Synthèse de nouveaux agents bimodaux hydrosolubles pour l'IRM, l'imagerie nucléaire, l'imagerie biphotonique et la génération de second harmonique

Clement Michelin

▶ **To cite this version:**

Clement Michelin. Synthèse de nouveaux agents bimodaux hydrosolubles pour l'IRM, l'imagerie nucléaire, l'imagerie biphotonique et la génération de second harmonique. Chimie organique. Université de Bourgogne, 2015. Français. NNT : 2015DIJOS014 . tel-01374510

HAL Id: tel-01374510

https://theses.hal.science/tel-01374510

Submitted on 30 Sep 2016

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'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

Mention : Chimie-Physique

Par

Clément MICHELIN

Maître ès Sciences

Synthèse de nouveaux agents bimodaux hydrosolubles pour l'IRM, l'imagerie nucléaire, l'imagerie biphotonique et la génération de second harmonique

---

Soutenue le 8 avril 2015 devant la commission d'examen

Céline FROCHOT	Directeur de Recherche CNRS, Nancy	Rapporteur
Olivier SIRI	Directeur de Recherche CNRS, Marseille	Rapporteur
Frédéric BOLZE	Maître de conférences à l'Université de Strasbourg	Examinateur
Franck DENAT	Professeur à l'Université de Bourgogne	Examinateur
Nicolas DESBOIS	Maître de conférences à l'Université de Bourgogne	Co-encadrant de thèse
Claude GROS	Professeur à l'Université de Bourgogne	Directeur de thèse

Remerciements

Ces travaux de thèse ont été effectués 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 (UMR 6302) entre l'Université de Bourgogne et le Centre National de la Recherche Scientifique.

Je tiens tout d'abord à remercier sincèrement Madame Céline FROCHOT, Directeur de recherche CNRS au LRGP de Nancy et Monsieur Olivier SIRI, Directeur de recherche CNRS au CINaM de Marseille pour avoir accepté de juger ce travail

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur Frédéric BOLZE, Maître de conférences à l'Université de Strasbourg et Franck DENAT, professeur à l'Université de Bourgogne pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Pour m'avoir accueilli et pour m'avoir offert l'opportunité d'effectuer ces travaux au sein de l'ICMUB, je tiens à remercier les Professeurs Frank DENAT et Pierre LEGENDRE.

Je remercie le Professeur Claude GROS pour m'avoir encadré pendant ces années de thèse ainsi que pour sa disponibilité et ses conseils.

Je tiens à remercier le Docteur Nicolas DESBOIS pour avoir co-encadré mon travail, ainsi que pour ses encouragements, les discussions et ses conseils tout au long de cette thèse.

Je remercie vivement Monsieur Frédéric BOSCHETTI, PDG de la société CheMatech® pour m'avoir fourni des précurseurs macrocycliques essentiels à mon travail.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Monsieur Benoit HABERMEYR, PDG de la société Porphychem® pour ses conseils et toutes les discussions que nous avons échangé au sein du laboratoire et pour m'avoir fourni des précurseurs porphyriniques.

Pour leur disponibilité, leur aide et leurs conseils concernant la spectrométrie de masse, la RMN et l'ICP, je tiens à remercier Marie-José PENOUILH, Fanny PICQUET et Myriam HEYDEL. Je remercie également Marcel SOUSTELLE pour sa disponibilité, ses conseils et sa connaissance dans l'utilisation de matériel ou les produits « exotiques ». Je remercie également Christine STERN pour sa capacité à résoudre les problèmes informatiques que j'ai rencontré pendant ma thèse ainsi que son expertise en spectroscopie infra-rouge.

Je tiens ensuite à remercie tous les stagiaires que j'ai eu la chance d'encadrer pendant mon année de master et mes années de thèse : Ludivine, Pizouille, Maëlle, Mayayo, Cédric et Valentin.

Je remercierai ensuite tous mes collègues du laboratoire R08 et de Porphychem® : Alexandre, Sandrine, Antoine, Yi, Coco et ma Bubuche. Et j'en profite pour adresser une pensée particulière à mon prédécesseur Antoine Eggenspiller.

Je tiens à remercier très sincèrement les deux autres membres de la triplette magique, Bernuze et Lhenrips pour la bonne ambiance qu'ils ont toujours apporté.

Je remercie ensuite tous les collègues de l'ICMUB avec qui j'ai eu la chance de travailler et de partager de très bons moments au laboratoire comme à l'extérieur. Je citerai en particulier Spot, Clairoups, Mr Paulin, Morus, Stéphane, Marie-Jo, Semrus, Bertrand, Paulette, Adrien, Aurélien, Mylène, Maindrus…

Je ne terminerai pas ces remerciements sans une pensée toute particulière à Romain chez qui j'ai passé la plupart de mes week-ends et vacances. Merci pour ton soutien, et ton aide chaque fois que j'en ai eu besoin.

Enfin, je remercie de tout mon cœur mes parents, pour m'avoir aidé, encouragé et toujours soutenu dans mes choix, ma sœur, mon frère, Fabien, Lelette ainsi que mes neveux et nièces pour leur bonne humeur.

Merci à tous.

Table des matières

Avant-propos 15

Notations et abréviations 21

Introduction générale 27

1. L'imagerie médicale 27

1.1. Principe et histoire 27
1.2. Les différentes techniques d'imagerie médicale 28
1.2.1. L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) 28
1.2.1.1. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) 29
1.2.1.2. Principe de fonctionnement de l'IRM 30
1.2.1.3. Avantages et inconvénients 30
1.2.1.4. Les avancées récentes en IRM 32
1. 2. 1. 4. 1. L'IRM avec cyclage de champ rapide 32
1. 2. 1. 4. 2. L'IRM fonctionnelle 32
1.2.2. Les imageries fonctionnelles 33
1.2.2.1. Les scintigraphies nucléaires 33
1. 2. 2. 1. 1. La Tomographie par Émission de Positrons (TEP) 34
1. 2. 2. 1. 2. La Tomographie par Émission MonoPhotonique (TEMP) 35
1. 2. 2. 1. 3. Avantages et inconvénients des scintigraphies nucléaires 36
1.2.2.2. L'imagerie optique 36
1.2.2.3. Principe de fonctionnement 36
1.2.2.4. Imagerie par optique non-linéaire 38
1. 2. 2. 4. 1. L'absorption à deux photons (ADP) 40
1. 2. 2. 4. 2. Microscopie biphotonique 41
1. 2. 2. 4. 3. La génération de second harmonique (GSH) 42
1.2.3. Multimodalité 43
1.2.3.1. L'imagerie multimodale actuelle 44
1.2.3.2. Avancées récentes de l'imagerie multimodale 44
1. 2. 3. 2. 1. Association de l'IRM à l'imagerie nucléaire 44
1. 2. 3. 2. 2. Association de l'imagerie optique et nucléaire 45
1. 2. 3. 2. 3. Association de l'imagerie optique et de l'IRM 45
1.3. Agents imageants 46
1.3.1. Agents Monomodaux 46
1.3.1.1. Agents de contraste utilisés en IRM 46
1. 3. 1. 1. 1. Agents de contraste à base de gadolinium (III) 47

1. 3. 1. 1. 2. Agents de contraste à base d'autres métaux 48
1.3.1.2. Traceurs nucléaires pour les scintigraphies 49
1.3.1.3. Fluorophores pour l'imagerie optique 51
1. 3. 1. 3. 1. Fluorophores pour l'absorption à deux photons 52
1. 3. 1. 3. 2. Harmonophores pour la GSH 54
1.3.2. Agents multimodaux 56
1.3.2.1. Agents multimodaux pour l'IRM et l'imagerie nucléaire 56
1. 3. 2. 1. 1. Approche monomoléculaire 56
1. 3. 2. 1. 2. Utilisation de nanoparticules 57
1.3.2.2. Agents multimodaux pour l'imagerie optique et nucléaire 58
1.3.2.3. Agents multimodaux pour l'imagerie optique et l'IRM 59
1.3.3. Agents théragnostiques 61
1.4. Biovectorisation 62
1.4.1. Fonctions de greffage 64
1.4.1.1. Ciblage des amines primaires 64
1.4.1.2. Ciblage des thiols 65
1.4.1.3. Ciblage d'acides aminés non-naturels 65
1.4.2. Exemples de composés bioconjugués 66
1.4.2.1. Bioonjugaison par un anticorps 66
1.4.2.2. Bioconjugaison par un fragment d'anticorps 66
1.4.2.3. Bioconjugaison par un peptide 67
1.4.2.4. Bioconjugaison par une petite molécule 68
1.4.2.5. « Pre-targeting » 68

2. Molécules d'intérêts 69

2.1. Les macrocycles chélatants 69
2.1.1. Ligands polyaminocarboxyliques 70
2.1.2. Porphyrines 71
2.2. Les fluorophores pour l'imagerie biphotonique 74
2.2.1. Dicétopyrrolopyrroles 74

Chapitre I : Synthèse et caractérisation de porphyrines-DOTA like 81

1. Projet 81

1.1. Exemples de la littérature 82

2. Molécule modèle 84

2.1. Synthèse du ligand modèle 84
2.1.1. Synthèse de la porphyrine 85

2.1.2. Ajout du dérivé du DOTA 91
2.2. Métallation du ligand 96
2.2.1. Métallation au gadolinium 96
2.2.2. Métallation au cuivre 98

3. Molécule présentant une fonction d'ancrage 101

3.1. Synthèse du ligand 101
3.2. Métallation du ligand 111
3.2.1. Métallation au gadolinium 111
3.2.2. Métallation au cuivre 112
3.3. Greffage des molécules vectrices 112
3.3.1. Greffage du dérivé de l'acide folique 112
3.3.2. Greffage du sucre 116
3.4. Mesures préliminaires 120
3.4.1. Mesures de relaxivités 120

4. Conclusion 122

5. Perspectives 123

5.1. Ajout de fonctions hydrosolubilisantes 123
5.2. Utilisation de chimie « click » 130

Chapitre II : 139

Synthèse et caractérisation de composés pour l'imagerie optique non-linéaire 139

1. Contexte 139

1.1. Choix de l'harmonophore 139
1.2. Exemple de la littérature 140

2. Synthèse et caractérisation des porphyrines 140

2.1. Synthèse de porphyrines à chaînes aliphatiques 141
2.2. Synthèse des porphyrines zwitterioniques 143

3. Caractérisation des composés 145

4. Images sur cellules 152

4.1. Microscopie confocale 152

5. Conclusion 156

6. Perspectives 156

1. Projet 159

2. Synthèse et caractérisations 160

2.1. Formation du DPP 160
2.2. Fonctionnalisation du DPP 162
2.3. Ajout du dérivé du DOTA....163

3. Résultats et discussion 167

4. Conclusions et perspectives 168

Conclusion générale 173

Partie expérimentale 179

1. Instrumentation 179

2. Mode opératoire....181

Bibliographie 241

Communication des résultats 253

AVANT-PROPOS

Avant-propos

L'imagerie médicale est un outil très performant et actuellement très utilisé en clinique. Cependant, beaucoup d'améliorations sont encore à apporter.

Le but de nos travaux était de synthétiser des composés potentiellement utilisables dans trois types d'imagerie : l'imagerie nucléaire, l'IRM et l'imagerie optique.

Le premier projet est basé sur la synthèse d'agents bimétalliques associant des propriétés de paramagnétisme pour une application en IRM et des propriétés de radioactivité pour l'imagerie nucléaire. Pour cela, nous avons réalisé la synthèse de composés associant une porphyrine (connue pour ses capacités à piéger des métaux de transition) et un polyazamacrocycle dérivé du DOTA (connu pour sa forte affinité avec de nombreux métaux). Ainsi, nous obtenons des composés possédant deux cavités macrocycliques ayant des propriétés de chélation différentes. Il est alors possible de métaller la première cavité avec un métal d'intérêt pour l'imagerie nucléaire (comme le cuivre-64) et la seconde avec un métal d'intérêt pour l'IRM (comme le gadolinium). Enfin, ces composés devront être greffés à une biomolécule afin d'être vectorisés vers une cible d'intérêt. La figure ci-dessous présente un schéma des molécules cibles (Figure 1).

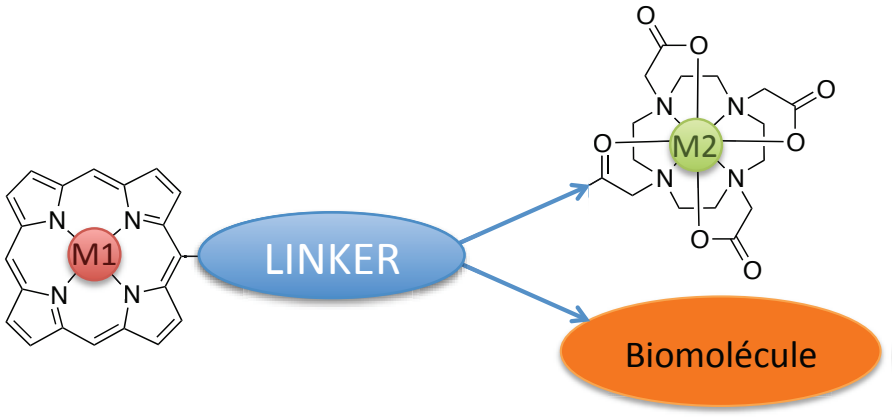


Figure 1 : Molécules cibles du premier projet

Le second projet concerne la synthèse de porphyrines zwittérioniques amphiphiles. Ces molécules devront présenter un groupement donneur et un accepteur afin d'être potentiellement actives en imagerie cellulaire par Génération de Second Harmonique (GSH). De plus, cette imagerie est particulièrement efficace pour la visualisation de processus dans les membranes cellulaires. C'est pourquoi ils doivent

présenter des chaînes liposolubilisantes pour s'incorporer dans les membranes. Les molécules cibles sont présentées ci-dessous (Figure 2).

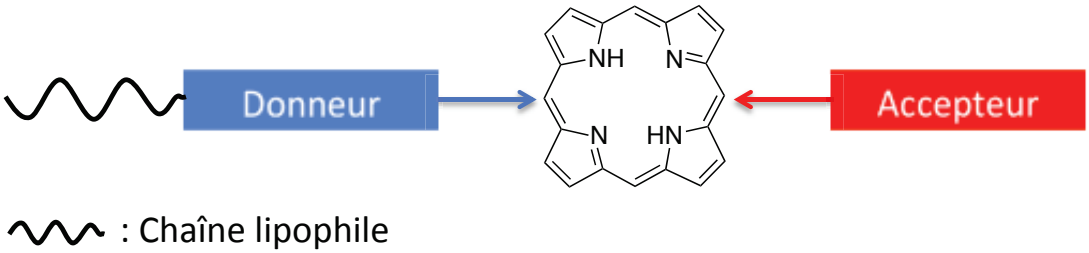


Figure 2 : Molécules cibles du second projet

Enfin, le dernier projet consiste en la synthèse de composés potentiellement utilisables en imagerie optique biphotonique et en IRM. Pour cela, nous avons travaillé sur un cœur DPP (DicétoPyrroloPyrrole) connu pour être un bon fluorophore et présentant également de bonnes propriétés pour l'absorption biphotonique. Nous avons greffé un dérivé du DOTA afin de le métaller avec du gadolinium pour le rendre imageable en IRM. La figure 3 présente la molécule cible.

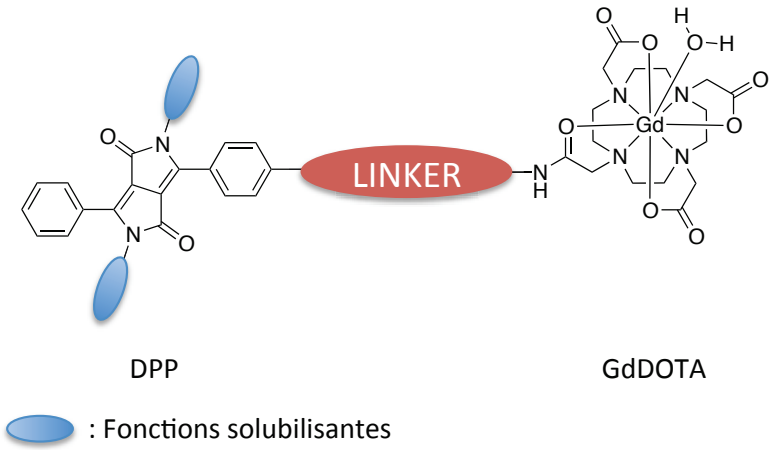


Figure 3 : Molécule cible du troisième projet

Cette thèse s'inscrit dans le projet 3MIM (Marquage des Molécules par des Métaux pour l'Imagerie Médicale). Les travaux réalisés et présentés ci-après concernent principalement la synthèse et la caractérisation de nouveaux composés potentiellement utilisables en imagerie.

NOTATIONS ET ABREVIATIONS

Notations et abréviations

- Produits / Solvants

BOPTA	Acide **b**enzyl**o**xy**p**ropionique **t**étra**a**cétique
CHCA	**A**cide α-**c**yano-4-**h**ydroxy**c**innamique
DCM	**D**i**c**hloro**m**éthane
DCC	*N*,*N*'-**d**i**c**yclohexyl**c**arbodiimide
DHB	Acide 2,5-**d**i**h**ydroxy**b**enzoïque
DIPEA	**D**i**i**so**p**ropyl**é**thyl**a**mine
DMF	**D**i**m**éthyl**f**ormamide
DMSO	**D**i**m**éthyl**s**ul**f**o**x**yde
DOTA	Acide 1,4,7,10-tétraazacyclo**do**décane-1,4,7,10-**té**tra**a**cétique
DO3A	Acide 1,4,7,10-tétraazacyclo**do**décane-1,4,7-**tria**cétique
DO3A^{t}Bu	Acide tri-***tert*-butyl** 2,2',2''-(1,4,7,10-tétraazacyclo**do**décane-1,4,7-triyl)**tria**cétique
DO3A-BUTROL	Acide 10-(1,2,4-trihydroxy-but-3-yl)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7-triacétique
HP-DO3A	Acide 10-(2-**h**ydroxy**p**ropyl)-1,4,7,10-tétraazacyclo**do**décane-1,4,7 **tria**cétique
DTPA	Acide **d**iéthylène**t**riamine **p**enta**a**cétique
DTPA BMA	Acide **d**iéthylène**t**riamine **p**enta**a**cétique **b**is-**m**éthyl**a**mide
DTPA BMEA	Acide **d**iéthylène**t**riamine **p**enta**a**cétique **b**is-**m**éthoxy**é**thyl**a**mide
DPP	**D**icéto**p**yrrolo**p**yrrole
FDG	**F**luoro**d**ésoxy**g**lucose
Hb	Désoxy **h**émoglo**b**ine
HbO_2	Oxy **h**émoglo**b**ine
HMPAO	**H**exa**m**éthyl**p**ropylène**a**mine **o**xime
MEIO	***M**agnetism **e**ngineered **i**ron **o**xide*

NHS	***N*-Hydroxysuccinimide**
PEG	**P**oly**é**thylène **g**lycol
SPION	***Superparamagnetic iron oxide nanoparticle***
TFA	Acide **t**ri**f**luoro**a**cétique
THF	**T**étra**h**ydro**f**urane
TMHI	1,1,1-**t**ri**m**éthyl**h**ydrazinium **i**odide
TPP	**T**étra**p**hényl**p**orphyrine
TRAP	Acide **t**ri**a**zacyclononane-**p**hosphinique

- Unités

esu	Unité de charge électrostatique (≈ $3{,}335641\times10^{-10}$ C)
eV	**É**lectron-**v**olt (= $1{,}602176565\times10^{-19}$ J)
GM	**G**öpper-**M**ayer (= 10^{-50}cm^4.s.photon^{-1})
ppm	**P**artie **p**ar **m**illion

- Techniques d'analyse

ESI	***E**lectro**s**pray **i**onisation*
IR	**I**nfra**r**ouge
HPLC	***H**igh **p**ressure **l**iquid **c**hromatography*
MALDI	***M**atrix **a**ssisted **l**aser **d**esorption **i**onisation*
RMN	**R**ésonance **m**agnétique **n**ucléaire
TOF	***T**ime **o**f **f**light*
UV-vis	**U**ltra**v**iolet-**vis**ible

- Imagerie médicale

BOLD	***B**lood **o**xygen **l**evel **d**ependant*
EPR	***E**nhanced **p**ermeation and **r**etention effect*
IRM	**I**magerie par **r**ésonance **m**agnétique
GSH	**G**énération de **s**econd **h**armonique
HER	***H**uman **e**pidermal growth factor **r**eceptor*
PDT	***P**hoto**d**ynamic **t**herapy*
PMRI	***P**re-polarized **m**agnetic **r**esonance **i**maging*
RX	**R**ayons **X**
TEP	**T**omographie par **é**mission de **p**ositrons
TEMP	**T**omographie par **é**mission **m**ono**p**hotonique
VEGFR	***V**ascular **e**ndothelial **g**rowth **f**actor **r**eceptor*

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

1. L'imagerie médicale

1.1. Principe et histoire

L'imagerie médicale est l'ensemble des techniques permettant d'obtenir des informations anatomiques, physiologiques ou métaboliques par utilisation de phénomènes physiques comme l'absorption des rayons X, la résonance magnétique nucléaire, la radioactivité. Ces différentes techniques sont devenues des outils indispensables dans le diagnostique de nombreuses pathologies et la compréhension de phénomènes biologiques. Apparue en 1895 avec la découverte par Röntgen de la différence d'absorption des rayons X selon l'épaisseur et le coefficient d'atténuation des structures traversées, l'imagerie médicale a depuis beaucoup évolué. Les techniques les plus connues, comme l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) ou le scanner, sont apparues au milieu du XXème siècle. Cependant, depuis une trentaine d'année, de nombreuses techniques ont vu le jour profitant de l'évolution rapide des technologies et des moyens mis en œuvre dans ce domaine (Figure 4).[1]

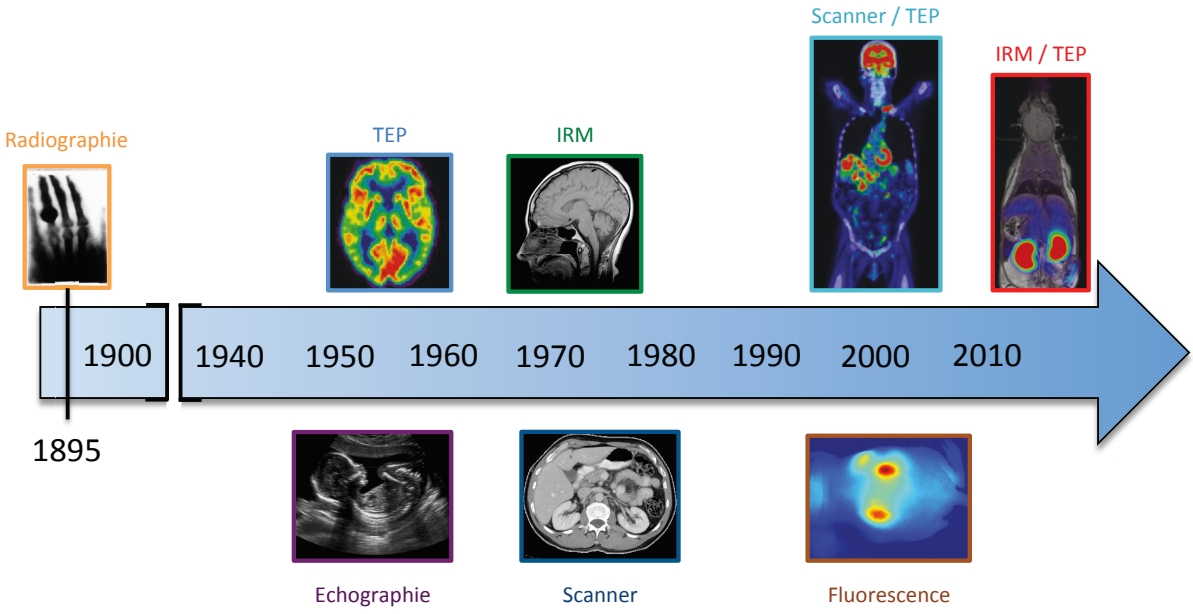


Figure 4 : Historique des principales techniques d'imagerie médicale

Toutes les techniques d'imagerie médicale utilisent des ondes (incidentes et/ou réfléchies/réfractées) de fréquences plus ou moins grandes (Figure 5).[2]

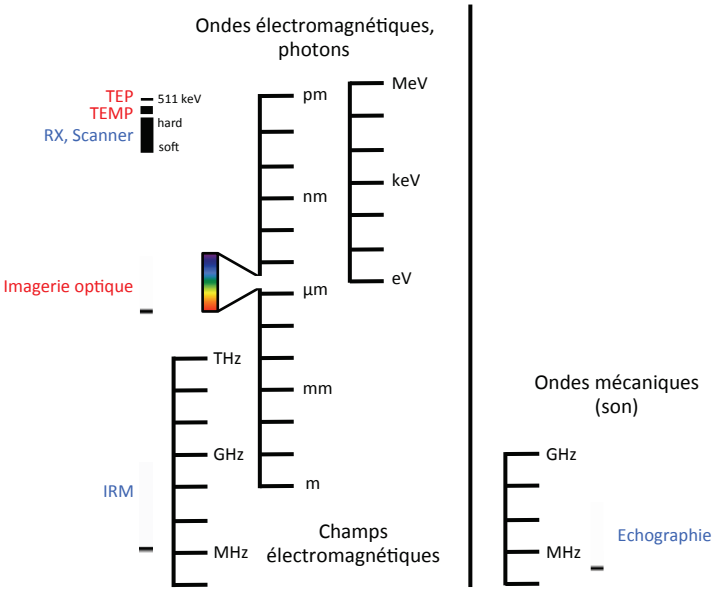


Figure 5 : Techniques d'imagerie médicales en fonction des fréquences utilisées

Il est possible de classer ces techniques en deux catégories : les imageries structurales ou fonctionnelles. Les premières donnent des informations sur la structure des organes, leurs formes, leurs limites et dans certains cas leurs contenus (structure osseuse par exemple). Cet ensemble regroupe des techniques telles que l'IRM, la radiographie par rayons X ou encore le scanner. Les secondes nous informent sur le métabolisme d'un organe, d'un tissu ou d'une cellule. Ces techniques sont principalement les scintigraphies et les différents types d'imageries optiques. Le couplage de plusieurs techniques apportant des informations différentes semble alors être très prometteur.

1.2. Les différentes techniques d'imagerie médicale

1.2.1. L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) fait partie des imageries structurales. Celles-ci utilisent des ondes réagissant différemment selon les caractéristiques des tissus (dureté/mollesse, concentration en eau *etc.*).

L'IRM est une technique basée sur la résonance magnétique nucléaire (RMN) des protons des molécules d'eau présentes dans l'organisme. L'IRM est actuellement

largement utilisée en clinique car elle permet d'obtenir des images de hautes résolutions spatiale et temporelle.[1]

1.2.1.1. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La RMN a été découverte dans les années 1940 et elle constitue un outil précieux pour les chimistes et les physiciens. Cette technique est basée sur le temps de relaxation d'un atome soumis à un rayonnement électromagnétique (radiofréquence). En effet, si celui-ci possède un spin nucléaire non nul (c'est le cas de ^{1}H, ^{13}C et ^{31}P par exemple) et qu'il est placé dans un champ magnétique homogène, il est possible d'appliquer un « pulse » (sous forme de radiofréquence à une fréquence précise). L'élément ciblé, après avoir été dévié de sa position d'équilibre va alors « relaxer », c'est-à-dire qu'il va revenir à sa position d'équilibre en libérant l'énergie emmagasinée. Cette relaxation se fait sous forme d'un mouvement en spirale en trois dimensions et est caractéristique de l'environnement de l'atome étudié (Figure 6). En RMN, l'atome étudié est placé dans un champ magnétique fixe homogène (B_0). Ceci permet d'aligner tous les spins nucléaires puis, après application d'un « pulse » perpendiculaire au champ B_0, tous les spins vont s'aligner selon l'axe y, avant de revenir parallèlement à l'axe z en effectuant un retour à l'équilibre en spirale conique. Il est alors possible d'extraire deux informations à partir de ce retour à l'équilibre. Par définition, la composante T_1 correspond au temps que met le vecteur aimantation à récupérer 63 % de sa magnétisation d'équilibre selon l'axe z. La composante T_2 correspond quant à elle au temps que met la magnétisation à revenir à 37 % de sa valeur selon le plan xy.

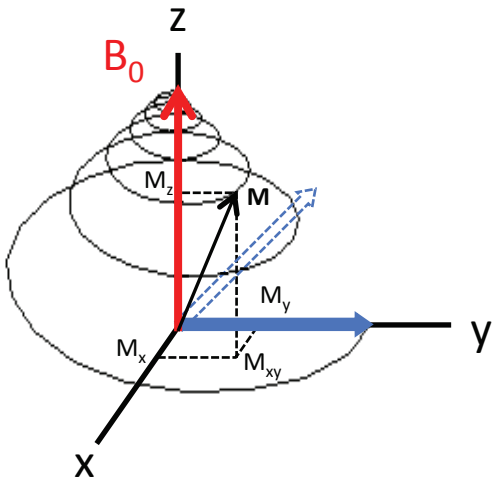
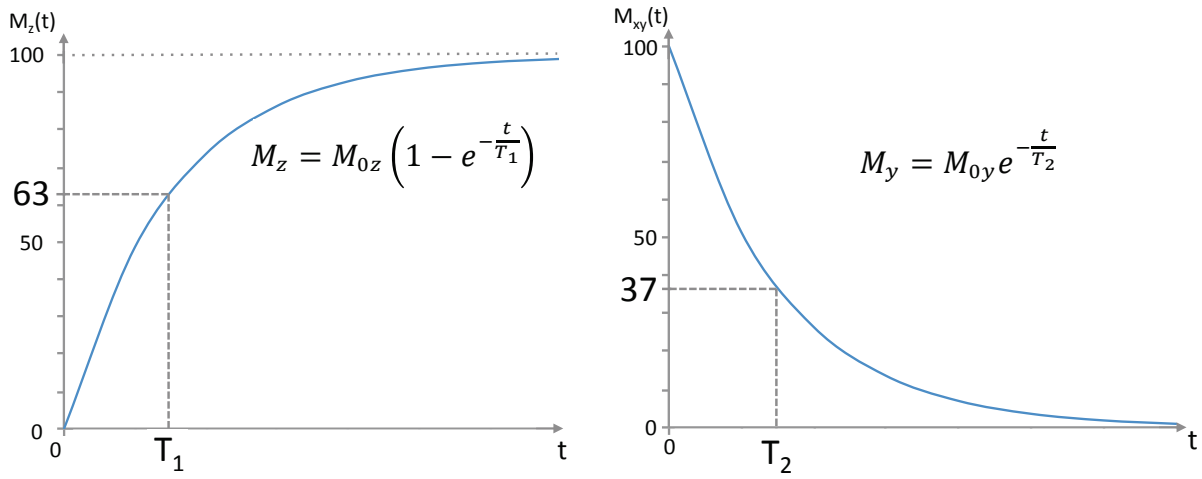


Figure 6 : Représentation schématique du retour à l'équilibre du spin nucléaire



Croissance selon l'axe z Décroissance selon le plan xy

Figure 7 : Mesure des composantes T_1 et T_2

1.2.1.2. Principe de fonctionnement de l'IRM

L'IRM est basée sur le même principe. En effet, un être humain adulte est composé d'environ 60 % d'eau. Il est donc possible d'observer la relaxation des protons des molécules d'eau en appliquant le même principe que la RMN. Les molécules d'eau ayant un environnement différent selon les tissus, le temps de relaxation des protons changera en fonction des différents tissus étudiés (Tableau 1).

	T_1 (ms)	T_2 (ms)
Liquides	≥1500	≥1000
Substance grise	900	90
Substance blanche	750	80
Graisse	300	40

Tableau 1 : Temps de relaxation de différents tissus du corps

C'est ce contraste entre les différents temps de relaxation qui permet de créer une image, d'établir un diagnostique et par exemple de localiser une tumeur. En effet, les molécules d'eau des cellules tumorales ont un environnement différent de celles des cellules saines. Celles-ci présenteront donc un contraste différent en IRM.

1.2.1.3. Avantages et inconvénients

L'IRM est une technique ayant une très bonne résolution spatiale ainsi qu'une pénétrabilité sans limite. Ces paramètres permettent d'obtenir des informations sur de

larges zones. De plus, cette technique est non-invasive et n'utilise pas de rayonnement ionisant. En revanche, cet examen présente l'inconvénient d'être peu sélectif. Il peut être très difficile de différencier des tissus où les molécules d'eau ont un environnement proche. Le rapport signal sur bruit peut être amélioré en augmentant le nombre de scans. Cependant, l'examen est alors plus long. Une autre méthode pour améliorer la sélectivité est l'utilisation d'agents de contraste. En effet, dans environ 35 % des cas, les médecins ont recours à l'utilisation d'agents paramagnétiques pour augmenter le contraste dans les zones d'intérêt.[3] Ces agents sont à base de métaux paramagnétiques tel que le gadolinium, le manganèse ou le fer, chélatés à l'aide de ligands ou sous forme de nanoparticules. À l'heure actuelle, seul les agents chélatant à base de gadolinium ou de manganèse sont utilisés en clinique. Certaines nanoparticules à base fer sont également commercialisées.

La vitesse de relaxation mesurée par un appareil peut être décomposée comme la somme des vitesses de relaxation diamagnétique et paramagnétique (Équation 1).

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

Équation 1 : Équation de la vitesse de relaxation globale observée en IRM

La vitesse de relaxation diamagnétique correspond à la contribution apportée par les protons des molécules d'eau en l'absence d'agent de contraste. La contribution paramagnétique, quant à elle, est directement proportionnelle à la concentration en l'élément paramagnétique considéré. On peut alors introduire une grandeur r_n : la relaxivité. Celle-ci permet de comparer l'efficacité des différents agents de contraste.

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

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

Équation 2 : Vitesse de relaxation globale observée en fonction de la contribution diamagnétique et la concentration en métal paramagnétique

Afin de connaître l'efficacité d'un agent de contraste, on trace la courbe correspondant à la vitesse de relaxation observée en fonction de la concentration en métal paramagnétique. Ainsi, la vitesse à [M] = 0 correspond à la contribution

diamagnétique et le coefficient directeur de la droite correspond à la relaxivité de l'agent étudié.

1.2.1.4. Les avancées récentes en IRM

L'IRM est une technique d'imagerie relativement ancienne mais de nombreuses avancées en font également une technique d'avenir. De nouvelles techniques de visualisation ont récemment fait leur apparition gr ce à l'évolution des technologies utilisées dans ce domaine. Nous présentons ci-dessous quelques exemples des avancées les plus marquantes dans le domaine de l'IRM.

1. 2. 1. 4. 1. L'IRM avec cyclage de champ rapide

Cette technique, aussi appelée FFC-MRI (pour Fast Field Cycling Magnetic Resonance Imaging) regroupe plusieurs techniques utilisant des champs magnétiques différents ou variables au cours du même examen.[4] Parmi ces techniques, on peut notamment citer l'IRM pré-polarisée. Celle-ci utilise deux aimants, l'un générant un champ inhomogène servant à pré-polariser l'échantillon, le second, homogène et moins puissant, servant pour la phase de détection du signal. Cette technique a été nommée PMRI (pour Pre-polarized MRI) par Macovski et Conolly de l'Université de Stanford qui ont fabriqué un appareil IRM « low-cost » possédant une haute sensibilité.[5] En effet, l'avantage de cette technique est la possibilité d'utiliser des aimants beaucoup moins coûteux que les aimants supraconducteurs classiquement utilisés en IRM. II est même envisagé d'utiliser le champ magnétique terrestre comme champ homogène pour diminuer encore plus les coûts.

1. 2. 1. 4. 2. L'IRM fonctionnelle

Une avancée récente dans le domaine de l'Imagerie par Résonance Magnétique est l'IRM fonctionnelle. Cette méthode d'imagerie présente la bonne résolution spatiale de l'IRM classique mais également la résolution temporelle et la possibilité d'analyse des métabolismes qu'offre les techniques fonctionnelles (telles que les imageries nucléaires). En effet, cette technique utilise l'effet BOLD (de l'anglais « Blood Oxygen Level Dependant ») qui permet de localiser les zones où le sang est plus ou moins oxygéné. L'aimantation du fer présent dans l'hémoglobine varie selon le niveau d'oxygénation du sang. Ainsi, le temps de relaxation des protons des molécules d'eau à

proximité est directement altéré selon ce paramètre et il est donc possible de suivre en temps réel des activités métaboliques comme dans le cas des imageries fonctionnelles.[6]

1.2.2. Les imageries fonctionnelles

Les imageries fonctionnelles permettent d'obtenir des informations sur l'activité métabolique d'organes, de tissus ou de cellules. Celles-ci nécessitent toujours la présence d'agents de contraste sous forme de traceurs radioactifs ou de fluorophores.

1.2.2.1. Les scintigraphies nucléaires

Ces techniques sont basées sur la détection de photons de haute énergie issus de la désintégration radioactive d'un radioélément préalablement injecté. Les éléments radioactifs peuvent se désintégrer de différentes manières :

La désintégration β^- se manifeste par l'émission d'un électron et d'un antineutrino électronique qui correspond à la transformation d'un neutron en proton (Équation 3). Celle-ci existe pour les isotopes présentant un excès de neutrons.

$$^{A}_{Z}X \rightarrow \ ^{A}_{Z+1}Y + \ ^{0}_{-1}e^{-} + \overline{\nu_e}$$

Équation 3 : Bilan de la désintégration β^-

Le résultat d'une désintégration β^+ est la transformation d'un proton en neutron par émission d'un positron et d'un neutrino électronique (Équation 4). Celle-ci intervient dans le cas des isotopes possédant un excès de proton. C'est le cas d'éléments comme le cuivre-64 et le gallium-68 par exemple.

$$^{A}_{Z}X \rightarrow \ ^{A}_{Z-1}Y + \ ^{0}_{1}e^{+} + \nu_e$$

Équation 4 : Bilan de la désintégration β^+

La capture électronique donne le même résultat qu'une désintégration β^+ mais correspond à la capture d'un électron de cœur par le noyau atomique (Équation 5). Elle concerne les éléments ayant un excès de proton et dont l'énergie disponible n'est pas nulle.

$$^{A}_{Z}X + \ ^{0}_{-1}e^{-} \rightarrow \ ^{A}_{Z-1}Y + \nu_e$$

Équation 5 : Bilan de la capture électronique

La désintégration α est l'émission d'une particule α (ou hélion) qui correspond à un noyau d'hélium (Équation 6).

$$^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A-4}_{Z-2}Y + {}^{4}_{2}He$$

Équation 6 : Bilan de la désintégration α

Contrairement aux désintégrations α, β et à la capture électronique, la désintégration γ est isomérique. Ceci signifie que l'atome « fils » est le même que l'atome « père ». Il s'agit seulement d'un réarrangement au sein du noyau qui conduit à une diminution d'énergie par émission d'un photon γ (Équation 7). C'est le cas d'éléments comme le technetium-99 métastable et l'indium-111 par exemple.

$$^{A}_{Z}X^{*} \rightarrow {}^{A}_{Z}X + \gamma$$

Équation 7 : Bilan de la désintégration γ

Certains éléments peuvent émettre selon plusieurs modes de radioactivité. Par exemple, le cuivre-64 est émetteur β^+ à 18%, β^- à 39 % et effectue également 43 % de capture électronique (Équation 8-10).

$$^{64}_{29}\mathrm{Cu} \rightarrow {}^{64}_{28}\mathrm{Ni} + {}^{0}_{1}\mathrm{e}^{+} + \nu_e$$

Équation 8 : Désintégration β^+ du cuivre-64

$$^{64}_{29}\mathrm{Cu} \rightarrow {}^{64}_{30}\mathrm{Zn} + {}^{0}_{-1}\mathrm{e}^{-} + \overline{\nu_e}$$

Équation 9 : Désintégration β^- du cuivre-64

$$^{64}_{29}\mathrm{Cu} + {}^{0}_{-1}\mathrm{e}^{-} \rightarrow {}^{64}_{28}\mathrm{Ni} + \nu_e$$

Équation 10 : Capture électronique du cuivre-64

Parmi ces modes de désintégrations, deux sont particulièrement intéressants en imagerie médicale : la désintégration β^+ pour la Tomographie par Émission de Positrons (TEP) et la désintégration γ pour la Tomographie par Émission MonoPhotonique (TEMP).

1. 2. 2. 1. 1. La Tomographie par Émission de Positrons (TEP)

Cette technique est apparue dans les années 1950 avec la fabrication du premier imageur TEP. Celui-ci était destiné à la localisation de tumeurs cérébrales.

1.2.2.1.1.1. Principe de fonctionnement de la TEP

La TEP est basée sur la détection de photons issus de l'annihilation entre un positron et un électron. En effet, lorsqu'un positron (émis par le radiotraceur émetteur

β^+ préalablement injecté) rencontre un électron, ceux-ci s'annihilent en émettant deux photons γ d'énergie égale (511 keV) diamétralement opposés. Le patient se trouvant alors dans un anneau composé de détecteurs (gamma-caméra) tournant autour de lui, il est possible de connaître la position du radioélément dans le corps du patient (Figure 8). En effet, un traitement informatique permet de savoir quand deux caméras diamétralement opposées reçoivent deux photons simultanés.

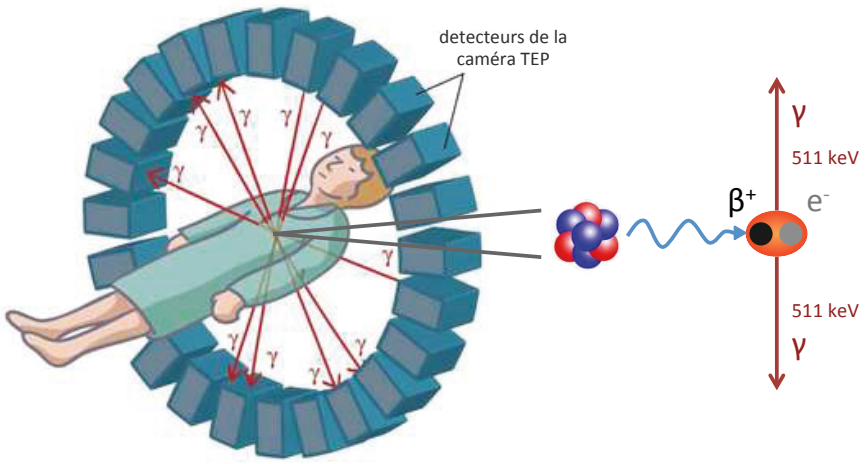


Figure 8 : Schéma représentatif du principe de fonctionnement d'un appareil TEP

1. 2. 2. 1. 2. La Tomographie par Émission MonoPhotonique (TEMP)

La TEMP est également une technique d'imagerie nucléaire qui s'est développée suite à la fabrication des premières gamma-caméras à la fin des années 1950. À la différence de la TEP, celle-ci utilise des radioémetteurs γ.

1.2.2.1.2.1. Principe de fonctionnement de la TEMP

La TEMP est basée sur la détection d'un photon γ directement émis par un radionucléide préalablement injecté au patient. L'image de biodistribution du radioélément est réalisée par une gamma-caméra tournant autour du patient. Celle-ci est constituée d'un collimateur permettant la sélection angulaire d'un photon reçu, puis par traitement informatique, il est possible d'obtenir une cartographie tridimensionnelle de l'activité radioactive et donc de localiser le radiotraceur.

1. 2. 2. 1. 3. Avantages et inconvénients des scintigraphies nucléaires

Les techniques d'imagerie nucléaire présentent l'avantage d'être très sensibles et d'avoir une pénétrabilité sans limite. Elles présentent cependant l'inconvénient d'utiliser des rayons ionisants.

1.2.2.2. L'imagerie optique

L'imagerie optique est basée sur la détection de photons de fluorescence. Cette méthode est envisagée depuis le milieu du XIX^{ème} siècle mais ne s'est réellement développée que lors de ces quinze dernières années. Malgré les récentes avancées dans ce domaine, seuls quelques prototypes sont actuellement testés dans les hôpitaux.

1.2.2.3. Principe de fonctionnement

Pour cette technique, l'utilisation d'un fluorophore est nécessaire. Cet agent va être excité par une source lumineuse, puis, après une suite de désexcitations non-radiatives, celui-ci va ensuite retourner à son état fondamental par émission d'un photon de fluorescence de plus grande longueur d'onde (Figure 9). Sur le diagramme, on peut voir qu'il existe également des retours à l'état fondamental par phénomènes non-radiatifs, et par phosphorescence. Celle-ci existe après un croisement intersystème, une transition interdite par les règles quantiques qui est rendue possible par couplage spin-orbite et qui permet le passage sur un état triplet.

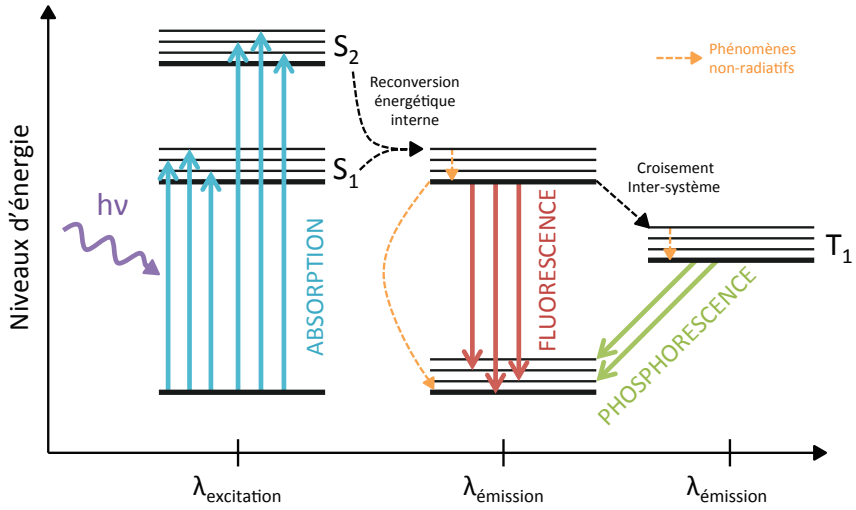


Figure 9 : Diagramme de Jablonski

C'est le photon émis par fluorescence que l'on va détecter et qui va nous renseigner sur la position actuelle du fluorophore. Cette technique est pour l'instant

essentiellement appliquée sur petit animal (*in vivo*/*in vitro*) et sur cellules (*ex-vivo*).[7] En effet, cette technique a longtemps souffert du problème de la pénetration de la lumière dans les tissus qui limite la visualisation du fluorophore dans un corps humain. Néanmoins, des stratégies récentes permettent une augmentation significative de la pénétrabilité.

1.2.2.3.1.1. Fenêtre thérapeutique

Les tissus du corps humain sont composés de chromophores (principalement l'hémoglobine, avec ou sans oxygène, pour la zone UV-visible) qui absorbent une partie de la lumière qui les traverse. Cependant, lorsque l'on trace le spectre d'absorption UV-visible-NIR de ces molécules, on constate qu'une zone est particulièrement intéressante (Figure 10).[8]

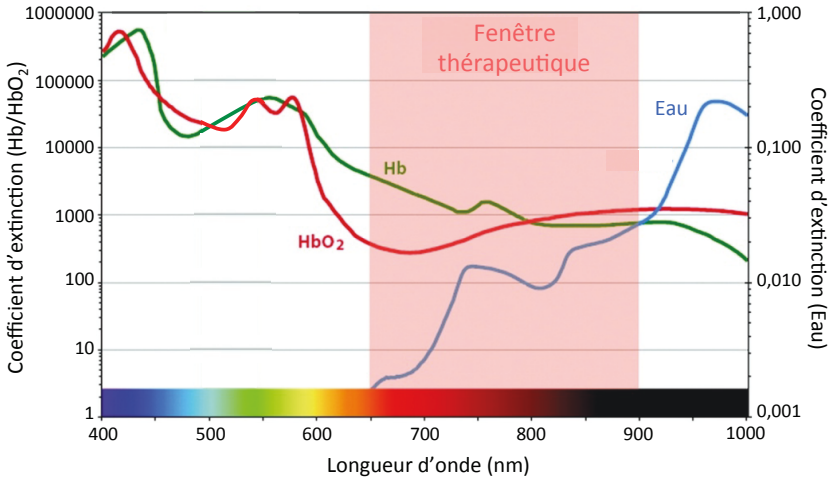


Figure 10 : Absorption UV-visible de l'hémoglobine (avec oxygène : HbO_2 ou sans : Hb) et de l'eau[9]

En effet, entre 650 et 900 nm environ se situe la fenêtre du proche infra-rouge, aussi appelée fenêtre thérapeutique. Dans cette zone, on constate une très faible absorption des principaux agents responsables de l'auto-fluorescence (Hémoglobine et eau). Des études ont montré l'augmentation de la pénétrabilité des faisceaux lumineux entre 650 et 900 nm (Figure 11).

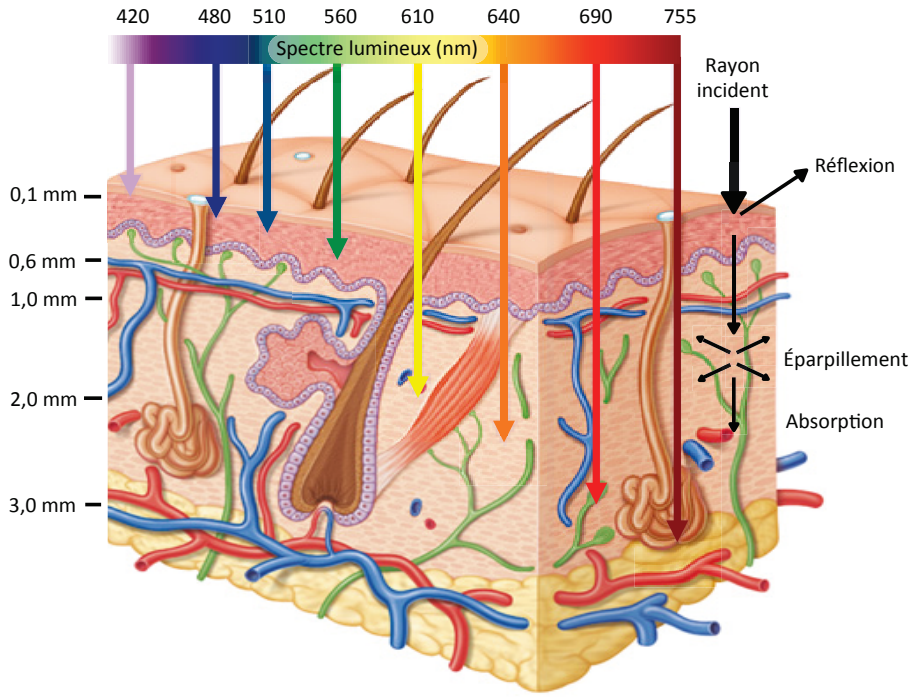


Figure 11 : Pénétration de rayons lumineux dans la peau selon la longueur d'onde

On constate qu'il est nécessaire d'irradier dans le proche infra-rouge pour que la pénétration soit optimale. De plus, lorsque les tissus sont irradiés, les rayons lumineux sont réfléchis et réfractés ce qui conduit à une diminution de l'intensité du rayonnement en profondeur.

Plusieurs types d'imagerie optique existent d'ores et déjà. Les plus classiques utilisent des principes d'optique linéaire (absorption et émission classique à un photon). Des techniques plus récentes d'optique non-linéaire sont actuellement à l'étude. Celles-ci utilisent des phénomènes connus depuis les années 1930 et regroupent des techniques telles que l'absorption multiphotonique, la multiplication de fréquence...

1.2.2.4. Imagerie par optique non-linéaire

Il est possible de décrire l'interaction entre la lumière et la matière à l'échelle macroscopique en exprimant la polarisation P_i au sein de la matière en fonction du champ électrique E porté par la lumière excitatrice (Équation 11). Cette équation est un développement limité avec P_0 la polarisation permanente du matériau considéré et $\chi^{(i)}$ les susceptibilités électriques d'ordre i.

$$P_i = P_0 + \chi^{(1)}E + \chi^{(2)}E^2 + \chi^{(3)}E^3 + \cdots$$

Équation 11 : Polarisation P_i en fonction du champ électrique

Dans le cas d'une interaction lumière-matière à l'échelle moléculaire, cette équation peut être écrite avec le moment dipolaire de la molécule considérée μ_i, avec μ_0 le moment dipolaire permanent de cette même molécule, α sa polarisabilité, β son hyperpolarisabilité quadratique et γ son hyperpolarisabilité cubique (Équation 12).

$$\mu_i = \mu_0 + \alpha E + \beta E^2 + \gamma E^3 + \cdots$$

Équation 12 : Moment dipolaire d'une molécule en fonction du champ électrique

Lorsque le champ électrique E est relativement faible (comme pour la plupart des sources excitatrices classiques), les termes d'ordre supérieur à 1 deviennent négligeables et la réponse est donc linéaire (Équation 13). C'est cette équation qui décrit les phénomènes d'optique linéaire classiques telles que l'absorption monophotonique et la fluorescence.

$$\mu_i = \mu_0 + \alpha E$$

Équation 13 : Moment dipolaire d'une molécule dans le cas d'un champ électrique faible

Les termes d'ordre supérieur décrivent donc les phénomènes d'optique non-linéaire et n'interviennent que dans le cas d'excitations puissantes (tel que des lasers). Les phénomènes du second ordre (ou phénomènes d'optique non-linéaire quadratiques) sont dépendants de l'hyperpolarisabilité quadratique β, le plus connu étant la génération de second harmonique (GSH ou doublement de fréquence). Du fait du caractère quadratique, l'hyperpolarisabilité β des objets (molécules, cristaux *etc*.) centrosymétriques est nulle. Pour être actif en GSH, les systèmes ne doivent alors pas présenter de centre d'inversion. Parmi les phénomènes de troisième ordre, les plus connus sont l'absorption à deux photons (ADP) et la fluorescence par absorption biphotonique (TPEF). Ces phénomènes dépendent de l'hyperpolarisabilité cubique γ.

La figure 9 présente les différentes techniques d'intérêt pour l'imagerie médicale par utilisation des phénomènes d'optique linéaire et non-linéaire.

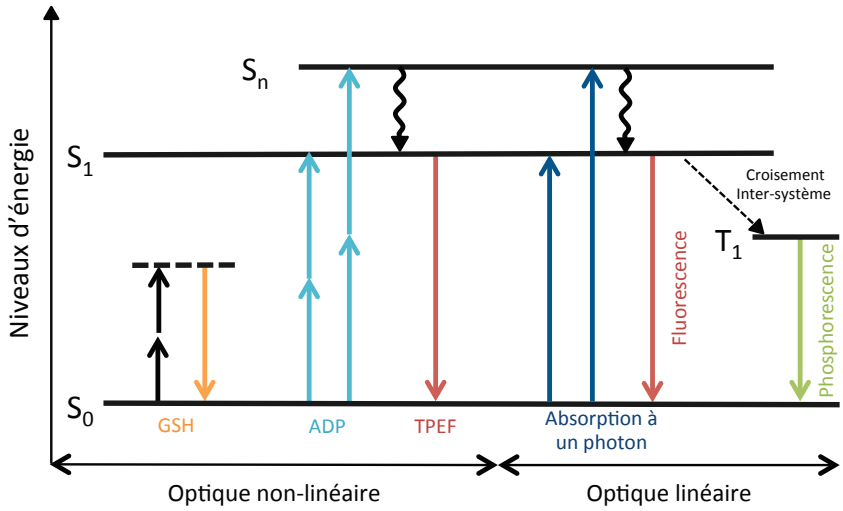


Figure 12 : Récapitulatif des phénomènes d'optique linéaire et non-linéaire d'intérêt

1. 2. 2. 4. 1. L'absorption à deux photons (ADP)

L'absorption à deux photons ressemble à la fluorescence classique, mais l'excitation se fait par absorption quasi-simultanée d'une paire de photons d'énergie identique ou différente (Figure 13).[10] Cette théorie a été prédite par Maria Göppert-Mayer en 1931 mais n'a été prouvée par l'expérience que 30 ans plus tard par Kaiser et Garret.[10-11] Dans ce processus, la molécule rejoint l'état excité par absorption de deux photons (d'énergie $h\nu_1/2$) contrairement à l'absorption monophotonique où un seul photon (d'énergie $h\nu_1$) est absorbé. D'autres transitions à 3, 4… photons peuvent être observées de la même manière.

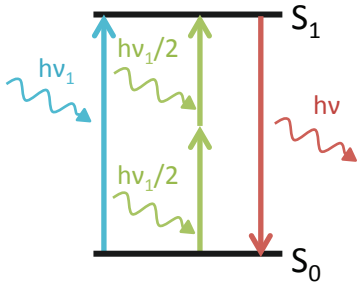


Figure 13 : Fluorescence par absorption d'un ou de deux photons

Comme mentionné précédemment, ces transitions sont négligeables avec des sources d'excitation classiques. En effet, de manière générale, on peut exprimer la probabilité P d'absorber à n photons en fonction de l'intensité I de la source excitatrice (Équation 14).

$$P = \frac{1}{n}\sigma_n I^n$$

Équation 14 : Probabilité P d'absorber à n photons

On constate que plus l'intensité est grande, plus la probabilité sera élevée. De plus, la probabilité étant divisée par le nombre de photons absorbés, l'intensité devra être d'autant plus grande que le nombre de photons absorbés simultanément sera grand. Cette probabilité est également proportionnelle à un paramètre inhérent à la molécule étudiée que l'on nomme la section efficace, notée σ. Dans le cas d'une absorption à deux photons (n = 2), la section efficace est exprimée en Göpper-Mayer, noté GM (1 GM = 10^{-50} cm^4.s.photon^{-1}).

1. 2. 2. 4. 2. Microscopie biphotonique

L'utilisation de l'absorption biphotonique en imagerie médicale est de plus en plus étudiée depuis plusieurs années. En effet, cette technique permet d'améliorer de manière conséquente la pénétrabilité dans les tissus. En effet, l'excitation biphotonique se fait par lasers pulsés. Ces derniers permettent une excitation uniquement au point focal du laser, contrairement aux lasers classiques qui engendrent une excitation sur tout le trajet optique (Figure 14). Ceci permet de diminuer la phototoxicité sur les tissus traversés et permet également de ne pas perdre d'intensité lumineuse sur le trajet optique du laser. Ce phénomène engendre une localisation spatiale plus fine par diminution du bruit de fond due à l'excitation des tissus traversés.

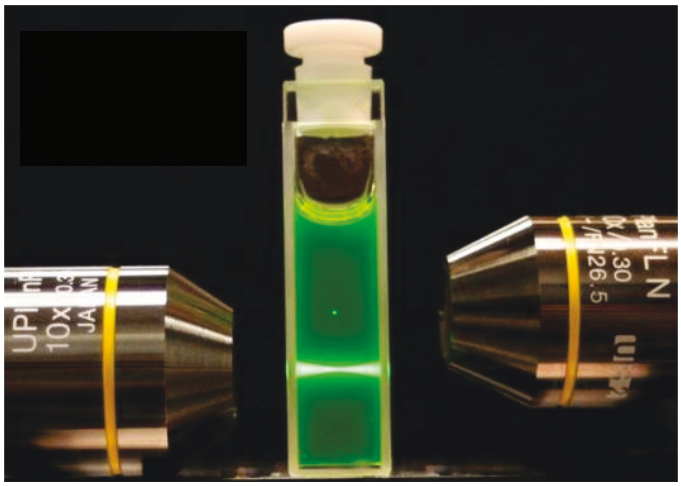


Figure 14 : Excitation gr ce à un laser UV focalisé (gauche) et un laser IR pulsé (droite)

De plus, la fenêtre thérapeutique du proche infra-rouge est beaucoup plus accessible en imagerie biphotonique puisque les chromophores doivent absorber entre 325 et 450 nm pour pouvoir être excités entre 650 et 900 nm gr ce aux lasers pulsés infra-rouge.

1. 2. 2. 4. 3. La génération de second harmonique (GSH)

La génération de second harmonique est une interaction non résonante d'ordre quadratique. Ce phénomène, aussi appelé doublement de fréquence intervient dans le cas de matériaux non-centrosymétriques et correspond à une « combinaison » de deux photons d'énergie égale en un photon d'énergie deux fois plus grande (Figure 15). Il existe également la génération de troisième harmonique qui est un phénomène de troisième ordre permettant le triplement de fréquence. Ce phénomène a été démontré pour la première fois sur du quartz en 1961 par Franken *et al.* et rendu possible suite à l'invention des premiers lasers.[12] Cette technique récente est actuellement à l'étude afin d'être utilisée en imagerie médicale.

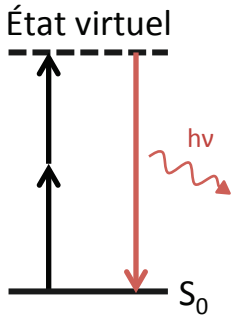


Figure 15 : GSH

La première expérience d'imagerie par utilisation du phénomène de génération de second harmonique a été réalisée sur des tendons de queue de rat par Freund *et al.* en 1986.[13] Celle-ci a donné lieu par la suite à de nombreuses avancées dans ce domaine. Cette technique est aujourd'hui principalement étudiée pour la visualisation des membranes cellulaires et plus particulièrement les changements de polarisation dans les membranes cellulaires.[14] En effet, la génération de second harmonique n'étant active que dans le cas d'objets non-centrosymétriques, l'organisation des harmonophores (molécules permettant la GSH) dans la membrane selon la polarisation de cette dernière permet de perdre la centrosymétrie d'un système désorganisé (milieu isotrope extracellulaire) et de visualiser uniquement les membranes cellulaires (milieu anisotrope intramembranaire) (Figure 16).

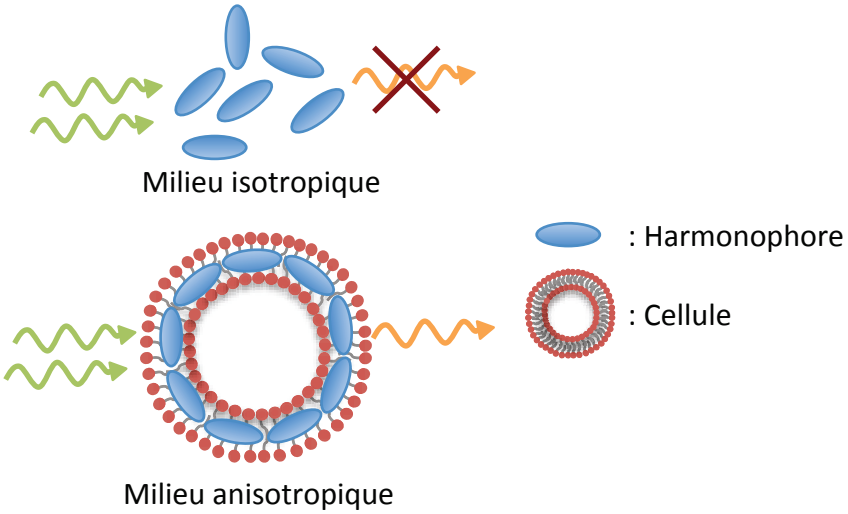


Figure 16 : Activation d'un harmonophore lors du passage dans une membrane cellulaire

1.2.3. Multimodalité

On constate que les différentes techniques d'imagerie présentent toutes, de part leurs caractéristiques intrinsèques, des avantages et des inconvénients. Il est possible de comparer leurs résolutions, leurs sensibilités, leurs pénétrabilités et les informations qu'elles permettent d'obtenir (Tableau 2).[15]

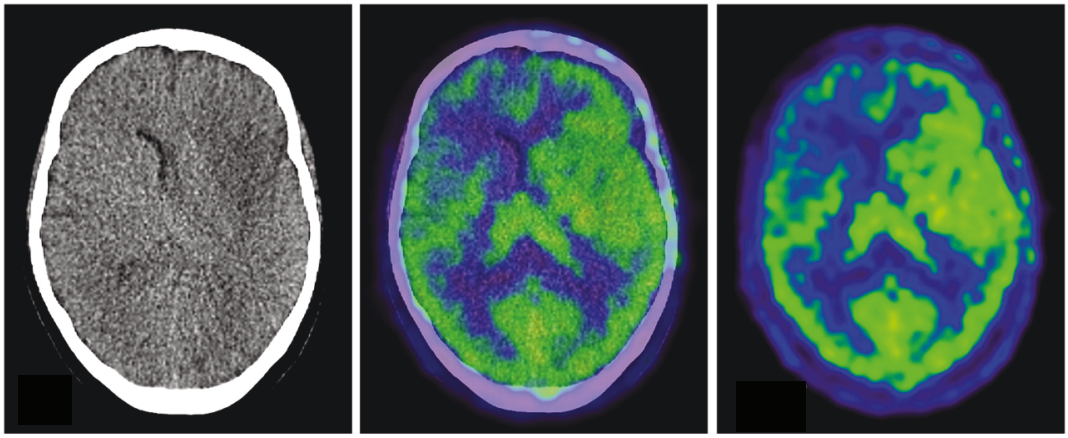
Technique	Rayonnement	Résolution	Pénétrabilité	Sensibilité (M)
TEP / TEMP	Rayons gamma	1-2 mm	Pas de limite	10^{-10}-10^{-12}
Scanner	Rayons X	50 µm	Pas de limite	-
Radiographie X	Rayons X	50 µm	Pas de limite	-
IRM	Radiofréquence	10-100 µm	Pas de limite	10^{-3}-10^{-5}
Echographie	Ultrasons	50 µm	cm	10^{-12}
Fluorescence	Rayons lumineux	2-3 mm	< 1 cm	10^{-9}-10^{-12}

Tableau 2 : Tableau comparatif des techniques d'imageries les plus communes

Depuis plusieurs années le concept de multimodalité a vu le jour. Celui-ci consiste en l'acquisition différée ou simultanée d'images par plusieurs techniques. Après reconstruction informatique, il est possible d'obtenir des informations complémentaires des différentes techniques.[16]

1.2.3.1. L'imagerie multimodale actuelle

À l'heure actuelle, très peu de techniques d'imagerie multimodale sont utilisées cliniquement. En effet, seul le « PET-scan » est utilisé couramment. Cette analyse peut être effectuée en un seul et même examen et permet de superposer les images obtenues par TEP et par scanner RX. Ces systèmes extrêmement efficaces ont fait reculer l'utilisation d'appareils d'imagerie TEP seul.[17] Les deux types d'imagerie sont intégrés dans un seul appareil et après recombinaison des images, les médecins obtiennent des informations par imagerie structurale et fonctionnelle (Figure 17).



Scanner TEP / Scanner TEP

Figure 17 : Couplage d'une image par TEP et par scanner RX

Pour bénéficier pleinement des avantages de l'imagerie multimodale, il est nécessaire d'élaborer des agents de contraste multimodaux. Cette stratégie permet également l'injection d'un seul agent de contraste afin d'assurer une biodistribution identique tout en diminuant les risques de toxicité.

1.2.3.2. Avancées récentes de l'imagerie multimodale

1. 2. 3. 2. 1. Association de l'IRM à l'imagerie nucléaire

Après le succès du couplage de la TEP et du scanner, beaucoup d'études ont été menées pour associer une technique d'imagerie nucléaire à l'IRM. En effet, cette dernière présente une meilleure résolution anatomique que le scanner et utilise des ondes magnétiques non-ionisantes. Ces avantages, couplés à la haute sensibilité de la TEP, font que ces deux techniques sont très complémentaires et leur association semble très prometteuse.

À l'heure actuelle, très peu d'appareils permettent l'acquisition simultanée des deux techniques. En effet, l'incorporation d'un module TEP au sein d'un imageur IRM est technologiquement difficile. Les deux techniques utilisant des ondes, les interférences peuvent être très problématiques. Le champ magnétique de l'IRM peut par exemple perturber les détecteurs TEP. De même, la présence du module TEP peut rendre le champ magnétique de l'IRM inhomogène. C'est pourquoi la plupart des appareils couplant ces deux techniques à l'échelle du corps humain sont le plus souvent composés de deux détecteurs séparés. Cependant, gr ce à la mise au point d'un détecteur TEP doté de photodiode à avalanche, la société Siemens a réussi à développer un appareil « corps entier » permettant de réaliser les deux examens simultanément.[16b, 18] À Dijon, l'EquipEx (Equipement d'Excellence) IMAPPI (pour Integrated Magnetic resonance A Positron emission tomography in Preclinical Imaging) porté par le Professeur François Brunotte vise au développement d'un appareil IRM / TEP.

1. 2. 3. 2. 2. Association de l'imagerie optique et nucléaire

Associer des techniques d'imagerie optique et nucléaire semble également être très intéressant. En effet, du fait de leur sensibilité proche, cette association peut permettre le suivi de processus physiologiques, l'expression d'enzyme ou le ciblage de tumeurs.[19]

L'utilisation de la TEP permet, dans un premier temps, de visualiser la position d'une tumeur. Puis, gr ce à un agent fluorescent, un chirurgien peut retirer les tissus cancéreux avec précision. Cette approche est actuellement utilisée sur petit animal[20] et sur l'homme.[21]

1. 2. 3. 2. 3. Association de l'imagerie optique et de l'IRM

Le principal avantage de l'IRM est sa résolution spatiale élevée. L'imagerie optique est très sensible et permet le suivi de la sonde imageante. Ces deux techniques peuvent être très complémentaires mais leur association est difficile. En effet, cette différence de sensibilité d'un facteur 1000 environ est une difficulté à surmonter pour élaborer de nouveaux agents multimodaux optique/IRM.

Cependant, l'association de ces deux techniques offre plusieurs applications. Il est possible, comme l'imagerie optique et nucléaire, de suivre l'agent de contraste par IRM afin de localiser une tumeur, puis d'utiliser la sonde fluorescente pour effectuer de la

chirurgie assistée. L'association de ces deux techniques peut également permettre le suivi de l'efficacité d'un traitement.[22]

1.3. Agents imageants

Les techniques d'imagerie présentées précédemment nécessitent le plus souvent l'utilisation d'agents imageants. Dans le cas des imageries structurales, l'utilisation de produits de contraste permet d'augmenter artificiellement le contraste afin de visualiser des zones naturellement peu ou pas contrastées. Dans certains cas, l'utilisation de tels agents n'est pas obligatoire car la différence de contraste entre des tissus est naturellement présente. En revanche, pour les techniques d'imageries fonctionnelles, l'utilisation d'agents (appelés traceurs) est obligatoire.

1.3.1. Agents Monomodaux

Une approche classique est l'utilisation d'un agent monomodal, c'est-à-dire utilisable par un seul type d'imagerie.

1.3.1.1. Agents de contraste utilisés en IRM

Les produits de contraste utilisés en IRM nécessitent la présence de métaux paramagnétiques. En effet, ces derniers vont modifier la relaxivité des protons des molécules d'eau et permettre d'augmenter le contraste à l'endroit où se trouve l'élément paramagnétique. Cependant, ces métaux étant la plupart du temps toxiques, il est nécessaire de les encapsuler dans des ligands organiques afin de diminuer leur toxicité. Ces ligands doivent présenter de bonnes propriétés de chélation pour éviter des phénomènes de relargage des métaux au sein de l'organisme.

