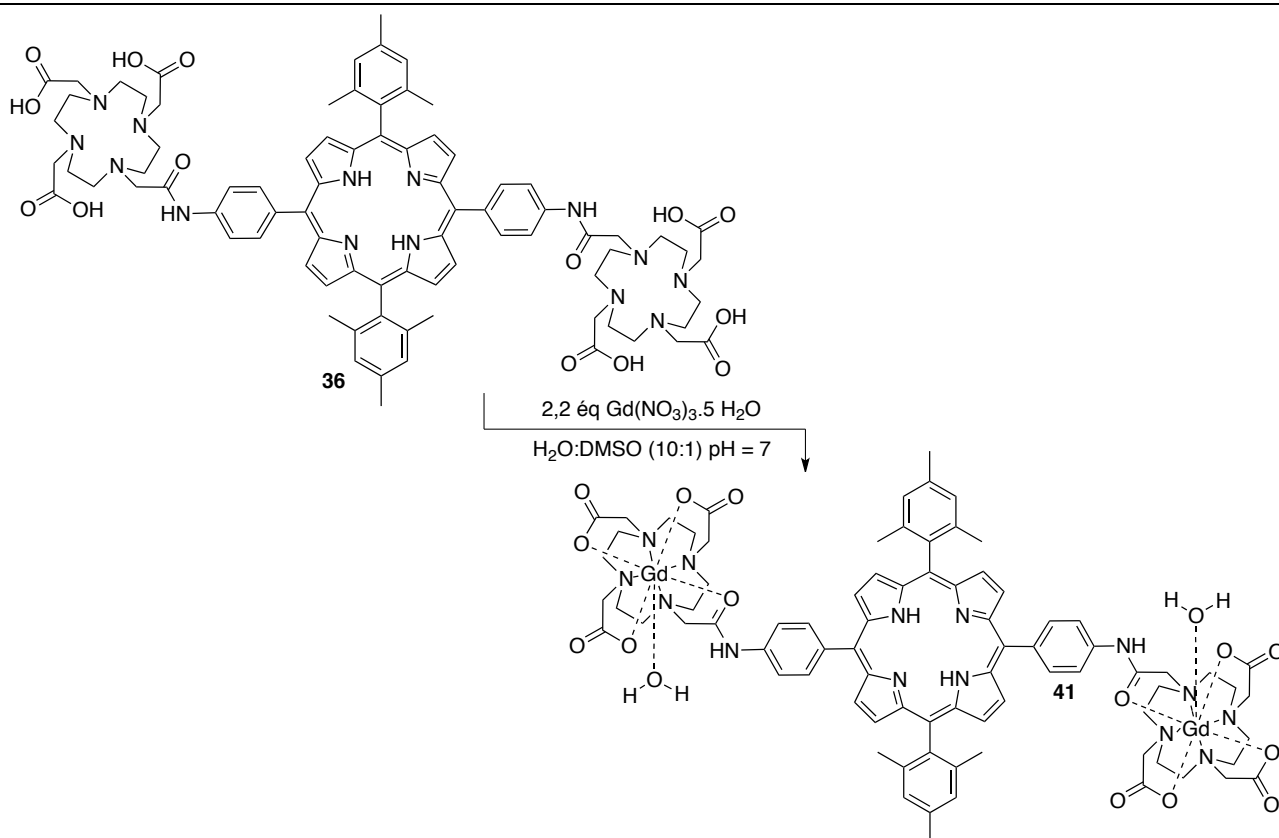
Le ligand **34** qui présente une porphyrine asymétrique fonctionnalisée par un dérivé du DOTA et par une fonction amine libre est soluble dans l'eau quand les fonctions acide ne sont impliquées dans des liaisons de coordination. Par sécurité, nous avons appliqué le même protocole que pour les autres ligands. Nous avons donc tout d'abord solubilisé notre ligand dans une petite quantité de DMSO et avons dilué cette solution avec de l'eau ultrapure. Le ligand a été mis en présence d'un excès de nitrate de gadolinium à pH contrôlé et chauffé à 50°C durant une nuit (Schéma 87). Après centrifugation de la solution à 4000 tr/min durant dix minutes, le surnageant est remplacé par de l'eau ultrapure et la solution est à nouveau centrifugée. Cette opération est renouvelée trois fois. Une fois isolé le complexe **40** a été purifié par HPLC semi-préparative avec une colonne de type C18 et un gradient d'éluant débutant par un mélange H₂O:MeOH (10:90) et se terminant par du MeOH pur. L'installation de l'HPLC au laboratoire s'est faite après la synthèse et les études des complexes précédents, qui n'ont donc pas pu être purifiés par HPLC.

Schéma 87 : Synthèse du complexe de gadolinium (III) **40**.

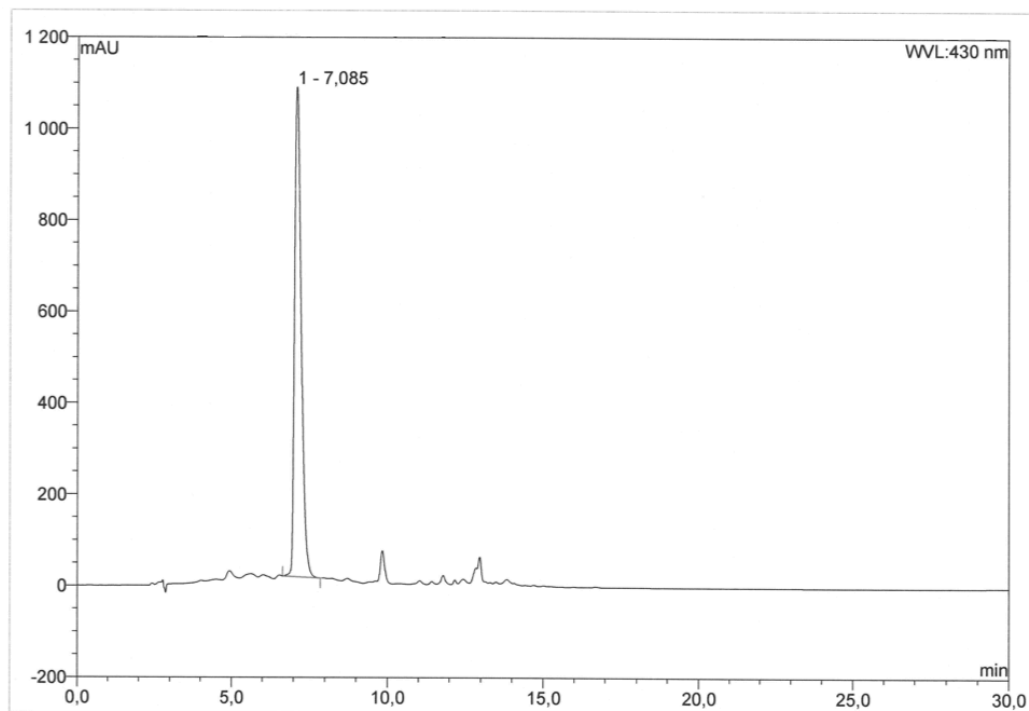
Après purification par HPLC semi-préparative, le complexe **40** a été analysé par HPLC analytique. Le chromatogramme obtenu, présenté en Figure 39, ne montre que le pic du composé désiré. Le complexe a aussi été caractérisé par spectrométrie de masse Electrospray haute résolution, par spectrométrie de masse MALDI-TOF et par spectroscopie UV-visible.

Figure 39 : Chromatogramme du complexe **40**.

Le complexe **41** a été préparé comme précédemment à partir du ligand **36** (Schéma 88). Le ligand a été solubilisé dans du DMSO complété par de l'eau ultrapure afin de former un mélange de DMSO : H₂O (1 : 10). Le ligand a ensuite été mis en présence d'un léger excès de nitrate de gadolinium à 50°C durant une nuit. Le complexe qui précipite en solution est isolé par centrifugation et lavé trois fois à l'eau ultrapure. Le complexe n'a pas été purifié par HPLC car il a été mis en jeu dans l'étape suivante peu de temps avant que les lignes HPLC soient installées au laboratoire. Nous avons tout de même pu analyser le complexe par HPLC analytique.

Schéma 88 : Synthèse du complexe de gadolinium (III) **41**.

Le chromatogramme du complexe **41** (Figure 40) nous montre que la pureté du composé est de 83 %. Le complexe a aussi pu être mis en évidence par spectrométrie de masse Electrospray haute résolution et par spectroscopie UV-visible.

Figure 40 : Chromatogramme du complexe **41**.

II.2 Complexes hétérobimétalliques

Pour la synthèse des complexes hétérobimétalliques incorporant du gadolinium (III) et du cuivre (II), nous avons essayé de travailler dans les conditions les plus douces possible afin d'éviter les problèmes de transmétallation qui peuvent avoir lieu quand plusieurs centres métalliques sont mis en présence de plusieurs ligands. Cependant, les complexes de gadolinium (III) dans un dérivé du cyclène sont stables thermodynamiquement et inertes cinétiquement.¹⁰ De plus, les porphyrines ont une forte affinité pour le cuivre.⁷² Les propriétés de nos ligands semblent être adéquates pour obtenir facilement des complexes hétérobimétalliques à base de gadolinium (III) et de cuivre (II).

Nous avons travaillé sur seulement trois complexes de gadolinium. En effet, nous avons mis en jeu dans l'étape de complexation du cuivre uniquement les complexes les plus faciles à obtenir en quantité suffisante. Les complexes **38** et **39** ont ainsi été écartés du fait de leurs problèmes de solubilité et parce que les quantités que nous avions à disposition ne permettaient pas de poursuivre en même temps les analyses et une étape de complexation supplémentaire.

La synthèse du complexe hétérobimétallique **42** a été effectuée en mettant le complexe de gadolinium (III) **37** en solution dans du DMSO. Une solution titrée de nitrate de cuivre a été utilisée étant donné les petites quantités mises en jeu qui deviennent très difficiles à peser précisément. Nous avons choisi pour cette synthèse de travailler avec un défaut de cuivre afin d'être sûr que tout le cuivre présent en solution soit complexé rapidement par la porphyrine et qu'il n'y ait pas de cuivre en excès pouvant entrer en compétition avec le gadolinium. Le mélange réactionnel a été chauffé à 50°C durant 2 h, l'avancement de la réaction a été suivi par spectroscopie UV-visible, la réaction étant stoppée quand le spectre n'évolue plus.

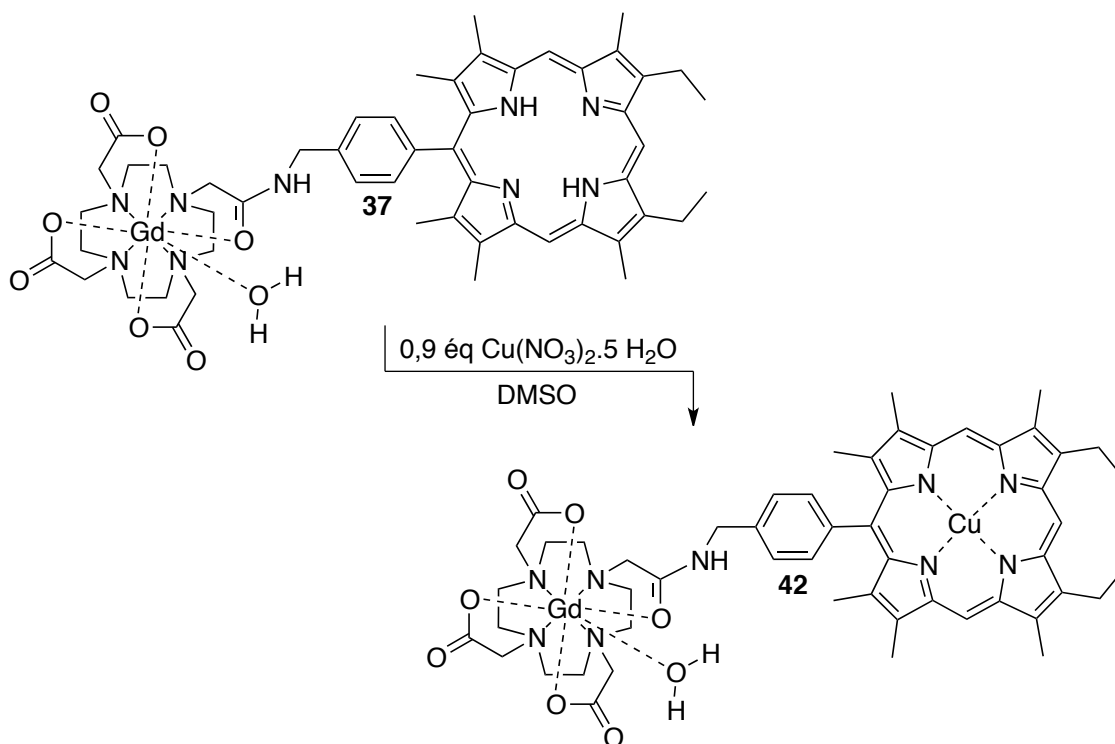


Schéma 89 : Synthèse du complexe hétérobimétallique **42**.

Du fait du défaut de cuivre que nous avons mis en jeu dans la réaction de complexation, nous avons obtenu dans le brut réactionnel un mélange d'espèces entre le produit de départ **37** et le complexe hétérobimétallique **42** désiré. Après évaporation du DMSO, le solide obtenu a été lavé avec du méthanol, le surnageant légèrement coloré a été retiré et nous avons pu isoler uniquement le complexe hétérobimétallique comme le montre le spectre Electrospray (Figure 41).

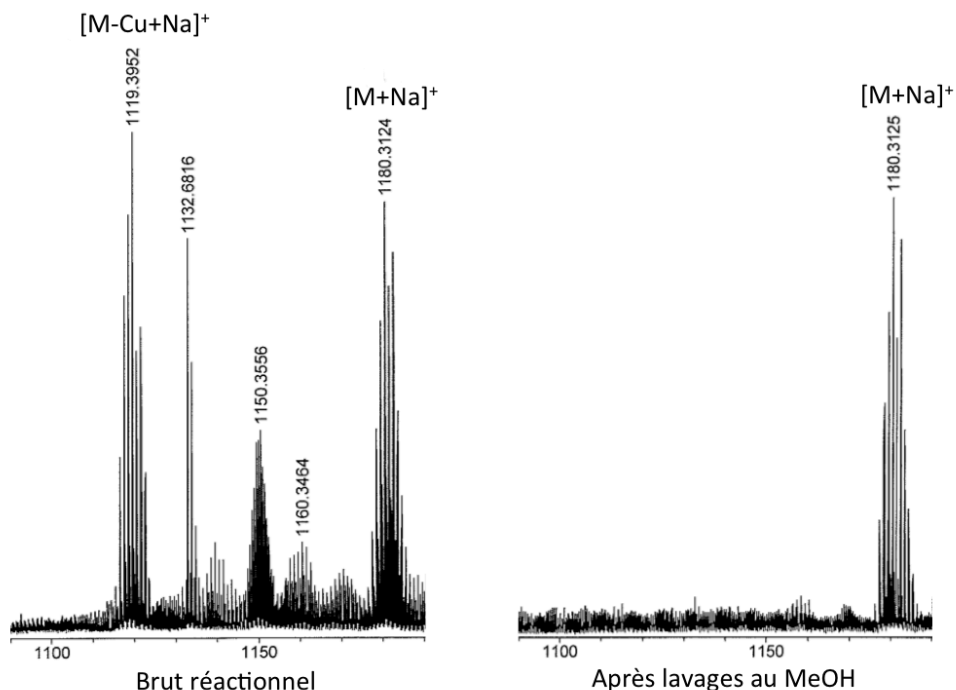
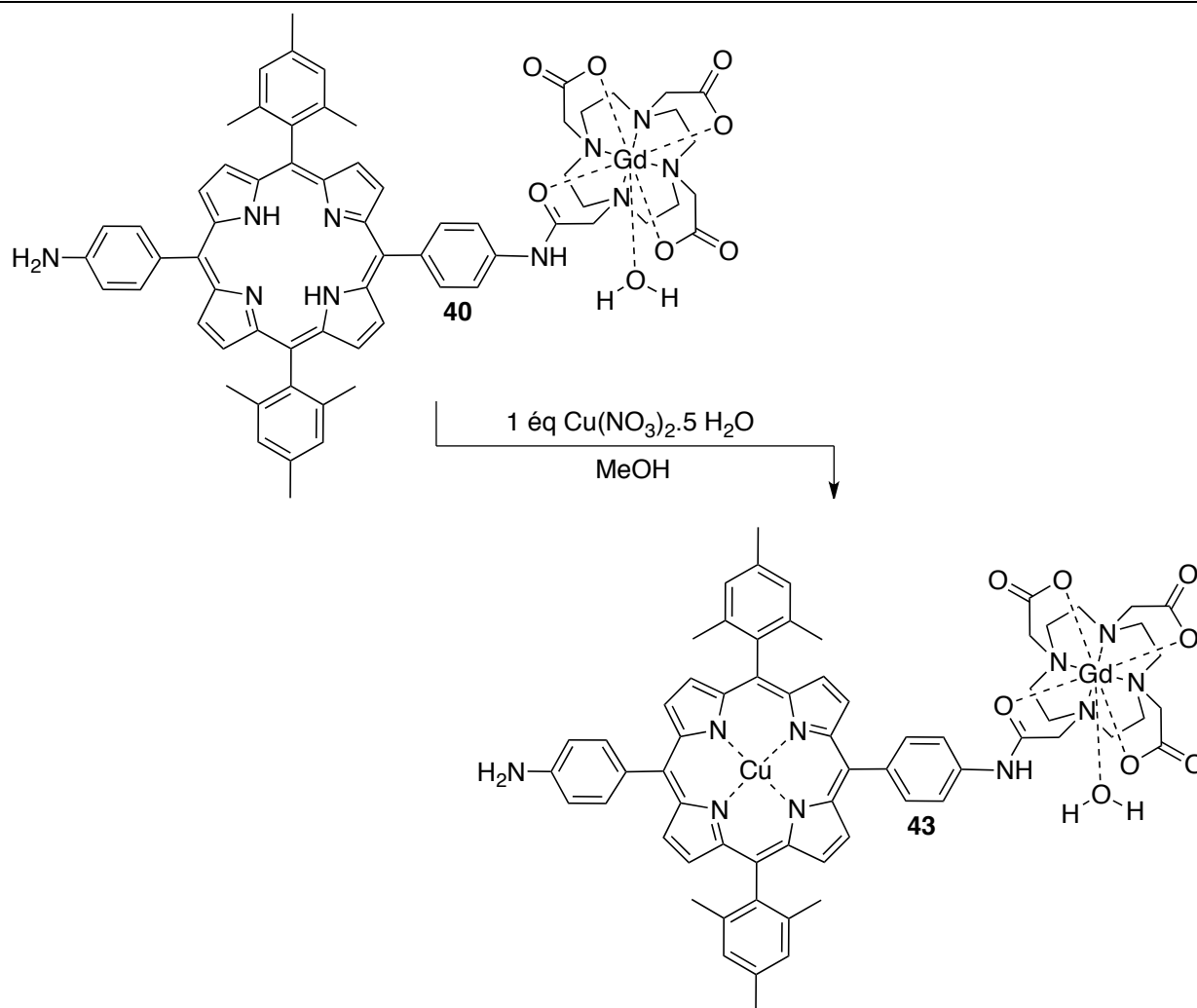


Figure 41 : Spectres de masse Electrospray du brut réactionnel et du complexe **42**.

Pour les deux complexes suivant nous avons suivi un protocole un peu différent. Nous avons utilisé comme auparavant une solution de nitrate de cuivre titrée afin de contrôler très précisément la quantité de cuivre mise en jeu. Nous avons retiré l'eau de cette solution par lyophilisation et nous avons mis un équivalent de cuivre et de ligand en solution dans du méthanol. Nous avons remplacé le DMSO par le méthanol puisqu'il permet de solubiliser les réactifs et est plus facile à manipuler que le DMSO notamment pour l'évaporation du milieu réactionnel. Dans les deux cas nous avons suivi l'avancement de la réaction par spectroscopie UV-visible.

Pour le complexe **43** (Schéma 90) la réaction est rapide, puisqu'au bout d'une demi-heure d'agitation à 50°C le spectre UV-visible n'évolue plus. Le solvant a été évaporé et le solide résiduel a été lavé par centrifugation dans de l'eau ultrapure afin de se débarrasser des sels. Le complexe hétérobimétallique est obtenu sous la forme d'une poudre fine après lyophilisation.

Schéma 90 : Synthèse du complexe hétérobimétallique **43**.

Sur la Figure 42 sont superposés les spectres des complexes **40** et **43** enregistrés dans l'eau. Le spectre de la porphyrine base libre du complexe **40** montre clairement une bande de Soret à 427 nm et quatre bandes Q à 521, 559, 595 et 652 nm. Le spectre de la porphyrine de cuivre **43** ne montre cette fois que la bande de Soret à 420 nm et deux bandes Q à 543 et 580 nm.

La formation du complexe hétérobimétallique **43** a aussi été mise en évidence par spectrométrie de masse MALDI-TOF et Electrospray haute résolution. Le complexe n'a pas pu être purifié par HPLC semi-préparative du fait de la quantité obtenue, cependant la pureté du complexe a été mesurée à une valeur de 80% par HPLC analytique.

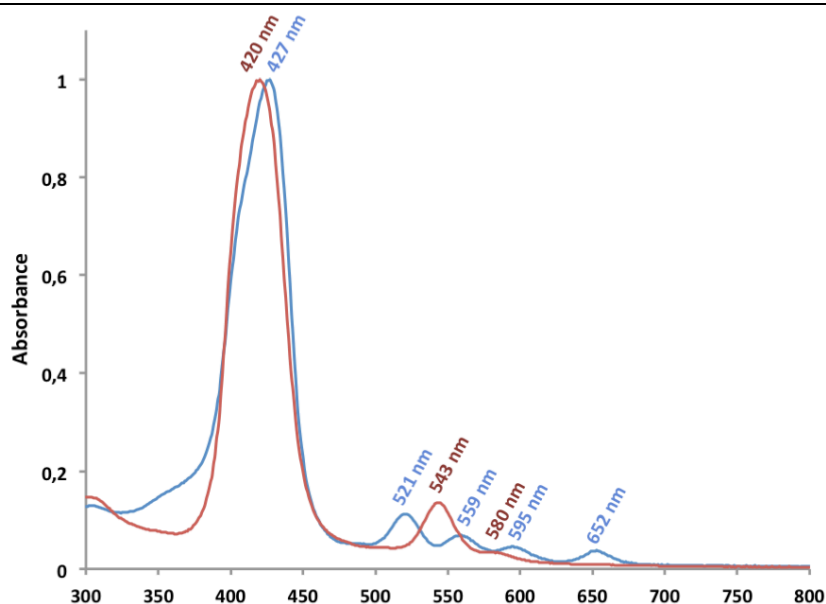


Figure 42 : Spectres UV-visible dans l'eau des complexes **40** (en bleu) et **43** (en rouge).

Le complexe hétérobimétallique **44** a été obtenu selon le même protocole de synthèse que le complexe précédent (Schéma 91). La métallation au cuivre de la porphyrine a nécessité dans ce cas un peu plus de temps puisque l'agitation et le chauffage ont été maintenus durant 2 h, jusqu'à ce que le spectre UV-visible du brut réactionnel n'évolue plus. Le complexe formé a également été lavé à l'eau ultrapure et isolé sous forme d'une poudre fine après lyophilisation.

Le complexe hétérobimétallique **44** a été caractérisé par spectrométrie de masse Electrospray haute résolution, par spectroscopie UV-visible et sa pureté d'une valeur de 80% a été mesurée par HPLC analytique.

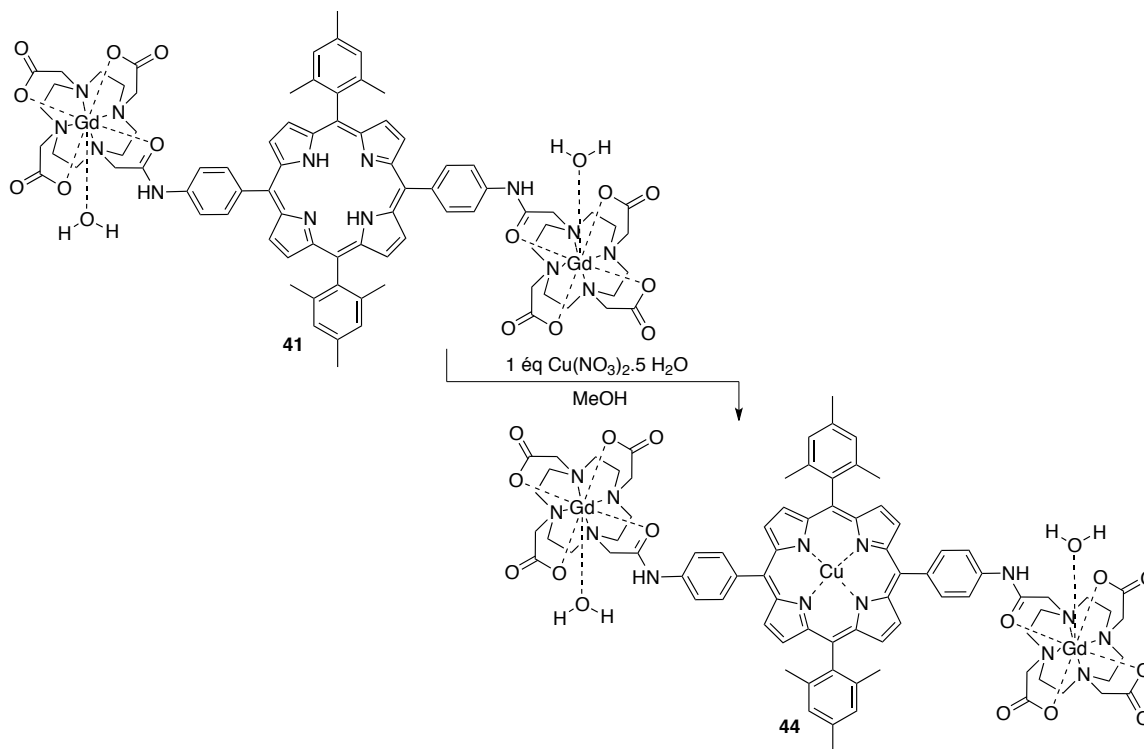


Schéma 91 : Synthèse du complexe hétérobimétallique **44**.

Dans ce paragraphe nous avons vu qu'il était facile de complexer du cuivre dans la partie porphyrinique des ligands que nous avons synthétisés. Cette étape de métallation est rapide et douce, au maximum d'une durée de deux heures à seulement 50°C dans le méthanol ou le DMSO.

Nous avons donc développé des ligands et une méthode de synthèse compatible avec l'emploi de cuivre-64 dont la demi-vie est de 12,7 heures. De plus, la métallation au cuivre intervient en dernière étape de la voie de synthèse ce qui est compatible pour transposer ce protocole en synthèse radiochimique.

III. Etudes de la relaxivité des complexes de Gd

Dans ce paragraphe nous allons détailler les études que nous avons effectuées sur les complexes de gadolinium (III) et les complexes hétérobimétalliques gadolinium (III)/cuivre (II). Comme nous n'avons travaillé qu'avec des métaux froids, nous n'avons pas pu réaliser d'études en rapport avec l'efficacité des complexes en imagerie nucléaire. Nous avons donc choisi de commencer par étudier les propriétés de relaxivité de nos complexes afin d'avoir une première idée de leur efficacité en vue d'applications dans le domaine de l'IRM. En effet la relaxivité est un paramètre propre aux agents de contraste de l'IRM, c'est un moyen de mesurer l'influence d'un complexe de gadolinium (III) sur les molécules d'eau qui l'entourent. C'est aussi une valeur utile pour comparer les agents de contraste de l'IRM entre eux. Plus de précisions sur la relaxivité sont disponibles dans ce manuscrit dans le chapitre d'introduction (§ Chap I.II.1.3).

III.1 Techniques mises en œuvre

La relaxivité s'exprime en $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. La détermination de la relaxivité d'un complexe de gadolinium nécessite deux mesures, la mesure de la vitesse de relaxation des molécules d'eau de la solution où est présent le complexe ainsi que la mesure précise de la concentration en gadolinium. Il est plus aisé de faire ces mesures à plusieurs concentrations et de tracer le graphe $1/T_1$ observé en fonction de la concentration en gadolinium. En effet selon l'équation de la vitesse de relaxation (Équation 3), la relaxivité est le coefficient directeur de la droite $1/T_1 = f([\text{Gd}])$.⁹

$$\left(\frac{1}{T_n} \right)_{para} = r_n [\text{Gd}]$$

$$\left(\frac{1}{T_n} \right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_n} \right)_{dia} + r_n [\text{Gd}] \text{ avec } n = 1, 2$$

Équation 9 : Vitesse de relaxation paramagnétique pour un agent de contraste à base de gadolinium (III).

$1/T_1$ observée est mesurée directement sur un spectromètre RMN par une séquence d'inversion récupération spécifique à cette mesure. Nous avons effectué deux mesures de la relaxivité une à haut champ, 300 MHz (7 T) sur un spectromètre RMN Bruker et l'autre à bas champ, 20 MHz (0,5 T) sur un appareil Minispec Bruker. Les séquences d'inversion récupération sont dans les deux cas basées sur des régressions polynomiales calculées à partir de six points.

Pour la mesure de la concentration des solutions nous avons utilisé un appareil de spectrophotométrie par torche plasma à détecteur optique (ICP-AES). Les solutions sont nébulisées dans l'appareil en très fines gouttelettes, en arrivant dans le plasma d'argon à plusieurs milliers de Kelvin les molécules sont détruites et les métaux ionisés émettent des photons à des longueurs d'onde très caractéristiques.¹²³ Grâce à une droite d'étalonnage spécifique pour chaque élément il est possible de mesurer avec une précision de l'ordre du ppb la concentration en élément métallique d'une solution donnée.

III.2 Protocole de mesure de la relaxivité des systèmes

Dans ce paragraphe, nous allons décrire la méthodologie de mesure de relaxivité en prenant pour exemple le complexe **40** qui a pu être purifié par HPLC semi-préparative. Les valeurs pour les autres complexes présentés dans ce manuscrit ont été obtenues selon le même protocole de mesure.

III.2.1 Solubilité des complexes

Les complexes de gadolinium (III) que nous avons synthétisés ont été isolés par précipitation dans le milieu réactionnel. Pour la mesure de la relaxivité il est impératif que les complexes soient solubles dans l'eau. Nous avons donc utilisé une petite quantité DMSO pour les solubiliser. Cette solution est ensuite complétée par de l'eau ultrapure. La présence de DMSO en petite quantité n'est pas gênante pour la mesure de la relaxivité dans une certaine mesure. En effet il est important que la solution garde des propriétés de viscosité et de diffusion très proches de celles de l'eau pure pour que les valeurs soient comparables avec celles de la littérature.¹²⁴ Nous avons utilisé un pourcentage volumique de 5 % de DMSO dans l'eau, ce qui, rapporté en fraction molaire, donne une valeur faible de $x_{\text{DMSO}} = 0,013$. Pour nous assurer que la petite portion de DMSO dans les solutions ne modifie pas les propriétés de l'eau de manière significative, nous avons mesuré la relaxivité, dans ces conditions, du complexe DOTA(Gd), principe actif du DOTAREM®, connu dans la littérature. Nous avons mesuré pour le complexe de DOTA(Gd) une valeur de $3,6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (300 MHz, 7 T, 25°C), les valeurs de la littérature de $4,2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (60 MHz, 1,5T, 37°C) à champ moyen sont cohérentes avec ce résultat.¹²⁴ De ce point de vue nous pensons que l'ajout d'une fraction molaire de DMSO dans les solutions ne modifie pas de manière significative les valeurs de relaxivité des complexes.

III.2.2 Test au xylénol orange

Nous avons vérifié l'absence de gadolinium libre en solution par un protocole décrit dans la littérature, le test au xylénol orange (Schéma 92).¹²⁵ D'autres méthodes de mesure du gadolinium libre sont décrites dans la littérature,¹²⁶ cependant ce test nous a semblé le plus pertinent, notamment par sa facilité de mise en œuvre.

Le xylénol orange est un indicateur coloré dont la couleur varie du jaune (à pH acide ou neutre) au violet (à pH basique). Le même changement de couleur est observé en mettant le xylénol orange en présence de lanthanides en milieu tamponné (Figure 43).

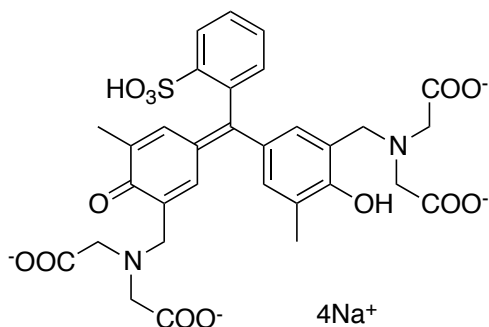


Schéma 92 : Structure du xylénol orange. D'après l'article de Fedeli *et al.*¹²⁵

Comme la stabilité thermodynamique des complexes de lanthanides avec le xylénol orange est bien plus faible que celle des complexes de dérivés du DOTA, cet indicateur coloré est un outil de choix pour détecter la présence de lanthanides libres en solution.

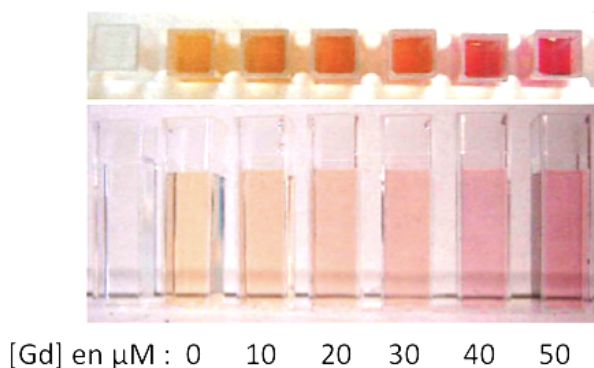


Figure 43 : Changement de couleur du xylénol orange avec l'augmentation de la concentration en gadolinium. D'après l'article de Fedeli *et al.*¹²⁵

Pour les complexes de gadolinium avec des macrocycles incolores en solution, ce test peut être effectué en regardant à l'œil nu la couleur de la solution de complexe et de l'indicateur coloré en milieu tamponné. Pour les complexes étudiés, du fait de la forte absorption des porphyrines dans le visible, nous n'avons pas pu observer de changement de couleur de la solution à l'œil nu. Nous avons donc utilisé un spectrophotomètre UV-visible pour mesurer les spectres d'absorption du complexe **40** seul et en présence de xylénol orange à pH = 6 dans un milieu tamponné (Figure 44).

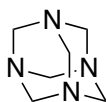


Schéma 93 : structure de l'urotropine.

Nous avons utilisé l'urotropine pour former cette solution tampon, l'urotropine est une base faible connue aussi sous le nom d'hexaméthylènetétramine (Schéma 93), elle possède un pKa de 5,1.

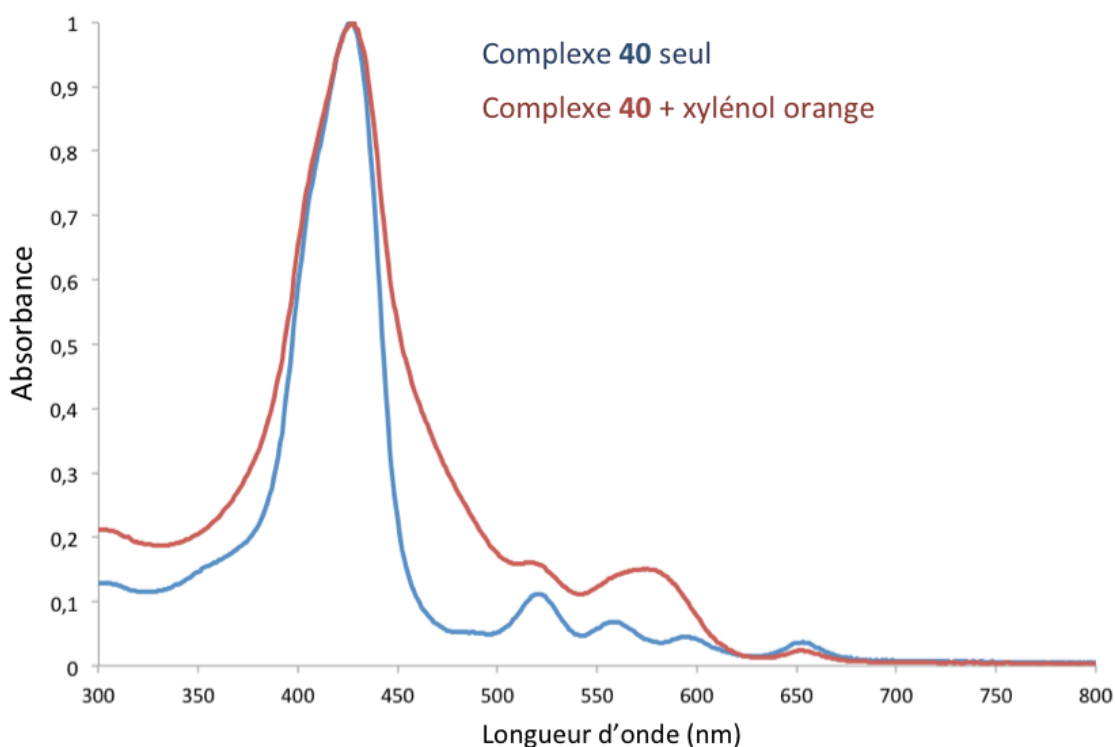


Figure 44 : Spectres UV-visible du composé **40** seul et en présence de xylénol orange dans l'eau à pH = 6 (tampon urotropine).

Sur le spectre UV-visible du complexe **40** on peut noter la présence des bandes d'absorption caractéristiques d'une porphyrine base libre, à savoir une bande de Soret intense à 420 nm et quatre bandes Q entre 500 et 700 nm. La présence de la porphyrine rend la lecture du spectre du complexe **40** en présence de xylénol orange compliqué. En effet, il est difficile d'identifier clairement quelles bandes d'absorption ont pour origine la porphyrine, le xylénol orange ou les deux superposés. Pour pouvoir établir avec certitude l'absence de gadolinium en solution nous avons donc préparé et utilisé comme référence une solution de xylénol orange seul et une solution de xylénol orange en présence d'un excès de gadolinium à pH = 6 dans un tampon urotropine (Figure 45).

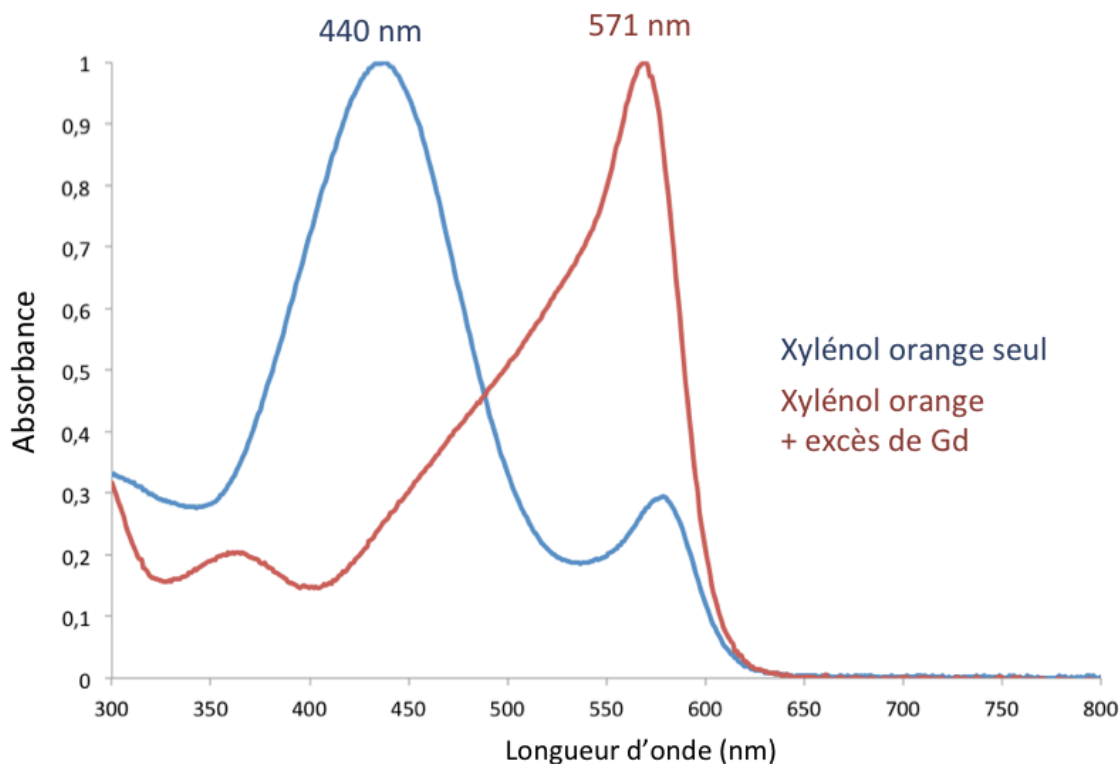


Figure 45 : Spectres d'absorption UV-visible du xylénol orange seul et en présence d'un excès de gadolinium.

Le spectre d'absorption du xylénol orange seul nous montre une bande intense à 440 nm et une bande d'intensité moindre à 575 nm. L'ajout d'un excès de gadolinium en présence de l'indicateur coloré nous donne un spectre UV-visible caractéristique avec une bande centrée à 571 nm. Ces données sont conformes à celles décrites dans la littérature.¹²⁵

Nous avons ensuite traité les spectres obtenus avec le complexe **40** par une opération de soustraction entre les deux spectres de la Figure 44. Cette soustraction devrait nous donner uniquement le spectre d'absorption du xylénol orange en solution avec le complexe **40**. Nous avons comparé le résultat de la soustraction avec le spectre de l'indicateur coloré seul (Figure 46).

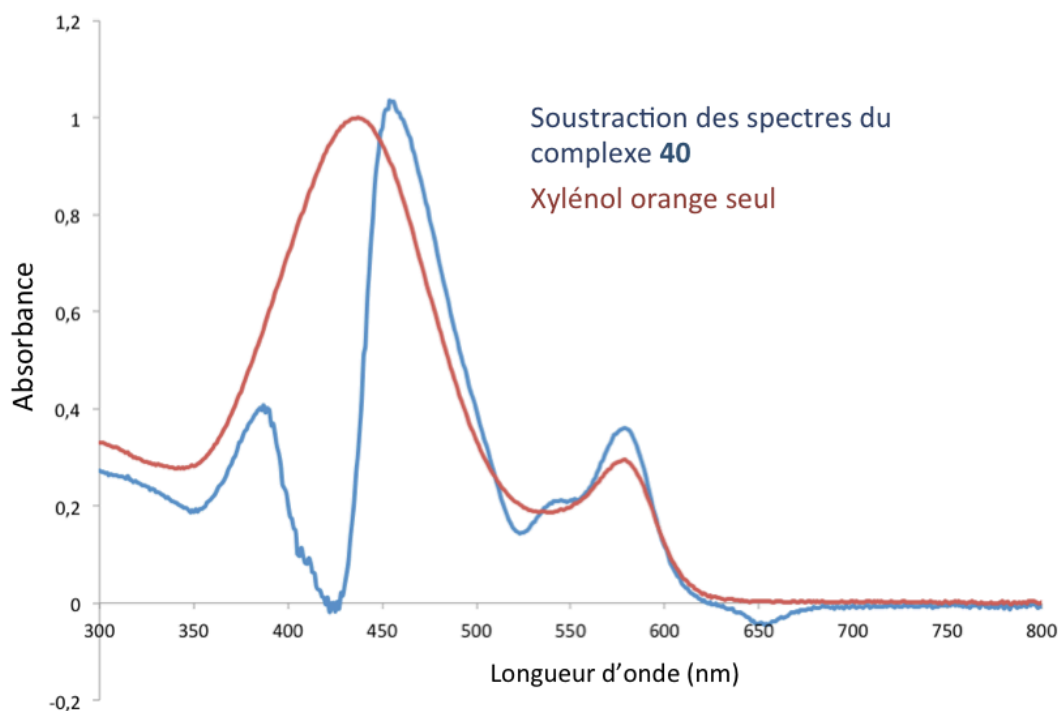


Figure 46 : Spectres UV-visible du xylénol orange seul comparé à la soustraction entre les spectres du complexe **40**.

Sur la Figure 46, on voit clairement la présence d'une bande d'absorption intense à environ 450 nm et d'une bande d'intensité plus faible vers 570 nm. On peut conclure que l'espèce présente en solution avec le complexe **40** a le même spectre d'absorption que le xylénol orange seul en solution. La diminution de l'absorbance entre 400 et 450 nm est un artefact dû à la soustraction des bandes de Soret très intenses dans cette région du spectre, où le xylénol orange a très peu d'influence du fait de son coefficient d'extinction molaire beaucoup plus faible que celui de la porphyrine. De plus sur les spectres originaux, les valeurs d'absorption des bandes de Soret sont légèrement supérieures à 1, du fait des concentrations des solutions que nous avons utilisées. La loi de Beer-Lambert ne s'applique plus pour des absorbances supérieures à 1, ce qui est à l'origine des aberrations dans la zone de la bande de Soret lors de la soustraction entre les spectres de la Figure 44.

Le test au xylénol orange nous a permis d'affirmer qu'il n'y avait pas de gadolinium libre dans les solutions que nous avons utilisées pour les mesures de relaxivité.

III.2.3 Mesure de la concentration en gadolinium

Pour mesurer avec précision la concentration en gadolinium de nos solutions, nous avons utilisé l'ICP-AES (pour Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry).

Nous avons dû faire face à quelques difficultés pour ces mesures puisque les solutions dans un mélange d'eau et de DMSO (100 : 5) à pH = 7, que nous avons préparées pour les mesures de

relaxivité se sont révélées incompatibles avec les mesures d'ICP-AES puisque les échantillons doivent être préparés dans une solution d'acide nitrique à 2 %. De plus, quand nous avons ajouté la petite quantité d'acide nitrique nécessaire à la mesure par ICP-AES les complexes ont précipité. Il n'est pas possible de faire un dosage d'ICP-AES sur une solution inhomogène, étant donné les risques d'obstruer les capillaires de l'appareil et des erreurs de mesure entraînées par la présence de particules en solution.

Pour contourner ce problème, nous avons prélevé un volume connu de la solution préparée pour la mesure de la relaxivité et nous l'avons lyophilisé. Le solide obtenu a été minéralisé sous micro-ondes, dans un mélange d'acide nitrique et d'eau oxygénée grâce à un minéralisateur micro-ondes. Le laboratoire n'étant pas équipé de minéralisateur micro-ondes nous avons effectué cette étape au Pôle de Chimie Analytique Welience situé à la Faculté de Pharmacie de Dijon. Après ce traitement toute la partie organique du complexe est détruite et il ne reste que du nitrate de gadolinium en solution dans l'acide nitrique. Cette solution a été diluée dans l'eau jusqu'à un volume connu et la solution de gadolinium obtenue a été dosée par ICP-AES par le Pôle de Chimie Analytique Welience. Pour les complexes hétérobimétalliques, nous avons dosé le gadolinium et le cuivre simultanément, les valeurs n'ont pas révélé d'anomalies et sont conformes aux résultats attendus.

III.2.4 Mesure de la vitesse de relaxation longitudinale $1/T_1$ et calcul de la relaxivité

Pour la mesure de la relaxivité nous avons choisi de mesurer la vitesse de relaxation longitudinale $1/T_1$ à trois concentrations différentes pour chaque complexe. Nous avons donc préparé une solution mère, sur laquelle nous avons effectué toutes les analyses précédemment décrites. A partir de cette solution mère nous avons facilement obtenu deux autres solutions filles, l'une diluée deux fois et l'autre diluée cinq fois.

Pour chaque solution, nous avons mesuré la vitesse de relaxation longitudinale par des séquences RMN classiques d'inversion récupération à bas champ (20 MHz, 0,5 T, 25°C et 40°C) et à haut champ (300 MHz, 7 T, 25°C).

Une fois les valeurs de vitesse de relaxation longitudinale obtenues nous avons tracé la droite $(1/T_1) = f([Gd])$ et la relaxivité du complexe considéré, qui est le coefficient directeur de la droite, est obtenue par régression linéaire.

III.3 Analyse des valeurs de relaxivité

Les valeurs de relaxivité que nous avons obtenues peuvent être divisées en deux groupes, un groupe de valeurs conformes à ce que nous attendions, qui concerne les complexes **37**, **40**, **41**, **42**, **43** et **44** (Schéma 94, Tableau 9) et un groupe de valeurs inattendues qui concerne les complexes **38**

et **39** (Schéma 95, Tableau 10). Dans les deux paragraphes suivants nous allons détailler séparément ces deux groupes en commençant par les valeurs en accord avec ce que nous attendions.

III.3.1 Relaxivité des complexes **37**, **40**, **41**, **42**, **43** et **44**

Les structures de complexes de gadolinium (III) **37**, **40** et **41** ainsi que celles des complexes hétérobimétalliques associant du gadolinium (III) et du cuivre (II) **42**, **43** et **44** sont rappelées sur le Schéma 94.

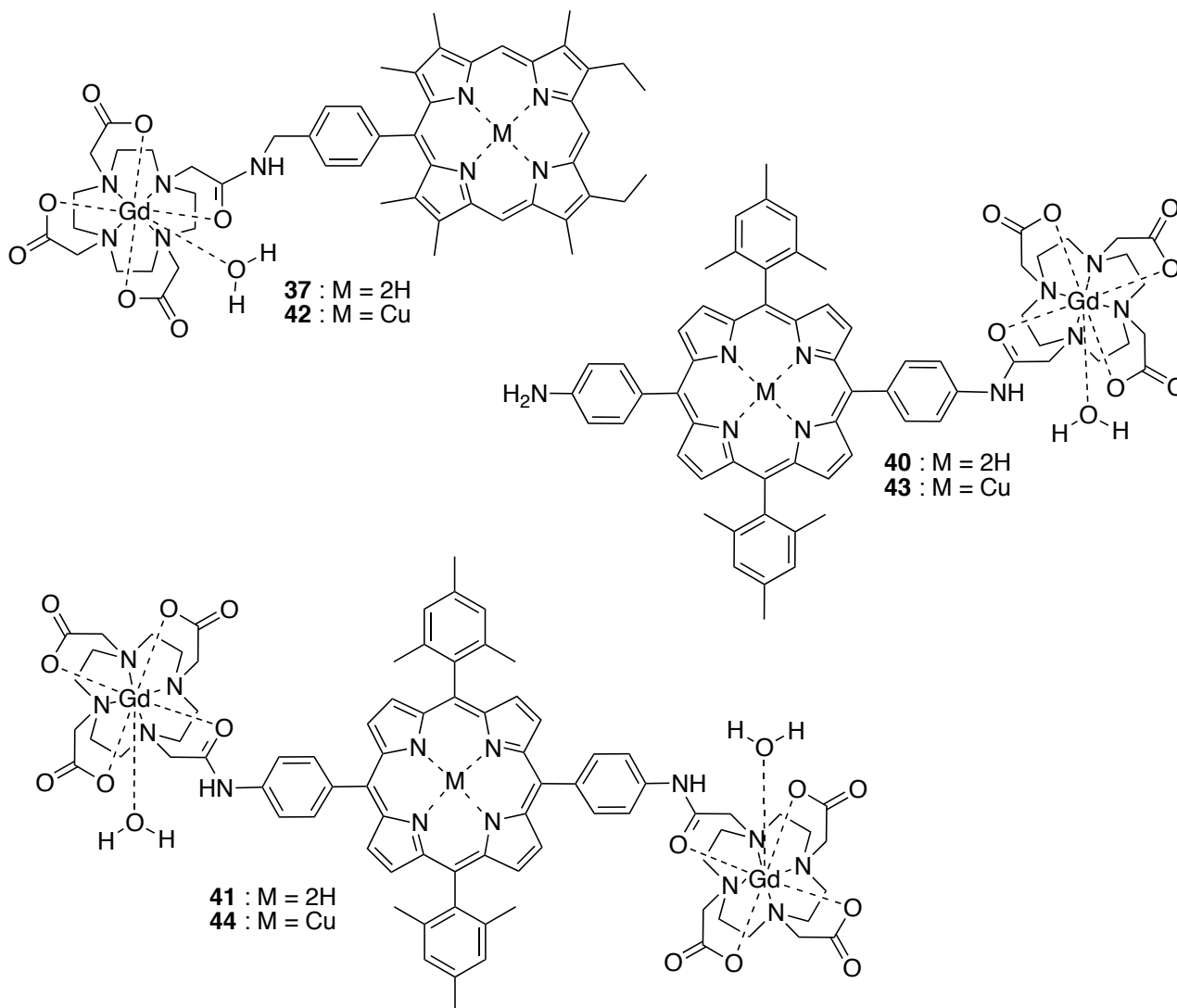


Schéma 94 : Structure des complexes **37**, **40**, **41**, **42**, **43** et **44**.

Les valeurs de relaxivité des complexes enregistrées à haut champ (300 MHz, 7 T, 25 °C) vont de 3,6 à 6,1 mM⁻¹.s⁻¹ et sont du même ordre de grandeur que la valeur mesurée pour le complexe de référence, 3,6 mM⁻¹.s⁻¹ pour le DOTA(Gd). Ces valeurs de relaxivité à haut champ sont caractéristiques de complexes de gadolinium avec une molécule d'eau dans leur première sphère de coordination.

Les valeurs de relaxivité à bas champ (20 MHz, 0,5 T) à 40°C sont supérieures à celles enregistrées à 25°C. Cette différence provient de l'augmentation de la température d'analyse. Nous pouvons voir que l'introduction de cuivre (II) paramagnétique ne modifie pas significativement la relaxivité des complexes. Ceci s'explique par le fait que les molécules d'eau n'ont pas accès à la première sphère de coordination du cuivre dans le macrocycle porphyrinique. La relaxivité des complexes utilisés en imagerie médicale à bas champ est comprise entre 4 et 8 mM⁻¹.s⁻¹ (§ Chap I.II.1.5.2). Pour les complexes étudiés, les valeurs sont de deux à quatre fois supérieures à celles des agents de contraste commerciaux utilisés à l'heure actuelle. Ceci est un résultat encourageant qui signifie que les complexes utilisés à la même concentration qu'un agent de contraste commercial fourniraient théoriquement un contraste quatre fois plus intense.

Complexe	Relaxivité r_1 (en mM ⁻¹ .s ⁻¹)		
	20 MHz, 0,5 T	20 MHz, 0,5 T	300 MHz, 7 T
	25°C	40°C	25°C
[Gd] 37	18,9	----	4,2
[Gd] 40	19,5	25,7	3,6
[Gd ₂] 41	19,8	22,2	5,4
[Gd-Cu] 42	18,8	----	3,9
[Gd-Cu] 43	16,1	18,5	6,1
[Gd ₂ -Cu] 44	21,2	24,5	5,5
DOTA(Gd)	4,2 à 60 MHz, 1,5 T et 37°C ¹²⁴		3,6

Tableau 9 : Relaxivité des complexes **37**, **40**, **41**, **42**, **43** et **44** à différents champs et températures.

La relaxivité plus élevée des complexes que nous avons obtenus, par rapport aux complexes de gadolinium commerciaux peut être expliquée par la taille des ligands que nous utilisons. En effet, quand la masse molaire du ligand augmente, le paramètre de corrélation rotationnel τ_R diminue. τ_R traduit la vitesse de rotation du complexe sur lui-même. Selon la théorie développée par Solomon, Bloemergen et Morgan⁹ si le complexe tourne moins vite, l'échange des molécules d'eau devient plus efficace et la relaxivité augmente. Plus le ligand est encombrant et moins il tourne vite sur lui-même et plus la valeur de la relaxivité augmente.

Nous avons comparé les valeurs que nous avons obtenues avec celles de complexes de structure voisine décrits dans la littérature. En effet, plusieurs équipes ont développé des complexes de gadolinium couplés à des dérivés porphyriniques.

L'équipe de Simonneaux a mesuré une valeur de r_1 de 14,8 mM⁻¹.s⁻¹ à 20 MHz pour une porphyrine porteuse de quatre complexes de DTPA(Gd).¹²⁷ L'équipe de Pandey a développé des composés associant des chlorines substituées par plusieurs complexes de DTPA(Gd) avec des valeurs de relaxivité allant de 13,5 à 25,09 mM⁻¹.s⁻¹ à 200 MHz.¹⁰³ L'équipe de Meade a décrit des systèmes incorporant une porphyrine substituée par plusieurs complexes de DOTA(Gd) qui présente des valeurs de r_1 allant de 4,2 à 12,8 mM⁻¹.s⁻¹ à 60 MHz.¹²⁸ Les valeurs de relaxivité

présentées dans ces exemples sont du même ordre de grandeur que celles que nous avons observées pour les complexes **37**, **40**, **41**, **42**, **43** et **44**.

III.3.2 Relaxivité des complexes **38** et **39**

Les valeurs observées pour les complexes **38** et **39** sont, à haut champ comme à bas champ, plus faibles que pour les autres complexes que nous avons développés. Plusieurs facteurs peuvent être responsables de cette diminution des valeurs de r_1 pour des composés dont la structure est très proche de celle des complexes précédents.