Il existe quelques exemples d'agents utilisant le manganèse (II) ou le fer comme métal paramagnétique, mais les produits de contraste pour l'IRM sont le plus souvent à base de gadolinium (III). En effet, ce lanthanide possède sept électrons célibataires (soit un spin nucléaire de 7/2) sur une orbitale 4f, ce qui en fait un atome hautement paramagnétique. D'autres lanthanides (tel que le dysprosium (III) et l'holmium (III)) possèdent des moments magnétiques plus importants à cause de l'asymétrie de leurs orbitales. Cependant, cette asymétrie engendre une relaxation électronique extrêmement rapide. Dans le cas du gadolinium (III), il possède une orbitale S symétrique. Celle-ci engendre une relaxation électronique plus lente (plus en accord

avec la fréquence de Larmor du proton des molécules d'eau) qui fait du gadolinium (III) le métal le plus efficace pour l'augmentation de la vitesse de relaxation des protons.[23]

1. 3. 1. 1. 1. Agents de contraste à base de gadolinium (III)

Le gadolinium (III) forme des complexes à nombre de coordination élevé. Ainsi les ligands utilisés en IRM sont des polyamines, cycliques ou linéaires, le plus souvent octadentate (Figure 18). Dans le cas des complexes de gadolinium, la coordinence de ce dernier est complétée par une molécule d'eau.

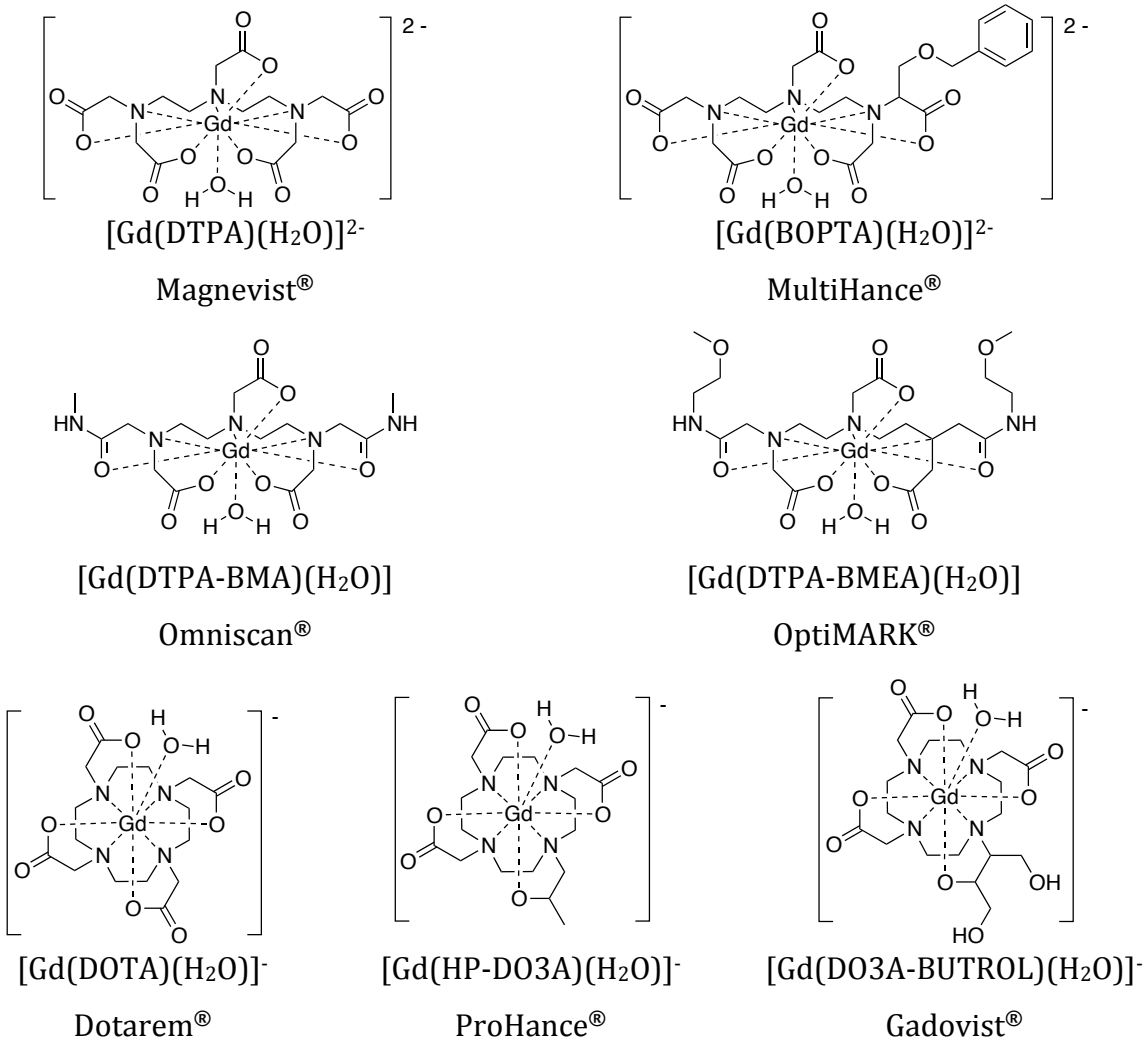


Figure 18 : Exemple de produits de contraste commerciaux pour l'IRM à base de gadolinium (III)

Ces complexes, très hydrophiles, sont éliminés en quelques heures par les reins. Cependant, des cas de fibroses systémiques néphrogéniques ont été observées suite à l'injection d'agents de contraste à base de ligands linéaires. De manière générale, les ligands cycliques présentent de meilleures constantes de stabilité.[24]

1. 3. 1. 1. 2. Agents de contraste à base d'autres métaux

Certains métaux semblent être des alternatives intéressantes au gadolinium. En effet, celui-ci est relativement cher du fait de sa rareté. De plus, la forme libre étant très toxique, d'autres métaux sont actuellement étudiés en IRM.

Le manganèse possède cinq électrons célibataires (soit un spin nucléaire de 5/2), un temps de relaxation électronique relativement long et une vitesse d'échange des molécules d'eau rapide. Ces paramètres en font un candidat de choix pour l'IRM. Actuellement un seul produit à base de manganèse a été commercialisé, il s'agit du Teslascan® (il a été retiré du marché Français en 2012). (Figure 19).

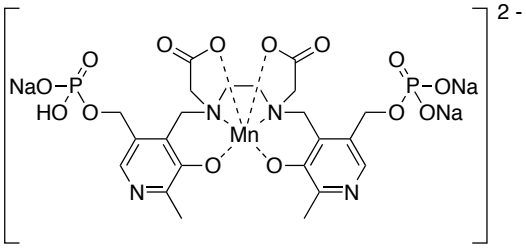


Figure 19 : Agent de contraste à base de manganèse (II) (Teslascan®)

Cet agent était uniquement utilisé dans le cas d'examen IRM du foie. En effet, on constate que celui-ci est hexacoordiné et ne peut donc pas se lier avec une molécule d'eau. Dans cet état, il présente donc une relaxivité faible.[25] Il est en fait internalisé par les cellules hépatiques saines puis métabolisé en manganèse libre augmentant ainsi sa relaxivité. Les cellules saines apparaissent donc avec un contraste positif alors que les zones sombrent représentent des lésions hépatiques.[26]

Des agents à base de nanoparticules de fer (comme le Lumiren®) sont ou ont été également commercialisés. Ces nanoparticules sont le plus souvent rendues furtives et non toxiques par utilisation de polymères organiques biocompatibles entourant le noyau. La taille de ces particules permet une vectorisation passive. En effet, du fait de l'hypervascularisation des tumeurs, les parois des vaisseaux sanguins à proximité sont dégradées, ce qui engendre une perméabilité permettant aux nanoparticules de bénéficier d'une vectorisation passive vers les cellules tumorales. Ces nanoparticules influent principalement sur le temps de relaxation T_2, ce qui limite l'intensité par rapport aux composés présentés précédemment. Une alternative proposée est l'incorporation de gadolinium dans les nanoparticules pour pallier à cette perte d'intensité du signal.[27]

Enfin, de nouveaux agents dits « intelligents » ou « smart-probes » en anglais constituent une avancée récente et intéressante dans le domaine de l'IRM. Ces produits sont inactifs en IRM lorsqu'ils sont injectés car le métal paramagnétique est inaccessible pour les molécules d'eau. Lorsqu'ils arrivent dans la zone d'intérêt la présence d'agent activant (enzyme, cation métallique) va permettre la libération d'un site de coordination sur le métal, l'eau pourra alors se coordinner et le signal IRM augmentera. Ces agents ont donc une meilleure sensibilité et sont sélectifs pour permettre d'imager plus précisément certains phénomènes ou des zones particulières.[28]

1.3.1.2. Traceurs nucléaires pour les scintigraphies

Les traceurs pour les scintigraphies sont constitués d'éléments radioactifs émetteurs β^+ pour la TEP et γ pour la TEMP. Ces éléments doivent être sélectionnés selon leurs caractéristiques intrinsèques en fonction de l'analyse envisagée. En effet, les radioéléments, en fonction de leur nature, ont des temps de demi-vie et des méthodes de production différentes (Tableau 3).

Technique	Type d'élément	Élément	Demi-vie	Production
TEP	Radioéléments	^{11}C	20,4 min	Cyclotron
		^{18}F	1,83 h	Cyclotron
	Radiométaux	^{64}Cu	12,7 h	Cyclotron
		^{68}Ga	1,10 h	Générateur ^{68}Ge/^{68}Ga
		^{89}Zr	78,5 h	Cyclotron
TEMP	Radioéléments	^{123}I	13,2 h	Cyclotron
	Radiométaux	^{67}Ga	78,3 h	Cyclotron
		^{99m}Tc	6,02 h	Générateur ^{99}Mo/^{99m}Tc
		^{111}In	2,83 j	Cyclotron

Tableau 3 : Exemples d'éléments radioactifs utilisés pour les scintigraphies

Le temps de demi-vie de l'élément choisi doit être adapté au temps de l'analyse envisagée. En effet, ce temps doit être assez long pour pouvoir suivre le radiotraceur tout au long de l'examen, mais pas trop long pour éviter la surexposition des patients aux radiations.

Suite à la commercialisation du ^{18}F-FDG (pour Fluorodéoxyglucose-18, commercialisé sous le nom Metatrace FDG® en France), le fluor-18 est devenu le

radioélément le plus utilisé en imagerie TEP. Cette molécule est un analogue fluoré du glucose, qui s'accumule dans les cellules car elle n'est pas métabolisée suite au remplacement d'une fonction hydroxy par un fluor. C'est ce processus qui permet notamment de visualiser les cellules du cerveau, du foie et les cellules cancéreuses qui sont les plus consommatrices de sucre.

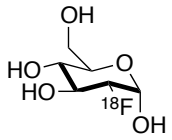


Figure 20 : Structure du ^{18}F-FDG

D'autres éléments non-métalliques peuvent également être utilisés mais beaucoup d'études actuelles portent sur l'utilisation de métaux radioactifs du fait de leur temps de demi-vie souvent plus long. De plus, certains de ces métaux tel que le gallium-68 peuvent être produits par générateur, ce qui simplifie la production et diminue le coût. Dans le cas de la TEP, le zirconium-89 est un élément présentant un intérêt grandissant depuis ces dernières années du fait de son temps de demi-vie de 78,5 h particulièrement adapté au biomarquage par un anticorps.[29]

Dans le cas de l'imagerie TEMP, le technétium-99m (isomère nucléaire du ^{99}Tc) est utilisé dans 80 % des examens. Cet élément possède un temps de demi-vie d'environ six heures et est produit par un générateur ^{99}Mo/^{99m}Tc. Celui-ci est encapsulé dans différents ligands selon l'examen effectué. Pour une imagerie du cerveau, le technétium-99m est associé à l'oxime de l'hexaméthylpropylèneamine (HMPAO) pour former le technétium (^{99m}Tc) hexamétazime commercialisé sous le nom Ceretec® (Figure 21).[30]

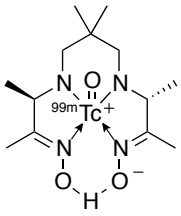


Figure 21 : Structure du principe actif du Ceretec®

D'autres éléments sont également de plus en plus utilisés. On peut notamment citer l'indium-111, qui a un temps de demi-vie de plus de deux jours.[31]

1.3.1.3. Fluorophores pour l'imagerie optique

L'imagerie optique utilise des fluorophores comme agents imageants. Ceux-ci doivent présenter des caractéristiques photophysiques intéressantes pour pouvoir être utilisés comme traceurs. En effet, plusieurs paramètres influent sur la qualité de l'agent fluorescent. D'abord, comme précisé précédemment (Figure 7 et 8), plus le fluorophore absorbera dans une zone proche de la zone thérapeutique, plus il sera possible de réaliser des images en profondeur. Ensuite, celui-ci doit posséder une bonne brillance (produit du coefficient d'extinction molaire ε et du rendement quantique de fluorescence Φ_f). Il devra également être chimiquement et photochimiquement stable afin de ne pas être dégradé pendant l'examen. Enfin, il est généralement vectorisé et permet une visualisation d'un endroit précis (le plus souvent une tumeur) en profondeur limitée. Beaucoup de fluorophores organiques ont été développés pour l'imagerie.[9] À l'heure actuelle, la seule molécule organique ayant des propriétés d'absorption et d'émission dans le proche infra-rouge approuvée par la FDA (Food and Drug Administration) est l'indocyanine verte (Figure 22). Celle-ci est autorisée en milieu clinique.

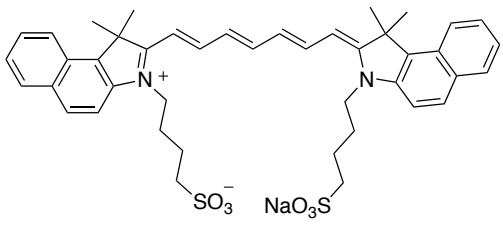
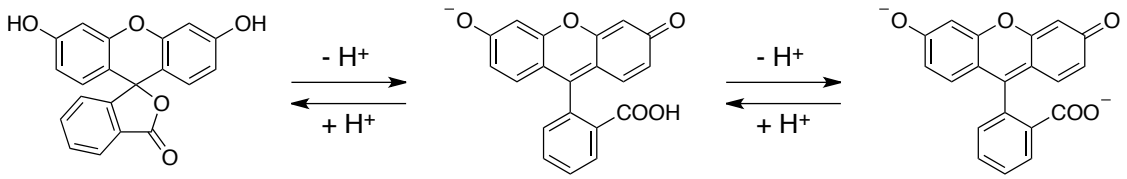


Figure 22 : Structure de l'indocyanine verte

D'autre part, la fluorescéine (Figure 23) a été énormément étudiée et est très utilisée en recherche. Ceci est dû à sa facilité d'obtention et de fonctionnalisation, sa solubilité en milieu aqueux (dépendante du pH) et son rendement quantique très élevé. Elle souffre néanmoins de ses propriétés d'absorption et d'émission se situant en dehors de la fenêtre thérapeutique.



Non fluorescent
pH < 5

Φ_f = 37 %
5 ≤ pH ≤ 6,4

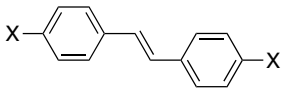
Φ_f = 93 %
pH = 9

Figure 23 : Structure de la fluorescéine selon le pH

Des nanocristaux fluorescents (quantum dots) sont également étudiés.[32] En effet, ceux-ci présentent également des propriétés très intéressantes. Du fait de leurs coefficients d'extinction molaires et de leurs rendements quantiques, les quantum dots ont par exemple des brillances extrêmement élevées comparativement aux fluorophores organiques classique mais sont composés de métaux toxiques (scandium par exemple) qui limite pour l'instant leur utilisation *in vivo*.

1. 3. 1. 3. 1. Fluorophores pour l'absorption à deux photons

Les premiers colorants organiques utilisés pour l'absorption à deux photons ont été préparés en 1963.[33] Plusieurs années plus tard, des relations structures-propriétés ont été mises en évidence afin d'optimiser le « design » de ces chromophores. Beaucoup d'études ont été menées sur le cœur (*E*)-stilbène pour étudier l'influence de substituants électrodonneurs sur l'efficacité de l'absorption à deux photons (Figure 24).[34]



X = H, σ_{2max} = 12 GM à 514 nm

X = NBu_2, σ_{2max} = 110 GM à 620 nm

X = NPh_2, σ_{2max} = 340 GM à 680 nm

Figure 24 : Sections efficaces du (E)-stilbène portant des groupements électrodonneurs

Ces données expérimentales ont mis en évidence la forte dépendance entre la section efficace d'absorption (σ_{2max}) à deux photons et les substituants de la molécule. Il est ainsi possible de concevoir des sondes π conjuguées portant aux extrémités des groupements donneurs (D) ou accepteurs (A) centrosymétriques ou non (Figure 25). Les molécules centrosymétriques de type D-π-D et A-π-A semblent présenter de

meilleures sections efficaces pour l'absorption à deux photons que les molécules dipolaires de type D-π-A.[35]

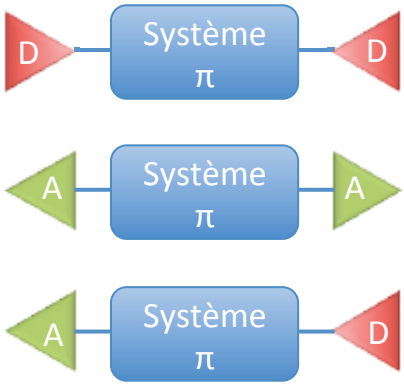
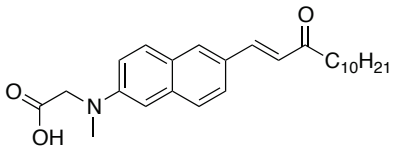


Figure 25 : « Design » classique des molécules étudiées en absorption à deux photons

De nombreuses sondes pour la microscopie à deux photons ont donc été développées suite à ces études.[35-36] Certaines sondes ont été réalisées et ont permis par exemple de suivre la migration d'agents thérapeutiques à l'intérieur des cellules.[37] Ces composés doivent, de plus, présenter une absorption à un photon située entre 325 et 450 nm afin de se situer dans la fenêtre thérapeutique pour une absorption à deux photons. Enfin, comme la brillance pour la microscopie par fluorescence, l'efficacité de ces composés dépend du produit de leur section efficace pour l'absorption à deux photons (σ_{2max}) et de leur rendement quantique de fluorescence (Φ_f). La sonde ci-dessous a été utilisée pour visualiser les radeaux lipidiques dans des cellules vivantes par microscopie à deux photons. La brillance à deux photons de cette sonde est de 80 GM lorsqu'elle est encapsulée dans un liposome hydrophobe contre 10 GM dans un liposome hydrophile (Figure 26).[38]



$\Phi_f \sigma_{2max}$ = 80 GM à 800 nm
dans un liposome hydrophobe
$\Phi_f \sigma_{2max}$ = 10 GM à 800 nm
dans un liposome hydrophile

Figure 26 : Sonde à brillance variable selon le milieu dans lequel elle se trouve

De nombreuses sondes activables ont également été synthétisées. Celles-ci permettent la détection de cations métalliques, d'anions ou des variations de pH.[39]

1. 3. 1. 3. 2. Harmonophores pour la GSH

Les sondes réalisées pour l'imagerie par génération de second harmonique doivent présenter plusieurs caractéristiques. D'abord, leur hyperpolarisabilité quadratique doit être assez élevée pour qu'un signal puisse être observé. Les sondes commerciales actuelles, comme la FM4-64 (Figure 27), ont des hyperpolarisabilités quadratiques d'environ 1000.10^{-30} esu à des longueurs d'ondes situées dans la fenêtre thérapeutique.

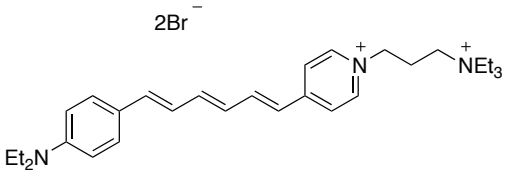


Figure 27 : Structure de la FM4-64

La valeur doit être supérieure à 300.10^{-30} esu pour qu'un signal soit observable.[14] Enfin, ces sondes sont faites pour imager les membranes cellulaires, elles doivent donc posséder une bonne affinité pour ce milieu. Pour cela, il est préférable que ces sondes soient amphiphiles. Cette affinité peut être mesurée empiriquement par fluorescence. Les sondes FM ont montré des résultats intéressants dans ce domaine.[40]

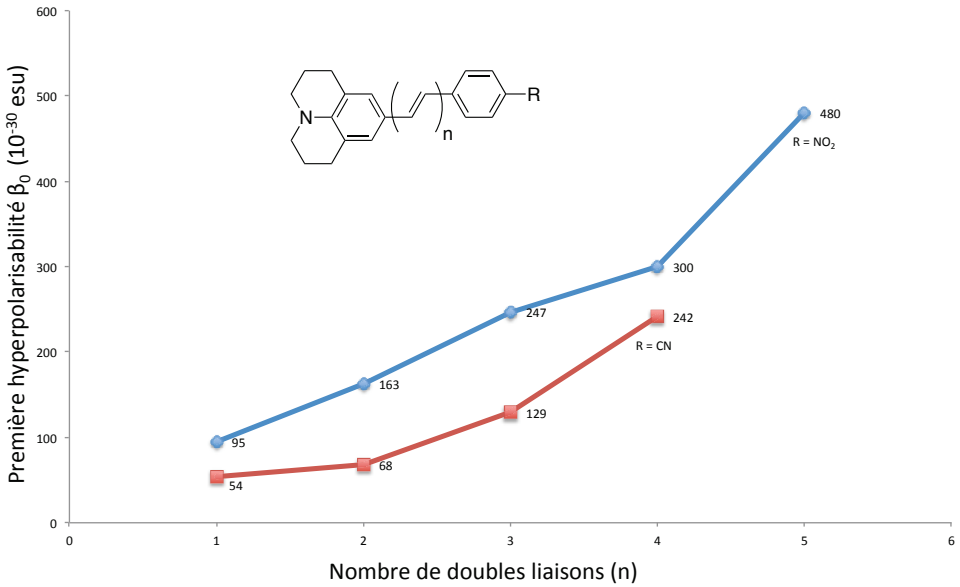


Figure 28 : Influence de la taille du pont π-conjugué sur la première hyperpolarisabilité

Du fait de leur forte conjugaison π, les molécules possédant un pont polyméthine (comme la FM4-64) ont dominé le domaine des sondes pour la génération de second harmonique. Après une analyse de ces composés, le groupe de *M. Blanchard-Desce* a

montré que la première hyperpolarisabilité β_0 dépendait de la conjugaison π du pont et dans le cas des polyméthines, du nombre de double liaisons composant le pont (Figure 28).[41] On constate que plus la conjugaison est importante, plus l'hyperpolarisabilité augmente. Ceci explique le succès des différentes sondes FM (comme la FM4-64). Cependant, la solubilité diminue lorsque le système π-conjugué augmente.

Des sondes similaires zwitterioniques avec un pont acétylène (Figure 29) ont également été réalisées et présentent des propriétés d'optique non-linéaire similaires.

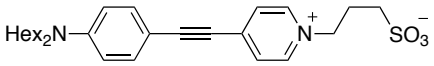


Figure 29 : Exemple de sonde possédant un pont acétylène (di-6-APESBPS)

Plusieurs dérivés porphyriniques ont également été étudiés et ont montré de bons résultats en GSH. Les systèmes de type « push-pull » (ou D-π-A) se sont révélés particulièrement intéressants. En effet, celles-ci présentent des valeurs d'hyperpolarisabilité très élevées à une longueur d'onde correspondant à la fenêtre thérapeutique (Tableau 4).[42,43]

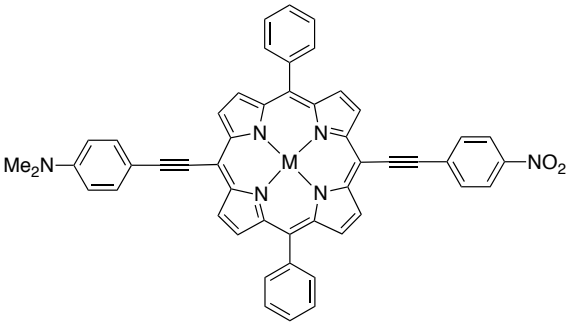
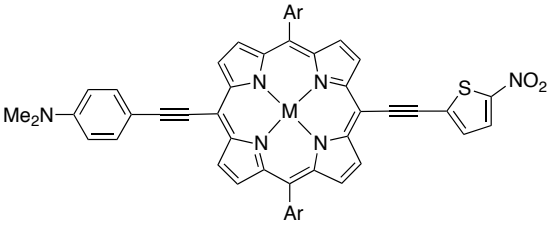
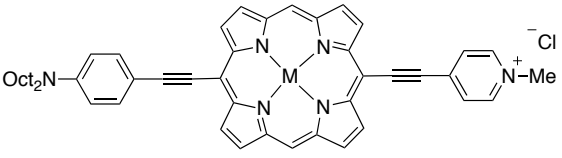
Composés	Métal	β (λ) (.10^{-30} esu)
	M = Cu M = Zn	4374 (830) 5142 (830)
	M = Zn	860 (800)
	M = 2H	2300 (800)

Tableau 4 : Hyperpolarisabilité de systèmes porphyriniques

1.3.2. Agents multimodaux

1.3.2.1. Agents multimodaux pour l'IRM et l'imagerie nucléaire

Les agents multimodaux permettant d'accéder à une imagerie IRM et à une imagerie nucléaire constituent un axe majeur dans la recherche pour l'imagerie médicale. Ceux-ci doivent être conçus de façon à pouvoir compenser la différence de sensibilité entre les deux techniques. Pour cela différentes approches ont été étudiées.[44]

1. 3. 2. 1. 1. Approche monomoléculaire

La première méthode pour concevoir ce type d'agent est une approche monomoléculaire. Celle-ci consiste à synthétiser une molécule regroupant un métal paramagnétique et un radioélément. Le plus souvent, l'imagerie nucléaire permet de quantifier l'IRM qui va servir à étudier un processus particulier. Le groupe de Caravan *et al.*[45] a par exemple décrit la synthèse d'un dérivé phosphoré du DOTA qui, une fois métallé au gadolinium présente une relaxivité qui varie en fonction du pH. De plus, un des bras du macrocycle a été fonctionnalisé pour pouvoir ajouter un atome de fluor-18 visualisable en TEP (Figure 30). Gr ce à cette modalité, il est possible de quantifier la quantité de produit de contraste puis, gr ce à l'IRM, on peut connaître le pH de la zone que l'on souhaite étudier.

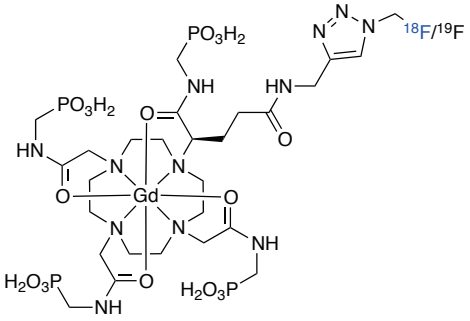


Figure 30 : Exemple d'un agent imageant IRM/TEP utilisable comme sonde à pH

Un autre exemple a été décrit par le groupe de Wester *et al.*[46]. Celui-ci est un TRAP (un triazamacrocycle fonctionnalisé par trois bras phosphonate) connu pour son affinité avec le gallium relié à trois dérivés du DOTA. Ceux-ci ont été métallés au gadolinium afin d'être actifs en IRM (Figure 31). Après métallation du TRAP au gallium-68, des images IRM et TEP superposées ont pu être obtenues.

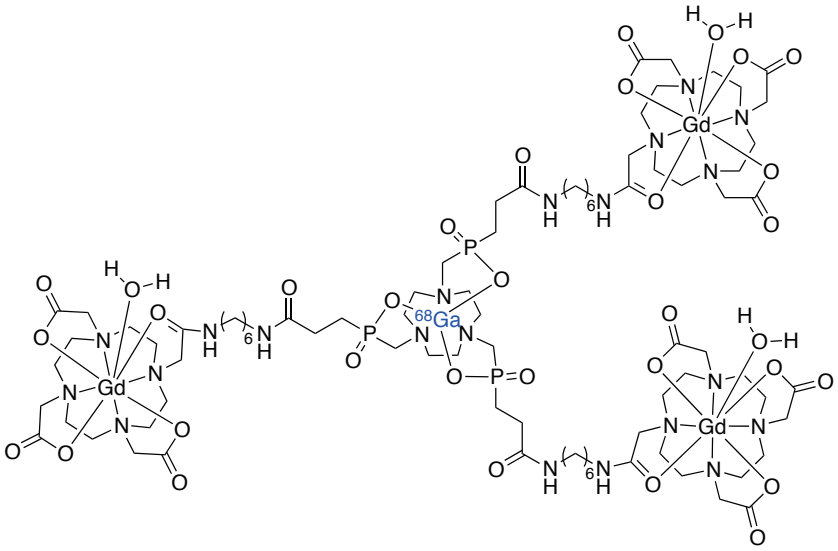


Figure 31 : Exemple d'un agent imageant IRM/TEP à base de polyazamacrocycles

1. 3. 2. 1. 2. Utilisation de nanoparticules

L'utilisation de nanoparticules d'oxydes métalliques (fer, manganèse ou gadolinium) permet de s'affranchir du problème de différence de sensibilité des deux techniques. En effet, il est possible de contrôler la quantité d'élément radioactif ajouté sur la nanoparticule.

Plusieurs équipes ont travaillé sur la synthèse de nanoparticules de type SPION (pour SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticules) fonctionnalisées par différents ligands métallés avec des radioéléments utilisables en TEP ou en SPECT.[47]

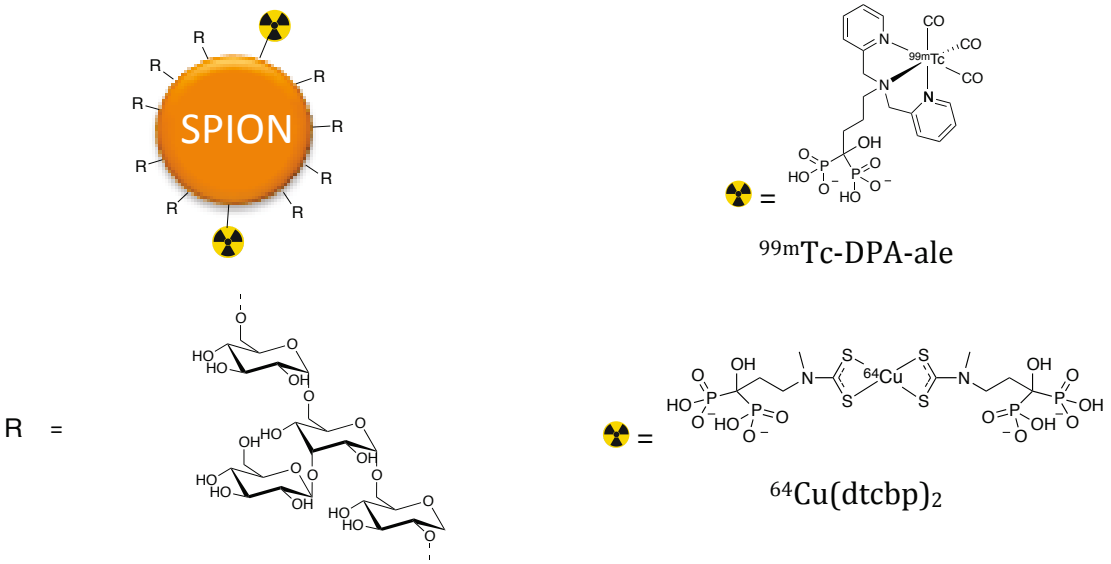


Figure 32 : Exemple de nanoparticules fonctionnalisées par des agents imageant SPECT (^{99m}Tc-DPA-ale) et la TEP (^{64}Cu(dtchp)$_2$)

Ces nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_3O_4) sont d'abord enrobées par un polysaccharide (le dextran) afin de les rendre furtives et hydrosolubles. Le ligand présentant le métal radioactif est ensuite greffé.

Des particules appelées MnMEIO (pour Manganese Magnetism Engineered Iron Oxide) composées de $MnFe_2O_4$ ont également été étudiées. Celles-ci présentent des relaxivités deux à trois fois plus élevées que celles des SPION.[48]

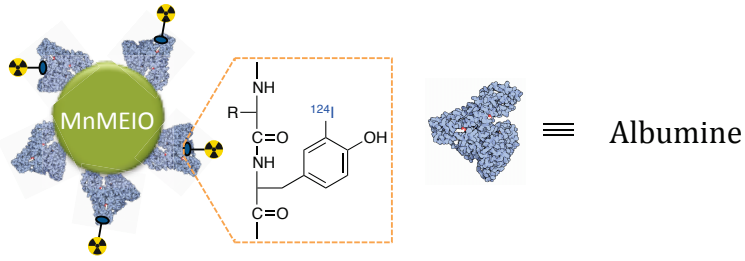


Figure 33 : Exemple de nanoparticules fonctionnalisées par des albumines modifiées portant des atomes d'iode-124 pour l'imagerie TEP

Ces particules ont été fonctionnalisées par des protéines hydrosolubilisantes (des albumines) elles-mêmes modifiées afin de pouvoir ajouter un atome d'iode-124 visualisable en TEP.

1.3.2.2. Agents multimodaux pour l'imagerie optique et nucléaire

Gr ce à la sensibilité quasi-identique des deux techniques, les agents alliant les imageries optiques et nucléaires sont le plus souvent monomoléculaires.

Depuis plusieurs années maintenant, beaucoup de sondes de ce type ont été élaborées (Figure 34).[49]

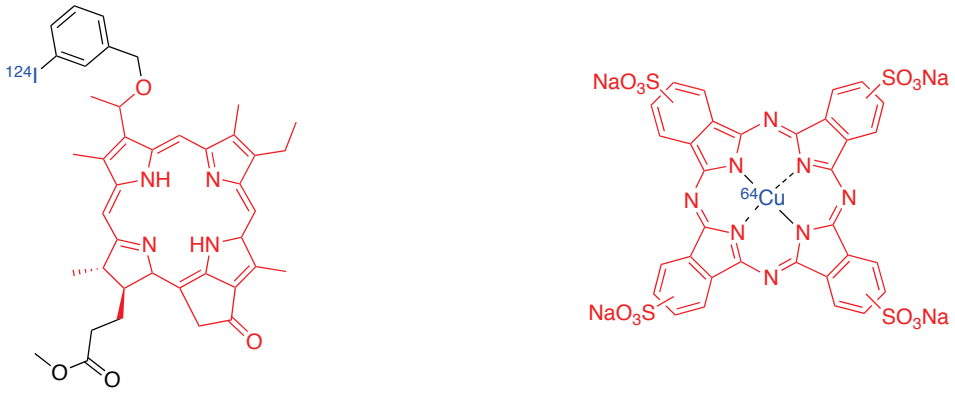
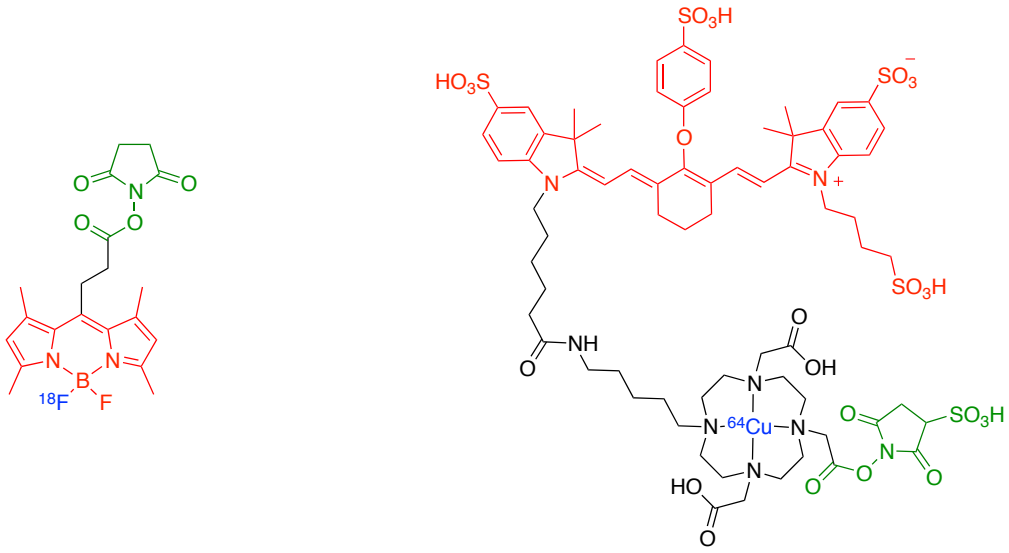


Figure 34 : Fluorophores dérivés de porphyrines et de phtalocyanines marquées par un radioisotope

Ces sondes sont donc composées d'un fluorophore en vue d'une utilisation en imagerie optique et d'un radioisotope afin d'être visualisable par une imagerie nucléaire. Par exemple, des fluorophores dérivés de porphyrines et de phtalocyanines marquées parun radiométal ont été préparées. [50]

D'autres sondes ont également été réalisées (Figure 35).[51]



Sonde A Sonde B

Figure 35 : Fluorophores radiomarqués présentant une fonction activée

La sonde A est formée d'un BODIPY (ou dipyrrométhène de bore), un fluorophore connu pour ses propriétés photophysiques intéressantes. En effet, ceux-ci présentent généralement des rendements quantiques de fluorescence élevés et leurs longueurs d'onde d'absorption et d'émission sont facilement modulables par modification de la conjugaison du cœur aromatique. Dans cet exemple, l'atome de fluor présent sur le bore a été substitué par un atome de fluor-18 afin d'être utilisable en TEP. La sonde B est composée d'un fluorophore proche infra-rouge dérivé de cyanine relié à un dérivé de DOTA permettant la chélation du cuivre-64 pour une application en TEP. Ces sondes présentent également une fonction activée permettant un futur ancrage sur une biomolécule vectrice.

1.3.2.3. Agents multimodaux pour l'imagerie optique et l'IRM

L'IRM et l'imagerie optique présentent des caractéristiques très différentes. Élaborer des agents alliant ces deux techniques est donc un défi. En effet, la sensibilité de l'imagerie optique est bien supérieure à celle de l'IRM. En revanche, la pénétrabilité

de l'imagerie optique est bien plus faible que celle de l'IRM. Beaucoup de sondes ont cependant été réalisées et certaines méthodes permettent de pallier à ces problèmes.[17a]

Une première stratégie consiste en la synthèse de dendrimères possédant un nombre supérieur d'agents à base de métal paramagnétique que de sondes fluorescentes.

Un exemple de sondes de ce type a été décrit par l'équipe de Lukeš.[52] Cette structure comprend une β-cyclodextrine qui présente en moyenne 6,9 complexes de gadolinium et 0,1 unité de fluorescéine (Figure 36).

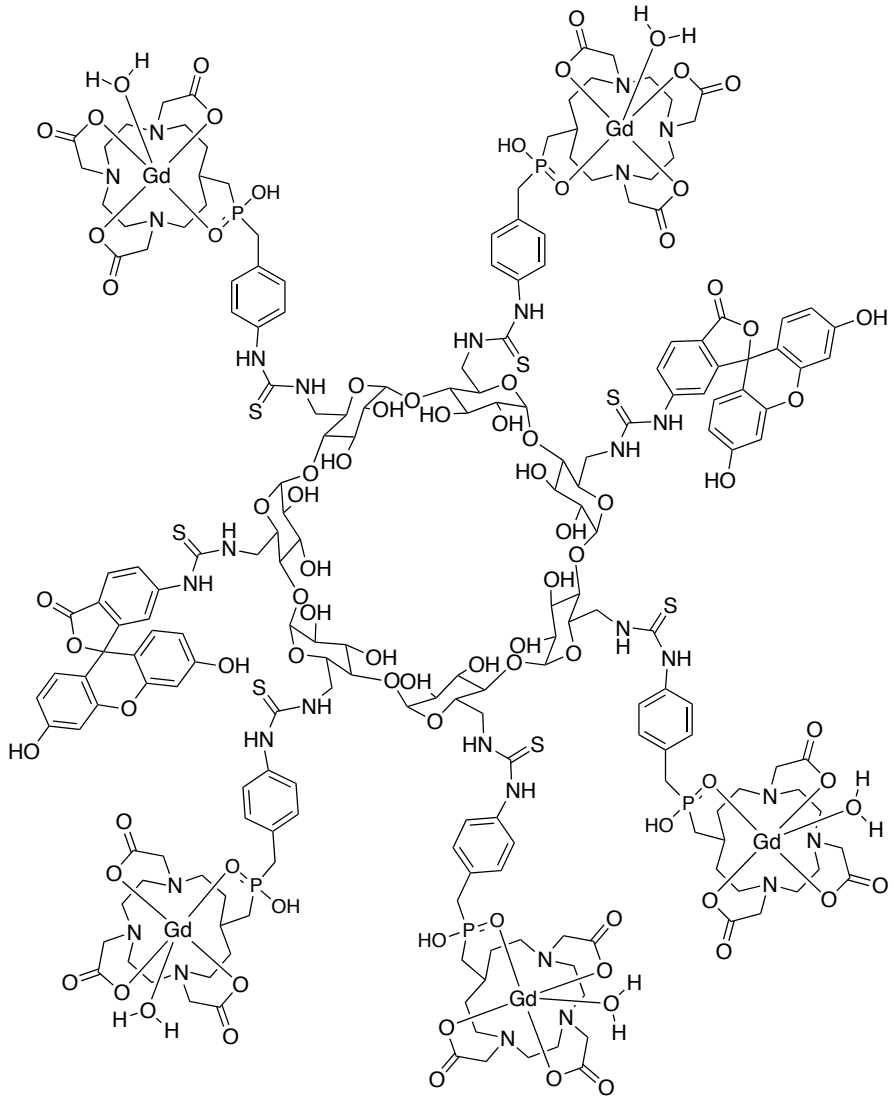


Figure 36 : Cyclodextrine fonctionnalisée par des complexes de gadolinium et des fluorescéines

Une autre approche consiste en l'utilisation de liposomes ou de nanoparticules permettant un contrôle du ratio d'agent fluorescent et paramagnétique. Par exemple, les

liposomes sont des vésicules artificielles formées de deux couches lipidiques. Ceux-ci permettent l'encapsulation et le transport de composés lipophiles. De plus, la fonctionnalisation des phospholipides formant ces derniers permet d'ajouter par exemple, un nombre de fluorophores et de complexes de gadolinium contrôlé. L'utilisation de nanoparticules paramagnétiques fonctionnalisées par des fluorophores permet également ce contrôle. Enfin, ces deux nano-objets peuvent être vectorisés par des biomolécules (peptides, anticorps) afin d'être acheminés jusqu'à leur cible.[53]

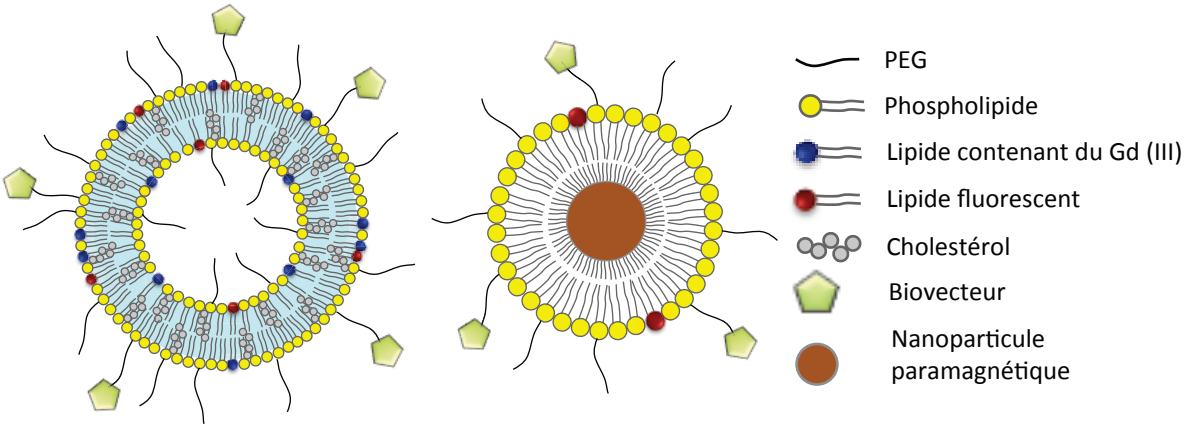


Figure 37 : Exemple de liposome (gauche) et de nanoparticule (droite) fonctionnalisés pour l'IRM et l'imagerie optique

1.3.3. Agents théragnostiques

Un agent théragnostique est un composé alliant un agent imageant et un agent thérapeutique. Cette approche récente permet le suivi de l'agent dans le corps du patient par les différentes techniques d'imagerie afin d'étudier le mode d'action de l'agent thérapeutique mais également de s'assurer du transport efficace de l'agent vers la cible. Ce type d'agent est relativement difficile à élaborer. En effet, la présence de l'agent d'imagerie ne doit pas modifier l'action de l'agent thérapeutique. La PDT (pour PhotoDynamic Therapy) semble donc être une approche de choix pour la conception de nouveaux agents thérapeutiques (Figure 38).[54]

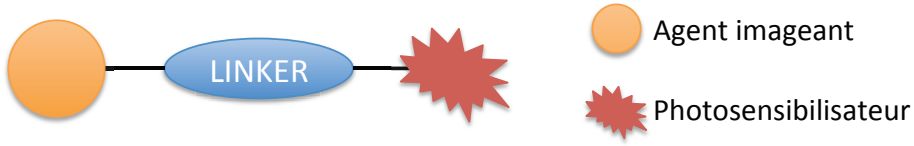


Figure 38 : Schéma d'un agent théragnostique

1.4. Biovectorisation

Dans la plupart des techniques présentées précédemment, les agents imageants peuvent être vectorisés jusqu'à la cible d'intérêt biologique. Pour cela, il est nécessaire d'ajouter sur l'agent imageant une fonction dite « activée » (ou fonction de greffage) afin de connecter un vecteur. Il existe plusieurs types de vecteurs biologiques présentant différents ciblages, temps d'éliminations, prix… Le tableau ci-après regroupe les différents types de vectorisation possibles (Tableau 5).[15, 55]

Le choix du type de vectorisation est généralement fait en fonction de la cible à imager et de la méthode d'imagerie utilisée. En effet, le temps d'élimination, la spécificité sont des paramètres importants selon l'examen.

Du peptide de quelques acides aminés aux plus gros anticorps, la vectorisation se fait par reconnaissance et internalisation dans la cellule ou les vaisseaux. Le plus souvent, les peptides et les anticorps sélectionnés sont reconnus par des récepteurs surexprimés par les cellules tumorales. Dans le cas des petites molécules, c'est souvent la surconsommation des nutriments des cellules tumorales qui permettra une accumulation de l'agent dans ces dernières mais également par reconnaissance par des récepteurs surexprimés par les cellules tumorales. Ces molécules sont le plus souvent rapidement internalisées (de manière active ou passive) afin d'être assimilées par la cellule.[56] Enfin, dans le cas des nanoparticules, c'est l'hypervascularisation des cellules tumorales qui entraine la vectorisation. En effet, la perméabilité accrue de la paroi vasculaire favorise l'accumulation de particules à haut poids moléculaire. Cette propriété permet l'accumulation de nanoparticules de 100 à 200 nm et porte le nom d'effet EPR (pour Enhanced Permeation and Retention effect).[57]

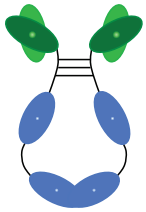
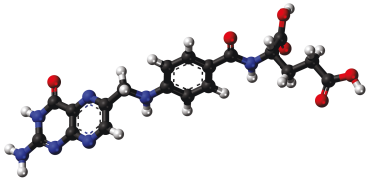
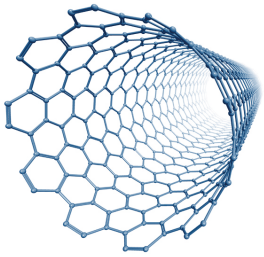
Type de vectorisation	Avantages	Inconvénients
Anticorps	• Faible antigénicité • Faible toxicité • Spécificité élevée • Large gamme d'anticorps disponibles	• Élimination lente • Production difficile • Manipulation et greffage délicat • Coût
 Fragments d'anticorps	• Affinité et spécificité élevée • Temps d'élimination adapté à l'imagerie	• Production difficile • Coût
Peptides	• Spécificité élevée • Synthèse relativement simple • Greffage simple • Pas de rétention dans les tissus	• Elimination trop rapide • Stabilité
 Petites molécules	• Spécificité élevée • Pas de rétention dans les tissus	• Spécificité éventuellement influencée par la présence de l'agent imageant car peu de différence de taille
 Nanoparticules	• Fonctionnalisation par plusieurs unités de reconnaissance	• Élimination lente • Toxicité éventuelle avec les métaux lourds

Tableau 5 : Différents types de vecteurs biologiques[15, 55]

1.4.1. Fonctions de greffage

Il existe une grande variété de fonctions permettant l'accroche avec un vecteur biologique. Dans le cas des petites molécules (acide folique, sucre) la vectorisation peut se faire gr ce à des réactions de chimie organique classique. Cependant, dans le cas d'une accroche sur un peptide, un anticorps ou un fragment d'anticorps cette réaction doit être biocompatible et judicieusement choisie afin de contrôler la quantité d'agent ajouté et de ne pas modifier le ciblage du vecteur.

1.4.1.1. Ciblage des amines primaires

Les fonctions amines primaires sont les fonctions les plus utilisées pour la bioconjugaison.[58] Dans le cas des peptides par exemple, ces fonctions se trouvent à l'extrémité *N*-terminal mais également sur les chaînes latérales des résidus lysines. Il existe alors plusieurs fonctions biocompatibles permettant l'ancrage sur ces fonctions (Figure 39).

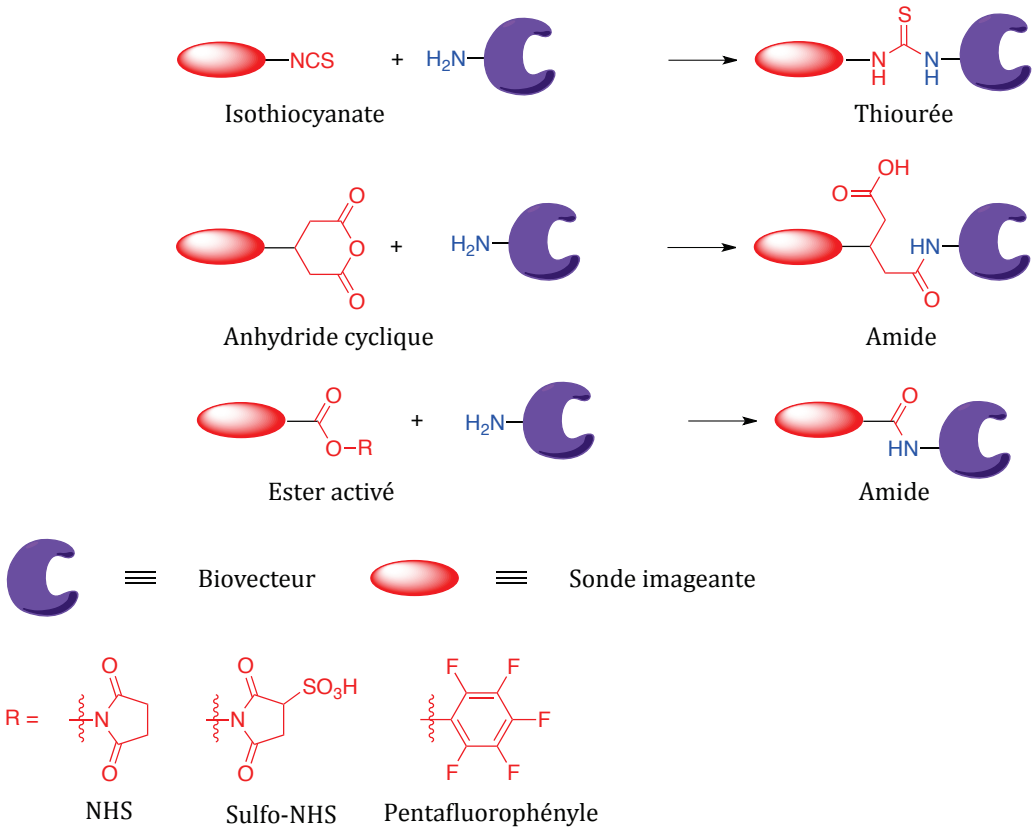


Figure 39 : Principales fonctions activées permettant le ciblage des amines primaires

La première réaction est une condensation de l'amine primaire sur une fonction isothiocyanate. Cette réaction permet de lier les deux entités par une liaison thiourée ou

thiocarbamide particulièrement stable. La seconde réaction est l'ouverture d'un anhydride cyclique pour former une liaison amide connue pour sa biocompatibilité. Ces deux réactions présentent les avantages d'être rapides et de ne former aucun sous-produit. La dernière réaction est la condensation de l'amine primaire sur un ester activé par un groupement nucléofuge (NHS, sulfo-NHS, pentafluorophényle). Cette réaction engendre également la formation d'une liaison amide mais conduit à la formation de sous-produits dus à l'utilisation de groupements nucléofuges.

1.4.1.2. Ciblage des thiols

Il est également possible de cibler des fonctions thiols présentes par exemple sur les cystéines. En effet, cet acide aminé est le seul à présenter des fonctions thiols. Ces fonctions servent généralement à former des ponts disulfures. Cependant, certaines de ces fonctions ne sont pas utilisées et peuvent être fonctionnalisées par différents types d'accroche.[58-59]

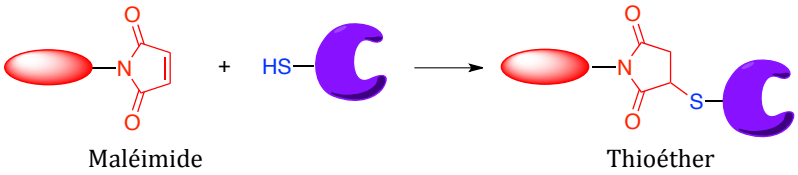


Figure 40 : Exemple de fonction activée permettant le ciblage des thiols

Dans ce cas, une addition nucléophile du thiol sur le maléimide permet la formation d'une liaison stable sans formation de sous-produits.

1.4.1.3. Ciblage d'acides aminés non-naturels

Une autre stratégie consiste à modifier chimiquement une fonction sur le vecteur. Cette stratégie est particulièrement utile pour le « pre-targeting ».[60]

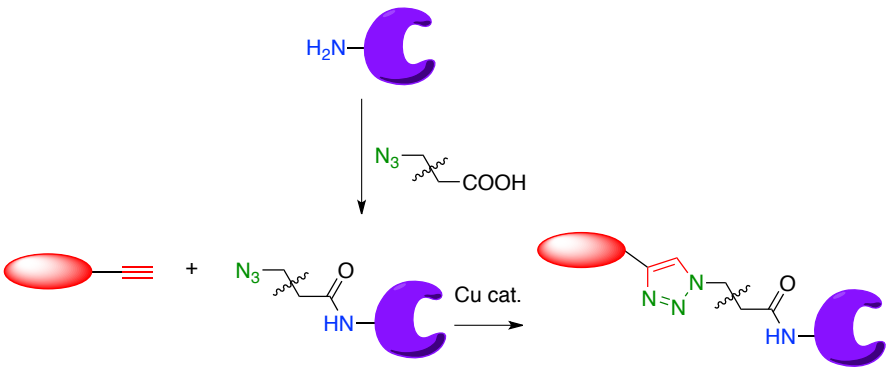


Figure 41 : Exemple de chimie « click » après modification de la biomolécule

Par exemple, il est possible de modifier la biomolécule afin de lui ajouter une fonction azide. Celle-ci peut alors réagir avec une molécule portant un groupement alcyne vrai selon une réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire. Cette réaction a été découverte par Rolf Huisgen en 1963 et permet la formation de 1,2,3-triazole.[61] Le terme de chimie click a ensuite été introduit par K. Barry Sharpless en 1998 et a été étudié précisément par son équipe en 2001.[62] C'est actuellement une méthode de couplage très utilisée. Il est également possible de modifier la biomolécule afin de lui ajouter une fonction alcyne vrai et d'effectuer la réaction dans l'autre sens.[63]

1.4.2. Exemples de composés bioconjugués

Dans la littérature, beaucoup de composés ont été biovectorisés par les différentes approches citées précédemment.[55]

1.4.2.1. Bioonjugaison par un anticorps

La vectorisation par un anticorps permet d'observer des processus très précis du fait de leur spécificité et de leur sélectivité. En effet, la taille de l'anticorps fait que celui-ci est peu altéré par la présence d'un agent imageant. Jun et al. ont greffé un DTPA métallé au gadolinium (pour l'IRM) sur un anticorps anti-VEGFR2 (pour Vascular Endothelial Growth Factor Receptors) connu pour son affinité pour les cellules surexprimant les récepteurs VEGFR2.[64] Ces récepteurs sont surexprimés dans beaucoup de cellules tumorales et notamment celles du sein, du colon, des ovaires et du cerveau.[65]

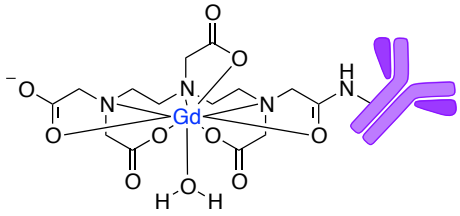


Figure 42 : Exemple d'un agent de contraste IRM vectorisé par un anticorps anti-VEGFR2

1.4.2.2. Bioconjugaison par un fragment d'anticorps

L'accroche d'agents imageants sur des fragments d'anticorps semble être une approche de choix. En effet, comme mentionné précédemment, ces biovecteurs présentent les avantages des anticorps tout en ayant un temps d'élimination plus adapté à l'imagerie. C'est pourquoi beaucoup de recherches sont actuellement menées dans ce domaine. Cheng *et al.* ont par exemple réalisé la synthèse d'un dérivé métallé au cuivre-

64 relié à un fragment d'anticorps $Z_{HER2:477}$ (Figure 43).[66] Ce fragment présente une affinité particulière pour les récepteurs HER2 (pour Human Epidermal growth factor Receptor). Ceux-ci sont surexprimés dans une large gamme de cellules tumorales, incluant celles du sein, du poumon, du foie, des ovaires et celles de la bouche.[67]

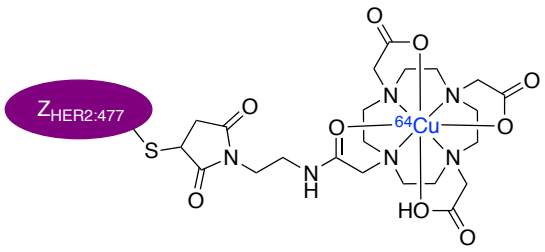


Figure 43 : Exemple d'un agent imageant TEP vectorisé par un fragment d'anticorps

1.4.2.3. Bioconjugaison par un peptide

Les peptides présentent l'avantage d'être relativement simples à greffer par couplage peptidique par exemple. Une fluorescéine conjuguée par un heptapeptide de séquence VRPMPLQ a par exemple été étudiée (Figure 44).[68] Cette séquence peptidique a été choisie pour sa spécificité pour les cellules tumorales du colon.

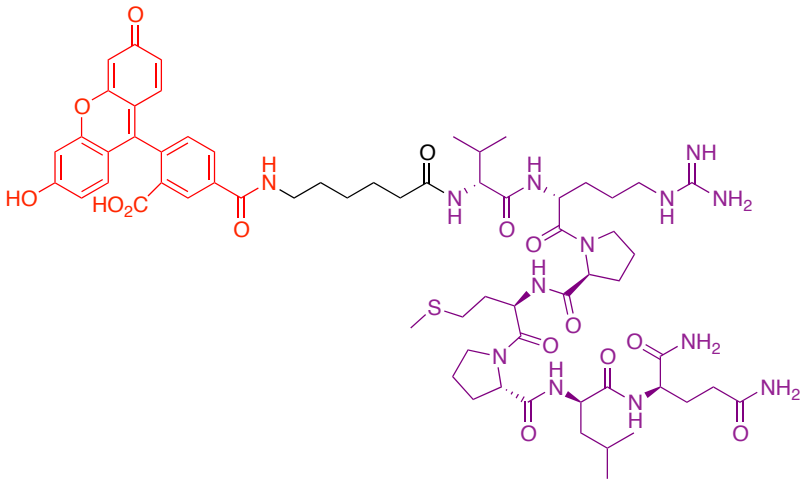


Figure 44 : Exemple d'un fluorophore vectorisé par un peptide de séquence VRPMPLQ

1.4.2.4. Bioconjugaison par une petite molécule

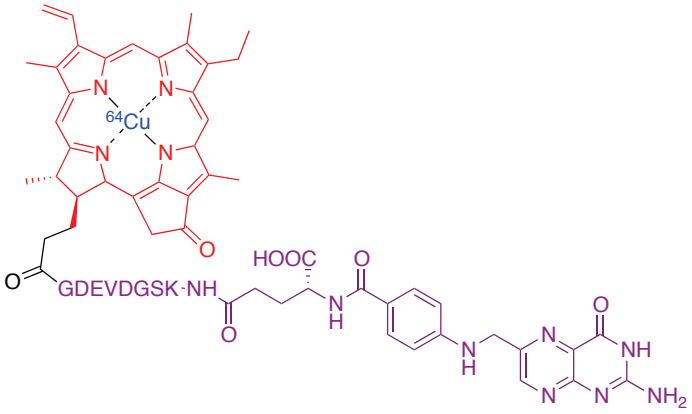


Figure 45 : Dérivé de porphyrine métallée au cuivre-64 et greffée sur un peptide et un folate

Cette sonde est composée d'un dérivé de porphyrine métallée au cuivre-64 reliée à une fonction vectrice, à savoir un dérivé de l'acide folique connu pour sa capacité de ciblage des cellules tumorales (Figure 45).[69] En effet, ces dernières, et en particulier celles du cancer ovarien, surexpriment les récepteurs aux folates.[70]

1.4.2.5. « Pre-targeting »

Cette technique consiste à injecter dans un premier temps un anticorps fonctionnalisé par un groupement spécifique. Puis, une fois que l'anticorps a reconnu sa cible, on injecte l'agent imageant présentant une fonction capable de reconnaître le groupement précédemment ajouté sur l'anticorps et de réagir avec selon une pseudo réaction de Diels-Alder par exemple (Figure 46).

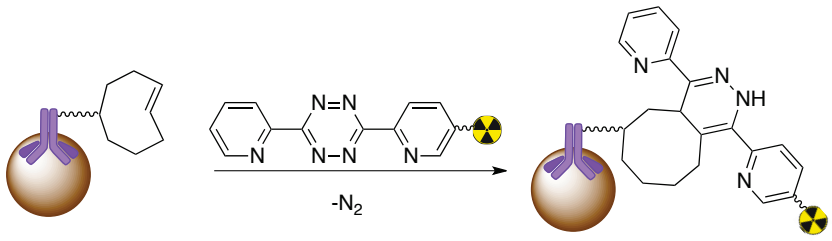


Figure 46 : Exemple de post vectorisation par pseudo réaction de-Diels-Alder

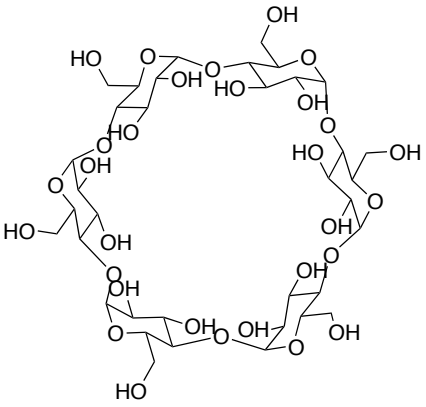
2. Molécules d'intérêts

Cette partie présente les différentes molécules d'intérêt pour les projets réalisés durant cette thèse. Le premier projet consiste à relier une porphyrine et un polyazamacrocyle pour former un ligand hétéroleptique afin d'introduire deux métaux d'intérêt utilisables dans deux types d'imagerie médicale. Le second projet porte sur la synthèse de porphyrines zwittérioniques amphiphiles et l'étude de leurs propriétés pour la génération de second harmonique. Enfin, le troisième projet aborde la synthèse de dérivés DPP reliés à un dérivé du DOTA pour des applications en optique biphotonique et en IRM. Les molécules présentées dans cette partie sont donc les porphyrines, les polyazamacrocycles et les DPP.

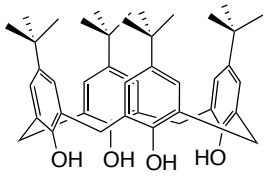
2.1. Les macrocycles chélatants

Du fait de leur toxicité, les métaux ne peuvent généralement pas être injectés directement. Afin de pallier à ce problème, l'utilisation de ligands est devenue une méthode classique. Les macrocycles sont en général de très bons candidats car ils possèdent des propriétés de chélation très intéressantes.

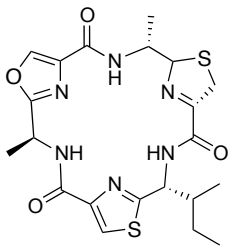
Les macrocycles sont des molécules cycliques contenant au minimum 12 atomes. En chimie de coordination, les macrocycles sont, par définition, des molécules cycliques composées d'au moins 9 atomes dont 3 sont des hétéroatomes.



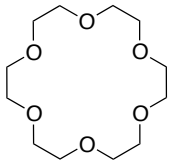
1) α-Cyclodextrine



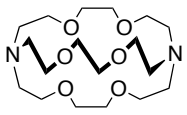
2) Calix[4]arène



3) Dolastine E



4) 18C6



5) Cryptand [2,2,2]

Figure 47 : Exemples de macrocycles aliphatiques

Il existe cependant plusieurs familles de macrocycles (Figure 47). On peut notamment citer les cyclodextrines (1), les calixarènes (2), les cyclopeptides (3), les éthers couronnes (4) et les cryptands (5).

2.1.1. Ligands polyaminocarboxyliques

Les polyazamacrocycles sont les analogues azotés des éthers couronnes. Les fortes capacités de chélation des polyamines linéaires sont alors renforcées par l'effet macrocyclique (Figure 48).

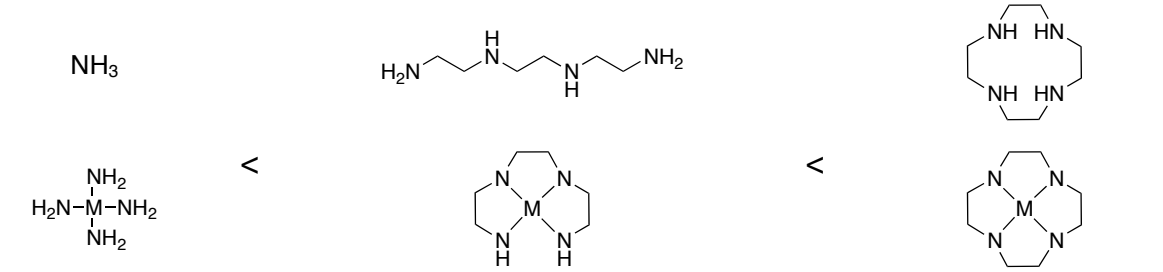


Figure 48 : Amélioration des propriétés de chélation selon la pré-organisation du ligand

La capacité des ligands azotés à piéger un métal peut être reliée au degré de pré-organisation du ligand. En effet, généralement, plus celui-ci sera rigide, plus la complexation sera forte. En revanche, la cinétique de métallation des ligands diminuera avec la rigidité du ligand.[71]

De plus, la présence de bras acides carboxyliques supplémentaires permet de chélater des métaux avec des nombres de coordination plus élevés. On peut notamment citer le DOTA (acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique) comme ligand macrocyclique, et le DTPA (acide diéthylène triamine pentaacétique) comme ligand linéaire (Figure 49).

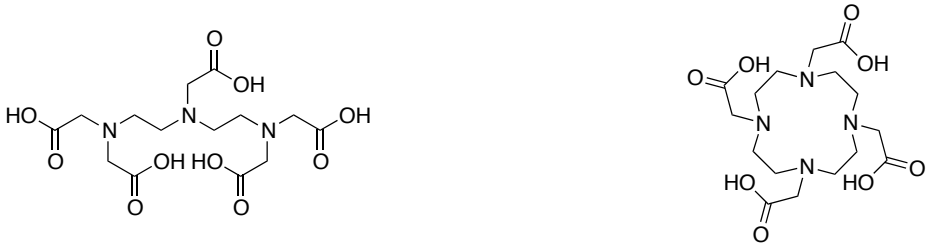


Figure 49 : Structures du DTPA et du DOTA

Ces ligands sont particulièrement adaptés pour la chélation des lanthanides et sont notamment connus pour leur utilisation en IRM du fait de leur forte affinité avec le gadolinium (III).

Tous les macrocycles cités précédemment sont saturés. Il existe également des macrocycles aromatiques tels que les porphyrines et leurs dérivés qui présentent une chimie très différente de par leur solubilité et leurs propriétés photophysiques.

2.1.2. Porphyrines

Les porphyrines sont des composés macrocycliques aromatiques comportant quatre unités pyrroliques reliées entre elles par des ponts méthènes (Figure 50). Deux des doubles liaisons ne sont pas impliquées dans la délocalisation de ces dernières. Les porphyrines contiennent 18 électrons π délocalisés, elles respectent donc la règle de Hückel à 4n + 2 avec, dans ce cas, n = 4.

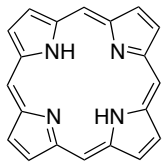
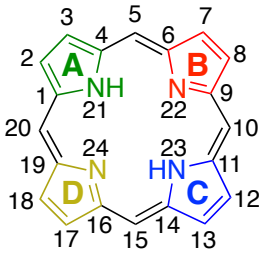


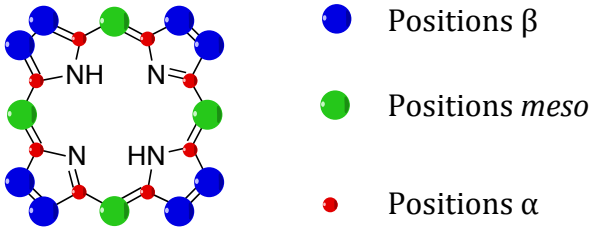
Figure 50 : Structure de la porphine, porphyrine non-substituée

En 1844, Verdeil suggère un lien entre le pigment vert responsable de la couleur des feuilles et l'hème qui donne sa couleur rouge au sang. Dès lors, de nombreuses structures vont être proposées pour les porphyrines jusqu'en 1912 où Küster proposa la structure juste mais contestée des porphyrines. Celle-ci sera admise quatorze ans plus tard.[72]

Il existe deux nomenclatures pour nommer les différentes positions substituables sur les porphyrines. En effet, une nomenclature, proposée par Fisher, utilisait un grand nombre de noms triviaux pour les porphyrines. Celle-ci a, peu à peu, été abandonnée et remplacée par la nomenclature IUPAC. On parle de positions *meso* pour les ponts méthènes (positions 5, 10, 15 et 20) et de positions β pour les atomes de carbones β-pyrroliques (positions 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 et 18). Ainsi, selon leurs substitutions, on parle de porphyrines *meso*-substituées ou β-substituées. Enfin les dernières positions sont appelées α mais sont rarement citées car elles ne sont pas substituables (positions 1, 4, 6, 9, 11, 14, 16 et 19).