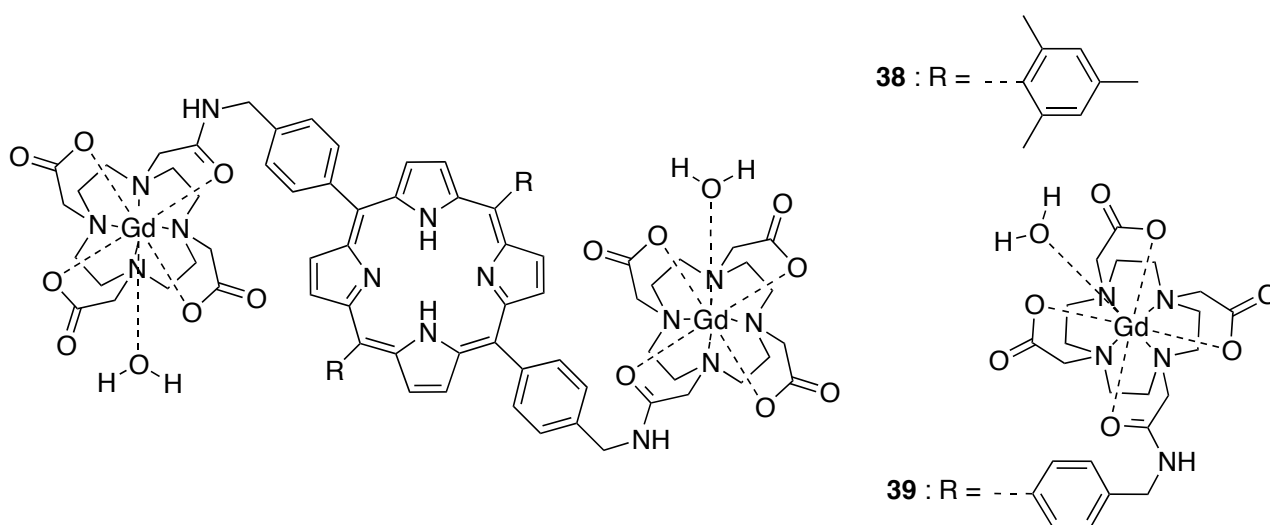


Schéma 95 : Structure des complexes **38** et **39**.

Complexe	Relaxivité r_1 (en $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)		
	20 MHz, 0,5 T	20 MHz, 0,5 T	300 MHz, 7 T
	25°C	40°C	25°C
[Gd ₂] 38	7,3	9,1	4,1
[Gd ₄] 39	5,0	6,7	2,8
DOTA(Gd)	4,2 à 60 MHz, 1,5 T et 37°C ¹²⁴		3,6

Tableau 10 : Relaxivité des complexes **38** et **39** à différents champs et températures

Cette baisse est plus sensible pour le composé **39** qui incorpore quatre complexes de DOTA(Gd) que pour le complexe **38** qui n'en comporte que deux. Une des explications est que ces complexes sont moins rigides du fait de la présence d'un atome de carbone en plus entre le ligand dérivé du DOTA et la porphyrine. Cette flexibilité pourrait induire une gêne stérique de la partie hydrophobe de la molécule. La porphyrine pourrait gêner l'approche de la molécule d'eau vers les complexes de gadolinium. Cette baisse de la relaxivité peut aussi avoir comme origine un manque de solubilité de ces complexes entraînant une légère précipitation durant l'analyse.

IV. Conclusions et perspectives de ce travail

IV.1 Perspectives

Dans ce paragraphe nous avons choisi de présenter les travaux en cours au laboratoire et qui n'ont pas pu être terminés au moment de la rédaction de ce manuscrit. En effet encore beaucoup de travail reste à accomplir dans cette thématique d'imagerie médicale relativement récente au laboratoire.

Nous avons délibérément choisi de mettre au point des complexes hétérobimétalliques à base de gadolinium (III) et de cuivre (II) mais d'autres combinaisons sont toutes aussi pertinentes et restent à mettre au point et à étudier. Les porphyrines sont notamment connues pour former des complexes stables avec l'indium dont l'isotope radioactif l'indium-111 est utilisé en imagerie nucléaire. Les porphyrines de manganèse sont aussi intéressantes de par leur potentiel en IRM^{13, 16, 129} et les macrocycles de la famille du DOTA sont connus pour complexer de nombreux centres métalliques utiles pour l'imagerie nucléaire.^{51, 130}

Nous avons vu qu'à partir des étapes de complexation, nos complexes présentaient des problèmes de solubilité. Il y existe plusieurs solutions à ce problème. L'une des solutions est de préparer une nouvelle voie de synthèse dans laquelle des fonctions seront ajoutées à la structure des ligands. Ces fonctions seront en charge de rendre hydrosoluble la partie porphyrinique des molécules.¹³¹

L'autre possibilité est de se focaliser sur la vectorisation des complexes, en les greffant sur des biomolécules de taille importante, comme des anticorps, en presumant que le vecteur pourra solubiliser correctement les complexes en milieu biologique.⁵¹ Les travaux d'activation de la fonction amine libre de notre ligand seront détaillés dans ce paragraphe.

Enfin des tests de cytotoxicité *in vitro* et d'efficacité des complexes en IRM sur petit animal sont prévus pour certains composés. Dans l'avenir il faudra bien entendu envisager d'utiliser des métaux radioactifs et évaluer leurs performances en imagerie nucléaire.

IV.1.1 Essai de complexation d'indium dans la cavité porphyrinique

Afin d'enrichir la variété des métaux que nous avons inséré dans les ligands et d'obtenir un autre exemple de complexe hétérobimétallique, nous avons essayé d'introduire de l'indium dans la cavité porphyrinique du complexe de gadolinium (III) **41**. En effet son isotope radioactif, l'indium 111, est émetteur de rayons γ et est utilisé en tant qu'agent de contraste de la SPECT.²⁶ De plus les porphyrines ont déjà été utilisées pour marquer des anticorps par de l'indium 111 par l'équipe de Pereyre.¹³²

Les conditions expérimentales disponibles dans la littérature sont relativement drastiques puisque l'équipe de Pereyre a mis en présence la porphyrine et du chlorure d'indium en solution dans un mélange d'acide acétique avec une petite quantité d'acide trifluoroacétique à 140 °C durant trois heures sous atmosphère inerte.¹³² Ces conditions sont beaucoup trop dures pour pouvoir être utilisées sur des complexes de gadolinium, qui se dissocieraient en solution dans l'acide à haute température.

Nous avons trouvé un autre exemple dans la littérature, qui permet de s'affranchir de l'utilisation d'acide puisque la porphyrine d'indium est obtenue en plaçant du chlorure d'indium et la porphyrine en solution dans le DMF et en chauffant à 140°C durant 40 h.¹³³ Nous avons décidé d'utiliser cette méthode de synthèse. Comme la température requise pour la complexation de l'indium dans la cavité porphyrinique est relativement élevée, nous avons préféré utiliser un défaut d'indium afin d'essayer d'éviter les phénomènes de transmétallation. Nous avons utilisé le complexe **41** pour ce test puisqu'il était disponible en quantité suffisante pour faire quelques essais de complexation.

Nous avons mis le complexe **41** en solution dans le DMF en présence de 0,2 équivalents de chlorure d'indium et nous avons chauffé la solution à 140°C (Schéma 96).

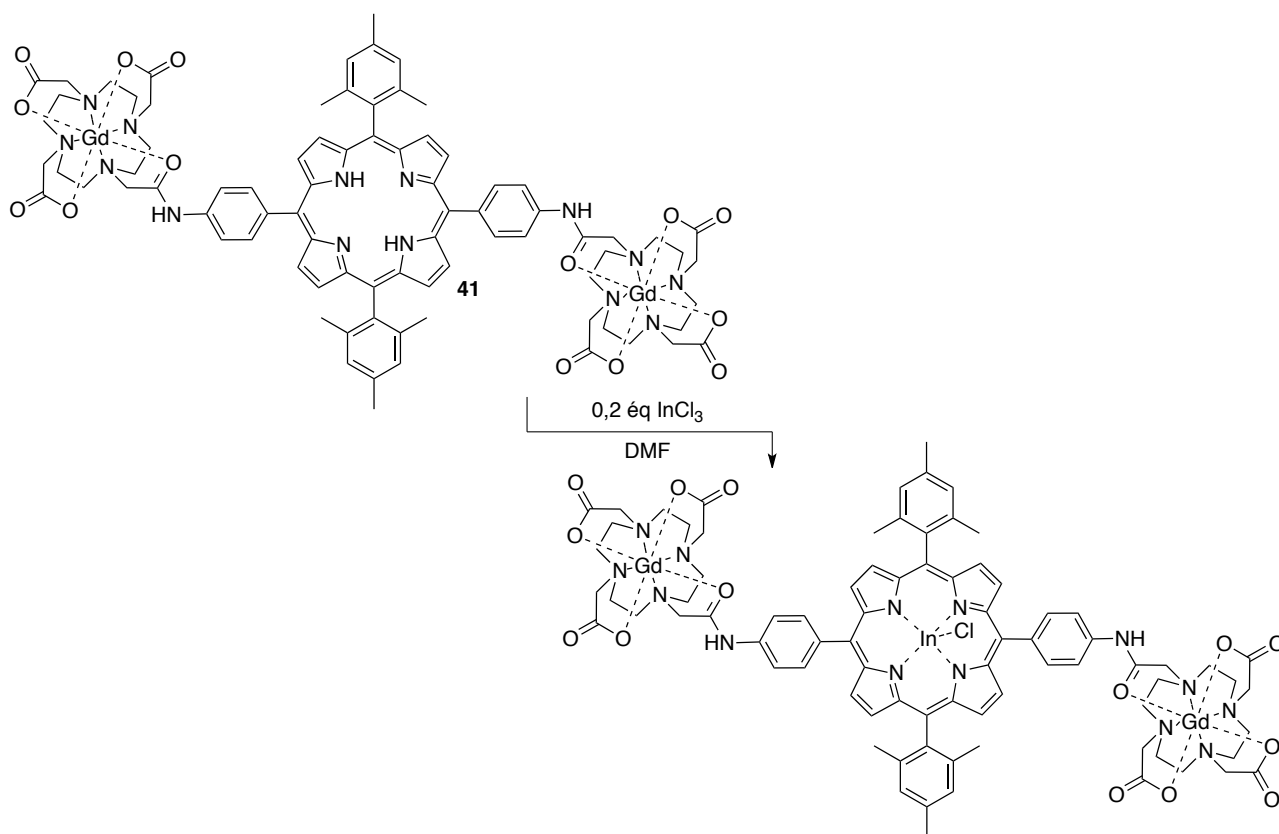
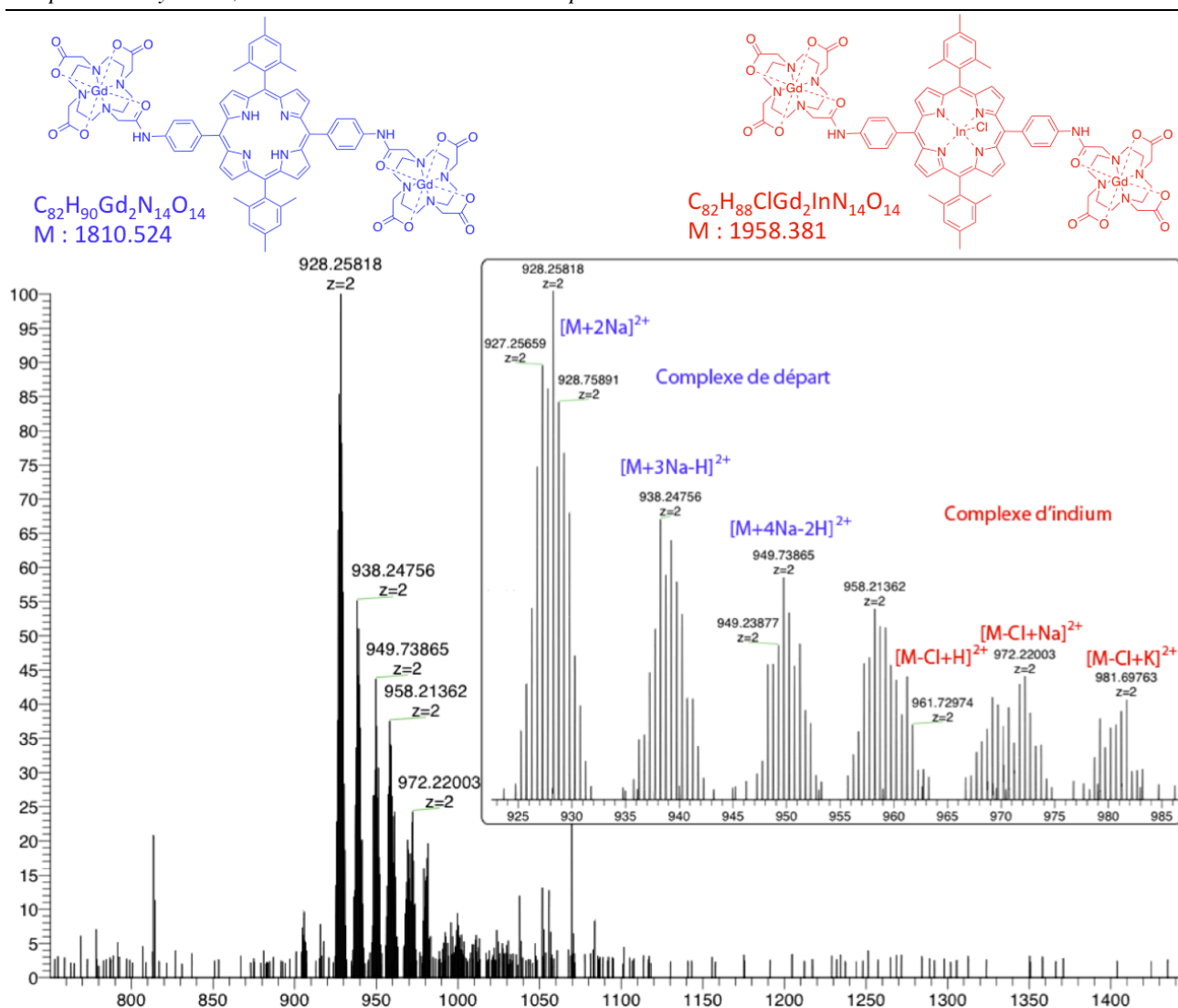


Schéma 96 : Essai de complexation de l'indium dans la cavité porphyrinique du complexe **41**.

L'avancement de la réaction a été suivi par spectrométrie de masse Electrospray. Le chauffage a été maintenu durant 2 h et nous avons pu identifier sur le spectre de masse des amas isotopiques appartenant au complexe hétérobimétallique indium-gadolinium.

Figure 47 : Spectre de masse Electrospray de la métallation à l'indium du complexe **41**.

Sur le spectre de masse Electrospray (Figure 47) on peut identifier trois amas isotopiques correspondant à des adduits du complexe hétérobimétallique désiré. On peut noter la présence de l'amas isotopique dichargé à 969,20 Daltons qui correspond à une perte de l'atome de chlore axial de l'indium et à l'ajout d'un proton $[M-Cl+H]^{2+}$. Deux autres amas isotopiques dichargés peuvent être identifiés à 972,22 et 981,68 Daltons correspondant respectivement aux formules brutes $[M-Cl+Na]^{2+}$ et $[M-Cl+K]^{2+}$. Ces amas ne sont pas clairement définis puisqu'ils sont confondus avec des amas isotopiques d'adduits du complexe **41** de départ. En effet du fait du défaut d'indium nous retrouvons beaucoup de produit de départ dans le brut réactionnel. On peut clairement identifier les amas isotopiques correspondant à des adduits de sodium du complexe de départ à 928,26, 938,25 et 949,74 qui correspondent respectivement aux formules brutes $[M+2Na]^{2+}$, $[M+3Na-H]^{2+}$ et $[M+4Na-2H]^{2+}$. Les autres amas isotopiques du produit de départ sont confondus avec ceux du complexe hétérobimétallique final.

Il est important de noter qu'aucune transmétallation n'a été observée et qu'il semble que l'indium soit complexé uniquement par la porphyrine sans affecter les complexes de gadolinium de départ.

Ce résultat est très prometteur, mais nous n'avons malheureusement pas eu le temps de poursuivre ces travaux et d'isoler le complexe hétérobimétallique incorporant de l'indium (III) et du gadolinium (III). La métallation de la porphyrine à l'indium semble tout à fait possible en présence de complexes de gadolinium sans que ceux-ci soient détruits par les conditions réactionnelles à haute température.

IV.1.2 Amélioration de la solubilité des complexes

Dans ce paragraphe, nous allons décrire une voie de synthèse que nous avons utilisée pour obtenir une porphyrine A₃B substituée par un groupement aniline et trois fonctions sulfonates qui permettent de solubiliser la porphyrine en milieu aqueux. La synthèse de cette porphyrine A₃B a déjà été décrite par le groupe de Mahy en 2010.¹³⁴ Dans cette voie de synthèse la fonction aniline est amenée grâce à une fonction nitro. Cette fonction nitro est elle même introduite sur la tétraphénylporphyrine par un protocole décrit par l'équipe de Smith (Schéma 97).¹³⁵ Cette méthode de synthèse permet de nitrer en position *para* un seul des quatre cycles aromatiques avec un rendement annoncé d'environ 80%.

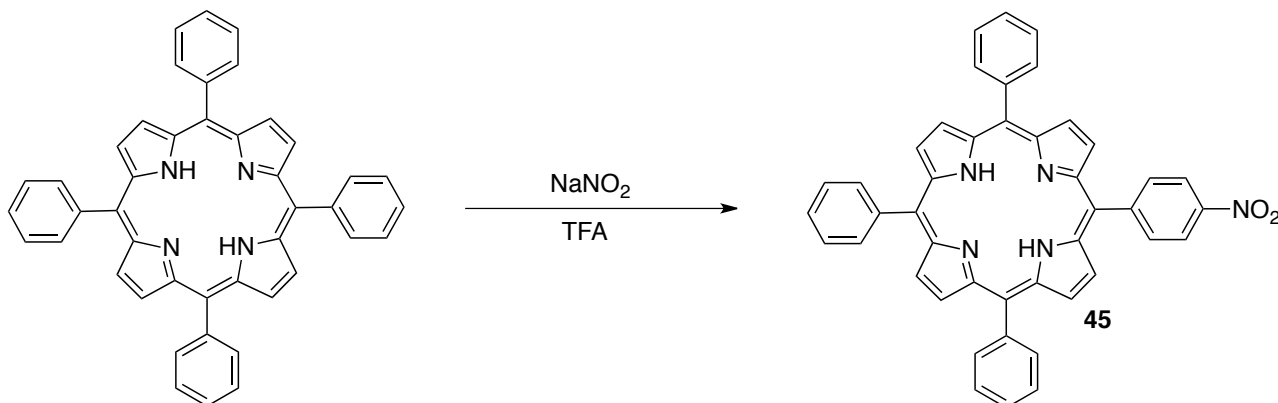


Schéma 97 : Synthèse de la 5-(4-(nitro)phényl),10,15,20-triphenylporphyrine **45**.

La tétraphénylporphyrine est un produit courant au laboratoire qui est synthétisé, grâce à un réacteur de 20 L, dans des quantités de l'ordre de la centaine de grammes, par la méthode d'Adler et Longo, en mettant du pyrrole et du benzaldéhyde en solution dans l'acide propionique.

La tétraphénylporphyrine est mise en solution dans l'acide trifluoroacétique et 1,8 équivalents de nitrate de sodium sont ajoutés dans le milieu réactionnel (Schéma 97). La réaction est très rapide et est interrompue après seulement trois minutes. Le milieu réactionnel est versé sur une grande quantité d'eau pour stopper la réaction. L'acide est neutralisé et les résidus porphyriniques sont extraits et évaporés. Le brut réactionnel comporte trois produits, le produit de départ, la porphyrine **45** désirée et le produit provenant de la bis-addition de la fonction nitro. La porphyrine A₃B nitro **45** est isolée avec un rendement de 59% par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant un mélange DCM : heptane (60 : 40).

La fonction nitro de la porphyrine **45** a ensuite été réduite en amine par la méthode utilisant du chlorure d'étain et de l'acide chlorhydrique (Schéma 98). Après une purification par une colonne chromatographique de silice la porphyrine A₃B **46** est isolée avec un rendement de 62 %.

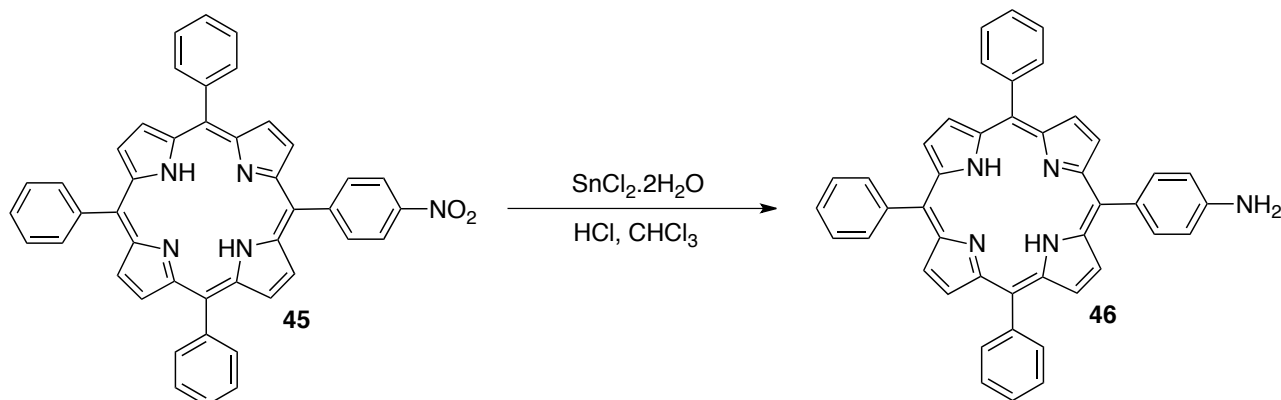


Schéma 98 : Synthèse de la 5-(4-(amino)phényl)-10,15,20-triphenylporphyrine **46**.

La formation du composé **46** a été mise en évidence par spectrométrie de masse MALDI-TOF, Electrospray et par spectroscopie RMN ^1H . Sur la Figure 48, sont superposés les spectres de la porphyrine A₃B nitro **45** et de la porphyrine A₃B amino **46**.

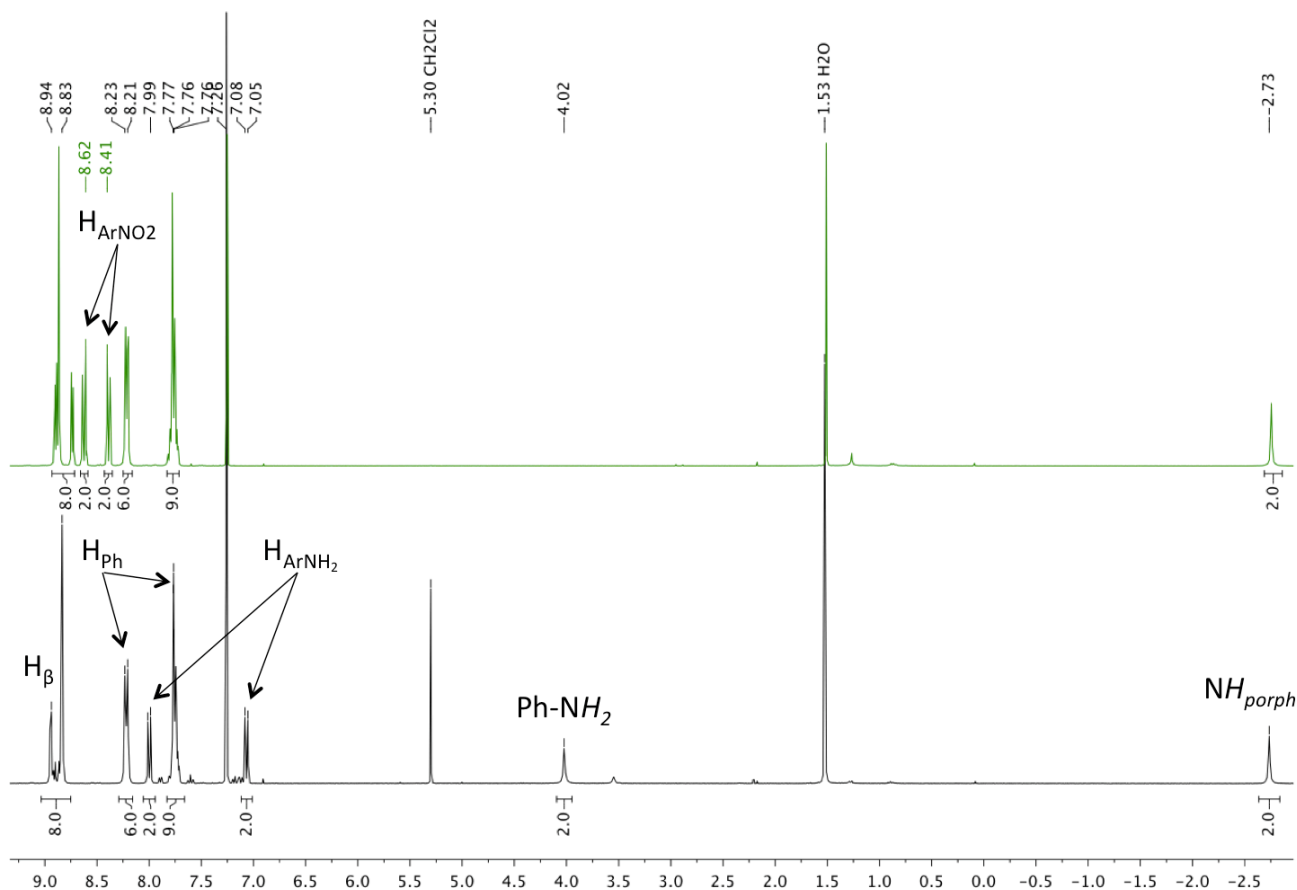


Figure 48 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) des composés **45** (en vert) et **46** (en noir).

Sur les deux spectres, on peut noter la présence des pics caractéristiques des protons des positions β qui résonnent sous la forme d'un multiplet de 8,83 à 8,94 ppm. Les protons aromatiques des groupements phényles apparaissent sous la forme de deux multiplets intégrant pour six et neuf

protons à 8,21 et 7,76 respectivement. Les protons de la cavité porphyrinique résonnent sous la forme d'un singulet à -2,73 ppm. La formation de la fonction amine est mise en évidence par l'apparition du singulet à 4,02 ppm intégrant pour deux protons. La réduction de la fonction nitro induit aussi un blindage des doublets, intégrant pour deux protons chacun, du cycle aromatique de 8,62 à 7,99 ppm et de 8,41 à 7,05 ppm respectivement.

L'étape suivante de cette voie de synthèse est l'introduction de trois fonctions acide sulfonique sur les positions *para* des trois cycles aromatiques non substitués. La méthode de fonctionnalisation que nous avons utilisée a déjà été décrite dans la littérature sur la tétraphénylporphyrine par plusieurs groupes (Schéma 99).¹³⁶

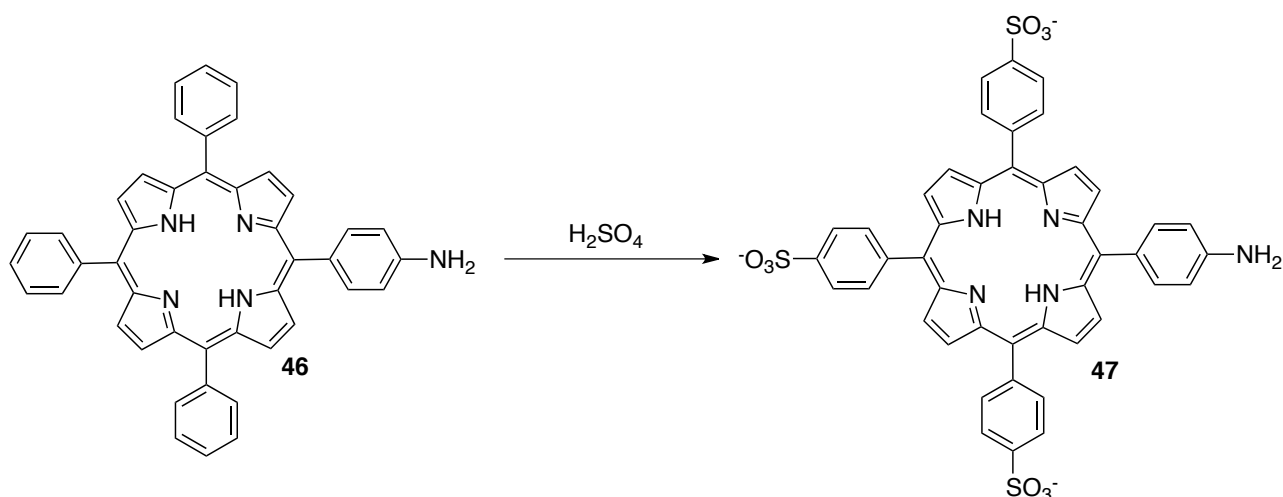
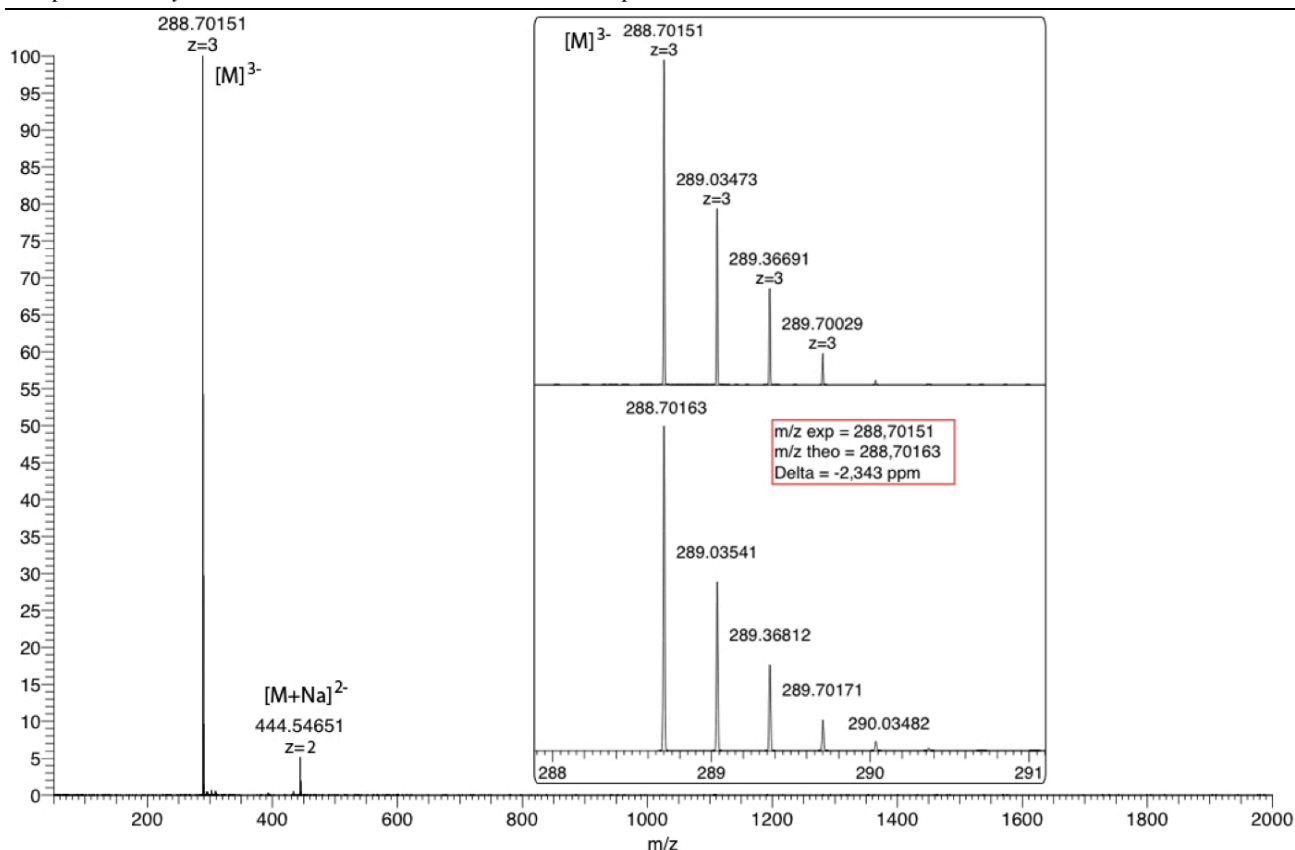


Schéma 99 : Synthèse de la 5-(4-(amino)phényl)-10,15,20-tri(4-(sulphonato)phényl) porphyrine **47**.

La porphyrine **46** est solubilisée dans un minimum d'acide sulfurique et la solution est chauffée à 80°C durant une nuit. La solution est versée dans un grand volume d'eau et l'acide est neutralisé par de l'oxyde de calcium. La phase aqueuse est filtrée et lyophilisée pour donner la porphyrine **47**. Le composé **47** a été caractérisé par spectroscopie RMN ^1H dans le DMSO D6, par spectroscopie UV-visible, par spectrométrie de masse MALDI-TOF et Electrospray haute résolution. Sur le spectre de masse Electrospray en mode négatif, on peut clairement voir deux amas isotopiques à 288,7015 et 444,5465 Daltons correspondant respectivement aux formules brutes $[\text{M}]^{3-}$ et $[\text{M}+\text{Na}]^{2-}$ (Figure 49). L'amas isotopique à 288,7015 correspond exactement à l'amas isotopique théorique calculé pour la formule brute $\text{C}_{44}\text{H}_{28}\text{O}_9\text{N}_5\text{S}_3$.

Figure 49 : Spectre de masse Electrospray haute résolution du composé **47**.

Nous ne connaissons pas avec certitude la nature des cations associés aux fonctions sulfonates. Nous avons essayé de contrôler la nature du contre-ion par chromatographie sur une résine échangeuse d'anions (Amberlite® IRA-458) mais le produit n'a pas pu être décroché de la résine lors de ce traitement. La suite de la synthèse n'a pas pu être réalisée à temps pour être présentée dans ce manuscrit, mais des travaux sur cette voie de synthèse sont en cours au laboratoire.

IV.1.3 Activation de la fonction amine libre

Nous avons décrit dans le chapitre précédent la synthèse d'un ligand comportant une fonction amine libre en vue d'utiliser cette fonction pour greffer le ligand sur un vecteur biologique. Parmi les moyens synthétiques disponibles pour activer une fonction amine,¹³⁷ nous avons choisi d'utiliser la fonction isothiocyanate qui peut réagir avec les fonctions amine primaire présentes sur les acides aminés lysines des polypeptides.¹³⁸ L'activation d'un groupement aniline en groupement isothiocyanate d'une porphyrine a déjà été décrite dans la littérature par l'équipe de Vicente.¹³⁹ Pour former la fonction isothiocyanate ce groupe a utilisé comme réactif la 1,1'-thiocarbonyldi-2(1H)pyridone. Pour notre part, nous avons utilisé le thiophosgène pour des raisons de disponibilité au laboratoire et pour des raisons de prix, le thiophosgène est bien meilleur marché que la 1,1'-thiocarbonyldi-2(1H)pyridone. En revanche la manipulation du thiophosgène doit se faire avec plus de précaution, du fait de sa plus grande toxicité, mais donne d'aussi bons résultats.³⁶

Nous avons décidé de commencer à mettre au point l'activation de la fonction amine sur le ligand soluble en milieu organique. En effet, afin de faciliter la manipulation et le traitement nous avons préféré réaliser les synthèses en milieu organique.

La manipulation que nous avons mis au point pour obtenir le dérivé activé **48** consiste à mettre en présence le composé **33** avec un large excès de thiophosgène en présence d'une base pour capter les deux équivalents d'acide chlorhydrique qui se forme durant la formation du groupement isothiocyanate (Schéma 100). Après différents essais, avec de la triéthylamine ou de la diisopropyléthylamine, il nous a semblé plus facile d'utiliser du carbonate de potassium solide en suspension dans le chloroforme puisqu'une simple filtration permet d'éliminer les sels en suspension dans la phase organique.

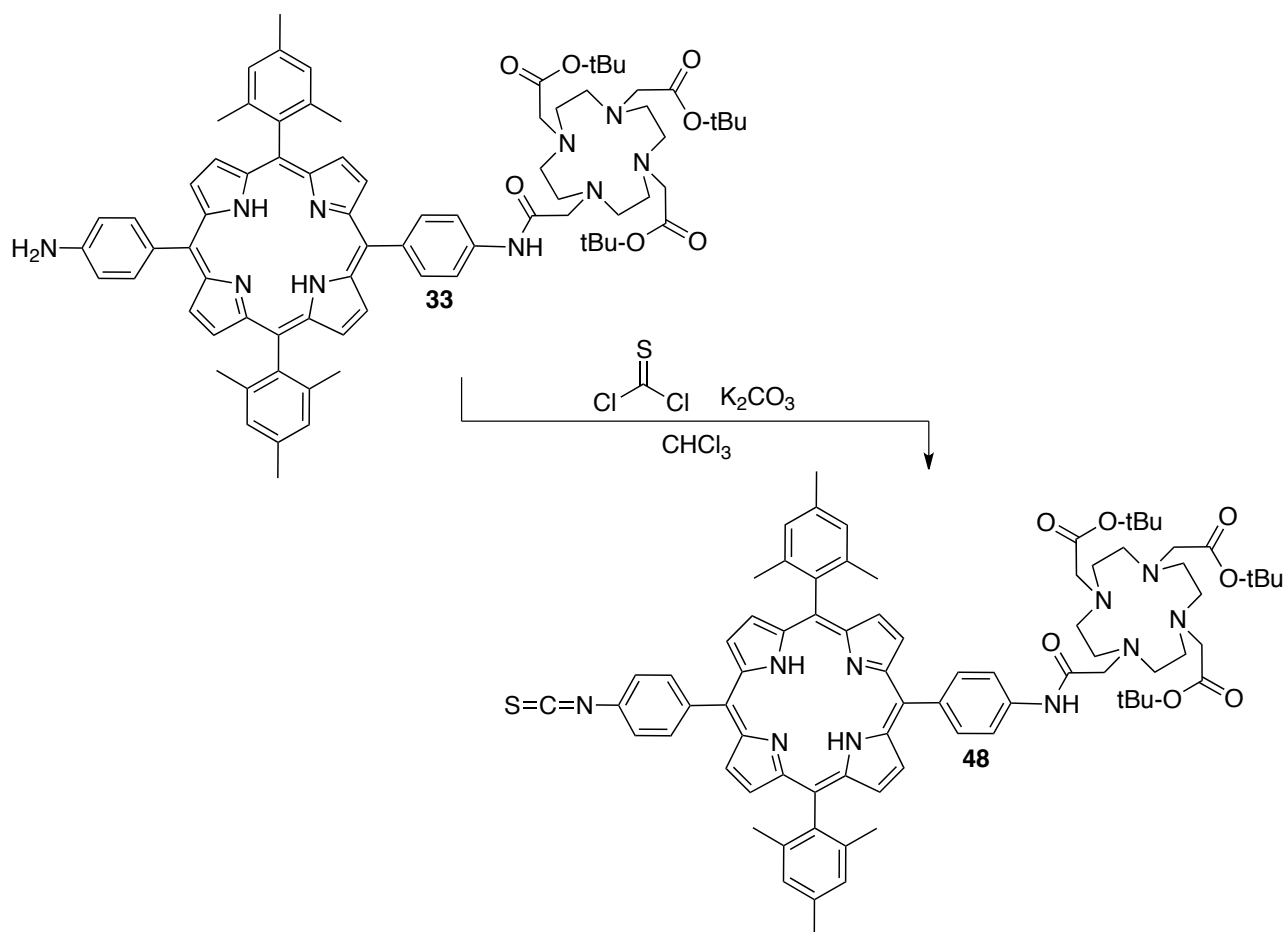


Schéma 100 : Synthèse du composé **48**.

Etant donné le large excès de thiophosgène et de carbonate de potassium, le traitement de la réaction consiste en une évaporation sous rampe à vide, avec un piège d'azote liquide pour piéger le thiophosgène en excès, et une filtration. Le produit **48** est obtenu quantitativement et a été caractérisé par spectrométrie de masse MALDI-TOF et par spectroscopie RMN ^1H .

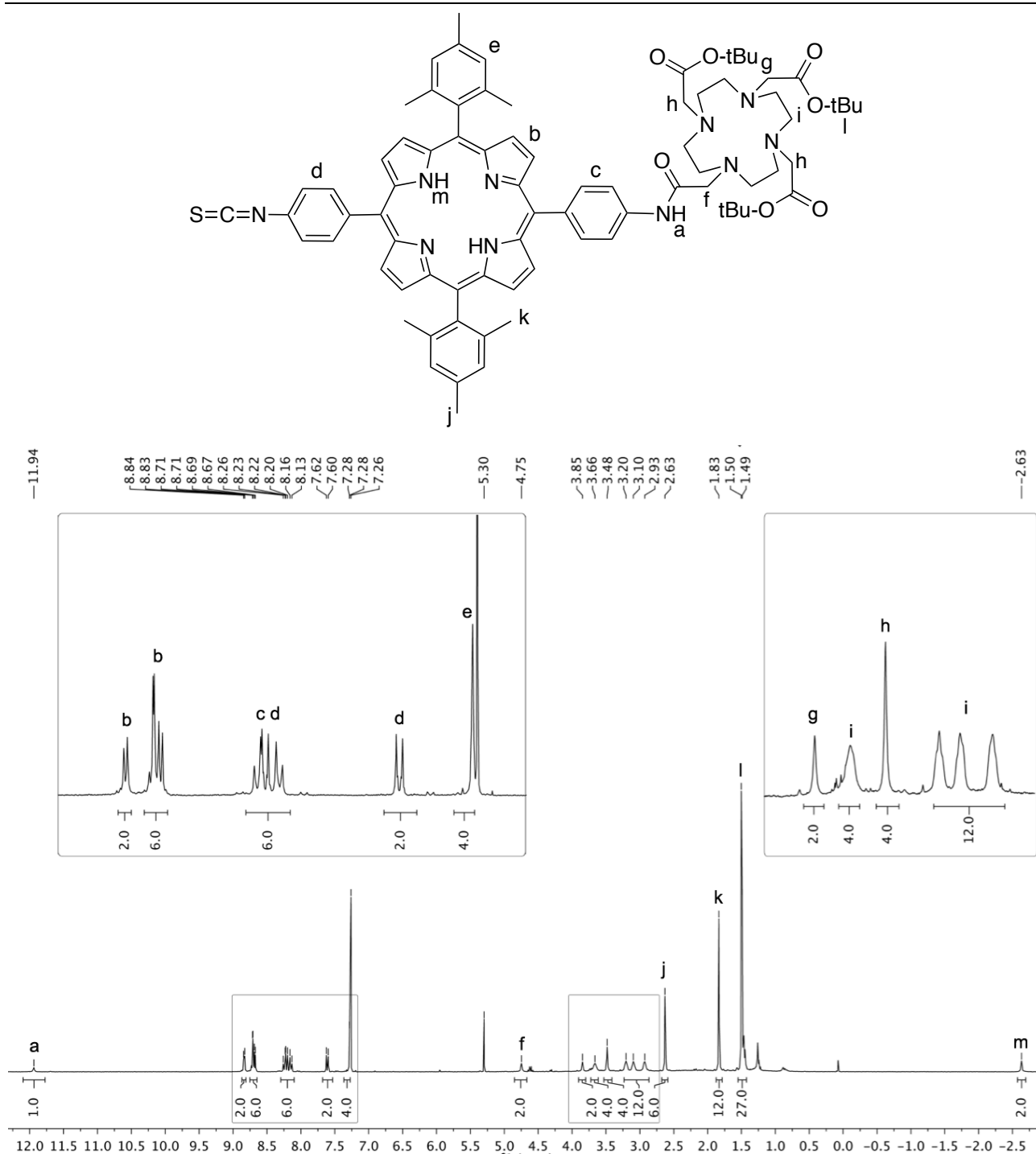
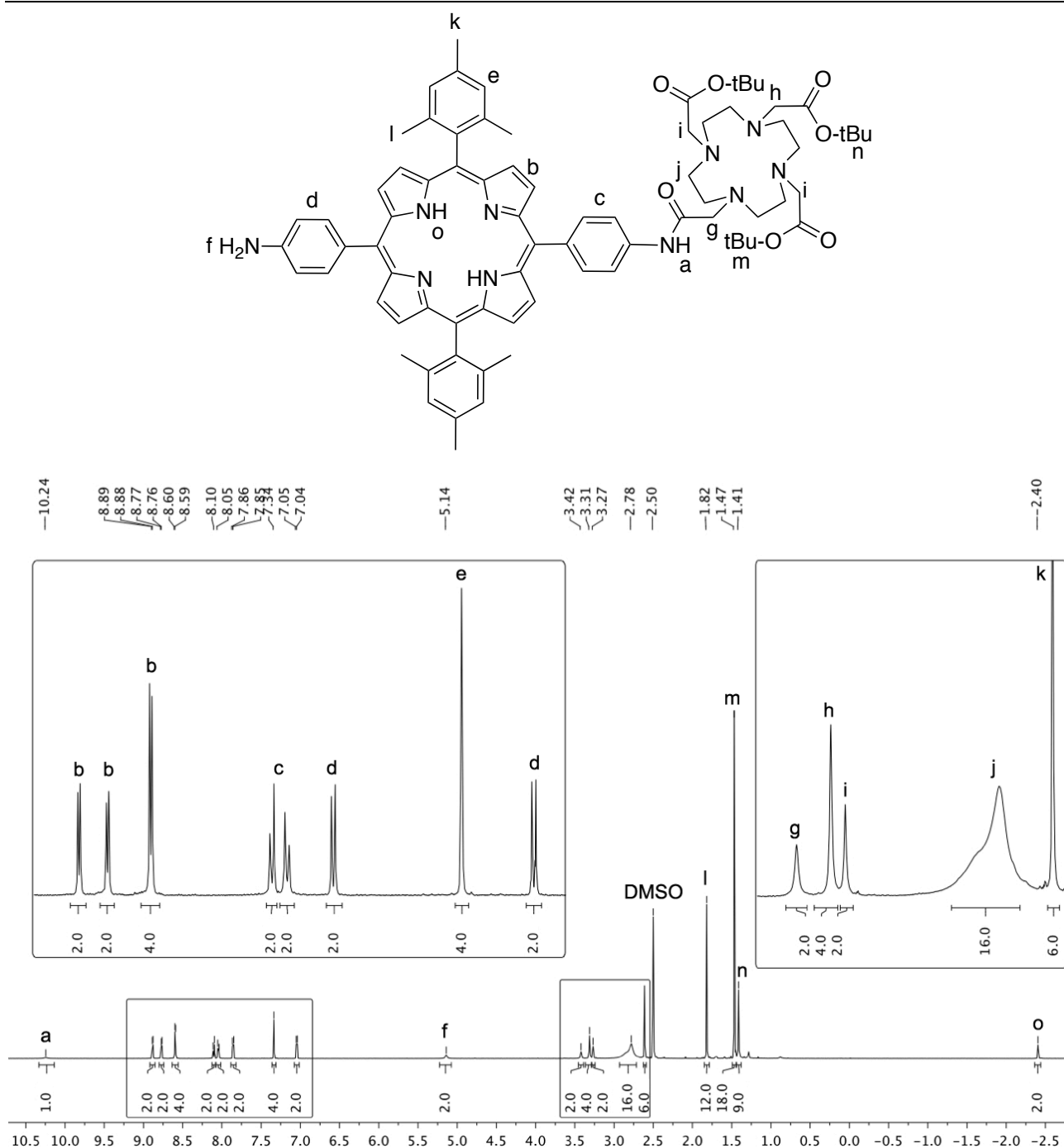
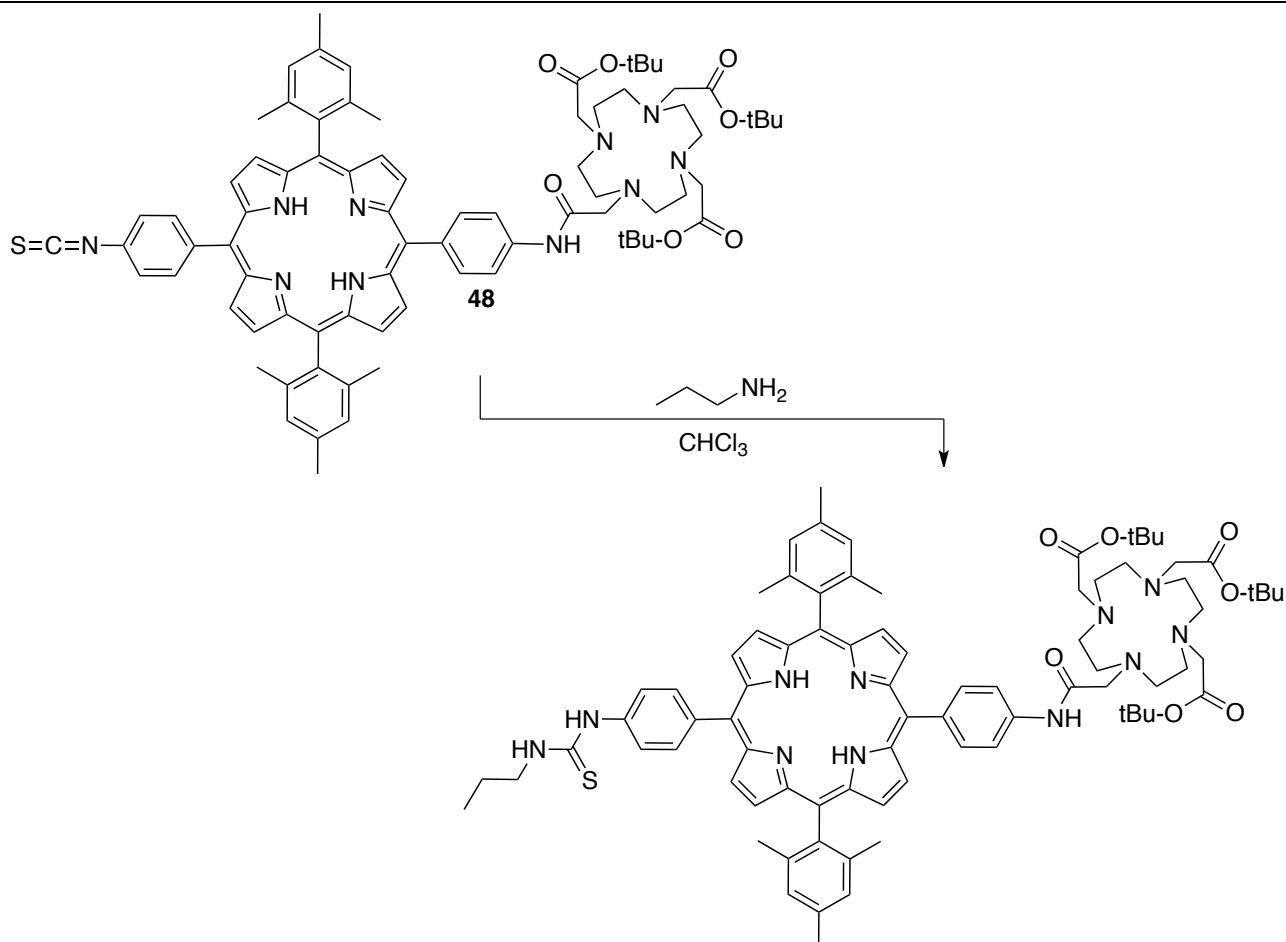


Figure 50 : Spectre RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, 300 K) du composé **48**.

Figure 51 : Spectre RMN ^1H (DMSO D_6 , 400 K, 500 MHz) du composé **33**.

La comparaison des spectres RMN ^1H des composés **48** et **33** (Figure 50 et Figure 51) nous montre clairement la transformation de la fonction amine en groupement isothiocyanate. On observe le déblindage des signaux du cycle aromatique porteur de la fonction en question. En effet les deux doublets se déplacent respectivement de 7,85 à 8,20 et de 7,04 à 7,60. Bien que les deux spectres aient été obtenus dans des solvants différents, ce déblindage significatif est dû à la transformation de la fonction amine en fonction isothiocyanate. Sur le spectre du composé **48** les signaux correspondant aux protons du cycle tétraazoté non aromatique sont bien résolus bien que le spectre ait été enregistré à 300 K. La protonation d'un ou plusieurs atomes d'azote du macrocycle durant la réaction est à l'origine de ce phénomène.

Schéma 101 : Essai de couplage du composé **48** avec la propylamine.

Dans une dernière étape, nous avons voulu tester la réactivité de cette fonction de greffage sur une amine linéaire basique, comme la propylamine. Nous avons mis en solution le composé **48** dans le chloroforme en présence de propylamine. Le produit désiré a pu être observé par spectrométrie de masse MALDI-TOF dans le brut réactionnel, mais nous n'avons pas pu l'isoler pour le caractériser correctement, et ce malgré plusieurs tentatives. Nous avons remplacé la propylamine par de la benzylamine sans obtenir de meilleurs résultats. Par manque de temps nous n'avons pas pu optimiser cette étape.

IV.2 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons vu que nous pouvions, à partir des ligands décrits dans le chapitre II, obtenir des complexes de gadolinium (III) et des complexes hétérobimétalliques incorporant du gadolinium (III) et du cuivre (II). Nous avons mis au point un protocole de mesure de la relaxivité longitudinale de ces complexes. Les valeurs de r_1 qui ont été obtenues sont, pour la majorité des complexes, en accord avec les valeurs de la littérature pour des complexes de même nature et sont deux à quatre fois supérieures aux valeurs des agents de contraste commerciaux utilisés à l'heure actuelle en IRM. Ce résultat très prometteur nous incite bien entendu à continuer les travaux de recherches sur des complexes de ce type. Cependant nous sommes conscients que plusieurs points, comme la cytotoxicité ou la solubilité restent à étudier et à améliorer pour pouvoir tester ces complexes hétérobimétalliques en imagerie sur petit animal.

Ce travail a aussi donné lieu à deux publications, la première a été publiée en 2011¹⁴⁰ et la seconde sera soumise cette année.

Chapitre IV :

Synthèse, caractérisation et étude de systèmes BODIPY-Porphyrines

I. Projet

I.1 Contexte du projet

Depuis quelques années, un nouveau thème de recherche autour des dérivés du 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-*s*-indacène a vu le jour au laboratoire. Ces molécules, plus connues sous l'acronyme BODIPY (pour difluoroBORon DIPYrromethene), sont développées pour des applications dans le domaine de l'imagerie optique.³⁶ Ce projet est réalisé dans notre équipe P2DA par le Pr Franck Denat, le Dr Christine Goze, le Dr Claire Bernhard et Bertrand Brizet (Doctorant).

Dans la littérature, des porphyrines et des BODIPY ont déjà été associés en tant que couple donneur-accepteur pour étudier les transferts d'énergie possibles entre ces composés tant à travers les liaisons qu'à travers l'espace.¹⁴¹

Nous avons décidé de partager nos savoir-faire respectifs et de développer de nouvelles voies de synthèse pour obtenir des systèmes donneur-accepteur associant des porphyrines et des BODIPY. Bien que ce projet soit plus orienté vers la recherche fondamentale et le développement de voies de synthèses originales, les systèmes obtenus peuvent avoir un intérêt en imagerie optique. En effet, l'utilisation d'un système donneur-accepteur, dans lequel un donneur absorbe de l'énergie lumineuse et la transfère à un accepteur, qui va émettre un photon à une longueur d'onde plus longue, permet d'augmenter artificiellement le déplacement de Stokes d'un chromophore. Cette caractéristique peut être utile par exemple pour déplacer l'émission d'un système vers la fenêtre optique où les tissus biologiques absorbent le moins, entre 650 nm et 1450 nm.²⁸

I.2 Caractéristiques générales des BODIPY

Bien que la structure de base d'un BODIPY soit identique à celle d'un dipyrrométhène, leur nomenclature IUPAC est différente (Schéma 102). La nomenclature des positions *meso*, α et β pyrroliques reste cependant valable.

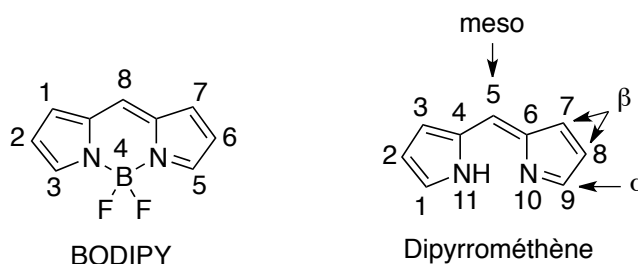


Schéma 102 : Nomenclature IUPAC des BODIPY et des dipyrrométhènes.

D'après la revue de Burgess.¹⁴¹

La première synthèse d'un BODIPY a été réalisée en 1968 par Treibs et Kreuser.¹⁴² Depuis le milieu des années 90, les BODIPY sont devenus très populaires du fait de leurs caractéristiques particulières. En effet, leurs longueurs d'ondes d'absorption et d'émission sont, pour la majorité des systèmes, dans le domaine du visible. Ils possèdent des coefficients d'extinction molaire relativement élevés, ($\epsilon \approx 50\,000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) ainsi que des rendements quantiques de fluorescence proche de 80 %. Les BODIPY ont une bonne solubilité en milieu organique, ils ne souffrent pas de problèmes d'agrégation en solution et leurs propriétés photophysiques peuvent être fortement modifiées par ajout de substituants sur les différentes positions disponibles.¹⁴³ Ces caractéristiques ont participé à l'attrait suscité par les BODIPY et leurs applications potentielles dans de nombreux domaines, allant du marquage de molécules biologiques,¹⁴⁴ aux capteurs solaires,¹⁴⁵ en passant par les dispositifs électroluminescents¹⁴⁶ ou les détecteurs fluorescents.¹⁴³ Les synthèses de BODIPY utilisent couramment comme produits de départ des dérivés pyrroliques ; la chimie mise en jeu est très proche des réactions utilisées pour la synthèse de porphyrines. Une voie de synthèse classique pour l'obtention d'un BODIPY substitué sur les positions *meso*, α et β pyrroliques, passe par la condensation catalysée en milieu acide d'un aldéhyde sur un dérivé du pyrrole pour former un dipyrrométhane. Le dipyrrométhane peut être oxydé en dipyrrométhène en présence de DDQ ou de *para*-chloranil. Le dipyrrométhène mis en présence de base et de trifluorure de bore étherate conduit à la formation du BODIPY.