Nomenclature IUPAC



Nomenclature conventionnelle

Les porphyrines sont des composés parfaitement plans, avec des caractéristiques particulièrement identifiables. En effet, du fait de leur forte conjugaison, leurs propriétés d'absorption et d'émission sont très caractéristiques. Celles-ci absorbent fortement dans le domaine UV-visible, avec notamment une bande très intense ($\varepsilon > 10^5$) généralement située vers 415 nm appelé bande de Soret ou bande B et quatre bandes moins intense situées entre 500 et 700 nm appelées bandes Q. La bande de Soret correspond à la transition de l'état fondamental vers le deuxième état excité. Les bandes Q correspondent à des transitions préférentielles vers le premier état excité.

Du fait de leur taille, leur rigidité et de la présence des quatre atomes d'azotes les porphyrines présentent également d'excellentes propriétés de complexation avec un grand nombre de métaux du tableau périodique (Tableau 6).

Dans ce tableau, on constate que les porphyrines forment des complexes stables avec de nombreux éléments du tableau périodique. En vert sont représentés les éléments stabilisés à un seul degré d'oxydation, et en bleu ceux qui peuvent être stabilisés à plusieurs degrés d'oxydation.

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												

Tableau 6 : Éléments formant des complexes stables avec les porphyrines

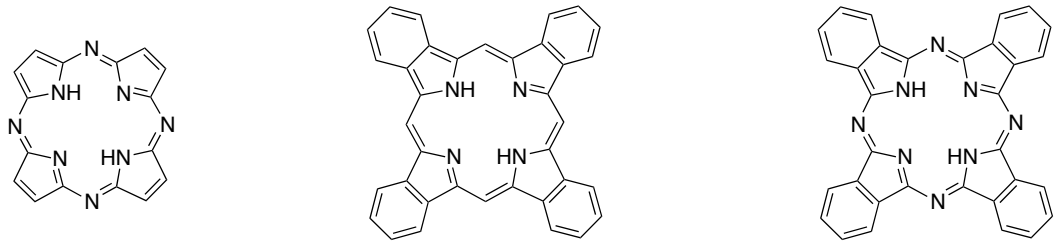
Il existe de nombreux dérivés des porphyrines ayant des propriétés différentes.

Comme mentionné précédemment deux des onze doubles liaisons ne participent pas à l'aromaticité du système et peuvent alors être réduites. Les composés avec une ou deux doubles liaisons réduites sont appelés chlorines et bactériochlorines (Figure 51). Ce changement de structure entraîne un changement de stabilité et apporte des propriétés photophysiques différentes.

Chlorine Bactériochlorine

Figure 51 : Structure d'une chlorine et d'une bactériochlorine

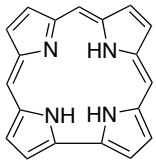
D'autres dérivés de porphyrines existent, notamment les porphyrazines, les benzoporphyrines et les phtalocyanines. Les porphyrazines diffèrent des porphyrines par le remplacement des carbones pontant par des azotes. Les benzoporphyrines comportent quatre cycles benzéniques directement accolés aux positions β-pyrroliques. Enfin, les phtalocyanines cumulent les deux modifications précédentes (Figure 52).



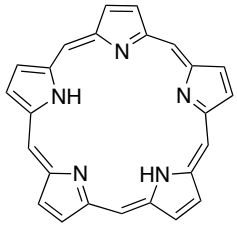
Porphyrazine Benzoporphyrine Phtalocyanine

Figure 52 : Structure de porphyrazine, de benzoporphyrine et de phtalocyanine

Enfin, une autre catégorie très étudiée consiste à contracter ou étendre le cycle porphyrinique (Figure 53). Les molécules ainsi obtenues permettent la complexation de métaux différents. En effet, si les porphyrines piègent particulièrement bien les métaux de degré d'oxydation deux, les corroles par exemple sont généralement plus adaptées pour les degrés d'oxydation plus élevés. Des porphyrines étendues telles que les pentaphyrines, aussi appelées saphyrines sont également étudiées pour leurs propriétés de chelation et photophysiques.



Corrole



Saphyrine (ou pentaphyrine)

Figure 53 : Exemples de systèmes contractés (corrole) et étendus (saphyrine)

2.2. Les fluorophores pour l'imagerie biphotonique

Nous nous sommes également intéressés à des fluorophores de type dicétopyrrolopyrroles (DPP) pour une utilisation en imagerie biphotonique.

2.2.1. Dicétopyrrolopyrroles

Les dicétopyrrolopyrroles sont des molécules connues pour avoir de très bonnes propriétés photophysiques. En effet, ces composés présentent des fortes absorptions et émissions dans le domaine du visible. Ils sont également réputés pour être très peu solubles.

La première synthèse de DPP a été rapportée en 1974. En effet, Farnum, *et al.* [73] ont rapporté la synthèse du 1,4-dicéto-3,6-diphénylpyrrolo[3,4-c]pyrrole en essayant de synthétiser la 2-azétinone par réaction de Réformatsky (Schéma 1).[74]

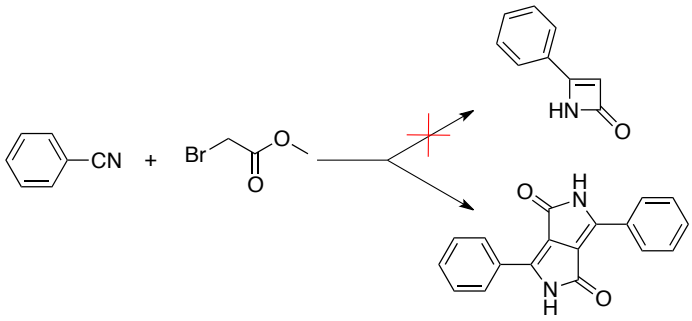


Schéma 1 : Synthèse du premier DPP

Lors de cette synthèse, un produit rouge fortement insoluble a été isolé par extraction au DMSO et il a été identifié comme étant le DPP.

D'autres méthodes de synthèse ont ensuite été développées. Parmi celles-ci, une méthode utilisant un ester succinique s'est avérée très intéressante car elle permet la synthèse de DPP dissymétriques.

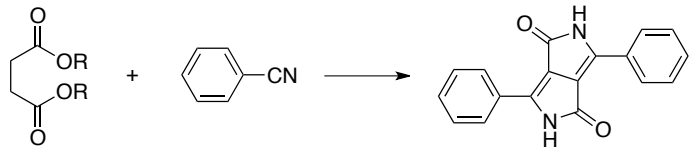


Schéma 2 : Synthèse de DPP à partir d'un ester succinique

L'une des étapes de cette synthèse conduit à la formation d'un ester de pyrrolidinone isolable (Schéma 3).

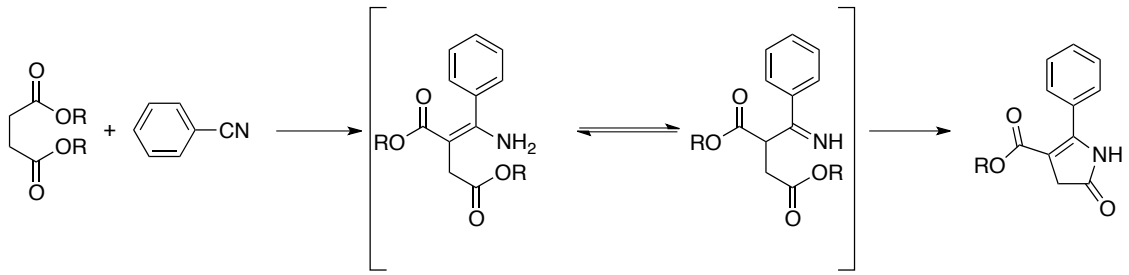


Schéma 3 : Synthèse d'un ester de pyrrolidinone

Cet ester peut réagir avec un benzonitrile différent afin de conduire à un DPP dissymétrique (Schéma 4).

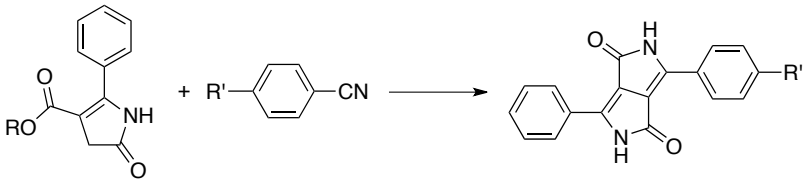


Schéma 4 : Synthèse de DPP dissymétrique

Du fait de leur insolubilité dans la plupart des solvants et de leurs propriétés photophysiques, beaucoup de DPP symétriques ont alors été synthétisés à partir de cette méthode en vue d'une utilisation en tant que pigment. La version dichlorée est notamment connue sous le nom de « red 254 », pigment rouge utilisé dans la peinture des voitures de marque Ferrari®.

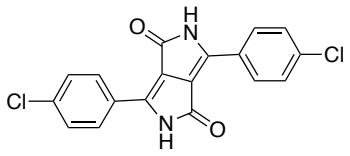


Figure 54 : Pigment « red 254 »

Ces composés présentent des caractéristiques photophysiques très intéressantes et modulables selon les substituants. Leurs longueurs d'onde maximale d'absorption se situent le plus souvent entre 500 et 650 nm selon les substituants avec des coefficients d'absorption molaire et des rendements quantiques élevés.

Afin d'améliorer la solubilité des DPP, des dérivés *N*-substitués ont été préparés. Ceci permet de supprimer les liaisons hydrogènes fortes entre les groupements N-H et C=O. Ces composés ont été développés pour plusieurs applications notamment dans l'électronique par utilisation de matériaux organiques.[75]

CHAPITRE I :

SYNTHESE ET CARACTERISATION DE PORPHYRINES-DOTA LIKE

Chapitre I :
Synthèse et caractérisation de porphyrines-DOTA like

1. Projet

Dans cette partie, nous présentons la synthèse et les caractérisations effectuées sur des composés résultant de l'association entre une porphyrine et un dérivé du DOTA. Le but de cette association est d'obtenir un ligand hétéroleptique permettant la chélation sélective de deux métaux différents en vue d'une utilisation dans deux techniques d'imagerie médicale (Figure 55).

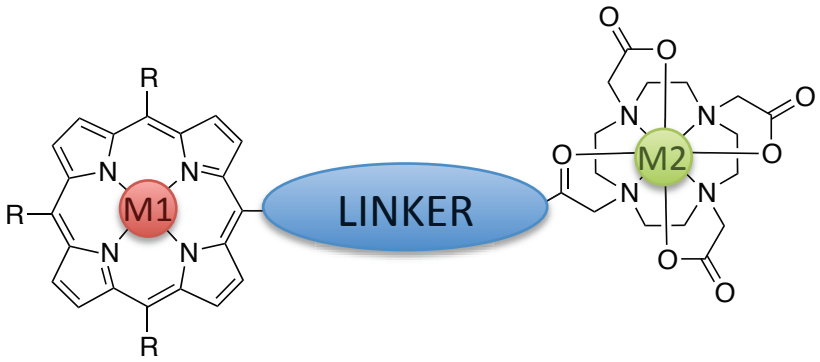


Figure 55 : Schéma d'une molécule cible

Le savoir-faire du laboratoire dans le domaine des porphyrines a déjà permis de réaliser plusieurs ligands de ce type (Figure 56).[76]

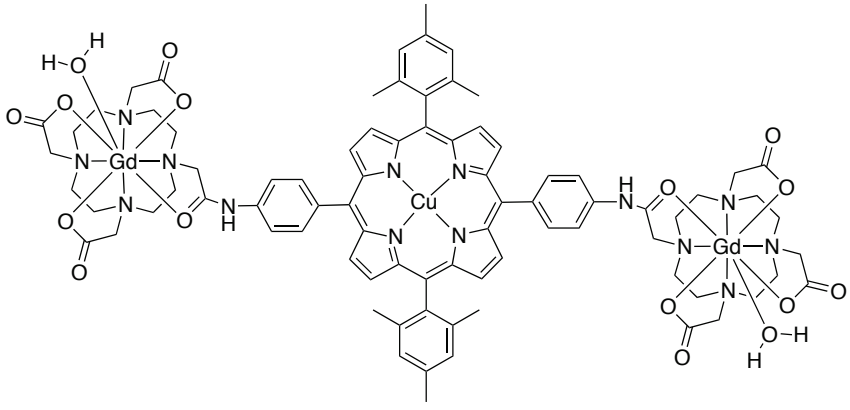


Figure 56 : Exemple de composé précédemment synthétisé au laboratoire

Ces produits sont composés d'une porphyrine reliée à un, deux ou quatre dérivés du DOTA. Ils ont également été métallés, avec du gadolinium pour la partie DOTA et du cuivre dans la porphyrine. La partie DOTA-Gd pourra alors être utilisée en IRM tandis que la partie porphyrine-Cu pourra être utilisée en imagerie TEP après métallation au cuivre-64.

Des premières analyses ont montré que ces composés n'étaient pas cytotoxiques à des concentrations allant jusqu'à cinq fois la dose utilisée cliniquement pour le DOTAREM (agent de contraste IRM le plus utilisé à l'heure actuelle). De plus, des premières images IRM sur petit animal ont pu être obtenues. Celles-ci montrent que nos composés présentent une légère affinité vis-à-vis des cellules tumorales.[76a]

L'ajout d'une fonction d'ancrage visant à greffer ce type de composés sur un vecteur biologique semble alors être nécessaire. Nous avons donc élaboré une voie de synthèse permettant d'obtenir le produit souhaité.

De plus, lors des premiers essai d'IRM, le produit a été relativement difficile à solubiliser. Afin de pallier à ce problème, nous avons travaillé sur l'introduction de groupements hydrosolubilisants.

1.1. Exemples de la littérature

Dans ce paragraphe, nous allons nous intéresser aux précédents exemples d'assemblage d'une porphyrine (ou porphyrinoïde) et d'un dérivé de polyazacycloalcanes reportés dans la littérature. La combinaison de ces deux macrocycles a d'abord été utilisée afin d'élaborer des systèmes biomimétiques où le cœur porphyrinique métallé reproduit le centre actif d'une protéine. Puis, à partir des années 2000, ces systèmes ont trouvé des applications dans d'autres domaines. En effet, on trouve des exemples en photovoltaïque, après métallation du polyazamacrocycle par un lanthanide afin d'observer un transfert de la porphyrine vers le métal. Puis, à partir des années 2010, quelques exemples d'utilisation de ces dérivés pour l'imagerie médicale et/ou la thérapie ont été décrits.[77]

En 2010, le groupe de Das *et al.*[77a] a décrit la synthèse d'une porphyrine reliée à un DOTA par une liaison amide (Figure 57). Ce composé hydrosoluble a permis, après métallation du DOTA avec du lutécium-177, d'obtenir des images sur petit animal. Celles-ci ont montré une sélectivité intéressante vis-à-vis des cellules tumorales du fait de la présence de la porphyrine parfois utilisée pour ses propriétés de vectorisation.

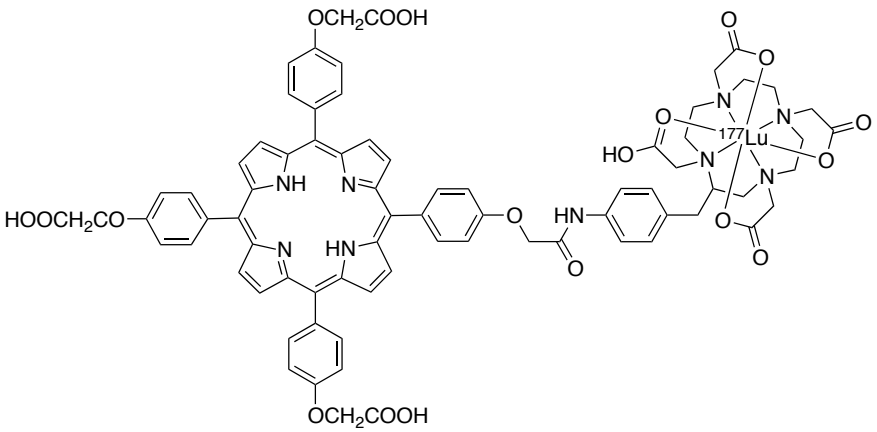


Figure 57 : Exemple de composé associant une porphyrine base libre et un DOTA métallé au lutécium-177

Un autre exemple de composé alliant les propriétés des porphyrines et d'un dérivé du DOTA a été synthétisé (Figure 58).[77b] Comme dans le cas précédent, la porphyrine est ici utilisée en tant que vecteur. Le dérivé du DOTA a été métallé à l'yttrium-90, un métal radioactif émetteur β^- utilisé en radiothérapie.

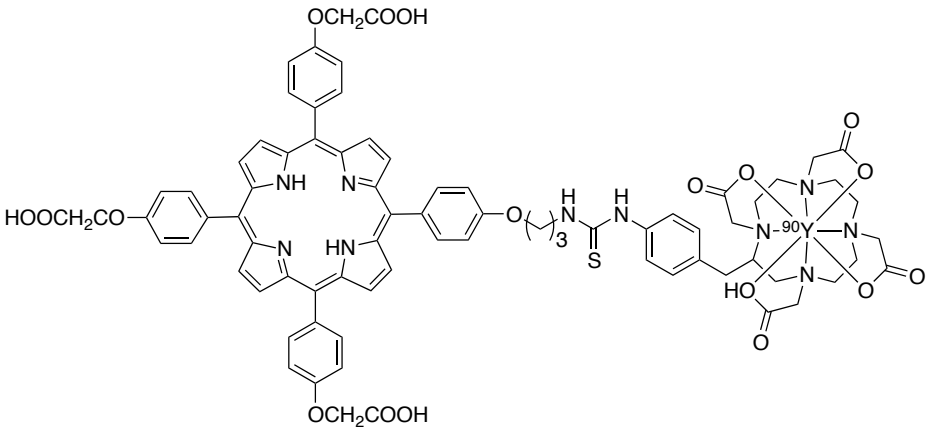


Figure 58 : Exemple de porphyrine reliée à un dérivé du DOTA métallé à l'Yttrium-90

Un exemple récent a été rapporté par le groupe de Chen.[77c] Ce composé présente une porphyrine substituée par quatre unités chélatantes (DTPA) métallées au gadolinium (Figure 59). Dans ce cas, la porphyrine est utilisée pour ses propriétés de fluorescence.

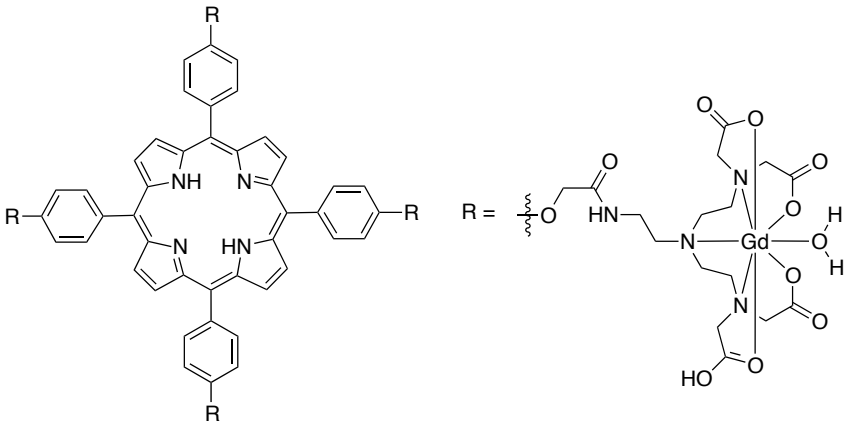


Figure 59 : Exemple d'une tétraphénylporphyrine reliée à quatre unités DTPA métallées au gadolinium(III)

2. Molécule modèle

Nous avons commencé par synthétiser une molécule modèle afin de pouvoir effectuer des essais de métallation ainsi que des mesures de relaxivité. Suite à ces résultats, nous avons envisagé une synthèse similaire mais en ajoutant une fonction d'ancrage supplémentaire afin de greffer une biomolécule.

2.1. Synthèse du ligand modèle

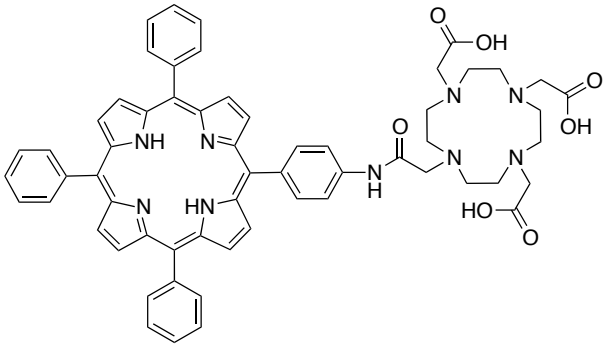


Figure 60 : Ligand modèle

Les dérivés du DOTA étant commerciaux, ces travaux sont particulièrement axés sur l'élaboration d'un plateforme tétraphénylporphyrinique (TPP). La TPP présente l'avantage de pouvoir être synthétisée en quantité importante (≈ 100 g au laboratoire). De plus, celle-ci est facilement fonctionnalisable.

2.1.1. Synthèse de la porphyrine

La tétraphényle porphyrine est obtenue par la méthode d'Adler et Longo.[78] Pour cela, un mélange équimolaire de benzaldéhyde et de pyrrole est porté à reflux dans de l'acide propionique. L'anhydride propionique permet d'éliminer l'eau formée lors de la réaction. Le porphyrinogène est alors formé en quatre heures. La porphyrine est ensuite obtenue par oxydation de ce dernier avec le dioxygène de l'air, puis celle-ci cristallise dans le milieu. Cette synthèse a pu être réalisé sur réacteur de 20 litres afin d'obtenir une quantité importante de porphyrine (environ 70 g).

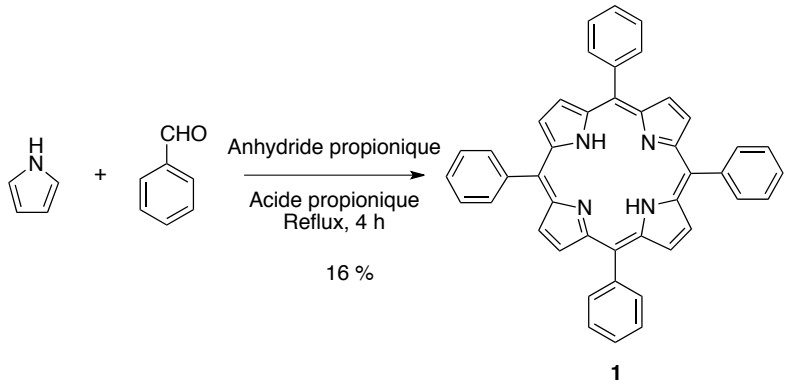


Schéma 5 : Synthèse de la tétraphénylporphyrine

La TPP peut être facilement fonctionnalisée. Nous avons décidé d'ajouter une fonction nitro qui sera ensuite réduite en fonction amine.

Différentes méthodes de nitration de porphyrines existent. Il est possible, selon différentes conditions de mono- ou di-nitrer des 5,15-diarylporphyrines (Schéma 6).[79]

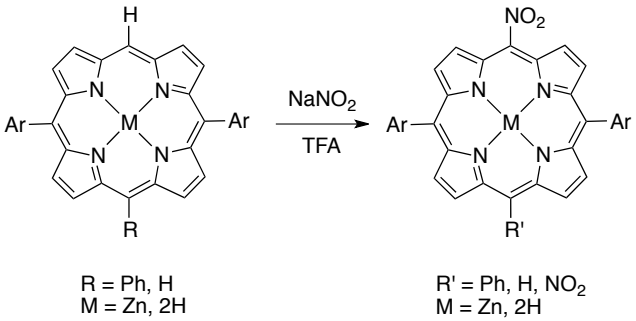


Schéma 6 : Nitration en position *meso* de différentes aryl porphyrines

Dans ce cas, l'utilisation de nitrite de sodium en présence d'acide trifluoroacétique permet la nitration d'une ou de deux positions *meso*.

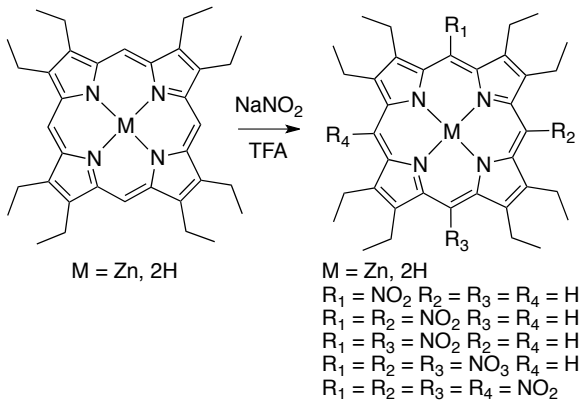


Schéma 7 : Nitration en position *méso* de l'octaéthylporphyrine

Il a été montré dans la littérature qu'il était possible de mono, di, tri ou tétranitrer sélectivement les position *meso* d'une octaalkylporphyrine avec les mêmes réactifs que précédemment (Schéma 7).[79a] En faisant varier les équivalents de nitrite utilisés, les auteurs parviennent à synthétiser et purifier les différentes porphyrines nitrées.

Il est également possible d'ajouter une fonction nitro en position β-pyrrolique (Schéma 8).[80]

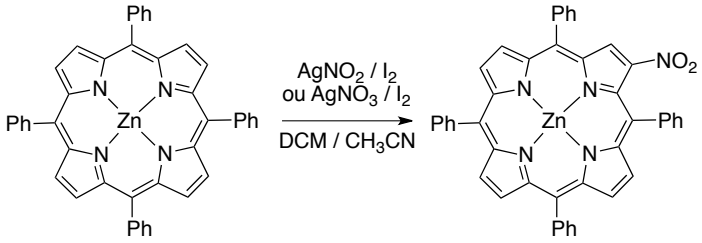


Schéma 8 : Nitration en position β-pyrrolique

Cette nitration nécessite des conditions particulières afin d'ajouter la fonction nitro uniquement en position β-pyrrolique. En effet, la porphyrine doit être métallée (le plus souvent au zinc) et la réaction s'effectue en présence de nitrite ou de nitrate d'argent et de diiode dans un mélange dichlorométhane et acétonitrile.

Nous avons décidé d'effectuer la nitration en position *para* des phényles de la TPP. Pour cela, il existe plusieurs méthodes et nous en avons testé deux (Schéma 9).[81]

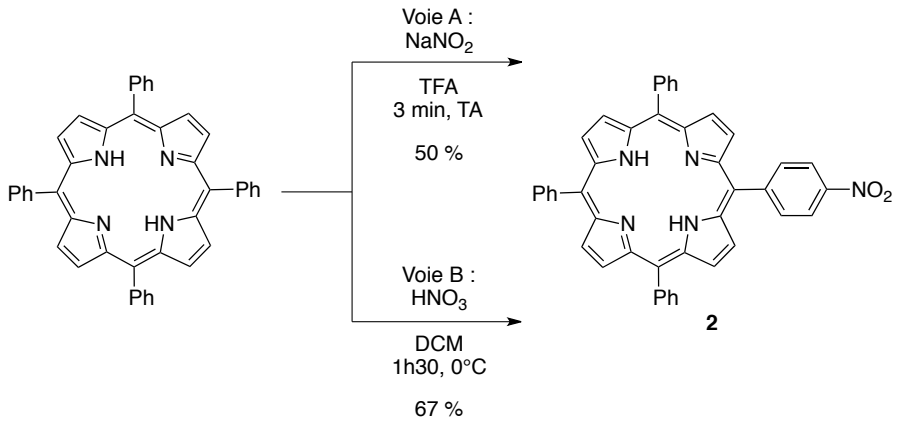


Schéma 9 : Nitration de la tétraphénylporphyrine

La première méthode consiste à ajouter du nitrite de sodium sur la TPP dans le TFA. La réaction doit être contrôlée et arrêtée après trois minutes d'agitation. En effet, ceci permet de ne former que le produit de mono nitration **2**. Sinon, les produits de di-, tri- et tétra-nitration peuvent être observés. On obtient alors un mélange de TPP et du composé **2**. La purification est assez complexe. En effet, la TPP est relativement difficile à séparer du produit formé.

La deuxième méthode consiste à ajouter lentement de l'acide nitrique dilué dans le DCM à 0°C. Cette méthode est plus longue que la précédente puisque l'ajout doit être fait en une heure et trente minutes. Cependant, cette méthode permet de consommer entièrement la TPP de départ et engendre la formation du composé **2** et des produits de dinitration. Ceux-ci sont relativement simples à séparer par colonne chromatographique, cette méthode a donc été préférée.

Ce composé a été caractérisé par plusieurs méthodes classiques pour les porphyrines. Un spectre UV-visible du composé **2** est présenté Figure 61. En effet, les porphyrines présentent des bandes d'absorption caractéristiques offrant des renseignements importants sur la nature du cycle porphyrinique. Les porphyrines bases libres (ou non-métallées) présentent une bande d'absorption très intense appelée bande B ou bande de Soret entre 400 et 450 nm correspondant à la transition $S_0 - S_2$ et quatre bandes peu intenses appelées bandes Q entre 500 et 700 nm correspondant à différents états vibroniques de la transition $S_0 - S_1$.

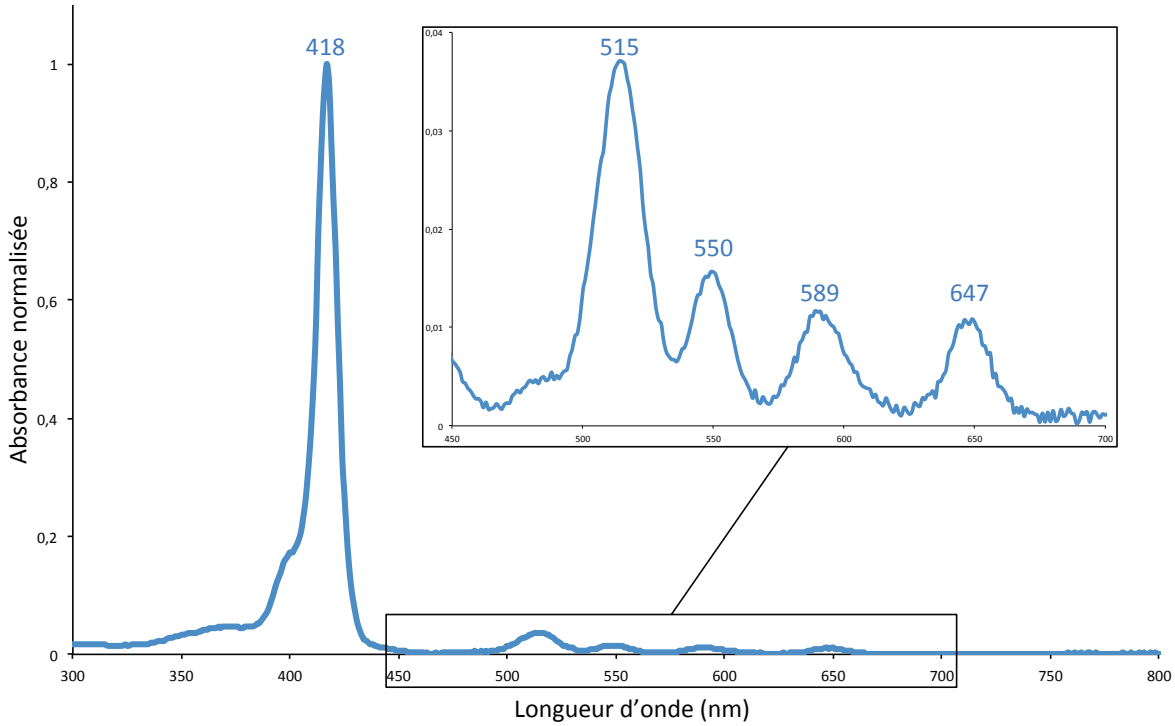


Figure 61 : Spectre UV-visible du composé **2** (DCM)

Ci-dessous est présenté un spectre de RMN ^{1}H de la porphyrine **2** (Figure 62).

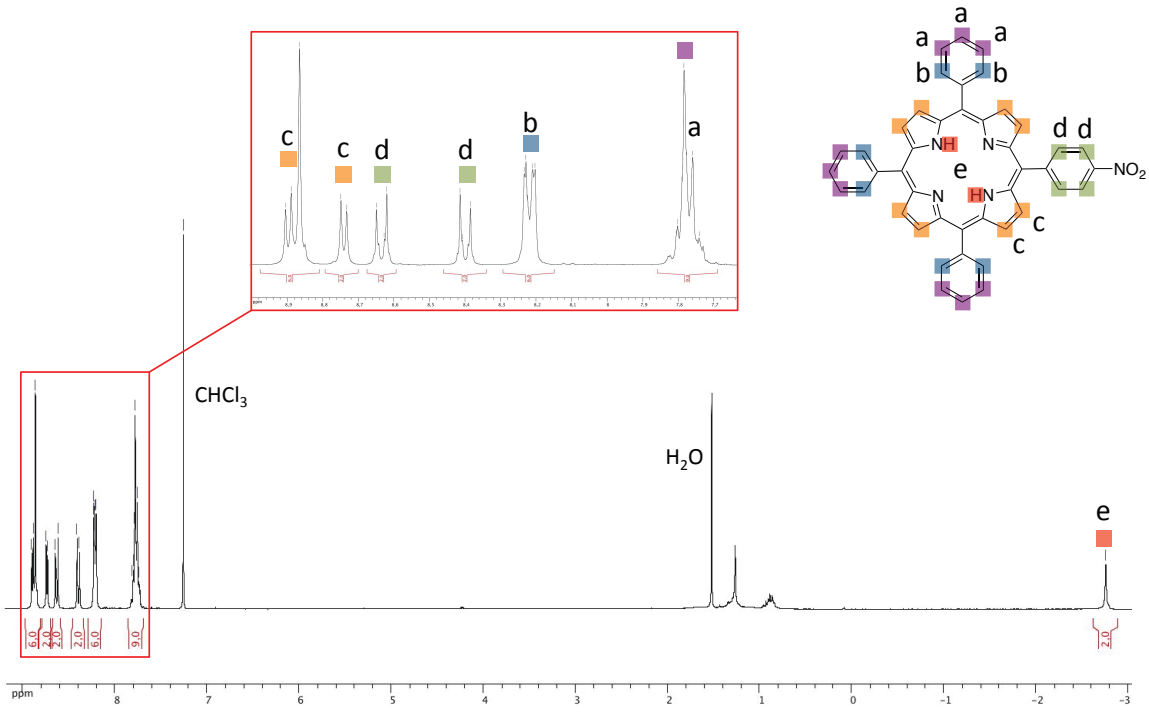


Figure 62 : Spectre de RMN ^{1}H du composé **2** ($CDCl_3$)

Tous les signaux caractéristiques des tétraphénylporphyrines mono-substituées se retrouvent sur ce spectre. En effet, le signal à -2,76 ppm correspond aux deux protons au cœur de la porphyrine. Ceux-ci se trouvant dans le cône d'anisotropie de la molécule. Cette particularité des macrocycles aromatiques se traduit par une forte densité électronique de forme conique influençant drastiquement les déplacements des signaux en RMN. En effet, les protons se trouvant à l'intérieur du cône subissent un blindage important, alors que ceux se trouvant sur le plan équatorial sont fortement déblindés (Figure 63).

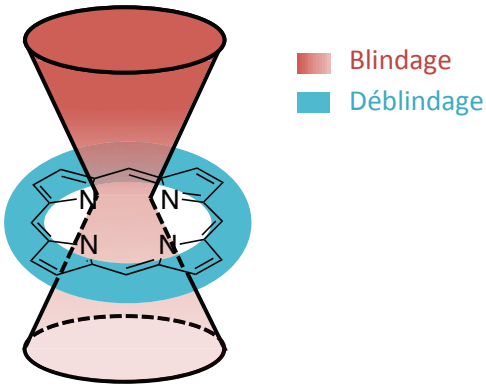


Figure 63 : Zones de blindage et de déblindage dues au cône d'anisotropie d'une porphyrine

Les autres signaux se situent dans la zone aromatique. Les signaux des protons β-pyrroliques sont relativement déblindés à 8,72 et 8,88 ppm. Les autres signaux sont similaires à des protons benzéniques. Cependant, ceux-ci sont déblindés du fait du caractère électroattracteur du cycle porphyrinique.

Une autre méthode permettant l'identification des porphyrines est la spectrométrie de masse MALDI-TOF. Ci-dessous est présenté le spectre MALDI-TOF du composé **2** (Figure 64).

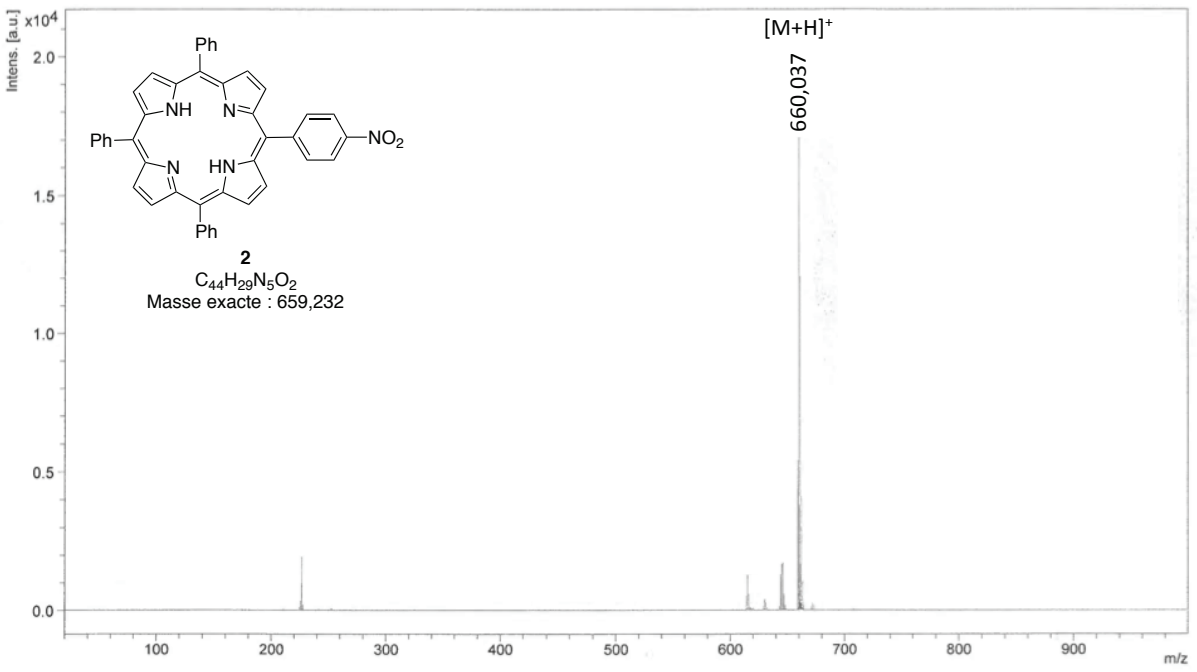


Figure 64 : Spectre MALDI-TOF du composé **2**

Sur ce spectre, nous pouvons voir le pic principal correspondant à la masse du composé **2** plus un proton provenant du phénomène d'ionisation. De plus, des pics de masses inférieures, de faible intensité apparaissent et témoignent de la fragmentation au sein de l'appareil. Ceux-ci correspondent à la perte des deux atomes d'oxygène de la fonction nitro puis à la perte de la fonction entière.

Le groupement nitro précédemment ajouté peut être réduit en fonction amine. Plusieurs méthodes peuvent également être utilisées. La méthode la plus classique consiste en l'utilisation de chlorure d'étain (II) en milieu acide. Cette méthode présente l'inconvénient de ne pas être reproductible. En effet, dans la littérature, les rendements varient de 27 à 95 %.[81b, 82] C'est pourquoi nous avons mis au point une nouvelle méthode permettant la réduction du groupement nitro (Schéma 10).

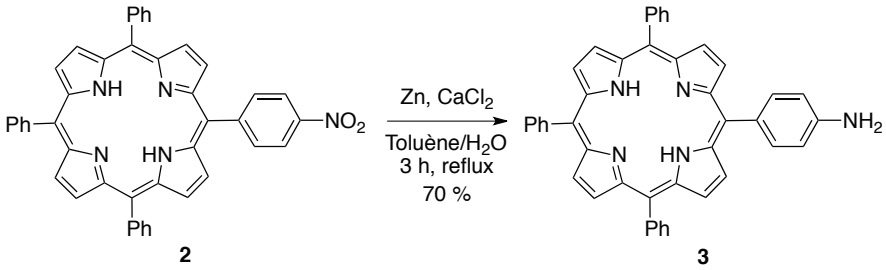


Schéma 10 : Réduction de la nitro tétraphénylporphyrine

Cette méthode est basée sur l'utilisation de zinc (0) en présence de chlorure de calcium (II) dans un mélange hétérogène de toluène et d'eau. Ces conditions sont plus douces car elles ne nécessitent pas l'utilisation d'acide fort.

L'amine ainsi formée permet alors l'ajout d'un dérivé du DOTA. Ce dérivé pourrait être ajouté directement par couplage peptidique. Cependant, il a été montré que ce type de dérivé aniline était trop désactivé pour réagir sur un ester activé.[83] C'est pourquoi nous avons décidé d'activer la fonction amine (Schéma 11).

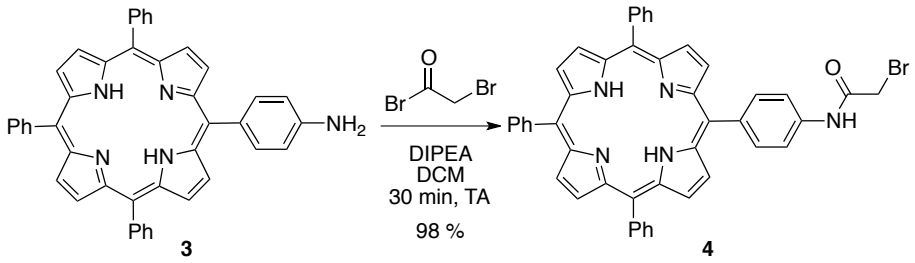


Schéma 11 : Acylation de la fonction amine

Cette activation fait intervenir le bromure de bromoacétyle et permet d'acyler l'amine tout en ajoutant un atome de brome nucléofuge.

2.1.2. Ajout du dérivé du DOTA

Pour ajouter le dérivé du DOTA, nous avons décidé de travailler avec le DO3A^{t}Bu. Ce composé ressemble au DOTA mais une des fonctions amine est laissée libre. De plus, les trois fonctions acides sont protégées par des esters *tert*-butyliques. Ceci permet de conserver la solubilité dans les milieux organiques et ainsi de permettre la purification du produit final sur phase normale.

La substitution nucléophile de l'atome de brome par l'amine libre du DO3A^{t}Bu, assistée par une base, permet d'obtenir la porphyrine **5** reliée au polyazamacrocycle protégé avec un rendement quantitatif (Schéma 12).

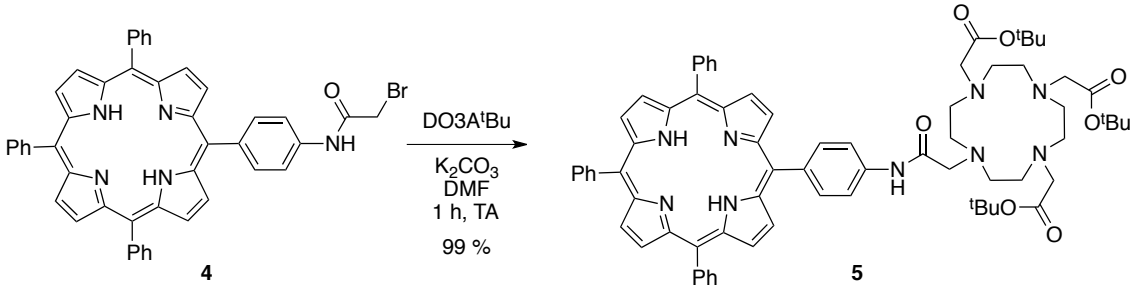


Schéma 12 : Ajout du dérivé du DOTA protégé par des esters *tert*-butyliques

Le produit a été identifié par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure 65).

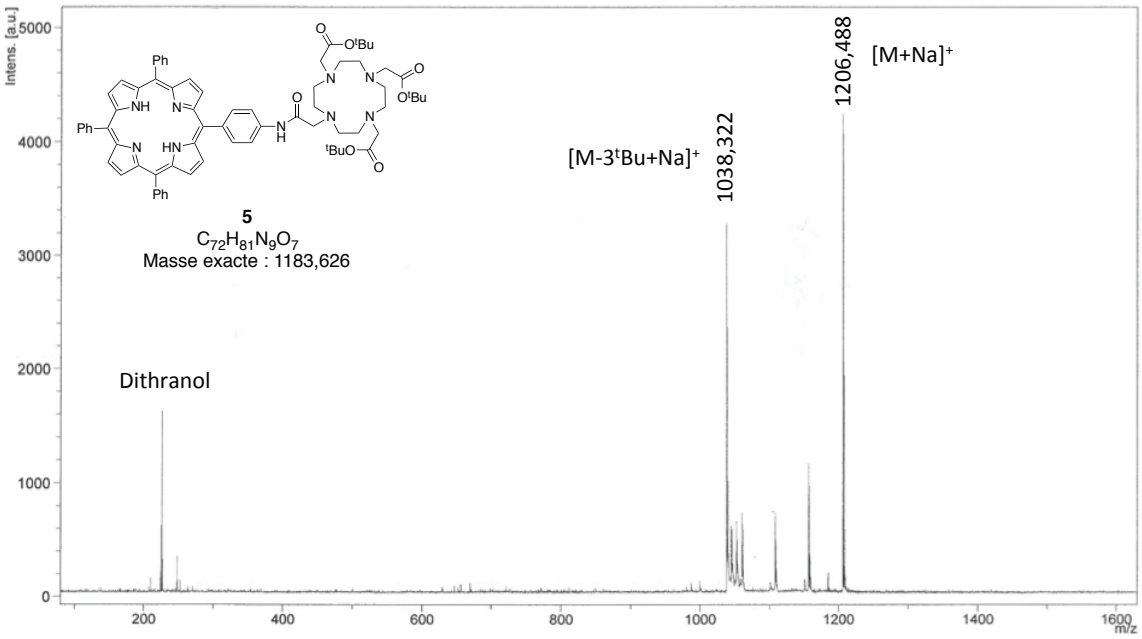


Figure 65: Spectre de masse MALDI-TOF du composé **5**

Sur ce spectre, nous pouvons voir un pic principal à m/z = 1206,49 qui correspond au composé **5** sous forme d'un adduit avec un atome de sodium. Les pics ayant une valeur inférieure correspondent à des fragmentations, notamment des pertes de groupements *tert*-butyles dues au processus d'ionisation pendant l'analyse MALDI-TOF.

Nous nous sommes également proposé de suivre la variation de la bande de vibration C=O des bras du dérivé du DOTA en spectroscopie IR. En effet, ceux-ci vont variés tout au long de la voie de synthèse et constituent donc de bons indicateurs pour les prochaines réactions.

Ci-après est présenté le spectre IR du composé **5** (Figure 66).

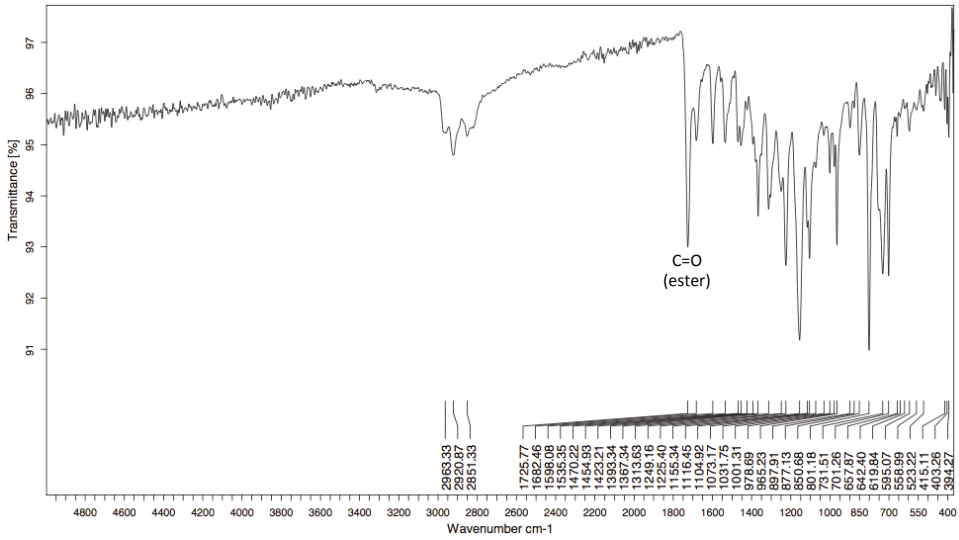


Figure 66 : Spectre IR du composé **5**

Sur ce spectre, nous constatons la présence d'un signal fin et intense à 1726 cm^{-1}, vibration caractéristique de la liaison carbonyle d'une fonction ester.

Sur le spectre de RMN ^{1}H du composé **5**, nous pouvons noter la présence des signaux caractéristique d'une tétraphénylporphyrine mono-substituée, mais également la présence de signaux relativement mal résolus dans la zone aliphatique (Figure 67). Ceux-ci sont caractéristiques des dérivés du DOTA qui adopte plusieurs conformations. Cette particularité engendre en solution un mélange de conformères en échange lent à l'échelle de temps de la RMN. Le spectre représente donc une moyenne des signaux des différents conformères présents en solution. De plus, on constate deux signaux à 1,45 et 1, 50 ppm intégrant pour neuf et dix huit protons correspondant aux groupements *tert*-butyles des fonctions esters.

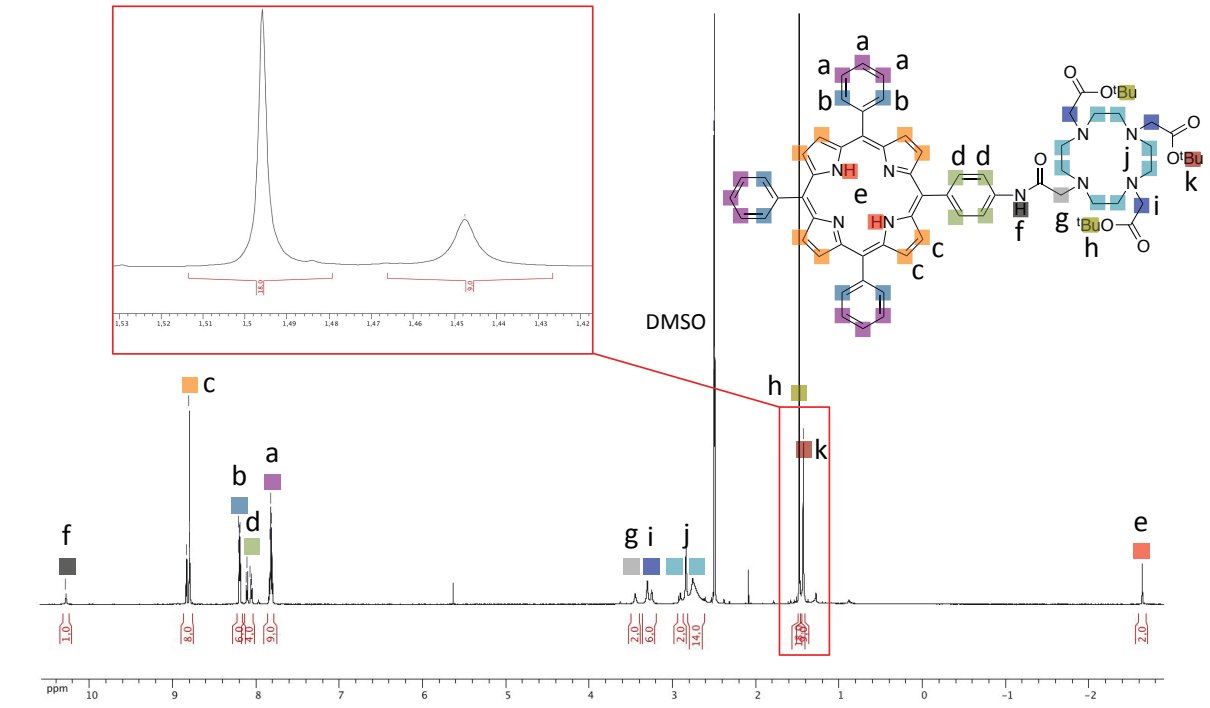


Figure 67 : Spectre de RMN ^{1}H du composé **5** (DMSO-d6)

Enfin, la déprotection des esters *tert*-butyliques en milieu acide permet d'obtenir le ligand final (Schéma 13). Cette déprotection est effectuée dans le DCM en ajoutant de l'acide trifluoroacétique. Cette réaction est quantitative et forme de l'isobutène qui est éliminé avec le solvant et le TFA, par évaporation sous pression réduite.

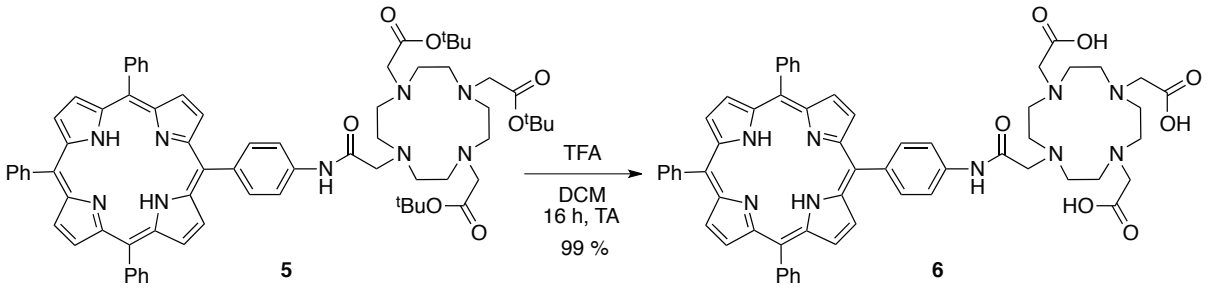


Schéma 13 : Déprotection des esters *tert*-butyliques du dérivé du DOTA

Ce produit a été caractérisé par spectroscopie RMN du proton à température variable (Figure 68). Ces conditions permettent d'affiner les signaux aliphatiques en favorisant la position thermodynamiquement plus stable du dérivé du DOTA. Ainsi, le spectre ne présentera que le composé le plus stable.

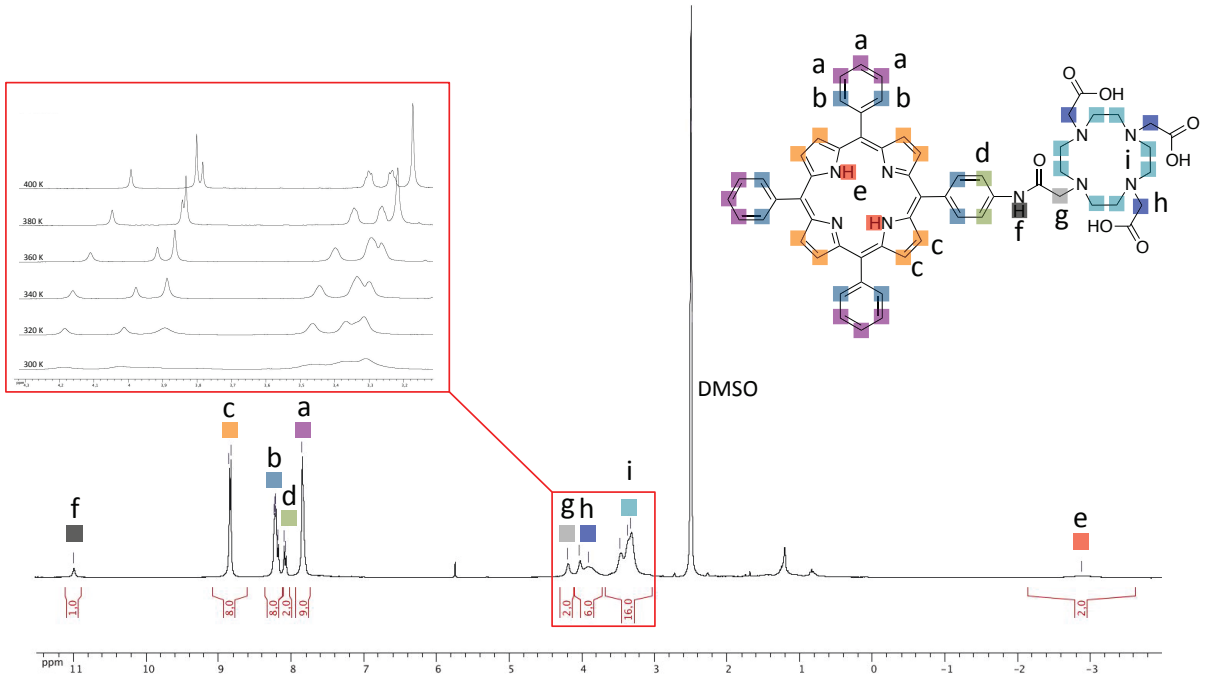


Figure 68 : Spectre de RMN ^{1}H du composé **6** (DMSO-d6)

Ce spectre de RMN est proche de celui du composé **5** mais on constate l'absence des signaux correspondant aux esters *tert*-butyliques à 1,45 et 1,50 ppm.

Nous avons également montré la variation de la bande de vibration C=O en spectroscopie IR (Figure 69).

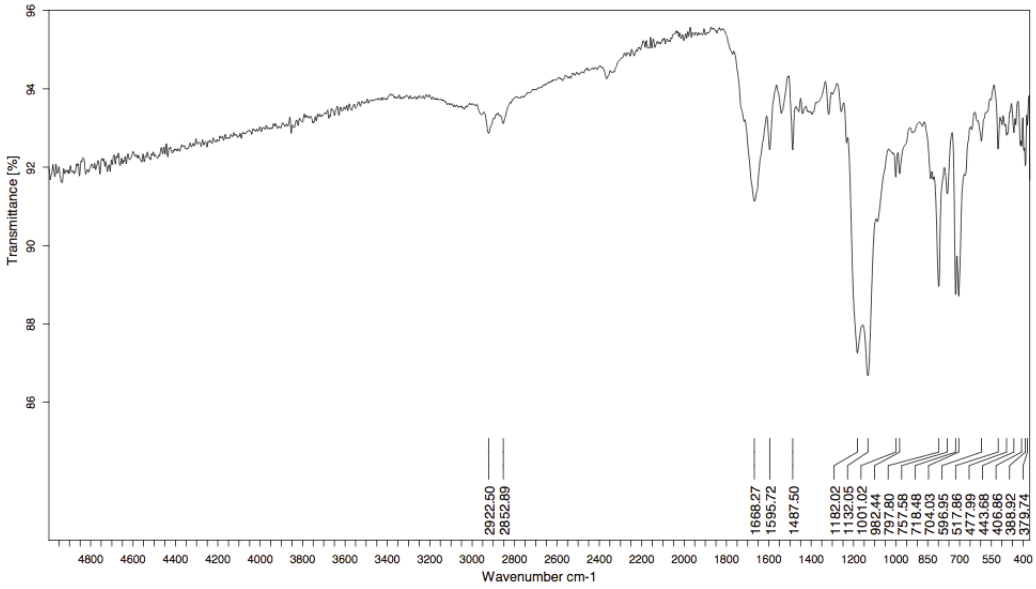


Figure 69 : Spectre IR du composé **6**

Sur ce spectre, nous notons la présence d'un signal intense à 1688 cm^{-1} caractéristique de la vibration de la liaison carbonyle des fonctions acides carboxyliques du dérivé du DOTA. Cette valeur est à comparer à celle du composé **5**. On observe une diminution de 38 cm^{-1} qui confirme la déprotection des esters *tert*-butyliques.

2.2. Métallation du ligand

Ce ligand a ensuite été métallé afin d'étudier ses propriétés pour une utilisation en IRM et/ou en imagerie nucléaire. L'ordre de métallation a été choisi de façon à pouvoir métaller avec l'élément radioactif lors de la dernière étape. De plus, il est préférable de métaller la cavité polyazamacrocyclique avant la porphyrine. En effet, les dérivés du DOTA sont connus pour chélater un grand nombre de métaux alors que les porphyrines ne forment pas de complexes stables avec le gadolinium. C'est pourquoi nous avons décidé d'ajouter d'abord le gadolinium dans le dérivé du DOTA puis le cuivre dans la porphyrine. La métallation au cuivre a été effectuée avec l'isotope froid afin de tester les propriétés de chélation de notre composé et de vérifier que le gadolinium n'était pas déplacé par le cuivre.

2.2.1. Métallation au gadolinium

Du fait de l'hydrosolubilité apportée par les bras acides du polyazamacrocycle, la métallation au gadolinium a pu être effectuée dans l'eau. Cependant, le composé a d'abord été solubilisé dans un minimum de DMSO dans lequel le produit est très soluble (Schéma 14).

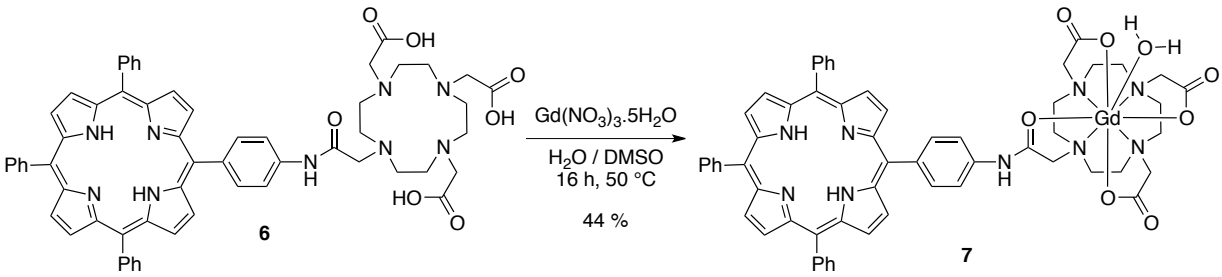


Schéma 14 : Métallation au gadolinium

Après l'ajout du métal paramagnétique, le composé ne peut plus être caractérisé par spectroscopie de RMN. La métallation a cependant été contrôlée par spectroscopie IR (Figure 70).

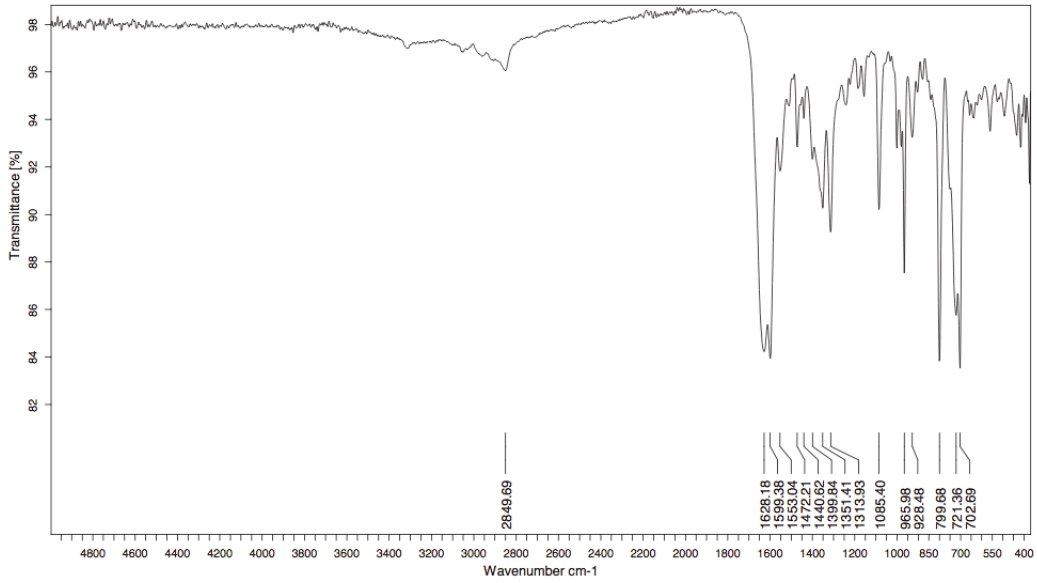


Figure 70 : Spectre IR du composé **7**

On observe sur ce spectre une différence plus importante que précédemment. En effet, la bande correspondant à la liaison carbonyle est cette fois à 1628 cm^{-1} caractéristique de la vibration C=O d'un groupement carboxylate d'un DOTA complexant du gadolinium.[84]

De plus, le produit été identifié par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Figure 71).

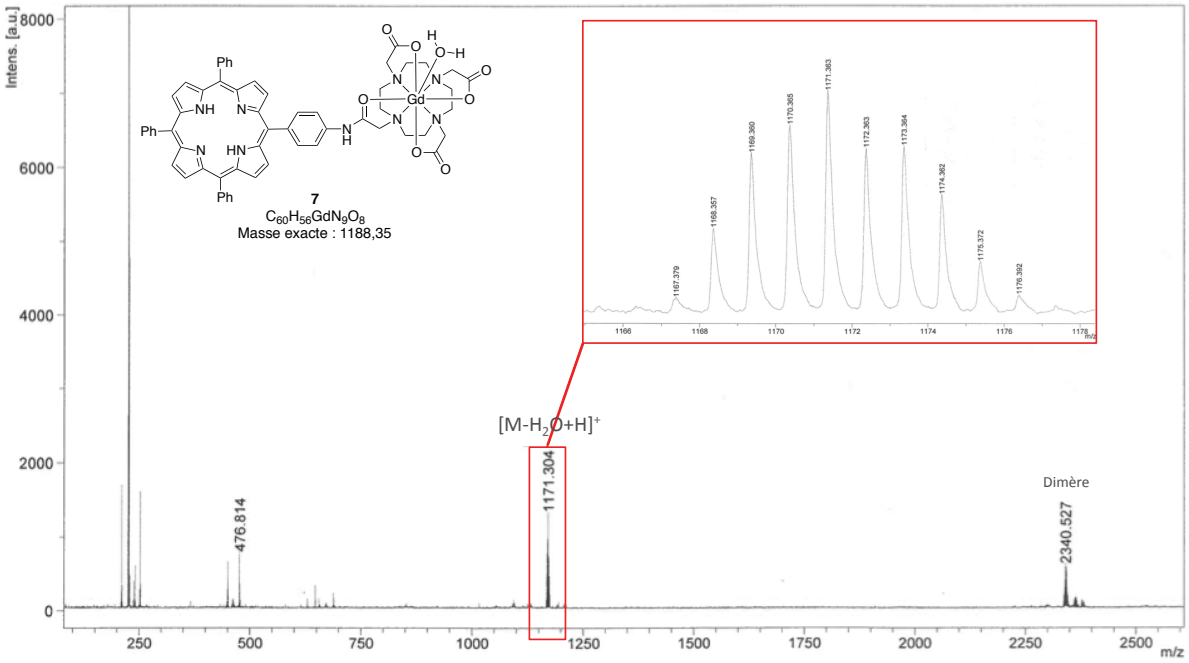


Figure 71 : Spectre de masse MALDI-TOF du composé **7**

On constate sur ce spectre que le composé présente un pic relativement large du fait des différents isotopes stable du gadolinium présent dans le DOTA. On observe également un pic a m/z = 2340,53 correspondant a un dimère formé lors de l'ionisation au sein de l'appareil de spectroscopie.

2.2.2. Métallation au cuivre

Des premiers tests de métallation avec du cuivre froid ont ensuité été effectués (Schéma 15).

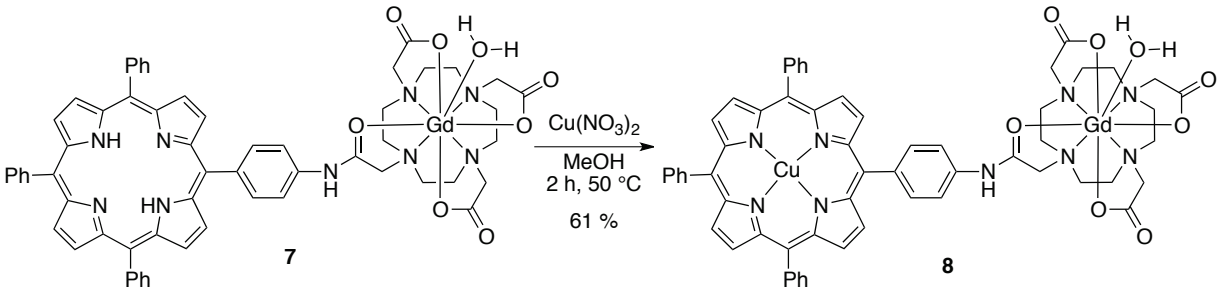


Schéma 15 : Métallation au cuivre du composé **7**

Cette métallation a été suivie par spectroscopie UV-visible (Figure 72).

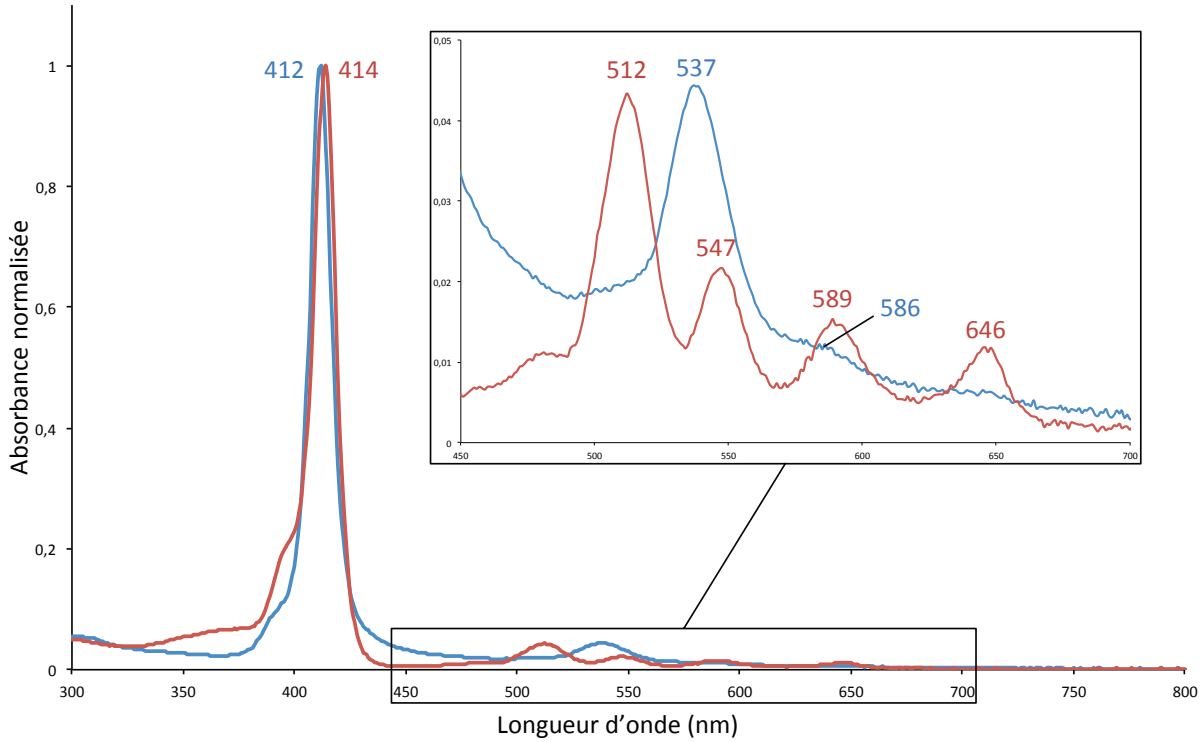


Figure 72 : Spectre UV-visible du composé **7** (rouge) et **8** (bleu) (MeOH)

Le suivi par spectroscopie UV-visible permet d'observer la modification des pics correspondant aux bandes Q de la porphyrine base libre **7** à 512, 547, 589 et 646 nm. Ceux-ci laissent place aux deux bandes caractéristiques d'une porphyrine métallée, ici à 537 et 586 nm.

Le spectre IR du composé **8** a également été réalisé et nous avons superposé les spectres des quatre composés précédents de 1400 à 1800 cm^{-1} (Figure 73).

Nous constatons que la bande correspondant à la liaison C=O de la fonction amide n'est pas influencée par les différentes étapes de synthèse. En revanche, nous observons la modification de la bande correspondant à la liaison C=O de l'ester (composé **5**), de l'acide (composé **6**) ou de la fonction carboxylate (composés **7** et **8**) lors des différentes étapes. Cependant, l'ajout de cuivre n'a pas d'influence sur celle-ci. Ceci, en corrélation avec le spectre UV-visible du composé **7**, permet de prouver que le cuivre ne déplace pas le gadolinium dans la cavité macrocyclique du dérivé du DOTA.

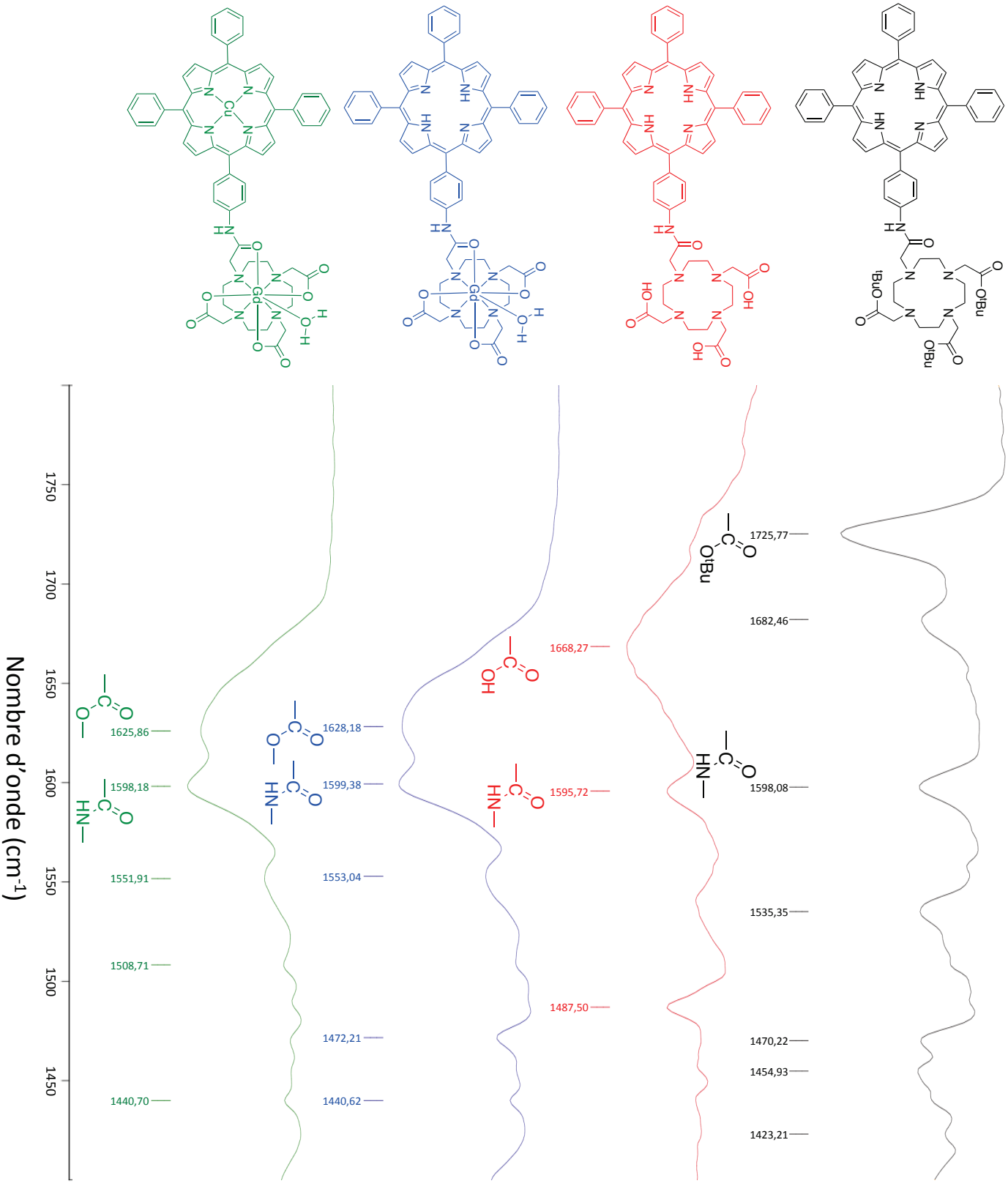


Figure 73 : Spectres IR des composés **5-8** entre 1400 et 1800 cm^{-1}

3. Molécule présentant une fonction d'ancrage

Nous avons ensuite développé une nouvelle synthèse permettant l'insertion d'une fonction libre en plus du dérivé du DOTA. Cette fonction supplémentaire pourra ensuite être activée afin d'envisager le greffage sur une molécule vectrice.

3.1. Synthèse du ligand

Afin d'ajouter une fonction amine libre, nous avons décidé d'utiliser une méthode décrite par le groupe d'Ostrowski.[85] Celle-ci présente de meilleurs rendements lorsque la tétraphénylporphyrine mono-nitro est métallée. Afin de pouvoir retirer le métal par la suite, nous avons donc décidé d'insérer du zinc. En effet, les porphyrines de zinc peuvent être facilement démétallées en milieu acide.

La métallation du composé **2** est effectué par action de l'acétate de zinc(II) dans un mélange méthanol/chloroforme en présence d'une base faible et permet d'obtenir le composé **9** avec un très bon rendement de 91 %.

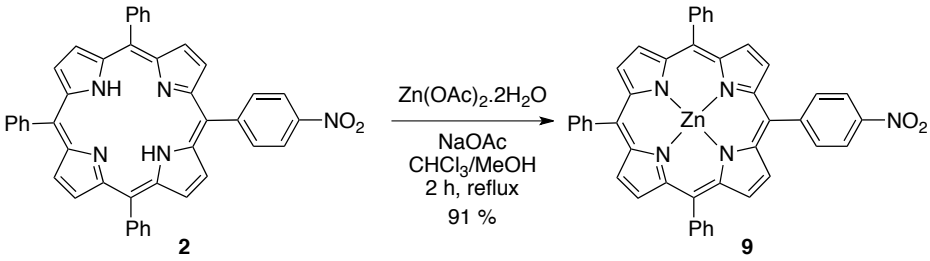


Schéma 16 : Métallation du composé **2**

Cette métallation a été suivie par spectroscopie UV-visible (Figure 74). En effet, comme pour la métallation du composé **7** avec du cuivre, le gain de symétrie engendre une modification significative du spectre UV-visible de la porphyrine. Seulement deux bandes Q sont encore présentes sur le spectre après métallation. Ainsi, il est possible de suivre l'avancement de la réaction.

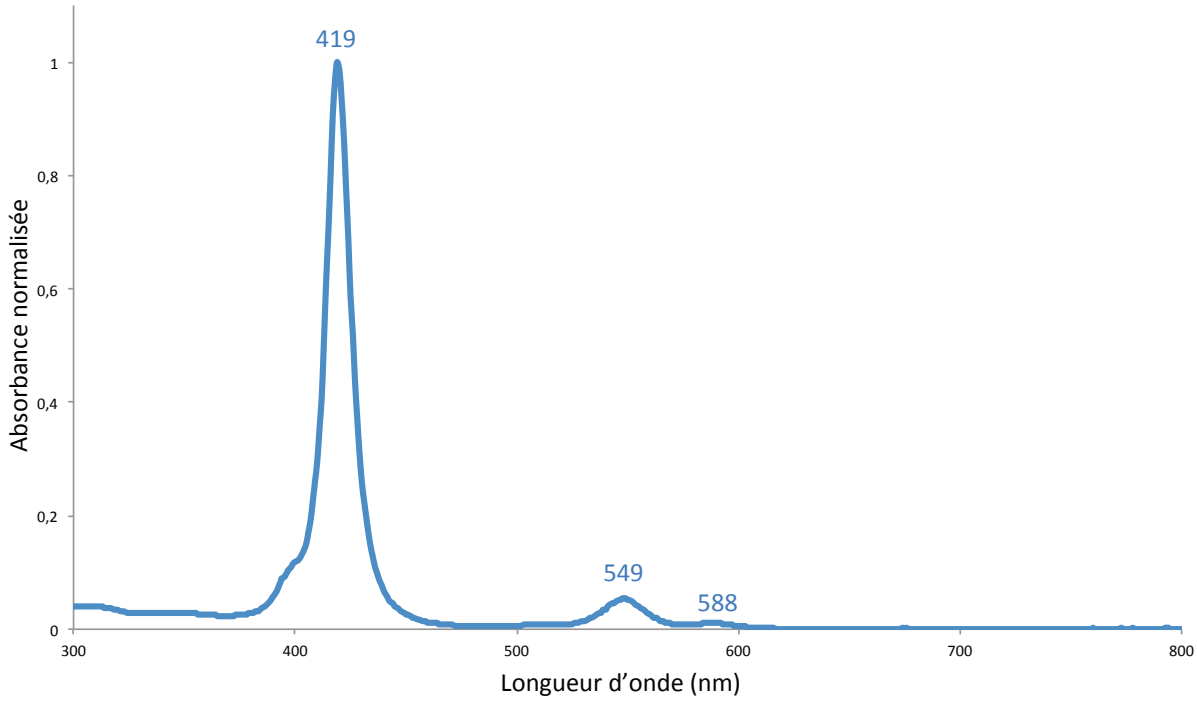


Figure 74 : Spectre UV-visible du composé **9** (DCM)

L'ajout d'une fonction amine libre est ensuite effectué par action de l'iodure de 1,1,1-triméthylhydrazinium (TMHI) en présence d'une base forte.

Le TMHI est un agent d'amination permettant d'ajouter une fonction amine en positions *ortho* ou *para* d'une fonction nitro sur un cycle benzènique.[86] En 2010, cette réaction a été décrite sur des porphyrines portant une fonction nitro sur un phényl.[85] Du fait du coût élevé du TMHI, nous avons décidé d'en effectuer la synthèse (Schéma 17).

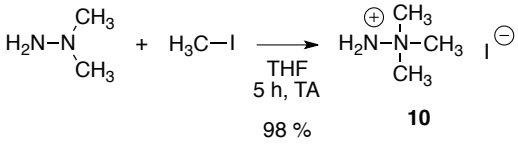


Schéma 17 : Synthèse du TMHI **10**

Le mélange équimolaire de 1,1-diméthylhydrazine et d'iodométhane dans le THF permet la formation quantitative du TMHI qui précipite dans le milieu. Ce composé a été caractérisé par spectroscopie RMN ^{1}H et ^{13}C.

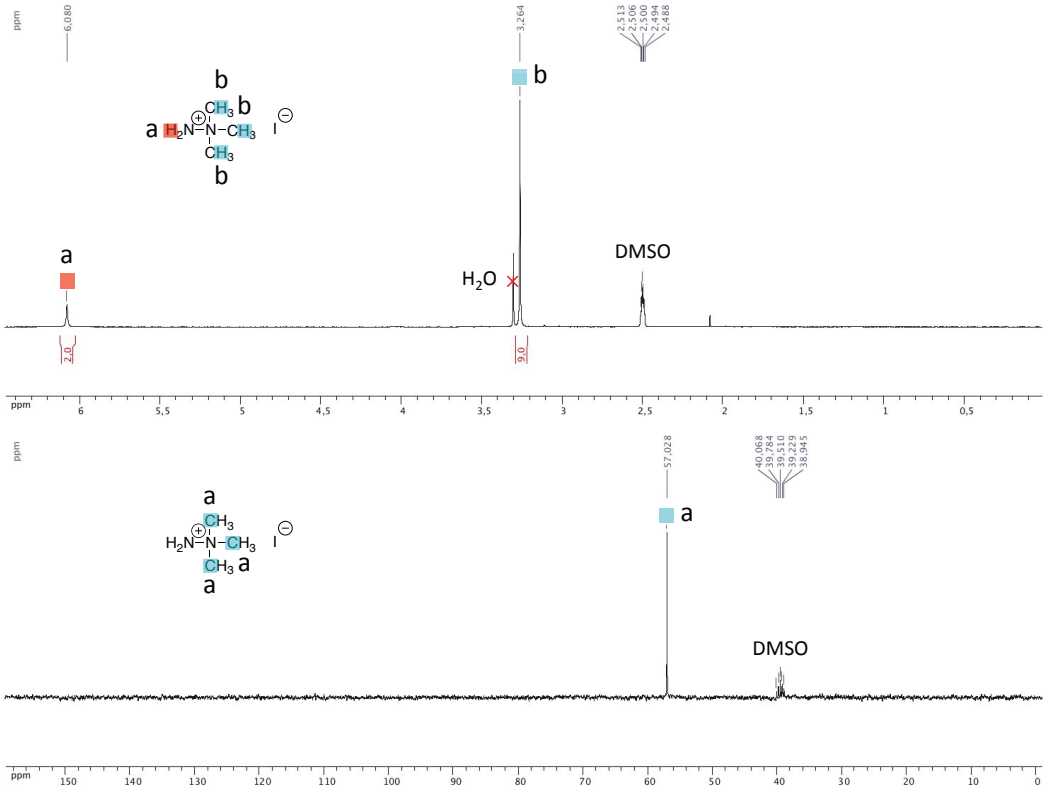


Figure 75 : Spectres RMN ^{1}H (haut) et ^{13}C (bas) du composé **10** (DMSO-d6)

Deux protocoles d'amination au TMHI ont alors été envisagés. Le premier est effectué dans le THF en présence de *tert*-butylate de potassium. Le second consiste en l'utilisation de potasse dans le DMSO. La voie A présente un meilleur rendement. De plus, l'utilisation de DMSO dans la voie B étant relativement compliqué à éliminer entièrement, nous avons décidé d'utiliser principalement la voie A (Schéma 18).

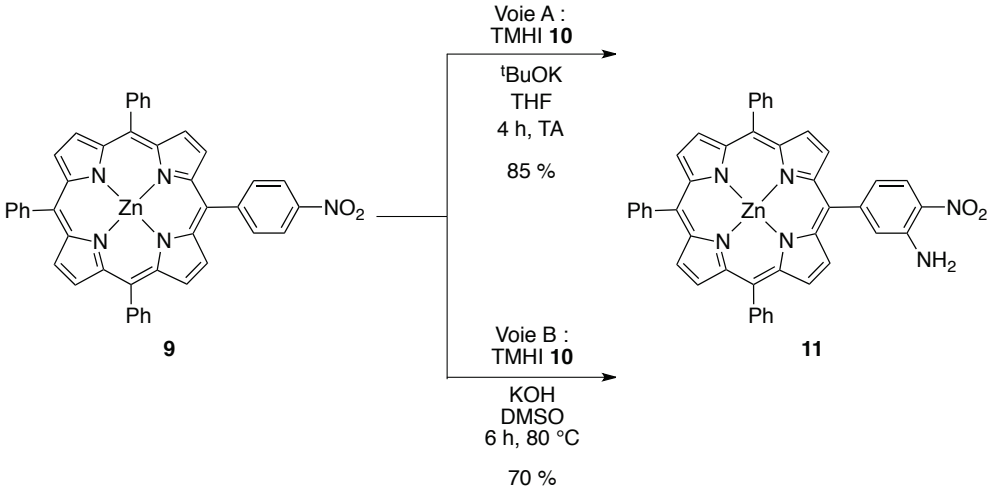


Schéma 18 : Amination du composé **9** par action du TMHI selon deux méthodes

Ce composé a été caractérisé par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Le spectre montre un pic à m/z = 736,07 correspondant au radical cation. De plus, nous observons également un pic à m/z = 705,91 qui correspond à la perte de deux atomes d'oxygène. Ce phénomène est caractéristique des fonctions nitro et se produit lors de l'ionisation.

Ce composé a ensuite été démétallé en milieu acide par action du TFA dans le DCM afin de conduire au composé **12** avec un rendement quantitatif (Schéma 19).

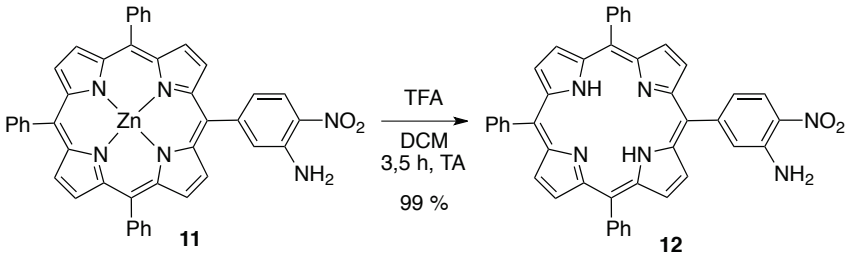


Schéma 19 : Démétallation du composé **10** en milieu acide

Ce composé a été caractérisé par spectroscopie RMN ^{1}H (Figure 76).

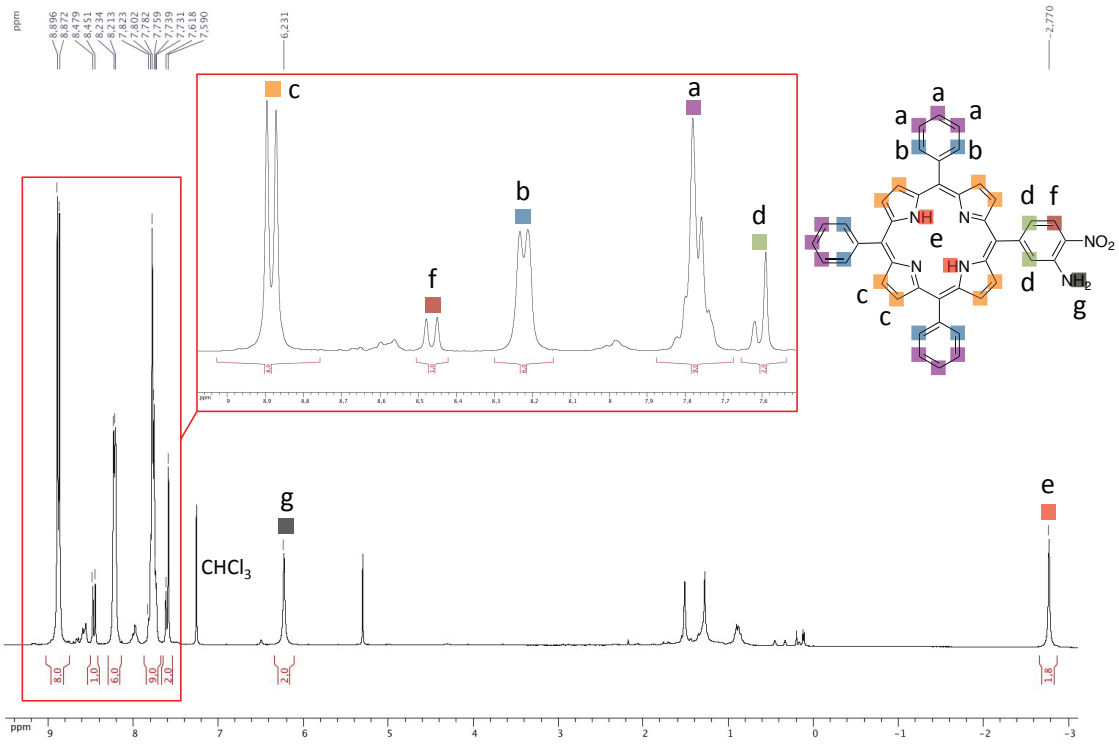


Figure 76 : Spectre RMN ^{1}H du composé **12** ($CDCl_3$)

Sur ce spectre, on observe un signal à 8,46 ppm intégrant pour un proton qui correspond au proton **f**. Celui-ci est déblindé du fait de la présence de la fonction nitro

en *ortho*. De plus, on constate la présence d'un signal à 6,22 ppm intégrant pour deux protons correspondant aux atomes d'hydrogène de la fonction amine. Le signal à -2,77 ppm intégrant pour 2 proton témoigne de l'absence de métal au cœur de la porphyrine.

La suite de la voie de synthèse est similaire à celle de la molécule modèle. Dans un premier temps, la fonction amine du composé **12** a été acylée par le bromure de bromoacétyle pour conduire au composé **13** (Schéma 20).

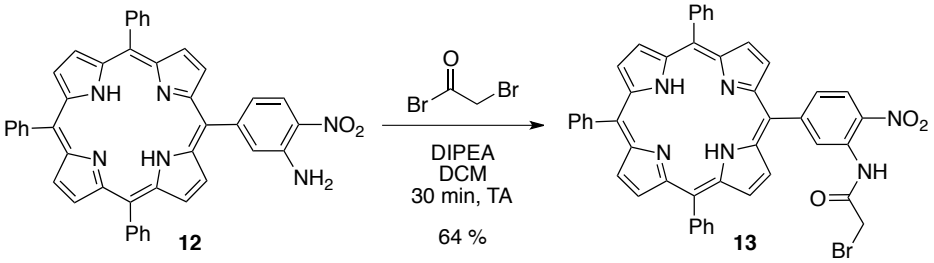


Schéma 20 : Acylation de la fonction amine du composé **12**

Dans un second temps, l'ajout de DO3A^{t}Bu dans le DMF en présence d'une base faible permet la substitution nucléophile du brome. On obtient ainsi le composé **14** (Schéma 21).

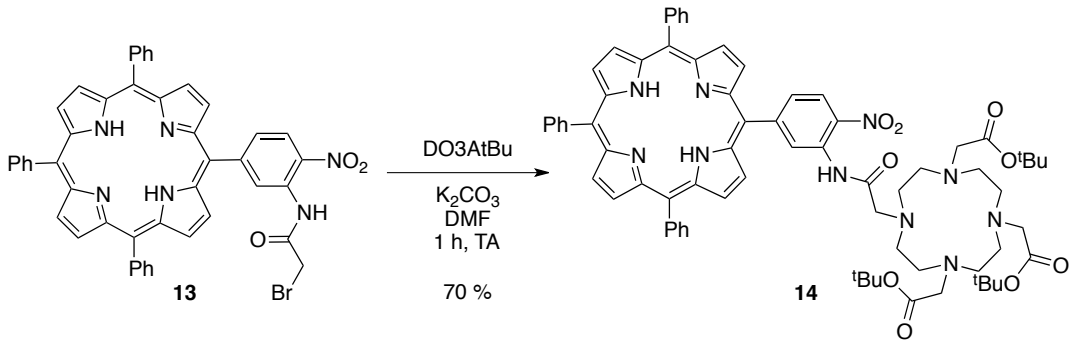


Schéma 21 : Ajout du dérivé DOTA

Le spectre MALDI-TOF du composé **14** présente un signal à m/z = 1267,66 correspondant à l'adduit $[M+K]^{+}$.

Les esters *tert*-butyliques ont ensuite été coupés par action du TFA pour conduire au composé **15** présentant une porphyrine, un DOTA et une fonction nitro (Schéma 22).

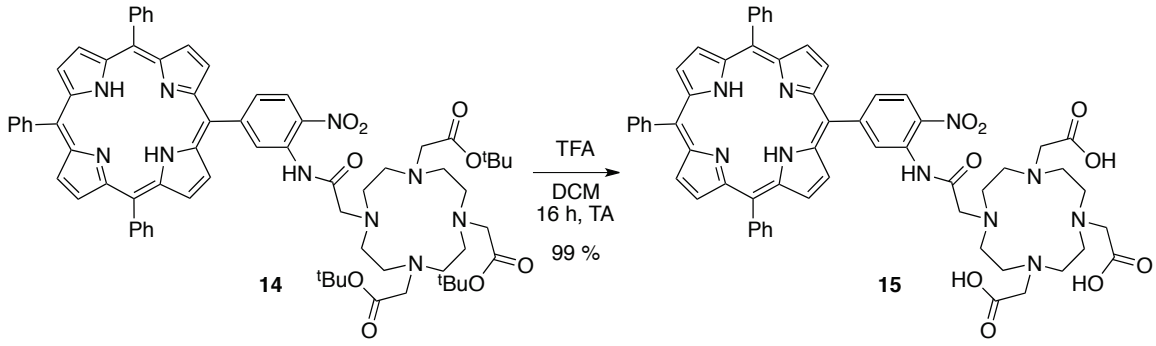


Schéma 22 : Déprotection des esters *tert*-butyliques

Le spectre RMN ^{1}H du composé **15** est présenté ci-dessous (Figure 77).

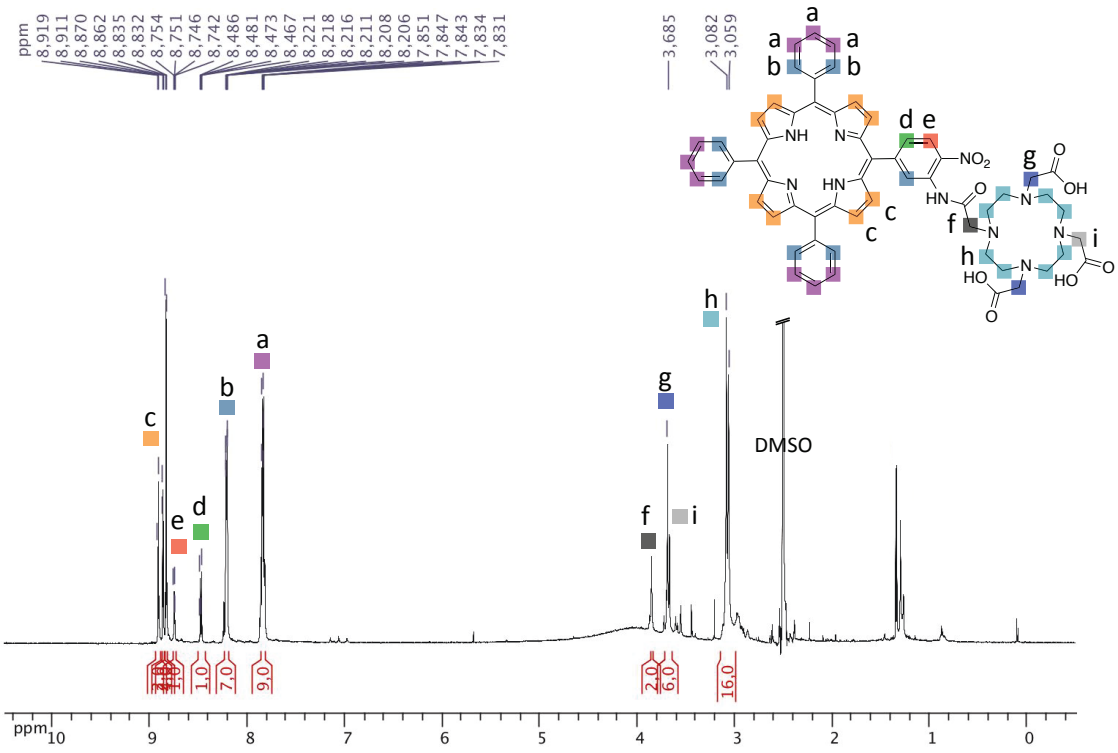


Figure 77 : Spectre RMN ^{1}H du composé **15** (DMSO-d6)

Ce spectre est similaire à celui obtenu pour le composé **6** modèle avec une variation des signaux correspondant aux atomes d'hydrogène du cycle aromatique portant le groupement nitro.

Plusieurs stratégies ont été envisagées afin de réduire le groupement nitro. Nous avons dans un premier temps utilisé la méthode décrite précédemment pour réduire le groupement nitro du composé **2** (Schéma 23).

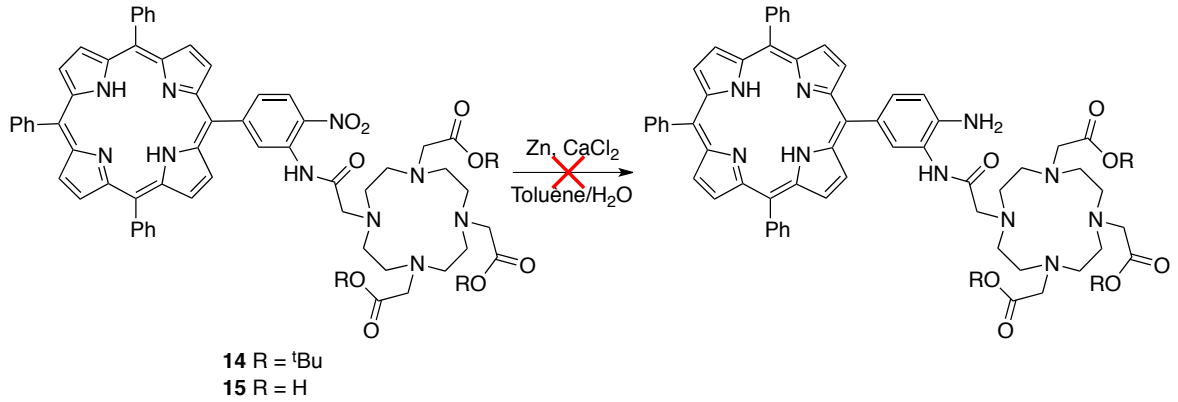


Schéma 23 : Premier essai de réduction de la fonction nitro

La présence du dérivé du DOTA n'a cependant pas permis la réduction. En effet, un suivi CCM et par spectrométrie de masse MALDI-TOF a montré que le produit de départ n'était pas consommé, qu'il s'agisse du composé **14** ou **15**. Nous avons donc envisagé d'utiliser d'autres conditions réductrices. Nous avons utilisé une méthode plus classique pour la réduction des fonctions nitro sur les porphyrines à savoir du chlorure d'étain(II) en milieu acide (Schéma 24).

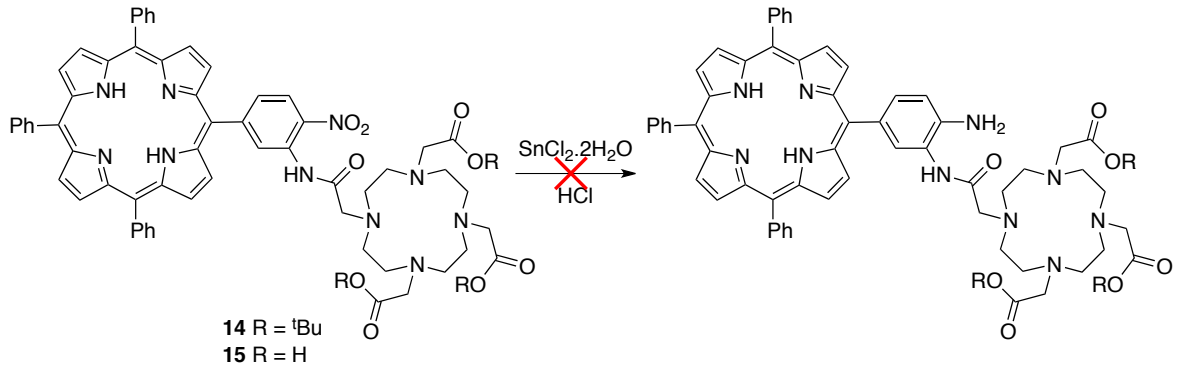


Schéma 24 : Deuxième essai de réduction de la fonction nitro

La réduction n'a également pas fonctionné, nous avons observé une dégradation du produit de départ par hydrolyse du bras amide entre la porphyrine et le dérivé du DOTA. Nous avons conclu que la présence du dérivé du DOTA empêchait l'accès à la fonction nitro et qu'il était nécessaire de la réduire plus tôt dans la voie de synthèse. Nous avons donc décidé de réduire la fonction nitro du composé **12** (Schéma 25).

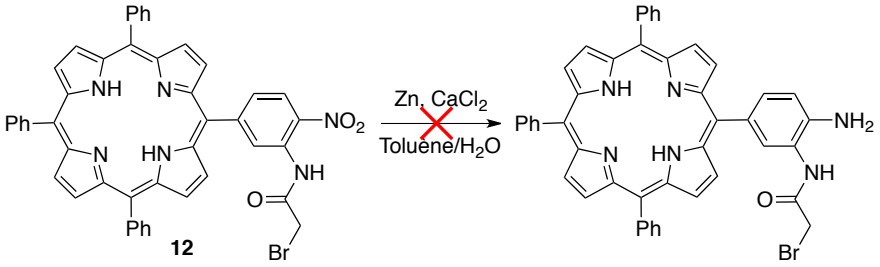


Schéma 25 : Troisième essai de réduction de la fonction nitro

Cependant, la fonction nitro n'a pas pu être réduite une nouvelle fois. Enfin nous avons envisagé d'effectuer cette réaction sur la porphyrine métallée **16**. Pour cela, il fallait au préalable effectuer l'acylation sur le composé **11** (Schéma 26).

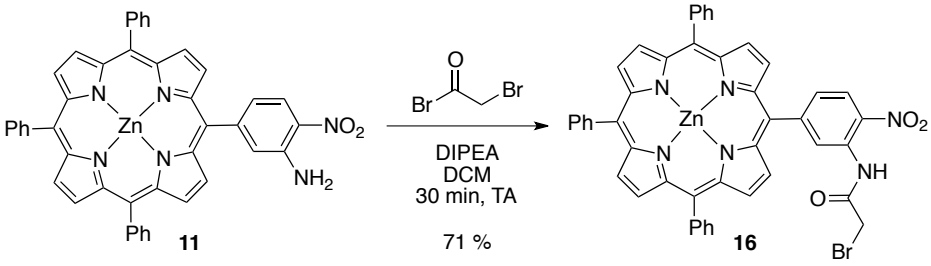


Schéma 26 : Acylation du composé **11** par le bromure de bromoacétyle

Les conditions pour cette réaction sont les mêmes que pour le composé **4**. Cependant, il est nécessaire de contrôler précisément l'ajout et la quantité de bromure de bromoacétyle et d'être en excès de DIPEA. En effet, la réaction dégage de l'acide bromhydrique et celui-ci est suffisament fort pour démétaller la porphyrine s'il n'est pas correctement neutralisé. Nous avons ensuite utilisé du zinc et du chlorure de calcium pour réduire la fonction nitro sur la porphyrine métallée (Schéma 27).

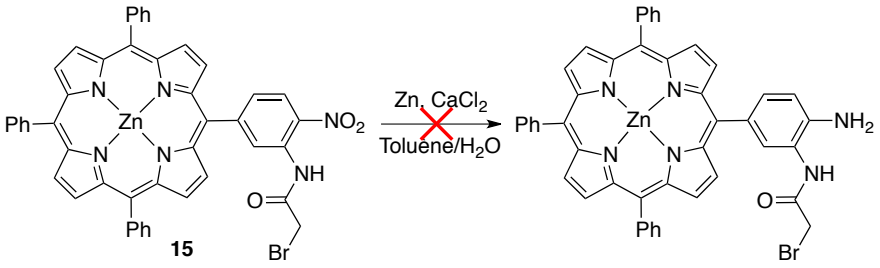


Schéma 27 : Quatrième essai de réduction de la fonction nitro

Une nouvelle fois, la fonction nitro n'a pas pu être réduite dans ces conditions. Nous avons souhaité utiliser de nouveau le chlorure d'étain(II) sur ce type de composé. Cependant, le milieu étant l'acide chlorhydrique, le brome risquait d'être substitué en

partie par un chlore et d'engendrer des sous-produits. C'est pourquoi nous avons acylé le composé **11** avec du chlorure de chloroacétyle afin d'obtenir le dérivé chloré **17** (Schéma 28).

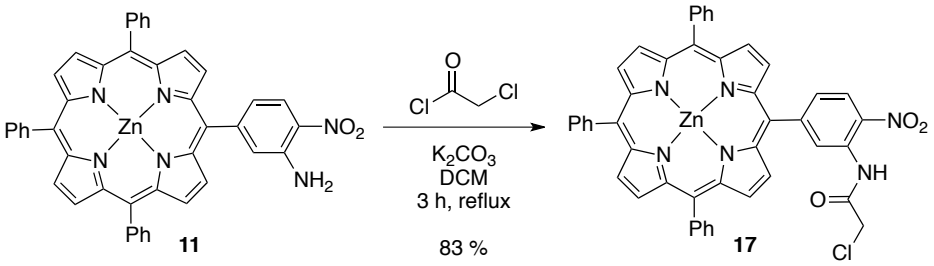


Schéma 28 : Acylation du composé **10** au chlorure de chloroacétyle

Après plusieurs essais avec différentes bases, le carbonate de potassium semble être la base la plus adaptée pour cette synthèse. En effet, celui-ci est filtré sur célite à la fin de la réaction, puis une purification rapide du produit permet d'obtenir le composé **17** avec un très bon rendement de 83 %. La fonction nitro de ce dernier a ensuite été réduite par action du chlorure d'étain(II) dans l'acide chlorhydrique (Schéma 29). Du fait du milieu fortement acide, la porphyrine est alors démétallée *in-situ*.

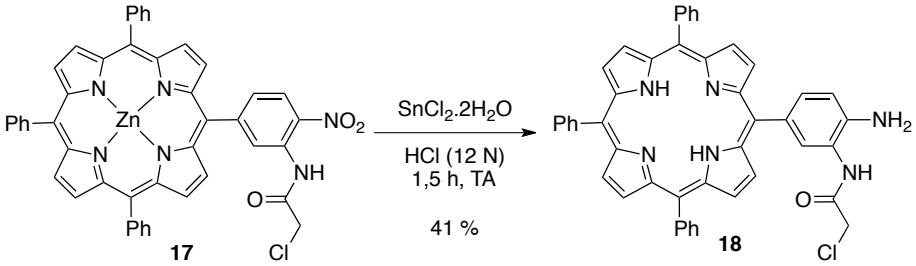


Schéma 29 : Réduction de la fonction nitro du composé **17**

Cette réaction a été suivie par spectrométrie de masse MALDI-TOF et le temps de réaction a été fixé à 1,5 h. En effet, au-delà de ce temps, nous observons l'hydrolyse lente de la fonction amide en plus de la réduction de la fonction nitro. Le composé **18** peut alors réagir avec le DO3A^{t}Bu comme précédemment décrit (Schéma 30).

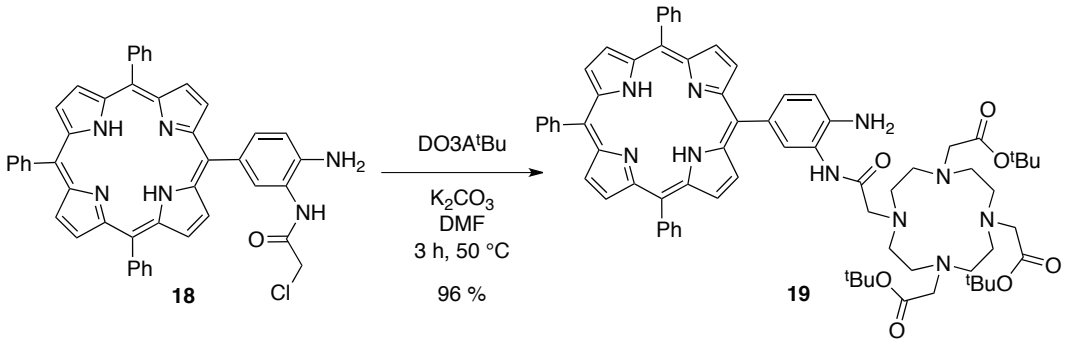


Schéma 30 : Ajout du dérivé DOTA protégé

Ce produit a été caractérisé par spectrométrie de masse MALDI-TOF et présente le même profil que le composé modèle **5** (Figure 78).

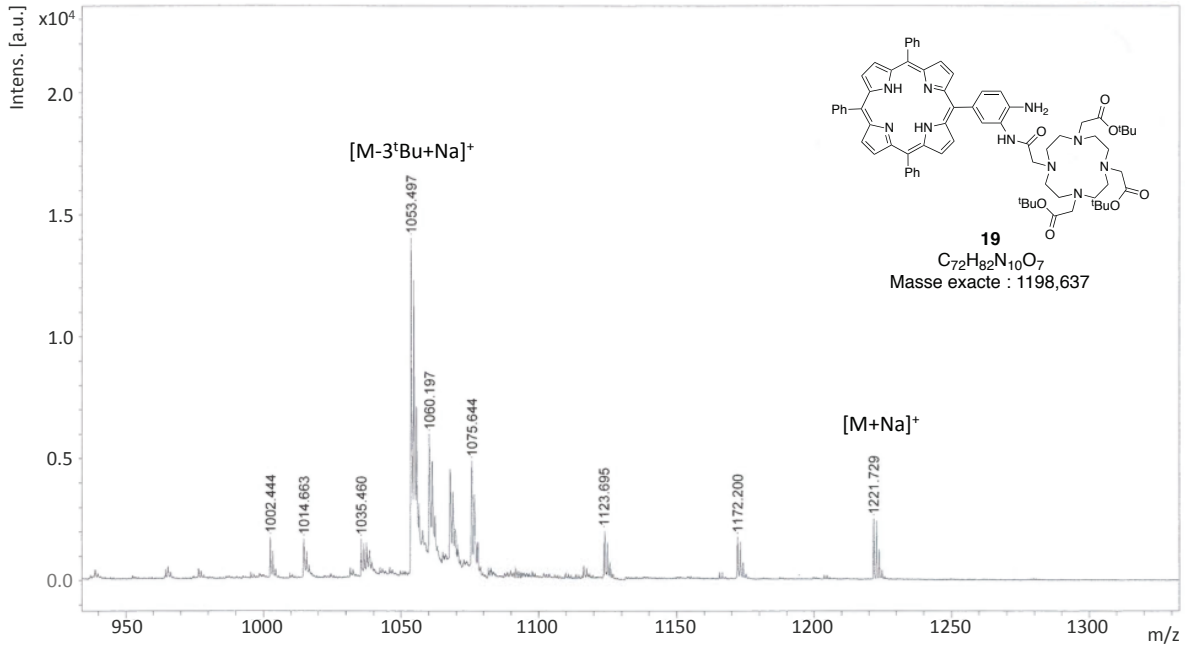


Figure 78 : Spectre MALDI-TOF du composé **19**

Nous avons également, comme pour la molécule modèle, suivi l'évolution de la bande correspondant à la vibration de la liaison C=O en spectroscopie IR. Nous observons une bande à 1723 cm^{-1} pour le composé **19**.

Nous obtenons le composé **19** présentant la fonction amine libre souhaitée ainsi que le dérivé du DOTA protégé par des esters *tert*-butyliques. Ceux-ci sont alors hydrolysés par action du TFA (Schéma 31).

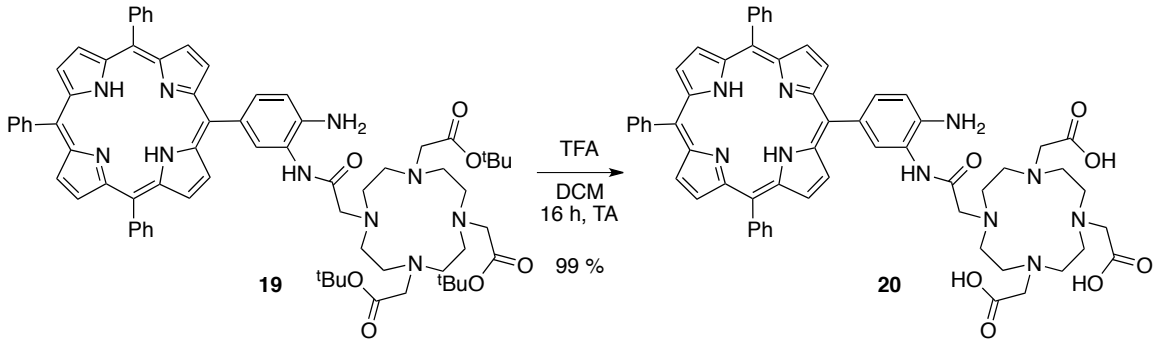


Schéma 31 : Déprotection des fonctions esters *tert*-butyliques

Comme pour la molécule modèle, nous observons une diminution de 56 cm^{-1} en spectroscopie IR pour la bande de vibration de la liaison C=O des fonctions esters *tert*-butyliques.

Nous avons ainsi obtenu le ligand **20** présentant une fonction amine libre.

3.2. Métallation du ligand

Comme précédemment, nous avons commencé par métaller le dérivé du DOTA avec du gadolinium, puis nous avons testé la métallation de la porphyrine avec du cuivre froid.

3.2.1. Métallation au gadolinium

Le composé **20** a été métallé avec du gadolinium dans les mêmes conditions que la molécule modèle **7** (Schéma 32).

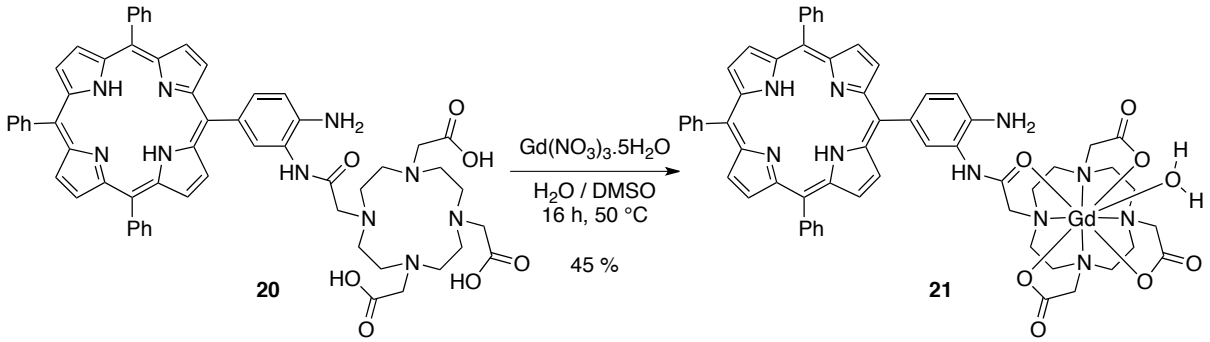


Schéma 32 : Métallation du ligand final avec du gadolinium

Le nitrate de gadolinium permet la métallation du ligand dans la cavité polyazamacrocyclique avec un rendement de 45 %.

Ce complexe a été caractérisé notamment par spectrométrie de masse MALDI-TOF ou l'on observe un pic à m/z = 1186,20 correspondant à $[M\text{-}H_2O+H]^+$.

3.2.2. Métallation au cuivre

Nous avons effectué un test de métallation du composé **21** avec du cuivre. Pour une utilisation en TEP, le métal utilisé doit être radioactif. Cependant, cette métallation devra être effectuée à la dernière étape, après ajout d'une molécule vectrice. Elle a pour but de vérifier la possibilité de métaller cette porphyrine avec du cuivre. Celle-ci a donc été effectuée dans les mêmes conditions que pour la molécule modèle **8** (Schéma 33).

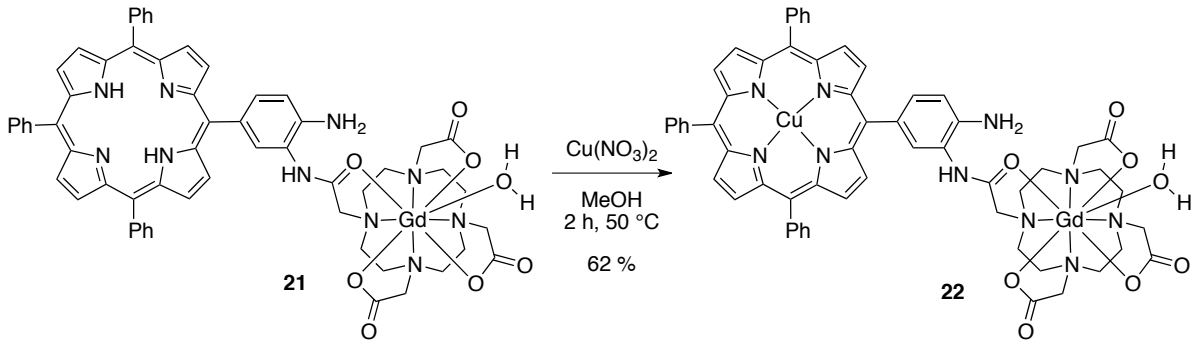


Schéma 33 : Métallation de la porphyrine avec du cuivre « froid »

Le nitrate de cuivre permet une métallation du composé **21** en 2 h dans le méthanol. Cette réaction a été suivie par spectroscopie UV-visible où nous observons, comme pour la molécule modèle, une diminution du nombre de bandes Q.

3.3. Greffage des molécules vectrices

L'ajout de la fonction amine supplémentaire nous a permis d'envisager l'ajout de molécules vectrices. Nous avons travaillé sur l'ajout de petites molécules connues pour être spécifique de certaines cellules tumorales. La première molécule sélectionnée est un dérivé de l'acide folique, dont les récepteurs sont connus pour être surexprimés dans plusieurs types de cellules cancéreuses et notamment celles des cancers ovariens.[87] La seconde est un dérivé du glucose. Les cellules cancéreuses étant connues pour leurs surconsomations de nutriments et notamment de sucres, ceux-ci s'accumulent préférentiellement dans les cellules tumorales.

3.3.1. Greffage du dérivé de l'acide folique

L'acide folique est une vitamine hydrosoluble. En effet, cette molécule, aussi appelée vitamine B9 est un précurseur métabolique du tétrahydrofolate (THF ou FH_4), une coenzyme impliquée dans la synthèse des bases nucléiques purines et pyrimidines constituant les acides nucléiques (ADN et ARN). Le FH_4 intervient également dans la

synthèse de certains acides aminés. Les récepteurs aux folates sont présents sur tous les types de cellules. Cependant, ceux-ci sont largement surexprimés sur les cellules tumorales ce qui en fait une cible de choix pour le ciblage.

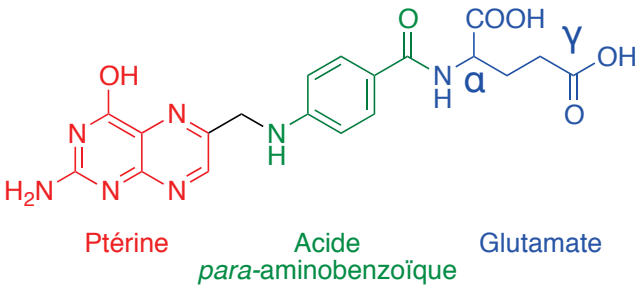


Schéma 34 : Structure de l'acide folique

L'acide folique est composé de trois fragments présents dans plusieurs molécules naturelles. Le premier est un fragment hétérocyclique de type ptérine. Le second est un dérivé de l'acide *para*-aminobenzoïque. Enfin, la troisième est un bras glutamate. L'acide folique possède deux fonctions acides carboxyliques appelées α et γ. La position γ est plus réactive du fait de l'encombrement stérique à proximité de la position α.

Afin de greffer l'acide folique, nous avons activé la fonction acide carboxylique γ sous forme d'ester de NHS (Schéma 35).

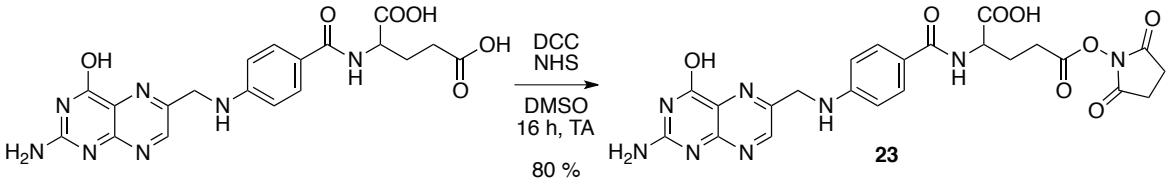


Schéma 35 : Activation de la fonction acide carboxylique de l'acide folique

L'action du NHS en présence de DCC dans le DMSO permet l'estérification de la fonction acide carboxylique selon le mécanisme suivant (Figure 79).

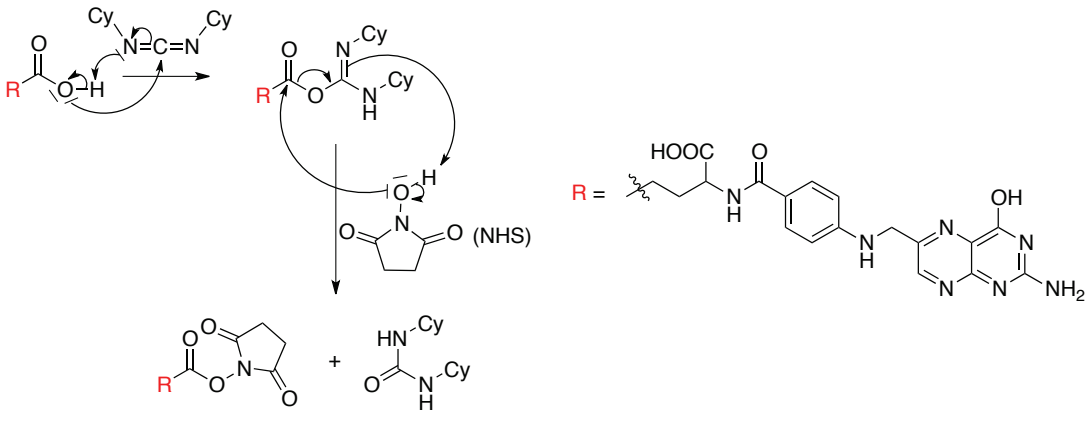


Figure 79 : Mécanisme d'activation d'une fonction acide carboxylique

Ce composé **23** présente une faible solubilité faible dans de nombreux solvants, ce qui rend les analyses spectrales complexes.

Nous avons ensuite réalisé un premier essai de greffage du dérivé **23** sur notre composé **21** (Schéma 36).

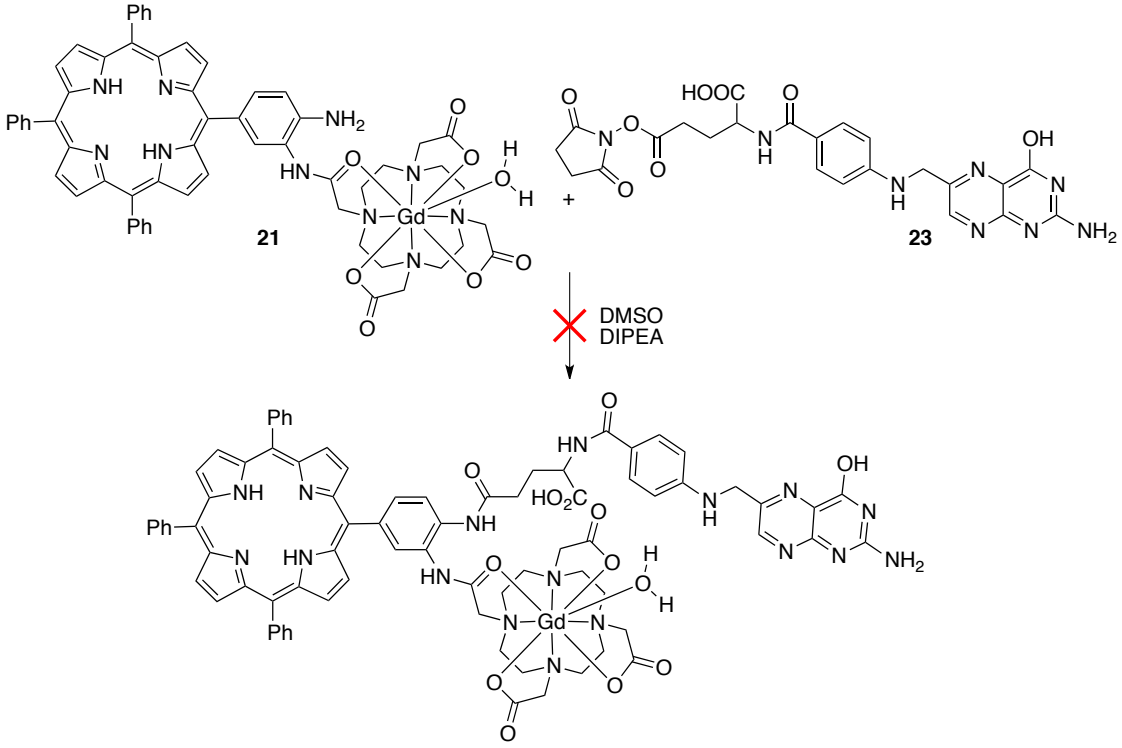


Schéma 36 : Essai de greffage du dérivé de l'acide folique

Du fait du manque de réactivité de l'amine libre et de la faible solubilité du dérivé **23**, cette réaction n'a pas fonctionné. Nous avons donc décidé d'activer l'amine libre de notre composé **21** sous forme de fonction isothiocyanate (Schéma 37).

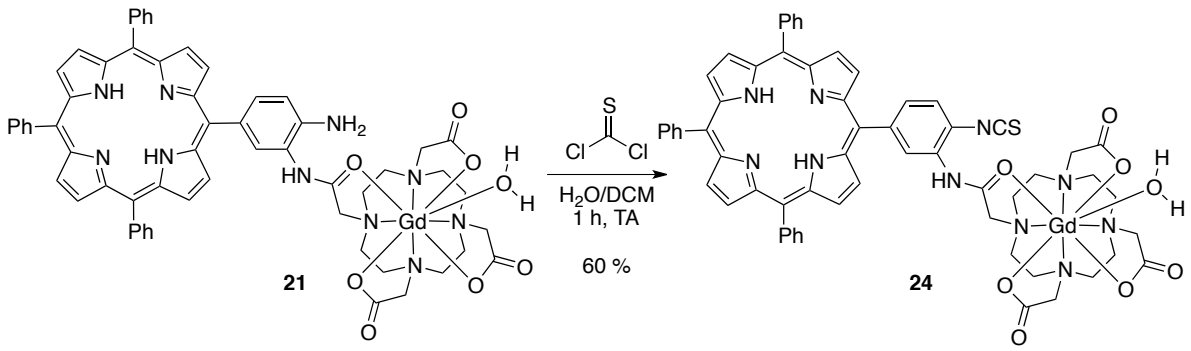


Schéma 37 : Activation de l'amine primaire par action du thiophosgène

L'action du thiophosgène dans un mélange hétérogène H_2O/DCM permet de transformer la fonction amine primaire en une fonction isothiocyanate. Celle-ci étant très réactive, le produit est simplement lavé au DCM (pour éliminer l'excès de thiophosgène) puis lyophilisé. Nous avons testé la réactivité de la fonction isothiocyanate par réaction avec une amine aliphatique simple : l'isopropylamine. En effet, celle-ci peut réagir pour former une liaison thiourée, très stable (Schéma 38).

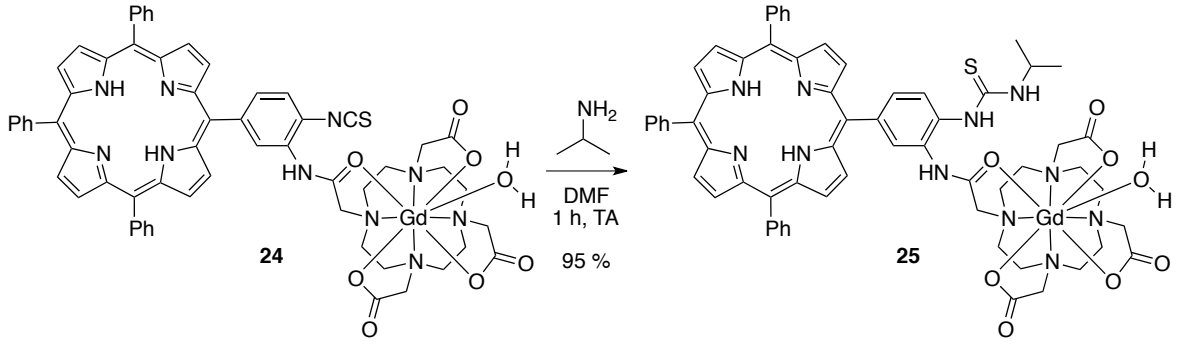


Schéma 38 : Formation de la liaison thiourée par action de l'isopropylamine

Nous observons la formation du composé **25** par suivi en spectrométrie de masse MALDI-TOF. En effet, le spectre de masse présente un pic à m/z = 1325,24 correspondant à l'adduit $[M\text{-}H_2O + K]^+$.

L'acide folique doit alors présenter une fonction amine primaire aliphatique afin de réagir sur la fonction NCS du composé **24**. Nous avons donc décidé de rajouter une fonction amine avec un espaceur PEG. Celui-ci a été choisi afin d'améliorer la solubilité du dérivé de l'acide folique, mais également celle du composé final (Schéma 39).

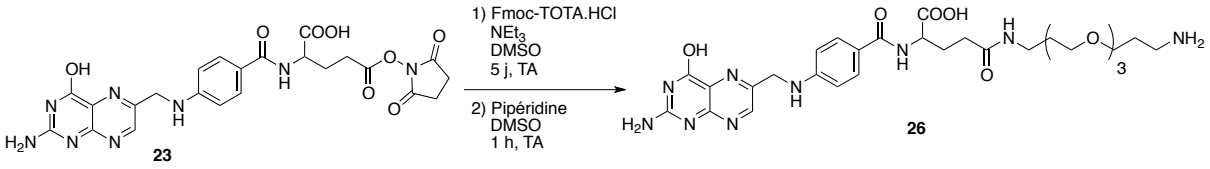


Schéma 39 : Ajout du PEG amine sur le dérivé de l'acide folique

L'action du Fmoc-TOTA.HCl permet d'ajouter le PEG présentant une fonction amine primaire protégée par un groupement Fmoc. Celui-ci est ensuite « clivé » en présence de pipéridine pour conduire au composé **26**. Les deux étapes de cette réaction ont été suivies par spectrométrie de masse ESI.

Le greffage du dérivé acide folique **26** sur le composé isothiocyanate **24** permet d'accédé au composé **27**.

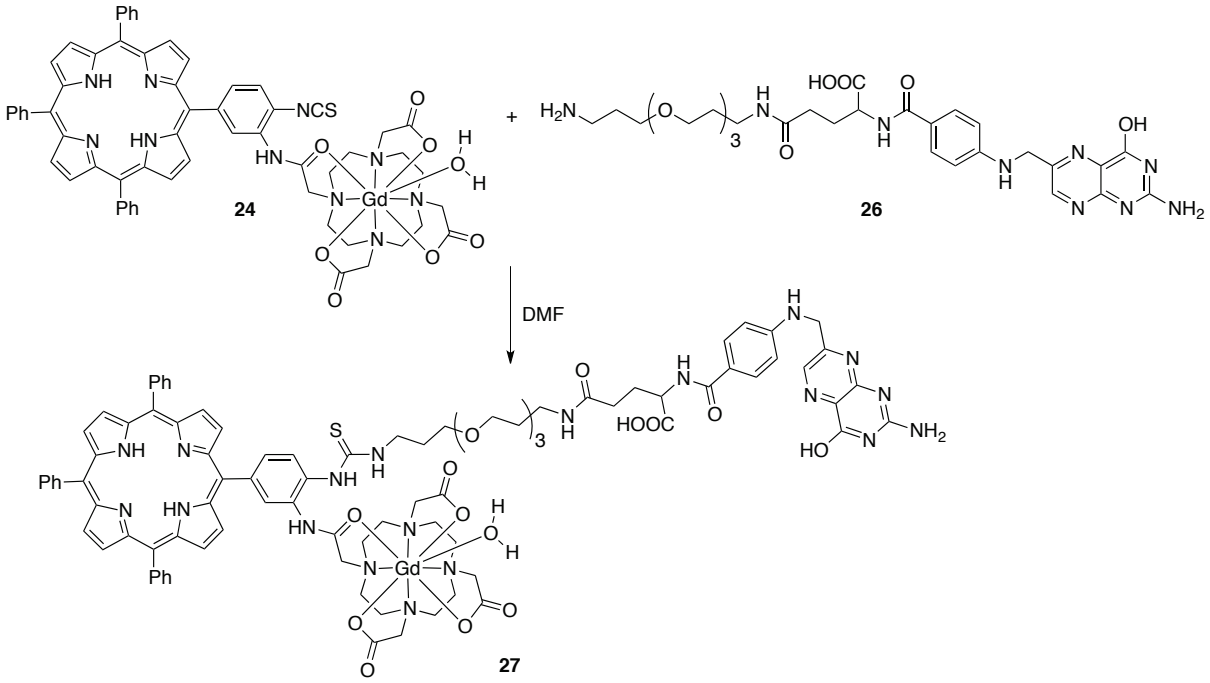


Schéma 40 : Ajout du dérive PEG-acide folique sur le composé **23**

Cette réaction n'a pour l'instant été effectuée que sur des petites quantités de produit. Cependant, le produit final a pu être observé en spectrométrie de masse MALDI-TOF.

Nous avons également travaillé sur une autre molécule vectrice afin de pouvoir vectoriser notre molécule vers d'autres cibles.

3.3.2. Greffage du sucre

Les sucres ou sacharrides sont des biomolécules très présentes dans la nature. Ce sont des polyols possédant une fonction cétone ou, le plus souvent, une fonction aldéhyde terminale. Sous leurs formes linéaires, les sucres existent sous deux formes appelées D et L. Celles-ci sont en fait deux énantiomères d'un même sucre (Figure 80).

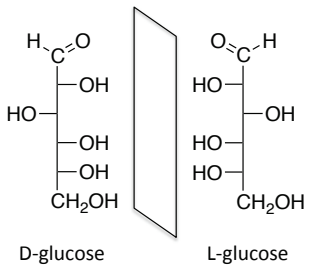


Figure 80 : Deux isomères du glucose sous sa forme linéaire

La majorité des sucres naturels sont sous leur forme D mais il existe quelques exemples de sucre naturel de forme L.

De plus, en solution, ces sucres sont en grand majorité sous une de leur forme cyclisée. En effet, ces molécules sont en équilibre entre leur forme linéaire et plusieurs formes cycliques (Figure 81).

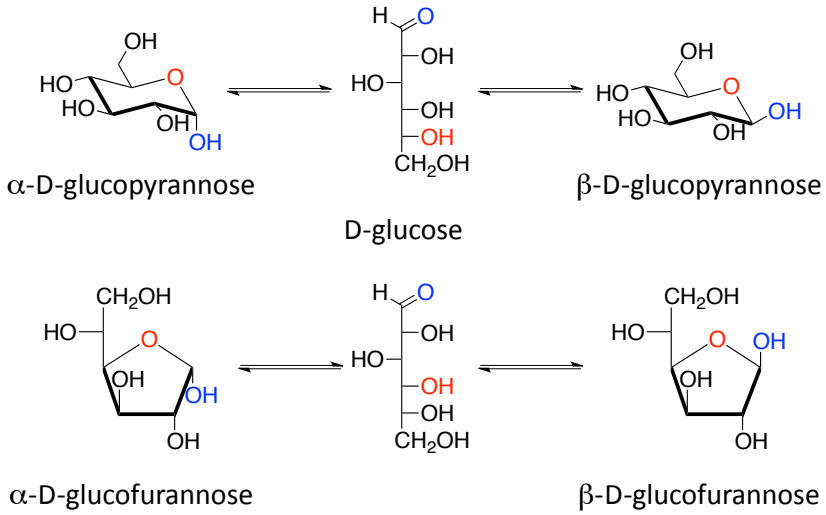


Figure 81 : Les formes du D-glucose en équilibre

Les sucres, et majoritairement le glucose, sont impliqués dans bon nombre de processus biologique. Ainsi, ceux-ci sont consommés et métabolisés par les cellules. Hors, les cellules tumorales sont connues pour consommer plus de sucres que les cellules saines. De plus, la modification du glucose provoque son accumulation dans les cellules car le dérivé n'est plus métabolisé. C'est pourquoi le glucose est un dérivé de choix pour le ciblage des cellules cancéreuses.

Afin de greffer un dérivé du glucose en utilisant le même principe que pour l'acide folique, il est nécessaire d'ajouter une fonction amine sur un glucose. Pour cela, nous avons utilisé un dérivé commercial : le 4-nitrophényl β-D-glucopyranoside.

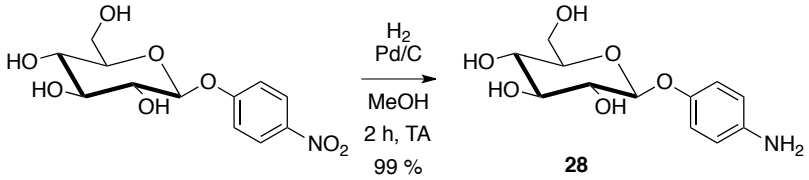


Figure 82 : Réduction de la fonction nitro du sucre

La fonction nitro présente sur le cycle aromatique du dérivé commercial a été réduite par l'action de dihydrogène en présence de palladium sur charbon dans le méthanol selon un protocole décrit dans la littérature.[88]

Le composé **28** a été observé par spectrométrie de masse ESI (Figure 83).

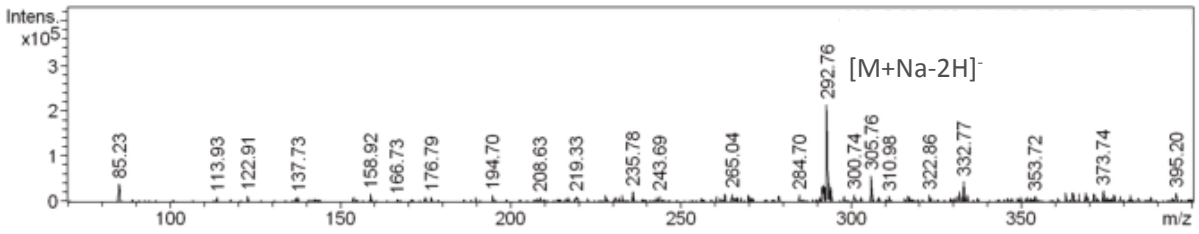


Figure 83 : Spectre de masse ESI du composé **28**

Sur ce spectre, nous observons un pic à m/z = 292,76 correspondant a un adduit $[M+Na-2H]^-$.

De plus, nous avons également caractérisé le composé **28** par l'étude du spectre RMN ^1H (Figure 84).