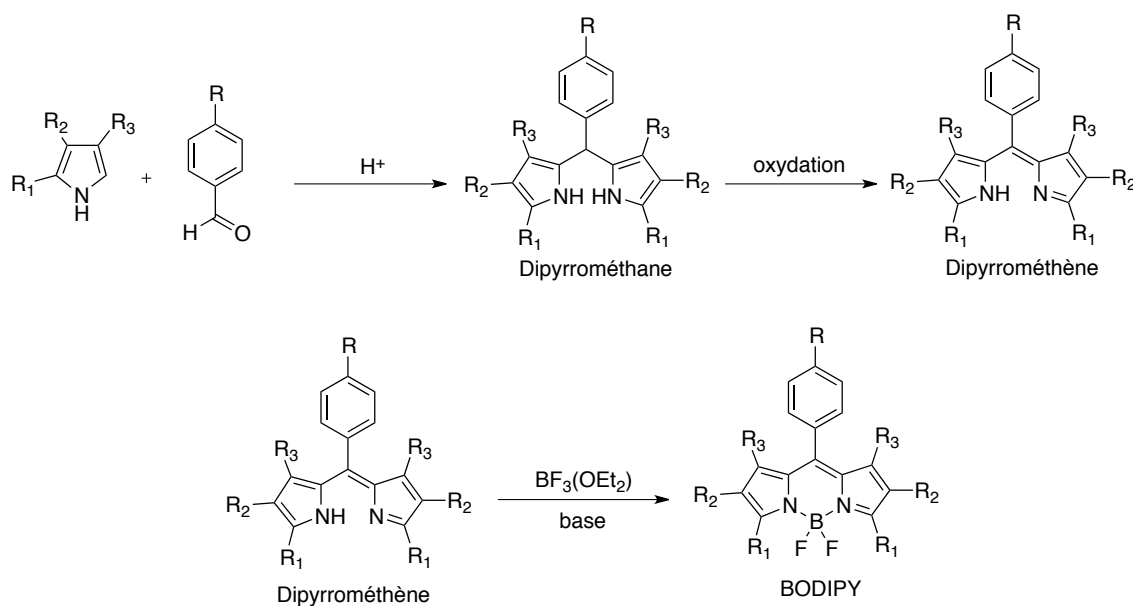


Schéma 103 : Voie de synthèse d'un BODIPY substitué en positions *meso*, α et β pyrroliques.

Les dérivés BODIPY obtenus sont relativement robustes et peuvent être fonctionnalisés après formation. De plus, la modification de la richesse électronique des substituants autour du noyau aromatique du BODIPY entraîne des modifications importantes des propriétés photophysiques de la molécule.¹⁴³

I.3 Quelques exemples de la littérature

Plusieurs exemples de systèmes qui incorporent des BODIPY et des porphyrines sont disponibles dans la littérature,¹⁴¹ nous avons choisi de présenter deux exemples en particulier. Pour chaque cas on note la présence d'un transfert d'énergie du BODIPY vers la porphyrine. Dans le premier exemple ce transfert a lieu à travers l'espace (Figure 52) et dans le deuxième à travers des liaisons (Figure 53).

La Figure 52 est un exemple de système auto-assemblé grâce à la forte affinité entre une porphyrine de zinc coiffée par une phénanthroline et un groupement imidazole. Dans cette structure le groupement BODIPY transfère l'énergie qu'il reçoit à la porphyrine de zinc qui va elle même transférer cette énergie à la porphyrine base libre. Dans cet exemple, le BODIPY est le donneur d'énergie et la porphyrine l'accepteur. L'efficacité du transfert du BODIPY vers la porphyrine base libre est de l'ordre de 80%.

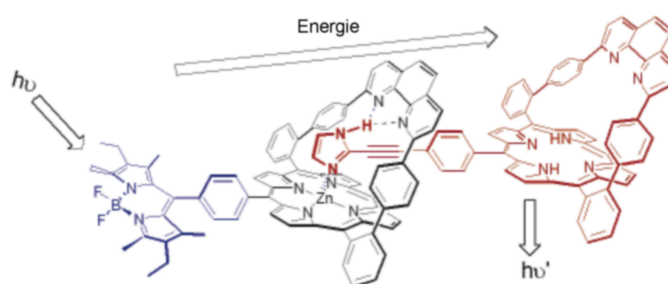


Figure 52 : Exemple de système associant BODIPY et porphyrines avec transfert d'énergie à travers l'espace. D'après l'article de Weiss *et al.*¹⁴⁷

La Figure 53 nous montre un système "d'interrupteur optoélectronique moléculaire" puisque la fluorescence du système peut être allumée ou éteinte, respectivement, par réduction ou oxydation de la porphyrine de magnésium.

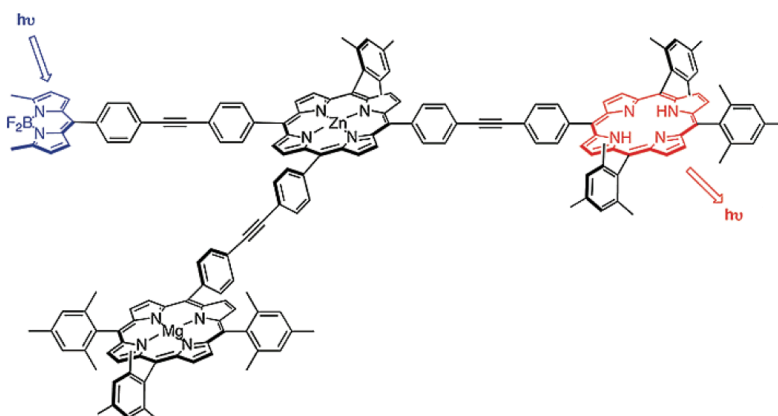


Figure 53 : Exemple de système associant BODIPY et porphyrines avec transfert d'énergie à travers les liaisons. D'après l'article de Bocian *et al.*¹⁴⁸

Quand la porphyrine de magnésium est sous forme neutre, l'énergie captée par le BODIPY donneur du système est transférée à travers les liaisons jusqu'à la porphyrine base libre qui

fluoresce, ce transfert d'énergie a une efficacité de 74 %. Lorsque la porphyrine de magnésium est oxydée en radical cation stable, elle devient l'accepteur du système et l'énergie est dissipée par des processus non radiatifs, le système est éteint.

II. Systèmes obtenus par substitution des atomes de fluor sur l'atome de bore

II.1 Contexte du projet

Lors de ce projet, la synthèse du BODIPY de départ ainsi que les études photophysiques des systèmes ont été effectuées par Bertrand Brizet, étudiant en thèse en cotutelle entre notre laboratoire et l'Université de Sherbrooke au Canada sous la direction du Pr Franck Denat, du Pr Pierre Harvey et du Dr Christine Goze. Nous nous sommes intéressés à la synthèse des porphyrines, aux réactions de couplages et à la caractérisation des produits.

Dans ce projet nous avons voulu utiliser une réaction spécifique aux BODIPY, la substitution des atomes de fluor au niveau de l'atome de bore. En effet, plusieurs équipes ont décrit des conditions de synthèse qui permettent de créer des liaisons bore-oxygène en traitant un BODIPY par du méthanolate de sodium par exemple (Schéma 104).¹⁴⁹

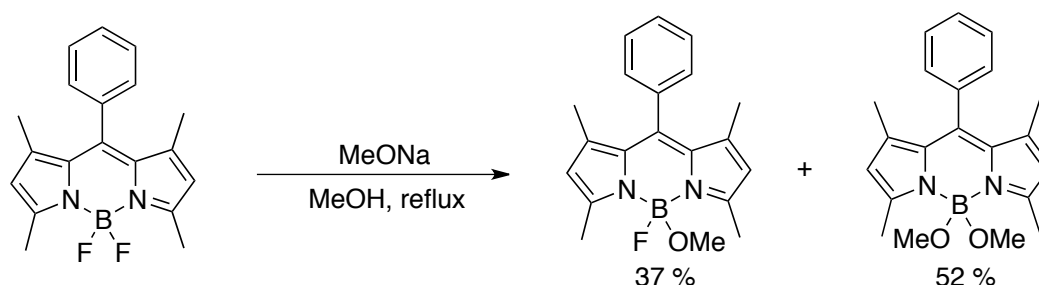


Schéma 104 : Substitution des atomes de fluor d'un BODIPY par du méthanolate de sodium.

D'après l'article de Nagano *et al.*¹⁴⁹

De manière surprenante la substitution des atomes de fluor du BODIPY n'induit pas de changement dans les propriétés d'absorption et d'émission du composé, il semble donc que les atomes de fluor aient très peu d'interactions électroniques avec le cycle aromatique de la molécule.

Une autre méthode de substitution des atomes de fluor est de mettre en présence un BODIPY et du chlorure d'aluminium puis une molécule portant une fonction alcool. Cette méthode a permis à l'équipe de Hibert¹⁵⁰ d'obtenir facilement une dizaine de composés substitués par différents alcools commerciaux. Le mécanisme de cette réaction reste inconnu à l'heure actuelle mais la formation d'un intermédiaire avec un cycle à quatre chaînons entre les deux atomes de fluor et les atomes d'aluminium et de bore semble probable (Schéma 105).

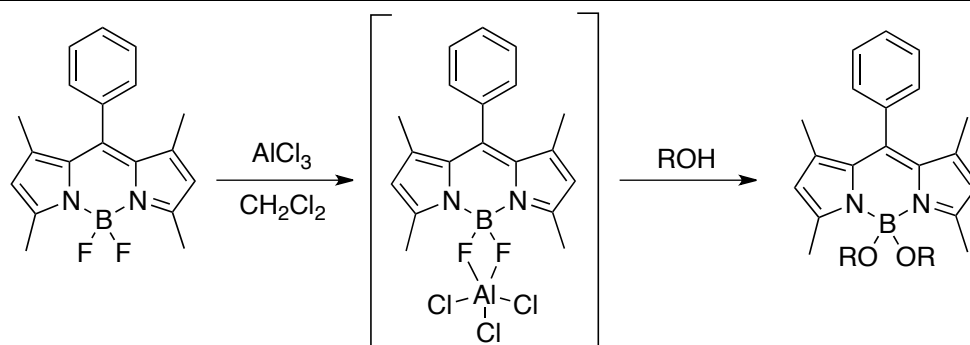


Schéma 105 : Mécanisme proposé pour la formation des liaisons bore oxygène. D'après l'article de Hibert *et al.*¹⁵⁰

Nous avons décidé d'utiliser cette réaction pour synthétiser des composés originaux associant des BODIPY et des porphyrines. En effet les conditions de synthèses semblent tout à fait en accord avec des dérivés porphyriniques substitués par une fonction alcool.

II.2 Synthèses et caractérisations des systèmes

Nous avons utilisé comme produit de départ le BODIPY **A** dont la synthèse a été décrite récemment par notre équipe.¹⁵¹ Le BODIPY **A** est formé par condensation de deux équivalents de 2,4-diméthyl-3-éthylpyrrole sur du 4-formylbenzoate de méthyle, le dipyrrométhane formé est oxydé par de la 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone et le BODIPY est obtenu après traitement du dipyrrométhène par du trifluorure de bore étherate. L'ester méthylique a été choisi sur cette molécule pour pouvoir post-fonctionnaliser le BODIPY après déprotection de la fonction ester en acide carboxylique.

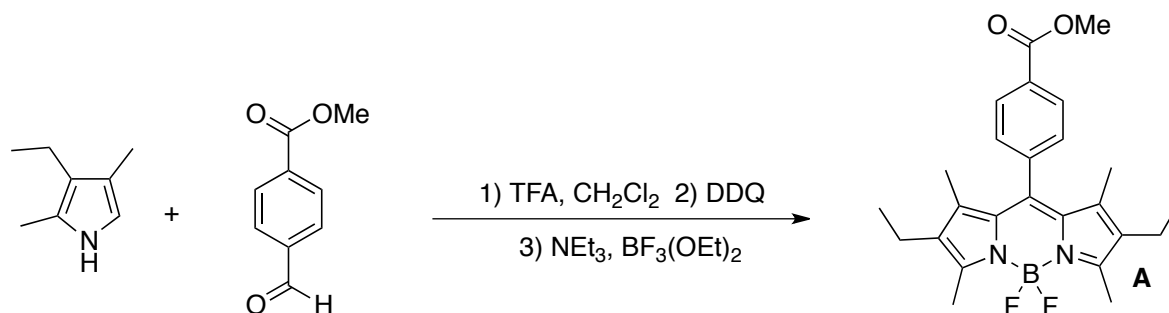


Schéma 106 : Synthèse du 2,6-diéthyl-1,3,5,7-tétraméthyl-8-(*para*-méthylbenzoyl)BODIPY **A**.

Au laboratoire nous avons à disposition la 5-(4-(hydroxy)phényl)-10,15,20-tri(*para*-tolyl)porphyrine de zinc dont la synthèse a été décrite selon plusieurs méthodes.^{79, 152} Nous avons donc décidé de faire un test de couplage avec le BODIPY **A**. Ce dernier a été mis en solution dans du dichlorométhane préalablement distillé, en présence de trichlorure d'aluminium et sous atmosphère inerte. L'activation du BODIPY par le trichlorure d'aluminium se traduit par un changement de couleur de la solution de l'orange au rouge caractéristique. La porphyrine a ensuite été ajoutée en excès dans le milieu réactionnel. L'évolution de la réaction a été suivie par

spectrométrie de masse MALDI-TOF et nous avons observé dans le brut réactionnel l'addition d'une seule porphyrine sur le BODIPY. Malgré plusieurs tentatives, ce produit de mono-addition n'a pas pu être isolé. Cette mono-addition peut s'expliquer par l'encombrement stérique de la première porphyrine qui empêche la seconde de venir former une liaison bore-oxygène.

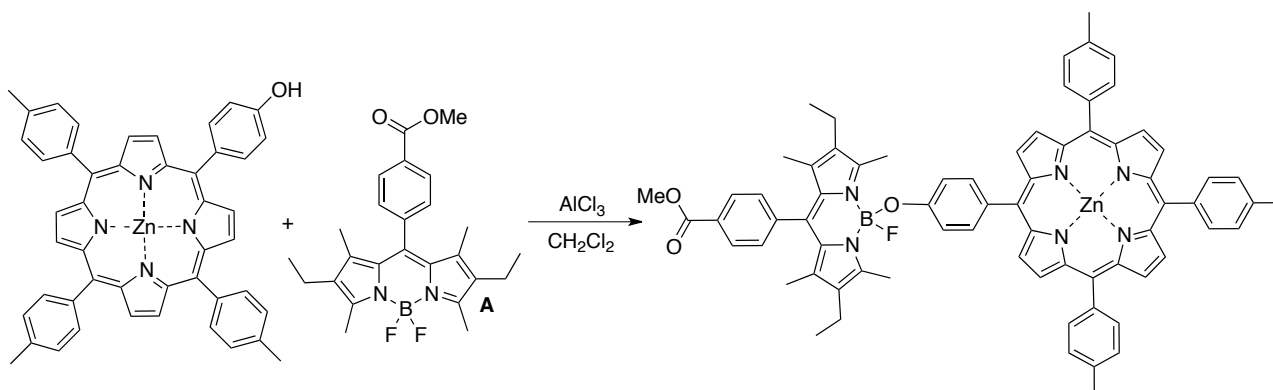


Schéma 107 : Essai de couplage entre le BODIPY A et la 5-(4-(hydroxy)phényl)-10,15,20-tri(*para*-(tolyl))porphyrine de zinc.

Pour diminuer l'encombrement stérique autour de l'atome de bore nous avons choisi de synthétiser une porphyrine portant une fonction alcool benzylique. L'ajout d'un carbone entre le cycle aromatique et la fonction alcool devrait apporter suffisamment de flexibilité au système sans trop éloigner les porphyrines du BODIPY. En effet, la proximité du donneur et de l'accepteur est un paramètre important lors d'un transfert d'énergie à travers l'espace. La synthèse d'une porphyrine substituée par trois groupements mésityle et une fonction alcool benzylique a été décrite par l'équipe de Bocian.¹⁵³ Du fait de son indisponibilité chez les fournisseurs habituels du laboratoire et pour des questions de coût nous n'avons pas utilisé le 4-(hydroxyméthyl)benzaldéhyde. Cette voie de synthèse utilise comme produit de départ l'acide 4-formylbenzoïque, la fonction acide sera ensuite réduite en fonction benzylalcool.

Nous avons donc choisi de suivre la même voie de synthèse et d'utiliser des groupements tolyles sur nos porphyrines pour des questions de disponibilité des produits de départ au laboratoire au moment de ces synthèses.

La première étape de notre voie de synthèse est la préparation du 5-(*para*-(tolyl))dipyrrométhane **49** par condensation du *para*-tolylbenzaldéhyde sur du pyrrole catalysée par de l'acide trifluoroacétique selon les conditions décrites par l'équipe de Lindsey.¹⁵⁴ Ce dipyrrométhane est obtenu avec un bon rendement de 80 %.

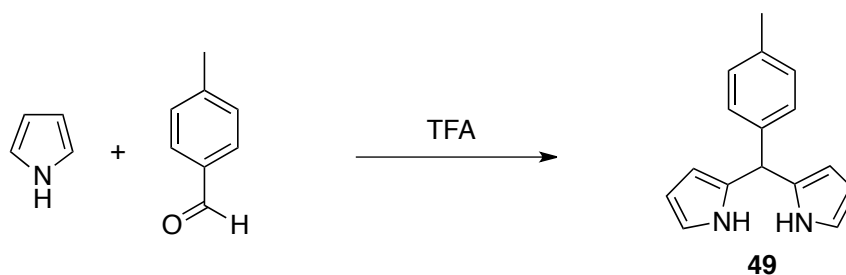


Schéma 108 : Synthèse du 5-(*para*-(tolyl))dipyrrométhane **49**.

Nous avons ensuite mis en jeu le dipyrrométhane **49** dans l'étape de cycloaddition [2+2] de type McDonald⁸¹ de la porphyrine **50** en présence de deux aldéhydes différents. Cette étape est statistique et nous avons observé une différence de réactivité entre les deux aldéhydes utilisés. En effet, utilisant deux équivalents de dipyrrométhane **49** pour un équivalent de chaque aldéhyde nous avons obtenu majoritairement la tétratolylporphyrine et très peu de la porphyrine désirée. Nous avons modifié le nombre d'équivalents des aldéhydes mis en jeu. Nous avons donc placé deux équivalents de dipyrrométhane **49**, 1,5 équivalents de l'acide 4-formylbenzoïque et 0,5 équivalents du *para*-tolylbenzaldéhyde en solution dans du chloroforme. La porphyrine désirée a été métallée au zinc afin de diminuer la polarité de la molécule et faciliter ainsi la purification. Nous avons ainsi obtenu en majorité la porphyrine **50** avec un rendement de 27 %.

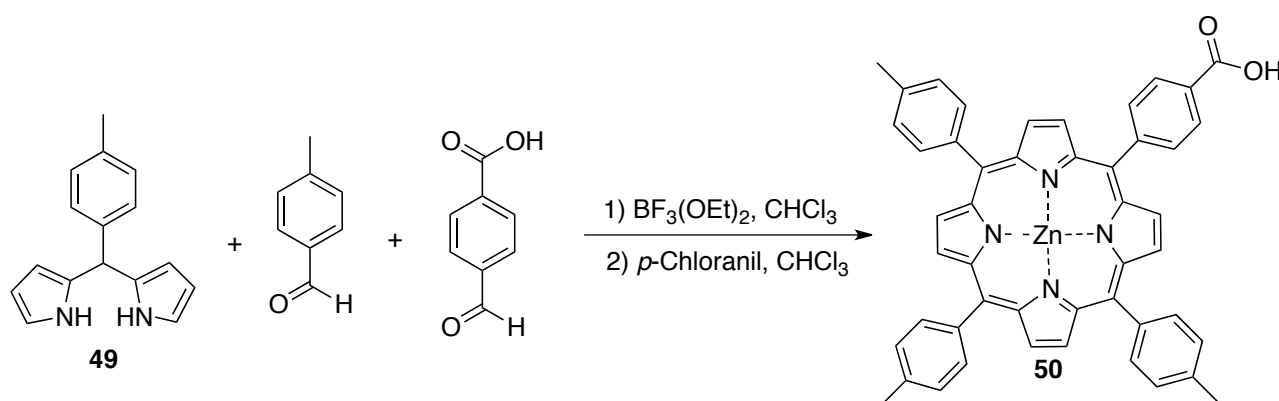


Schéma 109 : Synthèse de la 5-(4-(carboxy)phényl)-10,15,20-tritolylporphyrine de Zinc **50**.

La porphyrine **50** a été caractérisée par spectrométrie de masse MALDI-TOF et spectroscopie RMN ¹H (Figure 54). Les signaux caractéristiques de cette porphyrine sont un multiplet intégrant pour huit protons de 8,9 à 9,0 ppm correspondant aux protons des positions β pyrroliques. On peut noter la présence de deux doublets intégrant chacun pour deux protons à 8,50 et 8,35 ppm correspondant aux protons aromatiques du cycle portant la fonction acide carboxylique. Le système de deux doublets intégrant chacun pour six protons à 8,10 et 7,56 ppm correspond aux protons aromatiques des groupements tolyle. Enfin, le singulet à 2,72 ppm intégrant pour 9 protons correspond aux groupes méthyle des radicaux tolyle.

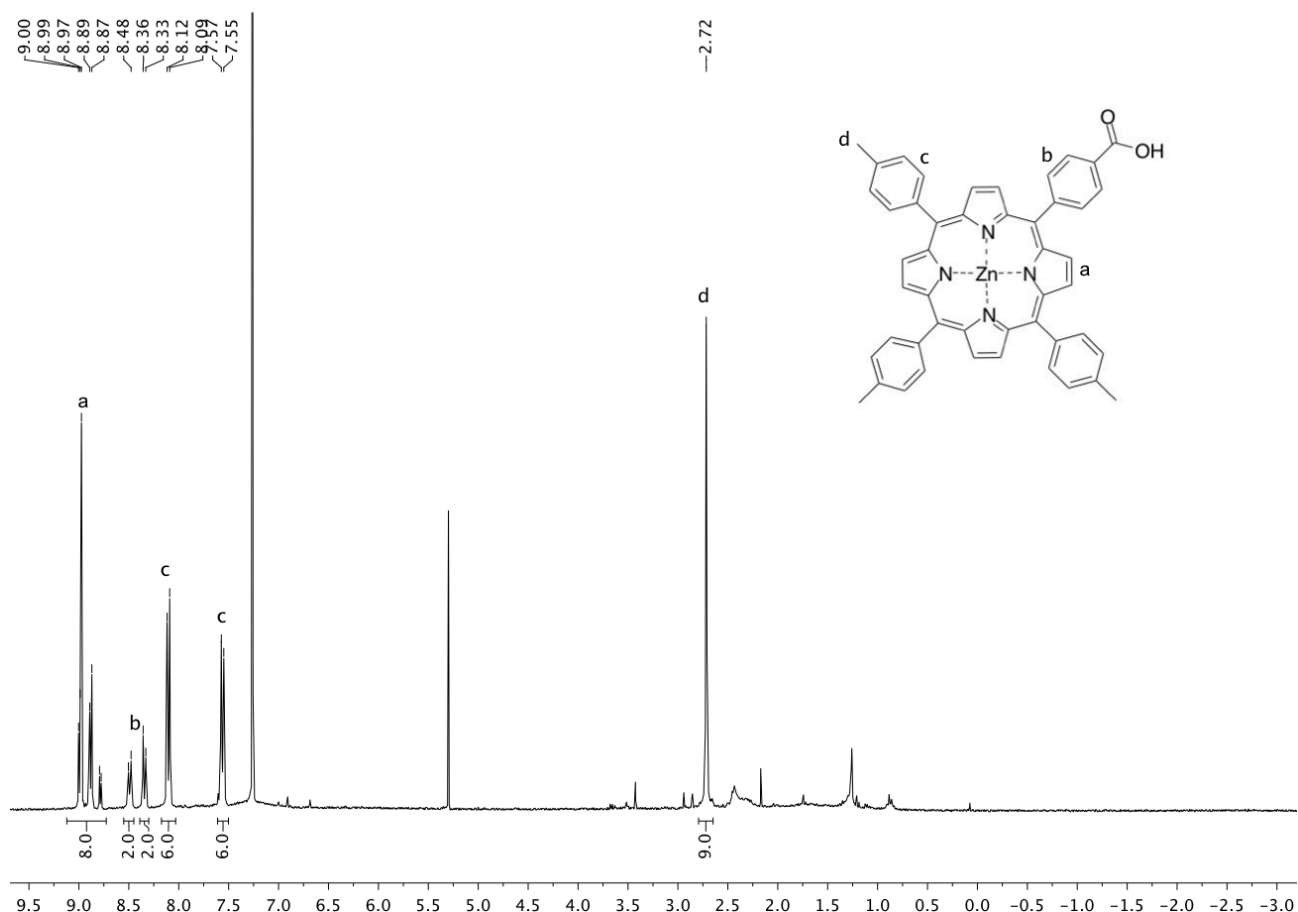


Figure 54 : Spectre RMN ^1H (CDCl₃, 300 K, 300 MHz) de la 5-(4-(carboxy)phényl)-10,15,20-tritolylporphyrine de Zinc **50**.

La porphyrine portant une fonction alcool benzylique dont nous avons besoin a été obtenue par réduction de la fonction acide carboxylique en alcool par du tétrahydrualuminate de lithium selon la méthode décrite par l'équipe de Lindsey.¹⁵³ La porphyrine est additionnée lentement sur une suspension de LiAlH₄ à -80°C dans le THF distillé. Après une heure d'agitation à température ambiante le milieu réactionnel est refroidi à -80°C et la réaction est hydrolysée par ajout d'eau distillée dans le milieu. Une fois purifiée la porphyrine est mise en solution dans du dichlorométhane et un large excès d'acide trifluoroacétique est ajouté de manière à retirer l'atome de zinc de la cavité porphyrinique. Après lavage et évaporation nous obtenons la porphyrine **51** avec un rendement de 57 %.

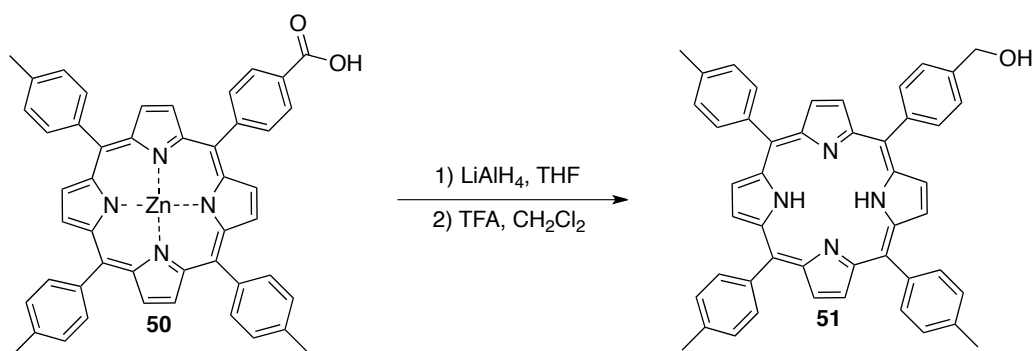


Schéma 110 : Synthèse de la 5-(4-(hydroxyméthyl)phényl)-10,15,20-tritolylporphyrine **51**.

La porphyrine **51** a été analysée par spectrométrie de masse MALDI-TOF et par spectroscopie RMN ^1H . En raison de la précipitation du produit durant l'analyse dans le chloroforme deutérié, nous avons enregistré le spectre RMN ^1H de la porphyrine **51** dans la pyridine deutériée. La réduction de la fonction acide en alcool est mise en évidence par l'apparition du singulet intégrant pour deux protons à 5,27 ppm correspondant aux protons de l'atome de carbone portant la fonction alcool. L'un des doublets des noyaux aromatiques des fonctions tolyle est confondu avec un signal de la pyridine à 7,60 ppm. Le couplage entre ce doublet masqué par le solvant avec l'autre doublet de la fonction tolyle a été vérifié par RMN ^1H à deux dimensions. On peut noter la présence du singulet à -2,27 ppm intégrant pour deux protons caractéristiques des protons de la cavité porphyrinique.

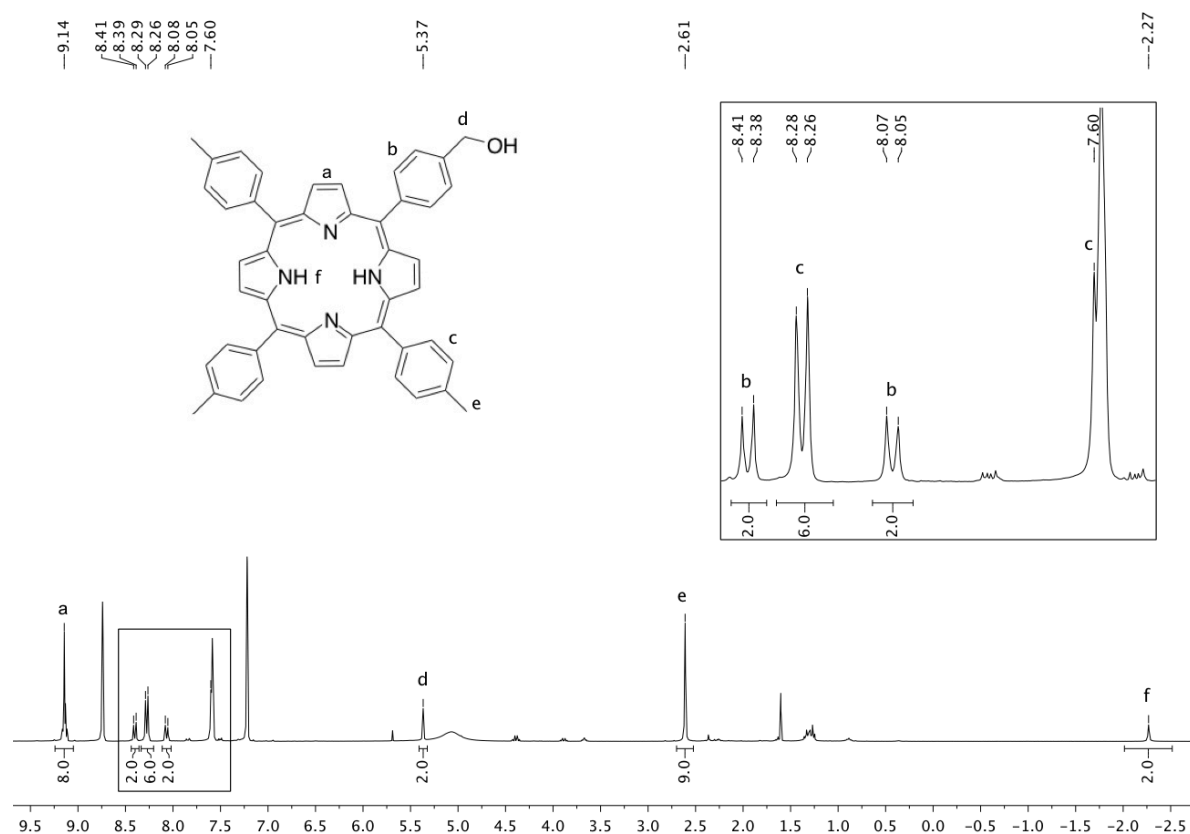


Figure 55 : Spectre RMN ^1H (Pyr D5, 300 K, 300 MHz) de la 5-(4-(hydroxyméthyl)phényl)-10,15,20-tritylporphyrine **51**.

Une fois la porphyrine **51** obtenue nous l'avons mise en jeu dans la réaction de couplage avec le BODIPY **A** selon les conditions décrites par l'équipe de Hibert.¹⁵⁰ Ce dernier a donc été mis en solution dans le dichlorométhane distillé en présence de huit équivalents de trichlorure d'aluminium sous atmosphère inerte. La solution a été chauffée une demi-heure à reflux. Nous avons observé le changement de couleur caractéristique de la solution qui passe de l'orange au rouge. Cinq équivalents de porphyrine **51** ont ensuite été introduits dans le montage. L'avancement de la réaction est contrôlé par spectrométrie de masse MALDI-TOF et par chromatographie sur couche mince. Après une heure et demi d'agitation à température ambiante la réaction n'évolue plus et le brut réactionnel est filtré sur alumine pour éliminer le trichlorure d'aluminium. Ainsi le produit peut

être mis en présence de méthanol sans risque de dégradation. Le produit est purifié par colonne chromatographique sur silice et recristallisé dans un mélange de dichlorométhane et d'heptane. Le produit **52** a pu être isolé avec un bon rendement de 84 %.

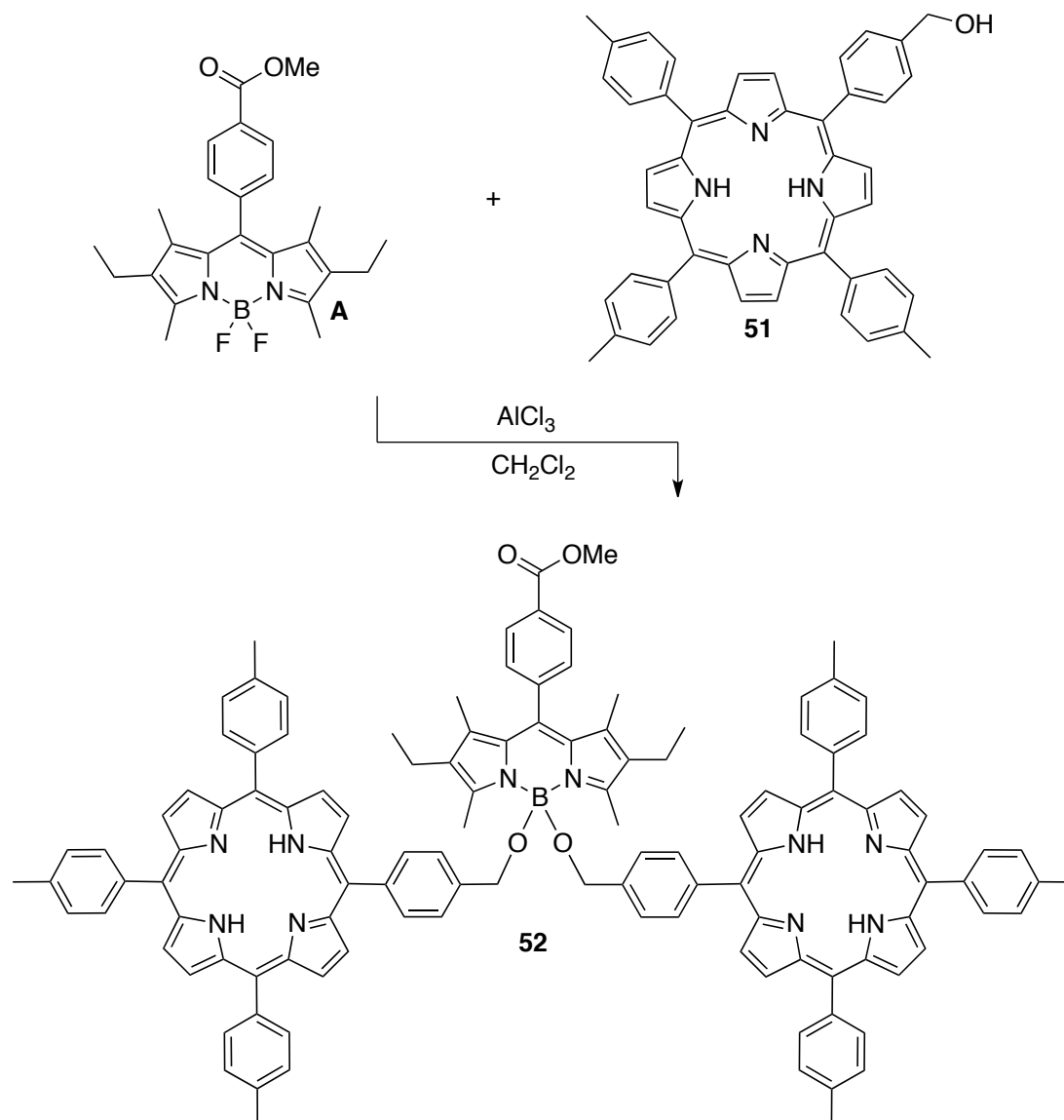


Schéma 111 : Synthèse du composé **52** incorporant deux porphyrines bases libres et un BODIPY.

Le composé **52** a été caractérisé par spectroscopie RMN ^1H et par spectrométrie de masse MALDI-TOF. On peut noter la présence des signaux caractéristiques de la partie BODIPY de la molécule avec les trois singulets à 4,0, 2,9 et 1,45 ppm intégrant pour trois, six et six protons et correspondant respectivement au radical méthyle de la fonction ester et aux groupements méthyle portés par le BODIPY sur les positions 1, 3, 5 et 7. Le système triplet quadruplet intégrant respectivement pour six et quatre protons correspond aux fonctions éthyle sur les positions 2 et 6 du BODIPY. L'un des doublets à 8,25 ppm intégrant pour deux protons et correspondant aux protons du cycle aromatique en position *meso* sur le BODIPY est clairement défini, l'autre doublet est quant à lui confondu avec les autres signaux aromatiques de la molécule.

Pour la partie porphyrinique, on note la présence d'un singulet à 8,85 ppm intégrant pour seize protons correspondant aux protons des positions β pyrroliques. Les singulets à 4,59, 2,71 et

-2,75 ppm intégrant respectivement pour quatre, dix-huit et quatre protons correspondent aux protons voisins de la liaison bore-oxygène, aux groupes méthyle des fonctions tolyle et aux protons de la cavité porphyrinique. Les signaux aromatiques de la molécule sont confondus mais l'intégration donne le chiffre de trente-six protons aromatiques ce qui correspond bien au nombre attendu. De plus, grâce au spectre RMN ^1H à deux dimensions (COSY) on peut clairement identifier les couples de doublets aromatiques.

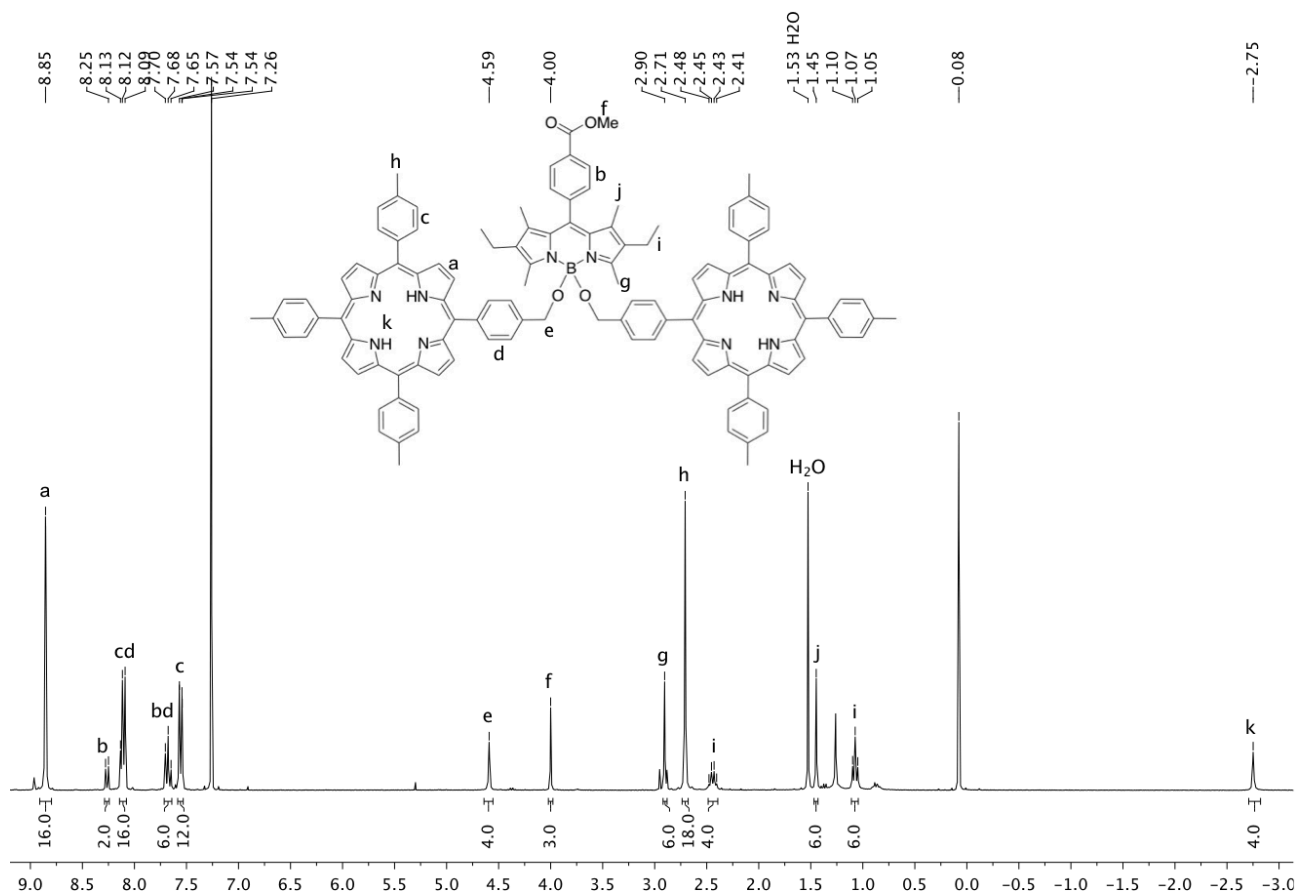
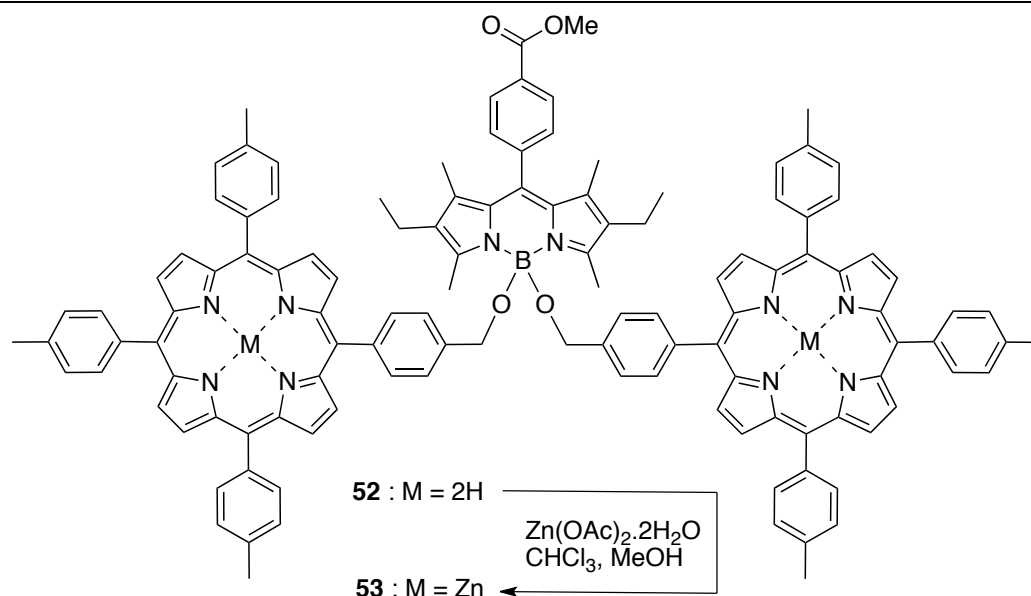


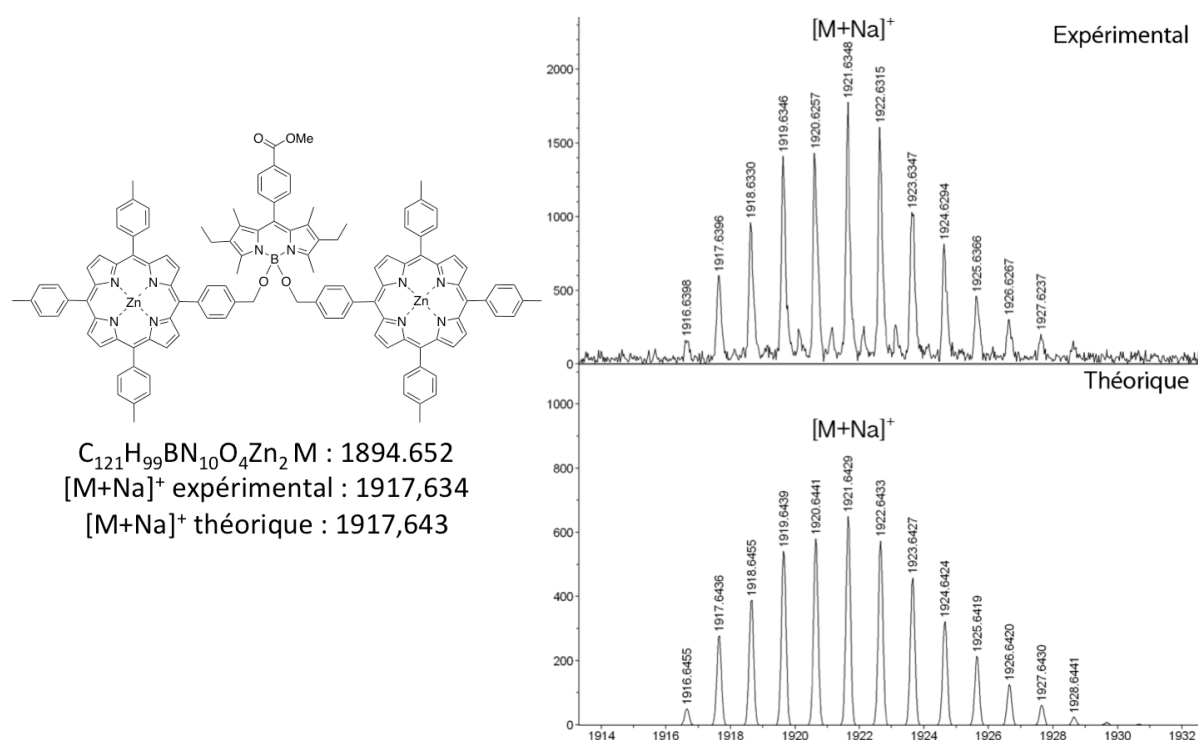
Figure 56 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 300 K, 300 MHz) du composé **52** incorporant deux porphyrines bases libres et un BODIPY.

Le composé **52** a été facilement métallé par le zinc, par traitement du composé **52** avec un excès d'acétate de zinc dans un mélange de chloroforme et de méthanol. Le composé **53** a été recristallisé dans un mélange de dichlorométhane et d'heptane.

L'insertion de zinc dans les porphyrines permet de modifier légèrement les propriétés photophysiques des porphyrines bases libres et donne facilement accès à un deuxième composé à étudier en parallèle et permet de faire des comparaisons entre les systèmes.

Schéma 112 : Synthèse du composé **53** incorporant deux porphyrines de zinc et un BODIPY.

Le composé **53** a été caractérisé par spectroscopie RMN 1H ainsi que par spectrométrie de masse MALDI-TOF et Electrospray haute résolution. Sur la Figure 57, on peut voir l'amas isotopique monochargé à 1917,6396 Daltons correspondant à un adduit de sodium sur la molécule, le calcul théorique pour la formule brute correspondante $C_{121}H_{99}BN_{10}O_4Zn$ donne une masse exacte à 1917,6436 Dalton.

Figure 57 : Spectre de masse électrospray du composé **53**.

Afin de mesurer l'influence de la formation de liaisons bore-oxygène sur les caractéristiques photophysiques du BODIPY de départ nous avons synthétisé le composé **54** où les atomes de fluor

ont été remplacés par deux groupements alcool benzylique (Schéma 113). Ce produit référence nous sera utile pour étudier l'influence des porphyrines dans les systèmes **52** et **53**.

Le BODIPY **A** de départ a, comme auparavant, été placé en solution dans du dichlorométhane distillé et sous atmosphère inerte.¹⁵⁰ L'ajout d'un excès de trichlorure d'aluminium à reflux du dichlorométhane permet d'activer la liaison bore-fluor et se traduit par un changement de couleur caractéristique de l'orange au rouge. Après agitation 30 min à reflux la solution revient à température ambiante et l'ajout d'un excès d'alcool benzylique permet de former le composé **54** en 1 h à température ambiante. Le brut réactionnel est filtré sur alumine afin d'éliminer le trichlorure d'aluminium en excès et le produit a été purifié par une colonne chromatographique de silice avec pour éluant de l'acétate d'éthyle.

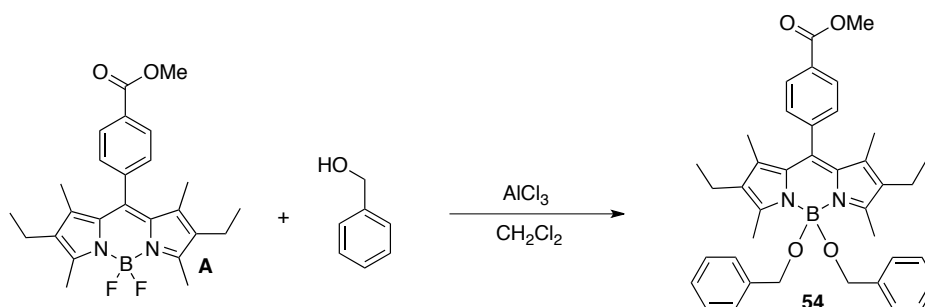


Schéma 113 : Synthèse du BODIPY **54**.

Le composé **54** a été caractérisé par spectrométrie de masse Electrospray et par spectroscopie RMN ^1H .

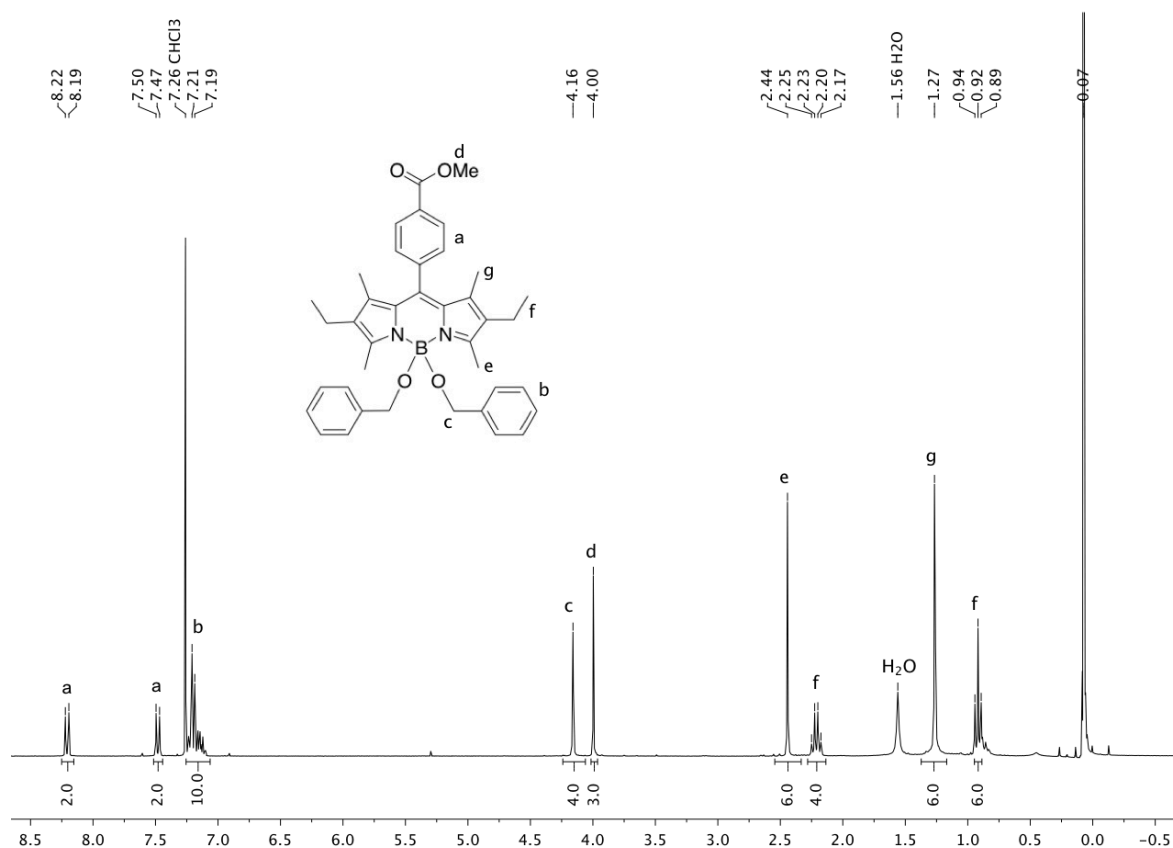


Figure 58 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 300 K, 300 MHz) du composé **54**.

Sur la Figure 58, on peut noter la présence des signaux des protons aromatiques sous la forme de deux doublets à 8,20 et 7,49 ppm intégrant respectivement pour deux protons, ainsi que sous la forme d'un multiplet à 7,21 ppm intégrant pour dix protons qui correspond aux protons des cycles benzyliques équivalents. L'apparition du singulet, intégrant pour quatre protons à 4,16 ppm qui correspond aux protons voisins de la liaison bore-oxygène, est caractéristique de la formation du composé **54**. Les signaux des substituants du BODIPY apparaissent sous forme de singulets à 4,00, 2,44, et 1,27 ppm respectivement pour les protons de la fonction méthoxy et les deux groupes de substituants méthyle. Les fonctions éthyle du BODIPY apparaissent sous la forme d'un quadruplet et d'un triplet à 2,21 et 0,92 ppm intégrant respectivement pour quatre et six protons.

II.3 Propriétés photophysiques des systèmes.

Les mesures des propriétés photophysiques des systèmes décrits dans le paragraphe précédent ont été réalisées par Bertrand Brizet, actuellement en début de troisième année de thèse en cotutelle, dans le laboratoire du Pr Pierre Harvey à l'université de Sherbrooke au Canada. Lors de cette étude nous nous sommes servis de plusieurs composés de référence afin de valider les mesures sur les composés **52** et **53** (Schéma 114).

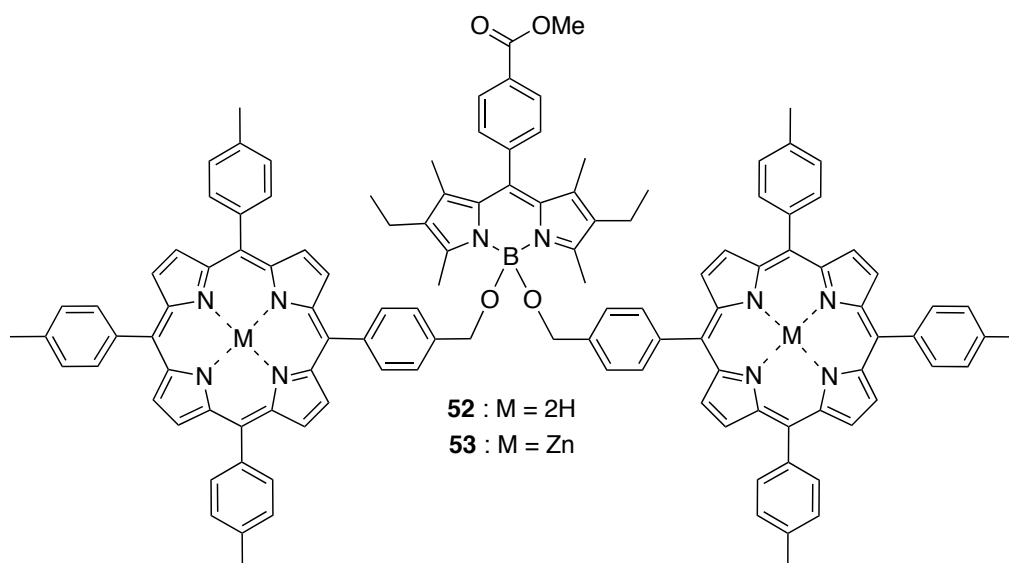
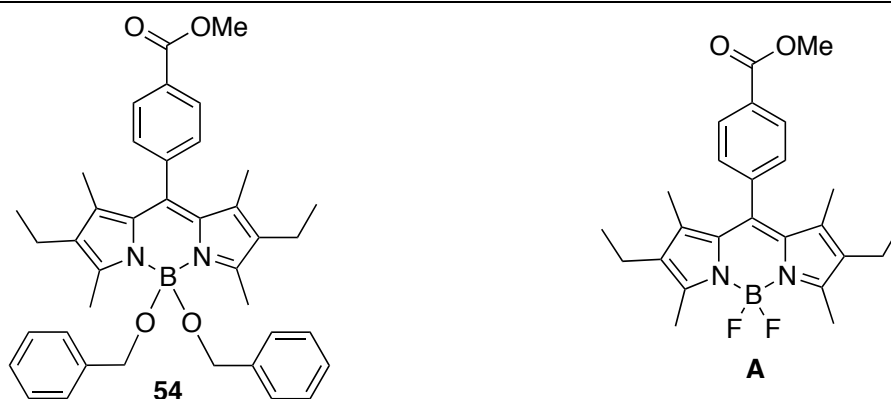
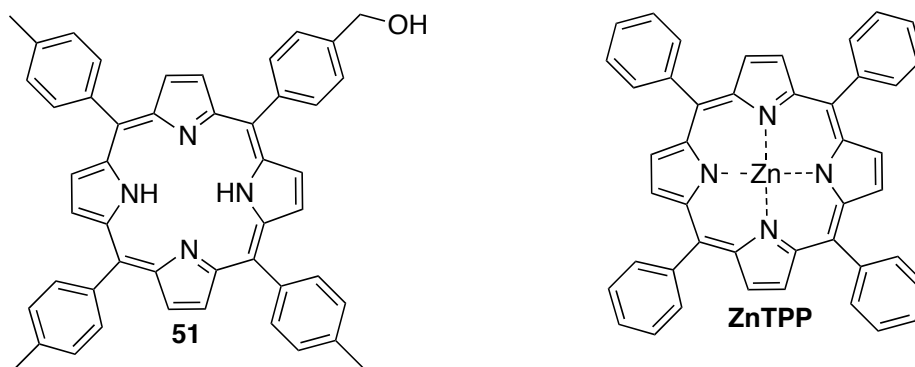


Schéma 114 : Structures des composés **52** et **53**.