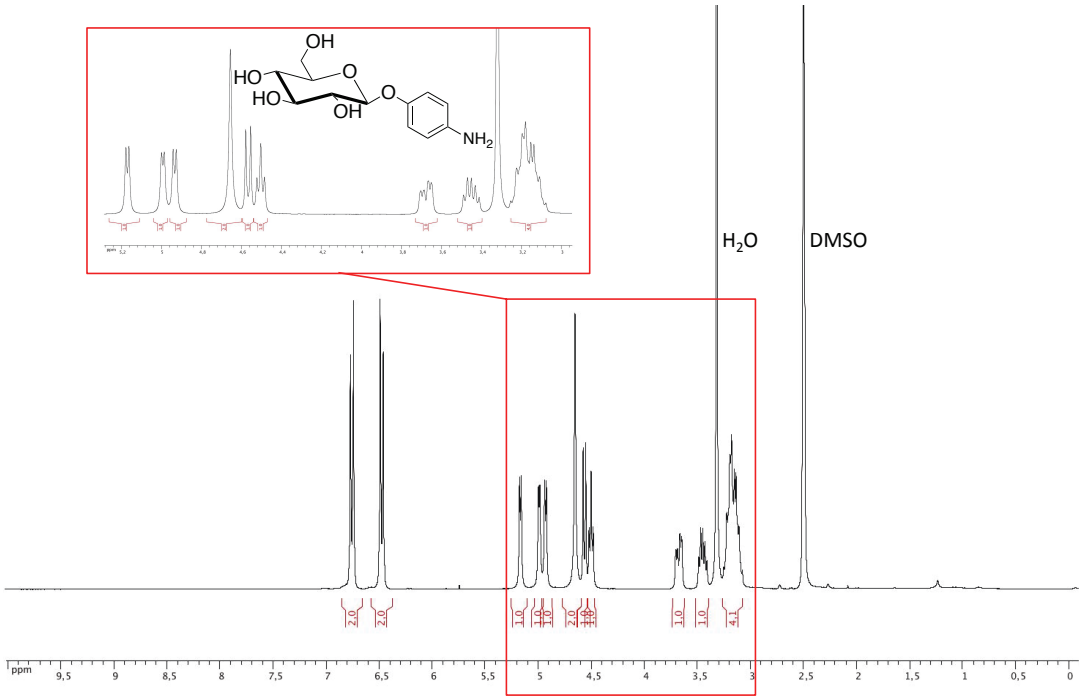


Figure 84 : Spectre RMN ^1H du composé **28**

Du fait des cinq atomes de carbone asymétriques présents sur la molécule, ce spectre est relativement complexe à interpréter. Afin de vérifier la complétion de la réaction, nous avons enregistré le spectre de RMN ^1H du produit de départ commercial et l'avons superposé à celui du composé **28** (Figure 85).

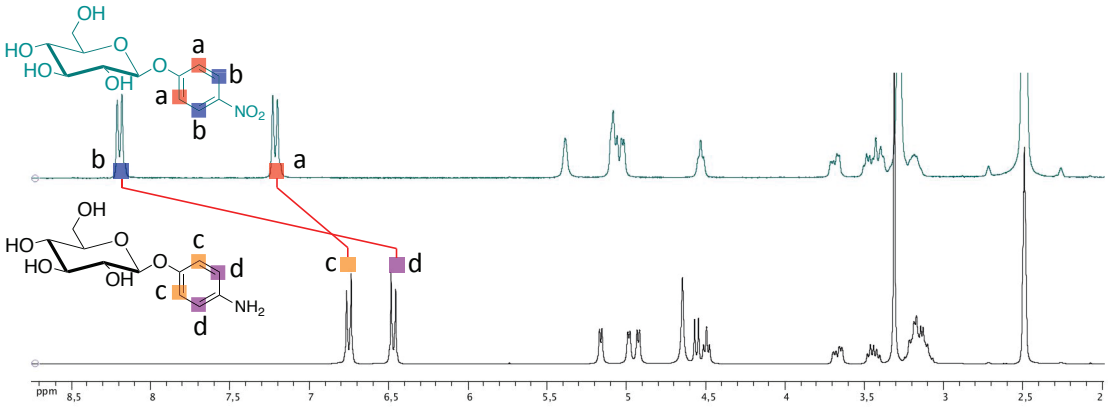


Figure 85 : Superposition des spectres du 4-nitrophényl β-D-glucopyranoside et du composé **28**

Gr ce à la superposition des deux spectres, nous observons clairement le blindage des protons aromatiques dû au remplacement du groupement nitro électroatracteur par un groupement amino électrodonneur.

L'ajout du composé **28** sur la porphyrine a ensuite été réalisé selon la même méthode que pour l'acide folique (Schéma 41).

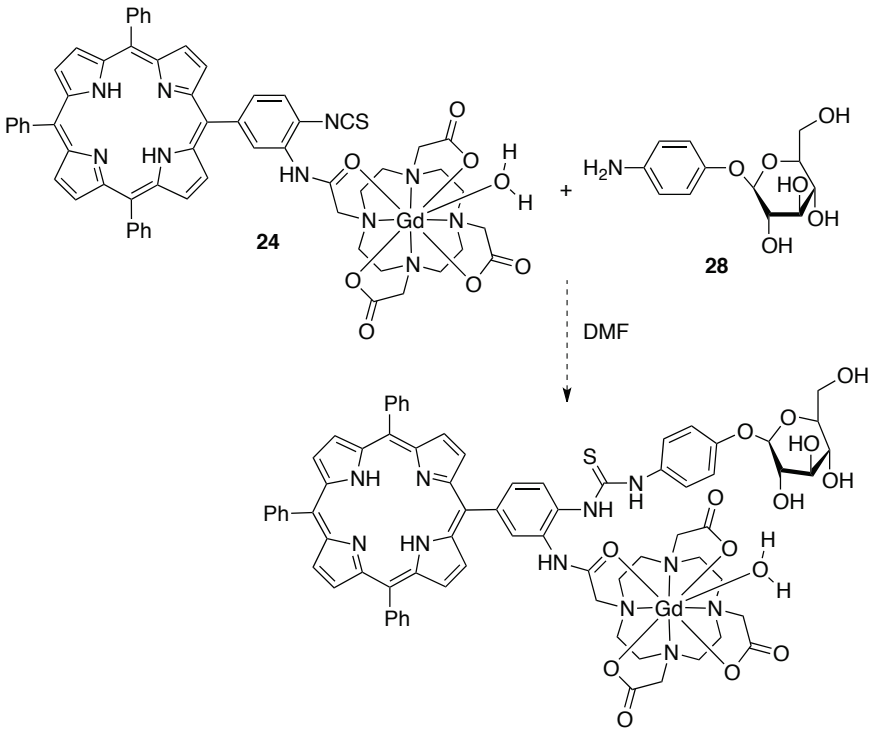


Schéma 41 : Ajout du dérivé du glucose **28** sur le composé **24**

Comme pour l'acide folique, cette réaction n'a été effectuée que sur des petites quantités, cependant, ce produit n'a pas encore été observé.

3.4. Mesures préliminaires

Afin d'étudier l'efficacité de nos composés pour une utilisation en IRM, nous avons mesuré leurs relaxivités.

3.4.1. Mesures de relaxivités

La relaxivité a été mesurée en traçant la droite représentant l'inverse de la vitesse de relaxation longitudinale $1/T_1$ en fonction de la concentration en gadolinium. En effet, le coefficient directeur de la droite ainsi tracée est égal à la relaxivité selon l'équation suivante (Équation 15).

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{dia} + r_1[Gd]$$

Équation 15 : Vitesse longitudinale en fonction de la concentration en gadolinium

Nous constatons sur cette équation que la vitesse longitudinale observée est une droite avec comme valeur à l'origine, la vitesse de relaxation du milieu et comme coefficient directeur la relaxivité du complexe étudié.

Nous avons mesuré la vitesse longitudinale T_1 de solutions contenant notre complexe **21** à trois concentrations différentes (Tableau 7).

[Gd] (mM)	T_1 (s)	$1/T_1$ (s^{-1})
0,000	2,85	0,74
0,014	2,40	0,52
0,035	1,91	0,42
0,070	1,35	0,35

Tableau 7 : Mesure de la vitesse de relaxation longitudinale du composé **21**

À partir des valeurs de T_1 observées, nous avons tracé la courbe ci-dessous (Figure 86).

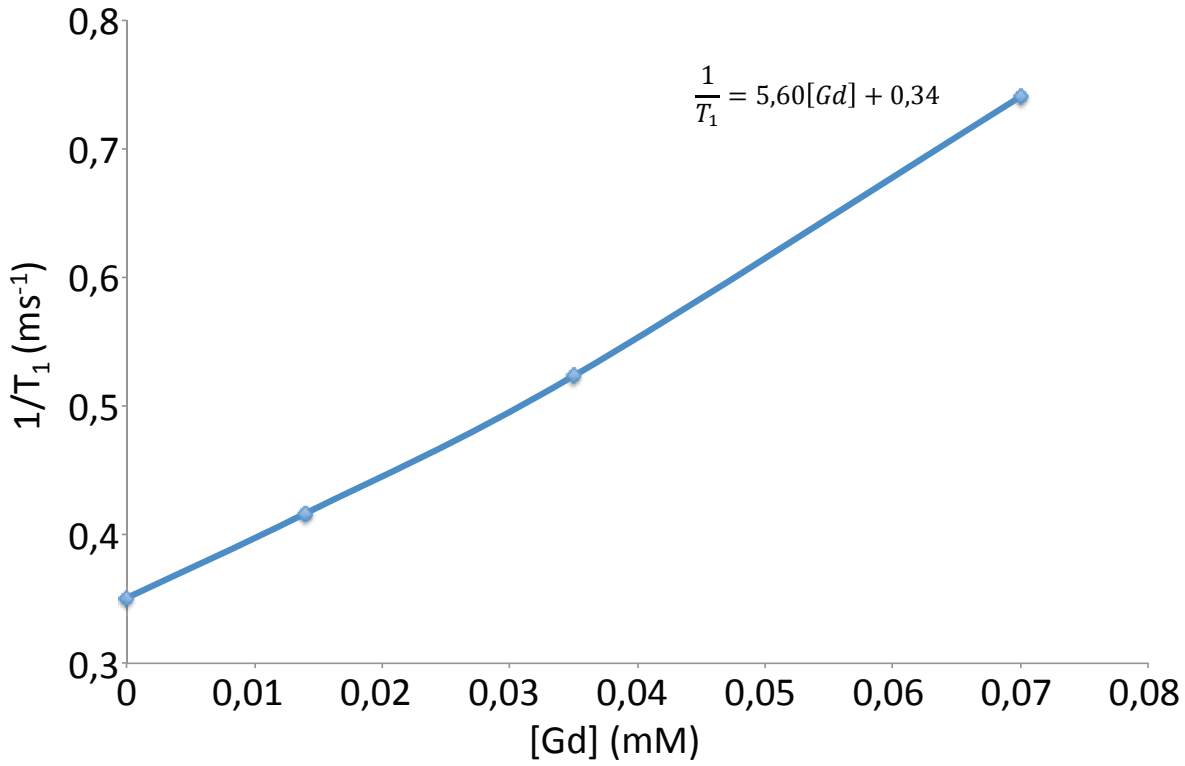


Figure 86 : Courbe de représentation de $1/T_1$ = f([Gd]) pour le composé **21**

Enfin, à partir de l'équation de cette droite, nous pouvons déduire une valeur de relaxivité de 5,60 $mM.s^{-1}$ pour ce composé.

Dans le tableau ci-dessous, nous avons reporté les valeurs de relaxivité pour les différents complexes de gadolinium précédemment synthétisés (Tableau 8).

Complexe	Relaxivité r_1 ($mM.s^{-1}$)
7 (Gd)	14,90
8 (CuGd)	15,00
21 (Gd)	5,60
22 (CuGd)	5,10
DOTA(Gd)	3,59

Tableau 8 : Valeurs de relaxivité des composé **7**, **8**, **21** et **22**

Ces valeurs sont à comparer à celle du DOTA(Gd), l'agent de contraste le plus utilisé en IRM. Celui-ci présente une valeur de relaxivité de 3,59 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 20 MHz et à 37 °C. Les valeurs de relaxivité des composés modèles **7** et **8** sont plus de trois fois plus élevées que celle du DOTA(Gd) tandis que celles des composés **21** et **22** sont de l'ordre

de la relaxivité de cette même référence. Ces valeurs dépendent grandement de la libre rotation de la partie DOTA et de l'accès au gadolinium par les molécules d'eau.

4. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons décrit la synthèse de deux dérivés porphyrines-DOTA-like. Dans un premier temps, nous avons effectué la synthèse d'un composé modèle permettant de mettre au point la fonctionnalisation d'une tétraphénylporphyrine afin d'ajouter un dérivé du DOTA. Ensuite, nous avons effectué des essais de métallation avec du gadolinium pour la partie polyazamacrocyclique d'une part et du cuivre pour la partie porphyrinique d'autre part.

Puis, cette synthèse a été appliquée sur un composé portant une fonction amine supplémentaire pour effectuer un greffage sur une molécule vectrice. Pour cela, nous avons utilisé une méthode permettant une amination en *ortho* d'une fonction nitro. Ensuite, par fonctionnalisation de la fonction amine ainsi ajoutée puis reduction de la fonction nitro supplémentaire, nous avons obtenu le composé **20** présentant un dérivé du DOTA et une fonction amine libre. Celui-ci a également été métallé dans les mêmes conditions que pour le composé modèle.

Enfin, nous avons réalisé la modification de deux molécules vectrices afin que celles-ci puissent être greffées sur notre dérivé porphyrinique. Pour cela, nous avons ajouté une fonction amine sur l'acide folique et sur un dérivé du glucose. Nous avons ensuite effectué le greffage de ces deux molécules et suivi ce greffage par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Seul le produit relié à l'acide folique a pour l'instant été observé en spectrométrie de masse. La relaxivité des différents ligands métallés avec du gadolinium a également été testé afin d'évaluer leurs potentiels pour une application en IRM. Nous avons observé des valeurs de relaxivité très élevées dans le cas de la molécule modèle (plus de trois fois la valeur du DOTAREM®). Ces valeurs sont de l'ordre de celle du DOTA(Gd) pour les composés **21** et **22**. Ces résultats permettent d'envisager l'utilisation de nos composés pour effectuer des premiers essais en IRM.

5. Perspectives

Par la suite, les molécules portant l'acide folique et le sucre devront être re-synthétisées et purifiées sur des quantités relativement importantes afin de tester leur toxicité sur cellules et de réaliser des études IRM sur petit animal. Ces études devraient permettre d'évaluer l'efficacité des différents vecteurs. Ensuite, les composés devront être métallés avec du cuivre-64 afin d'effectuer des images en TEP. Il sera alors possible d'envisager l'IRM couplée à la TEP sur petit animal sur l'imageur couplant les deux techniques (projet IMAPPI).

5.1. Ajout de fonctions hydrosolubilisantes

De plus, afin de pallier au manque d'hydrosolubilité des composés synthétisés précédemment, nous avons décidé d'ajouter des fonctions hydrosolubilisantes (Schéma 42). Les fonctions acides sulfoniques sont connues pour être sous forme déprotonnées à pH neutre. Une fois sous forme ionique, ces fonctions (appelées dans ce cas sulfonates) apporte un caractère fortement ionique aux molécules, augmentant ainsi leurs solubilités en milieu aqueux.

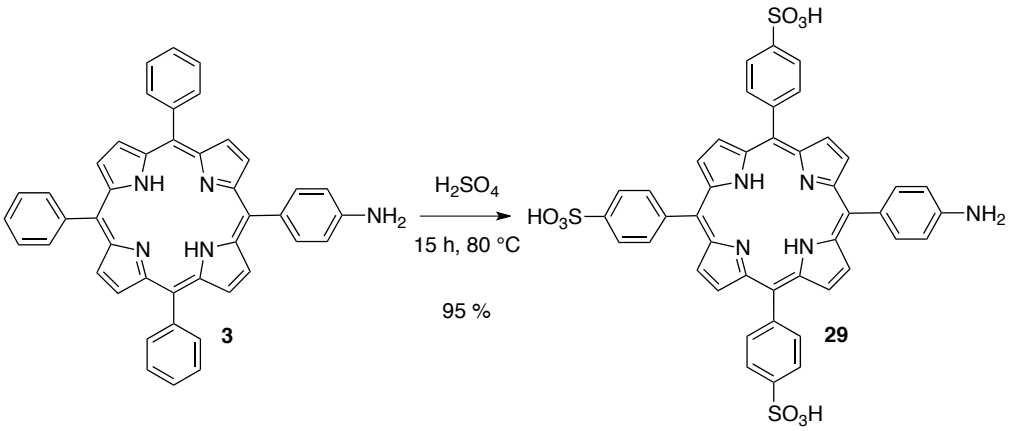


Schéma 42 : Ajout de fonctions hydrosolubilisantes

L'action de l'acide sulfurique sur l'amino porphyrine **3** permet l'ajout de fonctions acides sulfoniques sur les positions *para* libres des trois phényles sur les positions *meso* 10, 15 et 20. Le composé **29** ainsi formé présente une solubilité particulière. En effet, il est principalement soluble dans les solvants polaires (méthanol, eau, DMF…) lorsque le pH est supérieur à 4. Dans les milieux plus acides, ce composé est très peu soluble dans la plupart des solvants.

Afin d'ajouter un dérivé du DOTA sur le composé **29**, plusieurs essais de fonctionnalisation ont été effectués.

Tout d'abord, nous avons voulu utiliser les mêmes conditions d'acylation que pour la molécule modèle (Schéma 43).

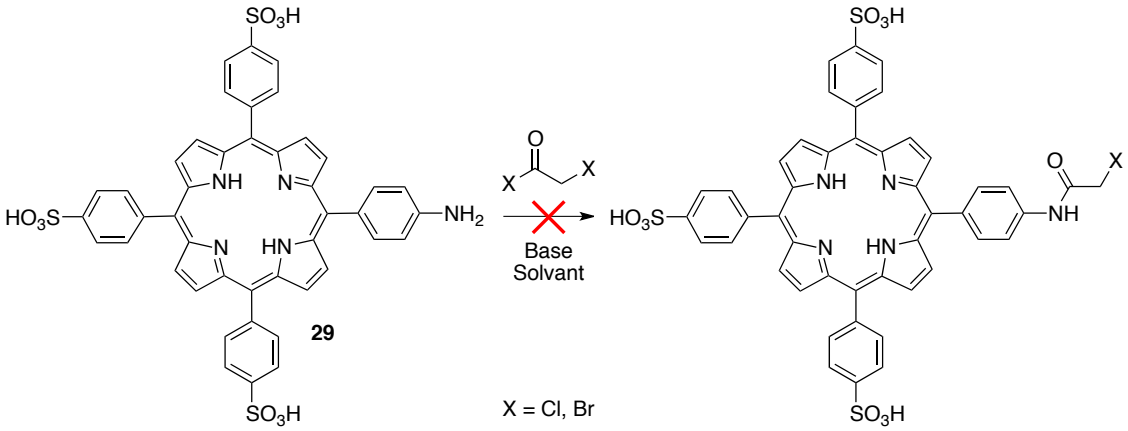


Schéma 43 : Essai d'acylation du composé **29**

Plusieurs conditions ont été testées mais aucune n'ont permis l'acylation du composé **29**.

Nous pensons que la fonction amine du composé **29** n'est pas assez réactive. Afin de l'activer, nous avons réalisé la modification de celle-ci par action du thiophosgène (Schéma 44).

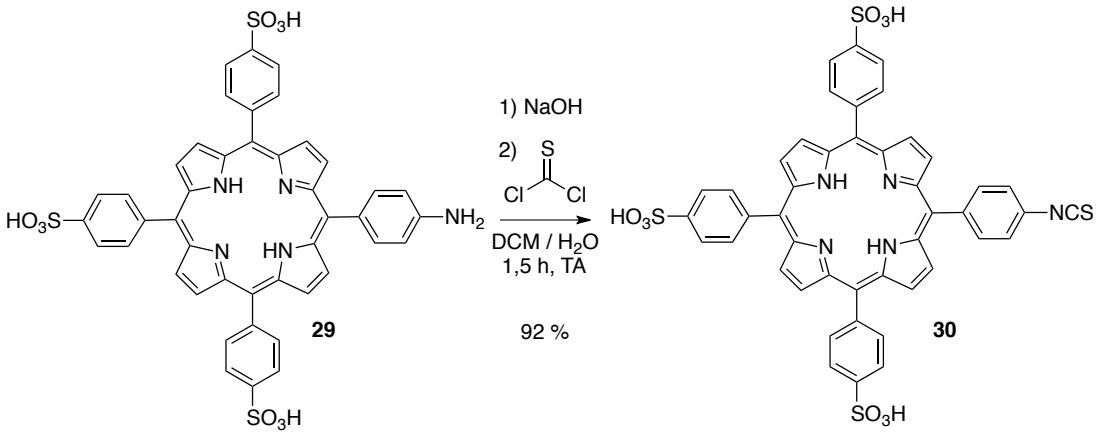


Schéma 44 : Activation de la fonction amine du composé **29**

Cette réaction est similaire à celle utilisée pour le composé **24** (voir Schéma 37). La modification de la fonction amine a été clairement observée par RMN ^{1}H (Figure 87).

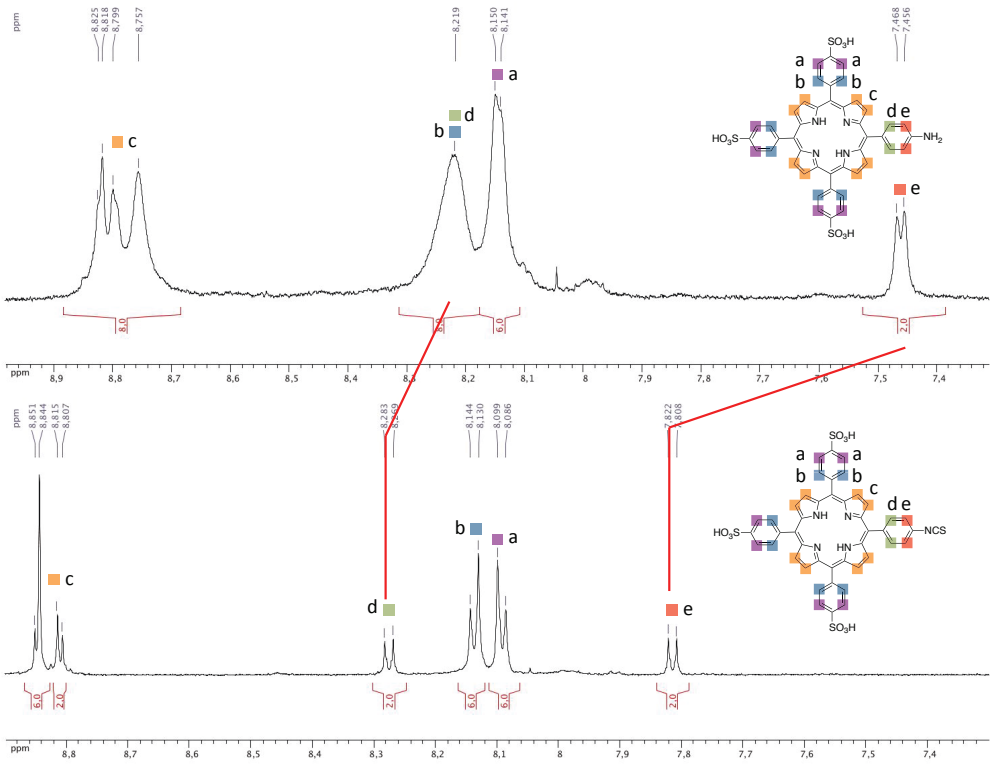


Figure 87 : Zones aromatiques des spectres RMN ^{1}H des composés **29** et **30**

En comparant les deux spectres, on constate un déblindage des protons aromatiques du cycle portant la fonction isothiocyanate. Cette différence de déplacement confirme la modification du groupement amine électrodonneur en groupement isothiocyanate électroatracteur.

Ce produit présente également, sur son spectre de masse MALDI-TOF, un pic à m/z = 912,07 correspondant à l'adduit $[M+H]^+$.

Nous avons ensuite envisager d'ajouter un dérivé du DOTA présentant une fonction amine libre selon la réaction suivante (Schéma 45).

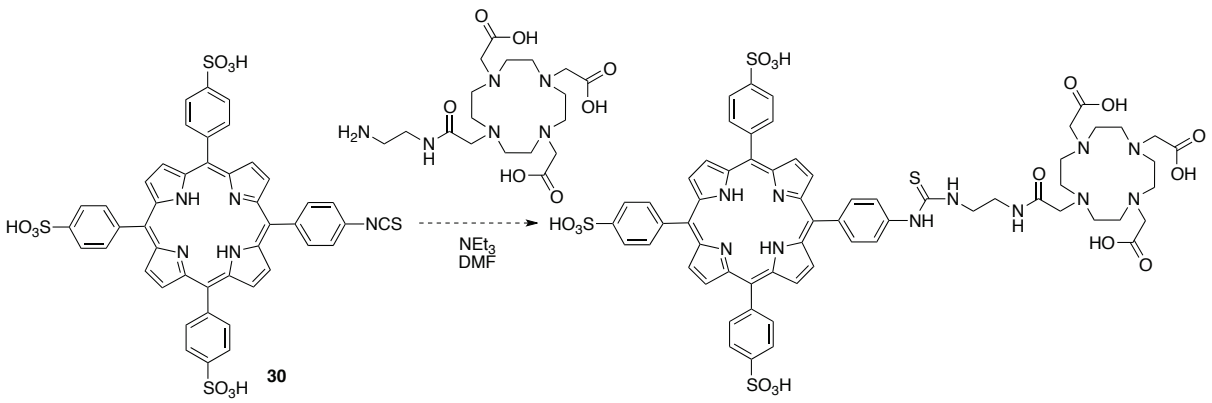
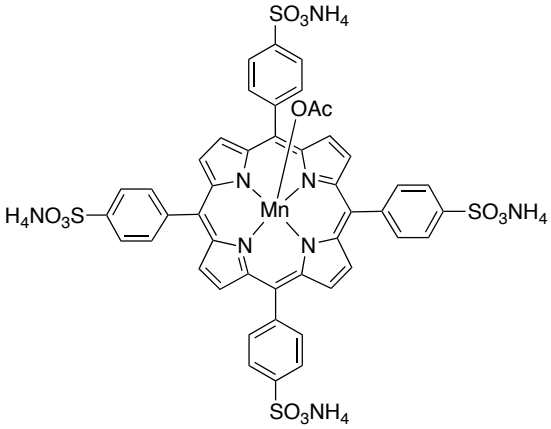


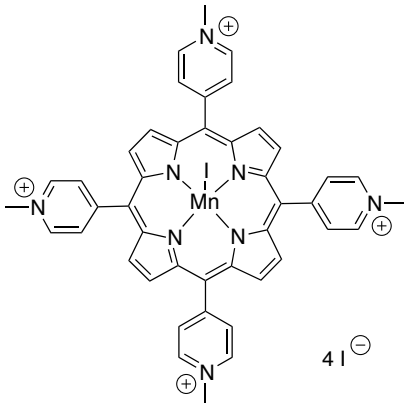
Schéma 45 : Ajout d'un dérivé du DOTA sur la porphyrine hydrosoluble **30**

Nous avons observé le produit par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Sur le spectre, nous observons un pic à m/z = 1424,28 correspondant à un adduit $[M-3H+3K+Na]^+$. Cependant, malgré plusieurs essais de purification, ce produit n'a pu être séparé du produit de départ. En outre, l'augmentation du nombre d'équivalents du dérivé du DOTA ne permet pas de déplacer l'équilibre de la réaction.

Enfin, lors de ma thèse, j'ai eu l'occasion de participer à l'élaboration de porphyrines hydrosolubles métallées avec du manganèse afin de tester leurs propriétés en IRM. Ce travail a été réalisé en collaboration avec le Docteur Yi Chang au sein du laboratoire. Deux produits ont été préparés puis ceux-ci ont été testés en IRM sur petit animal par l'équipe du Docteur Philippe Choquet de l'Université de Strasbourg. Ces molécules sont présentées ci-dessous (Figure 88).



MnTPPS



MnTMPyP4

Figure 88 : Porphyrines hydrosolubles de manganèse synthétisées au laboratoire

Ce type de composés a été synthétisé et décrit au sein du laboratoire pour leur propriétés à former des « radeaux moléculaires » aux interfaces liquide-liquide.[89]

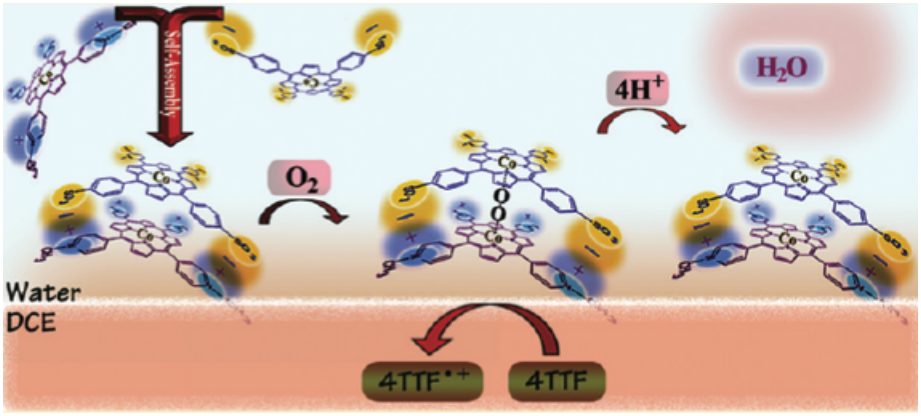


Figure 89 : Radeaux moléculaires formés par auto-assemblage de porphyrines

À l'interface entre l'eau et le dichloroéthane, ce type de composés s'auto-assemble sous forme de « radeaux moléculaires ». Ce phénomène a été montré avec la TPPS et la TMPyP4 de cobalt.

Nous avons envisagé cette approche avec les deux porphyrines de manganèse selon la réaction suivante (Figure 90).

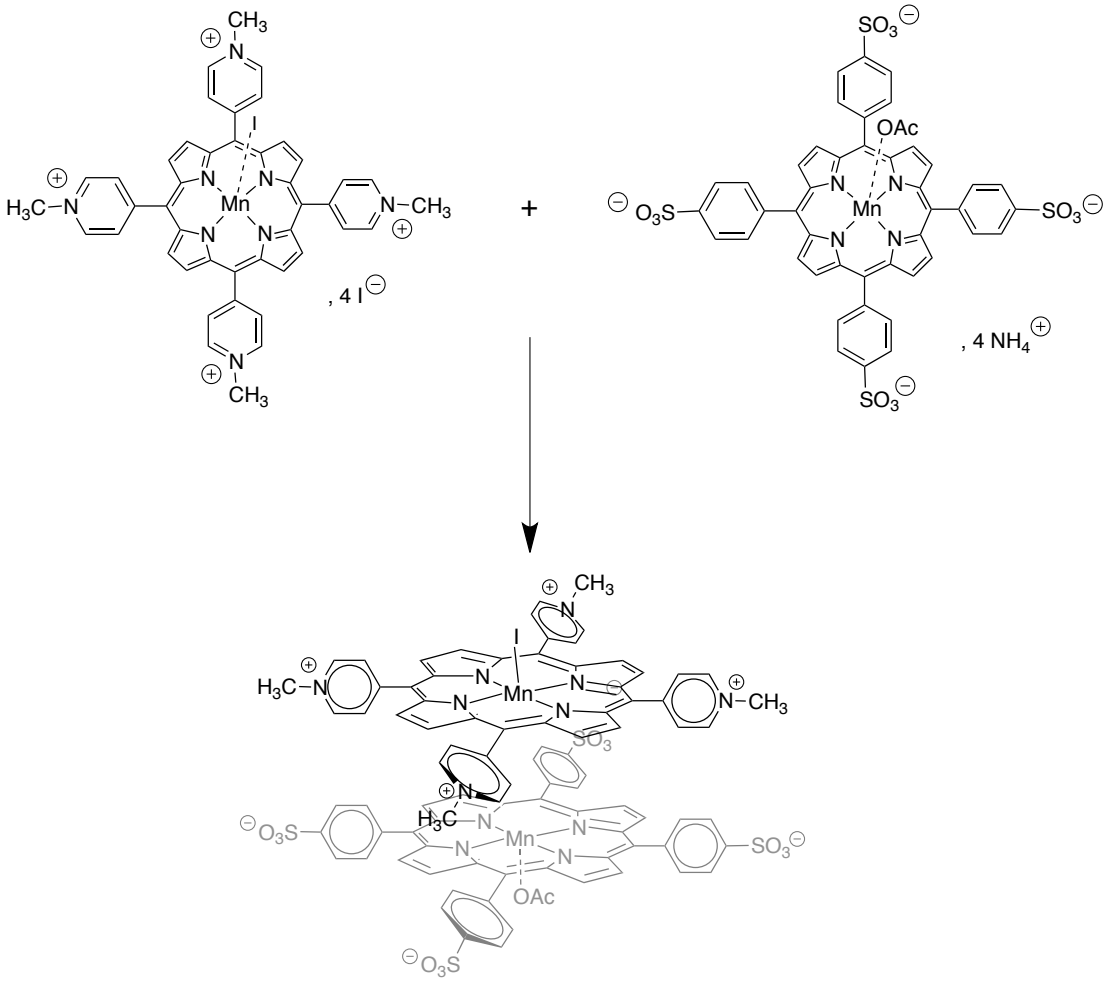


Figure 90 : Auto assemblage de la MnTPPS et la MnTMPyP4

Les relaxivités des deux composés seuls et du mélange équimolaire ont été mesurées (Tableau 9).

Composé	Relaxivité r_1 ($mM^{-1}.s^{-1}$)
MnTPPS	7,41
MnTMPyP4	6,14
MnTPPS + MnTMPYP4	5,00

Tableau 9 : Relaxivité des porphyrines hydrosolubles de manganèse

Ces composés présentent des relaxivités légèrement plus élevées que celle du DOTAREM (r_1 = 3,59 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 20 MHz et 37 °C). Nous observons, pour le mélange équimolaire une légère diminution de la relaxivité. Celle-ci peut être due au phénomène d'empilement qui limite l'accès des molécules d'eau au manganèse

Ces deux produits ont ensuite été testés en IRM sur petit animal. Les résultats sont présentés ci-dessous (Figure 91).

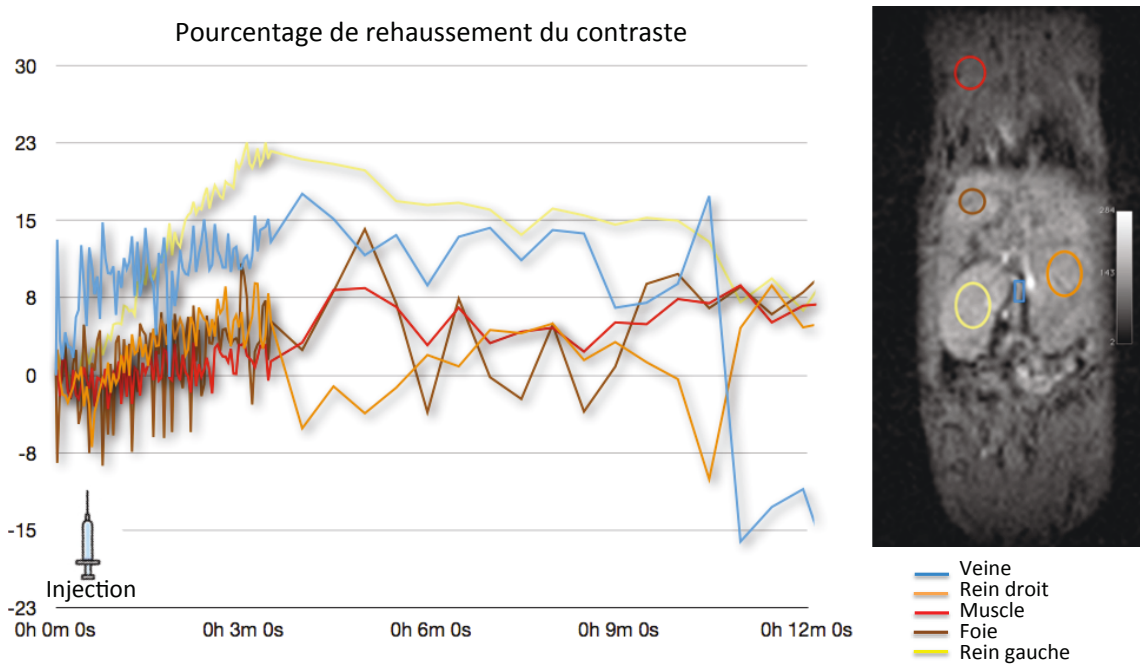


Figure 91 : Rehaussement du contraste après injection de la MnTMPyP4

Nous observons un rehaussement faible dans les muscles, puis un rehaussement plus important dans les voies d'élimination (reins, foie) qui témoigne de l'élimination rapide du composé. Des résultats similaires ont été obtenus avec la MnTPPS seule.

Les deux composés ont ensuite été co-injectés afin d'observer un éventuel effet synergique. Le pourcentage de rehaussement dans les différents organes a pu être comparé entre la MnTPPS seule, la MnTMPyP4 seule et les deux composés ensemble. Le pourcentage de rehaussement dans les muscles est présenté ci-après (Figure 92).

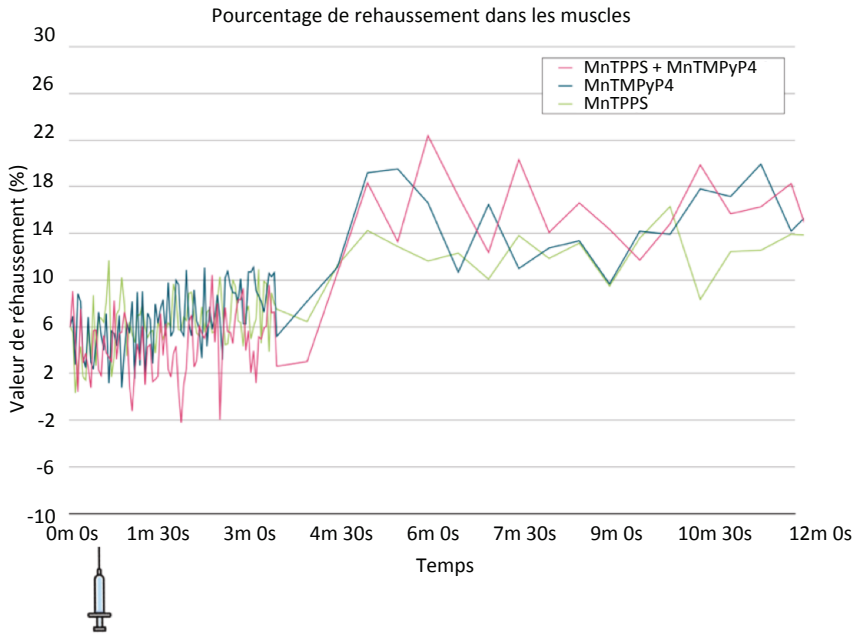


Figure 92 : Pourcentage de réhaussement dans les muscles

On observe un rehaussement du contraste assez similaire dans les trois cas. Cependant, celui-ci est légèrement plus important avec la co-injection.

Le pourcentage de rehaussement dans le rein droit est montré ci-dessous (Figure 92).

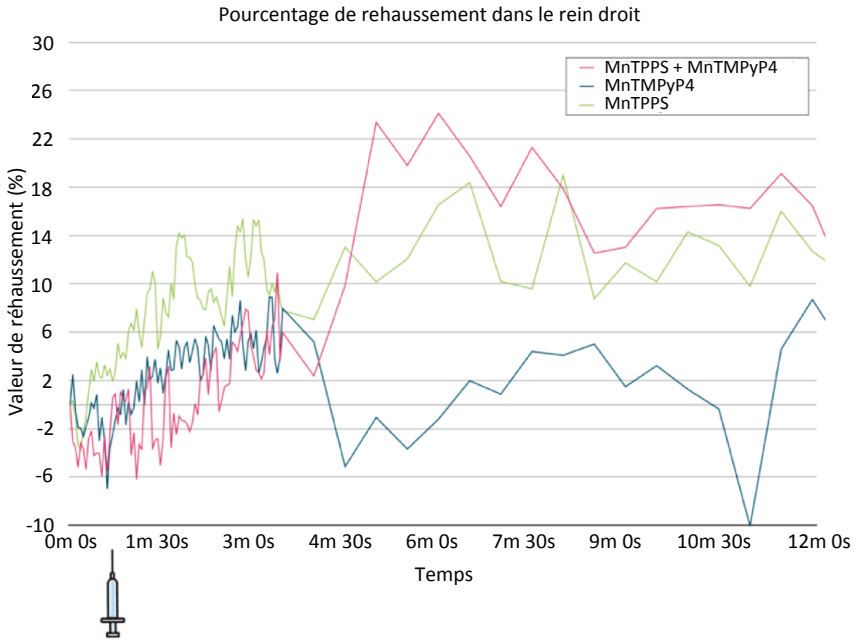


Figure 93 : Pourcentage de réhaussement dans le rein droit

Nous observons également un léger rehaussement lors de la co-injection. Nous ne pouvons pour l'instant pas conclure qu'il y ait un réel effet synergique et une modification du contraste due à l'auto-assemblage des deux composés. Des études complémentaires devront être apportées.

5.2. Utilisation de chimie « click »

Nous avons d'autre part travaillé sur la possibilité d'un assemblage des deux entités porphyrine et DOTA par chimie « click ». Pour cela, nous avons effectué la synthèse d'une porphyrine portant une fonction azide (Figure 94).

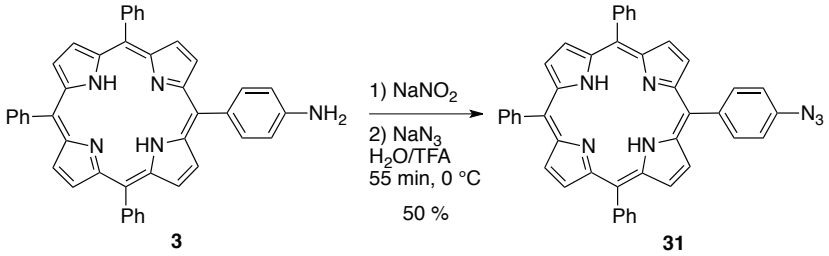


Figure 94 : Synthèse de la porphyrine **31** portant une fonction azide

Ce composé a été caractérisé par plusieurs techniques. Le spectre RMN ^{1}H est présenté ci-dessous (Figure 95).

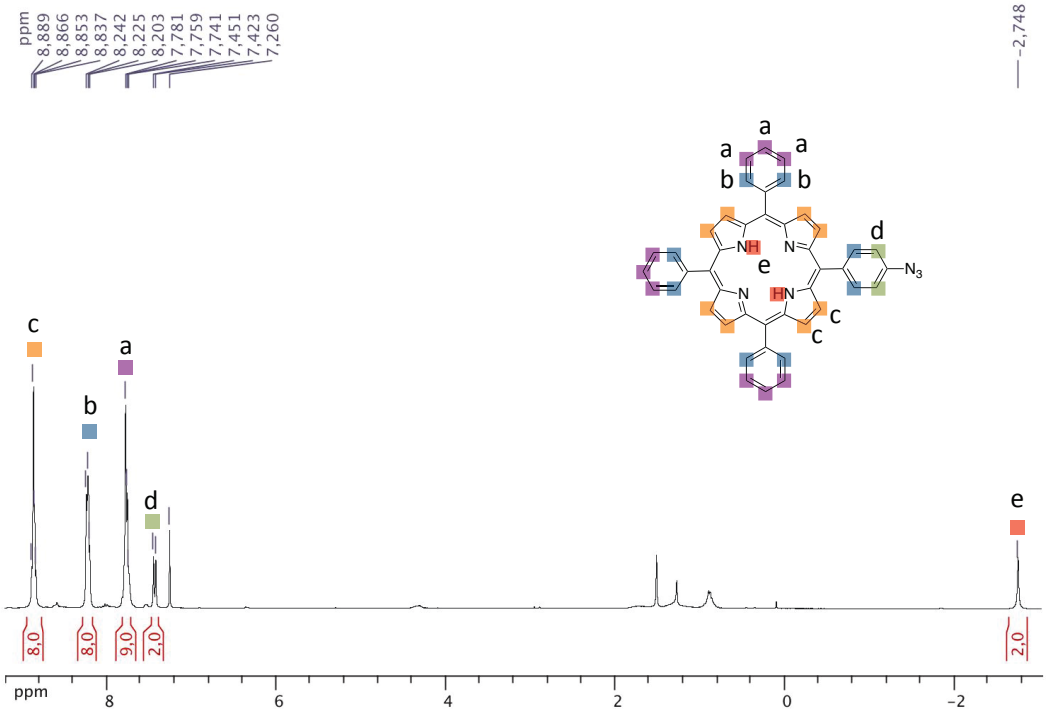


Figure 95 : Spectre RMN ^{1}H du composé **31**

Ce composé a été métallé avec différents métaux de choix pour l'IRM et la TEP.

La porphyrine a tout d'abord été métallée avec du cuivre pour une application en TEP (Figure 96).

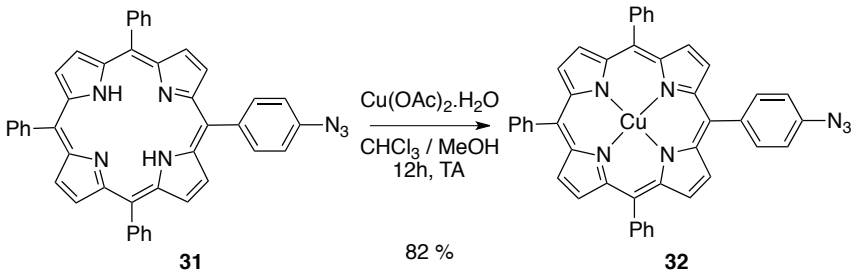


Figure 96 : Métallation de la porphyrine azide avec du cuivre

Cette réaction a été suivie par spectroscopie UV-visible ou l'on observe une diminution des bandes Q (Figure 97).

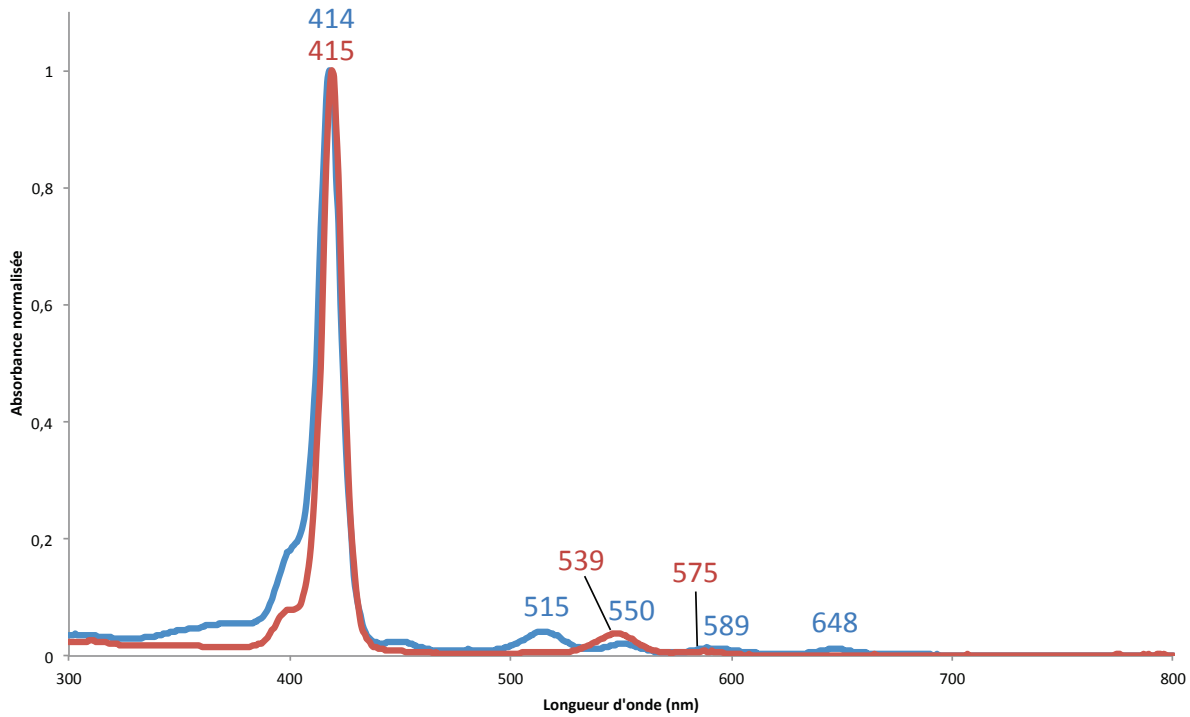


Figure 97 : Spectres UV-visible des composé **31** (bleu) et **32** (rouge)

Le composé **31** a également été métallé avec du manganèse pour une application en IRM (Figure 98).

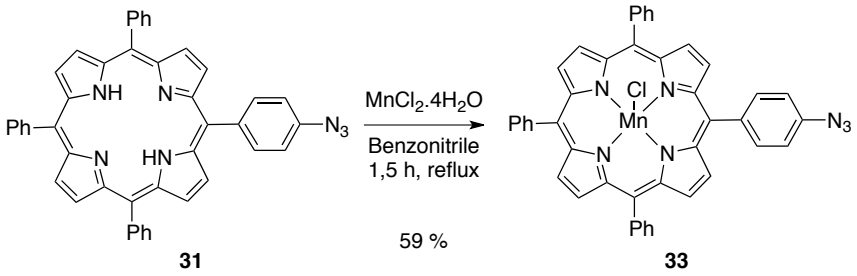


Figure 98 : Métallation de la porphyrine azide avec du manganèse

Un dérivé du DOTA présentant une fonction alcyne a été préparé au sein du laboratoire. Celui-ci est obtenu par déprotection des ester *tert*-butyliques. Nous avons ensuite métallé ce DOTA alcyne avec du gadolinium pour conduire au composé **34** (Schéma 46).

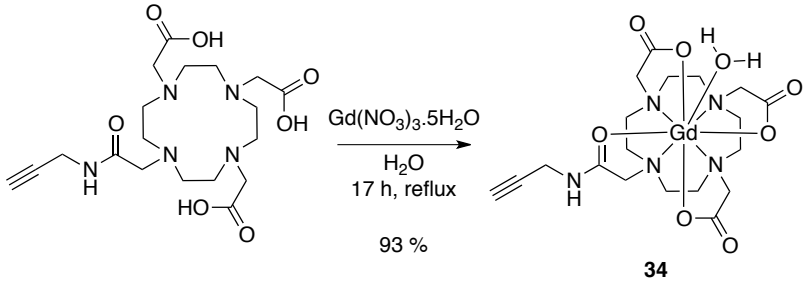


Schéma 46 : Métallation du propargyl-DOTA avec du gadolinium (III)

Le propargyl-DOTA a ensuite été métallé avec du gallium (Schéma 47).

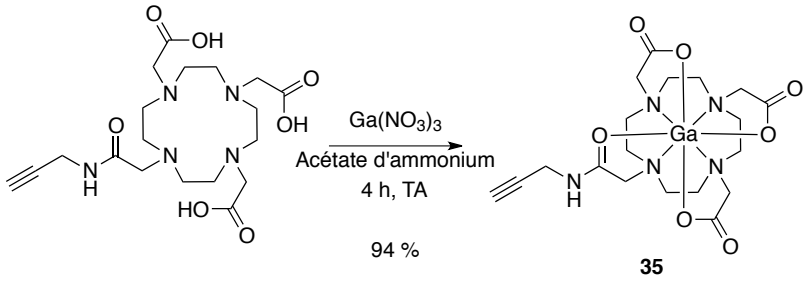


Schéma 47 : Métallation du propargyl-DOTA avec du gallium (III)

Le composé **36** est obtenu avec 94 % de rendement.

Nous avons ensuite assemblé ces porphyrines avec les dérivés du DOTA métallés selon la réaction suivante (Schéma 48).

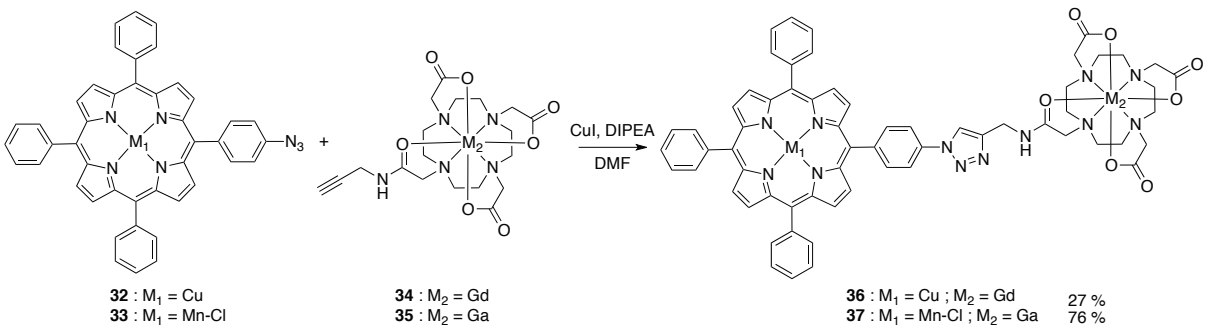
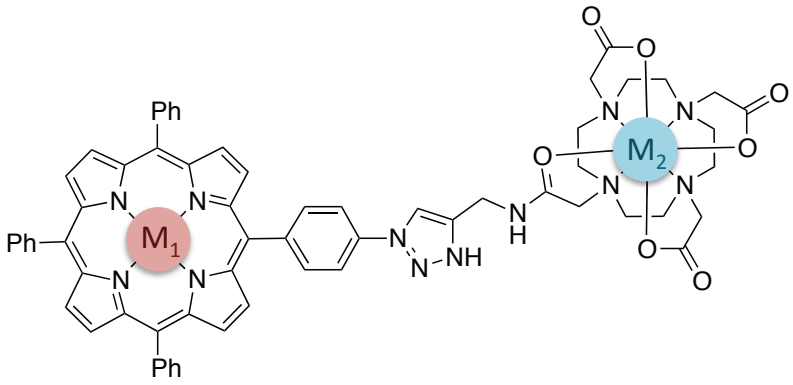


Schéma 48 : Assemblage des deux fragments par chimie « click »

Nous obtenons les complexes bimétalliques présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 10).



36	Cu (TEP)	Gd (IRM)
37	Mn (IRM)	Ga (TEP)

Tableau 10 : Différents assemblages hétérobimétalliques par chimie « click »

Enfin, pour que la vitesse d'assemblage soit compatible avec le temps de demi-vie des métaux radioactifs, la réaction de chimie click a été optimisée sous irradiations microondes. Ainsi, nous avons pu obtenir les composés **36** et **37** en moins de 30 minutes avec des rendements de 27 et 76 % respectivement.

CHAPITRE II :

SYNTHESE ET CARACTERISATION DE COMPOSES POUR L'IMAGERIE OPTIQUE NON-LINEAIRE

Chapitre II :
Synthèse et caractérisation de composés pour l'imagerie optique non-linéaire

Ce chapitre sera divisé en deux parties. La première portera sur la synthèse et la caractérisation de porphyrines amphiphiles et zwittérioniques en vue d'une utilisation en imagerie par Génération de Second Harmonique (GSH). Dans la seconde partie, nous présenterons la synthèse d'un DPP relié à un dérivé du DOTA afin de pouvoir insérer du gadolinium. Ainsi, ce composé sera potentiellement utilisable en IRM et en imagerie optique par absorption biphotonique.

Partie 1 : Synthèse de porphyrines amphiphiles et zwitterioniques

1. Contexte

La première utilisation de la GSH appliquée à l'imagerie médicale date de 1986.[13] En effet, l'équipe de Sprecher a montré qu'il était possible d'obtenir des images des tendons d'une queue de rat par SHIM (pour « Second Harmonic Imaging Microscopy »).

1.1. Choix de l'harmonophore

Gr ce aux connaissances du laboratoire, nous avons décidé d'utiliser des porphyrines comme harmonophores. Celles-ci devront présenter deux caractéristiques pour être utilisables en imagerie par GSH. D'une part, ces composés doivent être amphiphiles afin d'être incorporés principalement dans les membranes cellulaires. Pour cela, il est nécessaire d'ajouter des chaînes aliphatiques lipophiles et une partie ionique hydrophile. D'autre part, pour qu'elles soient actives en GSH, elles doivent être composées d'une partie donneuse et une partie acceptrice afin d'être de type « push-pull ». Nous avons donc choisi d'utiliser un pyridinium zwittérionique comme partie acceptrice et hydrophile et deux types de donneurs : une pyridine ou un 4-dodécoxyphényle. La partie lipophile sera quant à elle composée de chaînes dodécoxy.

1.2. Exemple de la littérature

Plusieurs exemples de porphyrines pour la GSH ont déjà été décrits dans la littérature (Tableau 4).[42-43] Tous ces composés ont été étudiés et présentent des caractéristiques très intéressantes pour la GSH. Par exemple, l'équipe du Professeur Anderson a décrit la porphyrine suivante (Figure 99).[43]

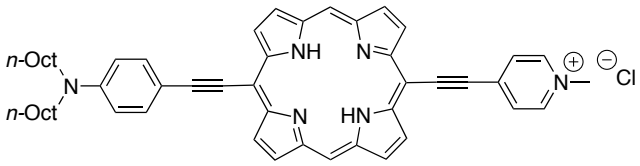


Figure 99 : Porphyrine décrite par l'équipe d'Anderson

Celle-ci présente une valeur d'hyperpolarisabilité de 2300.10^{-30} esu. Cette valeur est à comparer avec les sondes FM connues pour leurs capacités en GSH. Celles-ci présentent des valeurs d'hyperpolarisabilité de l'ordre de 1000.10^{-30} esu.

Le projet présenté diffère de ces exemples par le caractère zwitterionique des porphyrines. En effet, les composés décrits dans ce paragraphe sont globalement neutres mais localement chargés dans la partie hydrophile. Nous espérons ainsi apporter de meilleurs résultats en ce qui concerne la localisation dans les membranes cellulaires.

2. Synthèse et caractérisation des porphyrines

La voie de synthèse est basée sur des travaux précédemment réalisés au laboratoire concernant la synthèse de porphyrines amphiphiles.[90] Celles-ci étaient l'un des premiers exemples de porphyrines liquides ioniques à température ambiante. Ces porphyrines présentent de longues chaînes aliphatiques et différents pyridiniums. Un exemple de porphyrine liquide ionique est présenté ci-après (Figure 100).

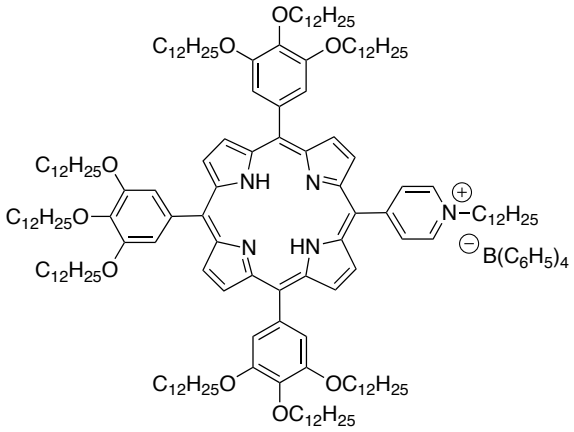


Figure 100 : Porphyrine liquide ionique précédemment synthétisée au laboratoire

2.1. Synthèse de porphyrines à chaînes aliphatiques

Afin de préparer ces porphyrines nous avons utilisé une condensation [2+2] de type MacDonald.[91] Pour cela, nous avons réalisé la synthèse de plusieurs précurseurs.

Un premier dérivé de benzaldéhyde **38** a d'abord été synthétisé. Celui-ci présente une chaîne dodécoxy en position *para* de l'aldéhyde (Schéma 49).

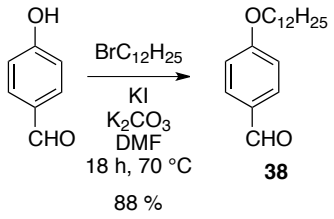


Schéma 49 : Synthèse d'un précurseur benzaldéhyde portant une chaîne dodécoxy

Ce composé est formé par substitution nucléophile du brome par le phénol en milieu basique. L'iodure de potassium permet une première substitution du brome par de l'iode plus nucléofuge.

Le second benzaldéhyde **39** est synthétisé selon la même voie mais le produit de départ présente trois fonctions hydroxy. On forme ainsi un composé plus lipophile que le précédent.

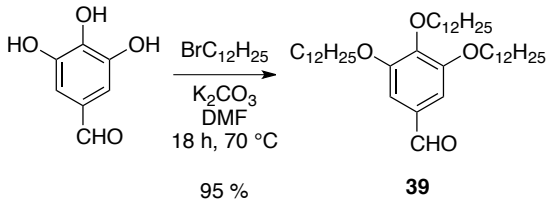


Schéma 50 : Synthèse du précuseur benzaldéhyde portant trois chaînes dodécoxy

Le dernier précurseur est un dipyrrométhane portant une fonction pyridine en *meso* (Schéma 51).

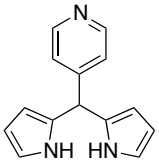


Schéma 51 : Structure du pyridyl dipyrrométhane

Ce composé a été synthétisé précédemment au laboratoire.[92]

Ces différents précurseurs permettent la synthèse de quatre porphyrines. Les deux premières sont obtenues au cours de la même réaction (Schéma 52).

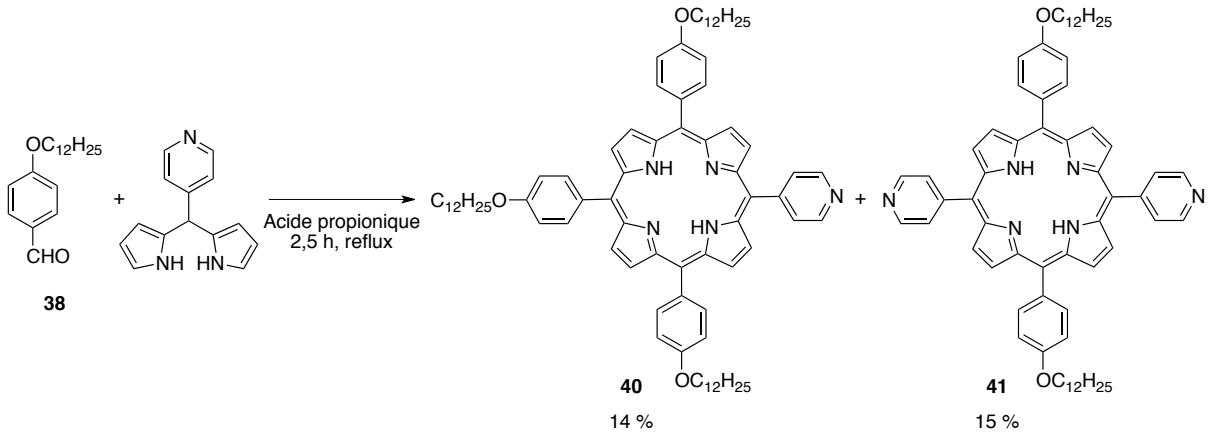


Schéma 52 : Synthèse de deux porphyrines présentant des groupements pyridyl et dodécoxyphényl

La condensation d'un équivalent de dérivé de benzaldéhyde portant une chaîne dodécoxy **38** sur un équivalent de dipyrrométhane permet la formation du composé **41**

avec un rendement de 15% et du composé **40** avec un rendement de 14 %. La formation de cette dernière porphyrine est due au phénomène de « scrambling » régulièrement observé lors de la formation de cycles porphyriniques. Ce phénomène correspond à un désassemblage puis un réassemblage des différentes unités lors de la réaction. Ces deux produits ont pu être séparés et purifiés par colonne chromatographique.

Deux autres porphyrines ont ensuite été synthétisées selon la méthode précédente afin d'étudier l'influence du nombre de chaînes dodécoxy en imagerie par GSH (Schéma 53).

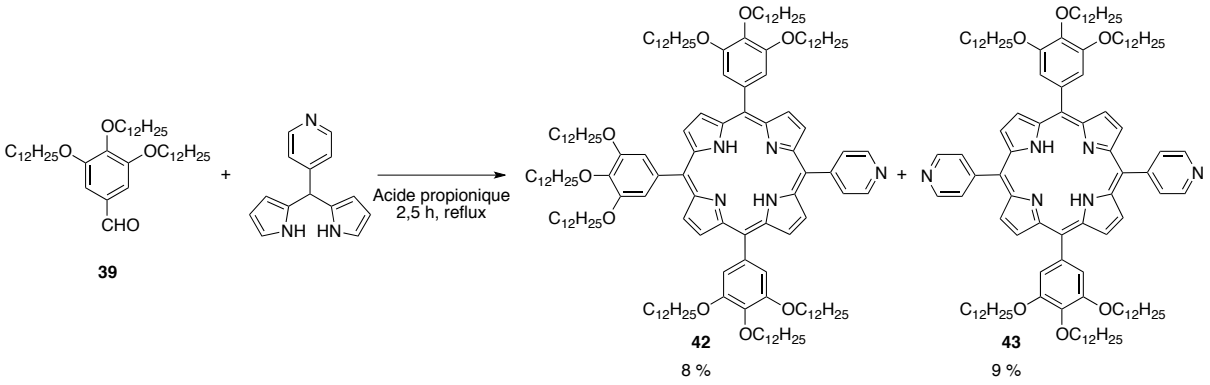


Schéma 53 : Synthèse de la porphyrine portant six ou neuf chaînes dodécoxy

Seul le composé **43** a été utilisé pour la suite de la synthèse.

2.2. Synthèse des porphyrines zwitterioniques

Les trois composés porphyriniques ont été fonctionnalisés au niveau des groupements pyridyl afin d'être zwitterioniques et amphiphiles. Pour cela, nous avons fait réagir un dérivé commercial : la 4-butane sultone.

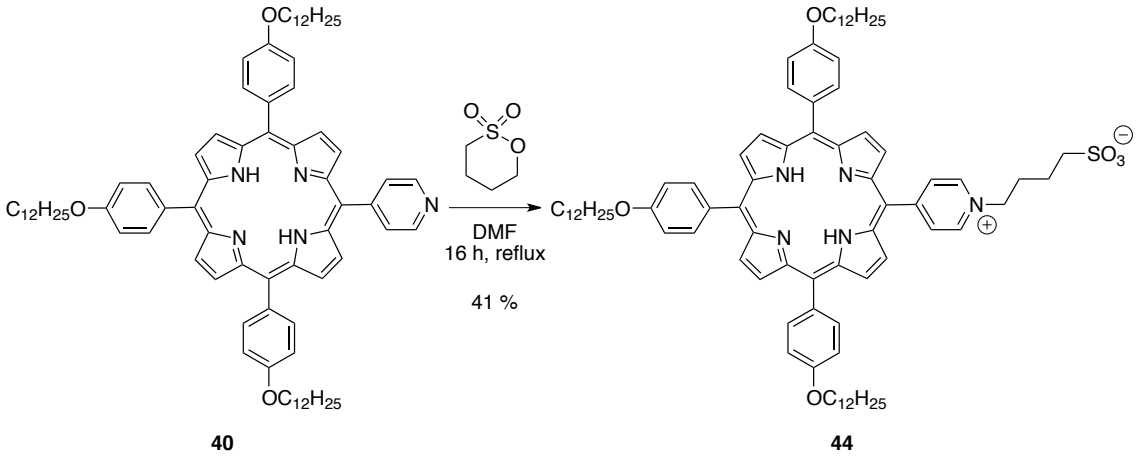


Schéma 54 : Synthèse de la première porphyrine zwitterionique

La condensation de la 4-butane sultone sur le composé **40** permet la fonctionnalisation du groupement pyridyl par ouverture du cycle suite à une attaque nucléophile. On obtient ainsi un composé présentant un groupement pyridinium portant une chaîne butane sulfonate. Ce composé est donc globalement neutre et localement chargé.

La même méthode a été utilisée pour préparer le composé **45** (Schéma 55).

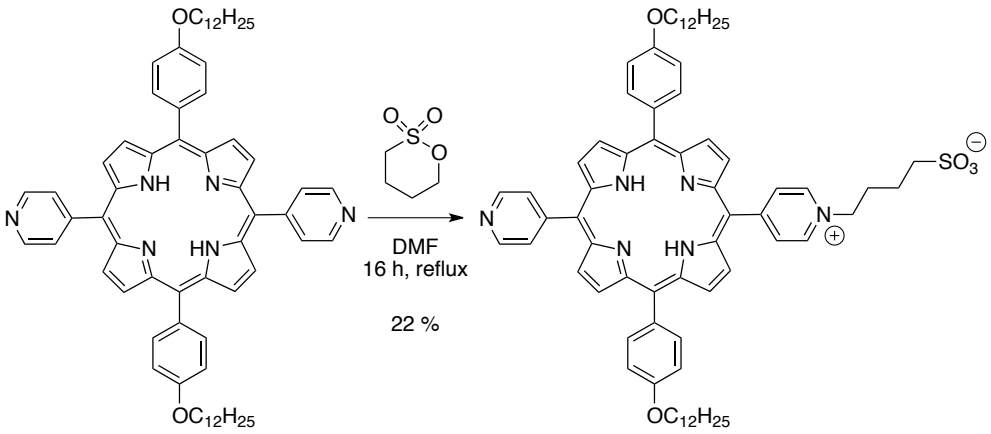


Schéma 55 : Synthèse de la deuxième porphyrine zwitterionique

Dans ce cas, deux groupements pyridyl sont disponibles. Cependant, seule la formation du composé mono-substitué **45** a été observée. En effet, malgré les conditions relativement fortes de la réaction (DMF à reflux pendant seize heures), le produit de bis-substitution n'est pas visible par les différentes techniques d'analyse. Nous avons également laissé la réaction à reflux sur des temps plus longs mais nous n'avons jamais observé la formation de ce produit.

Enfin, la condensation a également été réalisée sur la porphyrine portant les six chaînes dodécoxy **43** (Schéma 56).

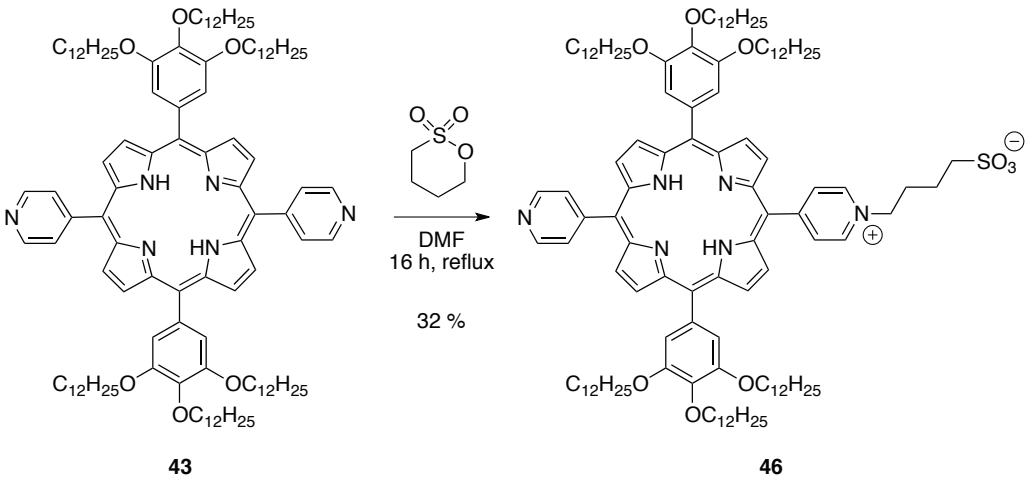


Schéma 56 : Synthèse de la troisième porphyrine zwitterionique

Comme précédemment, nous n'avons observé que la formation du composé mono-substitué **46**. Celui-ci a été obtenu avec un rendement de 32 %.

Tous ces composés ont été purifiés par colonne chromatographique et caractérisés par différentes techniques.

3. Caractérisation des composés

Ces produits sont observés par spectrométrie de masse MALDI-TOF basse et haute résolution. Ci-dessous sont présentés les spectres pour le composé **44** (Figure 101).