Les systèmes BODIPY de référence utilisés sont le BODIPY **A** qui porte deux atomes de fluor sur l'atome de bore, ainsi que le composé **54** qui porte deux groupements éther benzylique sur l'atome de bore (Schéma 115).

Schéma 115 : Structures des BODIPY **A** et **54**.

Les porphyrines que nous avons utilisées comme composés de référence sont la porphyrine base libre A_3B **51** qui porte trois fonctions toyles et un groupement alcool benzylique, ainsi que la tétraphénylporphyrine de zinc.

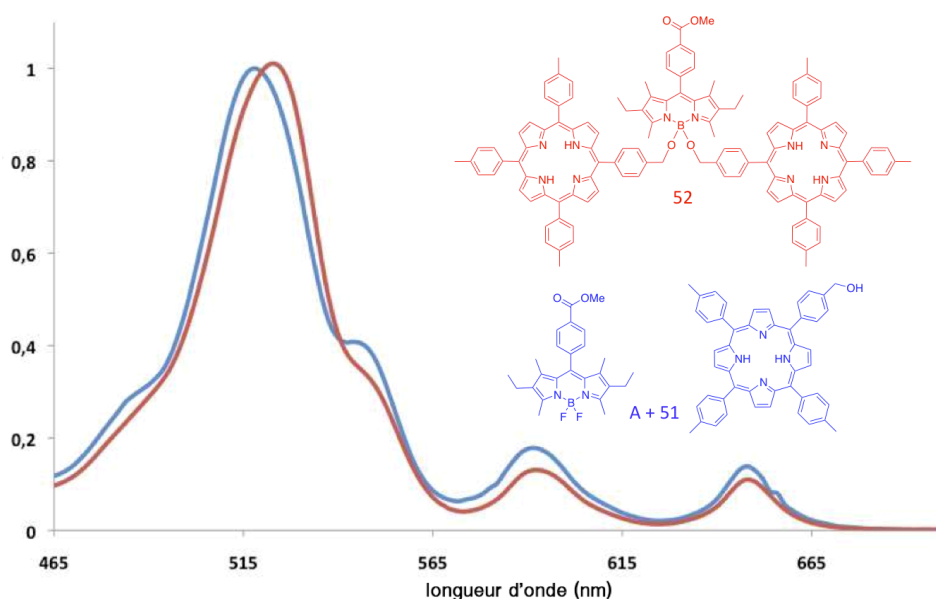
Schéma 116 : Structure de la porphyrine **51** et de la **ZnTPP**.

Les spectres d'absorption UV-visible des composés ont été enregistrés dans le THF à 298 K et sont résumés dans le Tableau 11. Les spectres des BODIPY de référence **A** et **54** sont caractéristiques de ce type de composés. On note la présence de deux bandes d'absorption, les bandes d'absorption qui correspondent à la transition S_0-S_2 à respectivement 379 et 382 nm et les bandes d'absorption qui correspondent à la transition S_0-S_1 à respectivement 524 et 526 nm, on peut aussi noter la présence d'un épaulement vers le bleu sur cette bande, caractéristique de la transition $S_0-S_1^*$ à environ 500 nm. On note que l'introduction de deux groupements alcool benzylique sur l'atome de bore ne modifie pas significativement le spectre d'absorption UV-visible du composé **54**. La porphyrine base libre **51** qui a servi de précurseur pour les synthèses présente un spectre d'absorption UV-visible caractéristique avec une bande de Soret intense à 417 nm et quatre bandes Q moins intenses à 515, 550, 593 et 649 nm. La tétraphénylporphyrine de zinc possède quant à elle une bande de Soret à 423 nm et seulement deux bandes Q à 555 et 594 nm.

Composé	λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)			
	Porphyrine		BODIPY	
	Bande de Soret	Bandes Q	Bande S ₂	Bande S ₁
A			379 (9,1)	524 (86,1)
54			382 (3,3)	526 (32,5)
51	417 (312)	515 (14,0) 550 (7,5) 593 (4,1) 649 (3,4)		
ZnTPP	423 (606)	555 (21,7) 594 (7,1)		
52	418 (816)	546 (27,8) 592 (10,3) 648 (8,6)		526 (69,1)
53	423 (104)	559 (36,7) 598 (15,9)		528 (60,0)

Tableau 11 : Données d'absorption UV-visible des composés dans le THF à 298 K.

Les spectres d'absorption UV-visible des composés **52** et **53** ont été comparés avec les spectres d'absorption des mélanges de leurs précurseurs pris séparément dans les mêmes proportions. Pour le composé **52** le spectre d'absorption a été superposé avec celui d'une solution du mélange d'un BODIPY **A** pour deux porphyrines bases libres **51** (Figure 59). Pour le composé **53** le spectre d'absorption a été superposé avec celui d'une solution du mélange d'un BODIPY **A** pour deux porphyrines de zinc **ZnTPP**.

Figure 59 : Spectres d'absorption UV-visible du mélange BODIPY **A** et composé **51** (en bleu) et du composé **52** (en rouge) enregistré dans le 2-MeTHF à 298 K.

Dans les deux cas, les spectres d'absorption UV-visible des composés **52** et **53** correspondent à la somme des spectres d'absorption des chromophores qui les composent, ce qui nous permet de déduire qu'il y a peu d'interactions entre les chromophores à l'état fondamental. De plus, les positions des bandes d'absorptions des BODIPY sont situées à des longueurs d'ondes plus faibles que les bandes Q des porphyrines, de ce fait dans le cas d'un transfert d'énergie intersystème, les BODIPY joueront le rôle de donneurs et les porphyrines d'accepteurs d'énergie.

Les spectres de fluorescence et d'excitation des composés **52** et **53** ont été enregistrés à 298 K dans le 2-MeTHF. La Figure 60 montre les spectres d'émissions des deux précurseurs seuls, la porphyrine **51** et le BODIPY **54**. Les spectres d'émissions de ces composés sont caractéristiques, une bande à 544 nm pour le BODIPY et deux bandes à 657 et 718 nm pour la porphyrine. Quand il est excité sur la bande d'absorption maximale du BODIPY à 530 nm, le composé **53** présente un spectre d'émission caractéristique de la fluorescence d'une porphyrine (Figure 60).

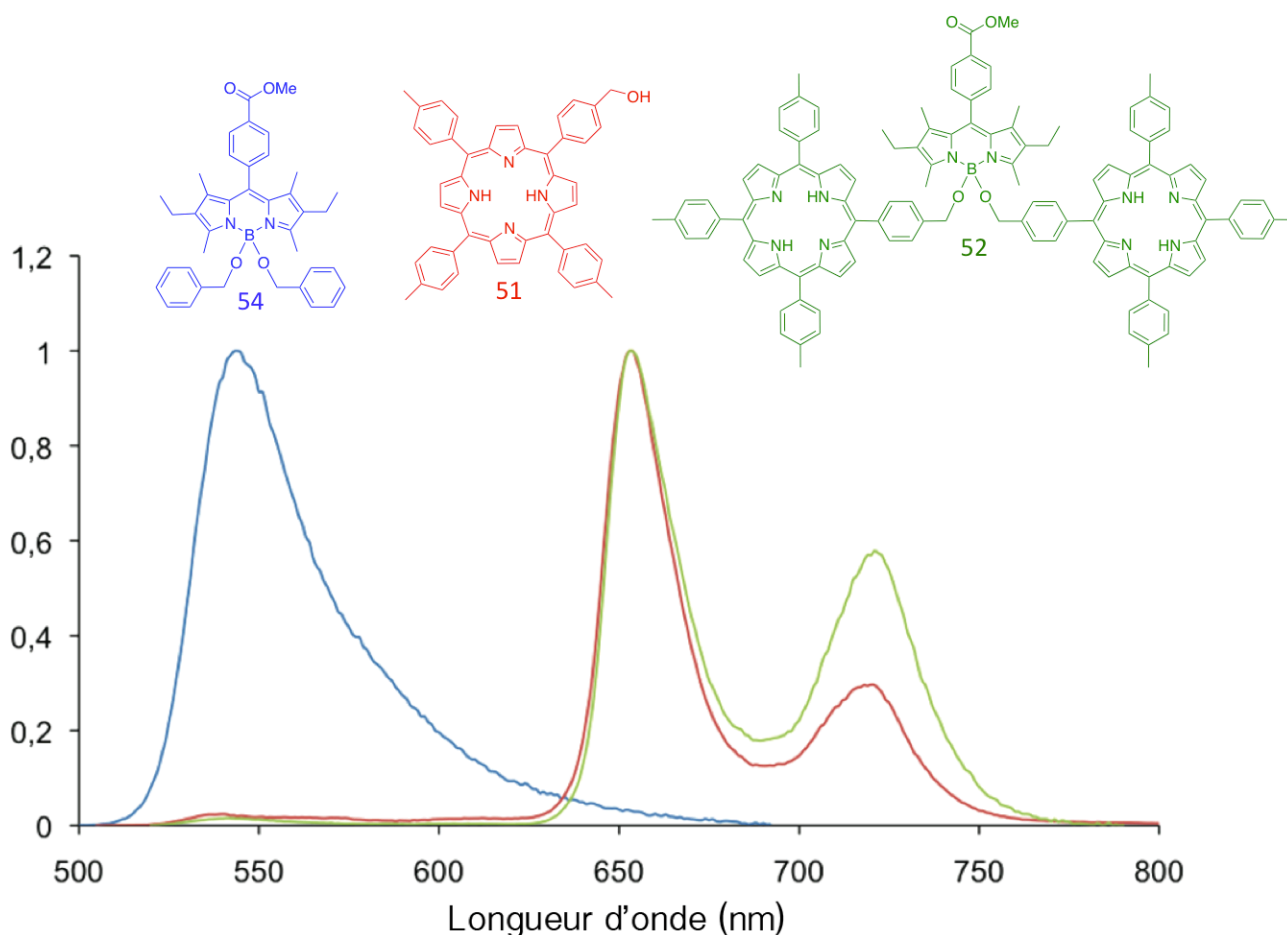


Figure 60 : Spectres d'émission, du BODIPY **54** (en bleu $\lambda_{\text{ex}} = 530$ nm), de la porphyrine **51** (en rouge, $\lambda_{\text{ex}} = 500$ nm) et du composé **52** (en vert $\lambda_{\text{ex}} = 530$ nm).

De plus, le spectre d'excitation du composé **52** à 720 nm est superposable avec son spectre d'absorption (Figure 61). Ces deux paramètres permettent d'affirmer que nous sommes en présence d'un transfert d'énergie S_1 du BODIPY vers les porphyrines après excitation du BODIPY.

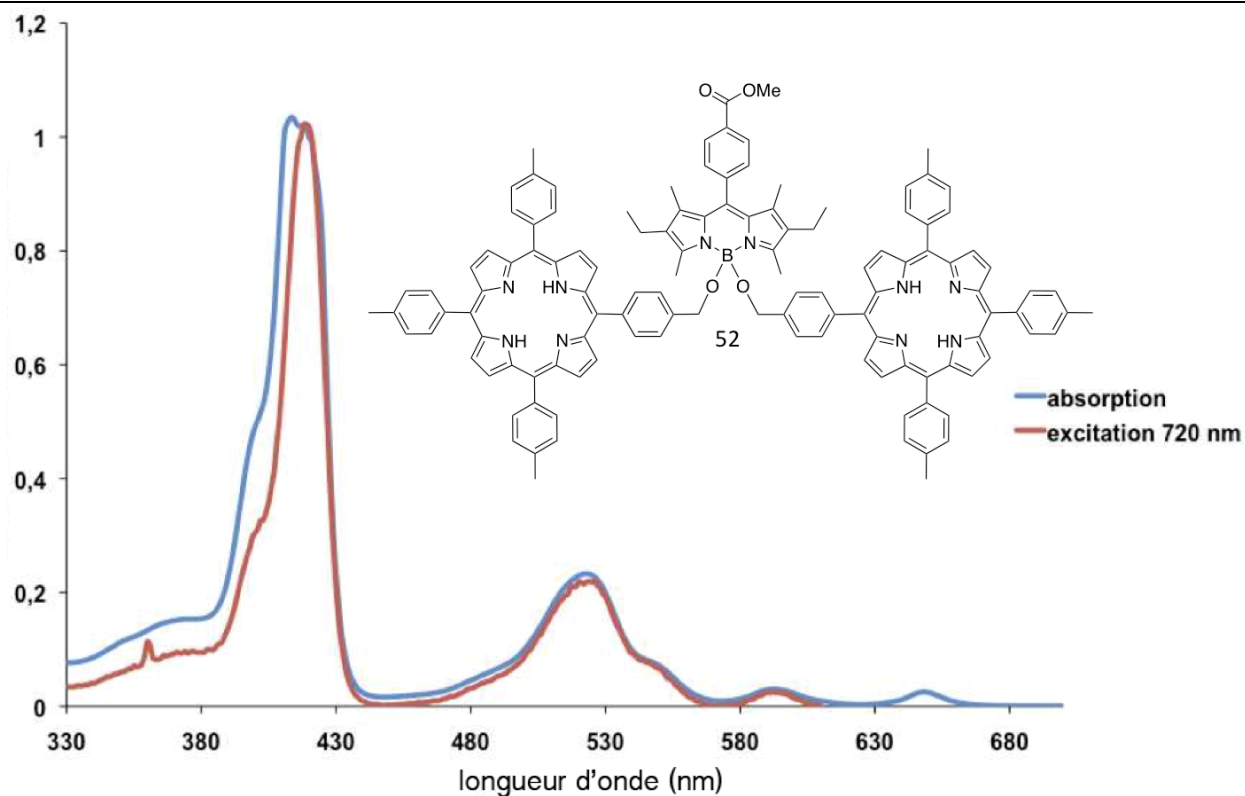


Figure 61 : Spectres d'absorption (en bleu) et d'excitation (en rouge) pour le composé **52**.

Les résultats sont identiques pour le composé **53**, le spectre d'émission de la molécule montre clairement les bandes caractéristiques de la fluorescence des porphyrines et les spectres d'absorption et d'excitation sont superposables.

Les rendements quantiques des différents composés ont été mesurés à 298 K dans le 2-MeTHF (Tableau 12), les échantillons ont été préparés sous boîte à gants et la concentration des échantillons a été ajustée de manière à fournir une absorbance de 0,05 à la longueur d'onde d'excitation. Le calcul du rendement quantique a été effectué en utilisant la Rhodamine 6G comme référence ($\Phi_F = 0,94$ dans le MeOH, $\lambda_{ex} = 488$ nm) en tenant compte de la différence d'indice de réfraction des solvants.¹⁵⁵

Composé	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	Φ_F 298 K
54	530	544	0,62
51	548	653	0,089
		718	
52	530 (BdP)	653	0,068
	590 (Porph)		
53	530 (BdP)	655	0,039
	560 (Porph)		
ZnTPP	563	605	0,037
		655	

Tableau 12 : Rendements quantiques de fluorescence mesurés à 298 K dans le 2-MeTHF en absence d'oxygène.

On peut noter que les rendements quantiques des composés **52** et **53** sont du même ordre de grandeur que les rendements quantiques des porphyrines, base libre **51** et **ZnTPP** seules. Ceci nous permet d'affirmer que la création de la liaison entre le BODIPY et les porphyrines n'augmente pas les vitesses des processus de désexcitation non-radiative ou des phénomènes de croisements intersystèmes.

Pour conclure, le recouvrement spectral entre le donneur (BODIPY) et l'accepteur (porphyrines) conduit à la très forte diminution de la fluorescence du BODIPY en faveur de celle des porphyrines. Nous sommes donc en présence d'un transfert d'énergie à travers l'espace efficace du BODIPY vers les porphyrines.

III. Systèmes couplés via une cycloaddition 1,3-dipolaire d'Huisgen

III.1 Contexte du projet

Dans ce projet, la synthèse du BODIPY de départ a été effectuée par le Dr Claire Bernhard dans notre groupe. Les études photophysiques des systèmes ont été effectuées par le Dr Atsuro Takai à l'université d'Osaka dans le groupe de Pr Shunichi Fukuzumi. Nous nous sommes intéressés à la synthèse des porphyrines, aux réactions de couplages et à la caractérisation des composés.

Ce projet a vu le jour au laboratoire suite aux travaux de thèse de Mohammed Chkounda,¹⁰⁸ qui a pu synthétiser un tripode porphyrinique grâce à la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire d'Huisgen.¹⁰⁹ Nous possédions donc au laboratoire le savoir faire pour réaliser des réactions de chimie "click" avec des porphyrines substituées par des groupements azoture. En parallèle de nos travaux, le Dr Claire Bernhard dans l'équipe du Pr Franck Denat et du Dr Christine Goze, a développé une voie de synthèse d'un BODIPY fonctionnalisé par des fonctions alcyne. Nous avons envisagé une collaboration afin d'obtenir de nouveaux systèmes couplant les BODIPY et les porphyrines grâce à la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire d'Huisgen.

Le terme chimie "click" regroupe plusieurs réactions chimiques. Ce nom a été introduit par Sharpless en 2001 pour désigner des réactions peu sensibles, avec des conditions de purification simples et qui sont applicables à une large gamme de produits de départ.¹⁵⁶ La cycloaddition 1,3-dipolaire d'Huisgen catalysée par le Cu (I) remplit tout ces critères. Ce sont les groupes de Sharpless et Meldal qui ont, indépendamment, révolutionné cette chimie en rendant cette réaction régiosélective grâce à une catalyse au Cu (I). Le succès de cette découverte vient du fait que la réaction catalysée est potentiellement quantitative, régiosélective et générale.¹⁵⁷ L'intérêt suscité par cette réaction vient de la facilité de fonctionnaliser une molécule avec un groupement azoture ou un alcyne vrai. Les porphyrines et leurs dérivés ont d'ailleurs été couplés à d'autres molécules grâce à cette réaction.¹⁵⁸ Les azotures sont connus pour leur caractère explosif, mais introduits sur un

squelette carboné de taille importante, les azotures peuvent être manipulés dans des conditions normales de sécurité.

III.2 Synthèses et caractérisation des composés

La première étape de cette voie de synthèse est l'introduction des groupements alcyne sur le BODIPY **A**, dont la synthèse a été décrite dans le paragraphe précédent (§ II.2). Cette réaction a été décrite par l'équipe d'Akkaya¹⁵⁹ et s'apparente à une condensation de Knoevenagel. Cette réaction tire partie du caractère acide des protons des fonctions méthyle en position 3 et 5, qui en présence de pipéridine et d'acide acétique dans le toluène à reflux forment une double liaison après attaque nucléophile sur l'aldéhyde et déshydratation (Schéma 117). Le rendement de la réaction peut être amélioré par l'utilisation d'un appareil de Dean-Stark pour retirer l'eau formée du milieu réactionnel et donner le composé **55** avec un rendement de 21 %.¹⁵¹

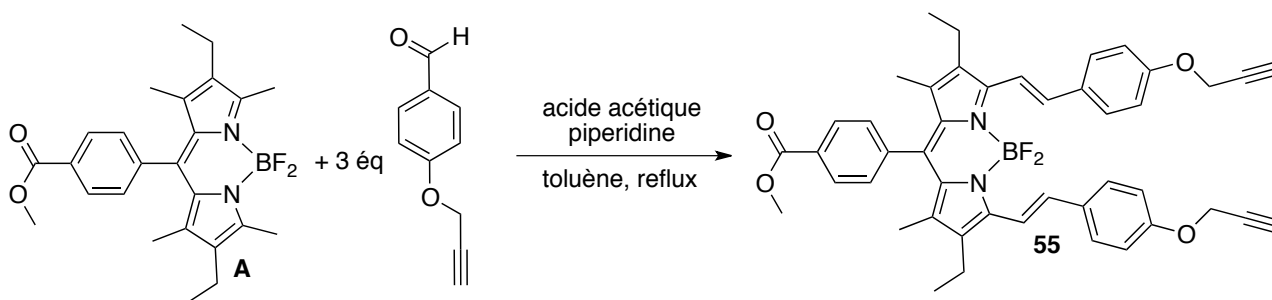
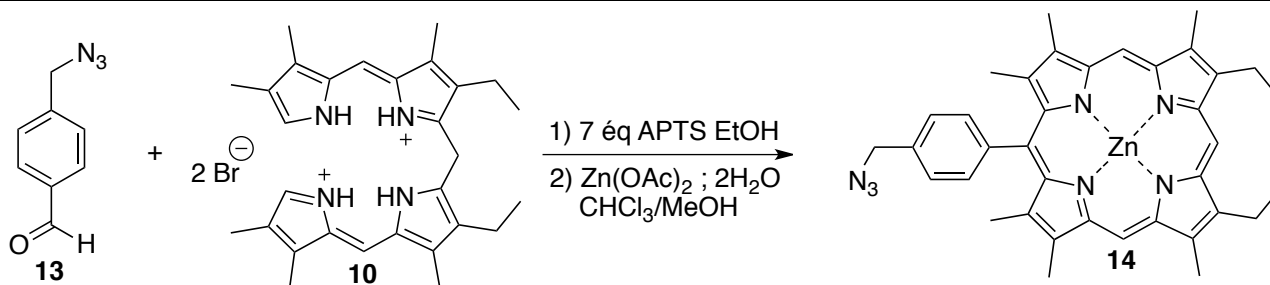


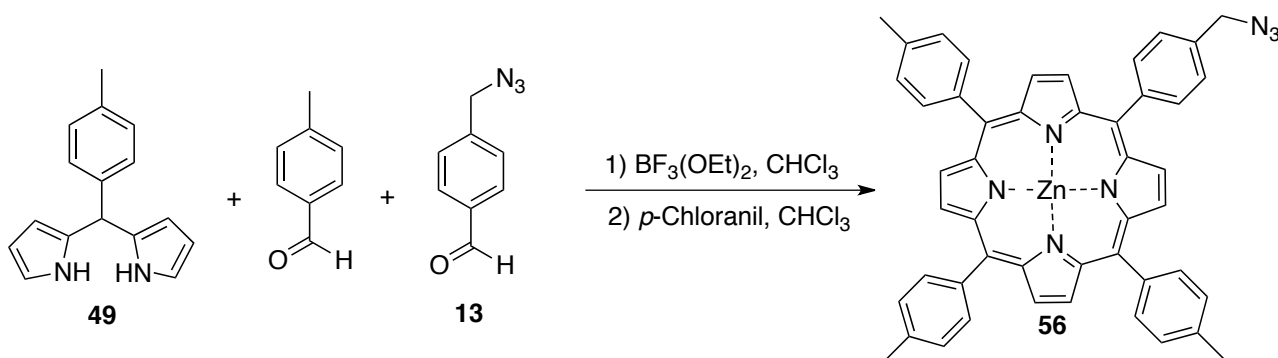
Schéma 117 : Synthèse du BODIPY étendu **55**.

Cette étape de synthèse, en plus de permettre l'insertion de deux fonctions alcyne sur le squelette du BODIPY, permet aussi d'étendre la délocalisation électronique. En effet, la double liaison et le cycle aromatique sont conjugués avec le chemin aromatique du BODIPY, ceci a pour effet de fortement déplacer l'absorption et l'émission du BODIPY de départ vers le rouge. La bande d'absorption majoritaire qui correspond à la transition S_0-S_1 , du BODIPY **A** se situe à 524 nm, la même bande d'absorption pour le BODIPY étendu **55** se trouve à 652 nm.¹⁵¹

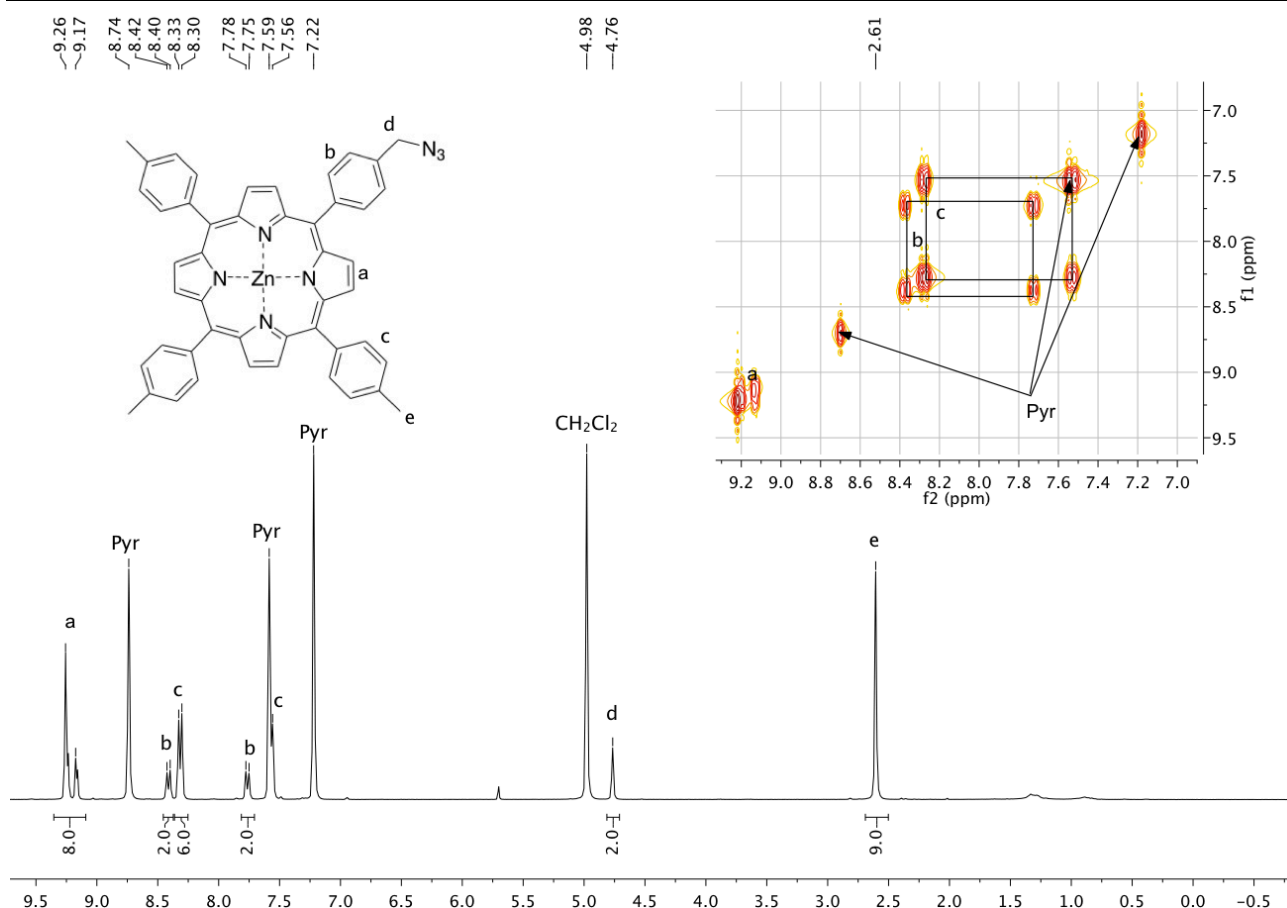
Pour ce projet nous avons décidé d'utiliser deux types de porphyrines mono-fonctionnalisées par un groupement azoture. La première est la porphyrine β -substituée **14** dont la synthèse détaillée précédemment dans ce manuscrit (§ Chap II.II.2.1.1) est rappelée sur le Schéma 118. La seconde porphyrine que nous avons utilisée est *meso*-fonctionnalisée **56** par une fonction benzylazoture et par trois groupements tolyle. Les différences entre les deux porphyrines sont premièrement, l'encombrement stérique, la porphyrine **14** est moins encombrée que la porphyrine **56**. Ensuite, ces deux porphyrines ont des caractéristiques d'absorption différentes en raison du caractère électro-donneur des groupements alkyle sur les positions β -pyrroliques de la porphyrine **14** et du caractère électro-attracteur des groupements aromatiques sur les positions *meso* de la porphyrine **56**. Ainsi, la différence d'énergie entre les niveaux HOMO et LUMO de la porphyrine **14** est plus grande que la différence d'énergie entre les niveaux HOMO et LUMO de la porphyrine **56**.

Schéma 118 : Rappel de la synthèse de la porphyrine **14**.

Pour la synthèse de la porphyrine **56** nous avons utilisé deux équivalents de dipyrrométhane **49** précédemment décrit en présence de 1,5 équivalents du 4-azidométhylbenzaldéhyde **13** et de 0,5 équivalents du 4-méthylbenzaldéhyde (Schéma 119). Afin de faciliter la purification, la porphyrine a été métallée au zinc par un traitement du brut réactionnel par un excès d'acétate de zinc au reflux d'un mélange de chloroforme et de méthanol.

Schéma 119 : Synthèse de la 5-(4-(azidométhyl)phényl)-10,15,20-tritolylporphyrine de Zinc **56**.

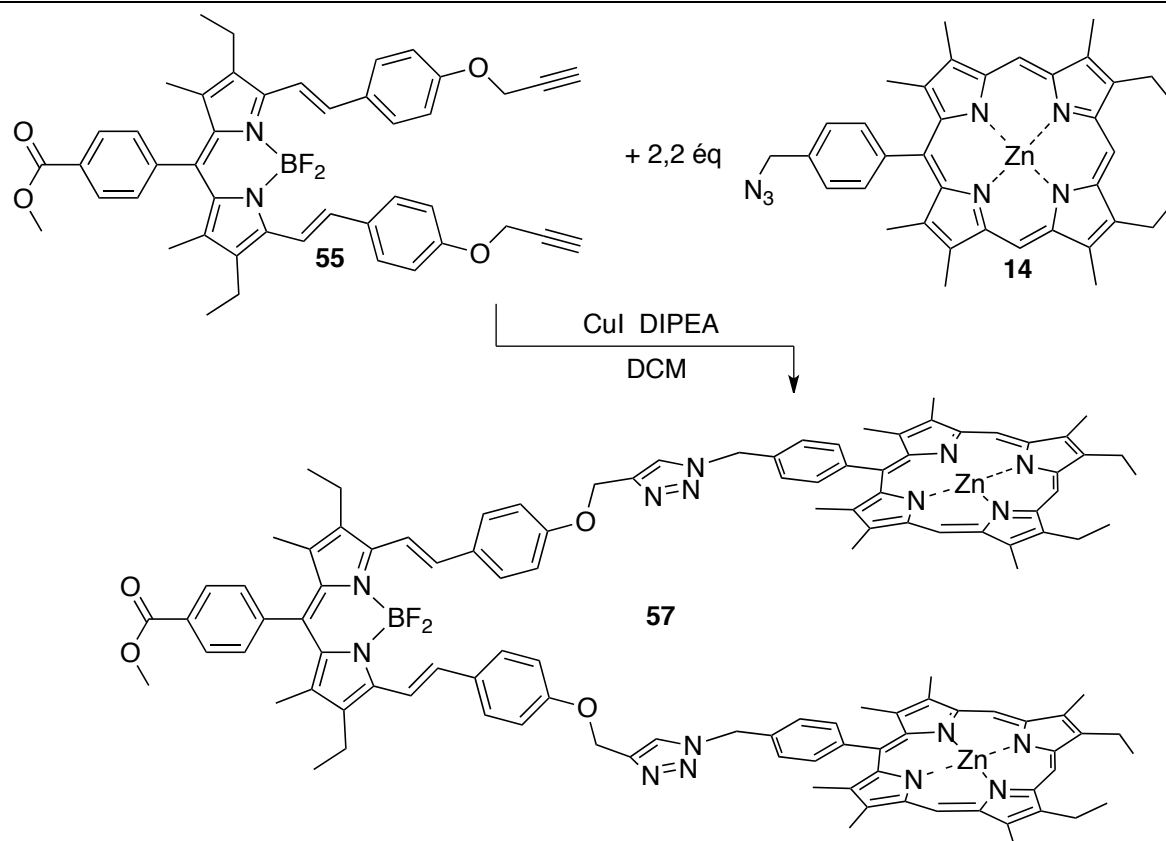
La porphyrine **56** a été caractérisée par spectrométrie de masse MALDI-TOF et Electrospray et par spectroscopie RMN ^1H à une et deux dimensions dans la pyridine D5 pour des raisons de solubilité (Figure 62). Sur le spectre RMN ^1H à une dimension de la porphyrine **56** on distingue clairement les signaux caractéristiques suivants, le singlet intégrant pour neuf protons à 2,61 ppm et le singlet intégrant pour deux protons à 4,76 ppm correspondant respectivement aux groupements méthyle des fonctions tolyle et au groupement méthylène qui porte la fonction azoture. Le multiplet intégrant pour huit protons de 9,17 à 9,26 ppm correspond aux protons des positions β de la porphyrine. Pour les protons aromatiques on distingue deux groupes de deux doublets intégrant pour deux protons à 7,76 et 8,41 ppm respectivement et pour six protons à 8,32 et 7,75 ppm respectivement. Un seul des deux doublets correspondant aux protons des fonctions tolyle est clairement défini, le deuxième est confondu avec un des pics de la pyridine. Grâce au spectre RMN ^1H à deux dimensions (COSY) on peut clairement reconnaître les groupes de doublets qui couplent ensemble.

Figure 62 : Spectre RMN ^1H (Pyr D5, 300 K, 300 MHz) de la porphyrine **56**.

Pour la suite des synthèses nous avons utilisé les porphyrines sous leur forme de complexe de zinc afin de les mettre en jeu dans des réactions de chimie “click”. En effet, la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen que nous avons utilisée est catalysée par le cuivre (I), or les porphyrines sont connues pour être d’excellents ligands pour le cuivre, nous avons préféré utiliser des complexes de zinc afin de s’affranchir des éventuels problèmes de complexation du cuivre dans la cavité porphyrinique durant la réaction de chimie “click”.

Dans la littérature de nombreuses conditions réactionnelles sont disponibles notamment pour la génération du cuivre (I) en solution.¹⁵⁷ Nous avons choisi d’utiliser de l’iodure de cuivre (I) en suspension dans le dichlorométhane. Du fait de l’insolubilité de l’iodure de cuivre dans le dichlorométhane et des faibles quantités de produit mis en jeu dans ces réactions, nous avons décidé d’utiliser le cuivre en quantités stoechiométriques et non catalytiques.

Nous avons mis en jeu 2,2 équivalents de la porphyrine **14** dans une réaction de chimie “click” avec le BODIPY **55** en présence d’un équivalent d’iodure de cuivre dans le dichlorométhane et sous atmosphère inerte (Schéma 120). Après sept heures d’agitation à température ambiante la réaction n’évolue plus, le produit **57** a été purifié par une colonne chromatographique de silice et isolé avec un rendement de 46 %.

Schéma 120 : Synthèse du composé BPD $\beta\text{-Por}_2$ **57**.

La formation du système BPD $\beta\text{-Por}_2$ **57** a été confirmée par spectrométrie de masse MALDI-TOF et Electrospray, ainsi que par des études RMN ^1H à une et deux dimensions (Figure 63 et Figure 64). L'attribution de tous les signaux du composé **57** est facilitée par le spectre à deux dimensions. Les spectres RMN ont été enregistrés dans la pyridine D5 pour des raisons de solubilité et de concentration. En effet, le produit est soluble dans de chloroforme deutérié mais même en saturant la solution à analyser, la quantité de produit en solution n'est pas assez importante pour obtenir des signaux interprétables.

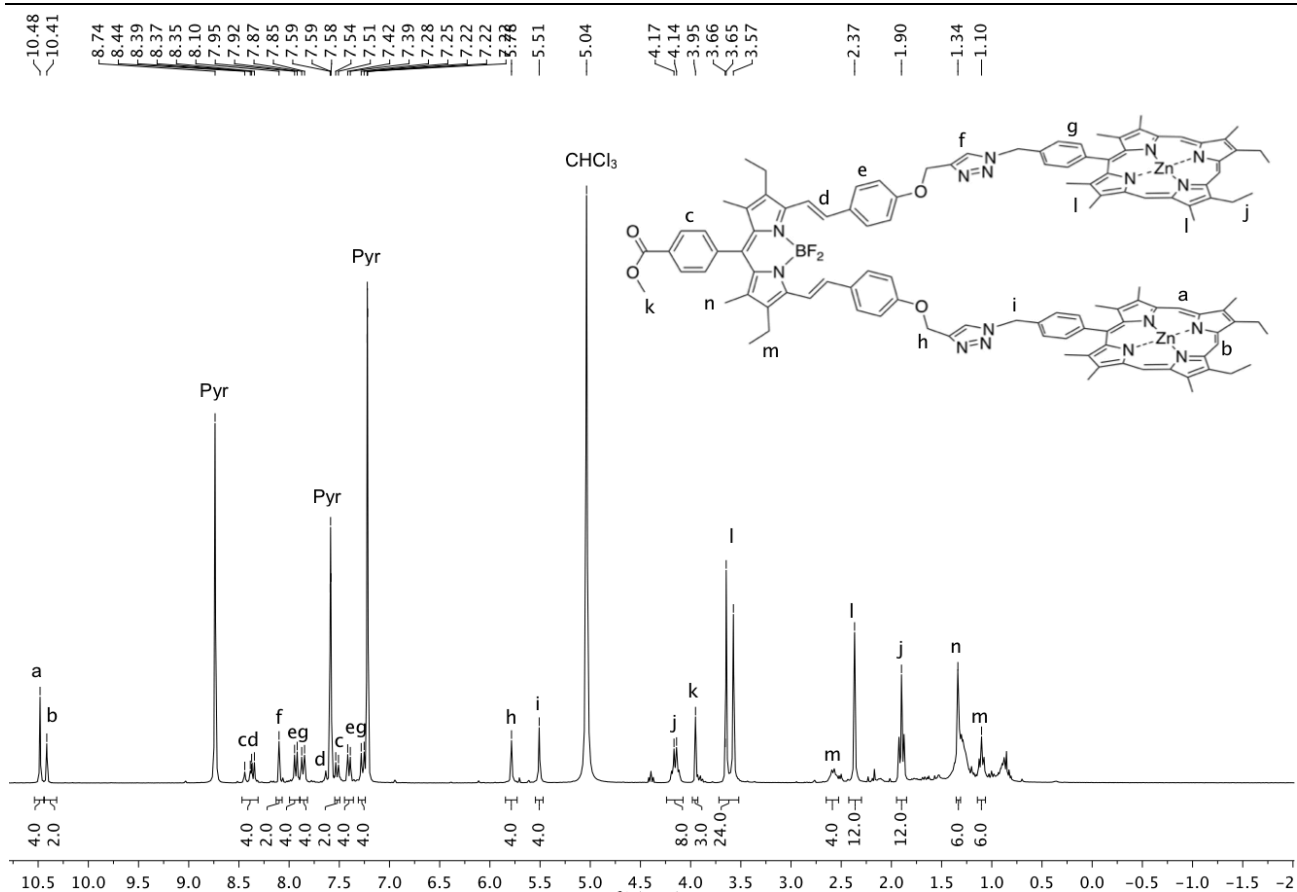


Figure 63 : Spectre RMN ^1H (Pyr D5, 300 K, 300 MHz) du composé BPD β -Por $_2$ **57**.

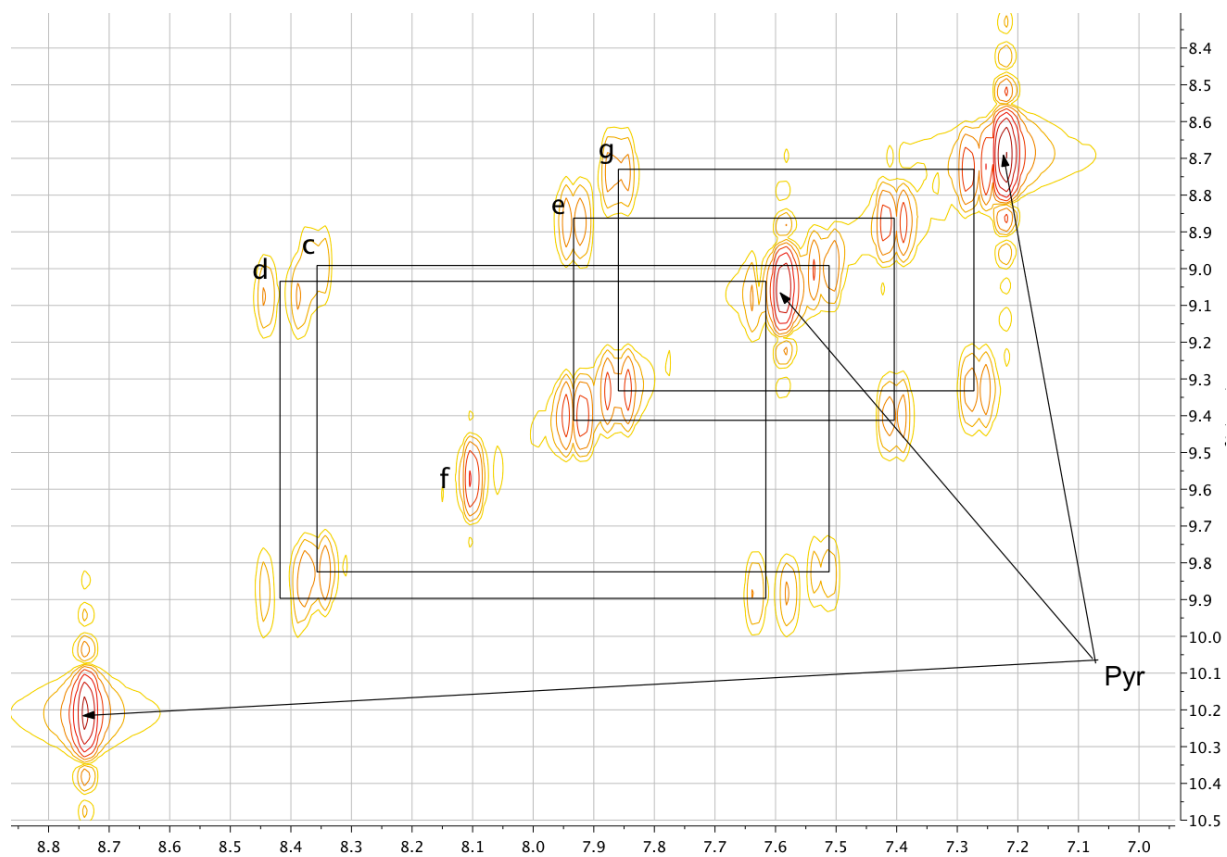


Figure 64 : Agrandissement du spectre RMN ^1H à deux dimensions sur la zone des protons aromatiques du composé **57**.

On peut noter l'apparition des signaux caractéristiques de la formation des cycles triazoliques, le singulet du proton porté par le cycle à 8,10 ppm et les deux singulets intégrant pour quatre protons correspondant aux groupes méthylènes voisins du cycle à 5,76 et 5,51 ppm respectivement.

Le rendement assez faible de 46 % en composé **57** est peut être du à un temps de réaction trop court ou à une désactivation du catalyseur dans le milieu. Pour le composé **58** nous avons décidé d'augmenter la quantité d'iodure de cuivre mise en jeu ainsi que le temps de réaction. Le BODIPY **55** a donc été placé en solution dans le dichlorométhane sous atmosphère inerte, en présence de 2,2 équivalents de la porphyrine **56** et de 3 équivalents d'iodure de cuivre (Schéma 121). Après vingt-quatre heures d'agitation à température ambiante, le produit **58** est purifié par colonne chromatographique de silice et isolé cette-fois ci avec un rendement de 96 %.

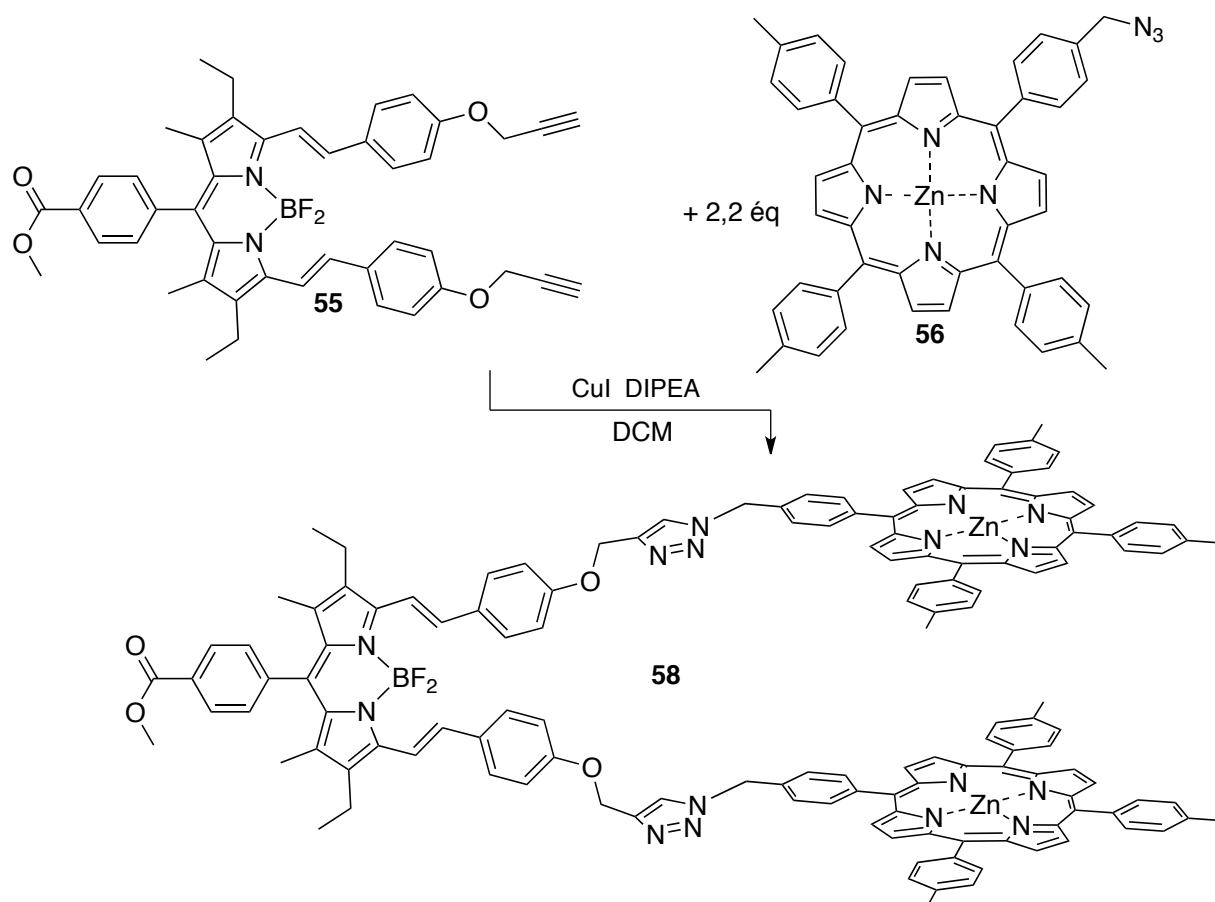


Schéma 121 : Synthèse du système BDP *meso*-Por₂ **58**.

La formation du système BDP *meso*-Por₂ **58** a été confirmée par des analyses de spectroscopie de masse MALDI-TOF et Electrospray, ainsi que par des études de spectroscopie RMN ¹H à une et deux dimensions (Figure 65 et Figure 66).

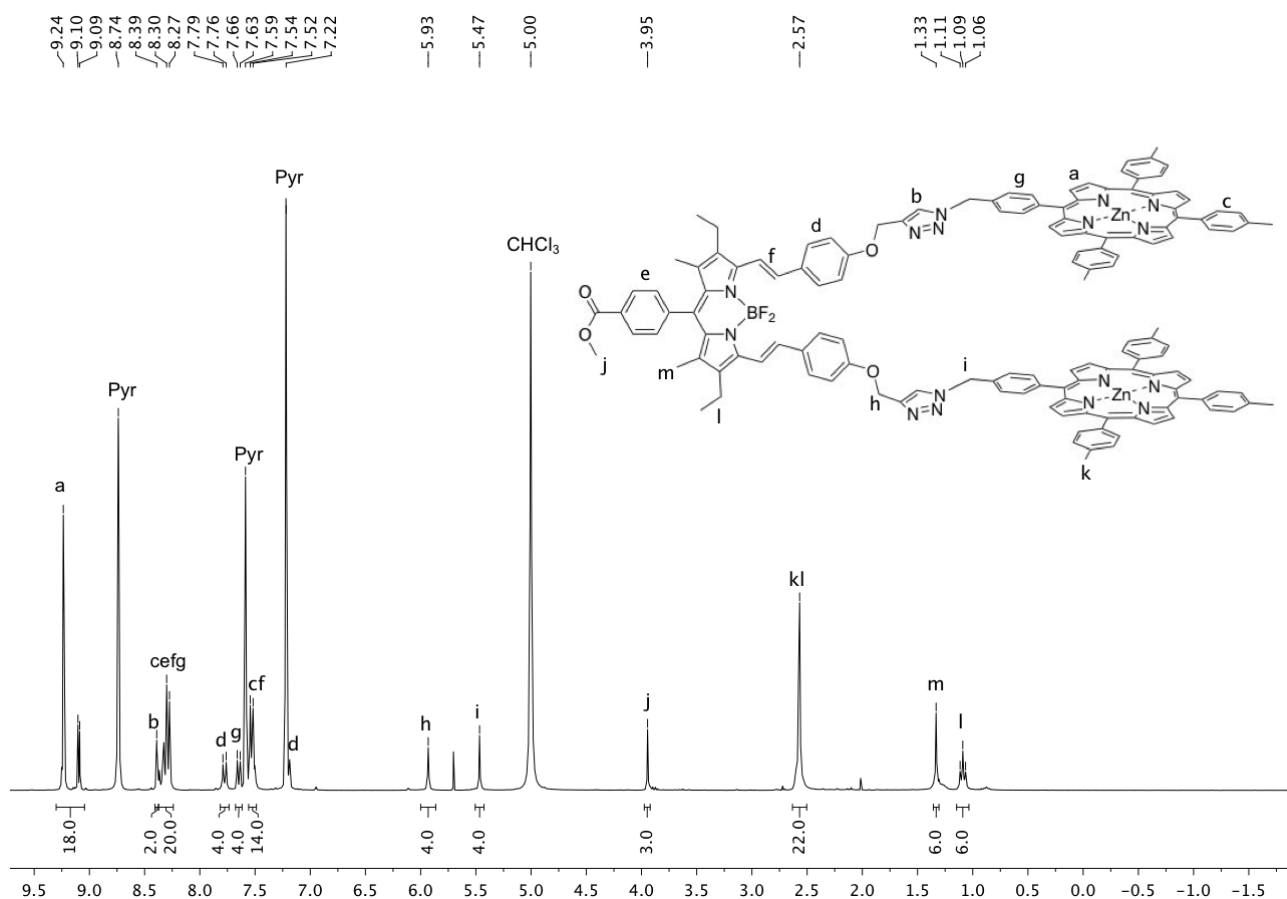


Figure 65 : Spectre RMN ^1H (Pyr D5, 300 K, 300 MHz) du système BDP *meso*-Por $_2$ **58**.

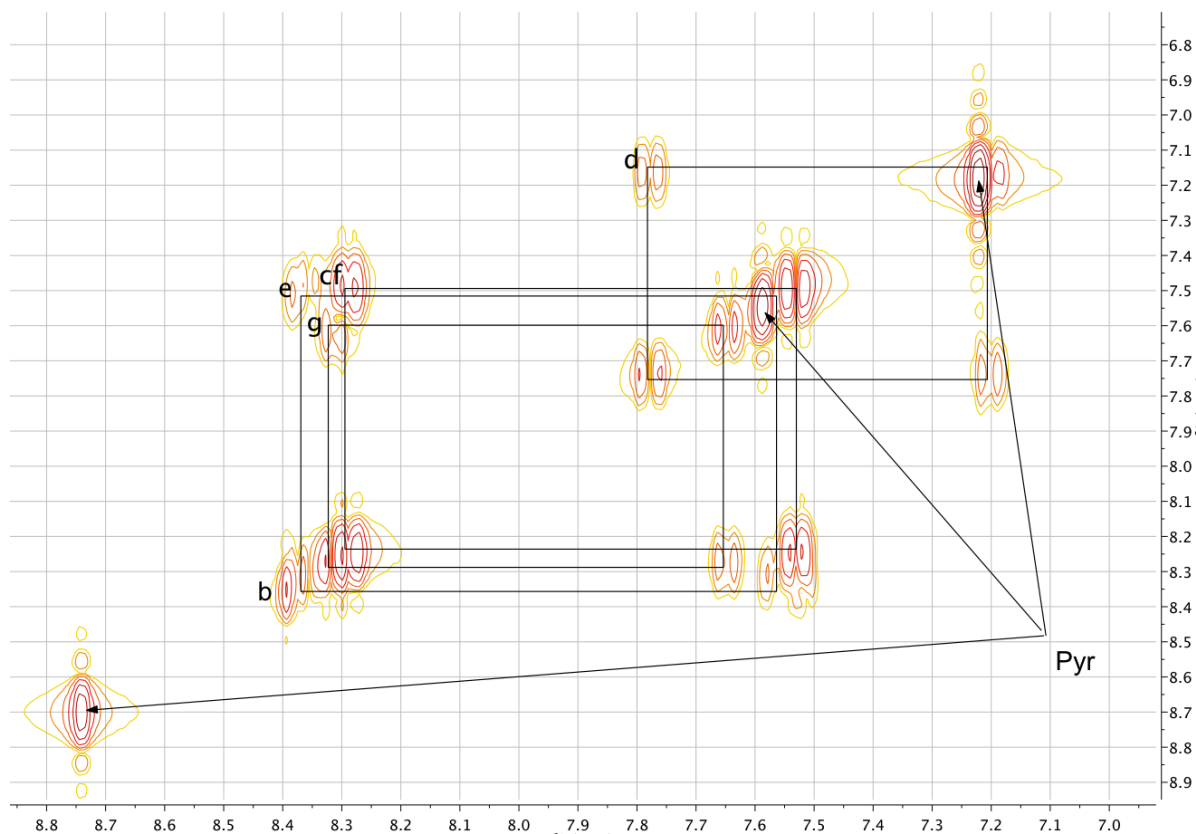


Figure 66 : Agrandissement du spectre RMN ^1H à deux dimensions sur la zone des protons aromatiques du composé **58**.

L'attribution des signaux du spectre RMN ^1H à une dimension est facilitée par l'expérience à deux dimensions. Dans la zone des protons aromatiques, six groupes de protons équivalents se superposent avec les signaux du solvant. Comme le montre l'attribution sur la Figure 65, tous les signaux correspondant au système **58** sont présents. On peut par exemple noter la disparition des signaux de protons des fonctions alcyne sous forme de triplet à 2,53 ppm dans le CDCl_3 . Ainsi que l'apparition des signaux caractéristiques de la formation des cycles triazoliques, le singulet du proton porté par le cycle à 8,39 ppm et les deux singulets intégrant pour quatre protons correspondant aux groupes méthylène voisins du cycle à 5,93 et 5,47 ppm respectivement.

Enfin, pour vérifier que la formation du cycle triazolique ne modifie pas les propriétés photophysiques du BODIPY nous avons décidé de coupler le BODIPY **55** avec de l'azidométhylbenzène par la même réaction de chimie "click" (Schéma 122). Comme précédemment le BODIPY **55** a été placé en solution dans le dichlorométhane et sous atmosphère inerte, en présence de 2,2 équivalents d'azidométhylbenzène et de trois équivalents d'iodure de cuivre. Après vingt-quatre heures d'agitation à température ambiante, le produit est purifié par une colonne chromatographique de silice et isolé avec un rendement de 63 %.

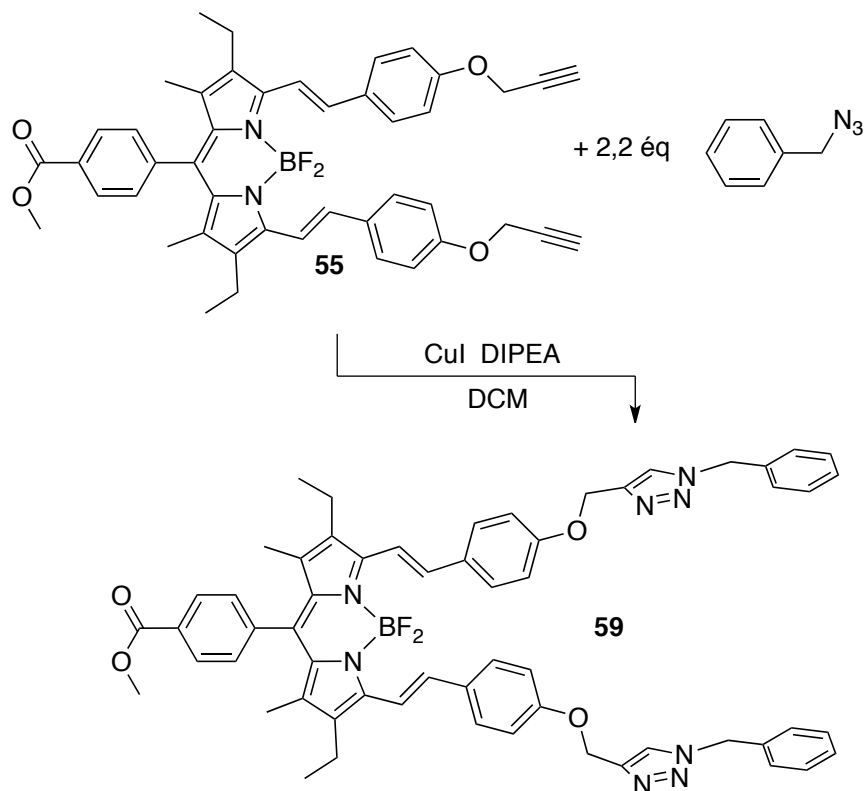


Schéma 122 : Synthèse du BODIPY BDP Bz_2 **59**.