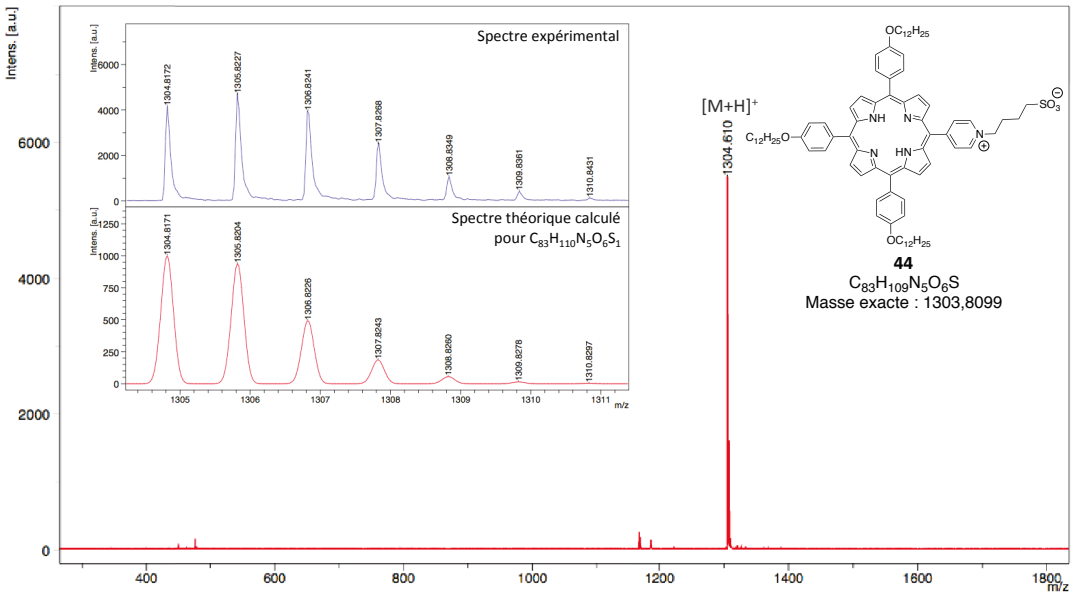


Figure 101 : Spectres MALDI-TOF basse et haute résolution du composé **44**

Les spectres montrent un adduit avec un proton. Le spectre de masse haute résolution théorique a donc été calculé pour $[M+H]^+$. On constate que celui-ci est très proche du spectre expérimental, ce qui prouve la formule brute exacte de notre composé. Des spectres similaires ont été observés pour les deux autres produits.

Nous avons ensuite enregistré les spectres RMN ^1H de ces composés. Le spectre du composé **44** est présenté ci-dessous (Figure 102).

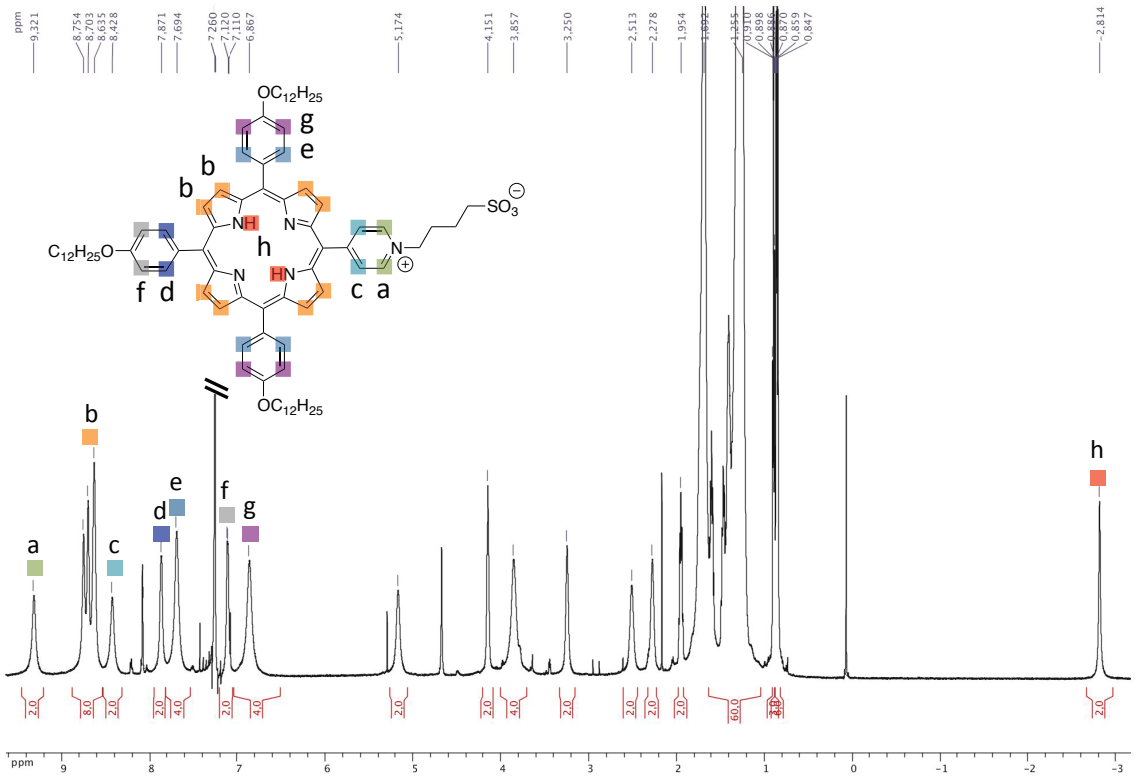


Figure 102 : Spectre RMN ^1H du composé **44** ($CDCl_3$)

Nous observons, dans la zone aromatique, les signaux caractéristiques des protons porphyriniques.

Dans la zone aliphatique (Figure 103), nous observons les signaux des trois chaînes dodécoxy. De plus, nous observons plusieurs signaux intégrant pour 2 H et correspondant aux protons de la chaîne aliphatique de la partie zwittérionique.

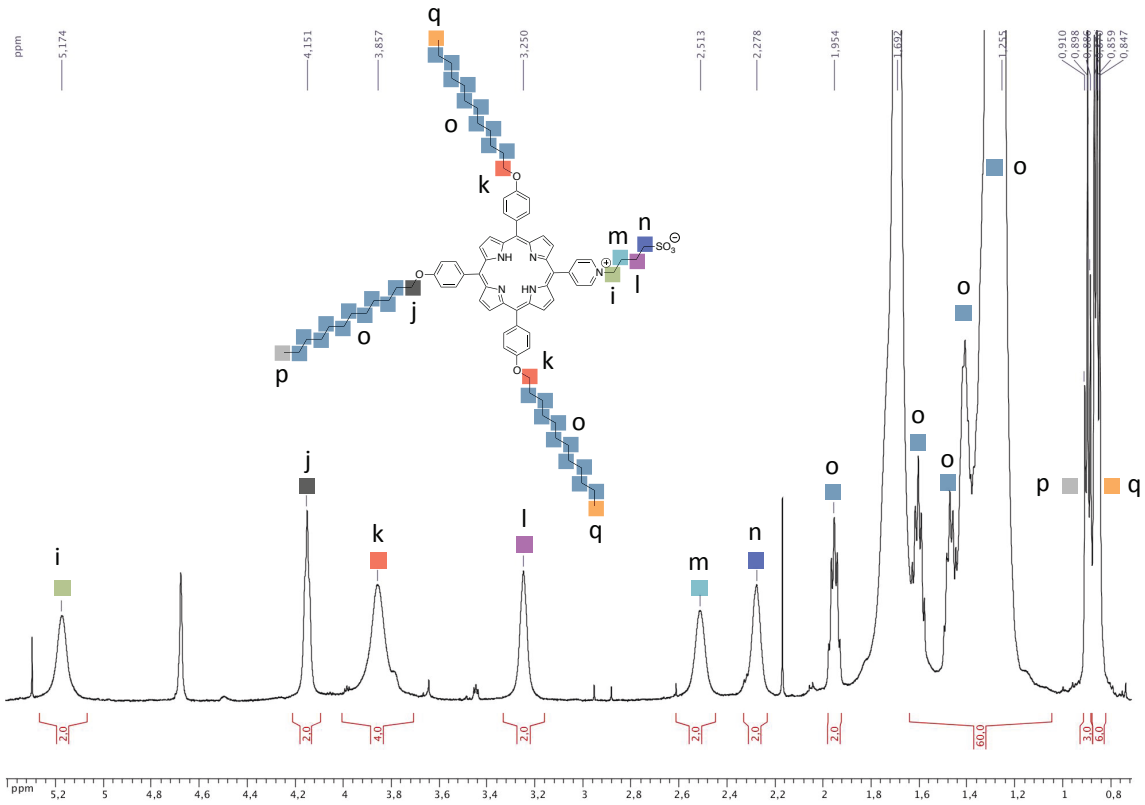


Figure 103 : Agrandissement de la partie aliphatique du spectre RMN ^{1}H du composé **44** ($CDCl_3$)

Nous avons également enregistré les spectres IR de ces composés afin d'observer les liaisons S=O. Ci-dessous est présenté le spectre IR du composé **44** (Figure 104).

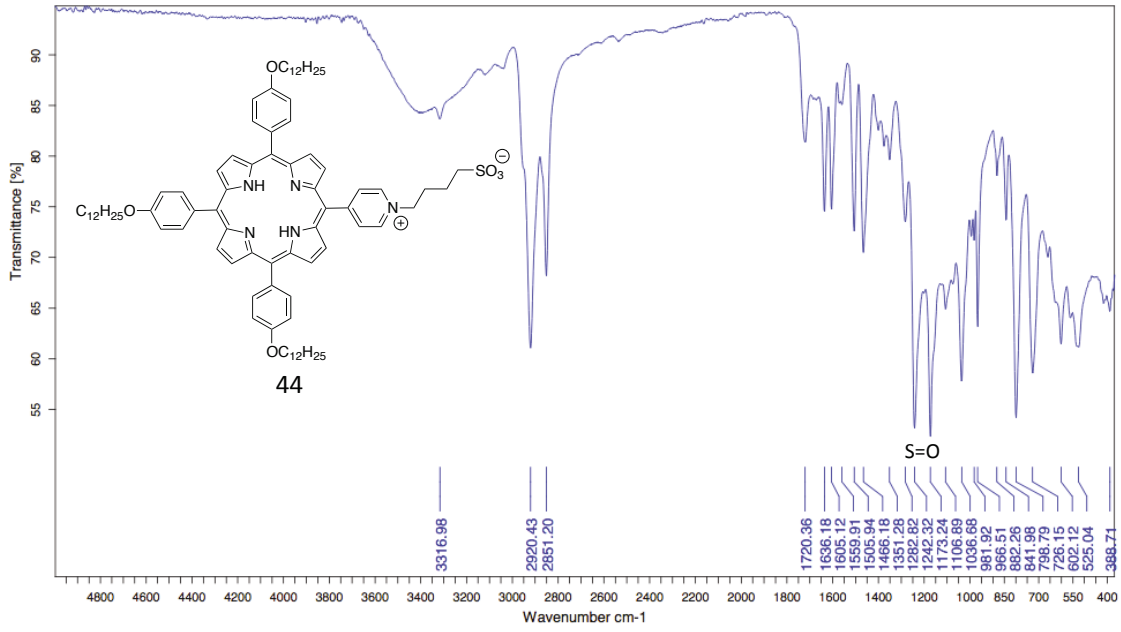


Figure 104 : Spectre IR du composé **44**

En comparant avec le spectre du produit de départ, on constate l'apparition de nouvelles bandes. Celles-ci, très intenses et fines à 1173 et 1242 cm^{-1}, correspondent à des bandes d'élongation S=O de sulfonates. Des spectres similaires ont également été observés pour les deux autres composés.

Les points de fusion des composés ont également été mesurés. Ceux-ci sont reportés dans le tableau ci-dessous (Tableau 11).

Composé	Point de fusion (°C)
44	191,8-194,2
45	221,5-223,5
46	223,5-225,3

Tableau 11 : Point de fusion des composés **44-46**

Nous constatons que ces points de fusion sont relativement élevés si on les compare aux liquides ioniques lorsque les pyridines sont fonctionnalisées par des chaînes alkyles. Nos composés ont des propriétés bien différentes car ils sont solides jusqu'à des températures élevées.

Les spectres UV-visible de ces composés ont été réalisés. Ci-dessous sont présentés les spectres UV-visible des trois composés **44**-**46** (Figure 105).

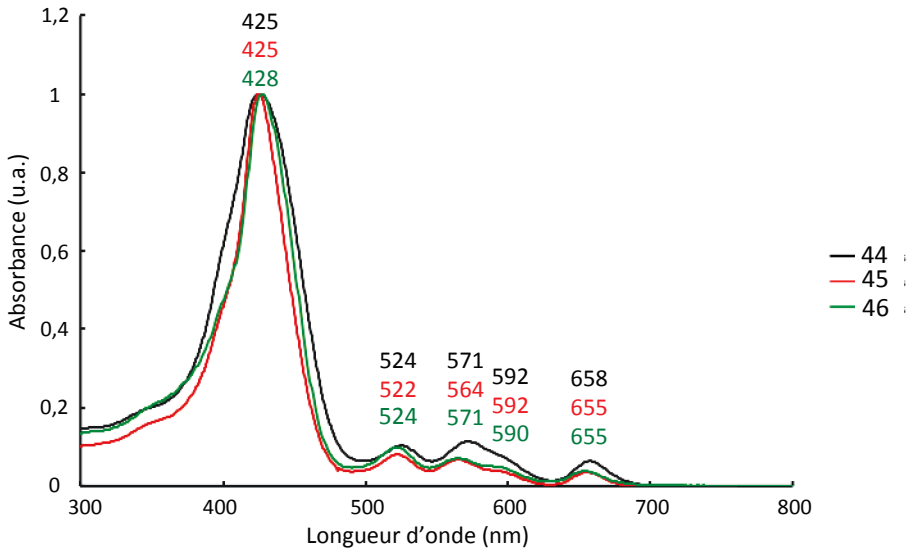


Figure 105 : Spectres UV-visible des composés **44-46**

Sur ces spectres, on constate que les trois composés sont très similaires. Les bandes d'absorption sont classiques pour des porphyrines bases libres. De plus, les

coefficients d'absorption molaires sont cohérents par rapport à ceux régulièrement observés pour les porphyrines.

Afin de pourvoir comparer les images obtenues par GSH et microscopie confocale, nous avons, en collaboration avec l'équipe du Docteur Frédéric Bolze, étudié l'émission de fluorescence de ces trois composés. Les spectres d'émission sont présentés ci-dessous (Figure 106).

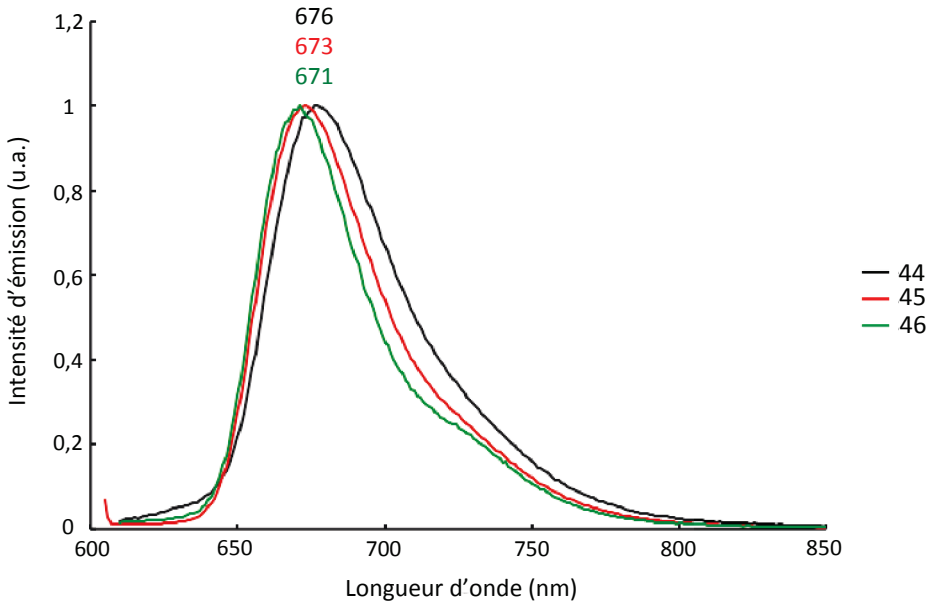


Figure 106 : Spectres d'émission des composés **44-46**

Bien que ces composés n'aient pas été élaborés pour des études d'absorption à deux photons, nous avons mesuré les sections efficaces d'absorption à deux photons afin de vérifier s'il était possible d'obtenir des images sur cellules par microscopie biphotonique pour pouvoir les comparer à celle obtenues par GSH. Ci-dessous sont présentés les spectres d'absorption à deux photons (Figure 107).

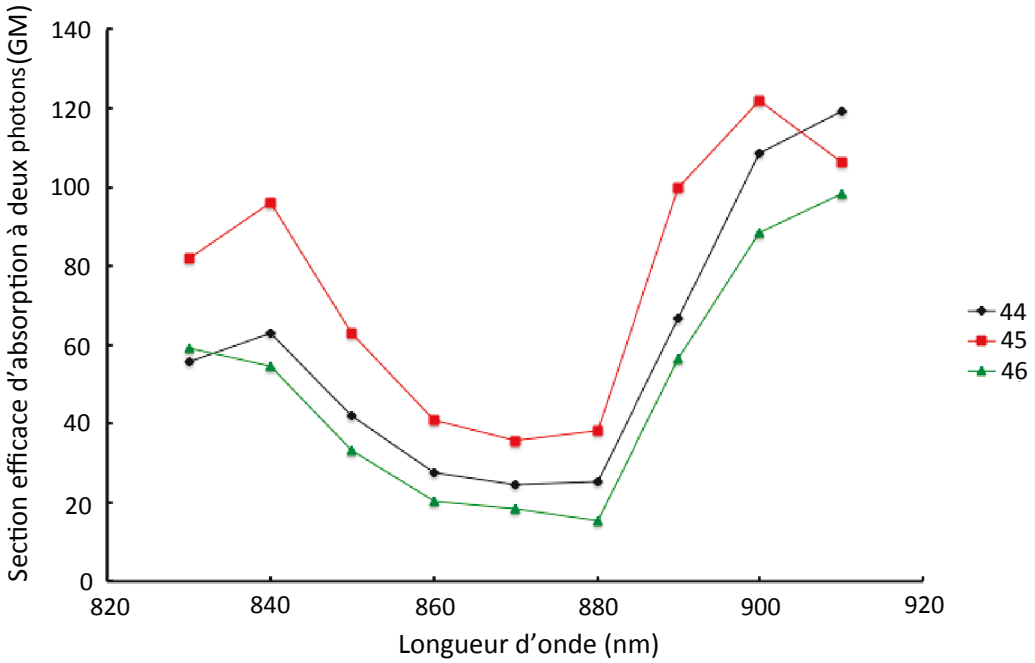


Figure 107 : Spectres d'absorption à deux photons des composés **44-46**

Sur ces spectres on constate que l'absorption à deux photons des trois composés est inférieure à 150 GM à environ 900 nm. Cette valeur est relativement faible si on la compare aux composés synthétisés pour la fluorescence par absorption à deux photons. Cependant, il est possible de réaliser des images à deux photons afin de les comparer à celles obtenues par GSH.

Nous avons résumé dans le tableau ci-dessous les propriétés photophysiques des trois composés **44-46** (Tableau 12).

Composé	Absorption		Émission		Absorption à deux photons	
	λ_{max} (nm)	ε ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)	λ_{em} (nm)	Φ (%)	λ_{max} (nm)	σ (GM)
44	425	124000	676	5	840	63
	524	9600				
	571	1050			900	115
	592	760				
	658	5700				
45	425	115000	673	5	840	95
	522	8900				
	564	7400			909	120
	592	4400				
	655	4100				
46	428	116000	671	6	835	59
	524	11900				
	571	6000			909	97
	590	4300				
	655	4600				

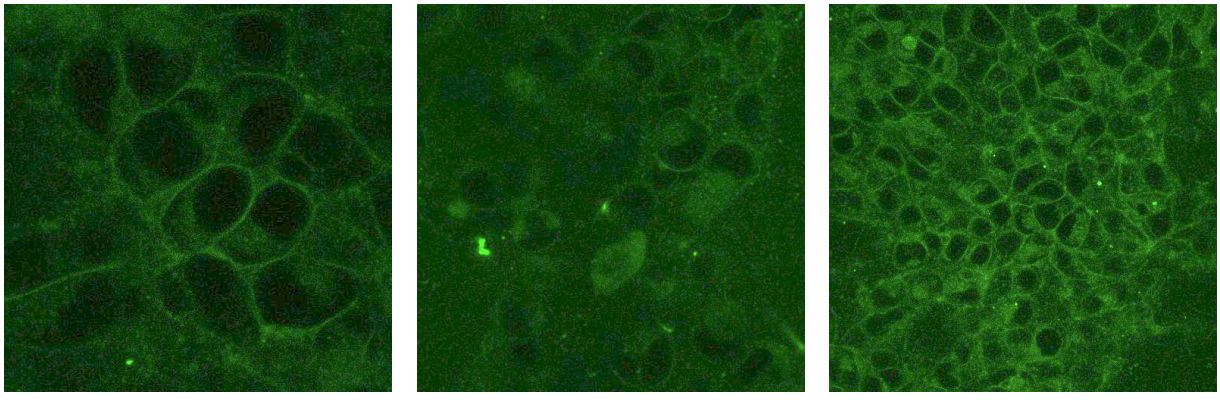
Tableau 12 : Résumé des caractéristiques photophysiques des composé **44**, **45** et **46**

Enfin, ces composés ont également été testés en GSH. Nous avons mesuré l'hyperpolarisabilité ces trois composés par la technique HRS (pour Hyper-Rayleigh Scattering). Le cristal violet a été utilisé comme référence. Ceux-ci présentent un β_{HRS} de 160 ± 20.10^{-30} esu à 800 nm. Ces valeurs sont inférieures à celles obtenues par l'équipe d'Anderson. Ceci s'explique probablement par la diminution de l'effet « push-pull » si l'on compare nos composés aux leurs. En effet, l'ajout d'une triple liaison entre le cycle porphyrinique et le cycle benzénique permet d'obtenir un système entièrement conjugué. Cependant, les valeurs d'hyperpolarisabilité sont suffisantes pour effectuer des études biologiques.

4. Images sur cellules

4.1. Microscopie confocale

Nous avons d'abord obtenu des images par fluorescence par absorption à un photon avec un microscope confocal. Ces études ont été menées sur des cellules HEK (pour Human Embryonic Kidney) à 1 µM dans l'eau avec 2 % de DMSO. Ci-dessous sont présentées les images obtenues pour les trois composés (Figure 108).



44 **45** **46**

Figure 108 : Images obtenues par microscopie confocale sur des cellules HEK

On constate que nos composés permettent bien de réaliser des images *in-cellulo*. De plus, on constate que les composés **44** et **46** se situent bien en majorité dans les membranes cellulaires comme nous le souhaitions. Ceci prouve le caractère amphiphile de ces derniers. Cependant, le composé **45** a montré une solubilité trop faible dans le milieu de culture et des microcristaux ont été observés par microscopie (Figure 109).

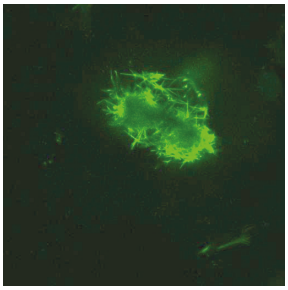


Figure 109 : Microcristal observé par microscopie confocale pour le composé **45**

Les résultats obtenus pour les composés **44** et **46** ont néanmoins permis d'être confiant pour la réalisation de mesures en GSH *in-cellulo*.

Enfin tous les composés sont actuellement étudiés en électrochimie par l'équipe du Professeur Karl M. Kadish à l'Université de Houston (Etats-Unis). Celles-ci nous permettrons de vérifier sur la stabilité nos composés et nous fournirons des renseignements sur les mécanismes d'oxydo-réduction.

Les premiers résultats sont présentés ci-dessous (Figure 110).

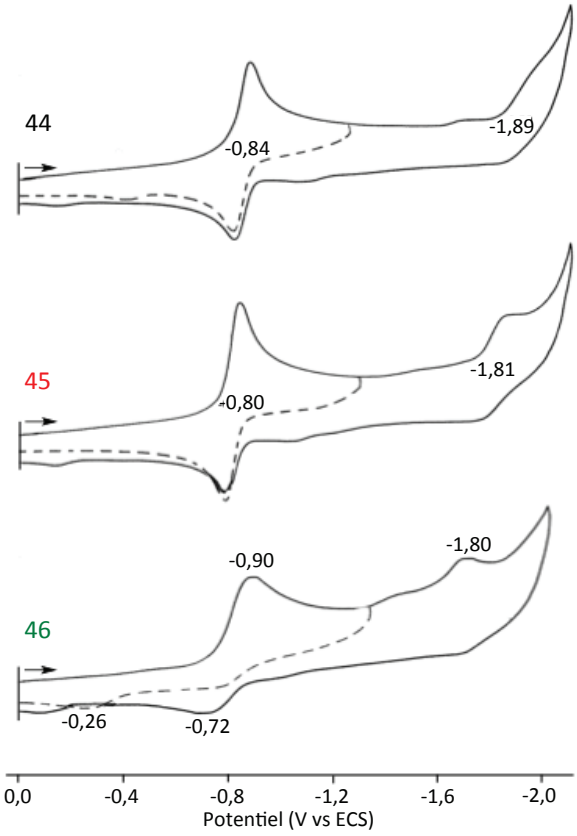


Figure 110 : Voltamogramme cyclique des composés **44**, **45** et **46** dans le DCM contenant 0,1 M de TBAP, vitesse de balayage : 100 $mV.s^{-1}$

Sur ces voltamogrammes, on remarque que les trois composés présentent un profil similaire. On constate une première vague entre -0,80 et -0,90 V correspondant à la réduction du cycle porphyrinique. Puis, entre -1,80 et -1,89 V, une seconde vague correspondant à la réduction du groupement pyridinium.

Ces voltamogrammes cycliques ont été enregistrés dans trois solvants différents (DCM, pyridine et DMF). Les caractéristiques électrochimiques mesurées dans les trois solvants sont reportées ci-dessous (Tableau 13).

		Réduction (V vs ECS)	
Solvant	Composé	Cycle porphyrinique	Pyridinium
DCM	**44**	-0,84	-1,89
	45	-0,80	-1,81
	46	-0,90	-1,80
Pyridine	**44**	-0,83	-1,76
	45	-0,77	-1,70
	46	-0,84	-1,56
DMF	**44**	-0,82	-1,79
	45	-0,81	-1,76

Tableau 13 : Récapitulatif des potentiels de réduction des composés **44**, **45** et **46** dans trois solvants : DCM, pyridine et DMF

Nous constatons que les potentiels de réduction varient relativement peu en fonction du solvant.

Un suivi spectroélectrochimique UV-visible du composé **44** a également été effectué dans le DMF et dans le DCM (Figure 111).

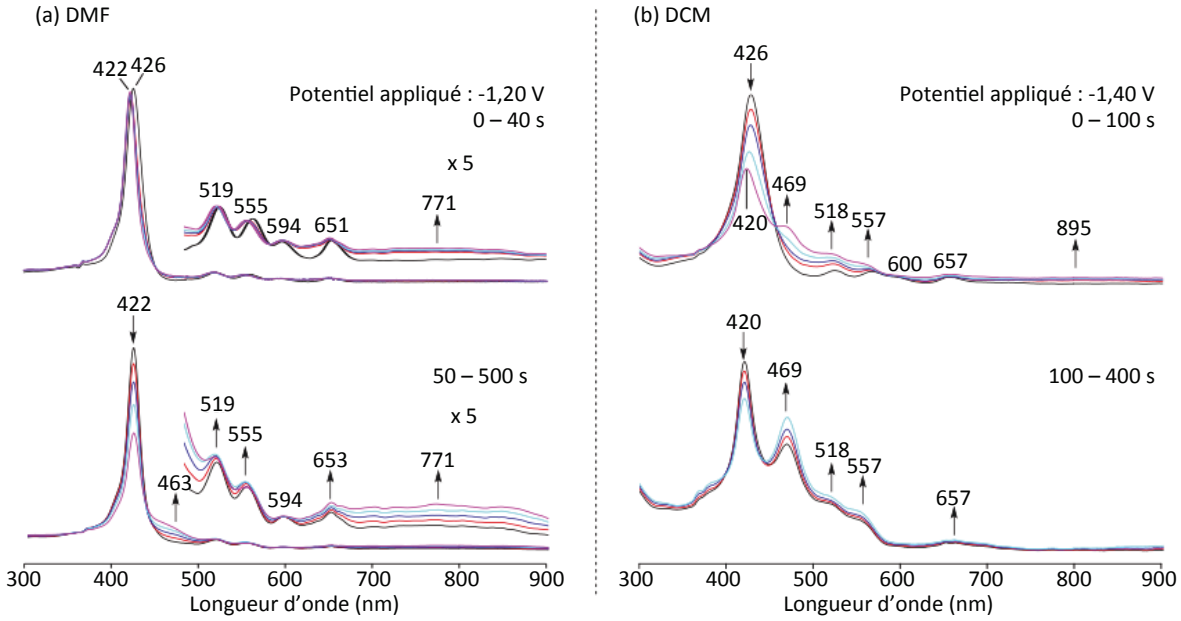


Figure 111 : Suivi spectroélectrochimique UV-visible du composé **44** dans le DMF (a) et le DCM (b)

Ces mesures permettent d'observer la modification du spectre UV-visible en fonction du temps sous l'application d'un potentiel. Nous constatons qu'il y a très peu de modification lorsque le potentiel est de 1,20 V. En revanche, nous observons un effet hypochrome significatif et un léger effet hypsochrome sur la bande de Soret lorsque le potentiel appliqué est de 1,40 V. De plus, nous observons à ce potentiel l'apparition d'une nouvelle bande à 469 nm.

À partir de toutes ces données électrochimiques, un mécanisme de réduction du composé **44** a pu être proposé (Schéma 57).

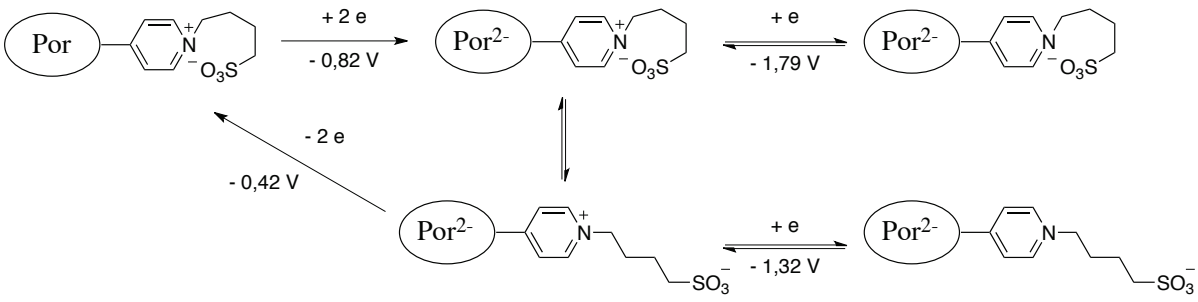


Schéma 57 : Mécanisme proposé pour les réductions des composés **44** dans le DMF

Ce mécanisme passe par la modification de la géométrie de la molécule. En effet, le bras zwitterionique peut être replié afin de rapprocher les charges. Cependant, la réduction du pyridinium à un électron est plus facile lorsque le bras est déplié et que les

charges sont éloignées. Des résultats similaires ont été observés pour le composé **45**. Les études sur le composé **46** sont actuellement en cours.

5. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons décrit la synthèse de trois porphyrines amphiphiles et zwitterioniques. Nous avons montré que la quaternisation du groupement pyridine par la butane sultone conduisait à des composés ayant des propriétés bien différentes des composés ioniques obtenus précédemment dans le laboratoire. En effet, les composés **44**-**46** présentent des points de fusion supérieurs à 190 °C et ne sont donc pas liquides à température ambiante. Ces composés ont été parfaitement caractérisés par différentes techniques spectroscopiques. Les caractéristiques photophysiques de ces trois composés ont été mesurées, ainsi que l'hyperpolarisabilité β permettant de quantifier l'efficacité de nos composés en GSH. Ces composés présentent une hyperpolarisabilité satisfaisante. Nous avons enregistré des images par microscopie confocale classique. Les images des composés **44** et **46** ont permis de prouver l'amphiphilie de ces derniers et de leur localisation dans les membranes cellulaires. Ces résultats nous ont confirmé la possibilité d'effectuer de l'imagerie par GSH. Enfin, en collaboration avec le groupe du Professeur Karl M. Kadish, nous avons pu effectuer des mesures électrochimiques sur nos composés. Celles-ci nous ont permis d'envisager un mécanisme de réduction du groupement pyridinium.

6. Perspectives

Par la suite, nous envisageons d'effectuer des images sur cellule par GSH gr ce à une collaboration avec le Docteur Frédéric Bolze.

De plus, nous avons synthétisé de nouveaux composés par la même méthode de synthèse (Figure 112).

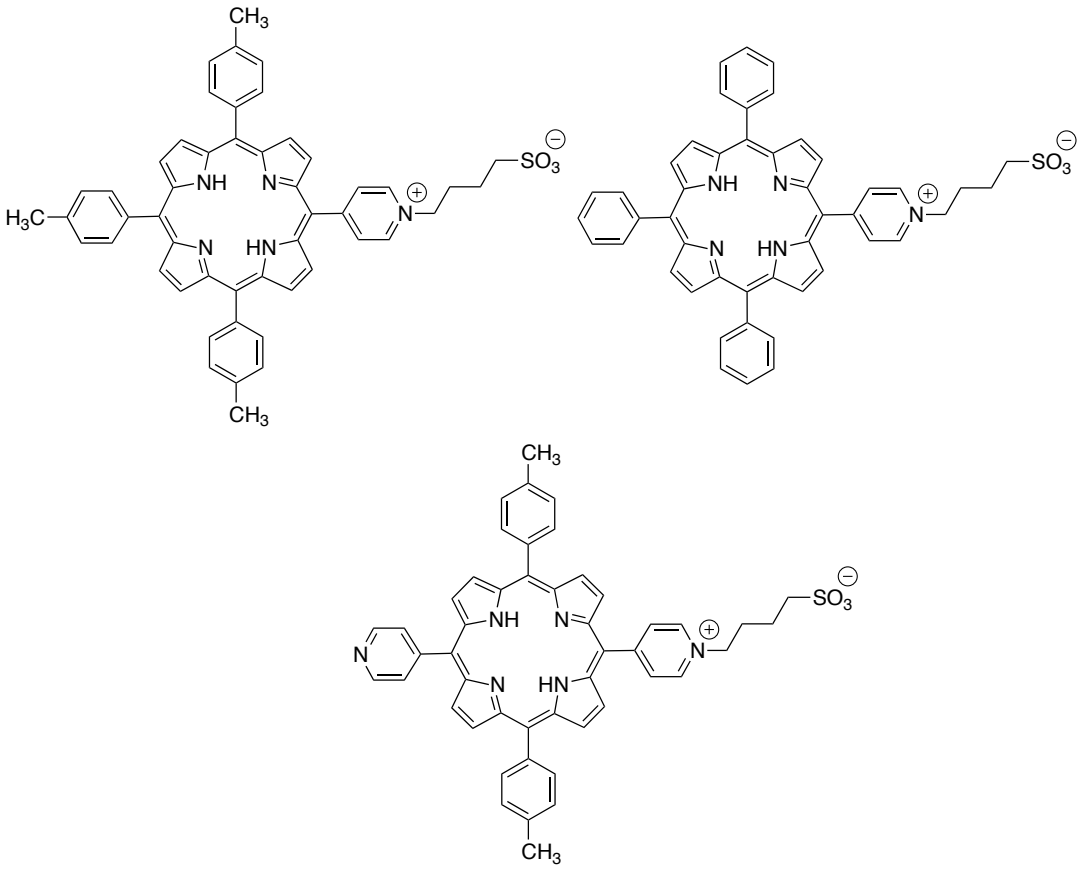


Figure 112 : Composés récemment synthétisés pour la GSH

Ceux-ci seront également testés afin de comparer l'influence des différents groupements sur les propriétés en GSH.

Enfin, récemment plusieurs équipes ont décrit la synthèse de porphyrines reliées par des liaisons éthynyl.[93]

À partir de ces conditions, nous pouvons envisager la synthèse de porphyrines reliées par des liaisons éthynyl afin d'améliorer l'effet « push-pull ». La voie de synthèse envisagée est présentée ci-après (Schéma 58).

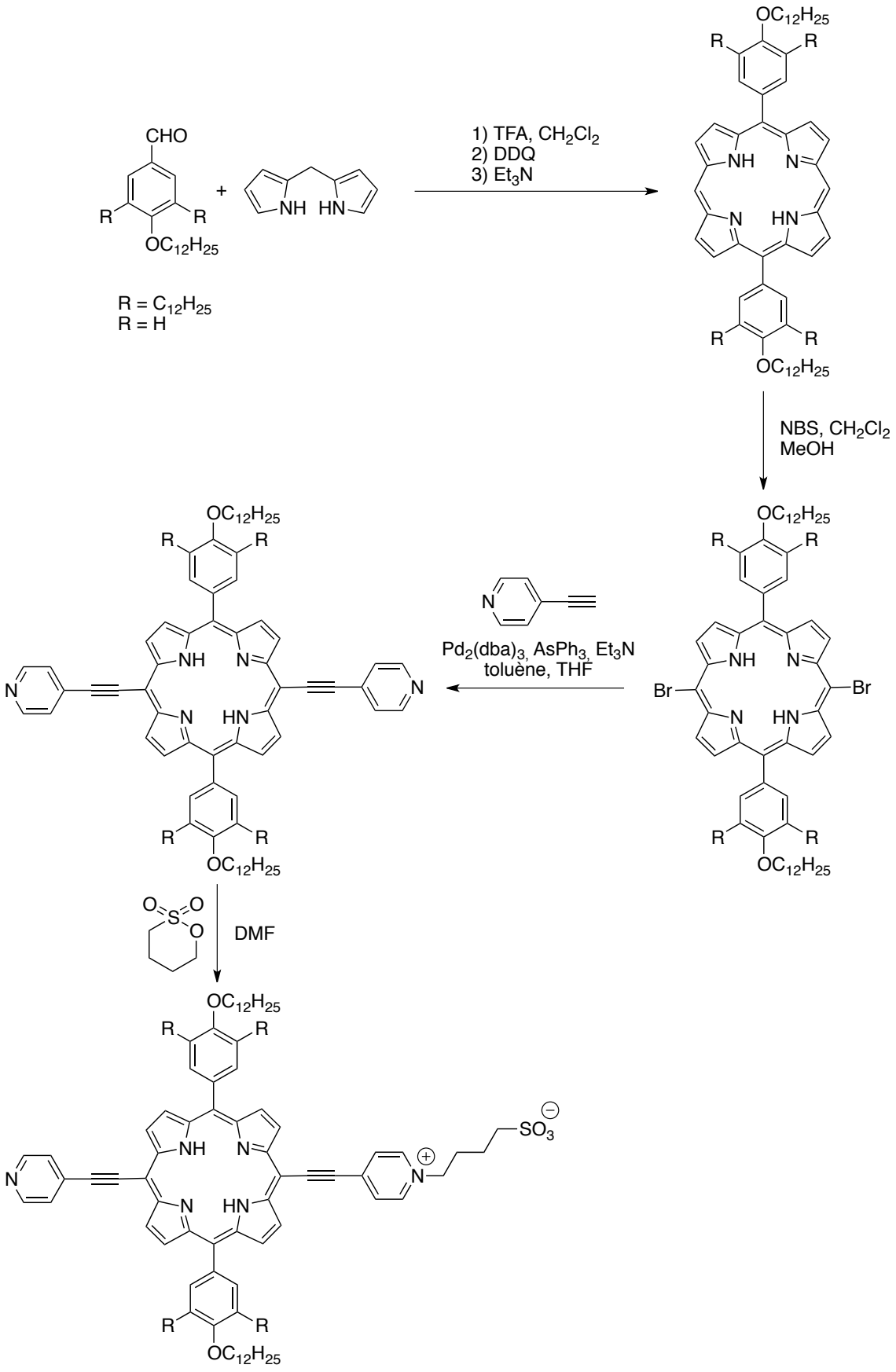


Schéma 58 : Synthèse envisagée afin d'améliorer l'effet « push-pull »

Partie 2 : Synthèse de DPP relié à un dérivé du DOTA gadolinium

Dans cette partie, nous aborderons la synthèse et la caractérisation de composés pour leurs propriétés en fluorescence par absorption biphotonique (F2P). Pour cela, nous avons réalisé la synthèse d'un dérivé de DPP. Comme mentionné précédemment, ces composés ont été très peu utilisés en F2P. Cependant, l'équipe du Docteur Frédéric Bolze a montré que ceux-ci présentaient de très bons résultats dans ce domaine.[94]

1. Projet

Le but de ce projet est de relier un DPP avec un dérivé du DOTA (Figure 113). Ce dernier pourra alors être métallé avec du gadolinium (cf Chapitre I). Ainsi, la molécule pourra être utilisée en imagerie optique et en IRM.

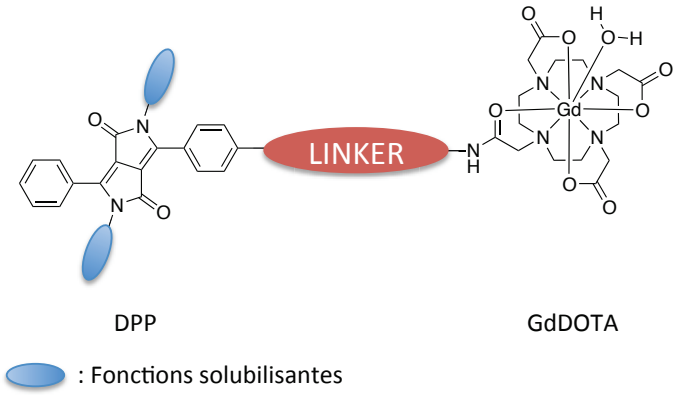


Figure 113 : Schéma de la molécule cible

Afin de pallier au manque de solubilité du cœur DPP, celui-ci sera substitué par des fonctions solubilisantes sur les atomes d'azote. De plus, la conjugaison devra être étendue par ajout d'un « linker » qui permettra également d'ajouter le dérivé du DOTA.

En collaboration avec l'équipe du Docteur Frédéric Bolze, nous avons travaillé sur la synthèse d'un DPP présentant une fonction acide carboxylique afin de le coupler à un DOTA éthylène diamine commercial (Schéma 59).

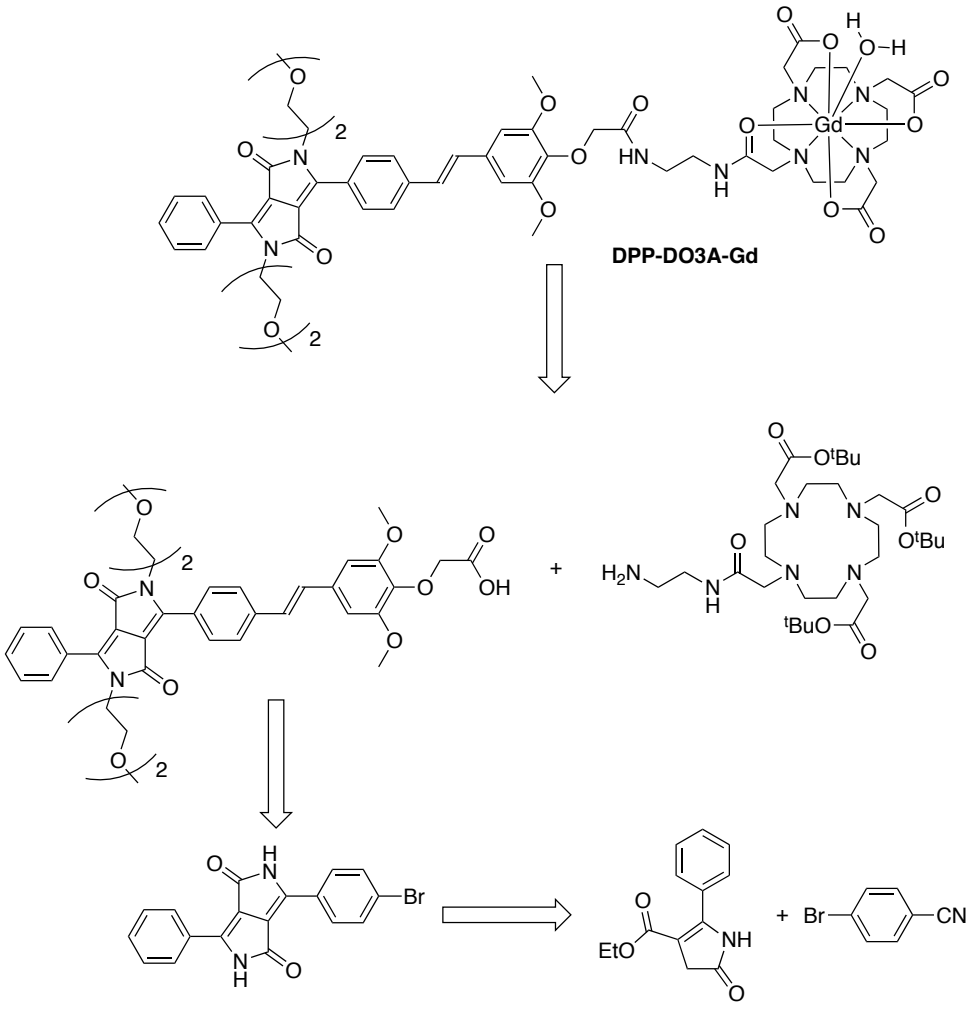


Schéma 59 : Rétrosynthèse proposée pour l'accès au du DPP-DO3A-Gd

À ce jour, très peu d'exemples de molécules actives dans ces deux types d'imagerie ont été publiées dans la littérature. De plus, l'utilisation de DPP en imagerie biphotonique n'a été démontrée que par l'équipe du Docteur Frédéric Bolze.

Nous allons d'abord présenter la synthèse du DPP fonctionnalisé par une fonction acide carboxylique, puis, nous discuterons de l'ajout du dérivé du DOTA et de la métallation.

2. Synthèse et caractérisations

2.1. Formation du DPP

La synthèse du DPP a été réalisée à partir des travaux de l'équipe du Docteur Frédéric Bolze.

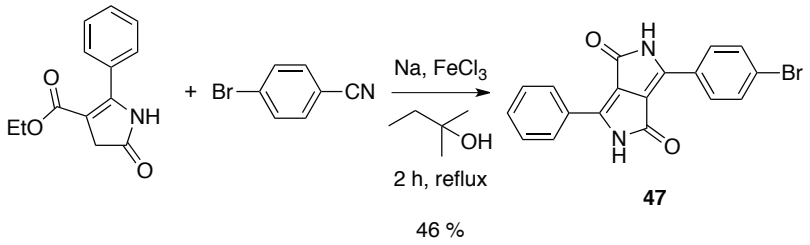


Schéma 60 : Synthèse du DPP bromo **47**

La première étape est une condensation de l'ester de pyrrolidinone sur le 4-bromobenzonitrile. Celle-ci s'effectue dans l'alcool *tert*-amylique en présence de sodium et d'une quantité catalytique de chlorure de fer(III). Suite à la faible solubilité du composé **47**, il est difficile d'obtenir des données spectrales. Cependant, nous avons obtenu un spectre de masse MALDI-TOF sur lequel on observe un pic à m/z = 366,64 correspondant à $[M+H]^+$. De plus, le spectre RMN ^1H de ce composé est montré ci-après (Figure 114).

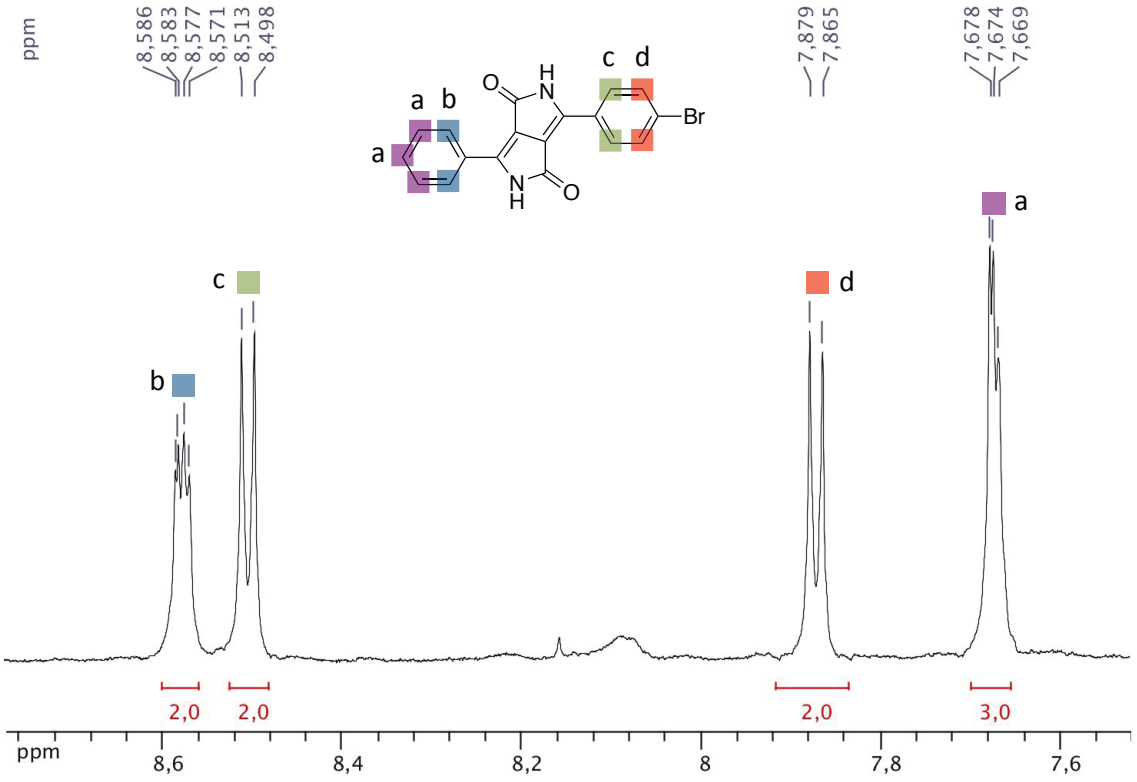


Figure 114 : Spectre RMN ^1H du composé **47** (DMSO-d6)

Sur ce spectre, nous constatons la présence des deux doublets (c) et (d) intégrant chacun pour deux protons. Ces signaux sont caractéristiques d'un cycle benzénique *para*

substitué. Nous remarquons également la présence du multiplet (a) intégrant pour trois protons et correspondant aux protons en *méta* et en *para* du DPP sur le cycle benzénique mono substitué. Enfin, nous observons le multiplet (b) intégrant pour deux protons correspondant aux protons en *ortho* du DPP sur ce même cycle benzénique.

L'étape suivante consiste en l'ajout de bras solubilisants. En effet, l'insolubilité du composé **47** est due aux liaisons hydrogènes entre les protons portés par les azotes du DPP et les groupements carbonyles (Figure 115).

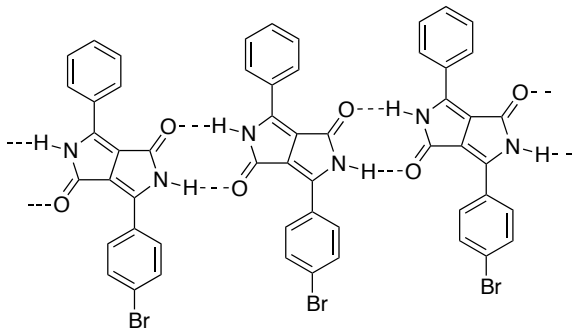


Figure 115 : Réseau de liaisond hydrogènes sur le composé **47**

L'ajout de « bras » diéthylènes glycols sur les atomes d'azote permet donc d'améliorer la solubilité du composé.

2.2. Fonctionnalisation du DPP

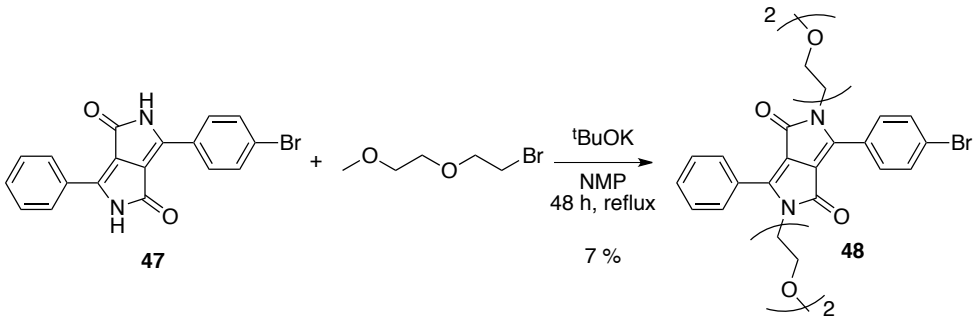


Schéma 61 : Ajout de bras solubilisants

Cette réaction de substitution nécessite la présence d'une base forte pour déprotonner les deux atomes d'azote. De plus, la réaction est effectuée dans la NMP (*N*-Méthyl-2-Pyrrolidone) qui permet une solubilisation du composé de départ **47**.

Les étapes suivantes consistent à étendre la conjugaison tout en ajoutant une fonction utilisable pour l'ajout du dérivé du DOTA (Schéma 62). Pour cela, l'atome de brome est mis en jeu dans un couplage de Heck catalysé à l'acétate de palladium (II)

avec un alcène portant un groupement *tert*-butyldiméthylsilane (TBDMS). Ce groupement protecteur est ensuite clivé en présence de fluorure pour conduire à la fonction hydroxy. Celle-ci est alors fonctionnalisée par substitution de l'atome de brome du 2-bromoacétate de *tert*-butyle pour conduire au composé présentant une fonction acide protégée par un ester *tert*-butylique. Cet ester est enfin déprotégé en présence de TFA pour conduire au DPP présentant une fonction acide carboxylique.

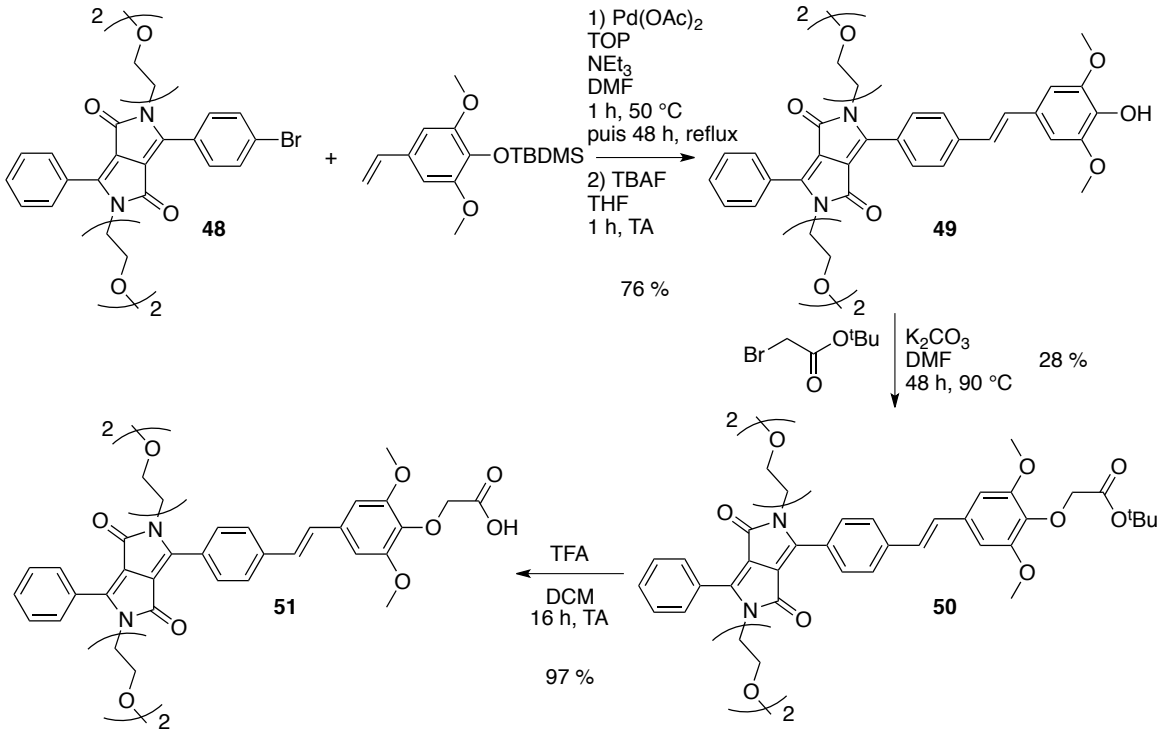


Schéma 62 : Suite réactionnelle pour l'accès au DPP **51** portant une fonction acide carboxylique

2.3. Ajout du dérivé du DOTA

Le composé **51** obtenu est engagé dans une réaction de couplage peptidique avec le DOTA éthylène diamine commercial (Schéma 63).

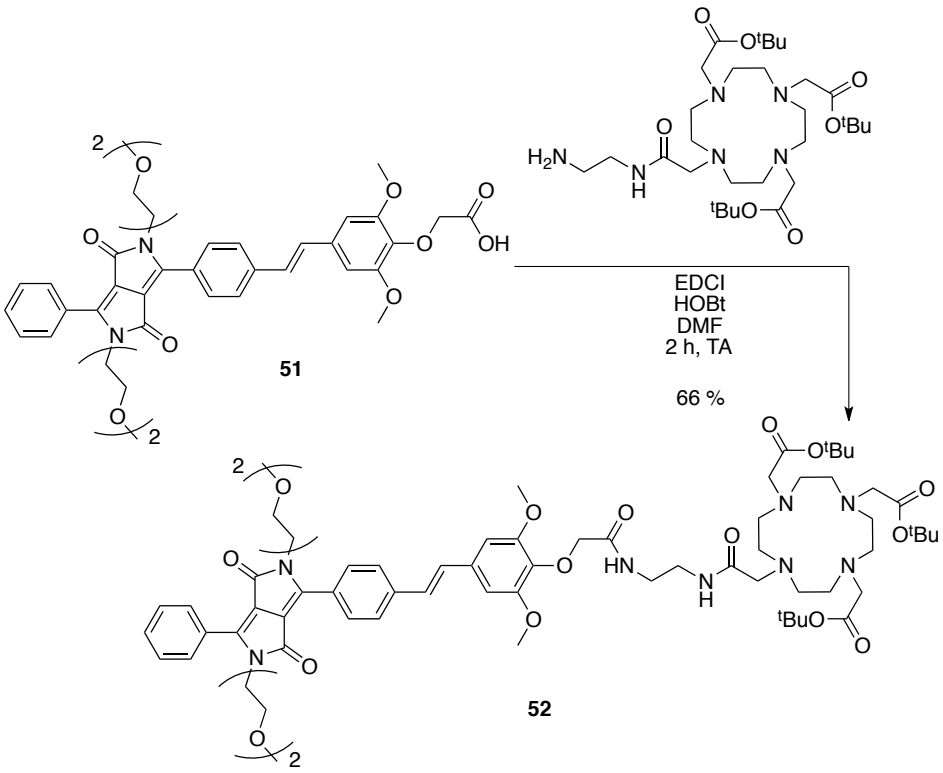


Schéma 63 : Ajout du dérivé du DOTA protégé

Le couplage peptidique s'effectue dans des conditions classiques en présence d'agents de couplage dans le DMF. Le composé **52** a été caractérisé par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Le pic à m/z = 1347,54 correspond à l'adduit $[M+Na]^{+,}$ nous observons également les fragmentations classiquement observées lors de l'ajout d'un dérivé du DOTA protégé par des fonctions esters *tert*-butyliques.

Le spectre RMN ^{1}H du composé **52** a également été enregistré. Ci-après est présenté un agrandissement de la zone aromatique (Figure 116).

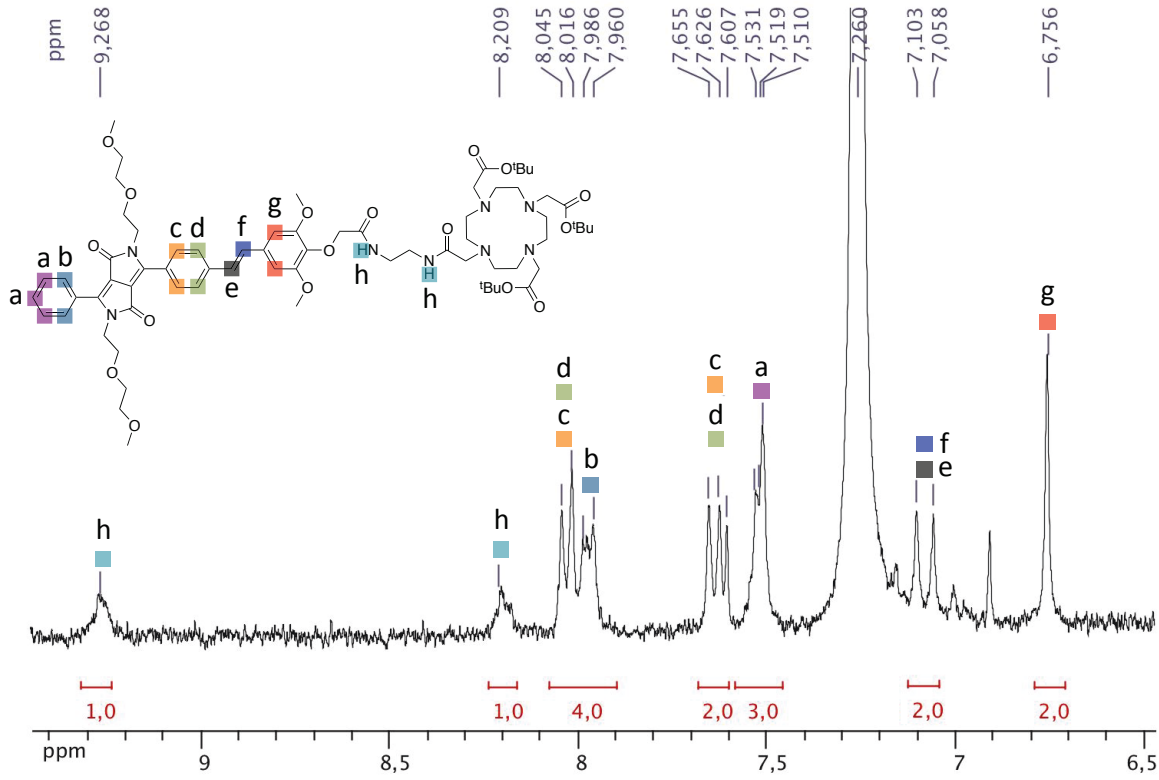


Figure 116 : RMN ^{1}H du composé **52** (agrandissement de la zone aromatique) (DMSO-d6)

Nous retrouvons sur ce spectre les signaux caractéristiques des protons aromatiques du DPP. Nous observons également deux signaux à 9,27 et 8,21 ppm intégrant chacun pour un proton et correspondant aux deux protons des fonctions amides.

L'agrandissement de la zone aliphatique du spectre RMN 1H de ce composé est présenté ci-après (Figure 117).

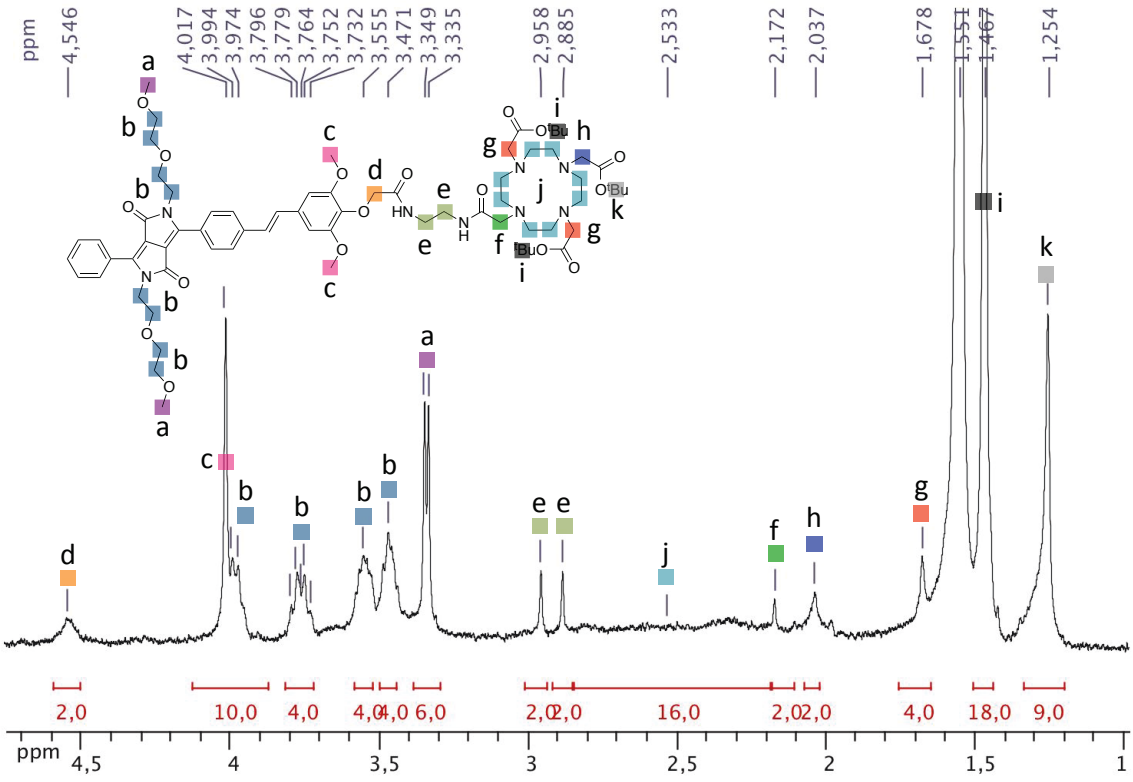


Figure 117 : RMN ^{1}H du composé **52** (agrandissement de la zone aliphatique) (DMSO-d6)

Nous constatons la présence des signaux des deux chaînes diéthylène glycol mais également la présence d'un signal mal résolu et intégrant pour seize protons caractéristique des protons du dérivé du DOTA. Enfin, nous observons la présence de deux singulets à 1,25 et 1,47 ppm intégrant respectivement pour 9 et 18 protons et correspondant aux groupements *tert*-butyl des fonctions esters.

Les fonctions ester *tert*-butyliques ont ensuite été coupées par action du TFA dans le DCM. Puis la partie DOTA libre a été métallée avec du gadolinium en présence de nitrate de gadolinium sans purification intermédiaire (Schéma 64).

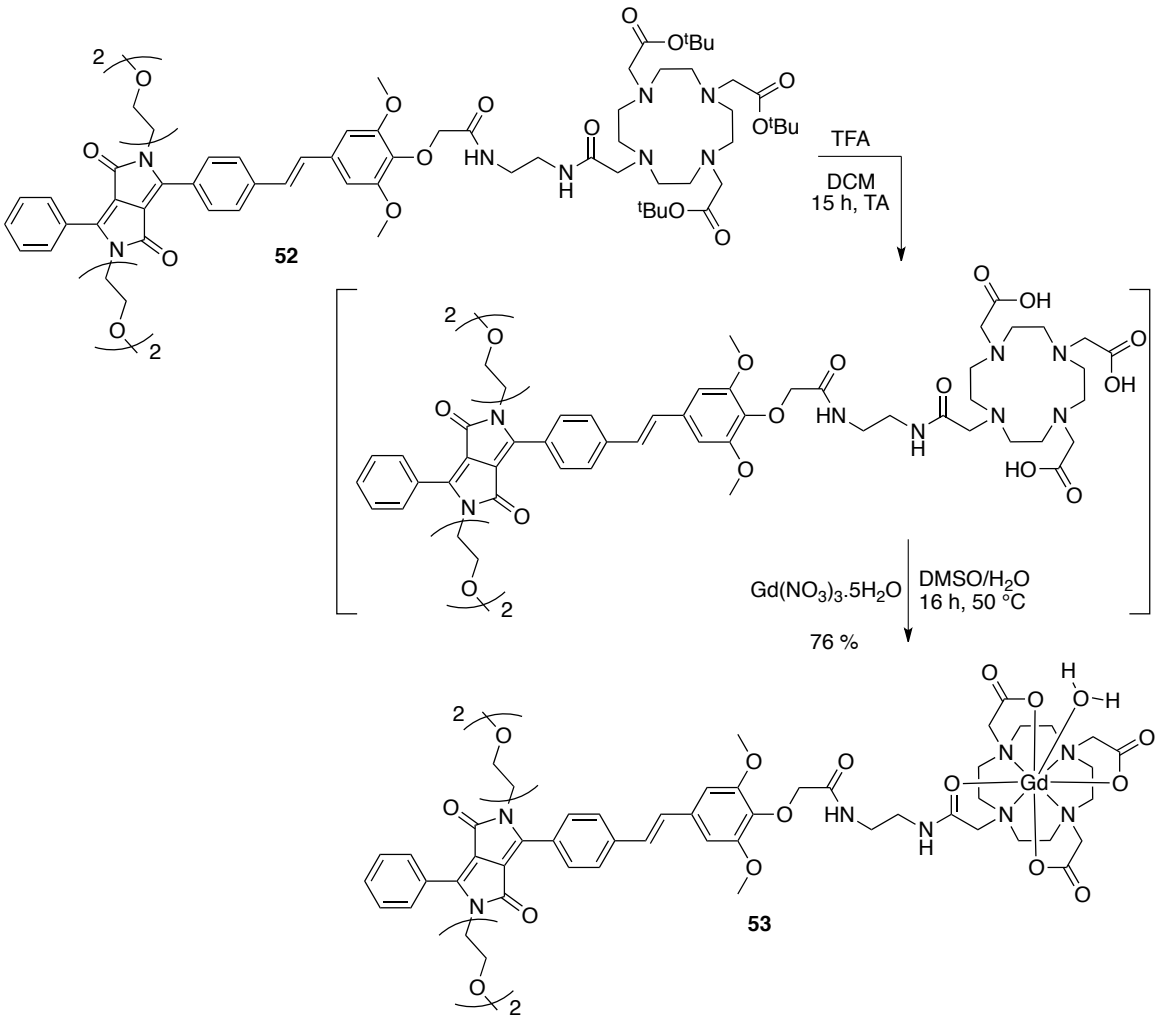
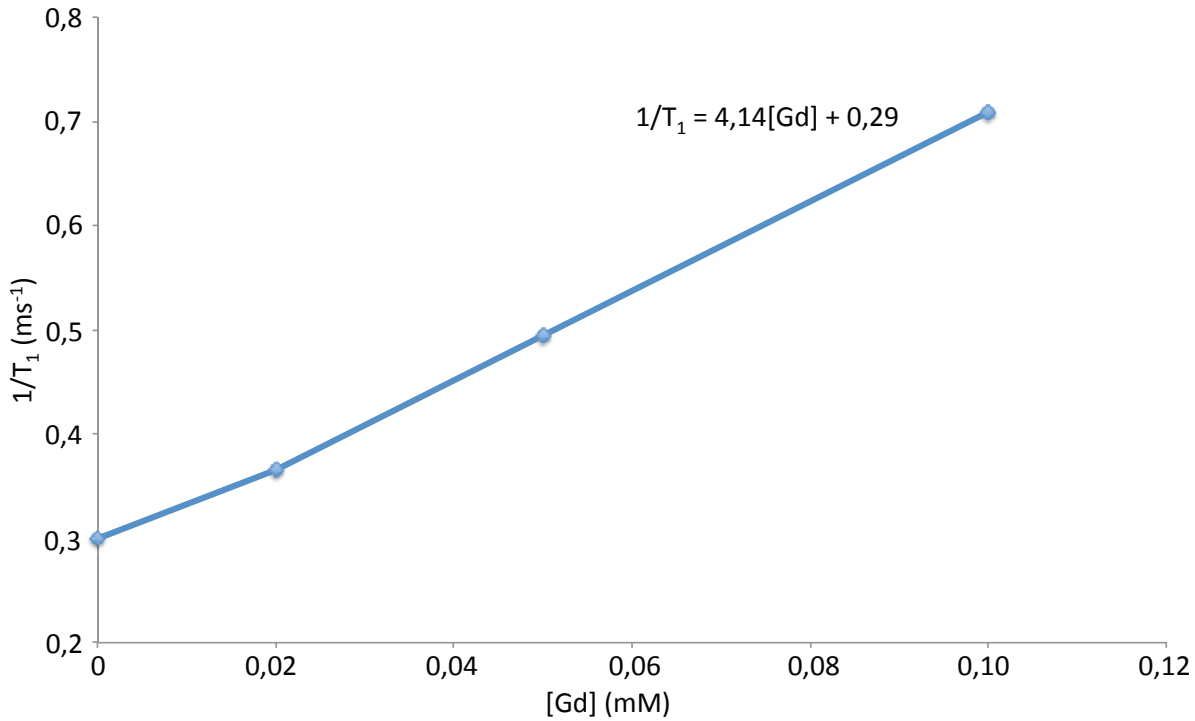


Schéma 64 : Déprotection des fonctions ester *tert*-butylique puis métallation au gadolinium

Nous obtenons ainsi le composé final **53** avec un rendement de 76 % sur deux étapes. La présence de ce composé a été confirmée par spectrométrie de masse MALDI-TOF où nous observons le signal à m/z = 1334,32 correspondant à l'adduit $[M\text{-}H_2O+Na]^+$.