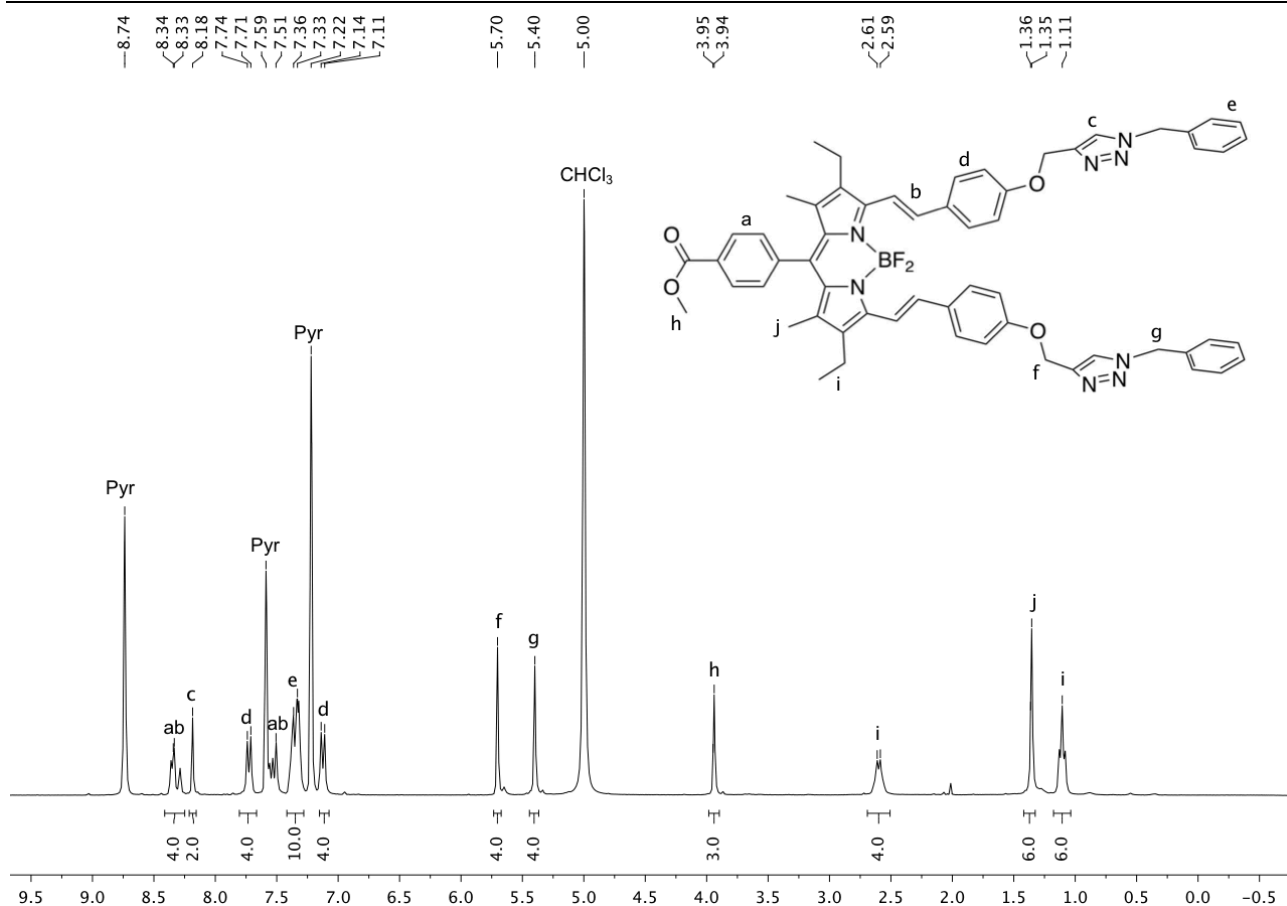


Figure 67 : Spectre RMN ¹H (Pyr D₅, 300 K, 300 MHz) du système BODIPY BDP Bz₂ **59**.

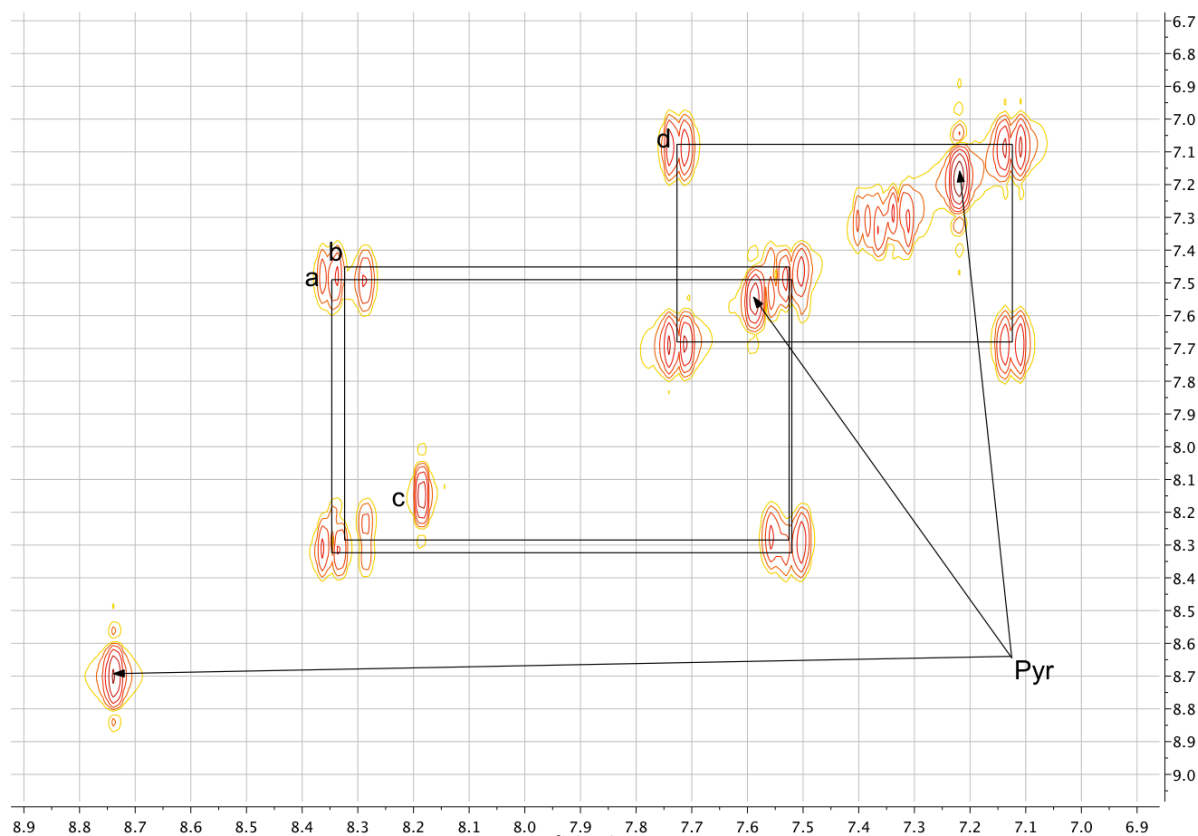


Figure 68 : Agrandissement du spectre RMN ¹H à deux dimensions sur la zone des protons aromatiques du composé **59**.

La formation du système BDP *meso*-Por₂ **59** a été confirmée par des analyses de spectrométrie de masse MALDI-TOF et Electrospray, ainsi que par des études de spectroscopie RMN ¹H à une et deux dimensions (Figure 67 et Figure 68). Dans la zone des protons aromatiques, cinq groupes de protons équivalents se superposent en partie avec les signaux du solvant. Comme le montre l'attribution sur la Figure 67, les signaux correspondant au système **59** sont présents. On peut par exemple noter l'apparition des signaux caractéristiques de la formation des cycles triazoliques, le singulet du proton porté par le cycle à 8,18 ppm et les deux singulet intégrant pour 4H correspondant aux protons méthyléniques voisins du cycle à 5,70 et 5,40 ppm respectivement.

III.3 Etudes des systèmes obtenus

Les systèmes que nous avons synthétisés au laboratoire ont été envoyés au laboratoire du Pr Shunichi Fukuzumi, à l'Université d'Osaka (Japon) pour être étudiés. Lors de cette collaboration, le Dr Atsuro Takai s'est chargé de l'étude des différents systèmes.

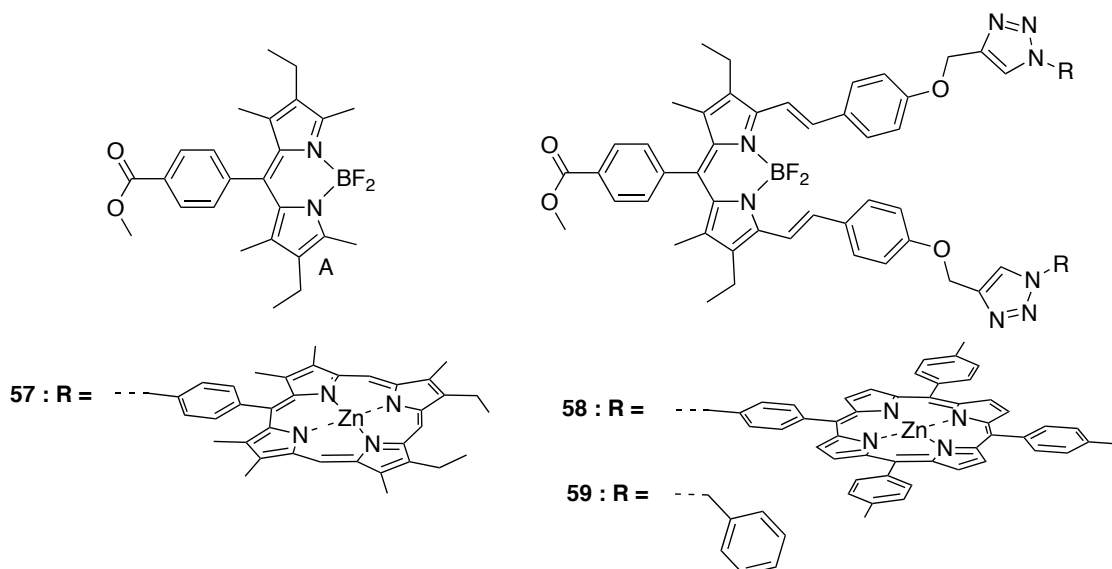


Schéma 123 : Structures du BODIPY **A** et des composés **57**, **58** et **59**.

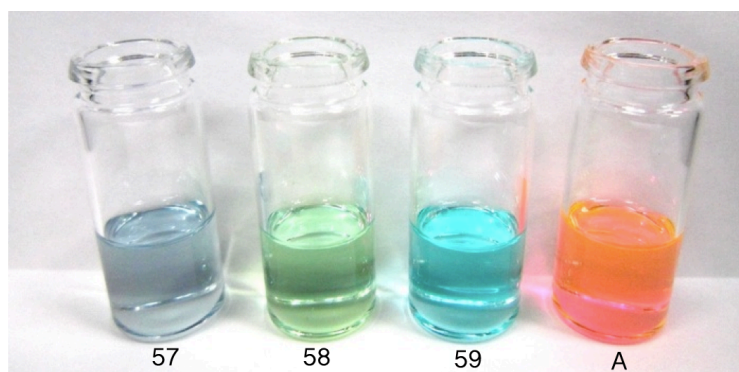


Figure 69 : Photographie des différents systèmes en solution dans le dichlorométhane. (de gauche à droite, le système BPD β -Por₂ **57**, le système BDP *meso*-Por₂ **58**, le système BDP Bz₂ **59** et le BODIPY **A**).

Les quatre systèmes que nous avons étudiés sont rappelés sur le Schéma 123. Ces systèmes sont composés d'un ou plusieurs chromophores qui absorbent fortement dans le visible. Lorsqu'ils sont mis en solution dans le DCM, ils ont des couleurs très caractéristiques (Figure 69).

Les spectres d'absorption UV-visible des composés ont été enregistrés dans le dichlorométhane à 298 K (Figure 70). Les valeurs des longueurs d'onde d'absorption ainsi que les coefficients d'extinction molaire sont donnés dans le Tableau 13.

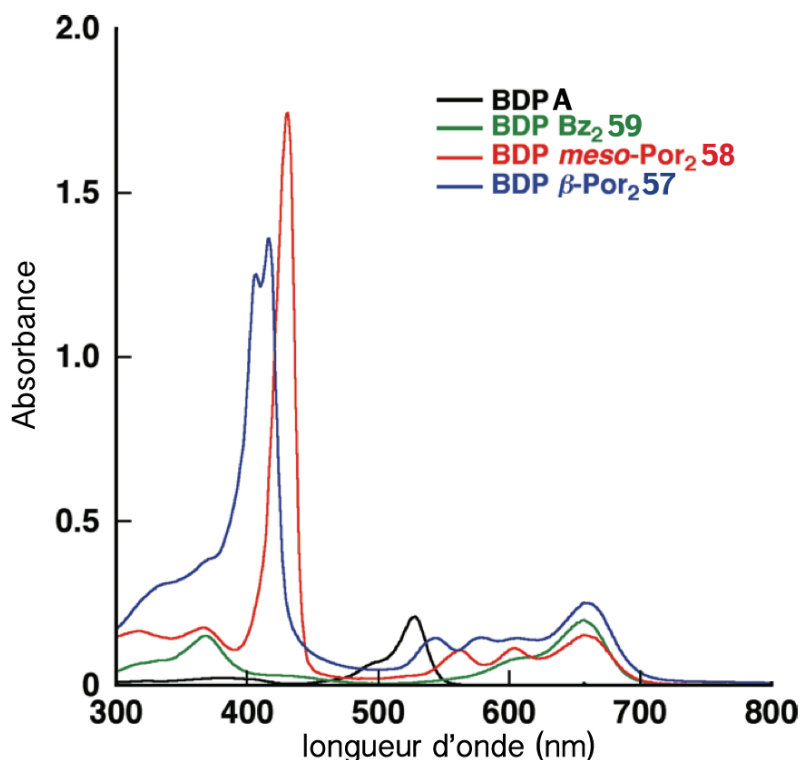


Figure 70 : Spectres d'absorption UV-visible du BODIPY A (en noir), du système BDP Bz₂ **59** (en vert) du système BDP β-Por₂ **57** (en bleu) et du système BDP meso-Por₂ **58** (en rouge) à 298 K dans le dichlorométhane.

Les spectres des BODIPY A et **59** sont caractéristiques de spectres d'absorption de BODIPY avec une bande correspondant à la transition S_0-S_2 à respectivement 379 et 368 nm et une bande d'absorption correspondant à la transition S_0-S_1 à respectivement 524 et 658 nm. On peut noter la présence d'un épaulement sur la bande S_0-S_1 qui correspond à la transition $S_0-S_1^*$. Le spectre du système BDP meso-Por₂ **58** correspond à l'addition des spectres d'absorption de ces constituants pris séparément. En effet on peut facilement reconnaître la bande de Soret de la porphyrine à 430 nm, les bandes Q à 562 et 603 nm et les bandes d'absorption du BODIPY à 366 et 658 nm.

Le spectre d'absorption du système BDP β-Por₂ **57** n'est pas la simple addition des spectres d'absorption de ces constituants pris séparément. En effet, on peut voir le dédoublement de la bande de Soret à 406 et 416 nm. Ce dédoublement est caractéristique du recouvrement électronique entre deux porphyrines en interaction dans une conformation cofaciale décalée.¹⁶⁰ Cette conformation est rendue possible dans le système BDP β-Por₂ **57** par le faible encombrement des substituants alkyle des porphyrines qui peuvent se rapprocher et entrer en interaction. Dans le système BDP meso-Por₂

58 les substituants toyle sur les positions *meso* des porphyrines sont trop encombrants et inhibent un rapprochement suffisant pour interagir.

Composé	$\lambda_{\max}$ (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)			
	Porphyrine		BODIPY	
	Bande de Soret	Bandes Q	Bande S ₂	Bande S ₁
A			379 (9,1)	524 (86,1)
57	406 (380) 416 (400)	547 (70) 584 (68)		665 (110)
58	430 (578)	562 (32) 603 (34)	366 (50)	658 (46)
59			368 (51)	658 (66)

Tableau 13 : Données d'absorption UV-visible des composés (CH₂Cl₂, 300 K).

Afin de vérifier si le dédoublement de la bande de Soret est du à une interaction entre le porphyrines, nous avons ajouté du DABCO dans la solution de dichlorométhane (Figure 71). En effet, le DABCO est une base encombrée qui est connue pour venir compléter la sphère de coordination sur les positions axiales des atomes de zinc dans la cavité porphyrinique. Le spectre d'absorption du système BPD β -Por₂ **57** change radicalement après l'ajout du DABCO, la bande de Soret n'est plus dédoublée, ceci nous permet d'affirmer que le dédoublement est du à une interaction entre les porphyrines.

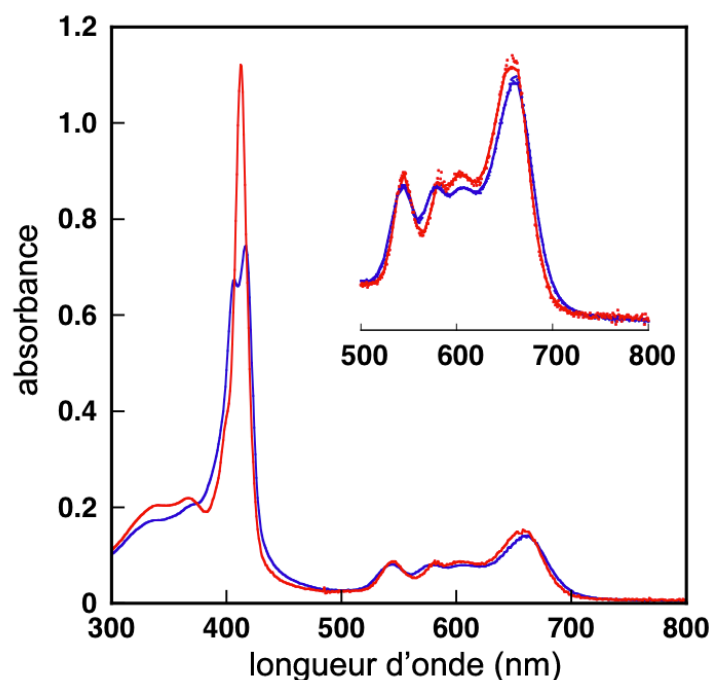


Figure 71 : Spectres d'absorption UV-visible du système BPD β -Por₂ **57** dans le dichlorométhane (en bleu) et dans le dichlorométhane en présence d'un excès de DABCO (en rouge).

Les valeurs des rendements quantiques de fluorescence ont été mesurées sur un spectrofluorimètre de type Hamamatsu C9920-0X(PMA-12). Les spectres d'émission des systèmes BPD β -Por₂ **57** et BDP *meso*-Por₂ **58** ont été comparés avec les spectres d'émission des composés de référence, le BODIPY **A**, le système BDP Bz₂ **59** et la **ZnTPP** (Tableau 14).

Sur la Figure 72 sont représentés les spectres d'émission des composés de référence. On peut noter que la porphyrine **ZnTPP** présente deux bandes d'émission à 597 et 650 nm ce qui correspond à la longueur d'onde d'absorption du système BDP Bz₂ **59** à 658 nm dans le dichlorométhane. Pour les systèmes BPD β -Por₂ **57** et BDP *meso*-Por₂ **58**, on peut donc s'attendre à observer un transfert d'énergie des porphyrines vers le BODIPY.

Composé	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	Φ_F 293 K
A	500	540	0,49
57	540	610 680	0,041
58	550	680	0,030
59	600	680	0,48
ZnTPP	432	597 650	0,017

Tableau 14 : Rendements quantiques de fluorescence mesurés à 293 K dans le dichlorométhane.

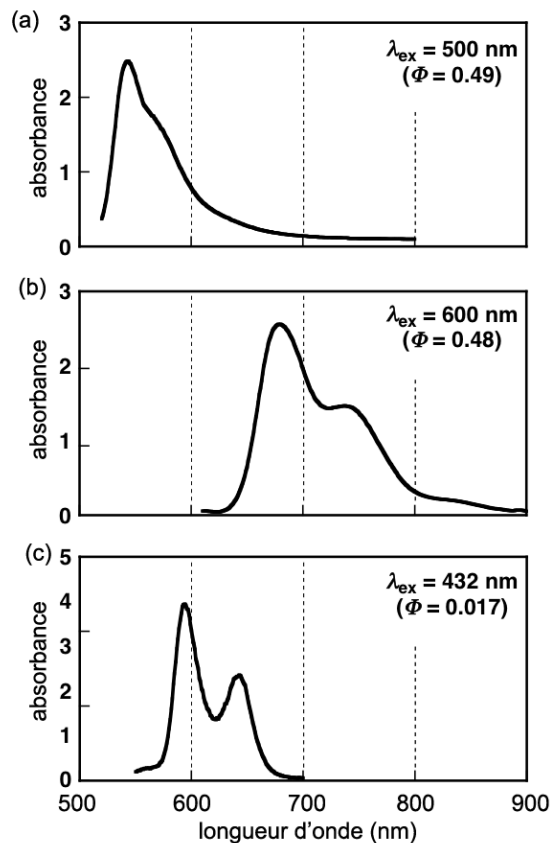


Figure 72 : Spectres d'émission des composés de référence, (a) BODIPY **A**, (b) système BPD Bz₂ **59** et (c) **ZnTPP** en solution dans le dichlorométhane à 293 K.

Les spectres d'émission des systèmes BPD β -Por₂ **57** et BDP *meso*-Por₂ **58** ont été mesurés dans le dichlorométhane à 293 K (Figure 73). Dans les deux cas le système a été excité à une longueur d'onde d'absorption correspondant uniquement à l'absorption des porphyrines du composé, 540 nm pour le système BPD β -Por₂ **57** et 550 nm pour le BDP *meso*-Por₂ **58**. Le spectre d'émission du composé **57** montre principalement la bande d'émission du BODIPY ; on peut néanmoins distinguer une bande d'émission provenant de la fluorescence des porphyrines. Pour le composé **58** le spectre d'émission est clairement dû à la partie BODIPY de la molécule. Dans les deux cas le spectre d'excitation enregistré dans le dichlorométhane à 298 K pour l'émission à 680 nm montre clairement la participation des porphyrines à l'émission du BODIPY.

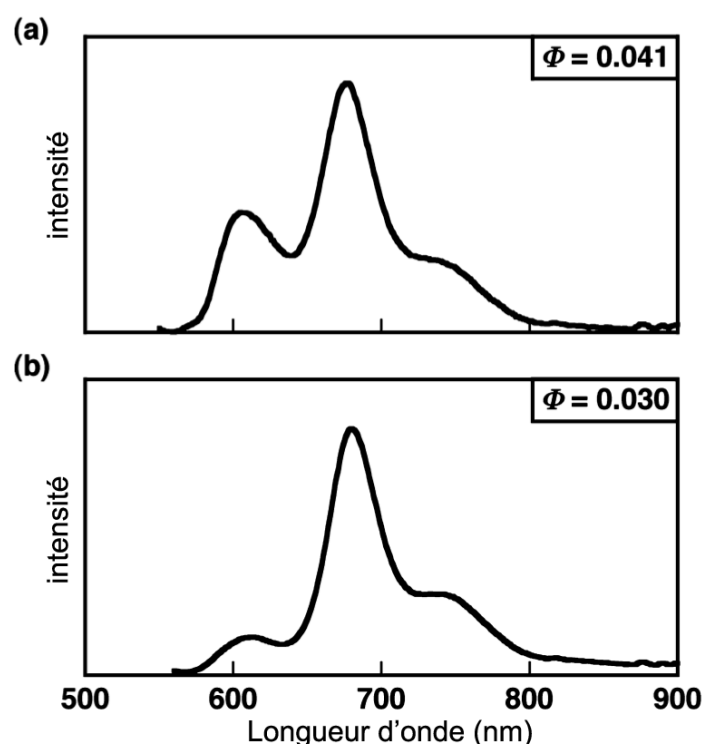


Figure 73 : Spectre d'émission en (a) du système BPD β -Por₂ **57** et en (b) du système BDP *meso*-Por₂ **58**, dans le dichlorométhane à 293 K. Longueurs d'onde d'excitation : 540 et 550 nm respectivement.

Ces deux paramètres nous permettent d'affirmer que nous sommes en présence d'un transfert d'énergie des porphyrines vers le BODIPY. A notre connaissance il s'agit du premier exemple d'architectures associant des porphyrines et des BODIPY dans lequel le transfert d'énergie ne s'effectue pas du BODIPY vers la porphyrine.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons décrit la synthèse de nouveaux systèmes associant des porphyrines et des BODIPY reliés par des liaisons covalentes. Deux types de liaisons ont été envisagés, tout d'abord la création de liaisons bore-oxygène et ensuite l'utilisation de la cycloaddition 1,3-dipolaire d'Huisgen. Les composés formés par des liaisons bore-oxygène ont été obtenus à partir de porphyrines portant une fonction alcool benzylique et leurs propriétés photophysiques ont été étudiées. Ces systèmes montrent un transfert d'énergie du BODIPY vers les porphyrines.¹⁶¹

Les systèmes obtenus par chimie "click" ont été formés à partir de porphyrines azotures et de BODIPY étendus fonctionnalisés par des fonctions alcyne vrai. Le fait d'étendre la conjugaison du BODIPY modifie beaucoup ces propriétés photophysiques. En effet, l'absorption est fortement décalée vers le rouge et passe de 524 nm à 658 nm pour un BODIPY étendu. Les études photophysiques de ces composés conduisent à un résultat original puisque dans ce cas le transfert d'énergie s'effectue dans le sens inverse des composés analogues décrit dans la littérature. En effet à notre connaissance il s'agit du premier exemple d'architectures associant des porphyrines et des BODIPY dans lequel le transfert d'énergie s'effectue de la porphyrine vers le BODIPY.

Ce travail a donné lieu à deux publications cette année.^{151, 161}

Conclusion générale

L'objectif de cette thèse était de développer de nouvelles voies de synthèse vers des ligands hétérobismacrocycliques capables de complexer sur la même molécule deux métaux différents aux propriétés intéressantes pour l'imagerie multimodale. Durant ces trois ans de thèse je me suis donc intéressé à la synthèse de dérivés porphyriniques et de leur couplage avec des dérivés du cyclène.

Dans ce manuscrit nous avons présenté la synthèse d'une série de cinq ligands composés d'une porphyrine et d'un ou plusieurs macrocycles dérivés du DOTA. Une première méthode de synthèse basée sur le couplage peptidique entre des précurseurs porphyriniques fonctionnalisés par des fonctions benzylamine et un dérivé du cyclène fonctionnalisé par une fonction acide carboxylique nous a permis de synthétiser trois ligands formés d'une porphyrine et de respectivement un, deux et quatre tétraazamacrocycles macrocycles.

Une seconde méthode de synthèse a été développée de manière à optimiser les étapes de synthèse. Ces nouvelles conditions de synthèse nous ont permis de développer deux nouveaux ligands qui incorporent respectivement un et deux macrocycles dérivés du cyclène autour d'une porphyrine. Une structure cristallographique d'un ligand composé d'une porphyrine et de deux dérivés du DOTA sous leur forme protégée a été obtenue. Cette structure nous a permis d'étudier la géométrie de complexation des dérivés cyclènes dans nos systèmes. Nous pouvons donc affirmer que l'introduction d'une porphyrine sur un des bras du DOTA ne modifie pas la géométrie de complexation du macrocycle à l'état solide. Cette nouvelle voie de synthèse nous a permis d'accéder, en seulement six étapes, à un ligand relativement élaboré composé d'une porphyrine, d'un dérivé du cyclène et d'une fonction amine libre. Par la suite, cette fonction amine pourra être utilisée pour créer une fonction réactive afin d'ajouter à ce ligand une molécule vectrice et permettre de potentiellement cibler et visualiser une structure ou un phénomène biologique particulier.

La suite de ce travail s'est portée sur la synthèse de complexes hétérobimétalliques à partir des ligands synthétisés. Nous avons obtenu des complexes de gadolinium (III) et des complexes hétérobimétalliques incorporant du gadolinium (III) et du cuivre (II). Le gadolinium (III) étant utilisé pour le contraste en IRM et l'isotope radioactif du cuivre, le cuivre-64, est utilisé comme agent de contraste de la PET.

Nous avons mis au point un protocole de mesure de la relaxivité longitudinale de ces complexes. Les valeurs de r_1 qui ont été obtenues sont, pour la majorité des complexes, en accord avec les valeurs de la littérature pour des complexes de même nature et sont deux à quatre fois supérieures aux valeurs des agents de contraste commerciaux utilisés à l'heure actuelle en IRM.

Le quatrième chapitre de ce manuscrit est dédié la synthèse de nouveaux systèmes associant des porphyrines et des BODIPY. Ces entités ont été couplées par création de liaisons originales, tout d'abord des liaisons bore-oxygène et ensuite l'utilisation de la cycloaddition 1,3-dipolaire d'Huisgen. Les composés formés par des liaisons bore-oxygène ont été obtenus à partir de porphyrines portant une fonction alcool benzylique. Ces systèmes montrent un transfert d'énergie

du BODIPY vers les porphyrines. Les systèmes obtenus par chimie “click” ont été formés à partir de porphyrines azotures et de BODIPY étendus fonctionnalisés par des fonctions alcynes vrais. Le fait d’étendre la conjugaison du BODIPY modifie beaucoup ces propriétés photophysiques. Dans ce cas le transfert d’énergie s’effectue dans le sens inverse des composés analogues décrits dans la littérature. En effet à notre connaissance il s’agit du premier exemple d’architectures associant des porphyrines et des BODIPY dans lequel le transfert d’énergie s’effectue de la porphyrine vers le BODIPY.

Le thème de recherche portant sur la synthèse de complexes métalliques pour des applications dans le domaine de l’imagerie médicale est un projet relativement récent au laboratoire. Les perspectives de mon travail de thèse portent sur plusieurs points.

En ce qui concerne les complexes synthétisés durant cette thèse et qui ont montrés des propriétés intéressantes pour l’IRM, nous envisageons d’étudier la cytotoxicité de ces molécules afin de pouvoir effectuer des acquisitions d’images IRM sur petit animal et comparer l’efficacité de nos complexes avec un agent de contraste commercial. Les ligands que nous avons développé ont une très bonne affinité pour le cuivre en conditions de chimie classique, ces synthèses doivent maintenant être mises au point dans des conditions de synthèse radiochimique en utilisant du cuivre radioactif. Les conditions d’activation de la fonction amine libre pour lier notre ligand à un vecteur restent à mettre au point, le choix du vecteur biologique influera beaucoup sur la méthode et les conditions d’activation de cette liaison. Enfin nos ligands sont adaptés à la chélation de centres métalliques autres que le gadolinium ou le cuivre, cependant les conditions de complexation restent à mettre au point.

Partie expérimentale

Instrumentation

Les caractérisations des produits ont été effectuées sur les appareils de la Plateforme d'Analyse Chimique et de Synthèse Moléculaire de l'Université de Bourgogne (PACSMUB).

Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN).

Les spectres RMN ^1H ont été enregistrés sur des appareils BRUKER Avance III NanoBay 300 MHz, BRUKER Avance III 500 MHz et BRUKER Avance II 600 MHz. Les mesures ont été effectuées sur des échantillons d'environ 5 mg de composé dans 0,6 mL de solvant deutérié. Les déplacements chimiques sont référencés par rapport au pic résiduel du solvant (7,26 ppm pour le CDCl_3 , 2,50 ppm pour le DMSO D_6 et 7,22 pour le premier pic de la Pyr D_5).

La multiplicité des signaux RMN est donnée avec les abréviations suivantes : s pour singulet, se pour singulet élargi, d pour doublet, t pour triplet, te pour triplet élargi, tm pour triplet masqué, q pour quadruplet.

Spectroscopie UV-visible.

Les spectres UV-visibles ont été enregistrés sur un appareil VARIAN CARY 50 Scans dans des cellules en quartz de trajet optique 1 cm.

Spectrométrie de masse.

Les spectres de masse obtenus par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time Of Flight) ont été enregistrés sur un appareil Ultraflex II LRF 2000, en mode reflectron et en utilisant un laser "Smartbeam" à partir d'échantillons dispersés dans une matrice de dithranol (1,8,9-Anthracène-1,8,9-triol, Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$) ou de DHB (acide 2,5-dihydroxybenzoïque, Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$).

Les spectres de masse obtenus par ESI (ElectroSpray Ionization) ont été enregistrés sur un appareil THERMO LTQ Orbitrap XL couplé à une HPLC Ultimate 3000 DIONEX.

Spectroscopie infrarouge (IR).

Les spectres infrarouges ATR (Attenuated Total Reflectance) ont été enregistrés sur un appareil à transformée de Fourier BRUKER Vector 22 à partir d'échantillons purs.

Diffraction des rayons-X.

Les mesures de diffraction des rayons-X sur monocristaux ont été enregistrées par le Dr. Philippe Richard, sur une diffractomètre automatique quatre cercles Nonius Kappa APEX II. Les paramètres de mailles ont été calculés par la méthode des moindres carrés en utilisant les angles de diffraction de la totalité des taches collectées.

Les structures radiocristallographiques ont été générées grâce au programme Mercury pour Macintosh où les protons sont omis pour plus de clarté.

Analyse élémentaire

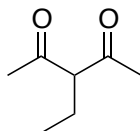
Les analyses élémentaires ont été enregistrées sur un appareil Thermo Electron Flash EA 1112 Series.

HPLC

Les analyses HPLC ont été effectuées sur un appareil Ultimate 3000 Dionex équipé d'un détecteur diode array detector. Les chromatogrammes analytiques ont été obtenus avec une colonne MACHEREY-NAGEL EC 250/4,6 Nucleodur 100-50 C18ec. Les purifications ont été effectuées avec une colonne semi-préparative MACHEREY-NAGEL VP 250/10 Nucleodur 100-50 C18ec.

Réactifs et solvants

Les produits commerciaux et les solvants (Sigma-Aldrich, Acros, Fluka, Alfa Aesar) ont été utilisés sans purification préalable. Le DOTA-tris(tBu)ester NHS, le DOTA-tris(tBu)ester et le DO3AtBu ont été fournis par la société Chematech® et utilisés sans purification préalable.

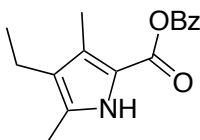
3-Ethylpentane-2,4-dione 1
 $C_7H_{12}O_2$

Masse exacte : 128,08

Masse molaire : 128,17

Dans un bicol de 1 L sous azote équipé d'une arrivée de gaz et d'un réfrigérant droit sont introduits successivement 270 mL d'acétone, 85,40 g (617 mmol) de K_2CO_3 , 63,0 mL (617 mmol) de pentane-2,4-dione et 62,0 mL (775 mmol) de iodoéthane. Le milieu réactionnel est agité et porté à reflux durant 48 h. Le mélange est refroidi à température ambiante puis filtré sur fritté. Le filtrat obtenu est évaporé sous vide. Le liquide jaune obtenu est purifié par distillation sous pression réduite. Le produit bout à 54°C, on récupère 59,2 g (462 mmol) d'un liquide incolore, soit un rendement de 75 %.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : 0,85 ppm (t, $J = 7,5$ Hz, 3H, $-CH-CH_2-CH_3$) ; 1,83 ppm (qd, $J = 7,5$ Hz, 2H, $-CH-CH_2-CH_3$) ; 2,13 ppm (s, 6H, $-CO-CH_3$) ; 3,50 ppm (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, $-CH-CH_2-CH_3$)

2-Benzoyloxycarbonyl-4-éthyl-3,5-diméthylpyrrole 2
 $C_{16}H_{19}NO_2$

Masse exacte : 257,14

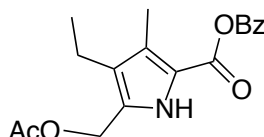
Masse molaire : 257,33

Dans un réacteur de 8 L sont ajoutés successivement 1,15 L d'acide acétique et 375 mL (2,14 mol) de benzyle acétoacétate. La solution est agitée et refroidie à 4°C. 171 g (2,48 mol) de $NaNO_2$ dans 300 mL d'eau sont additionnés grâce à une pompe péristaltique sur 3 h. Le mélange est agité durant une nuit à 4°C. Le réacteur est vidangé et l'oxime formée est placée dans une ampoule d'addition. Dans le réacteur de 8 L, équipé de l'ampoule d'addition remplie d'oxime, sont ajoutés successivement 500 mL d'acide acétique et 209,4 g (1,63 mol) de 3-éthylpentane-2,4-dione **1**, la solution est agitée et chauffée à 65°C. L'oxime est additionnée par un goutte-à-goutte rapide (1,5 L sur 2 h). Un mélange de 165 g (2,53 mol) de zinc en poudre et de 165 g (2,01 mol) d'acétate de sodium est additionné de manière à ce que l'oxime ne soit jamais en excès. Le milieu réactionnel est agité à 65°C durant 4 h, puis versé à chaud sur une grande quantité de glace, un précipité brun se forme. Le produit est extrait par 3 fois 500 mL de DCM, puis la phase organique est lavée avec 3

fois 2 L d'eau. La phase organique est séchée puis évaporée et le solide obtenu est lavé au méthanol froid (-10°C). On obtient 101,2 g (393 mmol) du produit désiré sous la forme de cristaux, soit un rendement de 24 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : 1,02 ppm (t, $J = 7,5\text{Hz}$, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 2,17 ppm (s, 3H, $-\text{CH}_3$) ; 2,27 ppm (s, 3H, $-\text{NH}-\text{C}-\text{CH}_3$) ; 2,35 ppm (q, $J = 7,5\text{Hz}$, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 5,26 ppm (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$) ; 7,35 ppm (m, 5H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$) ; 8,49 ppm (s, 1H, NH)

5-Acétoxyméthyl-2-benzyloxycarbonyl-4-éthyl-3-méthylpyrrole 3



$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_4$

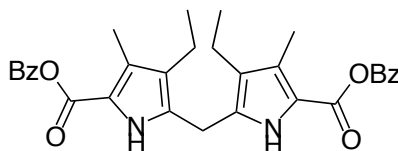
Masse exacte : 315,15

Masse molaire : 315,36

Dans un réacteur de 8 L surmonté d'un réfrigérant sont introduits 2,5 L d'acide acétique puis 101,2 g (393 mmol) de pyrrole **2** et 44 mL (466 mmol) d'anhydride acétique. Le mélange est agité 15 min à température ambiante puis 202,17 g (456 mmol) d'acétate de plomb sont ajoutés et la solution est portée à 80°C et agitée durant 4 h. Le réacteur est vidangé sur une grande quantité de glace, un précipité blanc apparaît. Le produit est laissé dans la glace durant 2 h, puis le précipité est filtré sur fritté. Le solide est lavé à l'heptane jusqu'à décoloration. Le solide obtenu est séché sous cloche à vide. On obtient 117,0 g (371 mmol) d'un solide blanc, soit un rendement de 94 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : 1,05 ppm (t, $J = 7,5\text{ Hz}$, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 2,04 ppm (s, 3H, $-\text{CH}_3$) ; 2,27 ppm (s, 3H, $-\text{CH}_3-\text{COO}-$) ; 2,44 ppm (q, $J = 7,5\text{ Hz}$, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 5,00 ppm (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$) ; 5,28 ppm (s, 2H, $-\text{AcO}-\text{CH}_2-\text{Pyrrole}$) ; 7,35 (m, 5H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$) ; 8,97 ppm (s, 1H, NH)

1,9-Dibenzyloxycarbonyl-3,7-diéthyl-2,8-diméthylldipyrrométhane 4



$\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4$

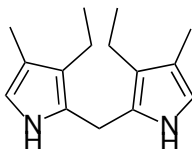
Masse exacte : 498,25

Masse molaire : 498,61

Dans un réacteur de 8 L sont introduits successivement 2 L d'éthanol, 117,0 g (371 mmol) du pyrrole **5**, la solution est agitée et chauffée à 50°C. Une solution de 78 mL (936 mmol) d'acide chlorhydrique dans 100 mL éthanol est ajoutée et le mélange réactionnel est chauffé à reflux durant 3 h. On attend que la température descende à 40°C pour vidanger le réacteur. Le produit est laissé à cristalliser à 4°C durant une nuit. Les cristaux bruns obtenus sont filtrés sur fritté et lavés avec une solution d'éthanol-eau (50-50) à 5°C. Le solide obtenu est séché sous cloche à vide. On obtient 56,0 g (112 mmol) du produit désiré, soit un rendement de 61 %.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, 300 K) : 1,01 ppm (t, J = 7,5 Hz, 6H, -CH₂-CH₃) ; 2,26 ppm (s, 6H, -CH₃) ; 2,39 ppm (q, J = 7,5 Hz, 4H, -CH₂-CH₃) ; 3,78 ppm (s, 2H, Pyr-CH₂-Pyr) ; 5,21 ppm (s, 4H, O-CH₂-Ph) ; 7,29 ppm (m, 10H, -O-CH₂-C₆H₅) ; 9,98 ppm (s, 2H, NH)

3,7-Diéthyl-2,8-diméthylidipyrrométhane **6**



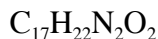
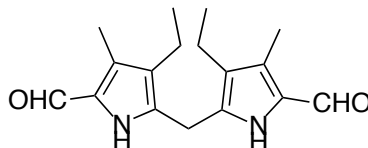
C₁₅H₂₂N₂

Masse exacte : 230,18

Masse molaire : 230,35

Dans un bicol de 2 L, équipé d'un sas vide/azote, d'un septum sont introduits 40,0 g (80 mmol) de dipyrrométhane **4**. Après trois cycles vide/azote, 2,0 g (1,88 mmol) de palladium sur charbon sont placés dans le ballon, ainsi que 2 mL (8,93 mmol) de triéthylamine et 1 L de THF dégazé par bullage d'azote. Le mélange réactionnel est placé sous atmosphère de dihydrogène, puis est agité fortement. L'avancement de la réaction est contrôlé par la mesure du volume de dihydrogène consommé. Une fois la réaction terminée, le catalyseur est filtré sur clarcel. Le filtrat est récupéré et évaporé. Le dipyrrométhane **5** obtenu est mis en jeu dans l'étape suivante. Il est placé dans un ballon tricol muni d'un réfrigérant droit, d'un tube plongeur et d'un bouchon avec 260 mL d'éthanolamine préalablement distillée. La solution est chauffée à 160°C, l'agitation est maintenue 3 h. Le milieu réactionnel est versé à chaud sur une grande quantité de glace dans un erlenmeyer de 5 L. La solution obtenue est ensuite filtrée sur fritté, le solide est lavé abondamment à l'eau. Le produit pâteux obtenu est solubilisé dans 300 mL de DCM, la phase organique est lavée avec trois fois 300 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée par MgSO₄ puis évaporée pour obtenir 13,4 g (58 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre brune, soit un rendement de 73 %.

RMN ¹H (DMSO D₆, 300 MHz, 300 K) : 0,90 ppm (t, J = 7,5 Hz, 6H, -CH₂-CH₃) ; 1,90 ppm (s, 6H, -CH₃) ; 2,28 ppm (q, J = 7,5 Hz, 4H, -CH₂-CH₃) ; 3,63 ppm (s, 2H, Pyr-CH₂-Pyr) ; 6,26 ppm (s, 2H, CH_α) ; 9,67 ppm (s, 2H, NH)

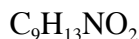
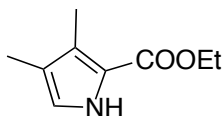
3,7-Diéthyl-1,8-diformyl-2,8-diméthyldipyrrométhane 7

Masse exacte : 286,17

Masse molaire : 286,37

Dans un tricol de 500 mL équipé d'un réfrigérant droit surmonté d'une arrivée de gaz, d'une ampoule d'addition isobare et d'un bouchon sont introduits 6,73 g (29,2 mmol) de dipyrrométhane **6**, le montage est ensuite placé sous atmosphère inerte par trois cycles vide/azote. On ajoute 150 mL de DMF séché sur tamis moléculaire et dégazé 10 min par un bullage d'azote, puis le mélange est agité à l'abri de la lumière et le ballon est placé dans un bain de glace. 22 mL (240 mmol) de trichlorure de phosphoryle sont placés dans l'ampoule d'addition, puis sont additionnés goutte-à-goutte sur 20 min. Une fois l'addition terminée, l'agitation est maintenue durant 4 h à température ambiante. La solution est filtrée sur fritté plus papier filtre, le solide obtenu est dissout dans 850 mL d'eau distillée dans un erlenmeyer. 25 mL d'une solution de soude 10 M sont ajoutés goutte-à-goutte à la solution, l'agitation est maintenue durant une nuit. Le précipité beige obtenu est filtré sur fritté et lavé à l'eau distillée. On obtient 7,34 g (25 mmol) du produit désiré soit un rendement de 86%.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : 1,04 ppm (t, $J = 7,5$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $J = 7,5$ Hz) ; 2,26 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 2,44 ppm (q, $J = 7,5$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 3,92 ppm (s, 2H, $\text{Pyr}-\text{CH}_2-\text{Pyr}$) ; 9,46 ppm (s, 2H, CHO) ; 10,84 ppm (s, 2H, NH)

2-Ethoxycarbonyl-3,4-diméthylpyrrole 8

Masse exacte : 167,09

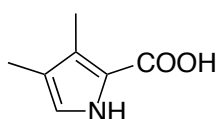
Masse molaire : 167,21

Dans un tricol de 500 mL muni d'un réfrigérant droit surmonté d'une arrivée de gaz, d'une ampoule de coulée isobare et d'un thermomètre plongeant sont introduits 36,4 g (207 mmol) de 2-nitropentane-3-acétate et 25 g (221 mmol) d'isocynoacétate d'éthyle. Le montage est placé sous atmosphère d'azote, on ajoute dans le ballon 170 mL de THF et 65 mL d'isopropanol dégazés par un bullage d'azote. 62,87 g (413 mmol) de diaza-1,3-bicyclo(5,4,0)undéc-7-ène sont placés dans l'ampoule de coulée, le DBU est ajouté goutte-à-goutte, le mélange réactionnel qui ne doit pas

dépasser 30°C est placé dans un bain d'eau froide. L'agitation est maintenue durant 4 h. Le solvant est évaporé et 250 mL d'eau bouillante sont ajoutés sur les résidus. On laisse le mélange revenir à température ambiante puis la solution est placée une nuit à 4°C. Les cristaux obtenus sont filtrés sur verre fritté et lavé à l'eau. Le produit est recristallisé dans le méthanol, lavé à l'eau et séché. On obtient 21,13 g (126 mmol) du produit désiré sous forme d'un solide beige, soit un rendement de 61%.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : 1,33 ppm (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 1,99 ppm (s, 3H, $-\text{CH}_3$) ; 2,25 ppm (s, 3H, $-\text{CH}_3$) ; 4,28 ppm (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 6,63 ppm (s, 1H, H_α) ; 8,85 ppm (s, 1H, NH)

2-Carboxyl-3,4-diméthylpyrrole 9



$\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_2$

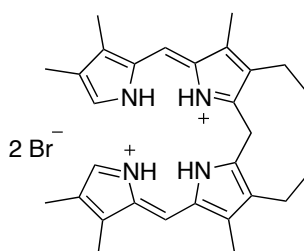
Masse exacte : 139,06

Masse molaire : 139,15

Dans un monocol de 500 mL équipé d'un réfrigérant droit, sont ajoutés successivement 10,61 g (63,5 mmol) de pyrrole 8, 150 mL d'éthanol et 20 mL d'une solution de soude à 12M (10 g dans 20 mL). La solution est agitée et chauffée à reflux durant 4 h. La solution est trempée dans un bain de glace et on ajoute 200 mL d'eau distillée dans le ballon. La solution est amenée à pH 5 par ajout en plusieurs fois de 40 mL d'acide acétique. Le précipité obtenu est filtré sur fritté, lavé à l'eau distillée et séché. On obtient 6,7 g (48 mmol) du produit voulu sous la forme d'une poudre blanche, soit un rendement de 75 %.

RMN ^1H (DMSO D_6 , 300 MHz, 300 K) : 1,90 ppm (s, 3H, $-\text{CH}_3$) ; 2,15 ppm (s, 3H, $-\text{CH}_3$) ; 6,63 ppm (s, 1H, H_α) ; 10,99 ppm (s, 1H, NH)

8,12-Diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-a,c-biladiène 10



$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{Br}_2\text{N}_4$

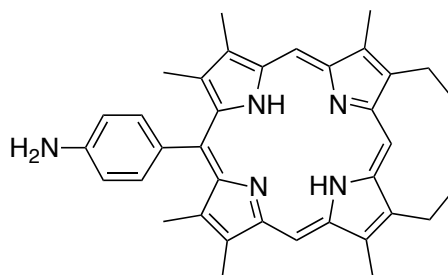
Masse exacte : 600,15

Masse molaire : 602,45

Dans un bicol de 500 mL équipé d'un réfrigérant droit surmonté d'une arrivée de gaz et d'une ampoule de coulée isobare sont introduits 4,74 g (16,6 mmol) de dipyrrométhane **7** et 4,55 g (32,7 mmol) de pyrrole **9**. Le montage est placé sous atmosphère inerte par trois cycles vide/azote. 200 mL d'éthanol dégazé par bullage d'azote sont ajoutés dans le ballon. La solution est chauffée à reflux 10 min. 45 mL (300 mmol) d'acide bromhydrique en solution dans l'acide acétique sont placés dans l'ampoule d'addition. L'acide est ajouté goutte-à-goutte et la solution se colore en rouge. L'avancement de la réaction est contrôlé par spectroscopie UV-visible. Au bout de 10 min, la solution est refroidie par un bain de glace puis est placée dans un erlenmeyer de 2 L avec agitation. On ajoute 1L d'éther à -18°C, puis l'erlenmeyer est placé 2 h dans un bain de glace sans agitation. Le produit est filtré sur fritté, lavé à l'éther froid puis séché sous vide. On obtient 8,57 g (14,2 mmol) de produit attendu sous la forme d'une fine poudre noire, soit un rendement de 87 %.

UV-vis (DCM) : $\lambda_{\max}$ (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 381 (16), 450 (75), 487 (46), 521 (106)

8,12-Diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-*para*(amino)phénylporphyrine **11**



$\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{N}_5$

Masse exacte : 541,32

Masse molaire : 541,73

Dans un bicol de 50 mL équipé d'un bulleur d'azote et d'un réfrigérant droit sont placés successivement 398 mg (0,66 mmol) d'*a,c*-biladiène **10**, 996 mg (6,59 mmol) de *para*-nitrobenzaldéhyde et 5 mL d'éthanol. La solution est agitée et portée à reflux avec un bullage d'azote à l'abri de la lumière. 802 mg (4,66 mmol) d'APTS sont dissouts dans 2 mL d'éthanol, puis additionnés lentement grâce à une pompe péristaltique. L'agitation, le chauffage et le bullage d'azote sont maintenus durant 48 h. L'avancement de la réaction est contrôlé par CCM. La solution est refroidie puis le solvant évaporé. Les résidus sont dissouts dans 300 mL de DCM et la phase organique est lavée trois fois avec 750 mL d'eau distillée, puis séchée sur MgSO_4 et évaporée. Le produit obtenu est chromatographié sur silice avec pour éluant du DCM. La porphyrine nitro est directement mise en jeu dans l'étape de réduction. 173 mg (0,30 mmol) de la porphyrine nitro sont solubilisés dans 5 mL de chloroforme. On ajoute successivement au milieu réactionnel 10 mL d'un mélange $\text{HCl}/\text{Et}_2\text{O}$ à 1 M d' HCl puis 1,04 g (4,60 mmol) de chlorure d'étain dihydraté, l'agitation est maintenue durant 2 h à température ambiante. Le mélange réactionnel est versé sur environ 50 g de glace et la porphyrine est extraite par 200 mL de chloroforme. La phase organique est lavée par

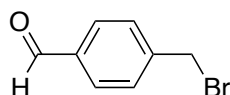
trois fois 200 mL d'une solution saturée de NaHCO_3 , séchée sur MgSO_4 et évaporée. Le produit est purifié par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant un mélange DCM/MeOH (100/5). Le solvant est évaporé et on obtient 137 mg (0,253 mmol) de la porphyrine voulue sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 38% sur deux étapes.

MALDI-TOF : $m/z = 542.04$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; $(\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_{55})^+$ masse exacte calculée : 542,33)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 404 (223), 503 (18), 535 (6), 571 (6), 624 (2).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : -3,26 ppm (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,88 ppm (t, $J = 7,5$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 2,58 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 3,53 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 3,64 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 4,05 ppm (q, $J = 7,5$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 7,05 ppm (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 7,77 ppm (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 9,94 ppm (s, 1H, $\text{H}_{\text{mésO}}$) ; 10,15 ppm (s, 2H, $\text{H}_{\text{mésO}}$)

***Para*-(bromométhyl)benzaldéhyde 12**



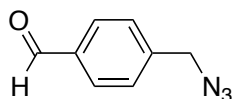
$\text{C}_8\text{H}_7\text{BrO}$

Masse exacte : 197,97

Masse molaire : 199,04

Dans un tricol de 500 mL équipé d'une arrivée de gaz, d'un septum et d'une ampoule d'addition isobare sont introduits 10,1 g (54,62 mmol) de *para*-(bromométhyl)benzonitrile. Le montage est ensuite placé sous azote. On ajoute ensuite 100 mL de toluène distillé. Le milieu réactionnel est refroidi grâce à un bain de glace, puis 66 mL (66 mmol) de DIBAL 1M dans le dichlorométhane sont ajoutés goutte à goutte sur 30 min. L'agitation est maintenue 1 h 30 à température ambiante. 50 mL de THF sont ajoutés puis le mélange réactionnel est refroidi avec un bain de glace. On additionne 40 mL d'acide chlorhydrique 1 M goutte-à-goutte sur 15 min. Après une heure d'agitation à température ambiante on note l'apparition d'un précipité blanc. Le produit est extrait avec 200 mL d'éther, puis la phase organique est lavée avec 200 mL d'eau puis avec 200 mL d'une solution saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO_4 et le solvant est évaporé. On obtient 10,51 g (52,80 mmol) du composé désiré sous la forme d'une huile jaune qui cristallise au congélateur, soit un rendement de 96 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : 4,48 ppm (s, 2H, $\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{Br}$) ; 7,54 ppm (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $\text{H}_{3,5}$) ; 7,86 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $\text{H}_{2,6}$) ; 9,99 ppm (s, 1H, $\text{Ph}-\text{CHO}$)

Para-(azidométhyl)benzaldéhyde 13

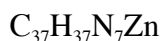
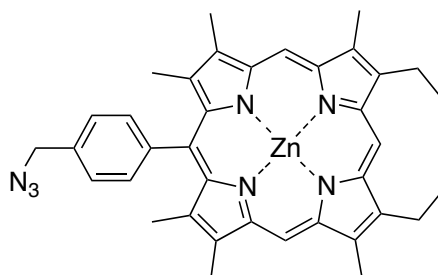
Masse exacte : 161,06

Masse molaire : 161,16

Dans un monocol de 250 mL, on place 10,12 g (50,88 mmol) de *para*-(bromométhyl)benzaldéhyde **12**, 6,73 g (103,5 mmol) d'azoture de sodium et 110 mL de DMSO séché sur tamis moléculaire. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante durant 24 h. On ajoute 100 mL d'eau distillée au mélange puis le produit est extrait avec trois fois 100 mL d'éther. La phase organique est lavée avec trois fois 200 mL d'eau. Le produit est ensuite purifié par une colonne de silice avec comme éluant le toluène. Après séchage sur MgSO_4 et évaporation, on obtient 7,59 g (47,10 mmol) du composé désiré sous la forme d'une huile jaune pâle, soit un rendement de 92 %.

IR : ν (cm^{-1}) 2100 (moyenne, fine, $\nu_{\text{C-N}_3}$) ; 1698 (moyenne, fine, $\nu_{\text{C=O}}$)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : 4,34 ppm (s, 2H, $\text{Ph-CH}_2\text{-N}_3$) ; 7,47 ppm (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $H_{3,5}$) ; 7,88 ppm (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $H_{2,6}$) ; 10,00 ppm (s, 1H, Ph-CHO)

8,12-Diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-*para*(azidométhyl)phénylporphyrine de zinc (II) 14

Masse exacte: 643,24

Masse molaire : 645,15

Dans un tricol de 1 L équipé d'un bulleur d'azote, un réfrigérant droit et un bouchon sont placés successivement 3,06 g (5,11 mmol) d'*a,c*-biladiène **10**, 822 mg (5,11 mmol) de *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13** et 400 mL d'éthanol. La solution est agitée et portée à reflux avec bullage d'azote à l'abri de la lumière. 6,17 g (35,8 mmol) d'APTS sont dissouts dans 100 mL d'éthanol, puis additionnés lentement grâce à une pompe péristaltique. L'agitation, le chauffage et le bullage d'azote sont maintenus durant 48 h. L'avancement de la réaction est contrôlé par CCM. La solution est refroidie puis le solvant évaporé. Les résidus sont dissouts dans 300 mL de DCM et la phase organique est lavée trois fois avec 750 mL d'eau distillée, puis séchée sur MgSO_4 et

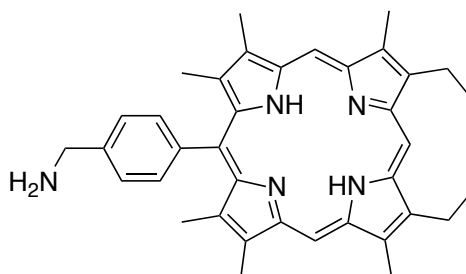
éaporée. Le produit obtenu est purifié par une colonne de silice avec comme éluant un mélange DCM/Méthanol (100/2), la fraction de tête est récupérée. Le solvant est évaporé et le produit est placé dans un ballon de 1 L équipé d'un réfrigérant droit avec 250 mL de chloroforme. 1,11 g (5,0 mmol) d'acétate de zinc ainsi que 2,4 g (30 mmol) d'acétate de sodium sont dissouts dans 100 mL de méthanol et ajoutés à la solution. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux durant 30 min à l'abri de la lumière. La solution est refroidie puis lavée trois fois avec 750 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée sur MgSO_4 puis évaporée. Le solide obtenu est purifié sur colonne de silice avec comme éluant du DCM. On obtient 830 mg (1,28 mmol) de la porphyrine voulue sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 25 %.

MALDI-TOF : $m/z = 643,016$ $[\text{M}]^{++}$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{37}\text{N}_7\text{Zn}$ masse exacte calculée : 643,2402)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 404 (215), 534 (11), 570 (10)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 1,83 ppm (t, $J = 7,4$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 2,40 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 3,48 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 3,57 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 4,00 ppm (q, $J = 7,4$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 4,67 ppm (s, 2H, $-\text{CH}_2-\text{N}_3$) ; 7,66 ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 8,05 ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 9,89 ppm (s, 1H, $H_{\text{mésO}}$) ; 10,04 ppm (s, 2H, $H_{\text{mésO}}$)

8,12-Diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-*para*(aminométhyl)phénylporphyrine 15



$\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{N}_5$

Masse exact : 555,34

Masse molaire : 555,75

Dans un monocol de 250 mL sont placés 50 mL de DCM et 270 mg (0,418 mmol) de la 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-*para*(azidométhyl)phénylporphyrine de zinc (II) **14**. On ajoute 50 mL d'une solution d'acide chlorhydrique 1M et le milieu est agité vigoureusement durant 2 h à l'abri de la lumière. La phase organique est lavée avec trois fois 50 mL d'une solution saturée de NaHCO_3 . La phase organique est séchée sur MgSO_4 et évaporée. On obtient quantitativement la porphyrine base libre. Dans un bicol de 250 mL sont placés successivement 242 mg (0,416 mmol) de la porphyrine base libre, 120 mg (0,530 mmol) de triphénylphosphine, 50 mL de THF et 30 μL d'eau. Le mélange est porté à reflux durant 7 h à l'abri de la lumière. Le solvant est évaporé et les résidus sont repris dans un mélange DCM/MeOH (100/3) et chromatographiés sur alumine. Le

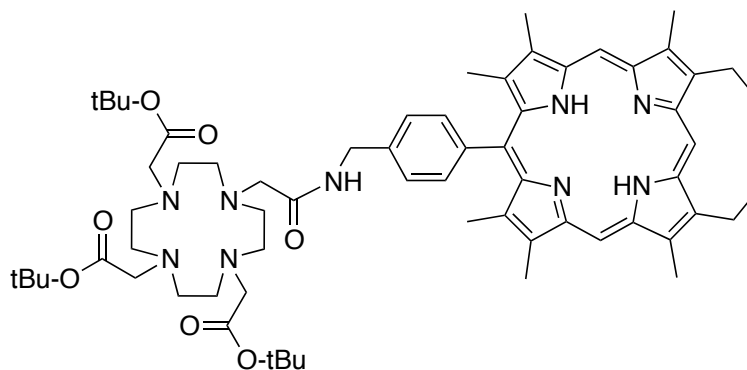
produit désiré est décroché avec un mélange DCM/acide acétique (4/1). La fraction contenant le produit est neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 . La phase organique est séchée et évaporée. On obtient 92 mg (0,165 mmol) de la porphyrine désirée sous la forme d'une poudre brune, soit un rendement de 40 %.

MALDI-TOF : $m/z = 556,163$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{42}\text{N}_5$ masse exacte calculée : 556,3435)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 402 (121), 500 (10), 535 (5), 570 (5), 624 (2)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -3,2 ppm (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,85 ppm (t, $J = 7,4$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 2,43 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 3,50 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 3,61 ppm (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 4,04 ppm (q, $J = 7,4$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 4,22 ppm (s, 2H, $-\text{CH}_2-\text{NH}_2$) ; 7,64 ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 7,98 ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 9,92 ppm (s, 1H, $\text{H}_{\text{mésO}}$) ; 10,14 ppm (s, 2H, $\text{H}_{\text{mésO}}$)

8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(((DO3AtBuAM)N-méthylène)phényl)porphyrine 16



$\text{C}_{65}\text{H}_{91}\text{N}_9\text{O}_7$

Masse exacte : 1109,70

Masse Molaire : 1110,47

Dans un monocol de 100 mL sont ajoutés successivement, 91,0 mg (0,163 mmol) de 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-*para*(aminométhyl)phénylporphyrine **15**, 94,4 mg (0,164 mmol) de DOTA-tris(tBu)ester commercial, 41,0 mg (0,213 mmol) d'hydrochlorure de 1-éthyl-3-(3-diméthyl aminopropyl)carbodiimide (EDC.HCl), 28,7 mg (0,212 mmol) d'hydroxybenzotriazole (HOBt) et 40 mL de DMF. Le milieu réactionnel est agité durant 24 h à température ambiante à l'abri de la lumière. Le solvant est évaporé et les résidus sont repris dans 50 mL de DCM. La phase organique est lavée trois fois à l'eau distillée. Le solvant est évaporé et les résidus sont repris dans un mélange DCM/MeOH (100/10) et chromatographiés sur alumine. Le produit désiré est décroché avec un mélange DCM/acide acétique (4/1). La fraction contenant le produit est neutralisée avec une solution saturée de NaHCO_3 . La phase organique est séchée et évaporée. On obtient 82 mg (0,073 mmol) du produit sous la forme d'une poudre brune, soit un rendement de 45 %.

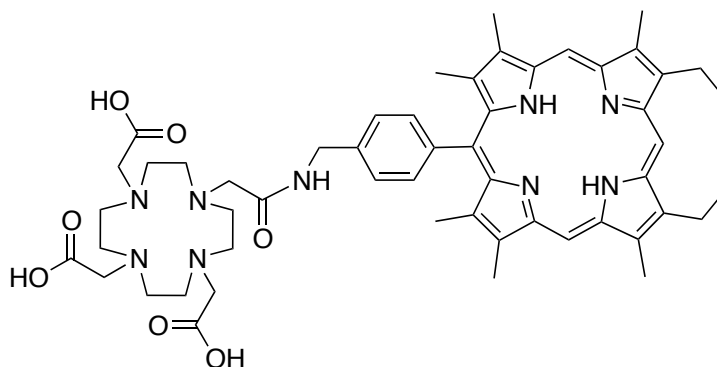
MALDI-TOF : $m/z = 1132,602$ $[M+Na]^+$ ($C_{65}H_{91}N_9O_7Na$ masse exacte calculée : 1132,6939)

HR-ESI : $m/z = 1132,6917$ $[M+Na]^+$ ($C_{65}H_{91}N_9O_7Na$ masse exacte calculée : 1132,6939)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 403 (130), 503 (10), 535 (5), 570 (5), 624 (2)

RMN 1H (DMSO D6, 600 MHz, 400 K) : δ (ppm) -3,16 ppm (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,46 ppm (s, 27H, $-C(CH_3)_3$) ; 1,88 ppm (t, $J = 7,4$ Hz, 6H, $-CH_2-CH_3$) ; 2,43 ppm (s, 6H, $-CH_3$) ; 2,60 ppm (se, 16H, $-N-CH_2-CH_2-N-$) ; 3,22 ppm (s, 6H, $-N-CH_2-COOtBu$) ; 3,32 ppm (s, 2H, $-N-CH_2-CONH-$) ; 3,50 ppm (s, 6H, $-CH_3$) ; 3,63 ppm (s, 6H, $-CH_3$) ; 4,09 ppm (q, $J = 7,4$ Hz, 4H, $-CH_2-CH_3$) ; 4,75 ppm (d, $J = 6,0$ Hz, 2H, $Ar-CH_2-NH-CO$) ; 7,72 ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 7,96 ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 8,71 ppm (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, $Ar-CH_2-NH-CO$) ; 10,02 ppm (s, 1H, H_{meso}) ; 10,18 ppm (s, 2H, H_{meso})

8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(((DO3AAM)N-méthylène)phényl) porphyrine 17



$C_{53}H_{67}N_9O_7$

Masse exacte : 941,52

Masse molaire : 942,16

Dans un ballon monocol de 10 mL sont placés 50,0 mg (0,045 mmol) de la 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(benzylacétamide-N-DOTA-(tris-tert-butylester))porphyrine **16** en solution dans 5 mL de DCM. On ajoute 1 mL d'acide trifluoroacétique dans le milieu réactionnel, la couleur passe du brun au vert. Le mélange est agité 24 h à température ambiante à l'abri de la lumière. Le milieu est évaporé à sec et repris dans 10 mL de DCM, le milieu est de nouveau évaporé. L'opération est répétée quatre fois. Le produit est dissout dans 10 mL d'eau et la solution obtenue est lyophilisée. On obtient 42 mg (0,044 mmol) du produit sous la forme d'une poudre brune, soit un rendement quantitatif.

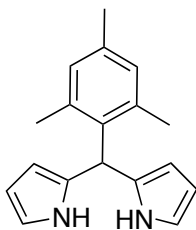
MALDI-TOF : $m/z = 942,399$ $[M+H]^+$ ($C_{53}H_{68}N_9O_7$ masse exacte calculée : 941,5242)

HR-ESI : $m/z = 940,5058$ $[M-H]^-$ ($C_{53}H_{66}N_9O_7$ masse exacte calculée : 940,5091)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) : 403 (30), 503 (5), 535 (3), 570 (3), 624 (2)

RMN 1H (DMSO D6, 600 MHz, 400K) : δ (ppm) 1,88 ppm (t, $J = 7,4$ Hz, 6H, $-CH_2-CH_3$) ; 2,44 ppm (s, 6H, $-CH_3$) ; 3,15 ppm (m, 16H, $-N-CH_2-CH_2-N-$) ; 3,51 ppm (s, 6H, $-CH_3$) ; 3,63 ppm (s, 6H, $-CH_3$) ; 3,71 ppm (s, 4H, $-N-CH_2-COOH$) ; 3,72 ppm (s, 2H, $-N-CH_2-COOH$) ; 3,86 ppm (s, 2H, $-N-CH_2-C=ON-$) ; 4,09 ppm (q, $J = 7,4$ Hz, 4H, $-CH_2-CH_3$) ; 4,76 ppm (d, $J = 6,0$ Hz, 2H, Ar- $CH_2-NH-CO$) ; 7,74 ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 8,00 ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 8,71 ppm (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, Ar- $CH_2-NH-CO$) ; 10,04 ppm (s, 1H, $H_{més}$) ; 10,21 ppm (s, 2H, $H_{més}$)

Mésityldipyrrrométhane 18



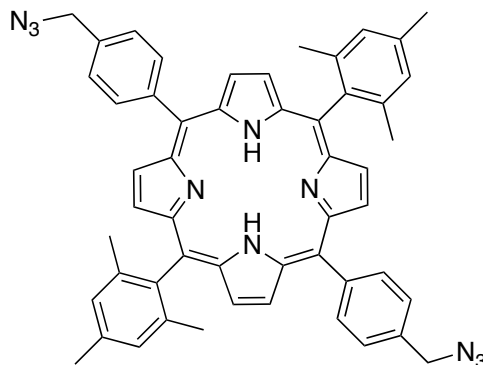
$C_{18}H_{20}N_2$

Masse exacte : 264,163

Masse molaire : 264,365

Dans un tricol de 500 mL équipé d'un réfrigérant droit, d'un bulleur d'azote et d'un septum sont placés 10,0 g (67 mmol) de mésitaldéhyde et 330 mL de pyrrole préalablement distillé. Le montage est placé à l'abri de la lumière et la solution est agitée durant 20 min sous bullage d'azote. On ajoute goutte à goutte 500 μ L (6,7 mmol) d'acide trifluoroacétique et la solution est agitée 1 h à température ambiante. 8,0 g (200 mmol) de soude en poudre sont ajoutés au milieu réactionnel la solution est agitée 2 h à température ambiante. Le brut réactionnel est filtré sur clarcel afin d'éliminer les résidus de soude. Le solvant est évaporé et le solide obtenu est purifié par une colonne de silice avec pour éluant du DCM. La fraction de tête est récupérée. On obtient 10,7 g (40 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre blanche, soit un rendement de 60 %.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 2,05 (s, 6H, Mes- CH_{ortho}) ; 2,15 (s, 3H, Mes- CH_{para}) ; 5,91 (s, 1H, Pyr- CH -Pyr) ; 5,99 (m, 2H, $H_{3,7}$) ; 6,16 (m, 2H, $H_{2,8}$) ; 6,64 (m, 2H, $H_{1,9}$) ; 6,85 (s, 2H, H_{ar}) ; 7,91 (s, 2H, NH)

5,15-Bis(4-(azidométhyl)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 19

$C_{52}H_{44}N_{10}$

Masse exacte : 808,38

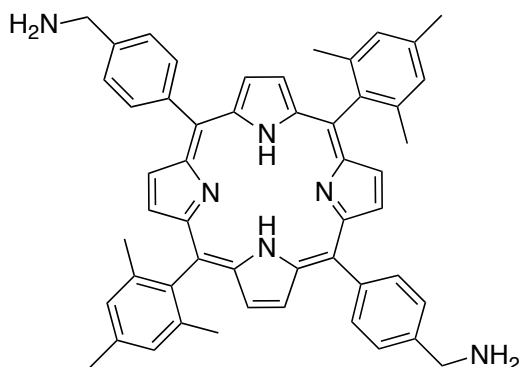
Masse molaire : 808,97

Dans un tricol de 500 mL équipé d'un septum, d'un bulleur d'azote et d'un réfrigérant droit sont introduits 2,5 g (9,45 mmol) de mésityldipyrrrométhane **18**, 1,52 g (9,43 mmol) de *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13** et 300 mL de $CHCl_3$. Le mélange est agité 20 min à l'abri de la lumière, à température ambiante et sous bullage d'azote. On ajoute goutte à goutte 370 μ L (1,14 mmol) de trifluorure de bore étherate et la solution est agitée durant 2h. 1,16 g (4,7 mmol) de *para*-chloranil sont ajoutés au milieu réactionnel qui est agité 1h. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant du DCM. Après recristallisation dans un mélange DCM : MeOH on obtient 526 mg (0,65 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 14 %.

MALDI-TOF : $m/z = 755,203 [M-N_4+3H]^+$ ($C_{52}H_{47}N_4^+$ masse exacte calculée : 755.3862)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L.mol^{-1}.cm^{-1}$) : 416 (422), 514 (18), 547 (6), 590 (4), 646 (3)

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,62 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,83 (s, 12H, Mes- CH_{3ortho}) ; 2,62 (s, 6H, Mes- CH_{3para}) ; 4,73 (s, 4H, Ph- CH_2-N_3) ; 7,27 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,67 (d, J = 8,1 Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,23 (d, J = 8,1 Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,69 (d, J = 4,8 Hz, 4H, H_{β}) ; 8,76 (d, J = 4,8 Hz, 4H, H_{β})

5,15-Bis(4-(aminométhyl)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 20C₅₂H₄₈N₆

Masse exacte : 756,39

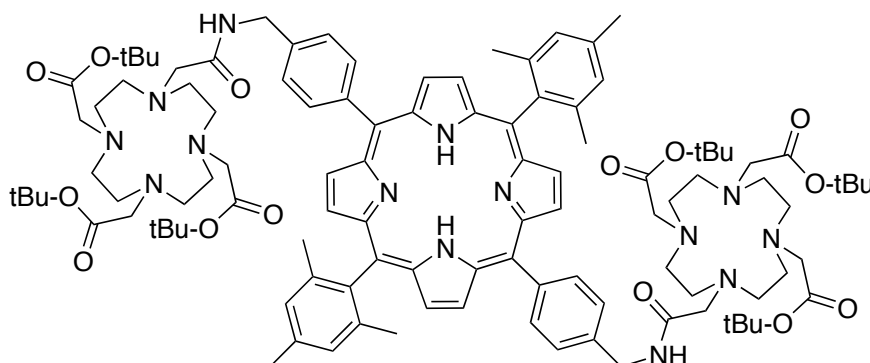
Masse molaire : 756,98

Dans un tricol de 250 mL équipé d'une ampoule isobare, d'un réfrigérant droit et d'un septum le tout sous atmosphère de N₂, sont placés 20 mL de THF préalablement distillé. Le montage est refroidi à -80 °C et on ajoute 104 mg (2,7 mmol) de tétrahydruroaluminat de lithium, une solution de 40 mL de THF contenant 440 mg (543 µmol) de 5,15-bis(4-(azidométhyl)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **19** est ajoutée goutte à goutte. Une fois l'addition terminée on laisse le mélange réactionnel revenir à température ambiante et l'agitation est maintenue durant 2 h. Le montage est refroidi à -80 °C et 7 mL d'eau distillé sont additionnés très lentement afin de neutraliser l'excès de LiAlH₄. Le produit est extrait avec 100 mL de chloroforme et la phase organique est lavée trois fois avec une solution saturée de NaHCO₃, séchée sur MgSO₄ et évaporée. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange DCM : MeOH (100 : 10), le produit est décroché par ajout d'ammoniac dans l'éluant. On obtient 184 mg (243 µmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 44 %.

MALDI-TOF : m/z = 757,400 [M+H]⁺ (C₅₂H₄₉N₆⁺ masse exacte calculée : 757,401)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) (ε x 10⁻³ L.mol⁻¹.cm⁻¹) : 419 (426), 515 (18), 550 (8), 591 (5,5), 648 (4)

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,62 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,62 (s, 12H, CH_{3ortho}) ; 2,61 (s, 6H, CH_{3para}) ; 4,16 (s, 8H, Ph-CH₂-NH₂) ; 7,26 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,63 (d, J = 7,7 Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,16 (d, J = 7,7 Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,66 (d, J = 4,8 Hz, 4H, H_β) ; 8,82 (d, J = 4,8 Hz, 4H, H_β)

10,15-Bis(((DO3AtBuAM)-N-méthylène)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 21

$C_{108}H_{148}N_{14}O_{14}$

Masse exacte : 1865,13

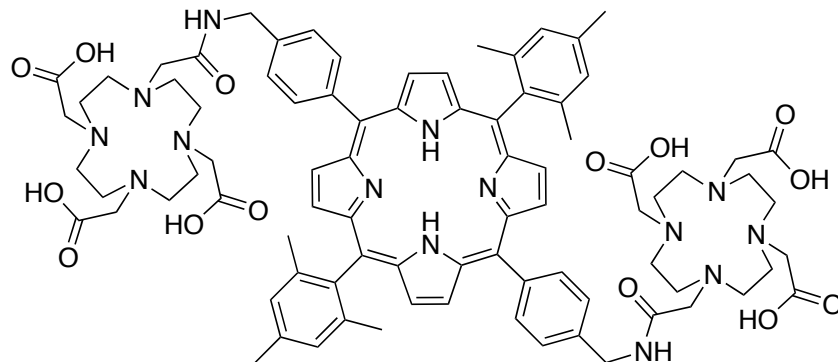
Masse Molaire : 1866,42

Dans un monocol de 50 mL sont placés 97 mg (128 μ mol) de 5,15-bis(4-(aminométhyl)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **20**, 12 mL de $CHCl_3$ et 201 mg (246 μ mol) de DOTA(tris-tBu)(NHS), le milieu est agité durant 3 h à température ambiante. La phase organique est lavée avec une solution d'acide citrique (pH = 5) puis avec une solution de $NaHCO_3$ saturée. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ et évaporée. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange $CHCl_3$: MeOH (100 : 5). On obtient 104 mg (55 μ mol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 44 %.

HR-MS ESI : $m/z = 955,5543 [M+2Na]^{2+}$ ($C_{108}H_{148}N_{14}O_{14}Na_2^{2+}$ masse exacte calculée : 955,5542)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L.mol^{-1}.cm^{-1}$) : 418 (340), 516 (12), 548 (5), 591 (3), 646 (2)

RMN 1H (DMSO D_6 , 500 MHz, 400 K) : δ (ppm) -2,46 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,43 (s, 54, $O-C(CH_3)_3$) ; 1,81 (s, 12H, CH_{3ortho}) ; 2,61 (s, 6H, CH_{3para}) ; 2,64 (se, 32H, $N-CH_2-CH_2-N$) ; 3,22 (se, 12H, $-N-CH_2-COOtBu$) ; 3,31 (s, 4H, $-N-CH_2-CONH-$) ; 4,73 (d, $J = 5,7$ Hz, 4H, $Ph-CH_2-NHCO-$) ; 7,26 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,75 (d, $J = 7,9$ Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,14 (d, $J = 7,9$ Hz, 8H, H_{ar}) ; 8,61 (masqué, t, 2H, $-CONH-$) ; 8,61 (d, $J = 4,7$ Hz, 4H, H_{β}) ; 8,76 (d, $J = 4,7$ Hz, 4H, H_{β})

10,15-Bis((DO3AAM)-N-méthylène)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 22
 $C_{84}H_{100}N_{14}O_{14}$

Masse exacte : 1528,754

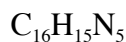
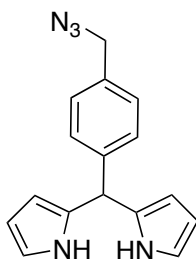
Masse molaire : 1529,778

Dans un monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 50 mg (26 μ mol) de 10,15-bis((DO3AtBuAM)-N-méthylène)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **21** et 5 mL de DCM. Le mélange est agité et on ajoute goutte à goutte 1 mL de TFA, le milieu est agité 24 h à l'abri de la lumière et à température ambiante. Le milieu est évaporé à sec et repris dans 50 mL de DCM et évaporé à sec. Cette opération est répétée quatre fois afin d'éliminer tous les sous-produits volatils. On obtient 39 mg (25,4 μ mol) du produit désiré sous la forme d'une poudre bleu-verte soit un rendement de 98 %.

MALDI-TOF : $m/z = 765,381 [M+2H]^{2+}$ ($C_{84}H_{102}N_{14}O_{14}^{2+}$ masse exacte calculée : 765,384)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L.mol^{-1}.cm^{-1}$) : 416 (140), 517 (10), 552 (5), 595 (4), 649 (3)

RMN 1H (DMSO D6, 500 MHz, 400 K) : δ (ppm) 1,82 (s, 12H, Mes- CH_{3ortho}) ; 2,62 (s, 6H, Mes- CH_{3para}) ; 3,14 (se, 32H, N- CH_2-CH_2-N) ; 3,71 (se, 12H, -N- CH_2-COOH) ; 3,84 (s, 4H, -N- $CH_2-CONH-$) ; 4,75 (d, $J = 4,2$ Hz, 4H, Ph- $CH_2-NHCO-$) ; 7,35 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,74 (d, $J = 7,9$ Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,17 (d, $J = 7,9$ Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,63 (d, $J = 4,5$ Hz, 4H, H_{β}) ; 8,63 (tm, 2H, -CONH-) ; 8,77 (d, $J = 4,5$ Hz, 4H, H_{β})

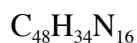
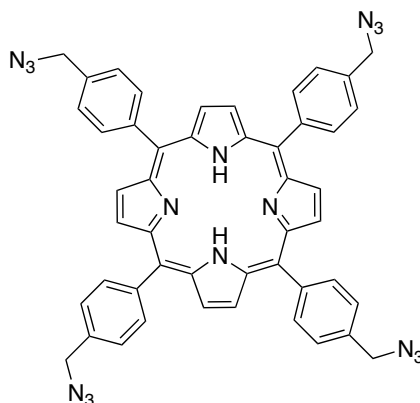
4-Azidométhyldipyrrométhane 23

Masse exacte : 277,133

Masse molaire : 277,324

Dans un tricol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit, d'un bulleur d'azote et d'un septum sont placés 1,16 g (10 mmol) de *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13** et 40 mL de pyrrole préalablement distillé. Le montage est placé à l'abri de la lumière et la solution est agitée durant 15 min sous bullage d'azote. On ajoute goutte à goutte 250 μL (3,35 mmol) d'acide trifluoroacétique et la solution est agitée 12 h à température ambiante. 1,2 g (30 mmol) de soude en poudre sont ajoutés au milieu réactionnel la solution est agitée 2 h à température ambiante. Le brut réactionnel est filtré sur clarcel afin d'éliminer les résidus de soude. Le solvant est évaporé et le solide obtenu est purifié par une colonne de silice avec pour éluant du DCM. La fraction de tête est récupérée. Le solvant est évaporé et on obtient 2,28 g (8,2 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre blanche, soit un rendement de 82 %.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 4,13 (s, 3H, $\text{Ph-CH}_2\text{-N}_3$) ; 5,47 (s, 1H, Pyr-CH-Pyr) ; 5,89 (m, 2H, H_{3-7}) ; 6,14 (m, 2H, H_{2-8}) ; 6,67 (m, 2H, H_{1-9}) ; 7,21 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 7,26 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, H_{ar}) ; 7,90 (s, 2H, NH)

5,10,15,20-Tétrakis(4-(azidométhyl)phényl)porphyrine 24

Masse exacte : 834,315

Masse molaire : 834,891

Voie A :

Dans un tricol de 500 mL équipé d'un septum, d'un bulleur d'azote et d'un réfrigérant droit sont introduits 1,32 g (8,19 mmol) de *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13**, 2,28 g (8,22 mmol) de 4-azidométhyldipyrrométhane **23** et 280 mL de CHCl_3 . Le mélange est agité 15 min à l'abri de la lumière, à température ambiante et sous bullage d'azote. On ajoute goutte à goutte 232 μL (2,6 mmol) de trifluorure de bore étherate et la solution est agitée durant 2 h 30. 2,02 g (8,21 mmol) de *para*-chloranil sont ajoutés au milieu réactionnel qui est agité 2 h. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant du DCM. Après recristallisation dans un mélange DCM : MeOH on obtient 1,10 g (1,32 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 32 %.

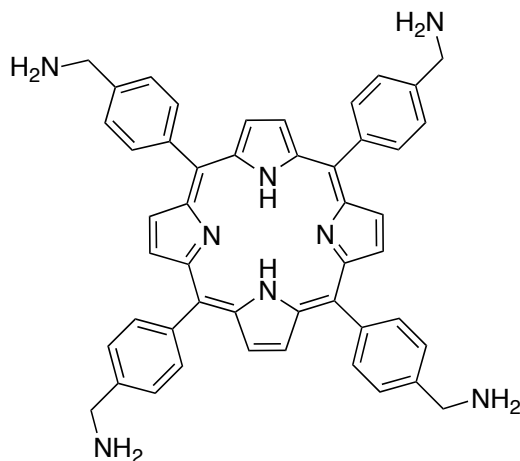
Voie B :

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont ajoutés 363 mg (2,25 mmol) de *para*-(azidométhyl)benzaldéhyde **13**, 25 mL d'acide propionique ainsi que 140 μL (2,00 mmol) de pyrrole préalablement distillé. Le montage est chauffé à reflux à l'abri de la lumière durant 2 h 30. Le milieu réactionnel est refroidi par un bain de glace et on ajoute lentement 80 mL d'une solution de MeOH : ammoniacale (50 : 50) et on laisse le produit précipité durant 1 h dans la glace. Le produit est filtré sur fritté. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant du DCM. Après recristallisation dans un mélange DCM : MeOH, on obtient 100 mg (120 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 24 %.

MALDI-TOF : $m/z = 835,290$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{48}\text{H}_{35}\text{N}_{16}^+$ masse exacte calculée : 835,323)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 416 (520), 514 (20), 549 (10), 588 (6), 646 (5)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,76 (s, 2H, NH_{porph}) ; 4,73 (s 8H, $\text{Ph-CH}_2\text{-N}_3$) ; 7,70 (d, $J = 8,0$ Hz, 8H, H_{ar}) ; 8,17 (d, $J = 8,0$ Hz, 8H, H_{ar}) ; 8,85 (s, 8H, H_{β})

5,10,15,20-Tétrakis(4-(aminométhyl)phényl)porphyrine 25
 $C_{48}H_{42}N_8$

Masse exacte : 730,353

Masse molaire : 730,901

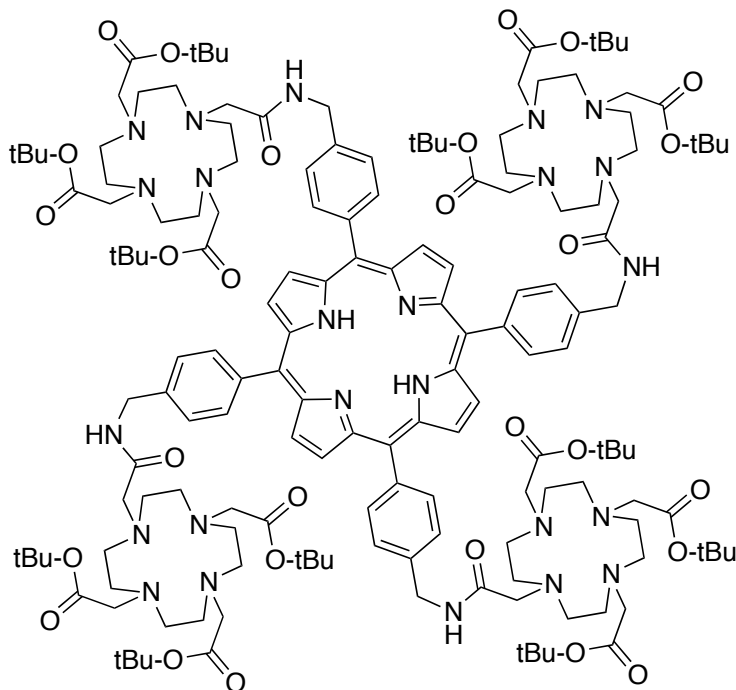
Dans un tricol de 250 mL équipé d'une ampoule isobare, d'un réfrigérant droit et d'un septum le tout sous atmosphère de N_2 , sont placés 20 mL de THF préalablement distillé. Le montage est refroidi à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ et on ajoute 130 mg (3,5 mmol) de tétrahydruroaluminat de lithium, une solution de 40 mL de THF contenant 250 mg (300 μmol) de 5,10,15,20-tétrakis(4-(azidométhyl)phényl)porphyrine **24** est ajoutée goutte à goutte. Une fois l'addition terminée on laisse le mélange réactionnel revenir à température ambiante et l'agitation est maintenue durant 2 h. Le montage est refroidi à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ et 8 mL d'eau distillée sont additionnés très lentement afin de neutraliser l'excès de $LiAlH_4$. Le produit est extrait avec 100 mL de chloroforme et la phase organique est lavée trois fois avec une solution saturée de $NaHCO_3$. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ et évaporée et on obtient 155 mg (212 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 70 %.

MALDI-TOF : $m/z = 731,492 [M+H]^+$ ($C_{48}H_{43}N_8^+$ masse exacte calculée : 731,3611)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 418 (316), 514 (12), 549 (6), 588 (4), 648 (3)

RMN ^1H (Acide Acétique D_4 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 4,75 (s, 8H, $\text{Ph-CH}_2\text{-NH}_2$) ; 8,16 (d, $J = 7,8 \text{ Hz}$, 8H, H_{ar}) ; 8,64 (d, $J = 7,8 \text{ Hz}$, 8H, H_{ar}) ; 8,94 (s, 8H, H_{β})

RMN ^1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,76 (s, 2H, NH_{porph}) ; 4,24 (s, 8H, $\text{Ph-CH}_2\text{-NH}_2$) ; 7,70 (d, 8H, $J = 8,0 \text{ Hz}$, H_{ar}) ; 8,17 (d, 8H, $J = 8,0 \text{ Hz}$, H_{ar}) ; 8,85 (s, 8H, H_{β})

5,10,15,20-Tétrakis((DO3AtBuAM)-N-méthylène)phényl)porphyrine 26
 $C_{160}H_{242}N_{24}O_{28}$

Masse exacte : 2947,83

Masse molaire : 2949,78

Dans un monocol de 50 mL sont placés 28 mg (38 μ mol) de 5,10,15,20-tétrakis(4-(aminométhyl)phényl)porphyrine **25**, 10 mL d'un mélange Chloroforme : MeOH (9 : 1) et 250 mg (306 μ mol) de DOTA(tris-tBu)(NHS), le milieu est agité durant 3 h à température ambiante. La phase organique est lavée avec une solution d'acide citrique (pH = 5) puis avec une solution de NaHCO₃ saturée. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et évaporée. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange CHCl₃ : MeOH (100 : 5). On obtient 29 mg (9,8 μ mol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 25 %.

MALDI-TOF : $m/z = 2970,329$ [M+Na]⁺ ($C_{160}H_{242}N_{24}O_{28}Na^+$ masse exacte calculée : 2970,814)

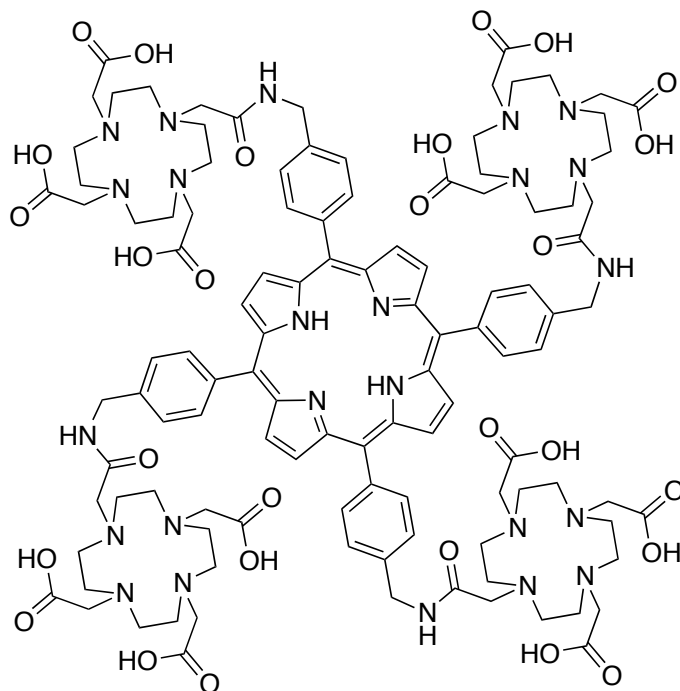
HR-MS ESI : $m/z = 1005,5921$ [M+3Na]³⁺ ($C_{160}H_{242}N_{24}O_{28}Na_3^{3+}$ masse exacte calculée : 1005,5976)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 416 (260), 516 (10), 551 (5), 592 (3), 644 (2,5)

RMN ¹H (DMSO D6, 500 MHz, 400 K) : δ (ppm) -2,63 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,46 (s 108H, O-C(CH₃)₃) ; 2,70 (se, 64H, N-CH₂-CH₂-N) ; 3,28 (se, 24H, -N-CH₂-COOtBu) ; 3,40 (se, 8H, -N-CH₂-CONH-) ; 4,76 (d, J = 5,7 Hz, 8H, Ph-CH₂-NHCO-) ; 7,75 (d, J = 7,6 Hz, 8H, H_{ar}) ; 8,15 (d, J = 7,6 Hz, 8H, H_{ar}) ; 8,65 (te, 4H, -CONH-) ; 8,80 (s, 8H, H _{β})

Analyse élémentaire : C (52,88 %), H (6,85 %), N (8,66 %), (analyse calculée : $C_{160}H_{242}N_{24}O_{28}$, 11 CH_2Cl_2 : C (52,73 %), H (7,26 %), N (8,24 %))

5,10,15,20-Tétrakis((DO3AAM)-N-méthylène)phényl)porphyrine **27**



$C_{112}H_{146}N_{24}O_{28}$

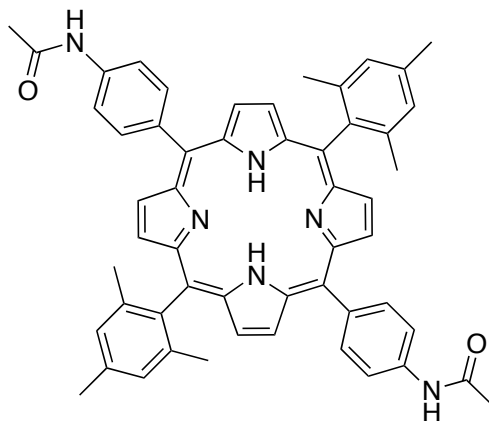
Masse exacte : 2275,07

Mass molaire : 2276,50

Dans un monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 70 mg (23 μ mol) de 5,10,15,20-tétrakis((DO3AtBuAM)-N-méthylène)phényl)porphyrine **27** et 5 mL de DCM. Le mélange est agité et on ajoute goutte à goutte 1 mL de TFA, le milieu est agité 24 h à l'abri de la lumière et à température ambiante. Le milieu est évaporé à sec et repris dans 50 mL de DCM et évaporé à sec. Cette opération est répétée quatre fois afin d'éliminer tous les sous-produits volatils. On obtient 52 mg (22,8 μ mol) du produit désiré sous la forme d'une poudre bleu-verte soit un rendement de 99 %.

RMN 1H (DMSO D_6 , 500 MHz, 400 K) : δ (ppm) 3,17 (m, 64H, $N-CH_2-CH_2-N$) ; 3,72 (s, 16H, $-N-CH_2-COOH$) ; 3,76 (s, 8H, $-N-CH_2-COOH$) ; 3,88 (s, 8H, $-N-CH_2-CONH-$) ; 4,75 (de, 8H, $Ph-CH_2-NHCO-$) ; 7,77 (d, $J = 7,6$ Hz, 8H, H_{ar}) ; 8,18 (d, $J = 7,6$ Hz, 8H, H_{ar}) ; 8,71 (te, 4H, $-CONH-$) ; 8,82 (s, 8H, H_{β})

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) : 430 (95), 519 (17), 557 (15), 591 (10), 650 (9)

5,15-Bis(4-(acétamido)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 28

Masse exacte : 812,38

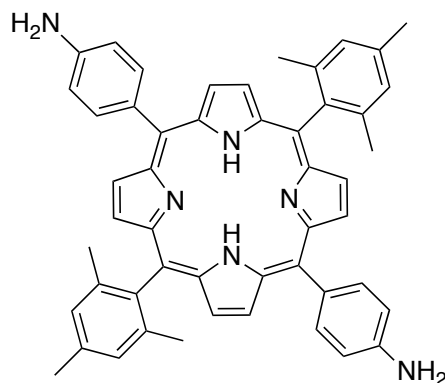
Masse molaire : 813,00

Dans un tricol de 4 L équipé d'un septum, d'un bulleur d'azote et d'un réfrigérant droit sont introduits 5,00 g (18,9 mmol) de mésityldipyrrrométhane **18**, 3,08 g (18,9 mmol) de 4-acétamidobenzaldéhyde et 2 L de CHCl_3 . Le mélange est agité 20 min à l'abri de la lumière, à température ambiante et sous bullage d'azote. On ajoute goutte à goutte 1,5 mL (5,7 mmol) de trifluorure de bore étherate et la solution est agitée durant 1 h. 4,65 g (18,9 mmol) de *para*-chloranil sont ajoutés au milieu réactionnel qui est agité 2 h. Le solvant est évaporé et le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange DCM : MeOH (100 : 3). Après recristallisation dans un mélange DCM : heptane on obtient 980 mg (1,2 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 13 %.

MALDI-TOF : $m/z = 813,388$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{54}\text{H}_{49}\text{N}_6\text{O}_2^+$ masse exacte calculée : 813.3912)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 420 (440), 516 (18), 551 (8), 591 (5,5), 649 (4,7)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,64 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,82 (s, 12H, $\text{Mes-CH}_{3\text{ortho}}$) ; 2,36 (s, 6H, NH-CO-CH_3) ; 2,61 (s, 6H, $\text{Mes-CH}_{3\text{para}}$) ; 7,26 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,48 (s, 2H, $-\text{CONH}-$) ; 7,88 (d, $J = 8,3 \text{ Hz}$, 4H, H_{ar}) ; 8,17 (d, $J = 8,3 \text{ Hz}$, 4H, H_{ar}) ; 8,66 (d, $J = 4,8 \text{ Hz}$, 4H, H_{β}) ; 8,78 (d, $J = 4,8 \text{ Hz}$, 4H, H_{β})

5,15-Bis(4-(amino)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 29

$C_{50}H_{44}N_6$

Masse exacte : 728,36

Masse molaire : 728,92

Dans un monocol de 250 mL équipé d'un réfrigérant droit sont introduits 980 mg (1,20 mmol) de 5,15-bis(4-(acétamido)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **28** et 100 mL d'éthanol. On ajoute 1,02 g (5,3 mmol) d'APTS et la solution est chauffée à reflux durant 24h. Le mélange réactionnel est refroidit puis versé dans un erlen meyer contenant 100 mL de chloroforme et 100 mL d'une solution saturée de $NaHCO_3$ le mélange est fortement agité. La phase organique est ensuite lavée avec trois fois 100 mL d'eau distillée, séchée sur $MgSO_4$ et évaporée. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange DCM : MeOH (100 : 3). Après recristallisation dans un mélange DCM : heptane on obtient 730 mg (1,00 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 83 %.

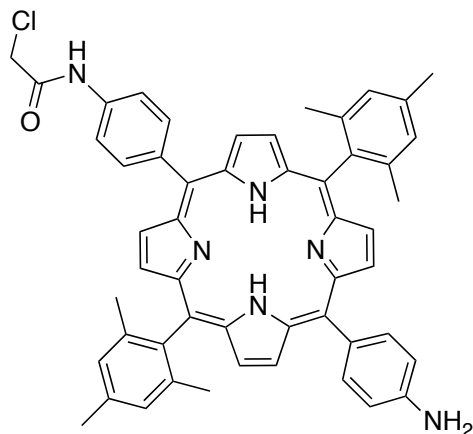
MALDI-TOF : $m/z = 729,161 [M+H]^+$ ($C_{50}H_{45}N_6^+$ masse exacte calculée : 729,3706)

HR-MS ESI : $m/z = 751,35352 [M+Na]^+$ ($C_{50}H_{44}N_6Na^+$ masse exacte calculée : 751,35197)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L.mol^{-1}.cm^{-1}$) : 422 (311), 518 (14), 555 (10), 594 (5), 652 (5)

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,60 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,82 (s, 12H, Mes- CH_{3ortho}) ; 2,61 (s, 6H, Mes- CH_{3para}) ; 4,01 (s, 4H, Ph- NH_2) ; 7,05 (d, $J = 8,4$ Hz, 4H, H_{ar}) ; 7,26 (s, 4H, H_{Mes}) ; 8,00 (d, $J = 8,4$ Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,64 (d, $J = 4,8$ Hz, 4H, H_{β}) ; 8,85 (d, $J = 4,8$ Hz, 4H, H_{β})

Analyse élémentaire : C (67,36 %), H (7,19 %), N (9,65 %) (analyse calculée pour $C_{50}H_{44}N_6$, $CHCl_3$: C (67,63 %), H (6,83 %), N (9,98 %))

5-(4-(Amino)phényl)-15-(4-(chlorométhène)amidophényl)-10,20-dimésitylporphyrine 30
 $C_{52}H_{45}ClN_6O$

Masse exacte : 804,334

Masse molaire : 805,406

Dans un monocol de 250 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 175 mg (240 μ mol) de 5,15-bis(4-(amino)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **29**, 50 mL de DCM et 40 μ L (241 μ mol) de DIPEA. Le milieu est agité à température ambiante et 18 μ L (230 μ mol) de chlorure de chloroacétyle sont additionnés goutte à goutte. L'agitation est maintenue durant 2 h. Le milieu est évaporé et le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange $CHCl_3$: heptane : EtOAc (50 : 30 : 20). Trois produits statistiques sont isolés : les produits de mono- et de di-addition sur les fonctions amines primaires ainsi que le produit de départ. On obtient 64 mg (79 μ mol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 33 %.

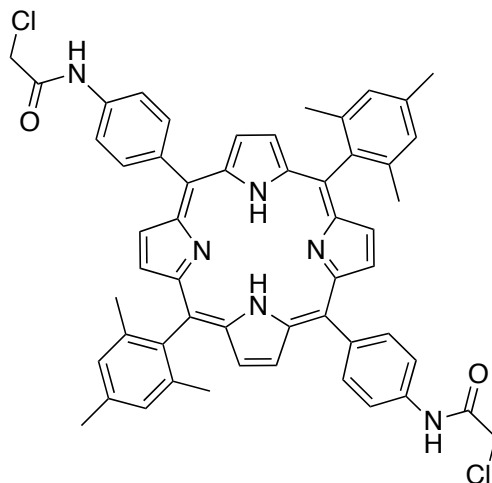
MALDI-TOF : $m/z = 805,678 [M+H]^+$ ($C_{52}H_{46}ClN_6O^+$ masse exacte calculée : 805,3416)

HR-MS ESI : $m/z = 805,3448 [M+H]^+$ ($C_{52}H_{46}ClN_6O^+$ masse exacte calculée : 805,3416)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L.mol^{-1}.cm^{-1}$) : 420 (345), 517 (16), 553 (10), 592 (6), 650 (5)

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,61 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,82 (s, 12H, Mes- CH_{3ortho}) ; 2,61 (s, 6H, Mes- CH_{3para}) ; 4,00 (s, 2H, Ph- NH_2) ; 4,34 (s, 2H, -CONH- CH_2 -Cl) ; 7,04 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, -Ph- NH_2) ; 7,26 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,92 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, -Ph-CONH- CH_2 -Cl) ; 7,97 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, -Ph- NH_2) ; 8,20 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, -Ph-CONH- CH_2 -Cl) ; 8,56 (s, 1H, -Ph-CONH- NH_2 -Cl) ; 8,66 (m, 4H, H_β) ; 8,76 (d, $J = 4,7$ Hz, 2H, H_β) ; 8,86 (d, $J = 4,7$ Hz, 2H, H_β)

Analyse élémentaire : C (76,76 %), H (6,72 %), N (9,31 %), (analyse calculée pour $C_{52}H_{45}ClN_6O$, 0,2 CH_2Cl_2 , 0,8 C_7H_{16} : C (76,92 %), H (6,50 %), N (9,31 %))

5-15-Bis(4-(chlorométhène)amidophényl)-10,20-dimésitylporphyrine 31

$C_{54}H_{46}Cl_2N_6O_2$

Masse exacte : 880,306

Masse molaire: 881,888

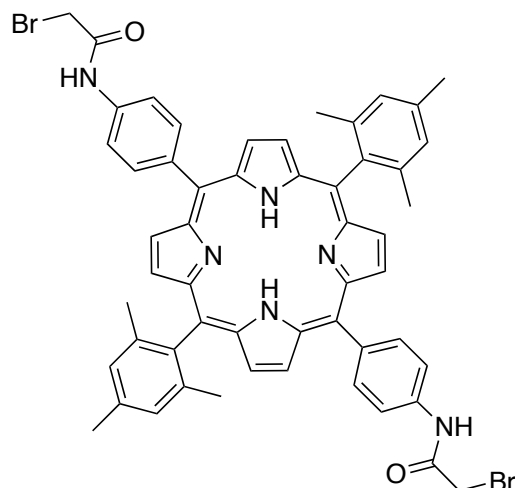
Ce composé est un sous-produit de la réaction précédente. On obtient 67 mg (76 μ mol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 32 %.

MALDI-TOF : $m/z = 880,261$ $[M]^+$ ($C_{54}H_{46}Cl_2N_6O_2^+$ masse exacte calculée : 880,3059)

HR-MS ESI : $m/z = 903,2991$ $[M+Na]^+$ ($C_{54}H_{46}Cl_2NaN_6O_2^+$ masse exacte calculée : 903,2952)

UV-vis (DCM) : $\lambda_{\max}$ (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 419 (350), 515 (14), 551 (6), 592 (4), 647 (3)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,64 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,82 (s, 12H, $\text{Mes-CH}_{3\text{ortho}}$) ; 2,61 (s, 6H, $\text{Mes-CH}_{3\text{para}}$) ; 4,35 (s, 4H, $-\text{CONH-CH}_2\text{-Cl}$) ; 7,27 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,94 (d, $J = 8,5$ Hz, 4H, $-\text{Ph-CONH-CH}_2\text{-Cl}$) ; 8,20 (d, $J = 8,5$ Hz, 4H, $-\text{Ph-CONH-CH}_2\text{-Cl}$) ; 8,57 (s, 2H, $-\text{Ph-CONH-NH}_2\text{-Cl}$) ; 8,68 (d, $J = 4,7$ Hz, 4H, H_β) ; 8,78 (d, $J = 4,7$ Hz, 4H, H_β)

5-15-Bis(4-(bromométhène)amidophényl)-10,20-dimésitylporphyrine 32

Masse exacte : 968,205

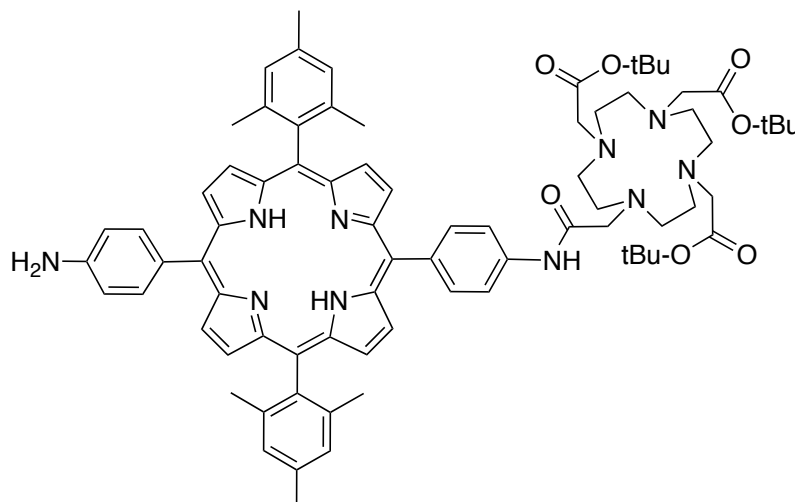
Masse molaire : 970,790

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 560 mg (767 μmol) de 5,15-bis(4-(amino)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **29**, 70 mL de DCM et 125 μL (756 μmol) de DIPEA. Le milieu est agité à température ambiante et 67 μL (766 μmol) de bromure de bromoacétyle sont additionnés goutte à goutte. L'agitation est maintenue durant 1 h à 0°C. Le milieu est évaporé et le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange CHCl_3 : heptane : EtOAc (50 : 30 : 20). On obtient 241 mg (248 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 65 %.

MALDI-TOF : $m/z = 969,412$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{54}\text{H}_{47}\text{Br}_2\text{N}_6\text{O}_2^+$ masse exacte calculée : 969,213)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 419 (355), 517 (14), 555 (10), 593 (5), 650 (4)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,64 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,82 (s, 12H, $\text{Mes-CH}_{3\text{ortho}}$) ; 2,61 (s, 6H, $\text{Mes-CH}_{3\text{para}}$) ; 4,34 (s, 4H, $-\text{CONH-CH}_2\text{-Cl}$) ; 7,26 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,91 (d, $J = 8,7 \text{ Hz}$, 4H, $-\text{Ph-CONH-CH}_2\text{-Cl}$) ; 8,20 (d, $J = 8,7 \text{ Hz}$, 4H, $-\text{Ph-CONH-CH}_2\text{-Cl}$) ; 8,56 (s, 2H, $-\text{Ph-CONH-NH}_2\text{-Cl}$) ; 8,66 (d, $J = 4,7 \text{ Hz}$, 4H, H_β) ; 8,77 (d, $J = 4,7 \text{ Hz}$, 4H, H_β)

5-(4-(Amino)phényl)-15-(N-(DO3AtBuAM)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 33

$C_{78}H_{94}N_{10}O_7$

Masse exacte : 1282,731

Masse molaire : 1283,644

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont ajoutés 144 mg (180 μ mol) de 5-(4-(amino)phényl)-15-(4-(chlorométhène)amidophényl)-10,20-dimésitylporphyrine **30**, 92 mg (180 μ mol) de DO3AtBu, 80 mg (580 μ mol) de K_2CO_3 et 20 mL de DMF. Le mélange est agité à température ambiante durant 2 h. Le milieu est filtré sur papier et évaporé, le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange DCM : EtOAc : MeOH (80 : 10 : 10). On obtient 208 mg (162 μ mol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 90%.

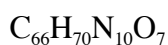
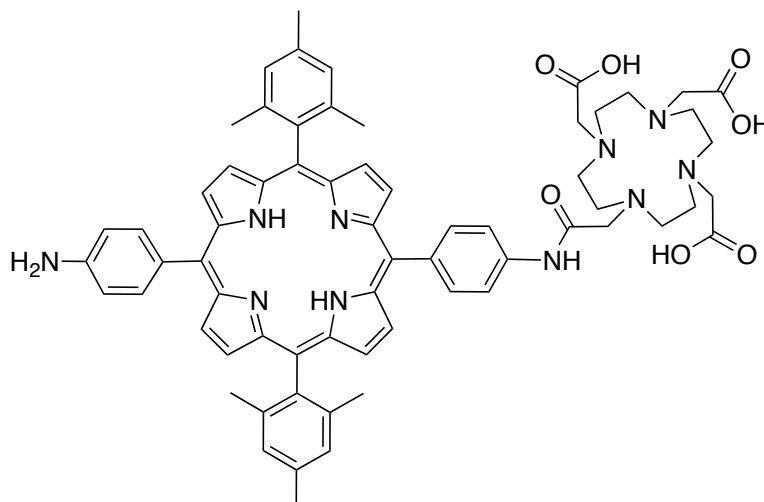
MALDI-TOF : $m/z = 1305,615 [M+Na]^+$ ($C_{78}H_{94}N_{10}O_7Na^+$ masse exacte calculée : 1305,7205)

HR-MS ESI : $m/z = 1305,7181 [M+Na]^+$ ($C_{78}H_{94}N_{10}O_7Na^+$ masse exacte calculée : 1305,7199)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L.mol^{-1}.cm^{-1}$) : 421 (290), 518 (13), 555 (7), 593 (4), 651 (3,5)

RMN 1H (DMSO D6, 500 MHz, 400 K) : δ (ppm) -2,40 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,41 (s, 9H, $O-C(CH_3)_3$) ; 1,47 (s, 18H, $O-C(CH_3)_3$) ; 1,82 (s, 12H, Mes- CH_{3ortho}) ; 2,61 (s, 6H, Mes- CH_{3para}) ; 2,4-2,8 (se, 16H, N- CH_2-CH_2-N -) ; 3,27 (s, 2H, N- $CH_2-COOtBu$) ; 3,31 (s, 4H, N- $CH_2-COOtBu$) ; 3,42 (s, 2H, N- CH_2-CONH) ; 5,14 (s, 2H, Ph- NH_2) ; 7,04 (d, $J = 8,3Hz$, 2H, -Ph- NH_2) ; 7,33 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,85 (d, $J = 8,3Hz$, 2H, -Ph- NH_2) ; 8,04 (d, $J = 8,5Hz$, 2H, -Ph- $NHCO$ -) ; 8,15 (d, $J = 8,5Hz$, 2H, -Ph- $NHCO$ -) ; 8,59 (d, $J = 4,8Hz$, 4H, H_β) ; 8,77 (d, $J = 4,8Hz$, 2H, H_β) ; 8,88 (d, $J = 4,8Hz$, 2H, H_β) ; 10,24 (s, 1H, -Ph- $NHCO$ -)

Analyse élémentaire : C (67,36 %), H (7,19 %), N (9,65 %), (analyse calculée : $C_{78}H_{94}N_{10}O_7$, 1,5 CH_2Cl_2 : C (67,67 %), H (6,93 %), N (9,93 %))

5-(4-(Amino)phényl)-15-(N-(DO3AAM)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 34

Masse exacte : 1114,54

Masse molaire : 1115,32

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 100 mg (78 μmol) de 5-(4-(amino)phényl)-15-(N-(DO3AtBuAM)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **33** et 10 mL de DCM. Le mélange est agité et on ajoute goutte à goutte 2 mL de TFA, le milieu est agité 24 h à l'abri de la lumière et à température ambiante. Le milieu est évaporé à sec et repris dans 50 mL de DCM et de nouveau évaporé. Cette opération est répétée quatre fois afin d'éliminer tous les sous-produits volatils. On obtient 86 mg (77 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre bleu-verte soit un rendement de 99 %.