3. Résultats et discussion

Afin de démontrer l'efficacité de notre composé en IRM, nous avons mesuré sa relaxivité.



Nous obtenons pour ce composé une valeur de relaxivité r_1 de 4,14 $mM^{-1}.s^{-1}$. Cette valeur est suffisante pour effectuer des analyses en IRM. Les mesures d'optique biphotonique sont actuellement en cours afin de connaître son efficacité en imagerie optique.

4. Conclusions et perspectives

Dans cette partie, nous avons présenté la synthèse d'un DPP relié à un dérivé du DOTA. Pour cela, nous avons travaillé sur la synthèse d'un DPP portant une fonction acide carboxylique libre. La solubilité de ce dernier a été augmentée par ajout de chaînes diéthylène glycol sur les atomes d'azote du cœur DPP. Ensuite, la conjugaison du DPP a été étendue par couplage de Heck puis une fonction acide carboxylique a été ajoutée. Le dérivé du DOTA a alors pu être ajouté par couplage peptidique. Ce composé a pu être métallé avec du gadolinium pour une application en IRM. La relaxivité du composé final **53** a alors été mesurée. La valeur de relaxivité r_1 de ce composé est alors de 4,14 $mM^{-1}.s^{-1}$.

Les mesures de section efficace en absorption biphotonique sont actuellement en cours pour connaître l'efficacité de notre composé en imagerie optique par absorption biphotonique

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Les travaux présentés dans ce mémoire de thèse concernent la synthèse et la caractérisation de composés en vue d'une utilisation dans différents types d'imageries médicales.

Le premier chapitre porte sur la synthèse de composés potentiellement utilisables en imagerie bimodale IRM/TEP. Pour cela, nous avons effectué la synthèse de deux plateformes porphyriniques portant un dérivé du DOTA. La partie DOTA a été métallée avec du gadolinium afin d'augmenter le contraste en IRM. La partie porphyrinique a, quant à elle, été métallée avec du cuivre « froid ». Une de ces plateformes porphyrinique présente également une fonction amine primaire supplémentaire afin d'ajouter une molécule vectrice. Pour cela, nous avons modifié un sucre et de l'acide folique pour pouvoir les greffer sur notre composé. Les produits vectorisés ont été synthétisés. Nous avons également travaillé sur l'augmentation de l'hydrosolubilité par ajout de fonctions sulfonates sur la plateforme porphyrinique. Cette porphyrine a pu être couplée avec un dérivé du DOTA mais ce composé est encore en cours de purification. Enfin, nous avons également travaillé sur l'assemblage de la porphyrine et du dérivé du DOTA par réaction de Huisgen. Ceci permet de préparer les complexes métalliques puis de les assembler rapidement sous irradiations micro-ondes.

Pour la suite, nous envisageons d'optimiser le couplage avec la biomolécule afin d'obtenir une quantité suffisante des deux composés vectorisés pour réaliser des images sur cellules puis sur petit animal en IRM. Enfin, ces composés devront être métallés avec du cuivre-64 pour obtenir des images en imagerie TEP.

Dans le second chapitre, nous nous sommes intéressés à la synthèse de composés pour l'imagerie par optique non-linéaire.

La première partie porte sur la synthèse et la caractérisation de porphyrines amphiphiles et zwitterioniques pour la Génération de Second Harmonique. Ce travail a été effectué suite à des études précédemment réalisées au laboratoire concernant la synthèse de porphyrines liquides ioniques. Nous avons synthétisé plusieurs porphyrines présentant un ou deux groupements pyridyles et des chaînes dodécoxy. Puis, un des groupements pyridyles a été fonctionnalisé par ouverture de la butane sultone. Nous avons obtenu des composés zwitterioniques amphiphiles. Nous avons enregistré des

images par microscopie confocale sur cellules. Celles-ci montrent que nos composés se localisent principalement dans les membranes cellulaires. Nous avons également mesuré les valeurs d'hyperpolarisabilité de nos composés. Du fait de l'absence de conjugaison des groupements donneurs et accepteurs, ces valeurs sont relativement faibles pour des porphyrines. Cependant, ces composés présentent un très bon caractère amphiphile vis-à-vis des cellules. Cette hyperpolarisabilité est suffisante pour envisager des images par GSH.

Par la suite, nous espérons obtenir des images par GSH de nos composés. La synthèse de composés « push-pull » conjugués (à l'aide dun groupement alcyne par exemple) est une piste à explorer. Des mesures électrochimiques ont été effectuées dans l'équipe du Professeur Karl M. Kadish. Celles-ci ont apporté des renseignements sur la stabilité électrochimique de nos composés et ont permis de prédire le mécanisme de réduction.

La seconde partie porte sur la synthèse d'un DPP relié à un dérivé du DOTA. Nous avons tout d'abord synthétisé un DPP portant deux chaînes di-éthylènes glycols afin d'augmenter sa solubilité. Ensuite, la conjugaison de ce composé a été étendue tout en ajoutant une fonction acide carboxylique. Nous avons enfin ajouté le dérivé du DOTA par couplage peptidique et le ligand final a été métallé avec du gadolinium afin d'être actif en IRM. La relaxivité de ce composé a été mesurée et est de 4,14 $mM^{-1}.s^{-1}$.

Nous espérons par la suite obtenir des résultats en absorption biphotonique et ainsi réaliser des images, d'abord sur cellules puis sur petit animal en IRM et en imagerie optique.

PARTIE EXPERIMENTALE

Partie expérimentale

1. Instrumentation

Tous les produits ont été caractérisés sur les appareils de la Plateforme d'Analyses Chimiques et de Synthèse Moléculaire de l'Université de Bourgogne (PACSMUB)

- **Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)**

Les spectres RMN ^{1}H et ^{13}C ont été enregistrés sur des spectromètres BRUKER Avance II 300 MHz et BRUKER Avance II 600 MHz. Les déplacements chimiques ont été référencés par rapport au signal résiduel du solvant :

- ^{1}H : 7,26 ppm pour le $CDCl_3$ et 2,50 ppm pour le DMSO d6
- ^{13}C : 77,16 pour le $CDCl_3$ et 39,51 ppm pour le DMSO d6

- **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.

- **Spectroscopie Infrarouge (IR)**

Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur un spectrophotomètre IR FT BRUKER VERTEX 70v.

- **Spectrométrie de masse**

Les spectres de masse obtenus par spectrométrie de masse MALDI-TOF ont été enregistrés sur un spectromètre Ultraflex II LRF 2000, en mode réflectron et en utilisant un laser « Smartbeam » à partir d'échantillons dispersés dans une matrice de dithranol (1,8,9-α-anthracènetriol, Sigma-Aldrich, ≥98%), de DHB (acide 2,5-dihydroxybenzoïque,

Sigma-Aldrich, ≥98%), de CHCA (acide α-cyano-4-hydroxycinnamique, Sigma-Aldrich, ≥98%).
Les spectres de masse obtenus par ESI ont été enregistrés sur un appareil THERMO LTQ Orbitrap XL couplé à une HPLC Ultimate 3000 Dionex.

- **Relaxivité**

Les mesures de temps de relaxation ont été mesurées sur un appareil de TD-NMR BRUKER minispec mq20 à 20 MHz et à 40 °C.

- **Réactifs et solvants**

Les produits commerciaux et les solvants (Sigma-Aldrich, Fisher, Alfa Aesar, TCI) ont été utilisés sans purification préalable. Le DO3AtBu et le DO3AtBu-N-(2-aminoéthyl)-éthanamide ont été fournis par la société Chematech® et utilisés sans purification préalable.

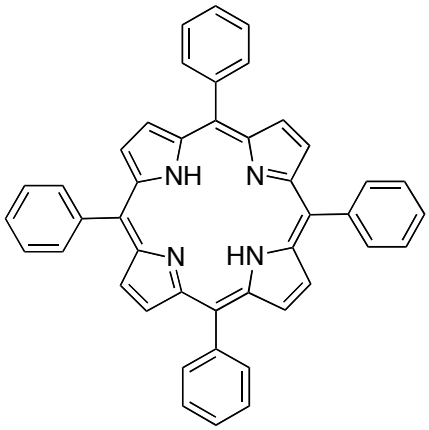
2. Mode opératoire

5, 10, 15, 20-tétraphénylporphyrine (TPP) (1)

Formule brute : $C_{44}H_{30}N_4$

Masse exacte : 614,25

Masse moléculaire : 614,74



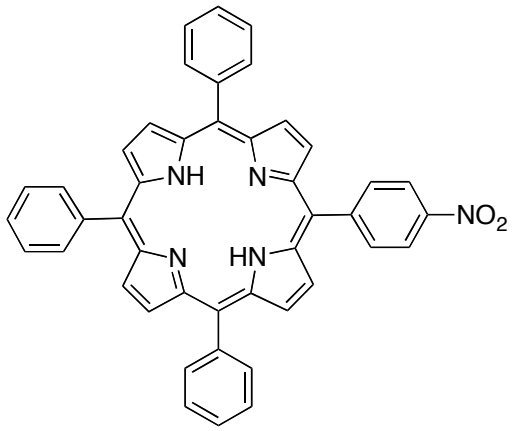
À une solution de benzaldéhyde (54,0 mL ; 56,2 g ; 0,530 mol) et de pyrrole fraîchement distillé (38,0 mL ; 36,7 g ; 0,548 mol) dans 1 L d'acide propionique est ajouté de l'anhydride propionique (11,0 mL ; 11,2 g ; 0,086 mol). Le mélange est agité pendant 4 h à reflux. Le produit est ensuite cristallisé par refroidissement lent du mélange pendant 20 h. Le mélange est ensuite filtré et lavé au méthanol. Puis le produit est recristallisé dans un mélange 50 : 50 $CHCl_3$ / MeOH. On obtient 13,0 g de produit, soit 16 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^1H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,77 (s, 2H) ; 7,74 (m, 12H) ; 8,21 (m, 8H) ; 8,83 (s, 8H)

- MALDI/TOF MS : m/z = 615,02 $[M+H]^+$ ($C_{44}H_{31}N_4^+$ Masse Exacte : 615,26)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 417 (363) ; 514 (12) ; 549 (4) ; 589 (3) ; 649 (2)

5-(4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (2)



Formule brute : $C_{44}H_{29}N_5O_2$

Masse exacte : 659,23

Masse moléculaire : 659,73

- Voie A : À une solution de 5, 10, 15, 20-tétraphénylporphyrine **1** (0,20 g ; 0,33 mmol) dans 10 mL de TFA est ajouté du nitrite de sodium (0,04 g ; 0,58 mmol). Le mélange est agité pendant 3 minutes à TA. Le mélange est ensuite versé dans une solution biphasique de 15 mL d'eau et 7 mL de $CHCl_3$. Les phases sont séparées puis la phase organique est neutralisée par lavage avec une solution saturée de $NaHCO_3$ jusqu'à coloration rose. La phase organique est ensuite lavée 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée, séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. Le produit est ensuite purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 60 : 40). On obtient 108 mg de produit, soit 50 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- Voie B : À une solution de 5, 10, 15, 20-tétraphénylporphyrine **1** (3,20 g ; 5,21 mmol) dans 470 mL de DCM est ajouté à 0 °C sous bullage de diazote une solution d'acide nitrique fumant (96 %) (4,40 mL ; 5,60 g ; 88,9 mmol) dans 28 mL de DCM en 1h30 sous agitation. La solution change de couleur du rouge au vert. Le mélange est ensuite neutralisé par ajout de $NaHCO_3$ jusqu'au retour à la coloration rouge. La solution est ensuite filtrée sur célite. Le mélange est ensuite concentré sur l'évaporateur rotatif puis purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 50 : 50). On obtient 2,30 g de produit, soit 67 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,76 (s, 2H) ; 7,76 (m, 9H) ; 8,20 (m, 6H) ; 8,38 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H) ; 8,61 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H) ; 8,72 (d, *J* = 4,9 Hz, 2H,) ; 8,85 (s, 4H) ; 8,88 (d, *J* = 4,9 Hz, 2H)

- MALDI/TOF MS : m/z = 660,04 $[M+H]^+$ ($C_{44}H_{30}N_5O_2^+$ Masse Exacte : 660,24)

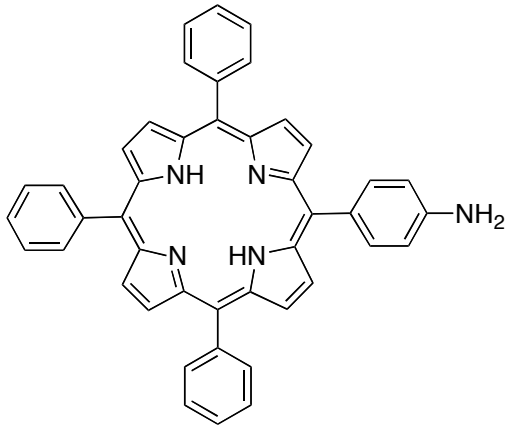
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 418 (342) ; 515 (15) ; 550 (6) ; 589 (3) ; 647 (2)

5-(4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (3)

Formule brute : $C_{44}H_{31}N_5$

Masse exacte : 629,26

Masse moléculaire : 629,75



À une solution de 5-(4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **2** (1,50 g ; 2,27 mmol), de zinc en poudre (3,00 g ; 46,0 mmol), dans 250 mL de toluène est ajoutée une solution de chlorure de calcium dihydraté (0,50 g ; 3,40 mmol) dans 250 mL d'eau. Le mélange est agité 3 h à reflux. Le mélange est filtré sur dicalite. Le produit est ensuite extrait avec 250 mL d'acétate d'éthyle puis la phase organique est lavée 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée, séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. Le produit est ensuite purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 50 : 50). On obtient 1,00 g de produit, soit 70 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,76 (s, 2H) ; 4,01 (s, 2H) ; 7,05 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H) ; 7,74 (m, 9H) ; 7,98 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H) ; 8,20 (m, 6H) ; 8,47 (m, 6H) ; 8,92 (m, 2H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 630,08 $[M+H]^+$ ($C_{44}H_{32}N_5^+$ Masse Exacte : 630,23)

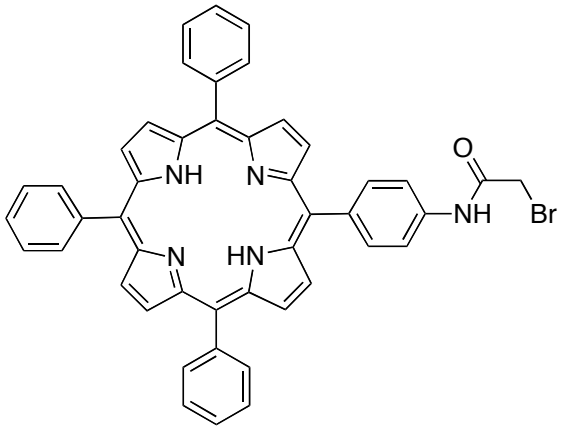
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 419 (382) ; 516 (15) ; 552 (7) ; 592 (4) ; 647 (4)

5-(4-bromocétamidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (4)

Formule brute : $C_{46}H_{32}BrN_5O$

Masse exacte : 749,18

Masse moléculaire : 750,68



À une solution de 5-(4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **3** (0,380 g ; 0,603 mmol) et de DIPEA (105 µL ; 82,1 mg ; 0,635 mmol), dans 40 mL de DCM est ajouté du bromure de bromoacétyle (57,0 µL ; 0,132 g ; 0,654 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 0,5 h. Le mélange est ensuite lavé 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est ensuite séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. Le produit est ensuite purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM). On obtient 0,445 g de produit, soit 98 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,77 (s, 2H) ; 4,12 (s, 2H) ; 7,75 (m, 9H) ; 7,89 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H) ; 8,20 (m, 8H) ; 8,44 (s, 1H) ; 8,86 (s, 8H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 750,10 $[M+H]^+$ ($C_{46}H_{33}BrN_5O^+$ Masse Exacte : 750,19)

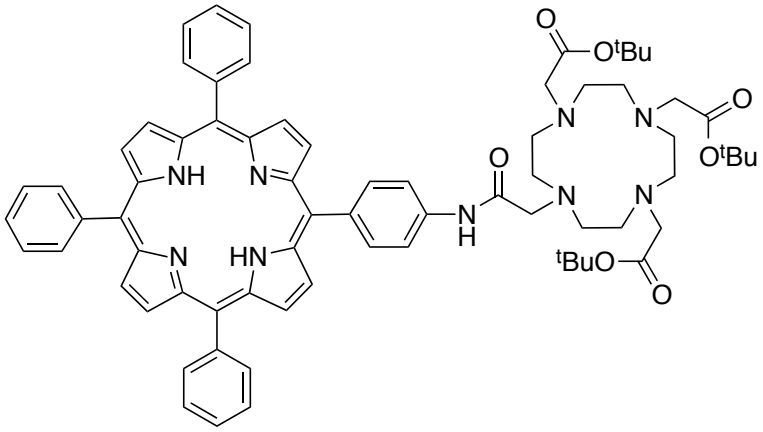
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 418 (292) ; 515 (13) ; 550 (6) ; 590 (4) ; 650 (4)

5-(4-DO3A^{t}BuAMphényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (5)

Formule brute : $C_{72}H_{81}N_9O_7$

Masse exacte : 1183,63

Masse moléculaire : 1184,47



À une solution de 5-(4-bromocétamidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **4** (0,445 g ; 0,593 mmol) et de K_2CO_3 (0,334 g ; 2,42 mmol), dans 90 mL de DMF est ajouté du DO3A^{t}Bu (0,334 mg ; 0,649 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 h puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est repris dans le DCM puis la solution est lavée 3 fois à l'eau puis avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est ensuite séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. Le produit est ensuite purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / MeOH 95 : 5). On obtient 0,698 g de produit, soit 99 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 400 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = -2,62 (s, 2H) ; 1,45 (s, 9H) ; 1,50 (s, 18H) ; 2,65 – 2,95 (m, 16H) ; 3,27 (s, 2H) ; 3,32 (s, 4H) ; 3,46 (s, 2H) ; 7,84 (m, 9H) ; 8,07 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H) ; 8,13 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H) ; 8,21 (m, 6H) ; 8,83 (s, 8H) ; 10,30 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1206,49 $[M+Na]^+$ ($C_{72}H_{81}N_9NaO_7^+$ Masse Exacte : 1206,62)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en L.mol^{-1}.cm^{-1}) = 418 (187) ; 514 (8) ; 550 (4) ; 592 (2) ; 647 (2)

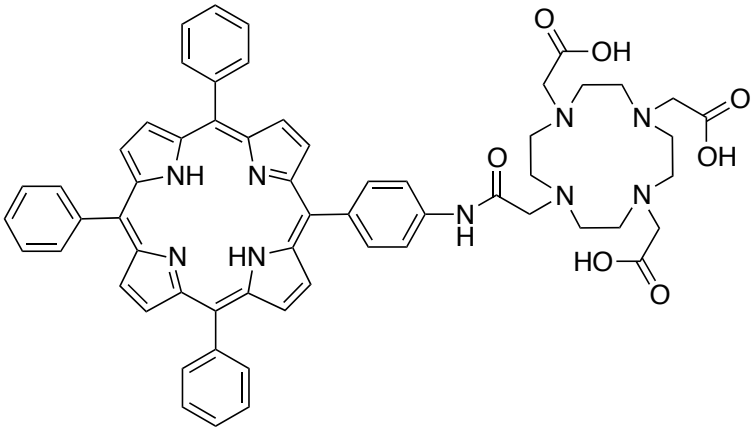
- IR : ν (cm^{-1}) = 2920 (faible, fine, ν_{N-H}), 1726 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (ester)}$), 1596 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (amide)}$)

5-(4-DO3AAMphényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (6)

Formule brute : $C_{60}H_{57}N_9O_7$

Masse exacte : 1015,44

Masse moléculaire : 1016,15



À une solution de 5-(4-DO3A^{t}BuAMphényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **5** (0,698 g ; 0,589 mmol) dans 80 mL de DCM est ajouté 20 mL TFA. Le mélange est agité pendant 16 h à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite. Le résidu solide est repris dans 50 mL de DCM et est évaporé de nouveau. Cette opération est répétée quatre fois afin d'éliminer les sous-produits volatils. On obtient 0,595 g de produit, soit 99 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline bleu-verte.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 400 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = -2,89 (s, 2H) ; 3,17 (s, 8H) ; 3,23 – 3,30 (m, 8H) ; 3,78 (s, 2H) ; 3,80 (s, 4H) ; 3,99 (s, 2H) ; 7,83 (m, 9H) ; 8,06 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H) ; 8,17 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H) ; 8,20 (m, 6H) ; 8,83 (m, 8H) ; 10,36 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1016,41 $[M+H]^+$ ($C_{60}H_{58}N_9O_7^+$ Masse Exacte : 1016,45)

- HR-MS ESI : *m/z* = 508,7254 $[M+2H]^{2+}$ ($C_{60}H_{59}N_9O_7^{2+}$: Masse exacte : 508,7263)

- UV–visible (H_2O / DMSO 9 : 1) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en L.mol^{-1}.cm^{-1}) = 427 (54) ; 522 (5) ; 556 (2) ; 595 (1) ; 652 (1)

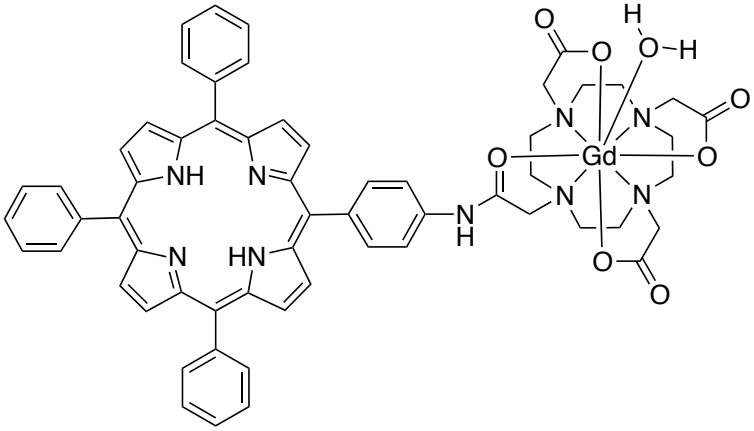
- IR : ν (cm^{-1}) = 2922 (faible, fine, ν_{N-H}), 1668 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (acide)}$), 1596 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (amide)}$)

5-(4-DO3AAM-gadolinium(III)-phényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (7)

Formule brute : $C_{60}H_{56}GdN_9O_8$

Masse exacte : 1188,35

Masse moléculaire : 1188,39



À une solution de 5-(4-DO3AAMphényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **6** (0,300 mg ; 0,295 mmol) dans 6 mL de DMSO est ajouté 60 mL d'eau ultrapure. Le pH du milieu est ajusté à 7 par ajout d'une solution aqueuse de NaOH (1 M et 0,1 M). On ajoute alors du $Gd(NO_3)_3.5H_2O$ (0,141 g ; 0,325 mmol). Le pH est à nouveau ajusté à 7 par ajout d'une solution de NaOH (1 M et 0,1 M). Le mélange est agité pendant 16 h à 50 °C. Le milieu réactionnel est ensuite centrifugé et le surnageant est éliminé. Le résidu solide est repris dans 10 mL d'eau ultrapure et centrifugé à nouveau. Cette opération est répétée trois fois afin d'éliminer les sels de gadolinium en excès. Le produit est ensuite repris dans 10 mL d'eau ultrapure et lyophilisé. On obtient 0,153 g de produit, soit 44 % de rendement, sous forme d'une poudre rouge.

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1171,30 $[M\text{-}H_2O+H]^+$ ($C_{60}H_{55}GdN_9O_7^+$ Masse Exacte : 1171,35)

- HR-MS ESI : *m/z* = 1193,3280 $[M\text{-}H_2O+Na]^+$ ($C_{60}H_{54}GdN_9NaO_7^+$: Masse exacte : 1193,3279)

- UV–visible (H_2O/DMSO 9 : 1) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 428 (119) ; 520 (14) ; 555 (8) ; 594 (5) ; 650 (3)

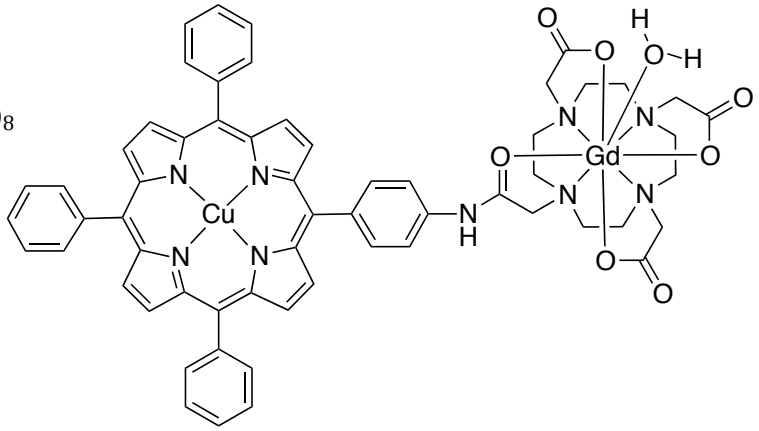
- IR : ν (cm^{-1}) = 1628 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (carboxylate)}$), 1599 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (amide)}$)

5-(4-DO3AAM-gadolinium(III)-phényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de cuivre (II) (8)

Formule brute : $C_{60}H_{54}CuGdN_9O_8$

Masse exacte : 1249,26

Masse moléculaire : 1249,92



À une solution de 5-(4-DO3AAM-gadolinium(III)-phényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **7** (0,135 g ; 0,114 mmol) dans 40 mL de MeOH est ajouté 2,9 mL d'une solution titrée de $Cu(NO_3)_3$ à 0,0397 M (29,0 mg ; 0,155 mmol) dans de l'eau ultrapure. Le mélange est agité pendant 2 h à 50 °C (suivi UV-visible). Le milieu réactionnel est ensuite centrifugé et le surnageant est éliminé. Le résidu solide est repris dans 10 mL d'eau ultrapure et centrifugé à nouveau. Cette opération est répétée trois fois afin d'éliminer les sels de cuivre en excès. Le produit est ensuite repris dans 10 mL d'eau ultrapure et lyophilisé. On obtient 87,0 mg de produit, soit 61 % de rendement, sous forme d'une poudre rouge.

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1232,18 $[M\text{-}H_2O+H]^+$ ($C_{60}H_{53}CuGdN_9O_7^+$ Masse Exacte : 1232,26)

- HR-MS ESI : *m/z* = 1254,2414 $[M\text{-}H_2O+Na]^+$ ($C_{60}H_{52}CuGdN_9NaO_7^+$: Masse exacte : 1254,2419)

- UV–visible (H_2O/DMSO 9 : 1) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 415 (90) ; 544 (13) ; 578 (5)

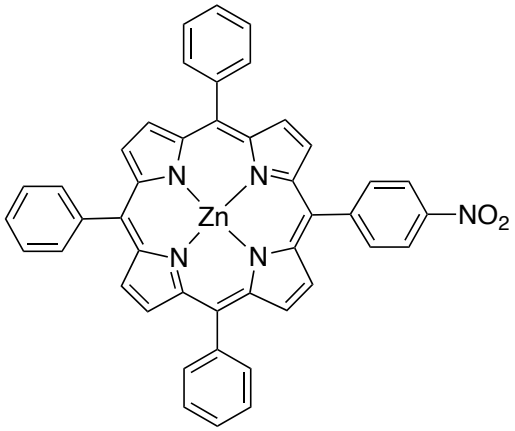
- IR : ν (cm^{-1}) = 1626 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (acide)}$), 1598 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (amide)}$)

5-(4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) (9)

Formule brute : $C_{44}H_{27}N_5O_2Zn$

Masse exacte : 721,15

Masse moléculaire : 723,10



À une solution de 5-(4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **2** (1,00 g ; 1,52 mmol) et d'acétate de sodium (1,50 g ; 18,3 mmol) dans 200 mL de $CHCl_3$ et 100 mL de MeOH est ajouté de l'acétate de zinc (II) (1,90 g ; 8,66 mmol). Le mélange est agité à reflux pendant 2 h (suivi UV-visible), refroidi, lavé 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est ensuite séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. Le produit est ensuite purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 60 : 40). On obtient 1,00 g de produit, soit 91 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

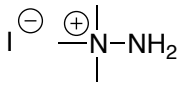
- RMN ^1H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 7,77 (m, 9H) ; 8,21 (m, 6H) ; 8,41 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H) ; 8,63 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H) ; 8,84 (m, 2H) ; 8,97 (m, 8H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 720,90 $[M]^{+\bullet}$ ($C_{44}H_{27}N_5O_2Zn^{+\bullet}$ Masse Exacte : 721,15)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 419 (391) ; 549 (21) ; 588 (4)

Iodure de 1,1,1-triméthylhydrazin-1-ium (TMHI) (10)

Formule brute : $C_3H_{11}IN_2$



Masse exacte : 202,00

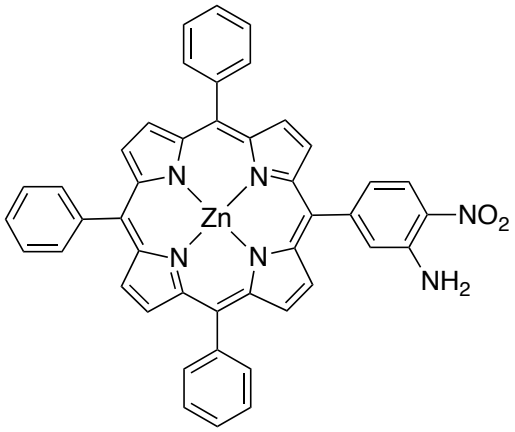
Masse moléculaire : 202,04

Dans un ballon préalablement dégazé puis placé sous atmosphère de diazote sont ajoutés de la 1,1-diméthylhydrazine (1,21 mL ; 0,960 g ; 16,0 mmol) et du iodométhane (1,00 mL ; 2,28 g ; 16,1 mmol) dans 40 mL de THF distillé. La solution est agitée à température ambiante pendant 5 h. La solution est ensuite filtrée et le solide est lavé au THF puis séché au dessicateur. On obtient 3,17 g de produit final, soit 98 % de rendement, sous forme d'une poudre blanche.

- RMN ^1H (300 MHz, 300 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = 3,26 (s, 9H) ; 6,08 (s, 2H)

- RMN ^{13}C (75 MHz, 300 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = 57,0

5-(3-amino-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) (11)



Formule brute : $C_{44}H_{28}N_6O_2Zn$

Masse exacte : 736,16

Masse moléculaire : 738,11

• Voie A : À une solution de 5-(4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) **9** (0,300 g ; 0,415 mmol) et de *tert*-butylate de potassium (0,232 g ; 2,07 mmol) dans 10 mL de THF distillé est ajouté goutte à goutte après sonication, sous atmosphère de diazote à 0 °C, une solution de TMHI **10** (0,252 g ; 1,25 mmol) en suspension dans 15 mL de THF distillé. La solution est agitée à 0 °C pendant 10 minutes, puis à température ambiante pendant 2 h. Du *tert*-butylate de potassium (0,140 g ; 1,25 mmol) et du TMHI (0,140 g ; 0,693 mmol) sont ajoutés. La solution est agitée de nouveau pendant 2 h à température ambiante. Le mélange est ensuite versé dans 200 mL d'une solution d'HCl à 3%. Le produit est alors extrait 3 fois au DCM. La phase organique est ensuite lavée 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est ensuite séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. Le produit est purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 60 : 40). On obtient 0,260 g de produit, soit 85 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

• Voie B : À une solution de 5-(4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) **9** (0,200 g ; 0,277 mmol) et d'hydroxyde de potassium (0,400 g ; 7,129 mmol) dans 4 mL de DMSO est ajouté goutte à goutte, sous atmosphère de diazote à 60 °C, une solution de TMHI **10** (0,168 g ; 0,832 mmol) dans 2 mL de DMSO. La solution est agitée à 80 °C pendant pendant 4 h. De l'hydroxyde de potassium (0,400 g ; 7,129 mmol) et du TMHI (0,050 g ; 0,247 mmol) sont ajoutés. La solution est agitée de nouveau pendant 2 h à 80 °C. Le mélange est ensuite versé dans 150 mL d'une solution d'HCl à 3%. Le produit est alors extrait 3 fois au DCM. La phase organique est ensuite lavée 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est ensuite séchée sur $MgSO_4$

puis évaporée. Le produit est purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 60 : 40). On obtient 0,143 g de produit, soit 70 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 4,29 (s, 2H) ; 6,40 (s, 1H) ; 7,52 (m, 1H) ; 7,76 (m, 9H) ; 8,15 (m, 3H) ; 8,27 (m, 4H) ; 8,75 (m, 2H) ; 8,85-9,04 (m, 6H)

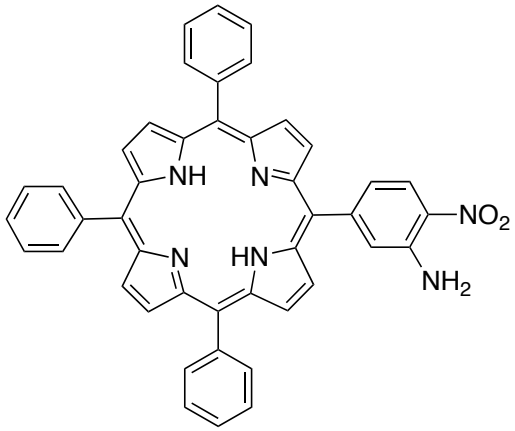
- MALDI/TOF MS : *m/z* = 736,07 $[M]^{+\bullet}$ ($C_{44}H_{28}N_6O_2Zn^{+\bullet}$ Masse Exacte : 736,16)

5-(3-amino-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (12)

Formule brute : $C_{44}H_{30}N_6O_2$

Masse exacte : 674,24

Masse moléculaire : 674,75

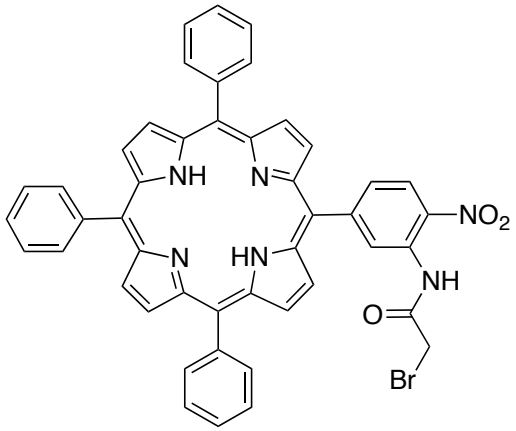


À une solution de 5-(3-amino-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) **11** (0,500 g ; 0,677 mmol) dans 140 mL de DCM est ajouté 28 mL de TFA. La solution est agitée à température ambiante pendant 3,5 h puis du $NaHCO_3$ solide est ajouté par portion jusqu'au changement de coloration. Le mélange est filtré puis le filtrat est lavé 3 fois à l'eau puis avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est ensuite séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. On obtient 0,455 g de produit, soit 99 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^1H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,77 (s, 2H) ; 6,23 (se, 2H) ; 7,60 (m, 2H) ; 7,77 (m, 9H); 8,23 (m, 6H) ; 8,46 (m, 1H) ; 8,88 (m, 8H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 675,01 $[M+H]^+$ ($C_{44}H_{31}N_6O_2^+$ Masse Exacte : 675,25)

5-(3-(2-bromoacétamido)-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (13)



Formule brute : $C_{46}H_{31}BrN_6O_3$

Masse exacte : 794,16

Masse moléculaire : 795,68

Ce produit a été synthétisé en suivant le même protocole que pour le composé **4** en utilisant de la 5-(3-amino-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **12** (0,200 g ; 0,296 mmol), de la DIPEA (72 µL ; 56,3 mg ; 0,436 mmol) et du bromure de bromoacétyle (52,0 µL ; 0,120 g ; 0,595 mmol) dans 20 mL de DCM. Le produit est purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 80 : 20). On obtient 0,152 g de produit final, soit un rendement de 64 % sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,84 (s, 2H) ; 4,00 (s, 2H) ; 7,77 (m, 9H) ; 8,11 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H) ; 8,22 (m, 6H) ; 8,61 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H) ; 8,97 (m, 8H) ; 9,61 (s, 1H) ; 11,49 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 795,03 $[M+H]^+$ ($C_{46}H_{32}BrN_6O_3^+$ Masse Exacte : 795,17)

- HR-MS ESI : *m/z* = 795,1711 $[M+H]^+$ ($C_{46}H_{32}BrN_6O_3^+$: Masse exacte : 795,1714)

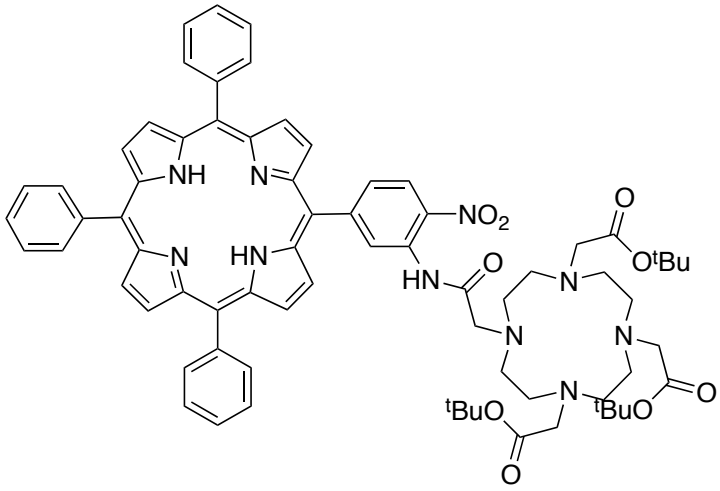
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 417 (288) ; 516 (16) ; 553 (8) ; 590 (5) ; 649 (4)

5-(3-(DO3A^{t}Bu)acétamido-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (14)

Formule brute : $C_{72}H_{80}N_{10}O_9$

Masse exacte : 1228,61

Masse moléculaire : 1229,47



Ce produit a été synthétisé en suivant le même protocole que pour le composé **5** en utilisant de la 5-(3-(2-bromoacétamido)-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **13** (0,100 g ; 0,126 mmol), du K_2CO_3 (70,0 mg ; 0,507 mmol) et du DO3A^{t}Bu (65,0 mg ; 0,126 mmol) dans 20 mL de DMF. Le produit est purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / MeOH 90 : 10). On obtient 0,109 g de produit, soit 70 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,93 (s, 2H) ; 1,14 (s, 18H) ; 1,43 (s, 9H) ; 2,58-3,58 (m, 24H) ; 7,85 (m, 9H) ; 8,11-8,27 (m, 7H) ; 8,44-8,49 (m, 2H) ; 8,83 (m, 8H) ; 10,73 (s ; 1H)

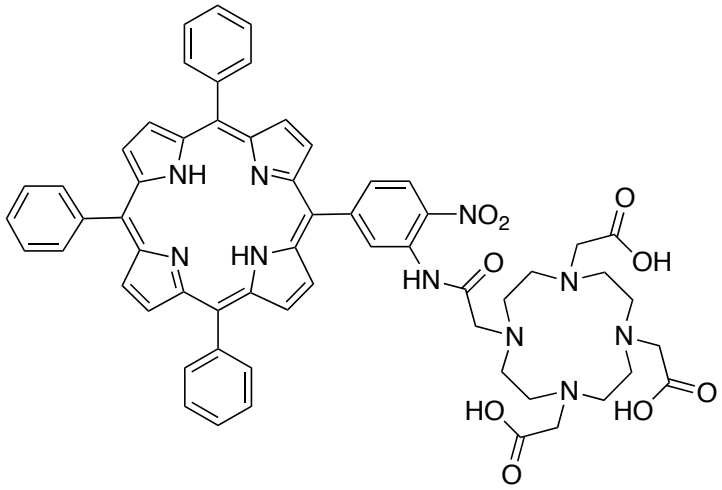
- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1267,66 $[M+K]^+$ ($C_{72}H_{80}KN_{10}O_9^+$ Masse Exacte : 1267,58)

5-(3-(DO3A)acétamido-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (15)

Formule brute : $C_{60}H_{56}N_{10}O_9$

Masse exacte : 1060,42

Masse moléculaire : 1061,15

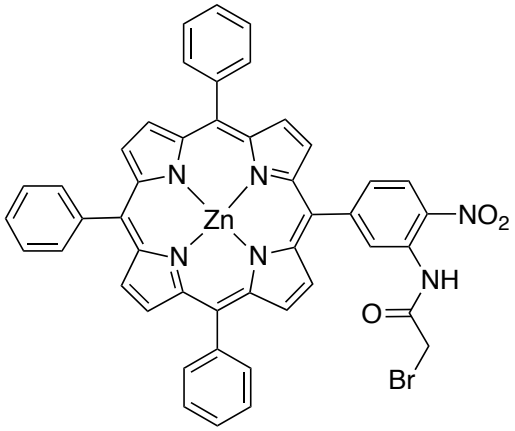


Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **6** en utilisant de la 5-(3-(DO3A^{t}Bu)acétamido-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **14** (0,109 g ; 88,7 µmol), et du TFA (4 mL) dans 20 mL de DCM. On obtient 94 mg de produit, soit 99 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline bleu-verte.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 300 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = -2,75 (s, 2H) ; 3,07 (m, 16H) ; 3,69 (m, 6H), 3,85 (s, 2H) ; 7,84 (m, 9H) ; 8,21 (m, 7H) ; 8,48 (m, 1H) ; 8,75 (m, 1H) ; 8,83 (m, 4H) ; 8,87 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H) ; 8,92 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H) ; 10,68 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1061,40 $[M+H]^+$ ($C_{60}H_{57}N_{10}O_9^+$ Masse Exacte : 1061,430)

5-(3-(2-bromoacétamido)-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) (16)



Formule brute : $C_{46}H_{29}BrN_6O_3Zn$

Masse exacte : 856,08

Masse moléculaire : 859,05

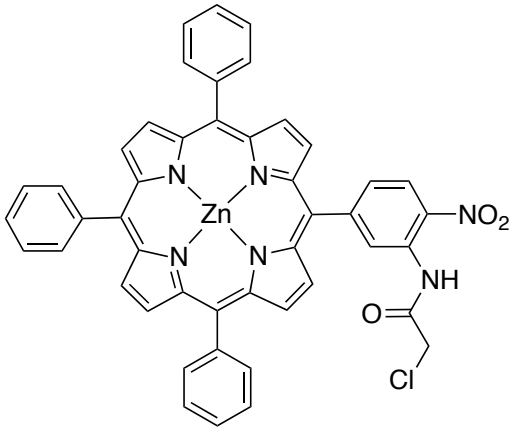
Ce produit a été synthétisé en suivant le même protocole que pour le composé **4** en utilisant de la 5-(3-amino-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) **11** (0,500 g ; 0,677 mmol), de la DIPEA (0,331 mL ; 0,259 g ; 2,00 mmol) et du bromure de bromoacétyle (0,170 mL ; 0,393 g ; 1,95 mmol) dans 10 mL de DCM. Le produit est purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 80 : 20). On obtient 0,411 g de produit, soit 71 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 4,00 (s, 2H) ; 7,77 (m, 9H) ; 8,11 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H) ; 8,22 (m, 6H) ; 8,61 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H) ; 8,97 (m, 8H) ; 9,61 (s, 1H) ; 11,49 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 856,07 $[M]^{+\bullet}$ ($C_{46}H_{29}BrN_6O_3Zn^{+\bullet}$ Masse Exacte : 856,08)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 419 (360) ; 550 (20) ; 590 (4)

5-(3-(2-chloroacétamido)-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) (17)



Formule brute : $C_{46}H_{29}ClN_6O_3Zn$

Masse exacte : 812,13

Masse moléculaire : 814,59

À une solution de 5-(3-amino-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) **11** (1,20 g ; 1,63 mmol) et de K_2CO_3 (1,37 g ; 9,91 mmol), dans 120 mL de DCM est ajouté du chlorure de chloroacétyle (0,168 mL ; 0,239 mg ; 2,11 mmol). Le mélange est agité à reflux pendant 3 h. Le mélange est ensuite filtré sur célite, lavé 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. Le produit est purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 70 : 30). On obtient 1,10 g de produit, soit 83 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 4,25 (s, 2H) ; 7,77 (m, 9H) ; 8,15 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H) ; 8,21 (m, 6H) ; 8,65 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H) ; 8,95 (m, 8H) ; 9,66 (s, 1H) ; 11,70 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 813,08 $[M+H]^+$ ($C_{46}H_{30}ClN_6O_3Zn^+$ Masse Exacte : 813,14)

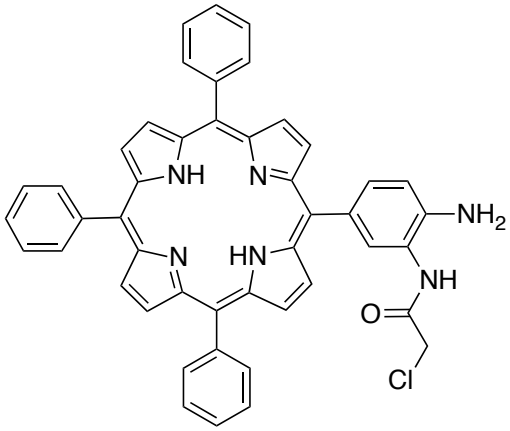
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 419 (343) ; 549 (19) ; 590 (4)

5-(3-chloroacétamide- 4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (18)

Formule brute : $C_{46}H_{33}ClN_6O$

Masse exacte : 720,24

Masse moléculaire : 721,25



À une solution de 5-3-(2-chloroacétamido)-4-nitrophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de zinc (II) **17** (0,700 g ; 0,859 mmol) dans 140 mL de HCl (12 N) est ajouté du chlorure d'étain (II) dihydraté (1,20 g ; 5,32 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 1,5 h puis versé dans 500 mL d'un mélange eau/glace. Le milieu est neutralisé par ajout de NaOH (1 M). Le produit est extrait par ajout de DCM. La phase organique est lavée 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée, séchée sur $MgSO_4$ puis évaporée. Le produit est ensuite purifié par colonne flash sur silice (gradient DCM / MeOH). On obtient 0,255 g de produit, soit 41 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,71 (s, 2H) ; 4,02 (s, 2H) ; 4,27 (s, 2H) ; 7,17 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H) ; 7,75 (m, 9H) ; 8,02 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H) ; 8,22 (m, 6H) ; 8,95 (m, 8H) ; 9,66 (s, 1H) ; 11,75 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 721,00 $[M+H]^+$ ($C_{46}H_{34}ClN_6O^+$ Masse Exacte : 721,25)

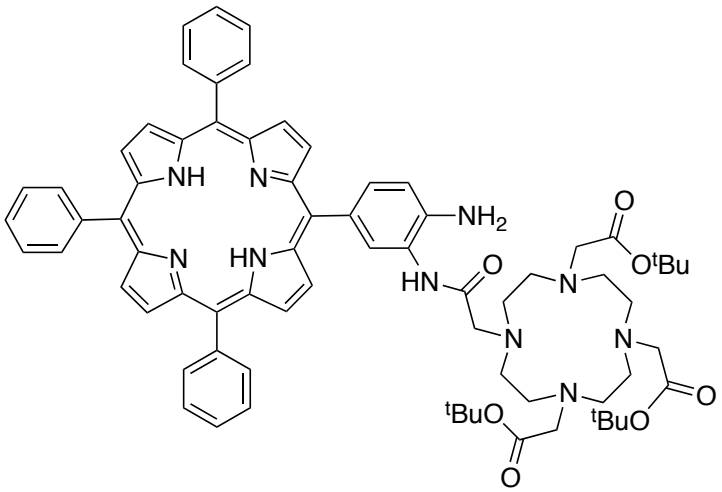
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 418 (285) ; 514 (15) ; 552 (8) ; 589 (4) ; 647 (4)

5-(3-(DO3A^{t}Bu)acétamido-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (19)

Formule brute : $C_{72}H_{82}N_{10}O_7$

Masse exacte : 1198,64

Masse moléculaire : 1199,48



Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **5** en utilisant de la 5-(3-chloroacétamide-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **18** (0,100 g ; 0,139 mmol), du K_2CO_3 (58,0 mg ; 0,420 mmol) et du DO3A^{t}Bu (78,0 mg ; 0,152 mmol) dans 25 mL de DMF pendant 3 h à 50 °C. On obtient 0,160 g de produit, soit 96 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 400 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = -2,61 (s, 2H) ; 1,21 (s, 9H) ; 1,46 (m, 18H) ; 2,85 (m, 16H) ; 2,91 (m, 6H) ; 3,39 (s, 2H) ; 7,21 (m, 1H) ; 7,82 (m, 9H) ; 7,98 (s, 1H) ; 8,11 (m, 1H) ; 8,18 (m, 6H) ; 8,75 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H) ; 8,78 (m, 4H) ; 8,94 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H) ; 9,52 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1221,73 $[M+Na]^+$ ($C_{72}H_{82}N_{10}NaO_7^+$ Masse Exacte : 1221,63)

- HR-MS ESI : *m/z* = 1221,6260 $[M+Na]^+$ ($C_{72}H_{82}N_{10}NaO_7^+$: Masse exacte : 1221,6260)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en L.mol^{-1}.cm^{-1}) = 419 (187) ; 515 (8) ; 552 (4) ; 593 (2) ; 650 (2)

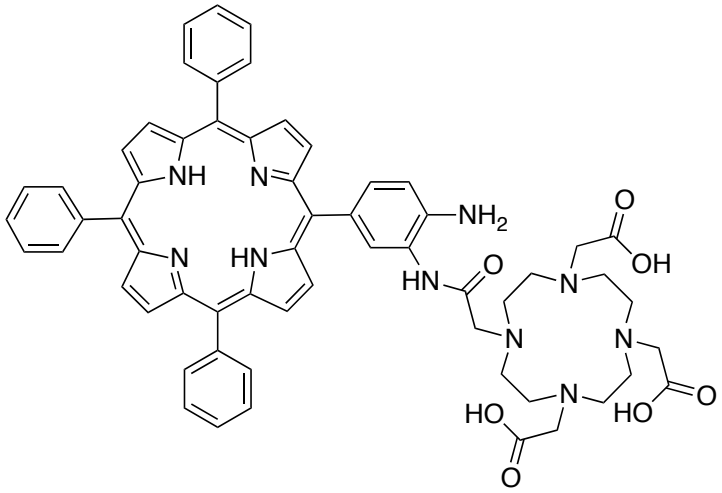
- IR : ν (cm^{-1}) = 1723 (intense, fine, ν $_{C=O\ (ester)}$), 1596 (intense, fine, ν $_{C=O\ (amide)}$)

5-(3-(DO3A)acétamido-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (20)

Formule brute : $C_{60}H_{58}N_{10}O_7$

Masse exacte : 1030,45

Masse moléculaire : 1031,17



Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **6** en utilisant de la 5-(3-(DO3A^{t}Bu)acétamido-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **19** (0,400 g ; 0,334 mmol), dans TFA (40 mL). On obtient 0,340 g de produit, soit 99 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline bleu-verte.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 330 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = -2,79 (s, 2H) ; 3,11 (m, 16H) ; 3,17 (m, 8H) ; 7,84 (m, 12H) ; 8,22 (m, 6H) ; 8,83 (m, 8H) ; 9,84 (s, 1H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1031,42 $[M+H]^+$ ($C_{60}H_{59}N_{10}O_7^+$ Masse Exacte : 1031,46)

- HR-MS ESI : *m/z* = 1029,4404 $[M-H]^-$ ($C_{60}H_{57}N_{10}O_7^-$: Masse exacte : 1029,4406)

- UV–visible (H_2O/DMSO 9 : 1) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en L.mol^{-1}.cm^{-1}) = 426 (85) ; 520 (11) ; 556 (7) ; 592 (5) ; 649 (4)

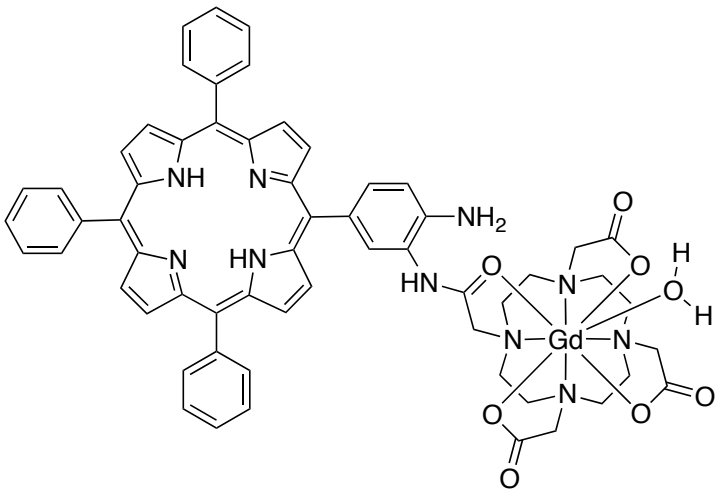
- IR : ν (cm^{-1}) = 1667 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (acide\ carboxylique)}$)

5-(3-DO3AAM-gadolinium(III)-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (21)

Formule brute : $C_{60}H_{56}GdN_9O_8$

Masse exacte : 1203,36

Masse moléculaire : 1203,41



Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **7** en utilisant de la 5-(3-(DO3A)acétamido-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **20** (0,100 g ; 0,097 mmol) et du $Gd(NO_3)_3.5H_2O$ (0,046 g ; 0,107 mmol) dans 20 mL de d'eau ultrapure et 2 mL de DMSO. On obtient 0,045 g de produit, soit 45 % de rendement, sous forme d'une poudre rouge.

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1186,20 $[M\text{-}H_2O+H]^+$ ($C_{60}H_{56}GdN_{10}O_7^+$ Masse Exacte : 1186,36)

- HR-MS ESI : *m/z* = 1208,3416 $[M+Na]^+$ ($C_{60}H_{56}GdN_9NaO_8^+$: Masse exacte : 1208,3388)

- UV–visible (H_2O/DMSO 9 : 1) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 426 (85) ; 520 (11) ; 556 (7) ; 592 (5) ; 649 (4)

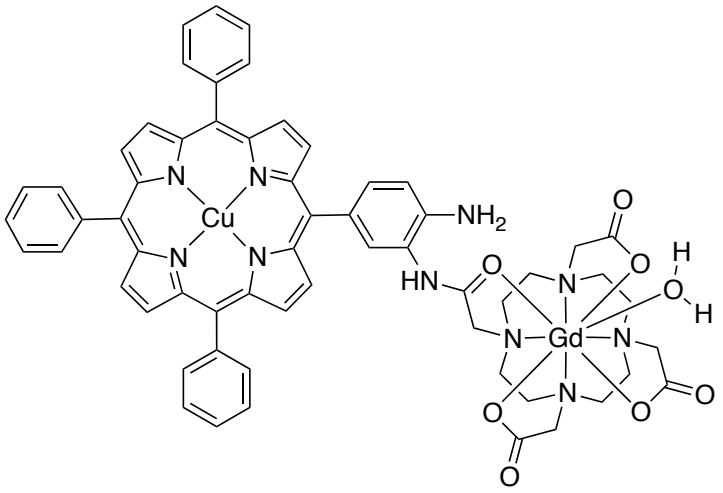
- IR : ν (cm^{-1}) = 1596 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (carboxylate)}$)

5-(3-DO3AAM-gadolinium(III)-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de cuivre (II) (22)

Formule brute : $C_{60}H_{55}CuGdN_{10}O_8$

Masse exacte : 1264,27

Masse moléculaire : 1264,94



Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **8** en utilisant de la 5-(3-DO3AAM-gadolinium(III)-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **21** (0,020 g ; 0,017 mmol) et 416 uL d'une solution titrée de $Cu(NO_3)_2$ (0,031 g ; 0,166 mmol) dans 10 mL de MeOH. On obtient 0,013 g de produit, soit 62 % de rendement, sous forme d'une poudre rouge.

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1247,38 $[M\text{-}H_2O+H]^+$ ($C_{60}H_{54}CuGdN_{10}O_7^+$ Masse Exacte : 1247,27)

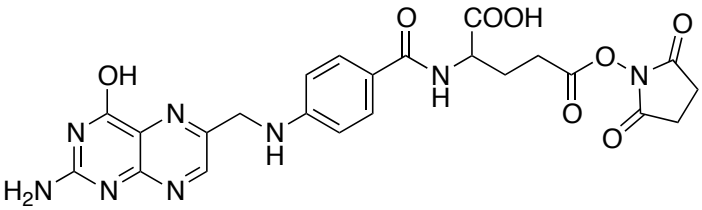
- HR-MS ESI : *m/z* = 1269,2566 $[M+Na]^+$ ($C_{60}H_{55}CuGdN_{10}NaO_7^+$: Masse exacte : 1269,2528)

- UV–visible (H_2O/DMSO 9 : 1) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 427 (99) ; 543 (14) ; 580 (6)

- IR : ν (cm^{-1}) = 1596 (intense, fine, $\nu_{C=O\ (carboxylate)}$)

Acide folique NHS (23)

Formule brute : $C_{23}H_{22}N_8O_8$



Masse exacte : 538,156

Masse moléculaire : 538,470

À une solution d'acide folique (0,125 g ; 0,283 mmol) dans 4 mL de DMSO sec est ajouté du DCC (0,076 mg ; 0,368 mmol) et du NHS (0,036 mg ; 0,313 mmol). Le milieu est placé sous atmosphère de diazote et agité pendant 16 h à température ambiante. Le milieu réactionnel est ensuite filtré puis 25 mL d'un mélange acétone/éther diéthylique (3 : 7) aux eaux-mères. Celles-ci sont ensuite filtrées et le solide est lavé avec de l'éther diéthylique puis secher au dessiccateur. On obtient 0,122 mg de produit, soit un rendement de 80 %.

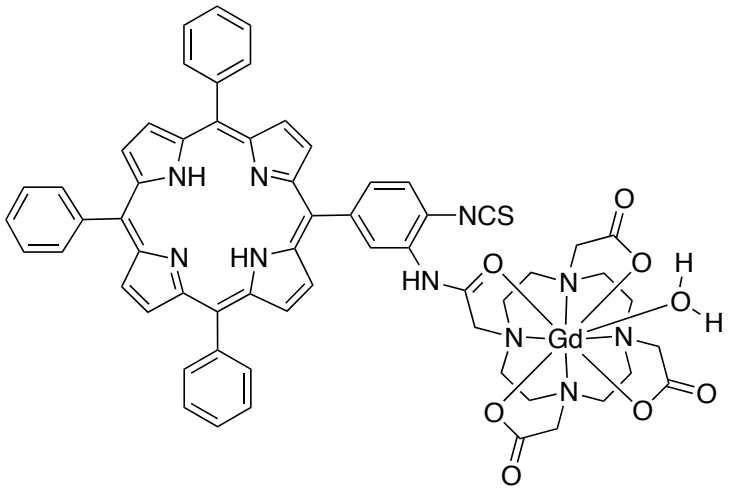
- MALDI/TOF MS : m/z = 539,27 $[M+H]^+$ ($C_{23}H_{23}N_8O_8^+$ Masse Exacte : 539,16)

5-(3-(DO3A)acétamido, 4-isocyanatophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (24)

Formule brute : $C_{61}H_{55}GdN_{10}O_8S$

Masse exacte : 1245,317

Masse moléculaire : 1245,467



À une solution de 5-(3-DO3AAM-gadolinium(III)-4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (21) (5,00 mg ; 4,16 µmol) dans 1 mL d'eau est ajouté goutte-à-goutte un solution de thiophosgène. (1,9 µL ; 2,85 mg ; 24,8 µmol) dans 0,2 mL de DCM. Le mélange est agité vigoureusement à température ambiante pendant 1 h. On sépare ensuite les deux phases, puis la phase aqueuse est lavé 3 fois avec du DCM. Celle-ci est ensuite lyophilisée. On obtient 3,00 mg de produit, soit 60 % de rendement, sous forme d'une poudre marron.

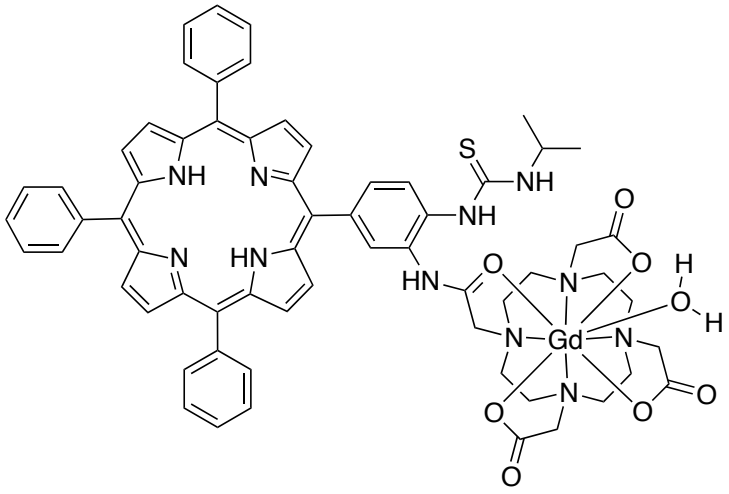
- MALDI/TOF MS : m/z = 1325,24 $[M\text{-}H_2O+K]^+$ ($C_{64}H_{62}GdKN_{11}O_7S^+$ Masse Exacte : 1325,34)

5-(3-(DO3A)acétamido, 4-(3-isopropylthiouréido)phényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (25)

Formule brute : $C_{64}H_{64}GdN_{11}O_8S$

Masse exacte : 1304,390

Masse moléculaire : 1304,577

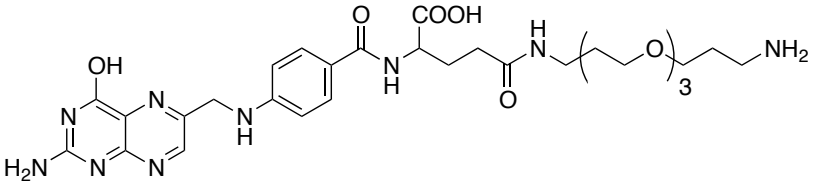


À une solution de 5-(3-DO3AAM-gadolinium(III)-4-isocyanatophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (**24**) (3,00 mg ; 2,41 µmol) dans 1 mL de DMF est de l'isopropylamine (30 µL ; 20,6 mg ; 0,349 mmol). Le mélange est agité vigoureusement à température ambiante pendant 1 h. Le solvant et l'isopropylamine en excès sont ensuite évaporé sous pression réduite. On obtient 3,00 mg de produit, soit 95 % de rendement, sous forme d'une poudre rouge.

- MALDI/TOF MS : m/z = 1325,24 $[M\text{-}H_2O+K]^+$ ($C_{64}H_{62}GdKN_{11}O_7S^+$ Masse Exacte : 1325,34)

Acide folique TOTA (26)

Formule brute : $C_{29}H_{41}N_9O_8$



Masse exacte : 643,308

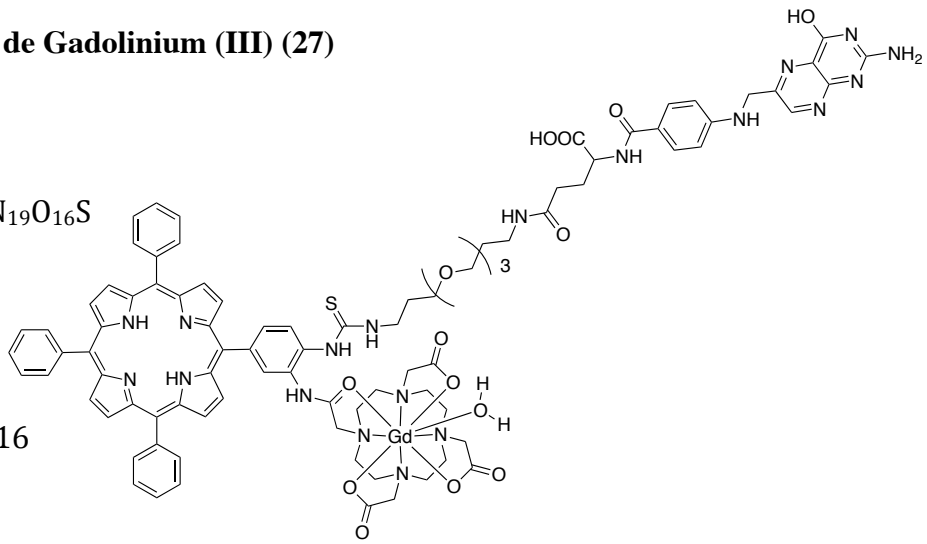
Masse moléculaire : 643,691

À une solution d'acide folique NHS (200 mg ; 371,4 µmol) et de triéthylamine (207 µmol ; 150 mg ; 1,48 mmol) dans 50 mL de DMSO sec est ajouté du Fmoc-TOTA.HCl (180 mg ; 375,8 µmol). Le mélange est agité pendant 120 h à température ambiante. De la pipéridine (10,0 mL ; 8,62 g ; 101,23 mmol) est ensuite ajoutée au mélange. La solution est agitée pendant 1 h à température ambiante. Le milieu réactionnel est ensuite filtré puis le produit est isolé par précipitation des eaux mères par ajout de 25 mL d'un mélange acétone/éther diéthylique (3 : 7). Le solide est lavé avec de l'éther diéthylique puis séché au dessiccateur. On obtient 158 mg de produit, soit un rendement de 66 %.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, DMSO-d6) : δ (ppm) = 1,24 (m, 2H) ; 1,60 (m, 2H) ; 1,78 (m, 2H) ; 2,08 (m, 2H) ; 2,31 (m, 2H) ; 2,54 (m, 4H) ; 2,84 (m, 2H) ; 3,49 (m, 7H) ; 3,08 (m, 2H) ; 4,30 (m, 2H) ; 4,48 (m, 2H) ; 6,64 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H) ; 6,91 (m, 2H) ; 7,64 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H) ; 7,80 (m, 1H) ; 8,64 (s, 1H)

- HR-MS ESI : *m/z* = 644,3147 $[M+H]^+$ ($C_{29}H_{42}N_9O_8^+$ Masse Exacte : 644,31509)

Folate-Porphyrine-DOTA de Gadolinium (III) (27)



Formule brute : $C_{90}H_{96}GdN_{19}O_{16}S$

Masse exacte : 1888,62

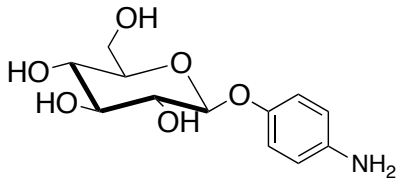
Masse moléculaire : 1889,16

Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **25** en utilisant de la 5-(3-DO3AAM-gadolinium(III)-4-isocyanatophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **24** (5,00 mg ; 6,23 µmol) et de l'acide folique TOTA **26** (4,00 mg ; 6,21 µmol) dans 1 mL de DMF.