MALDI-TOF : $m/z = 1115,501$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{71}\text{N}_{10}\text{O}_7^+$ masse exacte calculée : 1115,5507)

$m/z = 1137,486$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{70}\text{N}_{10}\text{O}_7\text{Na}^+$ masse exacte calculée : 1137,5327)

HR-MS ESI : $m/z = 577,25182$ $[\text{M}+\text{K}+\text{H}]^{2+}$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{71}\text{N}_{10}\text{O}_7\text{K}^{2+}$ masse exacte calculée : 577,2567)

$m/z = 588,2427$ $[\text{M}+\text{K}+\text{Na}]^{2+}$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{70}\text{N}_{10}\text{O}_7\text{KNa}^{2+}$ masse exacte calculée : 588,2476)

$m/z = 599,2335$ $[\text{M}+\text{K}+2\text{Na}-\text{H}]^{2+}$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{69}\text{N}_{10}\text{O}_7\text{KNa}_2^{2+}$ masse exacte calculée : 599,2386)

$m/z = 610,2244$ $[\text{M}+\text{K}+3\text{Na}-2\text{H}]^{2+}$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{68}\text{N}_{10}\text{O}_7\text{KNa}_3^{2+}$ masse exacte calculée : 610,2296)

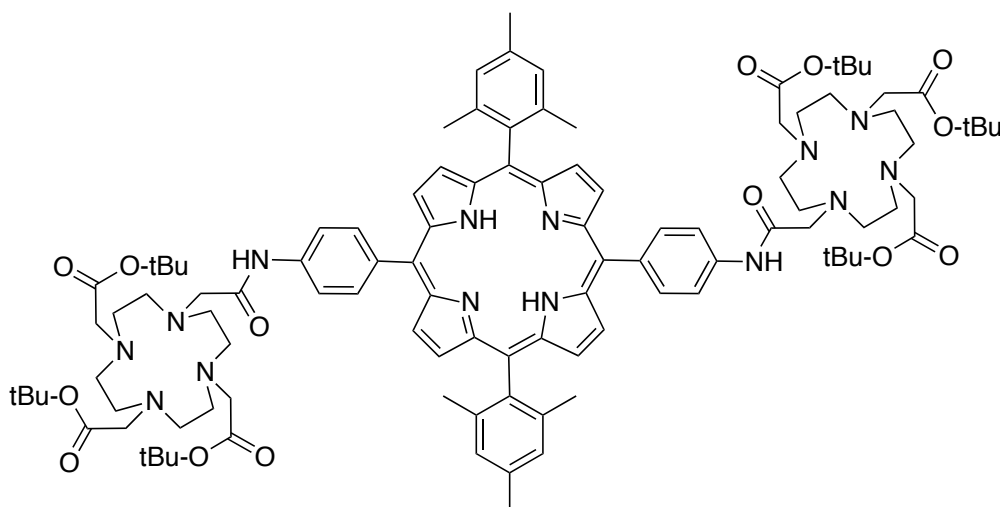
$m/z = 621,2151$ $[\text{M}+\text{K}+4\text{Na}-3\text{H}]^{2+}$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{67}\text{N}_{10}\text{O}_7\text{KNa}_4^{2+}$ masse exacte calculée : 621,2206)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 482 (60), 523 (6), 560 (4), 592 (2,5), 653 (2,2)

RMN ^1H (DMSO D_6 , 600 MHz, 400 K) : δ (ppm) 1,82 (s 12H, Mes- $\text{CH}_{3\text{ortho}}$) ; 2,61 (s, 6H, Mes- $\text{CH}_{3\text{para}}$) ; 3,11-3,30 (se, 16H, N- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$) ; 3,74 (s, 2H, N- $\text{CH}_2\text{-COOH}$) ; 3,77 (s, 4H, N- $\text{CH}_2\text{-COOH}$) ; 3,94 (s, 2H, N- $\text{CH}_2\text{-CONH}$) ; 7,07 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, - Ph-NH_2) ; 7,34 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,87 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, - Ph-NH_2) ; 8,03 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, - Ph-NHCO-) ; 8,15 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, - Ph-

NHCO-) ; 8,60 (d, $J = 4,7\text{ Hz}$, 2H, H_β) ; 8,61 (d, $J = 4,7\text{ Hz}$, 2H, H_β) ; 8,77 (d, $J = 4,7\text{ Hz}$, 2H, H_β) ; 8,88 (d, $J = 4,7\text{ Hz}$, 2H, H_β) ; 10,28 (s, 1H, -Ph-NHCO-)

5,15-Bis(DO3AtBuAMphényl)-10,20-dimésitylporphyrine **35**



$\text{C}_{106}\text{H}_{144}\text{N}_{14}\text{O}_{14}$

Masse exacte : 1837,099

Masse molaire 1838,363

Méthode A :

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont ajoutés 100 mg (113 μmol) de 5-15-bis(4-(chlorométhène)amidophényl)-10,20-dimésitylporphyrine **31**, 117 mg (226 μmol) de DO3AtBu, 156 mg (1130 μmol) de K_2CO_3 et 10 mL de DMF. Le mélange est agité à 70°C durant 12h. Le milieu est filtré sur papier et évaporé. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange DCM : MeOH (90 : 10). On obtient 55 mg (30 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 26 %.

Méthode B :

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont ajoutés, 20 mg (20,6 μmol) de 5-15-bis(4-(bromométhène)amidophényl)-10,20-dimésitylporphyrine **32**, 23 mg (44,7 μmol) de DO3AtBu, 13 mg (95 μmol) de K_2CO_3 et 3 mL de DMF. Le mélange est agité à température ambiante durant 1 h. Le milieu est filtré sur papier et évaporé. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange DCM : MeOH (90 : 10). On obtient 35,8 mg (19,4 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 94 %.

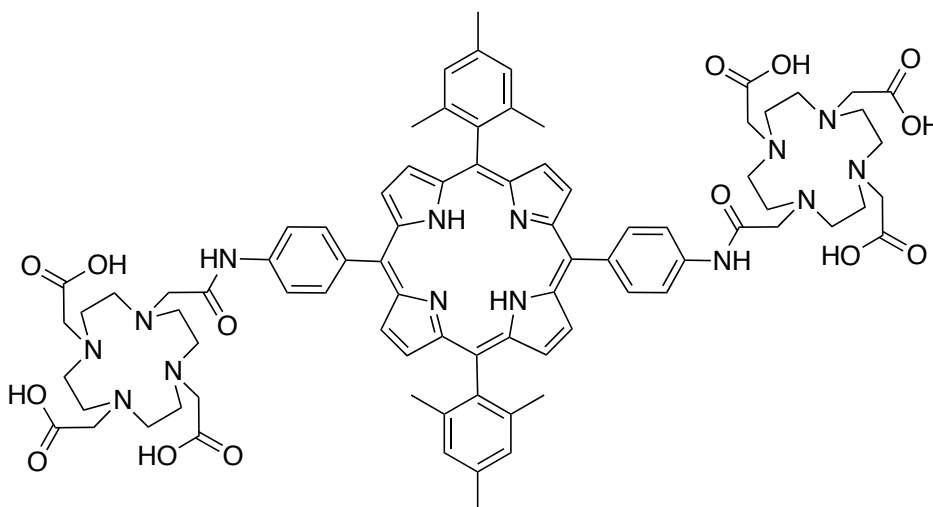
MALDI-TOF : $m/z = 1859,958$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{106}\text{H}_{144}\text{N}_{14}\text{O}_{14}\text{Na}^+$ masse exacte calculée : 1860,0884)

HR-MS ESI : $m/z = 941,5350$ $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ ($\text{C}_{106}\text{H}_{144}\text{N}_{14}\text{O}_{14}\text{Na}_2^{2+}$ masse exacte calculée : 941,5385)

UV-vis (DCM) : $\lambda_{\max}$ (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 420 (318), 516 (12,5), 552 (6), 594 (3,8), 646 (3)

RMN ^1H (DMSO D_6 , 500 MHz, 400 K) : δ (ppm) -2,44 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,45 (s, 18H, $\text{O-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,47 (s, 32H, $\text{O-C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,82 (s 12H, $\text{Mes-CH}_{3\text{ortho}}$) ; 2,61 (s, 6H, $\text{Mes-CH}_{3\text{para}}$) ; 2,63-2,91 (se, 32H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$) ; 3,23 (s, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-COOtBu}$) ; 3,29 (s, 8H, $\text{N-CH}_2\text{-COOtBu}$) ; 3,50 (s, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-CONH}$) ; 7,34 (s, 4H, H_{Mes}) ; 8,04 (d, $J = 8,7 \text{ Hz}$, 2H, $-\text{Ph-NHCO-}$) ; 8,09 (d, $J = 8,7 \text{ Hz}$, 2H, $-\text{Ph-NHCO-}$) ; 8,61 (d, $J = 4,7 \text{ Hz}$, 4H, H_β) ; 8,77 (d, $J = 4,8 \text{ Hz}$, 4H, H_β) ; 10,35 (s, 2H, $-\text{Ph-NHCO-}$)

5,15-Bis(DO3AAMphényl)-10,20-dimésitylporphyrine 36



$\text{C}_{82}\text{H}_{96}\text{N}_{14}\text{O}_{14}$

Masse exacte : 1500,723

Masse molaire : 1501,725

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 100 mg (54 μmol) de 5,15-bis(DO3AtBuAMphényl)-10,20-dimésitylporphyrine **35** et 10 mL de DCM. Le mélange est agité et on ajoute goutte à goutte 2 mL de TFA, le milieu est agité 24 h à l'abri de la lumière et à température ambiante. Le milieu est évaporé à sec et repris dans 50 mL de DCM et de nouveau évaporé. Cette opération est répétée quatre fois afin d'éliminer tous les sous-produits volatils. On obtient 81 mg (54 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre bleu-verte soit un rendement de 99 %.

MALDI-TOF : $m/z = 1501,624$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{82}\text{H}_{97}\text{N}_{14}\text{O}_{14}^+$ masse exacte calculée : 1501,7581)

$m/z = 1523,607$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{82}\text{H}_{96}\text{N}_{14}\text{O}_{14}\text{Na}^+$ masse exacte calculée : 1523,7128)

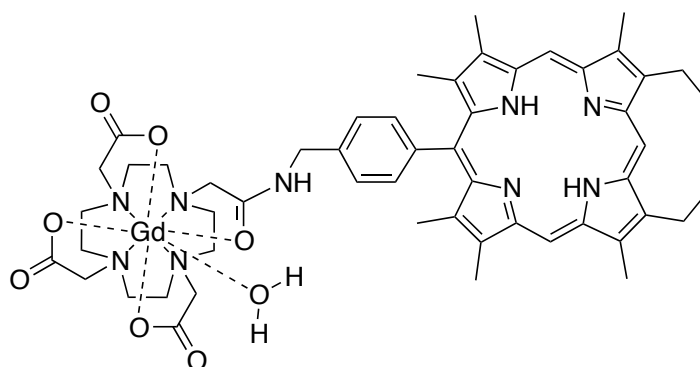
HR-MS ESI : $m/z = 773,3507$ $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ ($\text{C}_{82}\text{H}_{96}\text{N}_{14}\text{O}_{14}\text{Na}_2^+$ masse exacte calculée : 773,3510)

UV-vis (EtOH) : $\lambda_{\max}$ (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 416 (120), 515 (6), 550 (3), 592 (1,7), 650 (1,3)

UV-vis (H₂O) : $\lambda_{\max}$ (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 416 (120), 517 (6), 555 (4), 588 (3), 640 (2)

RMN ¹H (DMSO D6, 600 MHz, 400 K) : δ (ppm) 1,82 (s 12H, Mes-CH_{3ortho}) ; 2,61 (s, 6H, Mes-CH_{3para}) ; 3,1-3,3 (se, 32H, N-CH₂-CH₂-N-) ; 3,76 (s, 4H, N-CH₂-COOH) ; 3,79 (s, 8H, N-CH₂-COOH) ; 3,97 (s, 4H, N-CH₂-CONH) ; 7,34 (s, 4H, H_{Mes}) ; 8,05 (d, J = 8,3Hz, 4H, Ph-NHCO-) ; 8,15 (d, J = 8,3Hz, 4H, -Ph-NHCO-) ; 8,63 (d, J = 4,7Hz, 4H, H _{β}) ; 8,80 (d, J = 4,7Hz, 4H, H _{β}) ; 10,35 (s, 2H, -Ph-NHCO-)

8,12-Diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(benzylacétamide-N-DOTA-(tris-carboxylate)gadolinium (III))porphyrine 37



C₅₃H₆₄GdN₉O₇

Exact Mass: 1096,42

Molecular Weight: 1096,38

Dans un ballon monocol de 10 mL, équipé d'un réfrigérant droit sont placés 16,0 mg (0,0168 mmol) de 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(benzylacétamide-N-DOTA-(tris-COOH))porphyrine **17** dans 3 mL d'eau distillée. Le pH est ajusté à 8 avec deux solutions de soude (1 M et 0,1 M). 7,9 mg (0,0182 mmol) de nitrate de gadolinium sont dissout dans 1 mL d'eau et ajoutés au milieu réactionnel et le pH est de nouveau ajusté à 6,7 avec une solution de soude 0,1M. Le mélange est agité 12 h à 50°C à l'abri de la lumière. Le produit précipite sous forme d'une poudre brune et est filtré sur fritté après retour à température ambiante. Le produit est lavé à l'eau distillée et est séché sous vide. On obtient 14,0 mg (0,0127 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre brune, soit un rendement de 45 %.

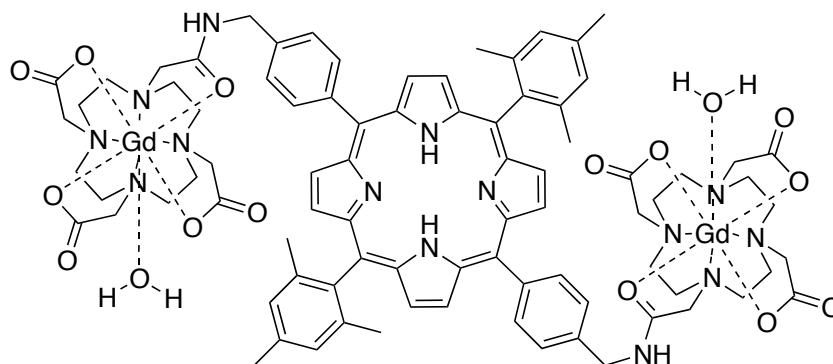
HR-MALDI-TOF : m/z = 1097,4158 [M+H]⁺ (C₅₃H₆₅GdN₉O₇ masse exacte calculée : 1097,4255)

HR-ESI : m/z = 1119,4015 [M+Na]⁺ à (C₅₃H₆₄GdN₉O₇Na masse exacte calculée : 1119,4074)

UV-vis (H₂O) : $\lambda_{\max}$ (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 380 (42), 509 (6), 540 (4), 576 (4), 630 (2)

Analyse élémentaire : C (49,47 %), H (5,96 %), N (9,29 %), (analyse calculée : C₅₃H₆₄N₉O₇Gd, 4H₂O, 3NaOH, 0,2tBuOH : C (49.58 %), H (5.72 %), N (9.67 %))

10,15-Bis((DO3AAM)N-méthylène gadolinium (III))phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 38



Masse exacte : 1838,556

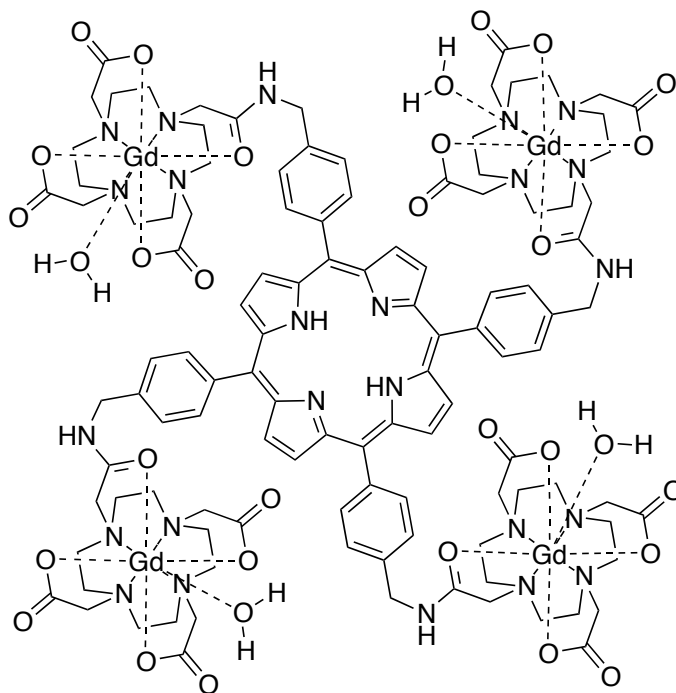
Masse Molaire : 1838,231

Dans un monocol de 50 mL, équipé d'un réfrigérant droit sont placés 26 mg (17 μmol) de 10,15-bis((DO3AAM)N-méthylène)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **22** solubilisés dans un mélange 0,8 mL de DMSO et 8 mL d'eau ultrapure, le pH de la solution est ajusté à 8 avec une solution de soude 1M. Le milieu est agité et on ajoute 16,3 mg (37,6 μmol) de nitrate de gadolinium (III) pentahydraté, le pH de la solution est ajusté à 7 avec une solution de soude 0,1M. La solution est agitée durant 12 h à 50°C. Le produit désiré précipite durant la réaction et est filtré sur fritté et lavé à l'eau ultrapure. On obtient 17 mg (9,2 μmol) du composé désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 54 %.

HR-MS ESI : $m/z = 942,2645$ $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ ($\text{C}_{84}\text{H}_{94}\text{Gd}_2\text{N}_{14}\text{O}_{14}\text{Na}_2^{2+}$ masse exacte calculée : 942,2684)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 433 (90), 518 (14), 552 (9), 591 (6,5), 649 (5)

5,10,15,20-Tétrakis((DO3AAM)-N-méthylène gadolinium (III))phénylporphyrine 39



masse exacte : 2894,68

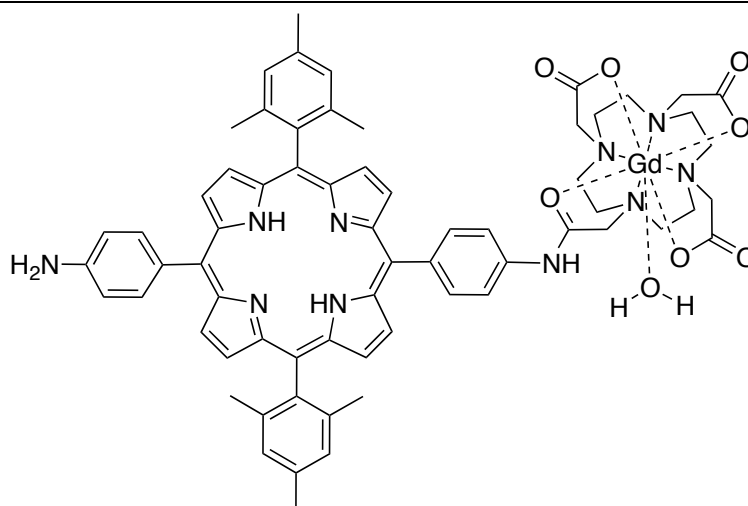
Masse molaire : 2893,41

Dans un monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 25 mg (11 μmol) de 5,10,15,20-tétrakis((DO3AAM)N-méthylène)phényl)porphyrine **27** solubilisés dans 10 mL d'un mélange d'eau ultrapure et de DMSO (10 : 1). Le pH de la solution est ajusté à 8 avec une solution de soude 1M. Le milieu est agité et on ajoute 22,4 mg (51 μmol) de nitrate de gadolinium (III) pentahydraté, le pH de la solution est ajusté à 7 avec une solution de soude 0,1M. La solution est agitée durant 12 h à 50°C. Le produit désiré précipite durant la réaction, est filtré sur fritté et lavé à l'eau ultrapure. On obtient 20 mg (7,0 μmol) du composé désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 62 %.

HR-MS ESI : $m/z = 980,5594$ $[\text{M}+2\text{Na}+\text{H}]^{3+}$ ($\text{C}_{112}\text{H}_{135}\text{Gd}_4\text{N}_{24}\text{O}_{28}\text{Na}_2^{3+}$ masse exacte calculée : 980,5557)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 431 (84), 520 (16), 557 (13), 592 (10), 650 (10)

5-(4-(Amino)phényl)-15-(N-(DO3AAM gadolinium (III))phényl)-10,20-diméthylporphyrine 40



Masse exacte : 1269,444

Masse molaire : 1269,551

Dans un monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 26 mg (23,3 μmol) de 5-(4-(amino)phényl)-15-(N-(DO3AAM)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **36** solubilisés dans un mélange 0,5 mL de DMSO et 5 mL d'eau ultrapure, le pH de la solution est ajusté à 8 avec une solution de soude 1M. Le milieu est agité et on ajoute 11,1 mg (25,6 μmol) de nitrate de gadolinium (III) pentahydraté, le pH de la solution est ajusté à 7 avec une solution de soude 0,1M. La solution est agitée durant 12 h à 50°C. Le produit désiré précipite durant la réaction. Le milieu réactionnel est centrifugé et le surnageant est éliminé. Les résidus sont repris dans 10 mL d'eau ultrapure et centrifugé à nouveau. Cette opération est répétée trois fois afin de se débarrasser des sels. Le complexe est purifié par HPLC semi-préparative grâce à une colonne C18 et un gradient d'éluant qui commence par un mélange $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ (10:90) et se termine par du MeOH pur. On obtient 20 mg (15,7 μmol) du composé désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 70%.

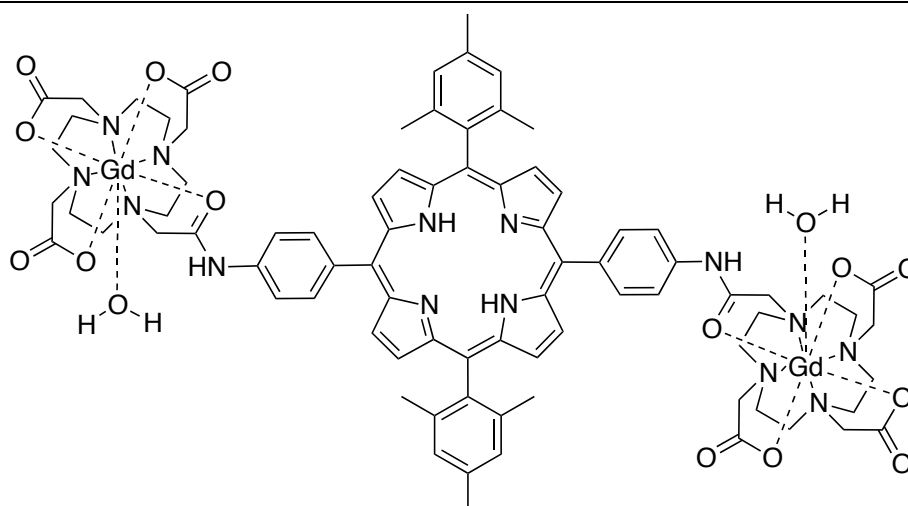
MALDI-TOF : $m/z = 1270,403$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{68}\text{GdN}_{10}\text{O}_7^+$ masse exacte calculée : 1270,4513)

HR-MS ESI : $m/z = 657,7128$ $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{67}\text{GdN}_{10}\text{O}_7\text{Na}_2^{2+}$ masse exacte calculée : 657,7118)
 $1268,4374$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{66}\text{GdN}_{10}\text{O}_7^-$ masse exacte calculée : 1258,4367)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 427 (75), 521 (8,5), 559 (5,4), 595 (3,4), 652 (2,8)

HPLC : $t_r = 5,925$ min (428 nm, 100 %) colonne C18, gradient d'éluant débutant par un mélange $\text{H}_2\text{O} : \text{MeOH}$ (10 : 90) et se terminant par du MeOH pur.

5,15-Bis(DO3AAM gadolinium (III)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **41**



Masse exacte : 1810,524

Masse molaire : 1810,177

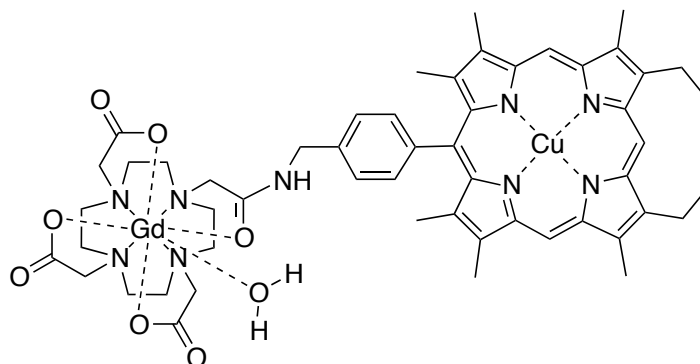
Dans un monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 60 mg (40 μmol) de 5,15-bis(DO3AAMphényl)-10,20-diméthylporphyrine **36** solubilisés dans un mélange 1 mL de DMSO et 10 mL d'eau ultrapure, le pH de la solution est ajusté à 8 avec une solution de soude 1M. Le milieu est agité et on ajoute 38 mg (88 μmol) de nitrate de gadolinium (III) pentahydraté, le pH de la solution est ajusté à 7 avec une solution de soude 0,1M. La solution est agitée durant 12 h à 50°C. Le produit désiré précipite durant la réaction. Le milieu réactionnel est centrifugé et le surnageant est éliminé. Les résidus sont repris dans 10 mL d'eau ultrapure et centrifugé à nouveau. Cette opération est répétée trois fois afin de se débarrasser des sels. On obtient 17 mg (9,2 μmol) du composé désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 54 %.

HR-MS ESI : $m/z = 928,2545$ $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ ($\text{C}_{82}\text{H}_{90}\text{Gd}_2\text{N}_{14}\text{O}_{14}\text{Na}_2^{2+}$ masse exacte calculée : 928,2513)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 430 (153), 519 (16), 555 (8), 592 (5,6), 648 (4)

HPLC : $t_r = 7,085$ min (430 nm 83 %) colonne C18, gradient d'éluant débutant par un mélange H_2O : MeOH (10 : 90) et se terminant par du MeOH pur.

8,12-Diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(benzylacétamide-N-DOTA-(tris-carboxylate) de gadolinium)porphyrine de cuivre (II) 42



Masse exacte : 1157,33

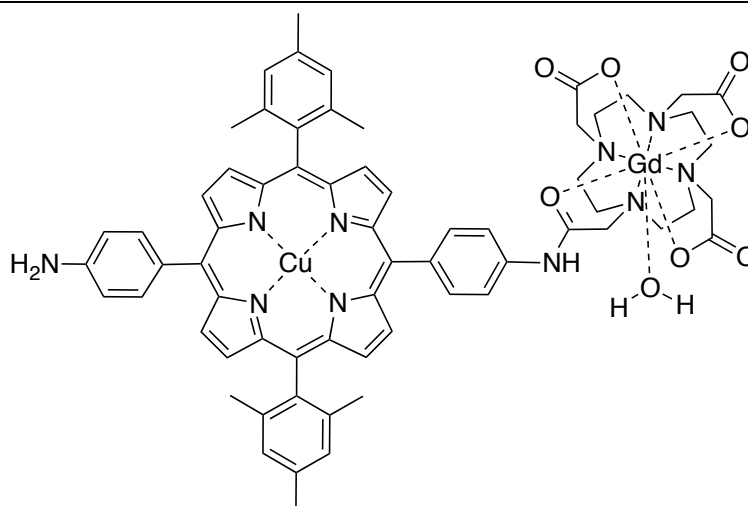
Masse molaire : 1157,91

Dans un ballon monocol de 10 mL, équipé d'un réfrigérant droit sont placés 4,5 mg (4,1 μmol) de 8,12-diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-(benzylacétamide-N-DOTA-(tris-carboxylate)gadolinium (III))porphyrine **37** dans 2 mL de DMSO. On ajoute 1,0 mg (4,1 μmol) de nitrate de cuivre trihydraté, le mélange est chauffé à 50°C durant 2 h à l'abri de la lumière. Le solvant est évaporé et le solide obtenu est lavé dans 5 mL de MeOH puis le solide est filtré et séché sous vide. On obtient 4,5 mg (3,9 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre rouge soit un rendement de 95 %.

HR-ESI : $m/z = 1158,3312$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{53}\text{H}_{63}\text{CuGdN}_9\text{O}_7$ masse exacte calculée : 1158,3385)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 390 (25), 536 (2,5), 569 (3,0)

5-(4-(Amino)phényl)-15-(N-(DO3AAM gadolinium (III))phényl)-10,20-dimésitylporphyrine de cuivre (II) 43



Masse exacte : 1330,357

Masse molaire : 1331,081

Dans un monocol de 25 mL sont placés 198 μL d'une solution aqueuse de nitrate de cuivre à 0,0396 mol.L^{-1} (7,8 μmol), la solution est congelée et l'eau est retirée par lyophilisation. Le ballon est équipé d'un réfrigérant droit et on ajoute dans le montage 10 mg (7,8 μmol) de 5-(4-(amino)phényl)-15-(N-(DO3AAMgadolinium (III))phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **40**, ainsi que 5 mL de MeOH. Le milieu est agité à 50°C durant 30 min, l'avancement de la réaction est suivi par spectroscopie UV-visible. Le solvant est évaporé et les résidus sont repris dans 20 mL d'eau ultrapure, la suspension est ensuite centrifugée, le surnageant est éliminé et l'opération est répétée trois fois afin de se débarrasser des sels. Le solide est repris dans 10 mL d'eau ultrapure et congelé avant d'être lyophilisé. On obtient 4 mg (3,0 μmol) du composé désiré sous la forme d'une poudre rouge soit un rendement de 40 %.

MALDI-TOF : $m/z = 1331,334$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{66}\text{CuGdN}_{10}\text{O}_7^+$ masse exacte calculée : 1331,365)

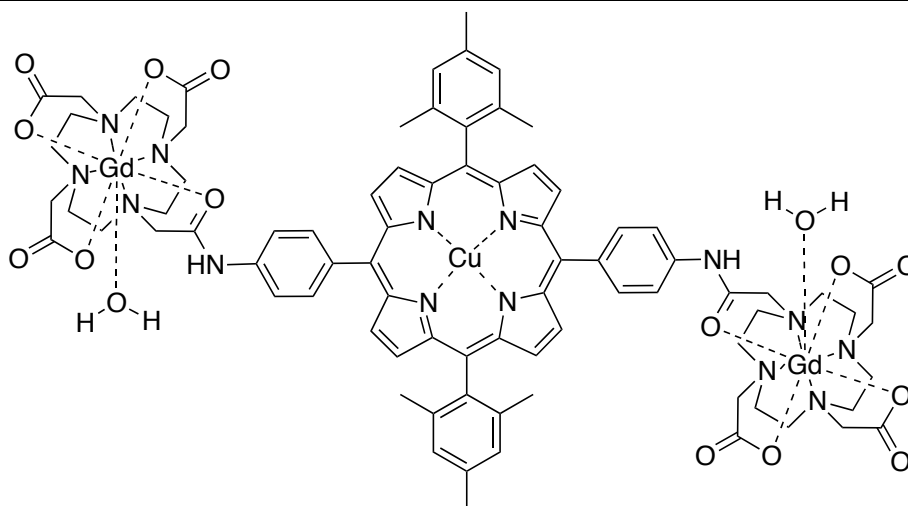
HR-MS ESI : $m/z = 1331,3713$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{66}\text{CuGdN}_{10}\text{O}_7^+$ masse exacte calculée : 1331,3653)

1353,3521 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{66}\text{H}_{65}\text{CuGdN}_{10}\text{NaO}_7^+$ masse exacte calculée : 1353,3473)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 420 (83), 543 (11), 580 (3)

HPLC : $t_r = 7,370$ min (380 nm 80 %)

5,15-Bis(DO3AAM gadolinium (III)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine de cuivre (II) **44**



Masse exacte : 1871,438

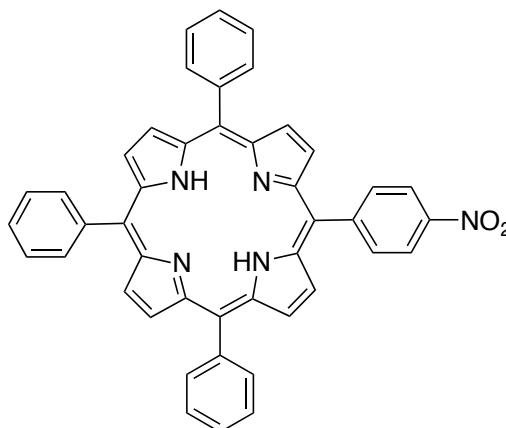
Masse Molaire : 1871,708

Dans un monocol de 25 mL sont placés 270 μL d'une solution aqueuse de nitrate de cuivre à 0,0396 mol.L^{-1} (11 μmol), la solution est congelée et l'eau est retirée par lyophilisation. Le ballon est équipé d'un réfrigérant droit et on ajoute dans le montage 20 mg (11 μmol) de 5,15-bis(DO3AAM gadolinium (III)phényl)-10,20-diméthylporphyrine **41**, ainsi que 5 mL de MeOH. Le milieu est agité à 50°C durant 2 h, l'avancement de la réaction est suivi par spectroscopie UV-visible. Le solvant est évaporé et les résidus sont repris dans 15 mL d'eau ultrapure, la suspension est ensuite centrifugée, le surnageant est éliminé et l'opération est répétée trois fois afin de se débarrasser des sels. Le solide est repris dans 10 mL d'eau ultrapure et congelé avant d'être lyophilisé. On obtient 9 mg (4,8 μmol) du composé désiré sous la forme d'une poudre pourpre soit un rendement de 45 %.

HR-MS ESI : $m/z = 958,71028$ $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ ($\text{C}_{82}\text{H}_{88}\text{CuGd}_2\text{N}_{14}\text{Na}_2\text{O}_{14}^{2+}$ masse exacte calculée : 958,70920)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 428 (140), 541 (19), 579 (5,6)

HPLC : $t_r = 6,563$ min (428 nm 80 %) colonne C18, gradient d'éluant débutant par un mélange $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ (10:90) et se terminant par du MeOH pur.

5-(4-(Nitro)phényl)-10,15,20-triphénylporphyrine 45

$C_{44}H_{29}N_5O_2$

Masse exacte : 659,23

Masse molaire : 659,73

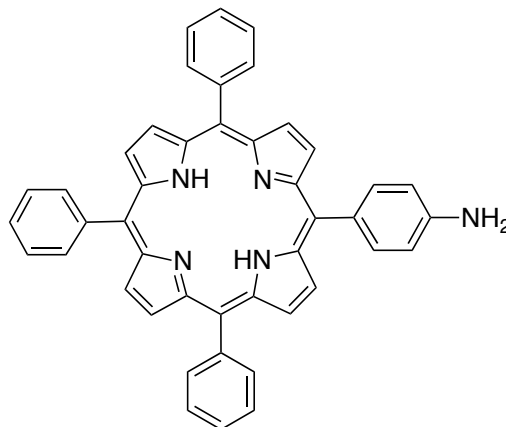
Dans un monocol de 250 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 3,00 g (4,89 mmol) de tétraphénylporphyrine et 150 mL d'acide trifluoroacétique. On ajoute dans le milieu réactionnel 600 mg (8,7 mmol) de nitrate de sodium et le milieu est agité durant trois minutes à température ambiante. Le brut réactionnel est versé dans un erlen meyer contenant 200 mL d'eau distillée et 100 mL de $CHCl_3$. La phase organique est lavée par une solution saturée de $NaHCO_3$, séchée sur $MgSO_4$ et évaporée. Le produit est purifié par une colonne chromatographique de silice fine avec pour éluant un mélange DCM : heptane (60 : 40), les fractions contiennent dans l'ordre d'élution la tétraphénylporphyrine de départ, le produit désiré et le produit de bis-addition de la fonction nitro. On obtient 1,90 g (2,88 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 59 %.

MALDI-TOF : $m/z = 659,956 [M+H]^+$ ($C_{44}H_{30}O_2N_5^+$ masse exacte calculée : 660,239)

HR-MS ESI : $m/z = 660,2397 [M+H]^+$ ($C_{44}H_{30}O_2N_5^+$ masse exacte calculée : 660,2394)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) : 418 (380), 515 (19), 551 (8,8), 590 (5,8), 647 (4,1)

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,73 (s, 2H, NH_{porph}) ; 7,76 (m, 9H, H_{ar}) ; 8,21 (m, 6H, H_{ar}) ; 8,41 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, $-Ph-NO_2$) ; 8,62 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, $-Ph-NO_2$) ; 8,72-8,94 (s, 8H, H_β)

5-(4-(Amino)phényl)-10,15,20-triphénylporphyrine 46
 $C_{44}H_{31}N_5$

Masse exacte : 629,26

Masse molaire : 629,75

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 1,00 g (1,51 mmol) de la 5-(4-(nitro)phényl)-10,15,20-triphénylporphyrine **45**. On ajoute dans le ballon un mélange de 25 mL de $CHCl_3$ et 8 mL d'HCl à 37 %. Le milieu est agité et 5,00 g (22,1 mmol) de $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ sont ajoutés dans le milieu, l'agitation est maintenue durant une nuit à température ambiante. L'acidité est neutralisée par une solution d'ammoniaque. La phase organique est lavée à l'eau distillée, séchée sur $MgSO_4$ et évaporée. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant du CH_2Cl_2 , les fractions contiennent dans l'ordre d'élution la nitro-porphyrine de départ et le produit désiré. On obtient 587 mg (932 mmol) du composé désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 62 %.

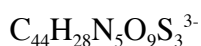
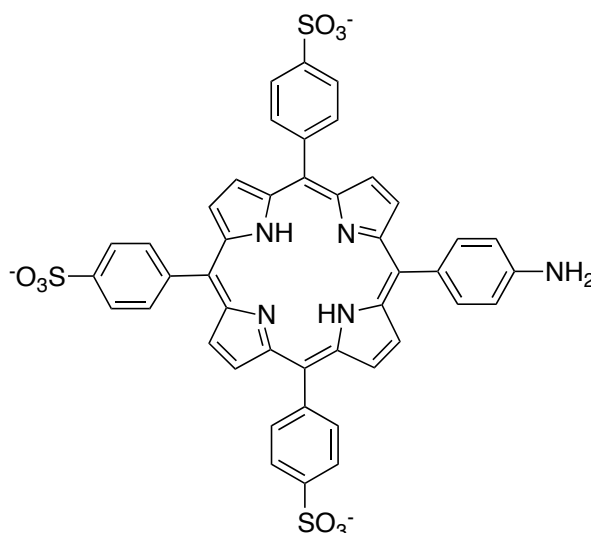
MALDI-TOF : $m/z = 629,990 [M+H]^+$ ($C_{44}H_{32}N_5^+$ masse exacte calculée : 630,265)

HR-MS ESI : $m/z = 630,2658 [M+H]^+$ ($C_{44}H_{32}N_5^+$ masse exacte calculée : 630,2652)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) : 419 (330), 516 (15), 553 (7,4), 590 (4,4), 650 (3,8)

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,73 (s, 2H, NH_{porph}) ; 4,02 (s, 2H, -Ph- NH_2) ; 7,05 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, -Ph- NH_2) ; 7,76 (m, 9H, H_{ar}) ; 7,99 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, -Ph- NH_2) ; 8,21 (m, 6H, H_{ar}) ; 8,83-8,94 (m, 8H, H_β)

Analyse élémentaire : C (82,66 %), H (4,49 %), N (10,83 %), (analyse calculée pour $C_{44}H_{31}N_5$, 0,1 CH_2Cl_2 : C (82,99 %), H (4,93 %), N (10,87 %))

5-(4-(Amino)phényl)-10,15,20-tri(4-(sulfonato)phényl)porphyrine 47

Masse exacte : 866,11

Masse molaire : 866,92

Dans un monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 200 mg (317 μmol) de 5-(4-(amino)phényl)-10,15,20-triphénylporphyrine **46** et 5 mL d' H_2SO_4 à 96 %. Le mélange réactionnel est agité à 80°C durant une nuit. Le brut réactionnel est versé dans un bécher contenant 200 mL d'eau distillée et le milieu est neutralisé par l'ajout en petites quantités de 10 g de CaO. La solution est filtrée sur fritté et lyophilisée. On obtient 95 mg de la porphyrine désirée, le rendement est d'environ de 30 %, mais il est difficile à évaluer précisément du fait du manque de contrôle du contre ion sur les fonction sulphonates.

MALDI-TOF : $m/z = 870,120$ $[\text{M}+4\text{H}]^+$ ($\text{C}_{44}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}_3^+$ masse exacte calculée : 870,136)

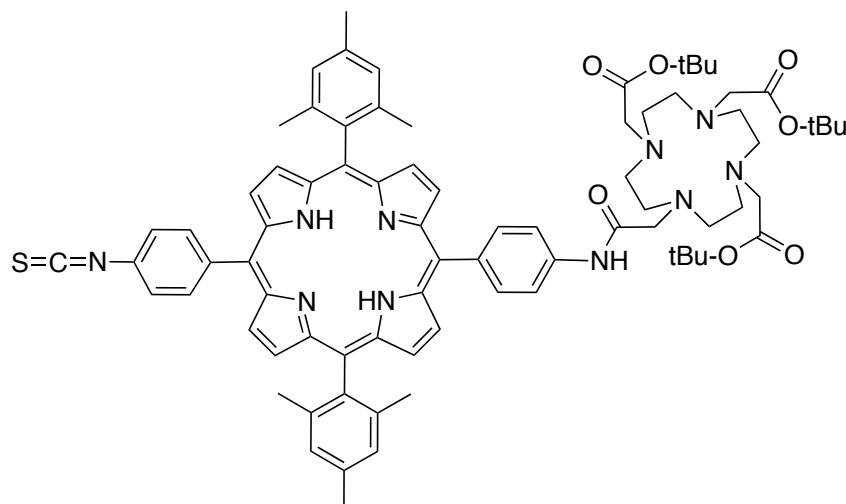
$m/z = 892,100$ $[\text{M}+3\text{H}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{44}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{NaO}_9\text{S}_3^+$ masse exacte calculée : 892,118)

HR-MS ESI : $m/z = 288,70151$ $[\text{M}]^{3-}$ ($\text{C}_{44}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}_3^{3-}$ masse exacte calculée : 288,70163)

UV-vis (H_2O) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 414 (240), 517 (10), 557 (6), 580 (5,5), 637 (4,1)

RMN ^1H (DMSO D_6 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,86 (s, 2H, NH_{porph}) ; 5,28 (s, 2H, -Ph- NH_2) ; 7,01 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, -Ph- NH_2) ; 7,87 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, -Ph- NH_2) ; 8,05 (d, $J = 8,2$ Hz, 6H, -Ph- SO_3^-) ; 8,17 (d, $J = 8,2$ Hz, 6H, -Ph- SO_3^-) ; 8,83-8,94 (m, 8H, H_β)

Analyse élémentaire : C (41,90 %), H (2,36 %), N (5,10 %), S (8,66 %), (analyse calculée pour $\text{C}_{44}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}_3, 5 \text{ NaCl}, 0,4 \text{ H}_2\text{SO}_4$: C (41,70 %), H (2,29 %), N (5,53 %), S (8,60 %))

5-(4-(Isothiocyanato)phényl)-15-(N-(DO3AtBuAM)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine 48

$C_{79}H_{92}N_{10}O_7S$

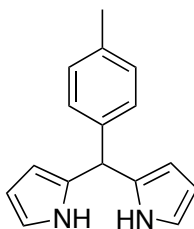
Masse exacte : 1324,69

Masse molaire : 1325,70

Dans un monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant droit sont placés 25 mg (19,5 μ mol) de 5-(4-(amino)phényl)-15-(N-(DO3AtBuAM)phényl)-10,20-dimésitylporphyrine **33**, 80 mg (800 μ mol) de K_2CO_3 et le montage est placé sous atmosphère inerte. On ajoute dans le montage 5 mL de CH_2Cl_2 dégazé par bullage d'azote et 15 μ L (23 mg, 200 μ mol) de thiophosgène. Le mélange est agité durant une heure à température ambiante et le solvant et l'excès de thiophosgène sont évaporés sous rampe à vide. Les résidus sont repris dans du DCM et filtré sur fritté, le solvant est évaporé. On obtient 25 mg (18,8 μ mol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 96 %.

MALDI-TOF : $m/z = 1347,683$ $[M+Na]^+$ ($C_{79}H_{92}N_{10}NaO_7S^+$ masse exacte calculée : 1347,677)

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,65 (s, 2H, NH_{porph}) ; 1,47 (s, 9H, $O-C(CH_3)_3$) ; 1,48 (s, 18H, $O-C(CH_3)_3$) ; 1,82 (s, 12H, Mes- CH_{3ortho}) ; 2,61 (s, 6H, Mes- CH_{3para}) ; 2,88-3,21 (m, 12H, N- CH_2-CH_2-N -) ; 3,46 (s, 4H, N- $CH_2-COOtBu$) ; 3,63 (m, 4H, N- CH_2-CH_2-N -) ; 3,83 (s, 2H, N- $CH_2-COOtBu$) ; 4,73 (s, 2H, N- CH_2-CONH) ; 7,26 (s, 4H, H_{Mes}) ; 7,60 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, -Ph-NCS) ; 8,11-8,25 (m, 6H, H_{ar}) ; 8,64-8,83 (m, $J = 4,8$ Hz, 8H, H_{β}) ; 11,92 (s, 1H, -Ph-NHCO-)

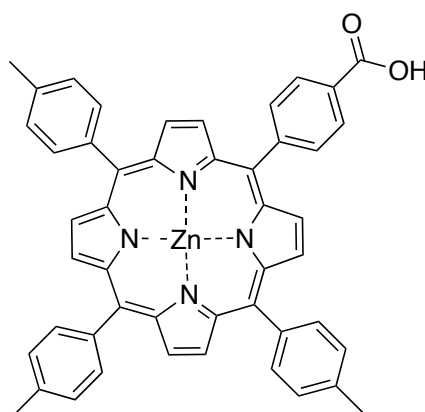
5-(*Para*-tolyl)dipyrrométhane 49
 $C_{16}H_{16}N_2$

Masse exacte : 236,13

Masse molaire : 236,31

Dans un tricol de 500 mL équipé d'un réfrigérant droit, d'un bulleur d'azote et d'un septum sont placés 10 g (84,5 mmol) de *para*-tolylaldéhyde et 300 mL de pyrrole préalablement distillé. Le montage est placé à l'abri de la lumière et la solution est agitée durant 30 min sous bullage d'azote. On ajoute goutte-à-goutte 2 mL (27 mmol) d'acide trifluoroacétique et la solution est agitée durant 12 h. Le solvant est évaporé, les résidus sont repris dans 200 mL de DCM et la phase organique est lavée trois fois avec 200 mL d'eau distillée, séchée sur $MgSO_4$ et évaporée. Le produit est purifié par un plug de silice avec pour éluant du DCM. La fraction de tête est récupérée. Le solvant est évaporé et l'huile résiduelle est triturée dans 50 mL de pentane à 0°C. Le produit qui précipite est filtré sur fritté et est lavé avec deux fois 50 mL de pentane à 0°C. On obtient 16,0 g (67,7 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre beige, soit un rendement de 80 %.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 2,32 (s, 3H, $Ph-CH_3$) ; 5,42 (s, 1H, $Pyr-CH-Pyr$) ; 5,90 (m, 2H, H_{3-7}) ; 6,14 (m, 2H, H_{2-8}) ; 6,67 (m, 2H, H_{1-9}) ; 7,10 (m, 4H, H_{ar}) ; 7,87 (s, 2H, NH)

5-(4-(Carboxy)phényl)-10,15,20-tritolylporphyrine de Zinc (II) 50
 $C_{48}H_{34}N_4O_2Zn$

Masse exacte : 762,20

Masse molaire : 764,19

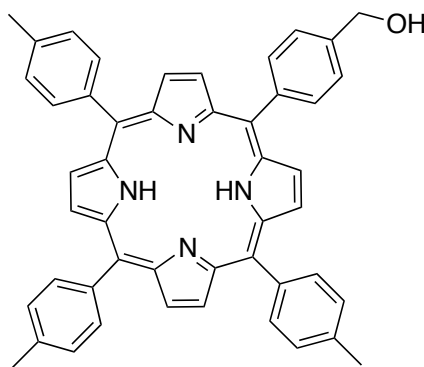
Dans un tricol de 500 mL équipé d'un réfrigérant droit, d'un bulleur d'azote et d'un septum sont placés 2,2 g (14,6 mmol) de 4-carboxybenzaldéhyde, 4,56 g (19,3 mmol) de 5-*para*-tolylidipyrrométhane **49**, 590 mg (5,0 mmol) de 4-méthylbenzaldéhyde et 250 mL de chloroforme préalablement dégazé par un bullage d'azote. Le milieu est agité à l'abri de la lumière durant 15 min sous bullage d'azote. On ajoute goutte-à-goutte 325 µL (2,5 mmol) de trifluorure de bore étherate, le milieu est agité 1 h 30 sous bullage d'azote. 2,4 g (9,7 mmol) de *para*-chloranil sont ajoutés dans le montage, l'agitation est maintenue durant 2 h. Le milieu est évaporé à sec, les résidus sont repris dans un mélange DCM : MeOH (100 : 5) et passés sur une colonne filtre de silice. La fraction de tête est récupérée. Le solvant est évaporé et les résidus sont placés dans un ballon de 1 L équipé d'un réfrigérant droit avec 250 mL de chloroforme. 2,22 g (10,0 mmol) d'acétate de zinc ainsi que 2,4 g (30,0 mmol) d'acétate de sodium sont dissouts dans 100 mL de méthanol et ajoutés à la solution. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux durant 2 h l'abri de la lumière. La solution est refroidie puis lavée trois fois avec 750 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée sur MgSO₄ puis évaporée. Le produit est purifié par une colonne de silice avec pour éluant un mélange DCM : MeOH (100 : 5). Le solvant est évaporé. On obtient 2,0 g (2,67 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 27 %.

MALDI-TOF : $m/z = 762,200$ [M]⁺⁺ (C₄₈H₃₄N₄O₂Zn⁺⁺ masse exacte calculée : 762,197)

UV-vis (DCM) : $\lambda_{\max}$ (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 422 (135), 551 (6), 588 (3)

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 2,72 (s, 9H, Ph-CH₃) ; 7,56 (d, J = 7,8 Hz, 6H, H_{tolyl}) ; 8,10 (d, J = 7,8 Hz, 6H, H_{tolyl}) ; 8,35 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H_{ArCOOH}) ; 8,50 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H_{ArCOOH}) ; 8,90-9,00 (m, 8H, H _{β})

5-(4-(Hydroxyméthyl)phényl)-10,15,20-tritolylporphyrine **51**



C₄₈H₃₈N₄O

Masse exacte : 686,30

Masse molaire : 686,84

Dans un tricol de 250 mL équipé d'une ampoule isobare, d'un réfrigérant droit et d'un septum, le tout sous atmosphère d'azote, sont placés 35 mL de THF préalablement distillé. Le milieu est

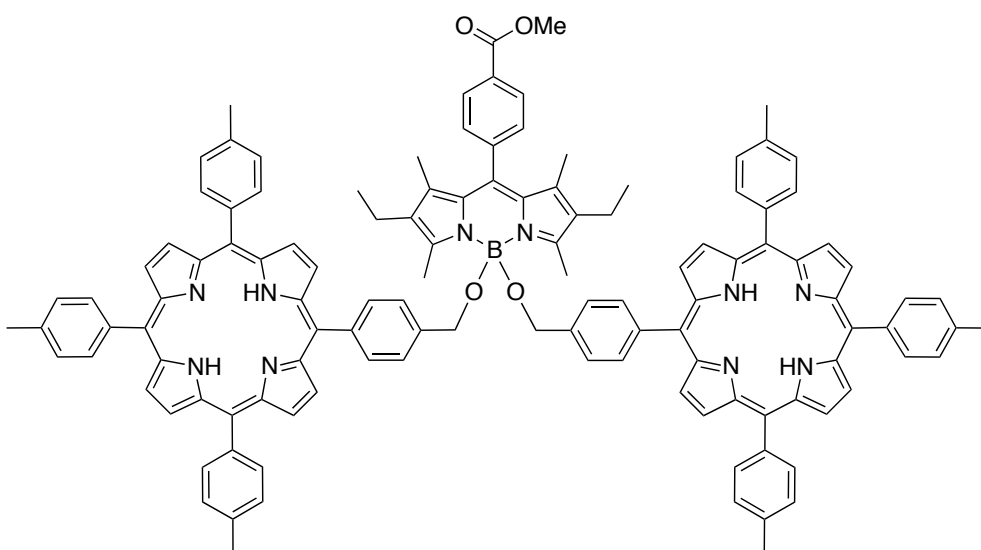
refroidi à -80°C et on introduit 75 mg (1,97 mmol) de tétrahydroaluminat de lithium. On dissout ensuite 500 mg (0,65 mmol) de 5-(4-(carboxy)phényl)-10,15,20-tritolylporphyrine de Zinc **50** dans 35 mL de THF distillé, cette solution est ajoutée goutte-à-goutte au milieu réactionnel toujours à -80°C . On laisse le mélange revenir à température ambiante et la réaction est agitée durant 1 h. Le mélange est refroidi à -80°C et 5 mL d'eau sont ajoutés dans le milieu par un goutte-à-goutte lent afin de détruire le tétrahydroaluminat de lithium en excès. On ajoute 100 mL de chloroforme au milieu et la phase organique est lavée par trois fois 10 mL d'eau distillée, séchée et évaporée. La porphyrine de zinc est purifiée par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant un mélange DCM : MeOH (100 : 2). La fraction contenant le produit est évaporée et les résidus sont dissout dans 100 mL de DCM et 2 mL d'acide trifluoroacétique sont ajoutés goutte-à-goutte et le milieu est agité durant 2 h à température ambiante. La phase organique est lavée par 100 mL d'une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium puis par deux fois 100 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée sur MgSO_4 et évaporée. On obtient 254 mg (0,37 mmol) de la porphyrine désirée sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 57 %.

MALDI-TOF : $m/z = 687,130$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{48}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}^+$ masse exacte calculée : 687,312)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 416 (330), 514 (13), 550 (8), 590 (4), 646 (3)

RMN ^1H (Pyr D5, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,27 (s, 2H, NH_{porph}) ; 2,61 (s, 9H, Ph-CH_3) ; 5,37 (s, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-OH}$) ; 7,60 (d, $J = 7,6$ Hz, 6H, H_{tolyl}) ; 8,07 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H, H_{ArCOOH}) ; 8,27 (d, $J = 7,6$ Hz, 6H, H_{tolyl}) ; 8,47 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H, H_{ArCOOH}) ; 9,14 (m, 8H, H_{β})

B,B-Bis(1-benzyloxy-10,15,20-tritolylporphyrinyl)-1,3,7,9-tétraméthyl-2,8-diéthyl-5-(para-méthylbenzoyl)-BODIPY 52



$\text{C}_{121}\text{H}_{103}\text{BN}_{10}\text{O}_4$

Masse exacte : 1770,83

Masse molaire : 1771,99

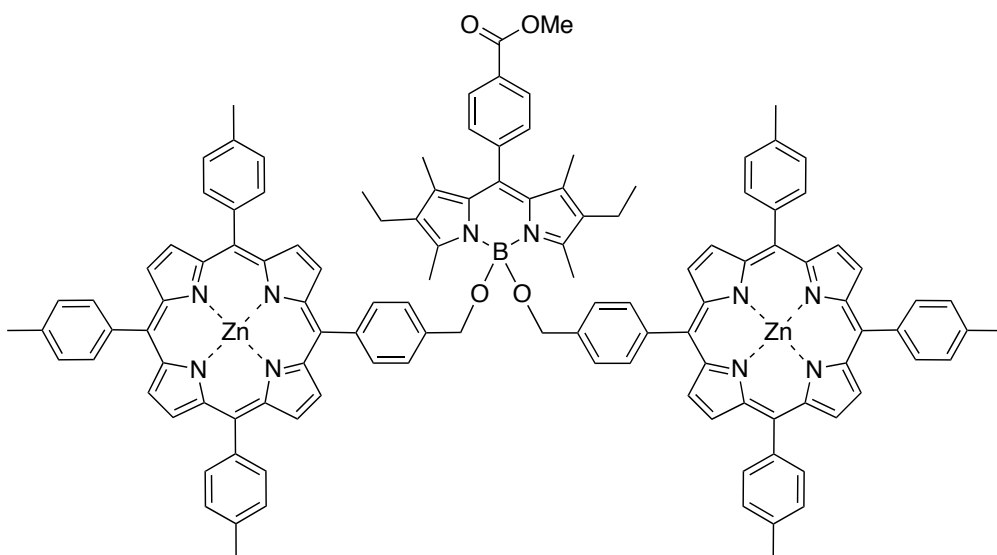
Dans un bicol de 250 mL équipé d'un réfrigérant droit et d'un septum sont placés 23 mg (52 μmol) du BODIPY **A**. Le montage est placé sous atmosphère d'azote puis on ajoute 50 mL de THF distillé dans le ballon, la solution est de couleur orange. On ajoute ensuite 55 mg (412 μmol) de trichlorure d'aluminium, le mélange est agité 30 min à 40 °C, la solution prend une couleur rouge. Après retour à température ambiante on ajoute dans le milieu 170 mg (250 μmol) de porphyrine **51** et le mélange est agité durant 1 h 30 à température ambiante. Le brut réactionnel est filtré sur alumine pour éliminer le trichlorure d'aluminium résiduel. Le produit est purifié par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant un mélange EtOAc : heptane (30 : 70). Le solvant est évaporé et le produit recristallisé dans un mélange DCM : heptane et on obtient 78 mg (84 μmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette soit un rendement de 84 %

MALDI-TOF : $m/z = 1771,641$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{121}\text{H}_{104}\text{BN}_{10}\text{O}_4^+$ masse exacte calculée : 1771.834)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 418 (880), 525 (77), 592 (10), 649 (10)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) -2,75 (s, 4H, NH_{porph}) ; 1,05 (t, $J = 7,4$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 1,45 (s, 6H, $-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 2,42 (q, $J = 7,4$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 2,71 (s, 18H, $-\text{Ph}-\text{CH}_3$) ; 2,90 (s, 6H, $-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 4,00 (s, 3H, $-\text{CO}_2-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 4,59 (s, 4H, $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{O}-$) ; 7,54 (d, $J = 7,9$ Hz, 12H, H_{tolyl}) ; 7,64 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, $\text{Bdp}-\text{Ph}-\text{CO}_2\text{Me}$) ; 7,67 (d, $J = 8,0$ Hz, 4H, $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{O}-$) ; 8,08 (d, $J = 7,9$ Hz, 12H, H_{tolyl}) ; 8,10 (d, $J = 8,0$ Hz, 4H, $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{O}-$) ; 8,25 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, $\text{Bdp}-\text{Ph}-\text{CO}_2\text{Me}$) ; 8,83 (s, 16H, H_{β})

B,B-Bis(zinc(II)1-benzyloxy-10,15,20-tritolylporphyrinyl)-1,3,7,9-tétraméthyl-2,8-diéthyl-5-(para-méthylbenzoyl)-BODIPY **53**



$\text{C}_{121}\text{H}_{99}\text{BN}_{10}\text{O}_4\text{Zn}_2$

Masse exacte : 1894,65

Masse molaire : 1898,72

Dans un monocol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit sont ajoutés 50 mg (28 μmol) du B,B-bis(1-benzyloxy-10,15,20-tritylporphyrinyl)-1,3,7,9-tétraméthyl-2,8-diéthyl-5-(*para*-méthylbenzoyl)-bodipy **52** ainsi que 24 mg (109 μmol) d'acétate de zinc dihydraté et 20 mg (243 μmol) d'acétate de sodium. Les solides sont dissout dans un mélange de 10 mL de DCM et 2 mL de MeOH. Le milieu réactionnel est agité à reflux durant deux heures. Après retour à température ambiante la phase organique est lavée avec trois fois 10 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée et évaporée. 53 mg (28 μmol) du produit désiré sont obtenus avec un rendement quantitatif après précipitation dans un mélange DCM : heptane, sous la forme d'une poudre violette.

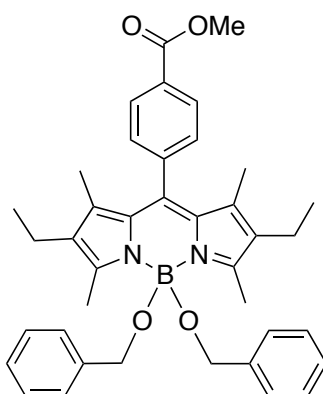
MALDI-TOF : $m/z = 1895,282$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{121}\text{H}_{100}\text{BN}_{10}\text{O}_4\text{Zn}_2^+$ masse exacte calculée : 1895,661)

HR-ESI : $m/z = 1917,6396$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{121}\text{H}_{99}\text{BN}_{10}\text{NaO}_4\text{Zn}_2^+$ masse exacte calculée : 1917,6436)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 422 (810), 529 (56), 590 (6)

Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 1,07 (t, $J = 7,4$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 1,44 (s, 6H, $-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 2,44 (q, $J = 7,4$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 2,69 (s, 18H, $-\text{Ph}-\text{CH}_3$) ; 2,90 (s, 6H, $-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 3,97 (s, 3H, $-\text{CO}_2-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 4,58 (s, 4H, $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{O}-$) ; 7,54 (d, $J = 7,9$ Hz, 12H, H_{tolyl}) ; 7,64 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, $\text{Bdp}-\text{Ph}-\text{CO}_2\text{Me}$) ; 7,67 (d, $J = 8,0$ Hz, 4H, $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{O}-$) ; 8,09 (d, $J = 7,9$ Hz, 12H, H_{tolyl}) ; 8,11 (d, $J = 8,0$ Hz, 4H, $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{O}-$) ; 8,23 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, $\text{Bdp}-\text{Ph}-\text{CO}_2\text{Me}$) ; 8,94 (s, 16H, H_β)

B,B-Bis-benzoyl-1,3,7,9-tétraméthyl-2,8-diéthyl-5-(*para*-méthylbenzoyl)-BODIPY **54**



$\text{C}_{39}\text{H}_{43}\text{BN}_2\text{O}_4$

Masse exacte : 614,33

Masse molaire : 614,58

Dans un bicol de 100 mL équipé d'un réfrigérant droit et d'un septum sont placés 70 mg (160 μmol) du BODIPY **A**. Le montage est placé sous atmosphère d'azote puis on ajoute 25 mL de DCM distillé dans le ballon, la solution est de couleur orange. On ajoute ensuite 175 mg (1,31 mmol) de trichlorure d'aluminium, le mélange est agité 30 min à reflux, la solution prend une couleur rouge.

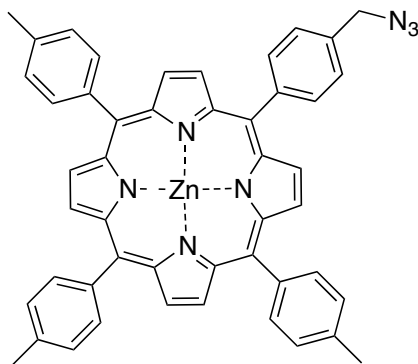
Après retour à température ambiante on ajoute dans le milieu 85 μL (820 μmol) d'alcool benzylique et le mélange est agité durant 1 h à température ambiante. Le brut réactionnel est filtré sur alumine pour éliminer le trichlorure d'aluminium résiduel. Le produit est purifié par une colonne de silice avec comme éluant de l'acétate d'éthyle. Le solvant est évaporé, on obtient 60 mg du produit désiré sous la forme d'une huile rouge soit un rendement de 61 %.

HR-MS ESI : $m/z = 673,3178$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{39}\text{H}_{43}\text{BNaN}_2\text{O}_4^+$ masse calculée : 637,3215)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 500 (18) ; 525 (80)

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 0,92 (t, $J = 7,4$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 1,27 (s, 6H, $-\text{CH}_3$) ; 2,21 (q, $J = 7,4$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 2,44 (s, 6H, $-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 4,00 (s, 3H, $-\text{CO}_2-\text{CH}_{3\text{Bdp}}$) ; 4,16 (s, 4H, $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{O}-$) ; 7,21 (m, 10H, H_{bc}) ; 7,49 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, $\text{Bdp}-\text{Ph}-\text{CO}_2\text{Me}$) ; 8,20 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, $\text{Bdp}-\text{Ph}-\text{CO}_2\text{Me}$)

5-(4-(Azidométhyl)phényl)-10,15,20-tri(*para*-tolyl)porphyrine de Zinc (II) 56



$\text{C}_{48}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{Zn}$

Masse exacte : 773,22

Masse molaire : 775,22

Dans un tricol de 500 mL équipé d'un réfrigérant droit, d'un bulleur d'azote et d'un septum sont placés 2,56 g (15,9 mmol) de 4-azidométhylbenzaldehyde **13**, 5,01 g (21,2 mmol) de 5-*para*-tolylidipyrrométhane **49**, 627 mg (5,21 mmol) de *para*-tolualdéhyde et 250 mL de chloroforme préalablement dégazé par un bullage d'azote. Le milieu est agité à l'abri de la lumière durant 15 min sous bullage d'azote. On ajoute goutte-à-goutte 500 μL (3,98 mmol) de trifluorure de bore étherate, le milieu est agité 1 h 30 sous bullage d'azote. 2,6 g (10,5 mmol) de *para*-chloranil sont ajoutés dans le montage, l'agitation est maintenue durant 2 h. Le milieu est évaporé à sec, les résidus sont repris dans un mélange DCM : MeOH (100 : 5) et passés sur un colonne filtre de silice. La fraction de tête est récupérée. Le solvant est évaporé et les résidus sont placés dans un ballon de 1 L équipé d'un réfrigérant droit avec 250 mL de chloroforme. 2,22 g (10,0 mmol) d'acétate de zinc ainsi que 2,4 g (30,0 mmol) d'acétate de sodium sont dissouts dans 100 mL de méthanol et ajoutés à la solution. Le

milieu réactionnel est chauffé à reflux durant 2 h à l'abri de la lumière. La solution est refroidie puis lavée trois fois avec 750 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée sur MgSO_4 puis évaporée. Le produit est purifié par une colonne de silice fine avec pour éluant un mélange DCM : heptane (70 : 30). Le solvant est évaporé. On obtient 910 mg (1,17 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre violette, soit un rendement de 11 %.

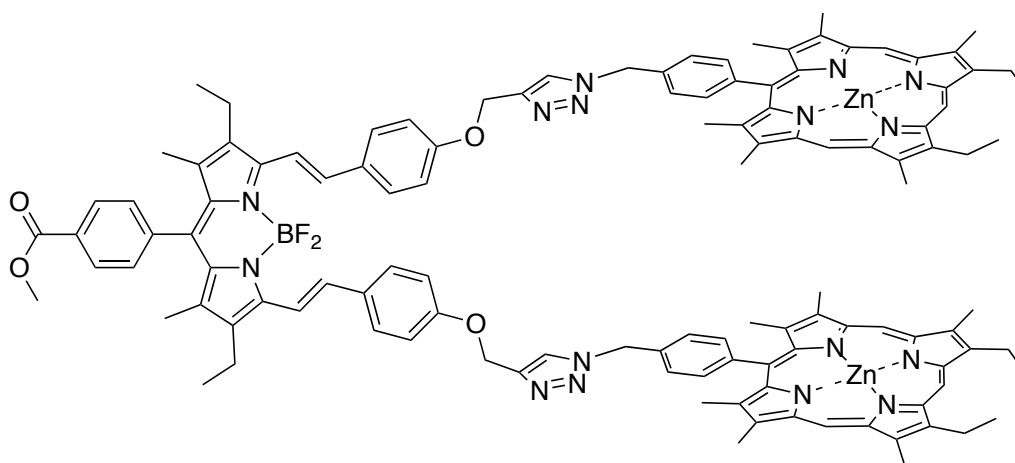
MALDI-TOF : $m/z = 773,428$ $[\text{M}]^{+}$ ($\text{C}_{48}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{Zn}^{+}$ masse exacte calculée : 773,224)

HR-ESI : $m/z = 773,2271$ $[\text{M}]^{+}$ ($\text{C}_{48}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{Zn}^{+}$ masse exacte calculée : 773,2240)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 420 (416), 550 (15), 592 (5)

RMN ^1H (Pyr D5, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 2,61 (s, 9H, Ph-CH_3) ; 4,76 (s, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-N}_3$) ; 7,56 (d, $J = 8,1$ Hz, 6H, H_{tolyl}) ; 7,75 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-N}_3$) ; 8,32 (d, $J = 8,1$ Hz, 6H, H_{tolyl}) ; 8,41 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-N}_3$) ; 9,17-9,26 (m, 8H, H_β)

1,9-(8,12-Diéthyl-2,3,7,13,17,18-hexaméthyl-20-((4-((4-vinylphénoxy)méthyl)-triazole)-N-benzyl)bisporphyrine de zinc (II))-2,8-diéthyl-3,7-diméthyl-5-(para-méthylbenzoyl)-BODIPY 57



$\text{C}_{119}\text{H}_{115}\text{BF}_2\text{N}_{16}\text{O}_4\text{Zn}_2$

Masse exacte : 2008,79

Masse molaire : 2012,86

Dans un bicol de 50 mL équipé d'une arrivée de gaz et d'un bouchon sont placés 39,9 mg de BODIPY **55** (0,051 mmol) et 86,1 mg de la porphyrine de zinc **14** (0,133 mmol). Le montage est placé sous atmosphère inerte par trois cycles vide/azote et 20 mL de DCM dégazé par bullage d'azote sont introduits dans le montage. On ajoute ensuite 10 mg (0,053 mmol) d'iodure de cuivre ainsi que 20 μL (0,116 mmol) de diisopropyléthylamine (DIPEA), le milieu est agité 7 h à température ambiante et à l'abri de la lumière. On ajoute 100 mL de DCM au milieu réactionnel et la phase organique est lavée avec trois fois 100 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée

sur MgSO_4 et le solvant est évaporé. Le produit est purifié par une colonne chromatographique de silice avec comme éluant du DCM. Le produit est élué par un mélange DCM/MeCN (100/10). Le solvant est évaporé et on obtient 47 mg (0,023 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre bleue, soit un rendement de 46 %.

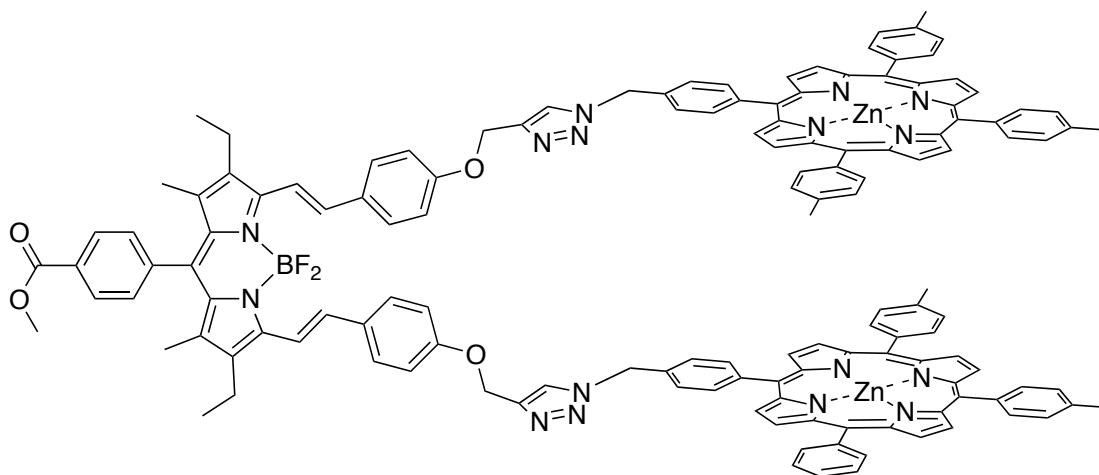
MALDI-TOF : $m/z = 2008,647$ $[\text{M}]^{+}$ ($\text{C}_{119}\text{H}_{115}\text{BF}_2\text{N}_{16}\text{O}_4\text{Zn}_2^{+}$ masse exacte calculée : 2008,7931)

HR-ESI : $m/z = 1004,3966$ $[\text{M}]^{2+}$ ($\text{C}_{119}\text{H}_{115}\text{BF}_2\text{N}_{16}\text{O}_4\text{Zn}_2^{2+}$ masse exacte calculée : 1004,3969)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 406 (380), 416 (400), 547 (70), 584 (68), 665 (110)

RMN ^1H (Pyr D5, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 1,10 (t, $J = 7,5$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ bodipy) ; 1,33 (s, 6H, $-\text{CH}_3$ bodipy) ; 1,89 (t, $J = 7,5$ Hz, 12H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ porph) ; 2,36 (s, 12H, $-\text{CH}_3$ porph) ; 2,58 (q, $J = 7,5$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ bodipy) ; 3,57 ppm (s, 12H, $-\text{CH}_3$ porph) ; 3,64 (s, 12H, $-\text{CH}_3$ porph) ; 3,95 (s, 3H, $\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_3$) ; 4,15 (q, $J = 7,5$ Hz, 8H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ; 5,51 (s, 4H, $\text{Ar}-\text{CH}_2$ -triazole) ; 5,76 (s, 4H, $-\text{O}-\text{CH}_2$ -triazole) ; 7,26 (d, $J = 8,6$ Hz, 4H, triazole- CH_2 -Ar-porph) ; 7,40 (d, $J = 7,9$ Hz, 4H, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}-\text{O}$) ; 7,52 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, bodipy-Ar-COOMe) ; 7,61 (d, $J = 16,4$ Hz, 2H, bodipy- $\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}$) ; 7,86 (d, $J = 8,6$ Hz, 4H, triazole- CH_2 -Ar-porph) ; 7,93 (d, $J = 7,9$ Hz, 4H, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}-\text{O}$) ; 8,10 (s, 2H, H_{triazole}) ; 8,35 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, bodipy-Ar-COOMe) ; 8,41 (d, $J = 16,4$ Hz, 2H, bodipy- $\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}$) ; 10,41 (s, 2H, $H_{\text{méso}}$) ; 10,48 ppm (s, 4H, $H_{\text{méso}}$).

1,9-(5,10,15-Tri(*para*-tolyl)-20-((4-((4-vinylphénoxy)méthyl)-triazole)-N-benzyl)bisporphyrine de zinc (II))-2,8-diéthyl-3,7-diméthyl-5-(*para*-méthylbenzoyl)-BODIPY 58



$\text{C}_{141}\text{H}_{111}\text{BF}_2\text{N}_{16}\text{O}_4\text{Zn}_2$

Masse exacte : 2268,76

Masse molaire : 2273,06

Dans un bicol de 25 mL équipé d'une arrivée de gaz et d'un bouchon sont placés 41 mg du BODIPY **55** (0,029 mmol) et 50 mg de la porphyrine de zinc **56** (0,064 mmol). Le montage est placé sous atmosphère inerte par trois cycles vide/azote et 10 mL de DCM dégazé par bullage d'azote sont placés dans le montage. On ajoute ensuite 15 mg (0,078 mmol) d'iodure de cuivre ainsi que 23 μ L (0,133 mmol) de diisopropyléthylamine (DIPEA), le milieu est agité 24 h à température ambiante et à l'abri de la lumière. On ajoute 100 mL de DCM au milieu réactionnel et la phase organique est lavée avec trois fois 100 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée sur MgSO_4 et le solvant est évaporé. Le produit est purifié par une colonne chromatographique de silice avec pour éluant du DCM. Le produit est décroché par un mélange DCM/MeCN (100/10). Le solvant est évaporé et on obtient 65 mg (0,028 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre bleue, soit un rendement de 96 %.

MALDI-TOF : $m/z = 2249,732$ $[\text{M-F}]^+$ ($\text{C}_{141}\text{H}_{111}\text{BFN}_{16}\text{O}_4\text{Zn}_2^+$ masse exacte calculée : 2249,763)

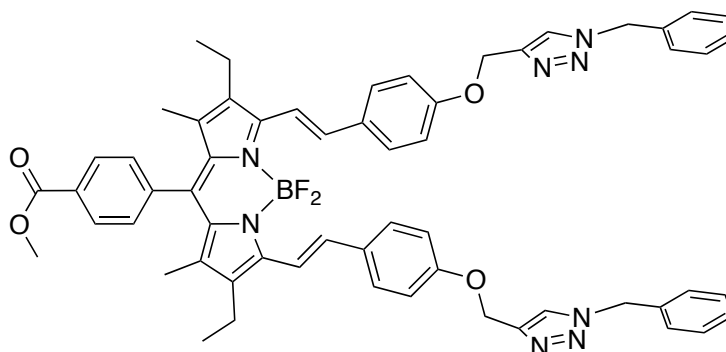
HR-ESI : $m/z = 2291,7399$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{141}\text{H}_{111}\text{BF}_2\text{N}_{16}\text{O}_4\text{Zn}_2\text{Na}^+$ masse exacte calculée : 2291,7530)

$m/z = 1157,3613$ $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ ($\text{C}_{141}\text{H}_{111}\text{BF}_2\text{N}_{16}\text{O}_4\text{Zn}_2\text{Na}_2^{2+}$ masse exacte calculée : 1157,3711)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 366 (50), 430 (578), 562 (32), 603 (34), 658 (46)

RMN ^1H (Pyr D5, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 1,09 (t, $J = 7,5$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ bodipy) ; 1,33 (s, 6H, $-\text{CH}_3$ bodipy) ; 2,58 (s, 18H, $\text{Ar}-\text{CH}_3$ tolyl) ; 2,58 (masqué, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ bodipy) ; 3,94 (s, 3H, $\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_3$) ; 5,47 (s, 4H, $\text{Ar}-\text{CH}_2$ -triazole) ; 5,93 (s, 4H, $-\text{O}-\text{CH}_2$ -triazole) ; 7,19 (d masqué, $J = 8,9$ Hz, 4H, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}-\text{O}$) ; 7,52 (m, 14H, H_{Ar}) ; 7,64 (d, $J = 8,0$ Hz, 4H, triazole- CH_2 -Ar-porph) ; 7,77 (d, $J = 8,9$ Hz, 4H, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}-\text{O}$) ; 8,31 (m, 20H, H_{Ar}) ; 8,39 (s, 2H, H_{triazole}) ; 9,00-9,25 (m, 16H, H_{β})

1,9-((4-(4-Vinylphénoxy)méthyl)-triazole)-N-benzyl-2,8-diéthyl-3,7-diméthyl-5-(para-méthylbenzoyl)-BODIPY 59



$\text{C}_{59}\text{H}_{55}\text{BF}_2\text{N}_8\text{O}_4$

Masse exacte : 988,44

Masse molaire : 988,93

Dans un bicol de 50 mL équipé d'une arrivée de gaz et d'un bouchon sont placés 23 mg du BODIPY **55** (0,032 mmol) et 9,50 mg d'azoture de benzyle (0,071 mmol). Le montage est placé sous atmosphère inerte par trois cycles vide/azote et 10 mL de DCM dégazé par bullage d'azote sont placés dans le montage. On ajoute ensuite 18 mg (0,094 mmol) d'iodure de cuivre ainsi que 25 μ L (0,145 mmol) de diisopropyléthylamine (DIPEA), le milieu est agité 24 h à température ambiante et à l'abri de la lumière. On ajoute 100 mL de DCM au milieu réactionnel et la phase organique est lavée avec trois fois 100 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée sur MgSO_4 et le solvant est évaporé. Les résidus sont repris dans le DCM et chromatographiés sur colonne de silice. Le produit est décroché par un mélange DCM/MeOH (100/10). Le solvant est évaporé et on obtient 20 mg (0,020 mmol) du produit désiré sous la forme d'une poudre bleue, soit un rendement de 63 %.

MALDI-TOF : $m/z = 988,213$ $[\text{M}]^{++}$ ($\text{C}_{59}\text{H}_{55}\text{BF}_2\text{N}_8\text{O}_4^{++}$ masse exacte calculée : 988,441)

$m/z = 969,232$ $[\text{M-F}]^+$ ($\text{C}_{59}\text{H}_{55}\text{BFN}_8\text{O}_4^+$ masse exacte calculée : 969,442)

UV-vis (DCM) : λ_{max} (nm) ($\epsilon \times 10^{-3} \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) : 368 (51), 658 (66)

RMN ^1H (Pyr D5, 300 MHz, 300 K) : δ (ppm) 1,10 (t, $J = 7,5$ Hz, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ bodipy) ; 1,35 (s, 6H, $-\text{CH}_3$ bodipy) ; 2,58 (q, $J = 7,5$ Hz, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ bodipy) ; 3,94 (s, 3H, $\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_3$) ; 5,40 (s, 4H, Ar- CH_2 -triazole) ; 5,70 (s, 4H, $-\text{O}-\text{CH}_2$ -triazole) ; 7,12 (d, $J = 8,7$ Hz, 4H, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}-\text{O}$) ; 7,35 (m, 10H, H_{benzyl}) ; 7,53 (d, $J = 15,8$ Hz, 2H, bodipy- $\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}$) ; 7,54 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, bodipy-Ar-COOMe) ; 7,72 (d, $J = 8,7$ Hz, 4H, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}-\text{O}$) ; 8,18 (s, 2H, H_{triazole}) ; 8,31 (d, $J = 15,8$ Hz, 2H, bodipy- $\text{CH}=\text{CH}-\text{Ar}$) 8,34 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, bodipy-Ar-COOMe)

Bibliographie

-
- (1) Weissleder, R.; Pittet, M. J., *Nature* **2008**, *452*, 580-589.
 - (2) Kobayashi, H.; Longmire, M. R.; Ogawa, M.; Choyke, P. L., *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4626-4648.
 - (3) Louie, A. Y., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3146-3195.
 - (4) Pichler, B. J.; Wehrl, H. F.; Judenhofer, M. S., *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 5s-23s.
 - (5) Frullano, L.; Meade, T. J., *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, *12*, 939-949.
 - (6) Lauterburg, P. C., *Nature* **1973**, *242*, 190-191.
 - (7) Major, J. L.; Meade, T. J., *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 893-903.
 - (8) Caravan, P.; Ellison, J. J.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B., *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2293-2352.
 - (9) (a) Solomon, I., *Phys. Rev.* **1955**, *99*, 559-565; (b) Bloembergen, N.; Morgan, L. O., *J. Chem. Phys.* **1961**, *34*, 842-850
 - (10) Caravan, P., *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 512-523.
 - (11) Krause, W., *Contrast agents I : Magnetic Resonance Imaging*. Springer; **2002**; Vol. 221.
 - (12) Seneta, P.; Francèsa, C.; Lipskerb, D., *Ann. Dermatol. Vener.* **2009**, *136*, 380-385.
 - (13) Pan, D. P. J.; Caruthers, S. D.; Senpan, A.; Schmieder, A. H.; Wickline, S. A.; Lanza, G. M., *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* **2011**, *3*, 162-173.
 - (14) Drahos, B.; Kotek, J.; Cisarova, I.; Hermann, P.; Helm, L.; Lukes, I.; Toth, E., *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 12785-12801.
 - (15) Bertin, A.; Steibel, J.; Michou-Gallani, A. I.; Gallani, J. L.; Felder-Flesch, D., *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 760-767.
 - (16) Pan, D. P. J.; Schmieder, A. H.; Wickline, S. A.; Lanza, G. M., *Tetrahedron* **2011**, *67*, 8431-8444.
 - (17) (a) Larsen, E. K. U.; Nielsen, T.; Wittenborn, T.; Birkedal, H.; Vorup-Jensen, T.; Jakobsen, M. H.; Ostergaard, L.; Horsman, M. R.; Besenbacher, F.; Howard, K. A.; Kjems, J., *Acs Nano* **2009**, *3*, 1947-1951; (b) Barreto, J. A.; O'Malley, W.; Kubeil, M.; Graham, B.; Stephan, H.; Spiccia, L., *Adv. Mater.* **2011**, *23*, H18-H40.
 - (18) Na, H. B.; Song, I. C.; Hyeon, T., *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 2133-2148.
 - (19) Terreno, E.; Castelli, D. D.; Viale, A.; Aime, S., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3019-3042.
 - (20) Battistini, E.; Gianolio, E.; Gref, R.; Couvreur, P.; Fuzerova, S.; Othman, M.; Aime, S.; Badet, B.; Durand, P., *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4551-4561.
 - (21) Viswanathan, S.; Kovacs, Z.; Green, K. N.; Ratnakar, S. J.; Sherry, A. D., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2960-3018.
 - (22) (a) Chauvin, T.; Durand, P.; Bernier, M.; Meudal, H.; Doan, B. T.; Noury, F.; Badet, B.; Beloeil, J. C.; Toth, E., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4370-4372; (b) Chauvin, T.; Torres,

- S.; Rosseto, R.; Kotek, J.; Badet, B.; Durand, P.; Toth, E., *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 1408-1418.
- (23) Bonnet, C. S.; Toth, E., *Am. J. Neuroradiol.* **2010**, *31*, 401-409.
- (24) Gullberg, G. T.; Reutter, B. W.; Sitek, A.; Maltz, J. S.; Budinger, T. F., *Phys. Med. Biol.* **2010**, *55*, R111-R191.
- (25) Hamoudeh, M.; Kamleh, M. A.; Diab, R.; Fessi, H., *Adv. Drug Del. Rev.* **2008**, *60*, 1329-1346.
- (26) Liu, S., *Adv. Drug Del. Rev.* **2008**, *60*, 1347-1370.
- (27) Pierce, M. C.; Javier, D. J.; Richards-Kortum, R., *Int. J. Cancer* **2008**, *123*, 1979-1990.
- (28) Pansare, V. J.; Hejazi, S.; Faenza, W. J.; Prud'homme, R. K., *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 812-827.
- (29) Jablonski, A., *Nature* **1933**, *131*, 839-40.
- (30) Lavis, L. D.; Raines, R. T., *Acs Chem. Biol.* **2008**, *3*, 142-155.
- (31) Kobayashi, H.; Ogawa, M.; Alford, R.; Choyke, P. L.; Urano, Y., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2620-2640.
- (32) (a) Yamane, T.; Hanaoka, K.; Muramatsu, Y.; Tamura, K.; Adachi, Y.; Miyashita, Y.; Hirata, Y.; Nagano, T., *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 2227-2236; (b) Lee, H.; Mason, J. C.; Achilefu, S., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7862-7865.
- (33) Kuil, J.; Buckle, T.; Oldenburg, J.; Yuan, H. S.; Borowsky, A. D.; Josephson, L.; van Leeuwen, F. W. B., *Mol. Pharm.* **2011**, *8*, 2444-2453.
- (34) Sampath, L.; Kwon, S.; Hall, M. A.; Price, R. E.; Sevick-Muraca, E. M., *Transl. Oncol.* **2010**, *3*, 307-U71.
- (35) Chen, K.; Li, Z. B.; Wang, H.; Cai, W. B.; Chen, X. Y., *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* **2008**, *35*, 2235-2244.
- (36) Bernhard, C.; Goze, C.; Rousselin, Y.; Denat, F., *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8267-8269.
- (37) Thorp-Greenwood, F. L.; Coogan, M. P., *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6129-6143.
- (38) Pandey, S. K.; Gryshuk, A. L.; Sajjad, M.; Zheng, X.; Chen, Y. H.; Abouzeid, M. M.; Morgan, J.; Charamisinau, I.; Nabi, H. A.; Oseroff, A.; Pandey, R. K., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6286-6295.
- (39) Penet, M. F.; Mikhaylova, M.; Li, C.; Krishnamachary, B.; Glunde, K.; Pathak, A. P.; Bhujwalla, Z. M., *Future Med. Chem.* **2010**, *2*, 975-988.
- (40) Kotkova, Z.; Kotek, J.; Jirak, D.; Jendelova, P.; Herynek, V.; Berkova, Z.; Hermann, P.; Lukes, I., *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 10094-10102.
- (41) Keliris, A.; Ziegler, T.; Mishra, R.; Pohmann, R.; Sauer, M. G.; Ugurbil, K.; Engelmann, J., *Biorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2529-2540.

- (42) Pinho, S. L. C.; Faneca, H.; Geraldès, C. F. G. C.; Delville, M. H.; Carlos, L. D.; Rocha, J., *Biomaterials* **2012**, *33*, 925-935.
- (43) Drzezga, A.; Souvatzoglou, M.; Eiber, M.; Beer, A. J.; Furst, S.; Martinez-Moller, A.; Nekolla, S. G.; Ziegler, S.; Ganter, C.; Rummeny, E. J.; Schwaiger, M., *J. Nucl. Med.* **2012**, *53*, 845-855.
- (44) Overoye-Chan, K.; Koerner, S.; Looby, R. J.; Kolodziej, A. F.; Zech, S. G.; Deng, Q.; Chasse, J. M.; McMurry, T. J.; Caravan, P., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6025-6039.
- (45) Uppal, R.; Catana, C.; Ay, I.; Benner, T.; Sorensen, A. G.; Caravan, P., *Radiology* **2011**, *258*, 812-820.
- (46) Manzoni, L.; Belvisi, L.; Arosio, D.; Bartolomeo, M. P.; Bianchi, A.; Brioschi, C.; Buonsanti, F.; Cabella, C.; Casagrande, C.; Civera, M.; De Matteo, M.; Fugazza, L.; Lattuada, L.; Maisano, F.; Miragoli, L.; Neira, C.; Pilkington-Miksa, M.; Scolastico, C., *Chemmedchem* **2012**, *7*, 1084-1093.
- (47) Frullano, L.; Catana, C.; Benner, T.; Sherry, A. D.; Caravan, P., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2382-2384.
- (48) Yang, X. Q.; Hong, H.; Grailer, J. J.; Rowland, I. J.; Javadi, A.; Hurley, S. A.; Xiao, Y. L.; Yang, Y. A.; Zhang, Y.; Nickles, R.; Cai, W. B.; Steeber, D. A.; Gong, S. Q., *Biomaterials* **2011**, *32*, 4151-4160.
- (49) Kryza, D.; Taleb, J.; Janier, M.; Marmuse, L.; Miladi, I.; Bonazza, P.; Louis, C.; Perriat, P.; Roux, S.; Tillement, O.; Billotey, C., *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 1145-1152.
- (50) Choi, J. S.; Park, J. C.; Nah, H.; Woo, S.; Oh, J.; Kim, K. M.; Cheon, G. J.; Chang, Y.; Yoo, J.; Cheon, J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6259-6262.
- (51) Zeglis, B. M.; Lewis, J. S., *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6168-6195.
- (52) Busch, D. H., *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 847-860.
- (53) Anderegg, G.; Arnaud-Neu, F.; Delgado, R.; Felcman, J.; Popov, K., *Pure Appl. Chem.* **2005**, *77*, 1445-1495.
- (54) Lattuada, L.; Barge, A.; Cravotto, G.; Giovenzana, G. B.; Tei, L., *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 3019-3049.
- (55) Frost, A. E., *Nature* **1956**, *178*, 322.
- (56) Krenning, E. P.; Bakker, W. H.; Kooij, P. P. M.; Breeman, W. A. P.; Oei, H. Y.; Dejong, M.; Reubi, J. C.; Visser, T. J.; Bruns, C.; Kwekkeboom, D. J.; Reijts, A. E. M.; Vanhagen, P. M.; Koper, J. W.; Lamberts, S. W. J., *J. Nucl. Med.* **1992**, *33*, 652-658.
- (57) Brechbiel, M. W.; Gansow, O. A.; Atcher, R. W.; Schlom, J.; Esteban, J.; Simpson, D.; Colcher, D., *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 2772-81.
- (58) Williams, M. A.; Rapoport, H., *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1151-1158.

- (59) Castelli, D. D.; Gianolio, E.; Crich, S. G.; Terreno, E.; Aime, S., *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 2424-2443.
- (60) Takahashi, M.; Takamoto, S., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, 50, 3413-14.
- (61) Riss, P. J.; Kroll, C.; Nagel, V.; Rosch, F., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 5364-5367.
- (62) Craig, A. S.; Parker, D.; Adams, H.; Bailey, N. A., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1793-4.
- (63) Eisenwiener, K. P.; Prata, M. I. M.; Buschmann, I.; Zhang, H. W.; Santos, A. C.; Wenger, S.; Reubi, J. C.; Macke, H. R., *Bioconjugate Chem.* **2002**, 13, 530-541.
- (64) Stetter, H.; Frank, W.; Mertens, R., *Tetrahedron* **1981**, 37, 767-72.
- (65) Wei, L.; Ye, Y.; Wadas, T. J.; Lewis, J. S.; Welch, M. J.; Achilefu, S.; Anderson, C. J., *Nucl. Med. Biol.* **2009**, 36, 277-285.
- (66) Stetter, H.; Frank, W., *Angew. Chem.* **1976**, 15, 686-686.
- (67) Loncin, M. F.; Desreux, J. F.; Merciny, E., *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 2646-8.
- (68) Heppeler, A.; Froidevaux, S.; Macke, H. R.; Jermann, E.; Behe, M.; Powell, P.; Hennig, M., *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 1974-1981.
- (69) Lewis, E. A.; Boyle, R. W.; Archibald, S. J., *Chem. Commun.* **2004**, 2212-2213.
- (70) Drabkin, D. L., *The porphyrins*. Dolphin, D.; Academic Press; **1978**; Vol. 1, pp 31-76.
- (71) Bonnet, R., *The porphyrins*. Dolphin, D.; Academic Press; **1978**; Vol. 1, pp 2-26.
- (72) Sanders, J. K. M.; Bampos, N.; Clyde-Watson, Z.; Darling, L.; Hawley, J. C.; KIM, H.-J.; Ching Mak, C.; Webb, S. J., *The Porphyrin Handbook*. Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R.; Academic Press; **2000**; Vol. 3, pp 1-40.
- (73) Gouterman, M., *The porphyrins*. Dolphin, D.; Academic press; **1978**; Vol. 3, pp 1-156.
- (74) Medforth, G. J., *The Porphyrin Handbook*. Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R.; Academic Press; **2000**; Vol. 5, pp 1-74.
- (75) Rothmund, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, 57, 2010-2011.
- (76) Rothmund, P.; Menotti, A. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, 63, 267-270.
- (77) Lindsey, J. S., *The Porphyrin Handbook*. Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R.; Academic Press; **2000**; Vol. 1, pp 45-112.
- (78) Adler, A. D.; Longo, F. R.; Shergalis, W., *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 3145-3149.
- (79) Adler, A. D.; Sklar, L.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Finarelli, M. G., *J. Heterocycl. Chem.* **1968**, 5, 669-678.
- (80) Lindsey, J. S.; Hsu, H. C.; Schreiman, I. C., *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 4969-70.
- (81) Lindsey, J. S., *Acc. Chem. Res.* **2010**, 43, 300-311.
- (82) Knorr, L., *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1886**, 236, 290-332.
- (83) Barton, D. H. R.; Zard, S. Z., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1098-1100.

- (84) Smith, K. M., *The Porphyrin Handbook*. Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R.; Academic Press; **2000**; Vol. 1, pp 1-40.
- (85) Ravindra, K. P.; Zheng, G., *The Porphyrin Handbook*. Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R.; Academic Press; **2000**; Vol. 6, pp 157-225.
- (86) (a) Dougherty, T. J.; Grindey, G. B.; Fiel, R.; Weishaupt, K. R.; Boyle, D. G., *J. Natl. Cancer Inst.* **1975**, *55*, 115-21; (b) Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korblik, M.; Moan, J.; Peng, Q., *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, *90*, 889-905.
- (87) (a) Drogat, N.; Granet, R.; Le Morvan, C.; Begaud-Grimaud, G.; Krausz, P.; Sol, V., *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3648-3652; (b) Sarrazy, V.; Garcia, G.; Mbakidi, J. P.; Le Morvan, C.; Begaud-Grimaud, G.; Granet, R.; Sol, V.; Krausz, P., *J Photoch Photobio B* **2011**, *103*, 201-206.
- (88) Lovell, J. F.; Liu, T. W. B.; Chen, J.; Zheng, G., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2839-2857.
- (89) Guillaume, G.; Sarrazy, V.; Sol, V.; Le Morvan, C.; Granet, R.; Alves, S.; Krausz, P., *Biorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 767-776.
- (90) (a) Iverson, B. L.; Shreder, K.; Kral, V.; Smith, D. A.; Smith, J.; Sessler, J. L., *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 845-850; (b) Lipscomb, L. A.; Zhou, F. X.; Presnell, S. R.; Woo, R. J.; Peek, M. E.; Plaskon, R. R.; Williams, L. D., *Biochemistry-Us* **1996**, *35*, 2818-2823.
- (91) Biver, T.; Secco, F.; Venturini, M., *Coord. Chem. Rev.* **2008**, *252*, 1163-1177.
- (92) Sun, R. W. Y.; Che, C. M., *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 1682-1691.
- (93) Collman, J. P.; Zhang, X.; Herrmann, P. C.; Uffelman, E. S.; Boitrel, B.; Straumanis, A.; Brauman, J. I., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2681-2682.
- (94) Bulach, V.; Mandon, D.; Weiss, R., *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 611-14
- (95) Koeller, S.; Cocolios, P.; Guillard, R., *New J. Chem.* **1994**, *18*, 849-859.
- (96) Boitrel, B.; Guillard, R., *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3719-22.
- (97) Andrioletti, B.; Ricard, D.; Boitrel, B., *New J. Chem.* **1999**, *23*, 1143-1150.
- (98) Rose, E.; Kossanyi, A.; Quelquejeu, M.; Soleilhavoup, M.; Duwavran, F.; Bernard, N.; Lecas, A., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 1567-1568.
- (99) Bulach, V.; Sguerra, F.; Hosseini, M. W., *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 1468-1478.
- (100) Beeby, A.; Dickins, R. S.; FitzGerald, S.; Govenlock, L. J.; Maupin, C. L.; Parker, D.; Riehl, J. P.; Siligardi, G.; Williams, J. A. G., *Chem. Commun.* **2000**, 1183-1184.
- (101) Kuznetsova, R. T.; Ermolina, E. G.; Gadirov, R. M.; Mayer, G. V.; Semenishin, N. N.; Zhuravlev, S. A.; Rusakova, N. V.; Korovin, Y. V., *Opt. Spectrosc.* **2009**, *106*, 672-676.
- (102) Murugesan, S.; Shetty, S. J.; Srivastava, T. S.; Noronha, O. P. D.; Samuel, A. M., *Appl. Radiat. Isot.* **2001**, *55*, 641-646.

- (103) Goswami, L. N.; White, W. H.; Sperryak, J. A.; Ethirajan, M.; Chen, Y. H.; Missert, J. R.; Morgan, J.; Mazurchuk, R.; Pandey, R. K., *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 816-827.
- (104) Valeur, E.; Bradley, M., *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606-631.
- (105) Harris, D.; Johnson, A. W.; Gaete-Holmes, R., *Bioorg. Chem.* **1980**, *9*, 63-70.
- (106) (a) Habermeyer, B. Thèse de l'université de Bourgogne. **2011**; (b) Barbe, J.-M.; Habermeyer, B.; Khoury, T.; Gros, C. P.; Richard, P.; Chen, P.; Kadish, K. M., *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 8929-8940.
- (107) Canard, G. Thèse de l'université de Bourgogne. **2004**.
- (108) Chkounda, M. Thèse de l'université de Bourgogne. **2009**.
- (109) Takai, A.; Chkounda, M.; Eggenspiller, A.; Gros, C. P.; Lachkar, M.; Barbe, J. M.; Fukuzumi, S., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4477-4489.
- (110) Corey, E. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1906-1908.
- (111) Vaultier, M.; Knouzi, N.; Carrie, R., *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 763-764.
- (112) Littler, B. J.; Ciringh, Y.; Lindsey, J. S., *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2864-2872.
- (113) Lavallee, D. K.; Xu, Z. J.; Pina, R., *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6000-6008.
- (114) Le Pleux, L.; Pellegrin, Y.; Blart, E.; Odobel, F.; Harriman, A., *J. Phys. Chem. A* **2011**, *115*, 5069-5080.
- (115) Bregier, F.; Aly, S. M.; Gros, C. P.; Barbe, J. M.; Rousselin, Y.; Harvey, P. D., *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 14643-14662.
- (116) Lee, J.; Kim, Y.; Kang, S. K.; Choi, I.; Yi, J., *Korean J. Chem. Eng.* **2006**, *23*, 512-515.
- (117) Kumar, K.; Chang, C. A.; Francesconi, L. C.; Dischino, D. D.; Malley, M. F.; Gougoutas, J. Z.; Tweedle, M. F., *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 3567-75.
- (118) (a) Shokeen, M.; Anderson, C. J., *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 832-841; (b) Anderson, C. J.; Welch, M. J., *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2219-2234.
- (119) Kadish, K. M.; Royal, G.; Van Caemelbecke, E.; Gueletti, L., *The Porphyrin Handbook*. Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R.; Academic Press; **2000**; Vol. 9, pp 1-212.
- (120) Woodin, K. S.; Heroux, K. J.; Boswell, C. A.; Wong, E. H.; Weisman, G. R.; Niu, W.; Tomellini, S. A.; Anderson, C. J.; Zakharov, L. N.; Rheingold, A. L., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 4829-4833.
- (121) Boswell, C. A.; Sun, X. K.; Niu, W. J.; Weisman, G. R.; Wong, E. H.; Rheingold, A. L.; Anderson, C. J., *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1465-1474.
- (122) Zhu, X. J.; Zhang, T.; Zhao, S. S.; Wong, W. K.; Wong, W. Y., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, 3314-3320.
- (123) Linge, K. L., *Geostandards and Geoanalytical Research* **2008**, *32*, 453-468.
- (124) Hermann, P.; Kotek, J.; Kubicek, V.; Lukes, I., *Dalton Trans.* **2008**, 3027-3047.

- (125) Barge, A.; Cravotto, G.; Gianolio, E.; Fedeli, F., *Contrast Media Mol. I.* **2006**, *1*, 184-188.
- (126) Corsi, D. M.; Platas-Iglesias, C.; van Bakkum, H.; Peters, J. A., *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, 723-726.
- (127) Hindre, F.; Leplouzenec, M.; Decertaines, J. D.; Foulter, M. T.; Patrice, T.; Simonneaux, G., *Jmri-J. Magn. Reson. Im.* **1993**, *3*, 59-65.
- (128) Song, Y.; Zong, H.; Trivedi, E. R.; Vesper, B. J.; Waters, E. A.; Barrett, A. G. M.; Radosevich, J. A.; Hoffman, B. M.; Meade, T. J., *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 2267-2275.
- (129) Drahos, B.; Lukes, I.; Toth, E., *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 1975-1986.
- (130) Wadas, T. J.; Wong, E. H.; Weisman, G. R.; Anderson, C. J., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2858-2902.
- (131) Kano, K., *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2004**, *8*, 148-155.
- (132) BedelCloutour, C. H.; Mauclaire, L.; Saux, A.; Pereyre, M., *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 617-627.
- (133) Mroz, P.; Bhaumik, J.; Dogutan, D. K.; Aly, Z.; Kamal, Z.; Khalid, L.; Kee, H. L.; Bocian, D. F.; Holten, D.; Lindsey, J. S.; Hamblin, M. R., *Cancer Lett.* **2009**, *282*, 63-76.
- (134) Sansiaume, E.; Ricoux, R.; Gori, D.; Mahy, J.-P., *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 1593-1600.
- (135) Luguya, R.; Jaquinod, L.; Fronczek, F. R.; Vicente, A. G. H.; Smith, K. M., *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2757-2763.
- (136) (a) Dong, Z.; Scammells, P. J., *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9881-9885; (b) Barbat, A.; Gloaguen, V.; Sol, V.; Krausz, P., *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 6538-6544; (c) Dixon, D. W.; Gill, A. F.; Giribabu, L.; Vzorov, A. N.; Alam, A. B.; Compans, R. W., *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 813-821.
- (137) Giuntini, F.; Alonso, C. M. A.; Boyle, R. W., *Photoch Photobio Sci* **2011**, *10*, 759-791.
- (138) Bertozzi, C. R.; Sletten, E. M., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6974-6998.
- (139) Sibrian-Vazquez, M.; Jensen, T. J.; Fronczek, F. R.; Hammer, R. P.; Vicente, M. G. H., *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 852-863.
- (140) Gros, C. P.; Eggenspiller, A.; Nonat, A.; Barbe, J. M.; Denat, F., *Medchemcomm* **2011**, *2*, 119-125.
- (141) Loudet, A.; Burgess, K., *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891-4932.
- (142) Treibs, A.; Kreuzer, F.-H., *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1968**, *718*, 208-223.
- (143) Boens, N.; Leen, V.; Dehaen, W., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1130-1172.
- (144) Marks, D. L.; Bittman, R.; Pagano, R. E., *Histochemistry and Cell Biology* **2008**, *130*, 819-832.
- (145) Maas, H.; Calzaferri, G., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2284-2288.

- (146) Zhou, Y.; Xiao, Y.; Li, D.; Fu, M. Y.; Qian, X. H., *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1571-1574.
- (147) Koepf, M.; Trabolsi, A.; Elhabiri, M.; Wytko, J. A.; Paul, D.; Albrecht-Gary, A. M.; Weiss, J., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1279-1282.
- (148) Wagner, R. W.; Lindsey, J. S.; Seth, J.; Palaniappan, V.; Bocian, D. F., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3996-7.
- (149) Gabe, Y.; Ueno, T.; Urano, Y.; Kojima, H.; Nagano, T., *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 621-626.
- (150) Tahtaoui, C.; Thomas, C.; Rohmer, F.; Klotz, P.; Duportail, G.; Mely, Y.; Bonnet, D.; Hibert, M., *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 269-272.
- (151) Eggenspiller, A.; Takai, A.; El-Khouly, M. E.; Ohkubo, K.; Gros, C. P.; Bernhard, C.; Goze, C.; Denat, F.; Barbe, J. M.; Fukuzumi, S., *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 3889-3898.
- (152) Chaleix, V.; Sol, V.; Krausz, P., *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2977-2979.
- (153) Roth, K. M.; Yasseri, A. A.; Liu, Z. M.; Dabke, R. B.; Malinovskii, V.; Schweikart, K. H.; Yu, L. H.; Tiznado, H.; Zaera, F.; Lindsey, J. S.; Kuhr, W. G.; Bocian, D. F., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 505-517.
- (154) Littler, B. J.; Miller, M. A.; Hung, C. H.; Wagner, R. W.; O'Shea, D. F.; Boyle, P. D.; Lindsey, J. S., *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1391-1396.
- (155) Baeumler, W.; Penzkofer, A., *Chem. Phys.* **1990**, *140*, 75-97.
- (156) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- (157) Meldal, M.; Tornøe, C. W., *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952-3015.
- (158) (a) Severac, M.; Le Pleux, L.; Scarpaci, A.; Blart, E.; Odobel, F., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6518-6522; (b) Hao, E.; Jensen, T. J.; Vicente, M. G. H., *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2009**, *13*, 51-59; (c) Ringot, C.; Sol, V.; Granet, R.; Krausz, P., *Mater. Lett.* **2009**, *63*, 1889-1891.
- (159) Dost, Z.; Atilgan, S.; Akkaya, E. U., *Tetrahedron* **2006**, *62*, 8484-8488.
- (160) Satake, A.; Kobuke, Y., *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1679-1691.
- (161) Brizet, B.; Eggenspiller, A.; Gros, C. P.; Barbe, J. M.; Goze, C.; Denat, F.; Harvey, P. D., *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3646-3650.

Communication des résultats

Publications

1) Design of porphyrin-DOTA-like scaffolds as all-in-one multimodal heterometallic complexes for medical imaging. Eggenpillier A.; Michelin C.; Desbois N.; Richard P.; Barbe J.-M.; Denat F.; Gros C. P., to be submitted.

2) Synthesis and Photodynamics of Fluorescent Blue BODIPY–Porphyrin Tweezers Linked by Triazole Rings. Eggenpillier, A.; Takai, A.; El-Kouhly, M. E.; Ohkubo, K.; Gros, C. P.; Bernhard, C.; Goze, C.; Denat, F.; Barbe, J.-M.; Fukuzumi, S., *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, pp 3889-3898.

3) B,B-diporphyrinbenzyloxy-BODIPY dyes: Synthesis and Antenna Effect. Brizet, B.; Eggenpillier, A.; Gros, C. P.; Barbe, J.-M.; Goze, C.; Denat, F.; Harvey, P. D., *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, pp 3646-3650.

4) New potential bimodal imaging contrast agents based on DOTA-like and porphyrin macrocycles Gros, C. P.; Eggenpillier, A.; Nonat, A.; Barbe, J.-M.; Denat, F., *Med. Chem. Commun.* **2011**, *2*, 119-125.

5) Efficient Photoinduced Electron Transfer in a Porphyrin Tripod–Fullerene Supramolecular Complex via π – π Interactions in Nonpolar Media. Takai, A.; Chkounda, M.; Eggenpillier, A. ; Gros, C. P. ; Lachkar, M. ; Barbe, J.-M. ; Fukuzumi, S., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, pp 4477-4489.

Communications orales

1) 5 et 6 mai 2011 : XIIèmes Journées des écoles Doctorales Carnot et Pasteur, Dijon. Nouveaux Complexes hétérobimétalliques, agents de contraste multimodaux pour l'imagerie médicale.

2) 3-8 juin 2012 : GECOM-CONCOORD 2012 (Congrès de Chimie de Coordination, Chimie Organométallique et Catalyse) Metabief-Mont d'or. Heterobimetallic complexes, a porphyrin-cyclen association for MRI/PET imaging. Synthesis and preliminary studies.

3) 14 et 15 juin 2012. XIIIèmes Journées des écoles Doctorales Carnot et Pasteur, Besançon. Synthèse et études d'une série de ligands et complexes hétérobimétalliques pour l'imagerie IRM/TEP.

4) 10 et 11 septembre 2012. 3rd Czech-French Vlatva Meeting of Chemistry in Burgundy, Dijon. Porphyrin-Cyclen Scaffolds, New Metal Chelators for Medical Imaging, Preliminary Studies.

1) 6 et 7 mai 2010 : XIèmes journées des écoles doctorales Louis pasteur et Carnot, Besançon. Elaborations de systèmes hétérobimétalliques à base de tétraazacycloalcanes et de porphyrines : agents de contraste bimodaux potentiels. Antoine EGGENSPILLER.

2) 14-16 juin 2010 : Troisièmes journées de rencontres du GPOL (Groupe d'études en chimie des POLyamines cycliques et linéaires), Orléans. Agents de contraste bimodaux potentiels à base de tétraazacycloalcanes et de porphyrines. Antoine EGGENSPILLER, Claude GROS, Aline NONAT, Franck DENAT, Jean-Michel BARBE.

3) 9 et 10 septembre 2010 : 1st Czech-French Vlatva Meeting of Chemistry in Burgundy, Dijon. Potential bimodal contrast agents based on tetraazamacrocycles and porphyrins. Antoine EGGENSPILLER, Claude GROS, Aline NONAT, Franck DENAT, Jean-Michel BARBE.

4) 13 avril 2011 : Deuxième journée scientifique IFR 100 « Santé – STIC », Dijon. Nouveaux agents de contraste bimodaux à base de porphyrines et de tétraazacycloalcanes. Antoine EGGENSPILLER, Claude GROS, Aline NONAT, Franck DENAT, Jean-Michel BARBE.

5) 19-21 juin 2011 : 6th European Molecular Imaging Meeting, Leiden, Pays-bas. New potential bimodal imaging contrast agents based on DOTA-like and porphyrin macrocycles. Antoine EGGENSPILLER, Claude GROS, Aline NONAT, Franck DENAT, Jean-Michel BARBE.

6) 3-8 juin 2012 : GECOM-CONCOORD 2012 (Congrès de Chimie de Coordination, Chimie Organométallique et Catalyse) Metabief-Mont d'or. Heterobimetallic complexes, a porphyrin-cyclen association for MRI/PET imaging. Synthesis and preliminary studies. Antoine EGGENSPILLER, Nicolas DESBOIS, Franck DENAT, Jean-Michel BARBE, Claude GROS.

7) 10 et 11 septembre 2012. 3rd Czech-French Vlatva Meeting of Chemistry in Burgundy, Dijon. Heterobimetallic complexes, a porphyrin-cyclen association for MRI/PET imaging. Synthesis and preliminary studies. Antoine EGGENSPILLER, Nicolas DESBOIS, Franck DENAT, Jean-Michel BARBE, Claude GROS.

8) 26-30 août 2012. 4th EuCheMS (European Chemistry Congress) Prague, République Tchèque. Synthesis and preliminary studies of Porphyrin-DOTA ligands and related heterobimetallic complexes for MRI/PET imaging. Antoine EGGENSPILLER, Nicolas DESBOIS, Franck DENAT, Jean-Michel BARBE, Claude GROS.

Prix

1) 13 avril 2011 : Prix du meilleur poster : Deuxième journée scientifique IFR 100 « Santé – STIC », Dijon.

2) 6 mai 2011 : Prix de communication orale de l'UIC (Union des Industries Chimiques) : XIIèmes Journées des écoles Doctorales Carnot et Pasteur, Dijon.

3) 26-30 août 2012 : Bourse de voyage de la SCF pour le 4th EuCheMS (European Chemistry Congress at Prague)

The goal of my PhD thesis was to synthesize new molecules, which give access to heterobimetallic complexes with interesting properties for multimodal imaging. In this manuscript, several main points have been studied.

The first part of this work concerns the synthesis and characterization of ligands. We describe here the synthesis of five new ligands based on the association of one porphyrin and one or several cyclen derivatives. Those ligands are water-soluble. During the synthesis, we have targeted improvements to our work and developed a new synthetic pathway, which allowed us to obtain one ligand incorporating a porphyrin, a cyclen derivative and a free amine function. This function could be activated to further graft the ligand onto a biological vector.

The second part of this manuscript describes the chelation of metallic centers into the ligands and the study of their efficiency as MRI contrast agents. We describe the synthesis of five gadolinium (III) complexes and three heterobimetallic complexes associating gadolinium (III) with copper (II). Indeed, gadolinium is currently used in contrast agents for MRI and the radioactive isotope of copper, copper-64 is used in PET imaging. We describe also a procedure to measure the relaxivity of the gadolinium complexes at low and high magnetic fields. Five complexes exhibit relaxivity values five times larger than commercially available MRI contrast agents.

The last part of this work is related to the synthesis, characterization and photophysical studies of four molecular antennas incorporating porphyrins and BODIPY. We describe two original synthetic pathways. The first one is based on the formation of boron-oxygen bonds by substitution of the fluorine atoms bound to BODIPY boron atom. The second synthetic pathway involves the Huisgen's dipolar cycloaddition. We describe photophysical data and give evidences of the energy transfer from BODIPY to porphyrin. We present also the first example of energy transfer from porphyrin to BODIPY in the system obtained by "click" chemistry involving an extended "blue" BODIPY.

Keywords:

Porphyrins	Tetraazamacrocycles	Multimodal imaging
MRI / PET	Heterobimetallic complexes	BODIPY
Energy transfer	Relaxivity studies	"Click" chemistry
DOTA	Gadolinium	Contrast agents

Le travail présenté dans ce mémoire avait pour but de synthétiser de nouvelles molécules dont l'architecture donne accès à des complexes hétérobimétalliques aux propriétés intéressantes pour l'imagerie médicale multimodale. Dans ce manuscrit plusieurs points principaux ont donc été abordés.

La première partie de ce travail porte sur la synthèse et la caractérisation des ligands. Nous décrivons dans ce manuscrit la synthèse de cinq nouveaux ligands hétérobismacrocycliques basés sur l'association d'une porphyrine et d'un ou de plusieurs dérivés du cyclène. Ces ligands présentent la particularité d'être solubles en milieux aqueux. Au cours des synthèses, nous avons ciblé les améliorations à apporter à notre travail et élaboré une nouvelle voie de synthèse qui permet d'accéder, en seulement six étapes, à un ligand composé d'une porphyrine, d'un dérivé du cyclène et d'une fonction amine libre qui permettra de greffer le ligand sur un vecteur biologique.

La seconde partie de ce manuscrit porte sur l'incorporation de centres métalliques dans les ligands synthétisés ainsi que l'étude de leur efficacité en tant qu'agent de contraste de l'IRM. Nous décrivons la synthèse de cinq complexes de gadolinium (III) et de trois complexes hétérobimétalliques associant du gadolinium (III) et du cuivre (II). En effet, le gadolinium est actuellement utilisé dans les agents de contraste de l'IRM et un des isotopes du cuivre, le cuivre-64, est utilisé en imagerie PET. Nous décrivons un protocole de mesure de la relaxivité des complexes à haut et à bas champs magnétiques. Cinq complexes présentent des valeurs de relaxivité quatre fois supérieures à celles des agents de contraste commerciaux de l'IRM.

Le dernier chapitre de ce travail porte sur la synthèse, la caractérisation et les études photophysiques de quatre antennes moléculaires associant des porphyrines et des BODIPY. Nous avons développé deux voies de synthèses originales. La première est basée sur la création de liaisons bore-oxygène en substituant les atomes de fluor portés par l'atome de bore des BODIPY. L'autre voie de synthèse utilise la réaction de cycloaddition dipolaire d'Huisgen. Nous décrivons des études photophysiques qui mettent en évidence des transferts d'énergie du BODIPY vers la porphyrine. Nous avons mis en évidence le premier exemple de transfert d'énergie d'une porphyrine vers un BODIPY grâce à un système "blue" BODIPY étendu couplé à des porphyrines par une réaction de chimie "click".

Mots clés :

Porphyrines	Tétraazamacrocycles	Imagerie multimodale
IRM / PET	Complexes hétérobimétalliques	BODIPY
Transferts d'énergie	Etudes de relaxivité	Chimie "click"
DOTA	Gadolinium	Agents de contraste