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1871,33 $[M\text{-}H_2O+Na]^+$ ($C_{90}H_{95}GdN_{19}O_{15}S^+$ Masse Exacte : 1871,62)

4-Aminophényl β-D-glucopyranoside (28)

Formule brute : $C_{12}H_{17}NO_6$



Masse exacte : 271,106

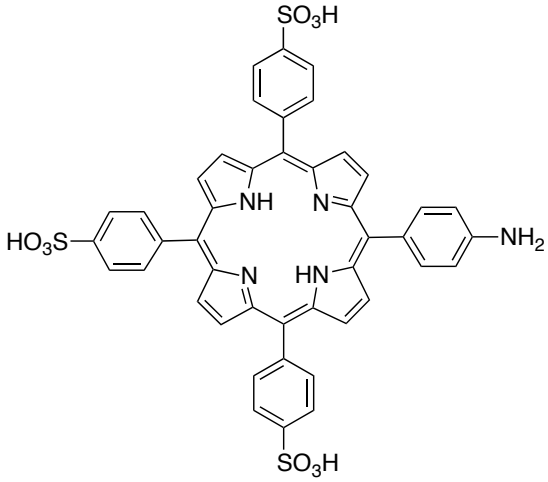
Masse moléculaire : 271,266

À une solution de 4-nitrophényl β-D-glucopyranoside (100 mg ; 332,0 µmol) dans 12,5 mL de MeOH, est ajouté 50 mg de palladium sur charbon (10 %). La solution est placée sous atmosphère de dihydrogène et laissée sous agitation à température ambiante pendant 2 h. La solution est ensuite filtrée sur clarcel puis le solvant est évaporé sous pression réduite. On obtient 90 mg de produit final, soit 99 % de rendement sous forme d'une poudre cristalline blanc crème.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, DMSO-d6) : δ (ppm) = 3,16 (m, 4H,) ; 3,45 (m, 1H) ; 3,68 (dd, *J* = 12,0 Hz, *J* = 4,9 Hz, 1H) ; 4,50 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H) ; 4,57 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H) ; 4,66 (s, 2H) ; 4,93 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H) ; 4,99 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H) ; 5,17 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H) ; 6,48 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H) ; 6,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H)

- ESI MS : *m/z* = 292,76 $[M+Na-2H]^-$ ($C_{12}H_{15}NNaO_6^-$ Masse Exacte : 292,08)

5-(4-aminophényl)-10, 15, 20-tris(sulfonatophényl)porphyrine (29)



Formule brute : $C_{44}H_{31}N_5O_9S_3$

Masse exacte : 869,13

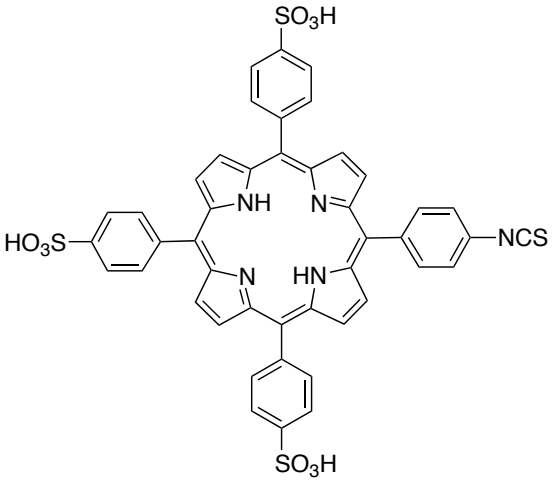
Masse moléculaire : 869,94

La 5-(4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (0,400 mg ; 0,635 mmol) est mise en solution dans 40 mL d'acide sulfurique. Le mélange est agité à 80 °C pendant 15 h. La solution est versée dans 350 mL d'eau puis elle est centrifugée et le surnageant est éliminé. Le résidu solide est repris dans 10 mL d'eau et centrifugé à nouveau. L'opération est répétée jusqu'à ce que les eaux de lavage aient un pH de 3. Le produit est alors recristallisé à chaud dans l'éthanol, filtré et séché au dessiccateur. On obtient 0,524 g de produit final, soit 95 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline bleue-verte.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 400 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = 7,41 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz), 8,15 (m, 6H) ; 8,22 (m, 8H) ; (8,80 (m, 8H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 870,03 $[M+H]^+$ ($C_{44}H_{32}N_5O_9S_3^+$ Masse Exacte : 870,14)

5-(4-isothiocyanatophényl)-10, 15, 20-tris(sulfonatophényl)porphyrine (30)



Formule brute : $C_{45}H_{29}N_5O_9S_4$

Masse exacte : 911,09

Masse moléculaire : 912,00

La 5-(4-aminophényl)-10, 15, 20-tris(sulfonatophényl)porphyrine **30** (150 mg ; 0,172 mmol) est mise en solution dans 20 mL d'eau et le pH est ajusté à 7 par ajout de NaOH (1 M puis 0,1 M). Une solution de thiophosgène (75 µL ; 112,5 mg ; 978,4 µmol) dans 15 mL de DCM est ajoutée goutte-à-goutte sous agitation forte à 0 °C. Le mélange est ensuite agité pendant 1,5 h à température ambiante. Les phases sont ensuite séparées et la phase aqueuse est lavée 3 fois au DCM. La phase aqueuse est placée sous pression réduite afin d'évaporer les traces de DCM et de thiophosgène restantes. La solution est ensuite lyophilisée. On obtient 145 mg de produit final, soit un rendement de 92 %, sous forme d'une poudre cristalline bleue-verte.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 400 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = 7,81 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H) ; 8,09 (d, *J* = 7,7 Hz, 6H) ; 8,14 (d, *J* = 7,7 Hz, 6H) ; 8,27 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H) ; 8,81 (m, 2H) ; 8,85 (m, 6H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 912,07 $[M+H]^+$ ($C_{45}H_{30}N_5O_9S_4^+$ Masse Exacte : 912,09)

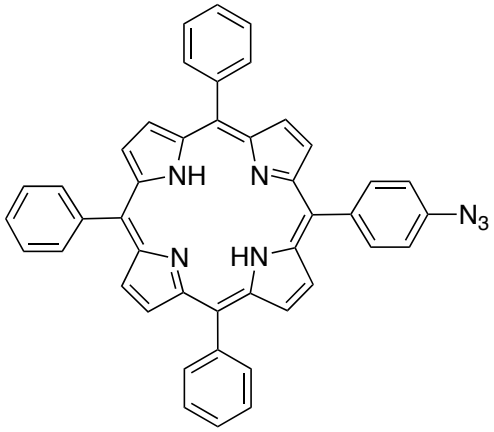
- UV–visible (DMSO) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en L.mol^{-1}.cm^{-1}) = 420 (154) ; 518 (8) ; 553 (5) ; 593 (3) ; 648 (3)

5-(4-azidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine (31)

Formule brute : $C_{44}H_{29}N_7$

Masse exacte : 655,25

Masse moléculaire : 655,75



À une solution de 5-(4-aminophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **3** (300 mg ; 0,476 mmol) dans 3 mL de TFA est ajoutée sous agitation à 0 °C une solution de nitrite de sodium (75 mg ; 1,09 mmol) dans 1,5 mL d'eau. Le mélange est agité 10 min à 0 °C puis une solution d'azoture de sodium (150 mg ; 2,30 mmol) dans 1,5 mL d'eau. Le mélange est agité 45 min à température ambiante. Le produit est ensuite extrait avec 100 mL de DCM, lavé 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée, séché sur $MgSO_4$ puis évaporé. Le produit est purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM / Heptane 70: 30). On obtient 155 g de produit, soit 50 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,75 (s, 2H) ; 7,44 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H) ; 7,78 (m, 9H) ; 8,22 (m, 8H) ; 8,87 (m, 8H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 629,94 $[M\text{-}N_2\text{+}2H]^+$ ($C_{44}H_{31}N_5^+$ Masse Exacte : 629,93)

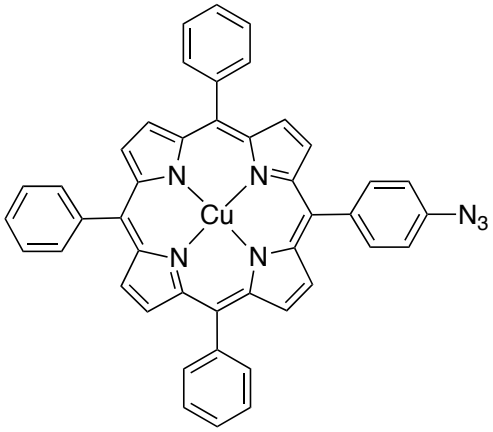
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 414 (319) ; 515 (34) ; 550 (27) ; 589 (26) ; 648 (26)

5-(4-azidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de cuivre (II) (32)

Formule brute : $C_{44}H_{27}CuN_7$

Masse exacte : 716,16

Masse moléculaire : 717,28



À une solution de 5-(4-azidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **31** (100 mg ; 0,152 mmol) dans 15 mL de $CHCl_3$ est ajoutée une solution d'acétate de cuivre (II) (277 mg ; 1,39 mmol) dans 15 mL de méthanol. Le mélange est agité 12 h à température ambiante. Le mélange est lavé 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée, séché sur $MgSO_4$ puis évaporé. Le produit est ensuite purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM). On obtient 89,0 mg de produit, soit 82 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline rouge.

- HR-MS ESI : m/z = 716,1640 $[M]^{+\bullet}$ ($C_{44}H_{27}CuN_7^{+\bullet}$: Masse exacte : 716,1620)

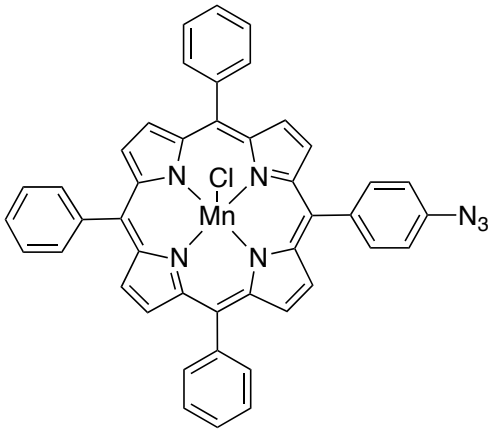
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 415 (421) ; 539 (16) ; 575 (1)

5-(4-azidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de manganèse (III) (33)

Formule brute : $C_{44}H_{27}ClMnN_7$

Masse exacte : 743,14

Masse moléculaire : 744,12



À une solution de 5-(4-azidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine **31** (100 mg ; 0,152 mmol) dans 6 mL de benzonitrile est ajoutée du chlorure de manganèse (II) tétrahydraté (91,0 mg ; 0,460 mmol). Le mélange est agité 1,5 h à reflux puis évaporé à sec. Le produit est repris dans 25 mL de dichlorométhane et lavé 3 fois avec de l'eau puis avec une solution de NaCl saturée, séché sur $MgSO_4$ puis évaporé. Le produit est ensuite purifié par colonne filtre de silice (éluant : DCM puis DCM / MeOH 97: 3). On obtient 60,0 mg de produit, soit 55 % de rendement, sous forme d'une poudre verte.

- MALDI/TOF MS : m/z = 707,96 $[M\text{-}Cl]^+$ ($C_{44}H_{27}MnN_7^+$ Masse Exacte : 708,17)

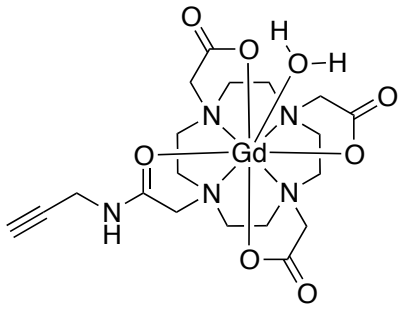
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 375 (43) ; 478 (90) ; 582 (5) ; 619 (7)

Propargyl-DOTA de gadolinium (III) (34)

Formule brute : $C_{19}H_{30}GdN_5O_8$

Masse exacte : 614,13

Masse moléculaire : 613,72



Du Propargyl-DOTA (160 mg ; 0,362 mmol) est dissout dans 8 mL d'eau ultrapure et le pH du milieu est ajusté à 8 par ajout d'une solution aqueuse de NaOH (1 M et 0,1 M). Puis une solution de nitrate de gadolinium (III) pentahydraté (176 mg ; 0,406 mmol) dans 1 mL d'eau ultrapure est ajoutée. Le mélange est agité 17 h à reflux. Le pH est contrôlé et ajusté à 7 avec une solution 0,1 M tout au long de la réaction. L'eau est ensuite évaporée puis le produit est repris dans un minimum de MeOH. Le produit est précipité par ajout d'Et_2O, filtré puis séché au dessiccateur. On obtient 207 mg de produit, soit 93 % de rendement, sous forme d'une poudre blanche.

- HR-MS ESI : *m/z* = 619,1102 $[M\text{-}H_2O+Na]^+$ ($C_{19}H_{28}GdN_5NaO_7^+$ Masse Exacte : 619,1126)

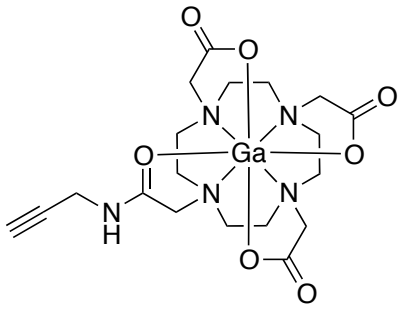
- IR : ν (cm^{-1}) = 1599 (très intense, fine, $\nu_{C=O}$)

Propargyl-DOTA de gallium (III) (35)

Formule brute : $C_{19}H_{28}GaN_5O_7$

Masse exacte : 507,12

Masse moléculaire : 508,18



À une solution de Propargyl-DOTA (100 mg ; 0,226 mmol) dans 58 mL d'une solution aqueuse d'acétate d'ammonium (pH = 4,5) est ajoutée une solution de nitrate de gallium (III) (579 mg ; 2,26 mmol) dans 2 mL d'une solution aqueuse d'acétate d'ammonium (pH = 4,5). Le mélange est agité 4 h à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé et le produit est purifié par chromatographie flash sur colonne C-18 (éluant : Eau / Acétonitrile 100 : 0 pendant 5 minutes puis Eau / Acétonitrile 0 : 100 pendant 30 minutes). On obtient 108 mg de produit, soit 94 % de rendement, sous forme d'une poudre blanche.

- MALDI/TOF MS : m/z = 507,76 $[M+H]^+$ ($C_{19}H_{29}GaN_5O_7^+$ Masse Exacte : 508,13)

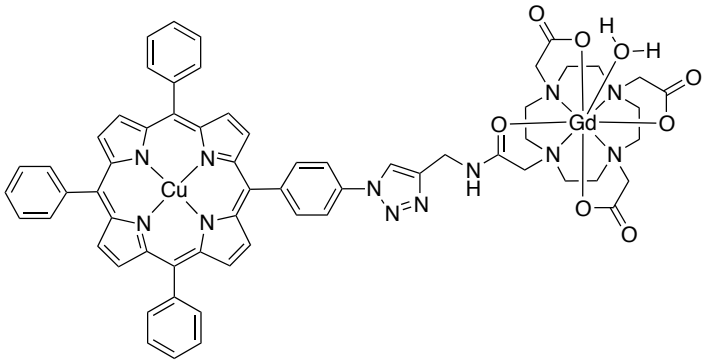
- HR-MS ESI : m/z = 508,1314 $[M+H]^+$ ($C_{19}H_{29}GaN_5O_7^+$ Masse Exacte : 508,1317)

Cu-porphyrine-Gd-DOTA (36)

Formule brute : $C_{63}H_{57}CuGdN_{12}O_8$

Masse exacte : 1330,30

Masse moléculaire : 1331,00



À une solution de 5-(4-azidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de cuivre (II) **32** (20,0 mg ; 27,9 µmol), de DIPEA (24,3 µL ; 18,0 mg ; 0,139 mmol)et de CuI (15,9 mg ; 83,7 µmol) dans 6 mL de DMF est ajouté du propargyl-DOTA de gadolinium (III) **34** (25,7 mg ; 41,9 µmol) dans un vial scellé. Le mélange est agité 30 minutes à 50 °C sous irradiations microondes (60 W). Le produit est ensuite concentré sous pression réduite puis précipité par ajout d'un minimum de DCM. Le mélange est ensuite filtré et le solide est lavé au DCM, avec une d'ammoniaque à 5,5 % puis avec de l'eau. On obtient 10,0 mg de produit, soit 27 % de rendement, sous forme d'une poudre cristalline violette.

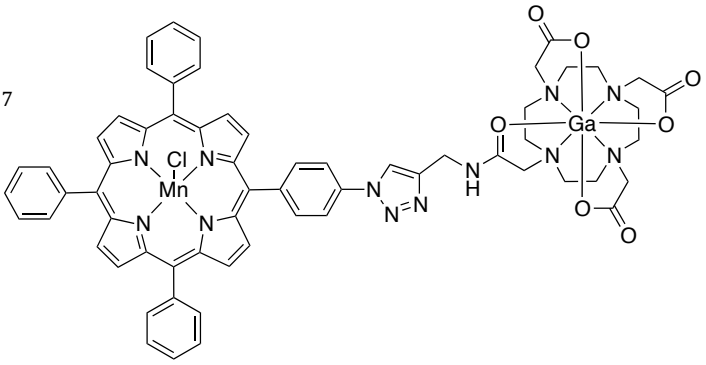
- MALDI/TOF MS : m/z = 1313,30 $[M\text{-}H_2O+H]^+$ ($C_{63}H_{56}CuGdN_{12}O_7^+$ Masse Exacte : 1313,29)

Mn-porphyrine-Ga-DOTA (37)

Formule brute : $C_{63}H_{55}ClGaMnN_{12}O_7$

Masse exacte : 1250,26

Masse moléculaire : 1252,30

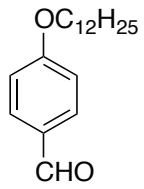


Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **36** en utilisant de la 5-(4-azidophényl)-10, 15, 20-triphénylporphyrine de manganèse (III) **33** (20,0 mg ; 26,9 µmol), de la DIPEA (23,4 µL ; 17,4 mg ; 0,134 mmol), du CuI (15,4 mg ; 80,7 µmol) et du propargyl-DOTA de gallium (III) **35** (20,5 mg ; 40,4 µmol) dans 6 mL de DMF. Le produit a été lavé avec une solution de NaCl saturé. On obtient 25,6 mg de produit final, soit un rendement de 76 % sous forme d'une poudre cristalline violette.

- MALDI/TOF MS : m/z = 1310,35 $[M\text{-}Cl+Na+K\text{-}H]^+$ ($C_{63}H_{54}GaKMnN_{12}NaO_7^+$ Masse Exacte : 1311,21)

4-dodécyloxybenzaldéhyde (38)

Formule brute : $C_{19}H_{30}O_2$



Masse exacte : 290,22

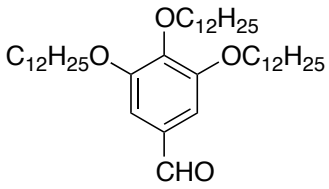
Masse moléculaire : 290,44

À une solution de 4-hydroxybenzaldéhyde (1,22 g ; 10,0 mmol), de K_2CO_3 (1,38 g ; 10,0 mmol) et de KI (0,033 g ; 0,200 µmol) dans 60 mL de DMF est ajouté du 1-bromododécane (5,00 mg ; 20,1 mmol). Le mélange est agité à 70 °C pendant 18 h. Le milieu réactionnel est ensuite refroidit à température ambiante puis mélangé avec 300 mL d'eau. Le produit est ensuite extrait 3 fois à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée 3 fois à l'eau puis avec une solution de NaCl saturée et est séchée sur $MgSO_4$. Le produit est ensuite purifié par colonne de silice (éluant : $CHCl_3$ / Heptane 50 : 50). On obtient 2,56 g de produit final, soit 88 % de rendement sous forme d'un solide jaune p le.

- RMN ^1H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 0,87 (t, *J* = 6,1 Hz, 3H) ; 1,26 – 1,44 (m, 16H) ; 1,45 – 1,47 (m, 2H) ; 1,80 – 1,83 (m, 2H) ; 4,02 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H) ; 6,99 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H) ; 7,88 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H) ; 9,88 (s, 1H)

3,4,5-tris(dodécyloxy)benzaldéhyde (39)

Formule brute : $C_{43}H_{78}O_4$



Masse exacte : 658,59

Masse moléculaire : 659,08

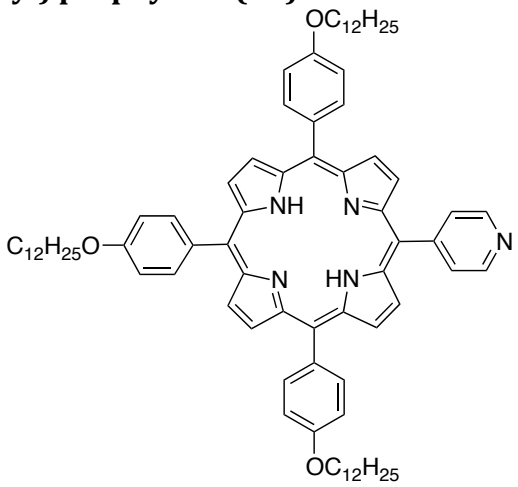
À une solution de 3,4,5-trihydroxybenzaldéhyde (1,54 g ; 10,0 mmol), de K_2CO_3 (4,16 g ; 30,1 mmol) et de KI (0,100 g ; 0,602 µmol) dans 60 mL de DMF est ajouté du 1-bromododécane (15,0 mg ; 60,2 mmol). Le mélange est agité à 70 °C pendant 18 h. Le milieu réactionnel est ensuite refroidit à température ambiante puis mélangé avec 300 mL d'eau. Le produit est ensuite extrait 3 fois au chloroforme. La phase organique est lavée 3 fois à l'eau puis avec une solution de NaCl saturée et est séchée sur $MgSO_4$. Le produit est ensuite purifié par colonne de silice (éluant : $CHCl_3$ / Heptane 40 : 60) puis recristallisé dans un mélange $CHCl_3$ / MeOH (2 : 1). On obtient 6,26 g de produit final, soit 95 % de rendement sous forme d'un solide blanc.

- RMN ^1H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 0,90 (t, *J* = 6,0 Hz, 9H) ; 1,29 (m, 48H) ; 1,47 (m, 6H) ; 1,87 (m, 6H) ; 4,06 (m, 6H) ; 7,10 (s, 2H) ; 9,85 (s, 1H)

Préparation des composés 40 et 41 :

À une solution de 4-dodécyloxyphénylbenzaldéhyde **38** (0,683 g ; 2,35 mmol) dans 30 mL d'acide propionique est ajouté du 5-(4-pyridyl)-dipyrrométhane (0,524 g ; 2,35 mmol). La solution est agitée à reflux pendant 2,5 h. Le mélange est ensuite versé lentement dans 60 mL de méthanol puis 60 mL d'une solution d'ammoniaque est ajouté lentement à froid. Le mélange est ensuite filtré puis le est purifié par colonne de silice (éluant : CH_2Cl_2 puis CH_2Cl_2 / MeOH 98 : 2). On obtient par ordre d'élution 130 mg de produit **40**, soit un rendement de 14 % et 175 mg de produit **41**, soit un rendement de 15 %.

5-(4-pyridyl)-10,15,20-tris(4-dodécyloxyphényl) porphyrine (40)



Formule brute : $C_{79}H_{101}N_5O_3$

Masse exacte : 1167,79

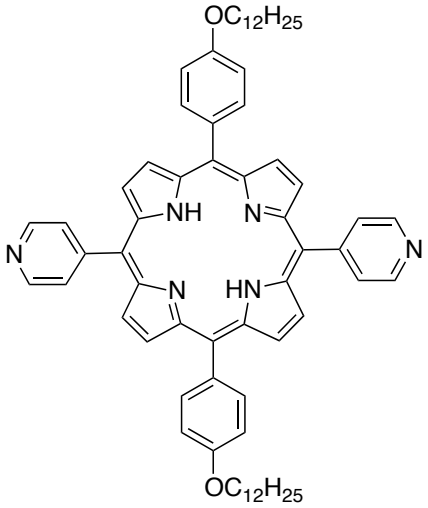
Masse moléculaire : 1168,68

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,75 (s, 2H) ; 0,92 (m, 9H) ; 1,43 (m, 48H) ; 1,64 (m, 6H) ; 1,99 (m, 6H) ; 4,27 (t, *J* = 6,0 Hz, 6H) ; 7,30 (d, *J* = 9,0 Hz, 6H) ; 8,13 (d, *J* = 9,0 Hz, 6H) ; 8,19 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H) ; 8,80 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H) ; 8,93 (m, 6H) ; 9,05 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H)

- MALDI/TOF HR-MS : *m/z* = 1168,8084 $[M+H]^+$ ($C_{79}H_{102}N_5O_3^+$ Masse Exacte : 1168,7977)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 421 (177) ; 517 (7) ; 555 (5) ; 592 (3) ; 650 (3)

5,15-di(4-pyridyl)-10,20-bis(4-dodécyloxyphényl) porphyrine (41)



Formule brute : $C_{66}H_{76}N_6O_2$

Masse exacte : 984,60

Masse moléculaire : 985,35

- RMN ^1H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,79 (s, 2H) ; 0,93 (t, J = 6,0 Hz, 6H) ; 1,44 (m, 32H) ; 1,66 (m, 4H) ; 2,04 (m, 4H) ; 4,27 (t, *J* = 6,0 Hz, 4H) ; 7,31 (d, *J* = 6,0 Hz, 4H) ; 8,12 (d, *J* = 9,0 Hz, 4H) ; 8,18 (d, *J* = 6,0 Hz, 4H) ; 8,83 (d, *J* = 3,0 Hz, 4H) ; 8,97 (d, *J* = 6,0 Hz, 4H) ; 9,06 (d, *J* = 6,0 Hz, 4H)

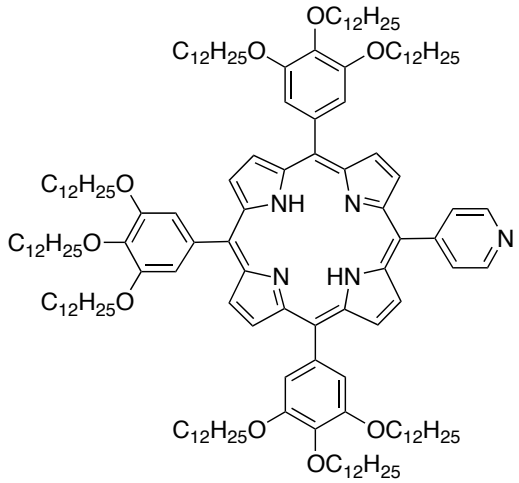
- MALDI/TOF MS : *m/z* = 985,61 $[M+H]^+$ ($C_{66}H_{77}N_6O_2^+$ Masse Exacte : 985,61)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 420 (162) ; 515 (7) ; 552 (4) ; 591 (2) ; 650 (2)

Préparation des composés 42 et 43 :

Ces produits ont été synthétisés et purifiés en suivant le même protocole que pour les composés **40** et **41** en utilisant du 3,4,5-tris(dodécyloxy)benzaldéhyde **39** (1,55 g ; 2,35 mmol), du 5-(4-pyridyl)-dipyrrométhane (0,524 g ; 2,35 mmol) dans 30 mL d'acide propionique. On obtient par ordre d'élution 143 mg de produit **42**, soit un rendement de 8 % et 182 mg de produit **43**, soit un rendement de 9 %.

5-(4-pyridyl)-10,15,20-tris[3,4,5-tris (dodécyloxy)phényl]porphyrine (42)



Formule brute : $C_{151}H_{245}N_5O_9$

Masse exacte : 2272,89

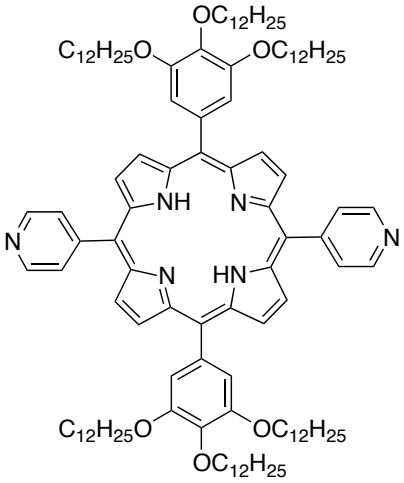
Masse moléculaire : 2274,59

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,80 (s, 2H) ; 0,90 (m, 27H) ; 1,25-1,72 (m, 162H) ; 1,88 (m, 12H) ; 2,07 (m, 6H) ; 4,12 (t, *J* = 6,3 Hz, 12H) ; 4,33 (t, *J* = 6,0 Hz, 6H) ; 7,45 (s, 6H) ; 8,16 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H) ; 8,79 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H) ; 9,00 (m, 8H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 2273,75 $[M+H]^+$ ($C_{151}H_{246}N_5O_9^+$ Masse Exacte : 2273,89)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 421 (350) ; 516 (18) ; 552 (9) ; 591 (5) ; 649 (4)

5,15-di(4-pyridyl)-10,20-bis[3,4,5-tris (dodécyloxy)phényl]porphyrine (43)



Formule brute : $C_{114}H_{172}N_6O_6$

Masse exacte : 1721,33

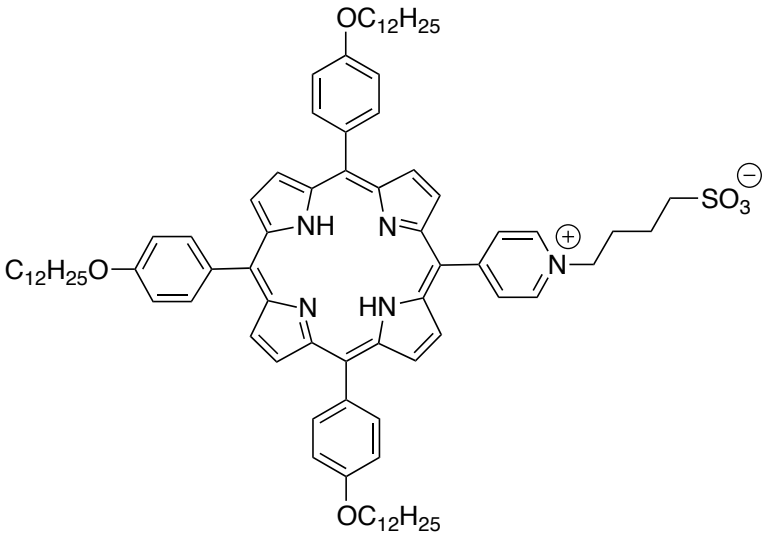
Masse moléculaire : 1722,62

- RMN ^1H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,82 (s, 2H) ; 0,85-0,95 (m, 18H) ; 1,25-1,67 (m, 108H) ; 1,90 (m, 8H) ; 2,01 (m, 4H) ; 4,12 (t, *J* = 6,0 Hz, 8H) ; 4,33 (t, *J* = 6,0 Hz, 4H) ; 7,45 (s, 4H) ; 8,19 (d, *J* = 6,0 Hz, 4H) ; 8,83 (d, *J* = 3,0 Hz, 4H) ; 9,06 (m, 8H)

- MALDI/TOF HR-MS : *m/z* = 1722,3385 $[M+H]^+$ ($C_{114}H_{173}N_6O_6^+$ Masse Exacte : 1722,3411)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 421 (449) ; 516 (23) ; 550 (9) ; 591 (7) ; 646 (5)

5-(*N*-(4-sulfonatobutyl)pyridinium-4-yl)-10,15,20-tris(4-dodécyloxyphényl) porphyrine (44)



Formule brute : $C_{83}H_{109}N_5O_6S$

Masse exacte : 1303,81

Masse moléculaire : 1304,85

À une solution de 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tris(4-dodécyloxyphényl)porphyrine **40** (50,0 mg ; 42,8 µmol) dans 5 mL de DMF est ajouté de la butane sultone (12,0 mg ; 85,6 µmol). La solution est agitée à reflux pendant 16 h. Le solvant est évaporé et le produit est purifié par colonne filtre (éluant : CH_2Cl_2 / MeOH 90 : 10). On obtient 23 mg de produit final, soit un rendement de 41 % sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,81 (s, 2H) ; 0,86 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H) ; 0,90 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H) ; 1,10-1,65 (m, 60H) ; 2,28 (s, 2H) ; 2,51 (s, 2H) ; 3,25 (s, 2H) ; 3,86 (s, 4H) ; 4,15 (s, 2H) ; 5,17 (s, 2H) ; 6,87 (s, 4H) ; 7,11 (s, 2H) ; 7,69 (s, 4H) ; 7,87 (s, 2H) ; 8,42 (s, 2H) ; 8,64 (s, 4H) ; 8,70 (s, 2H) ; 8,75 (s, 2H) ; 9,32 (s, 2H)

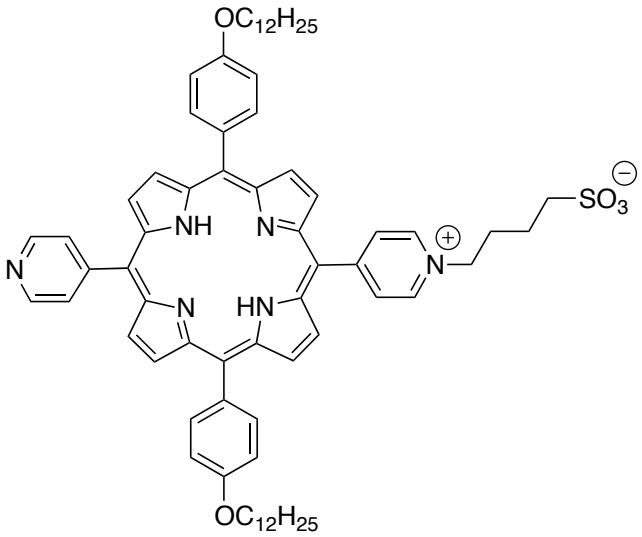
- MALDI/TOF HR-MS : *m/z* = 1304,8172 $[M+H]^+$ ($C_{83}H_{110}N_5O_6S^+$ Masse Exacte : 1304,8171)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 425 (124) ; 524 (10) ; 571 (11) ; 592 (8) ; 658 (6)

- IR : ν (cm^{-1}) = 3317 (faible, large, ν_{N-H}), 1241 (très intense, fine, $\nu_{S=O}$), 1173 (très intense, fine, $\nu_{S=O}$), 1036 (moyenne, fine, $\nu_{S=O}$)

- T_f (°C) = 191,8-194,2

5-(*N*-(4-sulfonatobutyl)pyridinium-4-yl)-15-(4-pyridyl)-10,20-bis(4-dodécyloxy phényl)porphyrine (45)



Formule brute : $C_{70}H_{84}N_6O_5S$

Masse exacte : 1120,62

Masse moléculaire : 1121,52

Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **44** en utilisant de la 5,15-bis(4-pyridyl)-10,20-bis(4-dodécyloxyphényl)porphyrine **41** (0,200 g ; 0,203 mmol), de la butane sultone (56,0 mg ; 0,406 mmol) dans 20 mL de DMF. On obtient 50,0 mg de produit final, soit un rendement de 22 % sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -3,02 (s, 2H,) ; 0,82 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H) ; 1,18 (m, 30H) ; 1,57 (m, 6H) ; 2,34 (s, 2H) ; 2,51 (s, 2H) ; 3,33 (s, 2H) ; 3,60 (s, 4H) ; 4,70 (s, 4H) ; 5,21 (s, 2H) ; 6,59 (s, 4H) ; 7,46 (m, 4H) ; 7,82 (s, 2H) ; 8,34 (s, 2H) ; 8,42-8,73 (m, 8H) ; 8,82 (s, 2H) ; 9,38 (s, 2H)

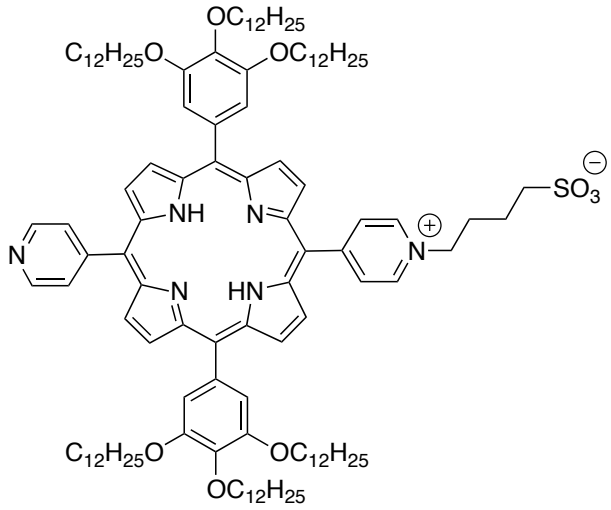
- MALDI/TOF HR-MS : *m/z* = 1121,6232 $[M+H]^+$ ($C_{70}H_{85}N_6O_5S^+$ Masse Exacte : 1121,6297)

- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 425 (115) ; 522 (9) ; 564 (7) ; 592 (4) ; 655 (4)

- IR : ν (cm^{-1}) = IR : ν (cm^{-1}) = 3315 (faible, large, ν_{N-H}), 1242 (très intense, fine, $\nu_{S=O}$), 1173 (très intense, fine, $\nu_{S=O}$), 1035 (moyenne, fine, $\nu_{S=O}$)

- T_f (°C) = 221,5-223,5

5-(*N*-(4-sulfonatobutyl)pyridinium-4-yl)-15-(4-pyridyl)-10,20-bis[3,4,5-tris (dodécyloxy)phényl]porphyrine (46)



Formule brute : $C_{118}H_{180}N_6O_9S$

Masse exacte : 1857,353

Masse moléculaire : 1858,792

Ce produit a été synthétisé et purifié en suivant le même protocole que pour le composé **44** en utilisant de la 5,15-bis(4-pyridyl)-10,20-bis[3,4,5-tris(dodécyl-oxy)phényl]porphyrine **43** (50,0 mg ; 29,0 µmol), de la butane sultone (8,00 mg ; 58,8 µmol) dans 5 mL de DMF. On obtient 17 mg de produit final, soit un rendement de 32 % sous forme d'une poudre cristalline violette.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = -2,85 (s, 1H) ; 0,82-0,91 (m, 30H) ; 1,18-1,38 (m, 72H) ; 1,48 (m, 18H) ; 1,66 (m, 2H) ; 1,73-1,89 (m, 16H) ; 1,97 (m, 2H) ; 4,01-4,11 (m, 16H) ; 4,30 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H) ; 6,91 (m, 2H) ; 7,17 (s, 2H) ; 7,33 (s, 1H) ; 7,41 (s, 2H) ; 7,72 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H) ; 8,17 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H) ; 8,79 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H) ; 8,83 (m, 2H) ; 9,01 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H) ; 9,04 (m, 2H) ; 10,40 (s, 1H)

- MALDI/TOF HR-MS : *m/z* = 1858,3640 $[M+H]^+$ ($C_{118}H_{181}N_6O_9S^{+\bullet}$ Masse Exacte : 1858,3605)

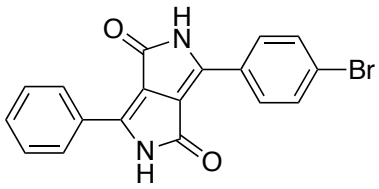
- UV–visible (DCM) : λ_{max} (nm) ($\varepsilon \times 10^{-3}$ en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) = 428 (116) ; 524 (12) ; 571 (6) ; 590 (4) ; 655 (5)

- IR : ν (cm^{-1}) = 3320 (faible, large, ν_{N-H}), 1232 (moyenne, fine, $\nu_{S=O}$), 1177 (moyenne, fine, $\nu_{S=O}$), 1036 (faible, fine, $\nu_{S=O}$)

- Tf (°C) = 223,5-225,3

3-(4-bromophényl)-6-phénylpyrrolo[3,4-c]pyrrole-1,4(2H,5H)-dione (47)

Formule brute : $C_{18}H_{11}BrN_2O_2$



Masse exacte : 366,00

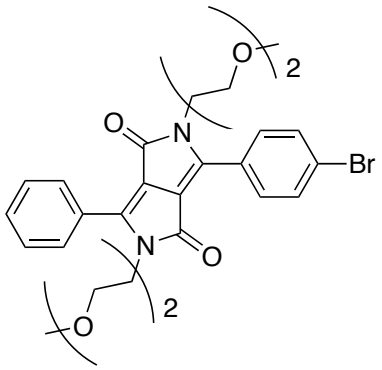
Masse moléculaire : 367,20

À une solution de chlorure de fer(III) anhydre (0,630 g ; 2,33 mmol) dans 100 mL de d'alcool *tert*-amylique sous atmosphère inerte est ajouté du sodium (2,00 g ; 87,0 mmol). La solution est agitée à reflux sous atmosphère inerte pendant 2 h. Puis est ajouté une solution contenant du 4-bromobenzonitrile (7,00 g ; 38,5 mmol) et de 4,5-dihydro-5-oxo-2-phénylpyrrole-3-carboxylate d'éthyle (9,00 g ; 38,9 mmol). Le mélange est alors agité à reflux sous atmosphère inerte pendant 2 h. Le mélange est ensuite refroidit à 60 °C et 30 mL d'acide acétique sont ajoutés à la solution. Le mélange est ensuite chauffé à 100 °C pendant 20 minutes. Le mélange est refroidi à TA puis filtré sur fritté. Le solide est alors lavé avec 3 fois 50 mL d'eau chaude puis avec 3 fois 50 mL d'éthanol. Le solide est séché sous vide. On obtient 6,40 g de produit final, soit un rendement de 46 % sous forme d'une poudre rouge.

- RMN ^{1}H (600 MHz, 360 K, DMSO-d_6) : δ (ppm) = 7,67 (m, 3H) ; 7,87 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H) ; 8,50 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H) ; 8,58 (m, 2H)

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 366,64 $[M+H]^+$ ($C_{18}H_{12}BrN_2O_2^+$ Masse Exacte : 367,01)

3-(4-bromophényl)-2,5-bis(2-(2-méthoxyéthoxy)éthyl)-6-phénylpyrrolo[3,4-c]pyrrole-1,4(2H,5H)-dione (48)



Formule brute : $C_{28}H_{31}BrN_2O_6$

Masse exacte : 570,14

Masse moléculaire : 571,46

À une solution de 3-(4-bromophényl)-6-phénylpyrrolo[3,4-c]pyrrole-1,4(2H,5H)-dione **47** (0,900 g ; 2,45 mmol) et de *tert*-butylate de potassium (0,232 g ; 2,07 mmol) sous atmosphère inerte dans 15 mL de NMP est ajouté du 1-bromo-2-(2-méthoxyéthoxy)éthane (1,00 mL ; 1,36 g ; 7,35 mmol). La solution est agitée à reflux sous atmosphère inerte pendant 48 h. Le mélange est ensuite versé dans 30 mL de toluène puis lavé 3 fois avec 50 mL d'eau puis avec une solution de NaCl saturée et séché sur $MgSO_4$. Le produit est ensuite purifié par colonne de silice (éluant : DCM / MeOH 98 : 2). On obtient 94 mg de produit final, soit un rendement de 7 % sous forme d'une poudre orange.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 3,34 (m, 6H) ; 3,47 (m, 4H) ; 3,57 (m, 4H) ; 3,81 (m, 4H) ; 4,01 (m, 4H) ; 7,94 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H) ; 8,00 (m, 3H) ; 8,08 (m, 1H) ; 8,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H) ; 8,29 (m, 2H)

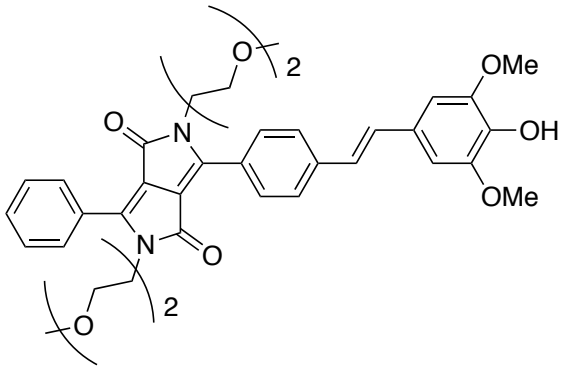
- MALDI/TOF MS : *m/z* = 570,82 $[M+H]^+$ ($C_{28}H_{32}BrN_2O_6^+$ Masse Exacte : 571,14)

(E)-3-(4-(4-Hydroxy-3,5-diméthoxystyryl)phényl)-2,5-bis(2-(2-méthoxyéthoxy)éthyl)-6-phénylpyrrolo[3,4-c]pyrrole-1,4-(2H,5H)-dione (49)

Formule brute : $C_{38}H_{42}N_2O_9$

Masse exacte : 670,29

Masse moléculaire : 670,75



À une solution de 3-(4-bromophényl)-2,5-bis(2-(2-méthoxyéthoxy)éthyl)-6-phénylpyrrolo[3,4-c]pyrrole-1,4(2H,5H)-dione **48** (0,500 g ; 0,878 mmol), de tri-o-tolylphosphine (160 mg ; 0,526 mmol) et d'acétate de palladium (II) (100 mg ; 0,446 mmol) dans 40 mL de DMF est ajouté 40 mL de triéthylamine fraîchement distillée. La solution est agitée à 50 °C sous atmosphère inerte pendant 1 h afin d'activer l'halogénure. Puis une solution 4-(tert-butyldiméthylsilanyloxy)-3,5-diméthoxystyrène (335 mg ; 1,13 mmol) dans 10 mL de triéthylamine fraîchement distillée est ajoutée. Le mélange est agité à reflux pendant 48 h. Le mélange est ensuite filtré sur célite puis dissout dans 50 mL de THF. Une solution de TBAF (460 mg ; 1,70 mmol) dans 5 mL de THF est ajoutée. Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 h puis versé dans une solution froide d'acide phosphorique. Le produit est ensuite extrait avec de l'acétate d'éthyle puis lavé 3 fois à l'eau puis avec une solution de NaCl saturée et séché sur $MgSO_4$. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est purifié par colonne de silice (éluant : DCM / MeOH 99 : 1). On obtient 450 mg de produit final, soit un rendement de 76 % sous forme d'une poudre orange.

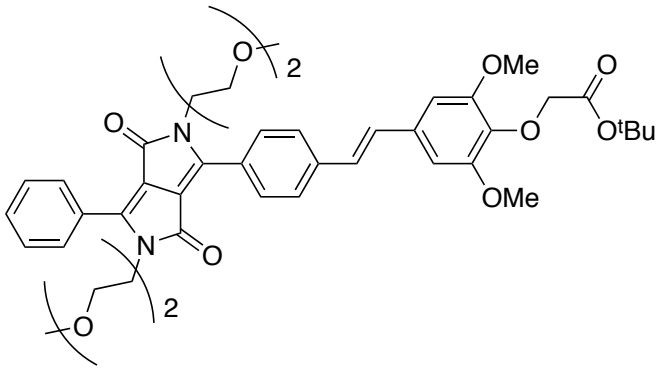
- MALDI/TOF MS : *m/z* = 671,08 $[M+H]^+$ ($C_{38}H_{43}N_2O_9^+$ Masse Exacte : 671,30)

Acétate de (E)-*tert*-Butyl-2-(4-(4-(2,5-bis(2-(2-méthoxyéthoxy)éthyl)-3,6-dioxo-4-phényl-2,3,5,6-tétrahydropyrrolo-[3,4-c]pyrrol-1-yl)styryl)-2,6-diméthoxyphénoxy) (50)

Formule brute : $C_{44}H_{52}N_2O_{11}$

Masse exacte : 784,36

Masse moléculaire : 784,89



À une solution de (E)-3-(4-(4-Hydroxy-3,5-diméthoxystyryl)phényl)-2,5-bis(2-(2-méthoxyéthoxy)éthyl)-6-phénylpyrrolo[3,4-c]pyrrole-1,4-(2H,5H)-dione **49** (0,300 g ; 0,447 mmol) et de carbonate de potassium (310 mg ; 2,25 mmol) dans 30 mL de DMF est ajouté du *tert*-butylbromoacétate (136 µL ; 180 mg ; 0,923 mmol). La solution est agitée à 90 °C pendant 48 h puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est purifié par colonne de silice (éluant : DCM / MeOH 98 : 2). On obtient 100 mg de produit final, soit un rendement de 28 % sous forme d'une poudre orange.

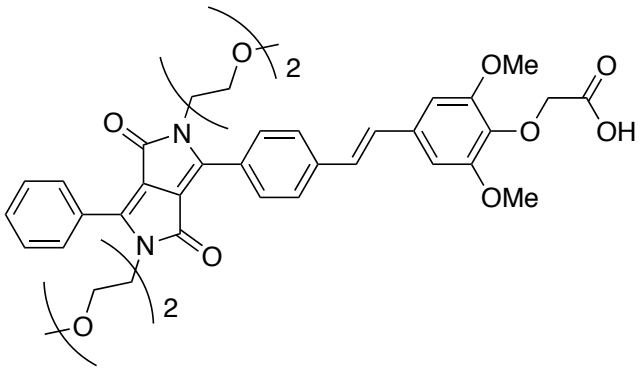
- MALDI/TOF MS : *m/z* = 785,23 $[M+H]^+$ ($C_{44}H_{53}N_2O_{11}^+$ Masse Exacte : 785,36)

Acide (E)-2-(4-(4-(2,5-Bis(2-(2-méthoxyéthoxy)ethyl)-3,6-dioxo-4-phényl-2,3,5,6-tétrahydropyrrolo[3,4-c]pyrrol-1-yl)styryl)-2,6-diméthoxyphénoxy)acétique (51)

Formule brute : $C_{40}H_{44}N_2O_{11}$

Masse exacte : 728,29

Masse moléculaire : 728,78



À une solution d'acétate de (E)-*tert*-Butyl-2-(4-(4-(2,5-bis(2-(2-méthoxyéthoxy)éthyl)-3,6-dioxo-4-phényl-2,3,5,6-tétrahydropyrrolo-[3,4-c]pyrrol-1-yl)styryl)-2,6-diméthoxyphénoxy) **50** (95,0 mg ; 0,121 mmol) dans 10 mL de DCM est ajouté 3 mL de TFA. La solution est agitée à température ambiante pendant 16 h puis le solvant est évaporé sous pression réduite. On obtient 85 mg de produit final, soit un rendement de 97 % sous forme d'une poudre orange.

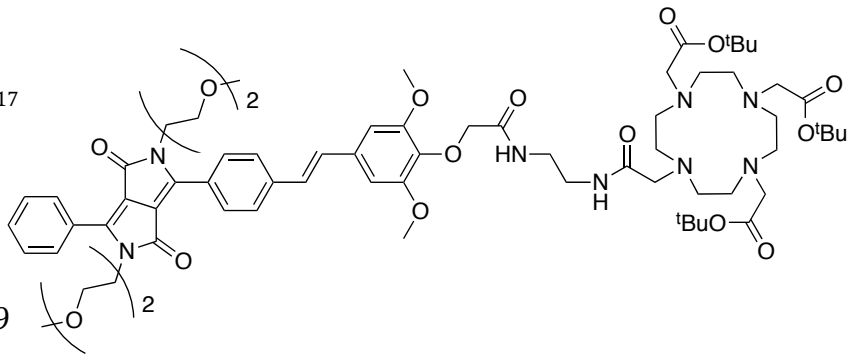
- MALDI/TOF MS : *m/z* = 729,56 $[M+H]^+$ ($C_{40}H_{45}N_2O_{11}^+$ Masse Exacte : 729,30)

DPP-DO3AtBu (52)

Formule brute : $C_{70}H_{100}N_8O_{17}$

Masse exacte : 1324,72

Masse moléculaire : 1325,59



À une solution d'acide (E)-2-(4-(4-(2,5-bis(2-(2-méthoxyéthoxy)éthyl)-3,6-dioxo-4-phényl-2,3,5,6-tétrahydropyrrolo[3,4-c]pyrrol-1-yl)styryl)-2,6-diméthoxyphénoxy) acétique **51** (10,0 mg ; 13,7 µmol), d'EDCI (2,10 mg ; 13,7 µmol) et d'HOBt (1,90 mg ; 13,7 µmol) dans 1 mL de DMF est ajouté du DO3AtBu-*N*-(2-aminoéthyl)éthanamide (8 mg, 13,0 mmol). La solution est agitée à TA pendant 2 h. Le solvant est évaporé puis le produit est purifié par colonne de silice (éluant : DCM / MeOH 90 : 10). On obtient 12 mg de produit final, soit un rendement de 66 % sous forme d'une poudre orange.

- RMN ^{1}H (300 MHz, 300 K, $CDCl_3$) : δ (ppm) = 1,25 (s, 9H) ; 1,47 (s, 18H) ; 1,68 (s, 4H) ; 2,04 (s, 2H) ; 2,17 (s, 2H) ; 2,26–2,78 (m, 16H) ; 2,89 (s, 2H) ; 2,96 (s, 2H) ; 3,34 (s, 3H) ; 3,35 (s, 3H) ; 3,47 (m, 4H) ; 3,56 (m, 4H) ; 3,76 (m, 4H) ; 3,99 (m, 10H) ; 4,55 (s, 2H) ; 6,76 (s, 2H) ; 7,06 (s, 1H) ; 7,08 (d, *J* = 13,5 Hz ; 2H) ; 7,52 (m, 3H) ; 7,63 (m, 2H) ; 8,00 (m, 4H) ; 8,21 (s, 1H) ; 9,27 (s, 1H).

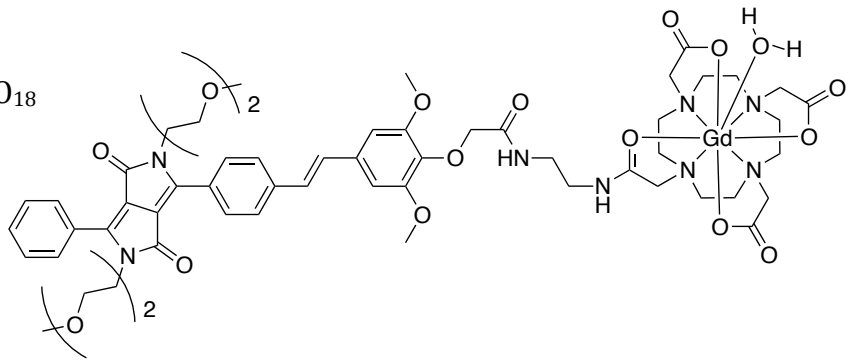
- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1347,54 $[M+Na]^+$, ($C_{70}H_{100}N_8NaO_{17}^+$ Masse Exacte : 1347,70)

DPP-DO3A-Gd (53)

Formule brute : $C_{58}H_{75}GdN_8O_{18}$

Masse exacte : 1329,44

Masse moléculaire : 1329,51



À une solution de DPP-DO3A^{t}Bu **52** (12 mg ; 9,05 µmol), dans 10 mL de DCM est ajouté 2 mL de TFA. La solution est agitée à TA pendant 15 h. Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite. Le résidu solide est repris dans 50 mL de DCM et est évaporé de nouveau. Cette opération est répétée quatre fois afin d'éliminer les sous-produits volatils. Le solide est alors dissous dans 0,2 mL de DMSO puis 2 mL d'eau ultrapure sont ajoutés. Le pH du milieu est ajusté à 7 par ajout d'une solution de NaOH (1 M et 0,1 M). On ajoute alors du $Gd(NO_3)_3.5H_2O$ (3,60 mg ; 8,27 µmol). Le pH est à nouveau ajusté à 7 par ajout d'une solution de NaOH (1 M et 0,1 M). Le mélange est agité pendant 16 h à 50 °C. Le milieu réactionnel est ensuite centrifugé et le surnageant est éliminé. Le résidu solide est repris dans 2 mL d'eau ultrapure et centrifugé à nouveau. Cette opération est répétée trois fois afin d'éliminer les sels de gadolinium en excès. Le produit est ensuite repris dans 2 mL d'eau ultrapure et lyophilisé. On obtient 9,20 mg de produit, soit 76 % de rendement, sous forme d'une poudre orange.

- MALDI/TOF MS : *m/z* = 1334,32 $[M\text{-}H_2O+Na]^+$, ($C_{58}H_{73}GdN_8NaO_{17}^+$ Masse Exacte : 1334,42)

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

1. Condeelis, J.; Weissleder, R. Csh Perspect Biol 2010, 2 (12).
2. Waterton, J. C. Medical Imaging: Overview and the Importance of Contrast. In Biomedical Imaging: The Chemistry of Labels, Probes and Contrast Agents, Braddock, M., Ed. RSC Drug Discovery Series 2011; Vol. 15, pp 1-20.
3. Major, J. L.; Meade, T. J. Accounts Chem Res 2009, 42 (7), 893-903.
4. Lurie, D. J.; Aime, S.; Baroni, S.; Booth, N. A.; Broche, L. M.; Choi, C. H.; Davies, G. R.; Ismail, S.; HOgain, D. O.; Pine, K. J. Cr Phys 2010, 11 (2), 136-148.
5. Macovski, A.; Conolly, S. Magn Reson Med 1993, 30 (2), 221-230.
6. Rosen, B. R.; Buckner, R. L.; Dale, A. M. P Natl Acad Sci USA 1998, 95 (3), 773-780.
7. Pierce, M. C.; Javier, D. J.; Richards-Kortum, R. Int J Cancer 2008, 123 (9), 1979-1990.
8. Licha, K. Top Curr Chem 2002, 222, 1-29.
9. Pansare, V. J.; Hejazi, S.; Faenza, W. J.; Prud'homme, R. K. Chem Mater 2012, 24 (5), 812-827.
10. Kaiser, W.; Garrett, C. G. B. Physical review letters 1961, 7, 229-231.
11. Göpper-Mayer, M. 1931, 401, 273-294.
12. Franken, P. A.; Hill, A. E.; Peters, C. W.; Weinreich, G. Phys. Rev. Lett. 1961, 7 (4), 118-119.
13. Freund, I.; Deutsch, M.; Sprecher, A. Biophys J 1986, 50, 693-712.
14. Reeve, J. E.; Anderson, H. L.; Clays, K. Phys Chem Chem Phys 2010, 12 (41), 13484-13498.
15. James, M. L.; Gambhir, S. S. Physiol Rev 2012, 92 (2), 897-965.
16. (a) Srinivas, M.; Melero, I.; Kaempgen, E.; Figdor, C. G.; de Vries, I. J. M. Contrast Media Mol I 2013, 8 (6), 432-438; (b) Catana, C.; Guimaraes, A. R.; Rosen, B. R. J Nucl Med 2013, 54 (5), 815-824.
17. (a) Louie, A. Y. Chem Rev 2010, 110 (5), 3146-3195; (b) Hu, Z.; Yang, W.; Liu, H.; Wang, K.; Bao, C.; Song, T.; Wang, J.; Tian, J. Mol Pharm 2014.
18. Cherry, S. R.; Louie, A. Y.; Jacobs, R. E. P Ieee 2008, 96 (3), 416-438.
19. Kobayashi, H.; Longmire, M. R.; Ogawa, M.; Choyke, P. L. Chem Soc Rev 2011, 40 (9), 4626-4648.

20. Knight, J. C.; Wuest, F. R. Medchemcomm 2012, 3 (9), 1039-1053.

21. van Dam, G. M.; Themelis, G.; Crane, L. M. A.; Harlaar, N. J.; Pleijhuis, R. G.; Kelder, W.; Sarantopoulos, A.; de Jong, J. S.; Arts, H. J. G.; van der Zee, A. G. J.; Bart, J.; Low, P. S.; Ntziachristos, V. Nature Medicine 2011, 17 (10), 1315-U202.

22. Penet, M. F.; Mikhaylova, M.; Li, C.; Krishnamachary, B.; Glunde, K.; Pathak, A. P.; Bhujwalla, Z. M. Future Med Chem 2010, 2 (6), 975-988.

23. Caravan, P.; Ellison, J. J.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B. Chem Rev 1999, 99 (9), 2293-2352.

24. Senet, P.; Frances, C.; Lipsker, D. Ann Dermatol Vener 2009, 136 (4), 380-385.

25. Bertin, A.; Steibel, J.; Michou-Gallani, A. I.; Gallani, J. L.; Felder-Flesch, D. Bioconjugate Chem 2009, 20 (4), 760-767.

26. Pan, D. P. J.; Schmieder, A. H.; Wickline, S. A.; Lanza, G. M. Tetrahedron 2011, 67 (44), 8431-8444.

27. Battistini, E.; Gianolio, E.; Gref, R.; Couvreur, P.; Fuzerova, S.; Othman, M.; Aime, S.; Badet, B.; Durand, P. Chem-Eur J 2008, 14 (15), 4551-4561.

28. (a) Bonnet, C. S.; Toth, E. Am J Neuroradiol 2010, 31 (3), 401-409; (b) Bonnet, C. S.; Toth, E. Cr Chim 2010, 13 (6-7), 700-714.

29. Deri, M. A.; Zeglis, B. M.; Francesconi, L. C.; Lewis, J. S. Nucl Med Biol 2013, 40 (1), 3-14.

30. Slosman, D. O.; Ludwig, C.; Zerarka, S.; Pellerin, L.; Chicherio, C.; de Ribaupierre, A.; Annoni, J. M.; Bouras, C.; Herrmann, F.; Michel, J. P.; Giacobini, E.; Magistretti, P. J. Brain Res Rev 2001, 36 (2-3), 230-240.

31. Bomanji, J. B.; Papathanasiou, N. D. Eur J Nucl Med Mol 2012, 39, 113-125.

32. Smith, A. M.; Wen, M. M.; Nie, S. The biochemist 2010, 32 (3), 12.

33. Peticolas, W. L.; Goldsborough, J. P.; Rieckhoff, K. E. Phys. Rev. Lett. 1963, 10, 43-45.

34. Ehrlich, J. E.; Wu, X. L.; Lee, I. Y. S.; Hu, Z. Y.; Rockel, H.; Marder, S. R.; Perry, J. W. Opt Lett 1997, 22 (24), 1843-1845.

35. Pawlicki, M.; Collins, H. A.; Denning, R. G.; Anderson, H. L. Angew Chem Int Ed 2009, 48 (18), 3244-3266.

36. Yao, S.; Belfield, K. D. Eur J Org Chem 2012, (17), 3199-3217.

37. Wang, X. P.; Krebs, L. J.; Al-Nuri, M.; Pudavar, H. E.; Ghosal, S.; Liebow, C.; Nagy, A. A.; Schally, A. V.; Prasad, P. N. P Natl Acad USA 1999, 96 (20), 11081-11084.

38. Kim, H. M.; Jeong, B. H.; Hyon, J. Y.; An, M. J.; Seo, M. S.; Hong, J. H.; Lee, K. J.; Kim, C. H.; Joo, T. H.; Hong, S. C.; Cho, B. R. J Am Chem Soc 2008, 130 (13), 4246-4247.

39. (a) Pond, S. J. K.; Tsutsumi, O.; Rumi, M.; Kwon, O.; Zojer, E.; Bredas, J. L.; Marder, S. R.; Perry, J. W. J Am Chem Soc 2004, 126 (30), 9291-9306; (b) Kim, H. M.; Jeong, M. Y.; Ahn, H. C.; Jeon, S. J.; Cho, B. R. J Org Chem 2004, 69 (17), 5749-5751; (c) Ahn, H. C.; Yang, S. K.; Kim, H. M.; Li, S. J.; Jeon, S. J.; Cho, B. R. Chem Phys Lett 2005, 410 (4-6), 312-315; (d) Bozio, R.; Cecchetto, E.; Fabbrini, G.; Ferrante, C.; Maggini, M.; Menna, E.; Pedron, D.; Ricco, R.; Signorini, R.; Zerbetto, M. J Phys Chem A 2006, 110 (20), 6459-6464; (e) Liu, Z. Q.; Shi, M.; Li, F. Y.; Fang, Q.; Chen, Z. H.; Yi, T.; Huang, C. H. Org Lett 2005, 7 (24), 5481-5484; (f) Huang, C. B.; Fan, J. L.; Peng, X. J.; Lin, Z. Y.; Guo, B. P.; Ren, A. X.; Cui, J. Q.; Sun, S. G. J Photoch Photobio A 2008, 199 (2-3), 144-149.

40. Wu, Y.; Yeh, F. L.; Mao, F.; Chapman, E. R. Biophys J 2009, 97 (1), 101-109.

41. Alain, V.; Redoglia, S.; Blanchard-Desce, M.; Lebus, S.; Lukaszuk, K.; Wortmann, R.; Gubler, U.; Bosshard, C.; Gunter, P. Chem Phys 1999, 245 (1-3), 51-71.

42. LeCours, S. M.; Guan, H. W.; DiMagno, S. G.; Wang, C. H.; Therien, M. J. J Am Chem Soc 1996, 118 (6), 1497-1503.

43. Reeve, J. E.; Collins, H. A.; De Mey, K.; Kohl, M. M.; Thorley, K. J.; Paulsen, O.; Clays, K.; Anderson, H. L. J Am Chem Soc 2009, 131 (8), 2758-2759.

44. de Rosales, R. T. M. J Labelled Compd Rad 2014, 57 (4), 298-303.

45. Frullano, L.; Catana, C.; Benner, T.; Sherry, A. D.; Caravan, P. Angew Chem Int Edit 2010, 49 (13), 2382-2384.

46. Notni, J.; Hermann, P.; Dregely, I.; Wester, H. J. Chem-Eur J 2013, 19 (38), 12602-12606.

47. (a) de Rosales, R. T. M.; Tavare, R.; Glaria, A.; Varma, G.; Protti, A.; Blower, P. J. Bioconjugate Chem 2011, 22 (3), 455-465; (b) de Rosales, R. T. M.; Tavare, R.; Paul, R. L.; Jauregui-Osoro, M.; Protti, A.; Glaria, A.; Varma, G.; Szanda, I.; Blower, P. J. Angew Chem Int Edit 2011, 50 (24), 5509-5513; (c) Madru, R.; Kjellman, P.; Olsson, F.; Wingardh, K.; Ingvar, C.; Stahlberg, F.; Olsrud, J.; Latt, J.; Fredriksson, S.; Knutsson, L.; Strand, S. E. J Nucl Med 2012, 53 (3), 459-463.

48. 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 Edit 2008, 47 (33), 6259-6262.

49. Seibold, U.; Wangler, B.; Schirrmacher, R.; Wangler, C. Biomed Res Int 2014, 13.

50. (a) 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 (20), 6286-6295; (b) Ranyuk, E. R.; Cauchon, N.; Ali, H.; Lecomte, R.; Guerin, B.; van Lier, J. E. Bioorg Med Chem Lett 2011, 21 (24), 7470-7473.

51. (a) Ghosh, S. C.; Ghosh, P.; Wilganowski, N.; Robinson, H.; Hall, M. A.; Dickinson, G.; Pinkston, K. L.; Harvey, B. R.; Sevick-Muraca, E. M.; Azhdarinia, A. J Med Chem 2013, 56 (2), 406-416; (b) Hendricks, J. A.; Keliher, E. J.; Wan, D.; Hilderbrand, S. A.; Weissleder, R.; Mazitschek, R. Angew Chem Int Edit 2012, 51 (28), 6813-6813.

52. Kotkova, Z.; Kotek, J.; Jirak, D.; Jendelova, P.; Herynek, V.; Berkova, Z.; Hermann, P.; Lukes, I. Chem-Eur J 2010, 16 (33), 10094-10102.

53. (a) Mulder, W. J. M.; Strijkers, G. J.; Habets, J. W.; Bleeker, E. J. W.; van der Schaft, D. W. J.; Storm, G.; Koning, G. A.; Griffioen, A. W.; Nicolay, K. Faseb J 2005, 19 (12), 2008-2010; (b) Strijkers, G. J.; Kluza, E.; Van Tilborg, G. A. F.; van der Schaft, D. W. J.; Griffioen, A. W.; Mulder, W. J. M.; Nicolay, K. Angiogenesis 2010, 13 (2), 161-173; (c) van Tilborg, G. A. F.; Mulder, W. J. M.; Deckers, N.; Storm, G.; Reutelingsperger, C. P. M.; Strijkers, G. J.; Nicolay, K. Bioconjugate Chem 2006, 17 (3), 741-749.

54. Truillet, C.; Lux, F.; Moreau, J.; Four, M.; Sancey, L.; Chevreux, S.; Boeuf, G.; Perriat, P.; Frochot, C.; Antoine, R.; Dugourd, P.; Portefaix, C.; Hoeffel, C.; Barberi-Heyob, M.; Terryn, C.; van Gulick, L.; Lemercier, G.; Tillement, O. Dalton Trans 2013, 42 (34), 12410-12420.

55. Joshi, B. P.; Wang, T. D. Cancers 2010, 2, 1251-1287.

56. Torchilin, V. Handbook of Targeted Delivery of Imaging Agents. 1995.

57. Torchilin, V. Adv Drug Deliver Rev 2011, 63 (3), 131-135.

58. Gauthier, M. A.; Klok, H. A. Chem Commun 2008, (23), 2591-2611.

59. Stenzel, M. H. Acs Macro Lett 2013, 2 (1), 14-18.

60. Carroll, L.; Evans, H. L.; Aboagye, E. O.; Spivey, A. C. Org Biomol Chem 2013, 11 (35), 5772-5781.

61. Huisgen, R. Angew Chem Int Ed 1963, 2 (11), 633-696.

62. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Angew Chem Int Ed 2001, 40 (11), 2004-2021.

63. Tornoe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. J Org Chem 2002, 67 (9), 3057-3064.

64. Jun, H. Y.; Yin, H. H.; Kim, S. H.; Park, S. H.; Kim, H. S.; Yoon, K. H. Korean J Radiol 2010, 11 (4), 449-456.

65. (a) Berkman, R. A.; Merrill, M. J.; Reinhold, W. C.; Monacci, W. T.; Saxena, A.; Clark, W. C.; Robertson, J. T.; Ali, I. U.; Oldfield, E. H. J Clin Invest 1993, 91 (1), 153-159; (b) Boocock, C. A.; Charnockjones, D. S.; Sharkey, A. M.; Mclaren, J.; Barker, P. J.; Wright, K. A.; Twentyman, P. R.; Smith, S. K. J Natl Cancer I 1995, 87 (7), 506-516; (c) Yoshiji, H.; Gomez, D. E.; Shibuya, M.; Thorgeirsson, U. P. Cancer Res 1996, 56 (9), 2013-2016; (d) Warren, R. S.; Yuan, H.; Matli, M. R.; Gillett, N. A.; Ferrara, N. J Clin Invest 1995, 95 (4), 1789-1797.

66. Cheng, Z.; De Jesus, O. P.; Kramer, D. J.; De, A.; Webster, J. M.; Gheysens, O.; Levi, J.; Namavari, M.; Wang, S.; Park, J. M.; Zhang, R.; Liu, H.; Lee, B.; Syud, F. A.; Gambhir, S. S. Mol Imaging Biol 2010, 12 (3), 316-24.

67. (a) Ferretti, G.; Felici, A.; Papaldo, P.; Fabi, A.; Cognetti, F. Curr Opin Obstet Gyn 2007, 19 (1), 56-62; (b) Montemurro, F.; Donadio, M.; Clavarezza, M.; Redana, S.; Jacomuzzi, M. E.; Valabrega, G.; Danese, S.; Vietti-Ramus, G.; Durando, A.; Venturini, M.; Aglietta, M. Oncologist 2006, 11 (4), 318-324; (c) Meric-Bernstam, F.; Hung, M. C. Clin Cancer Res 2006, 12 (21), 6326-6330.

68. Hsiung, P. L.; Hardy, J.; Friedland, S.; Soetikno, R.; Du, C. B.; Wu, A. P.; Sahbaie, P.; Crawford, J. M.; Lowe, A. W.; Contag, C. H.; Wang, T. D. Nat Med 2008, 14 (4), 454-458.

69. Liu, T. W.; Stewart, J. M.; MacDonald, T. D.; Chen, J.; Clarke, B.; Shi, J. Y.; Wilson, B. C.; Neel, B. G.; Zheng, G. Theranostics 2013, 3 (6), 420-427.

70. (a) Weitman, S. D.; Lark, R. H.; Coney, L. R.; Fort, D. W.; Frasca, V.; Zurawski, V. R.; Kamen, B. A. Cancer Res 1992, 52 (12), 3396-3401; (b) Coney, L. R.; Tomassetti, A.; Carayannopoulos, L.; Frasca, V.; Kamen, B. A.; Colnaghi, M. I.; Zurawski, V. R. Cancer Res 1991, 51 (22), 6125-6132; (c) Garinchesa, P.; Campbell, I.; Saigo, P. E.; Lewis, J. L.; Old, L. J.; Rettig, W. J. Am J Pathol 1993, 142 (2), 557-567.

71. Busch, D. H. Chem Rev 1993, 93 (3), 847-860.

72. Drabkin, D. L. The porphyrins. Dolphin, D., Ed. Academic press, 1978; Vol. 3, pp 1-156.

73. Farnum, D. G.; Mehta, G.; Moore, G. G. I.; Siegal, F. P. Tetrahedron Letters 1974, 29 (15), 2549.

74. Farnum, D. G.; Mehta, G.; Moore, G. G. I.; Siegal, F. P. Tetrahedron Lett. 1974, 15, 2549-2552.

75. Naik, M. A.; Patil, S. J Polym Sci Pol Chem 2013, 51 (20), 4241-4260.

76. (a) Gros, C. P.; Eggenspiller, A.; Nonat, A.; Barbe, J. M.; Denat, F. Medchemcomm 2011, 2 (2), 119-125; (b) Eggenspiller, A.; Michelin, C.; Desbois, N.; Richard, P.; Barbe, J. M.; Denat, F.; Licona, C.; Gaiddon, C.; Sayeh, A.; Choquet, P.; Gros, C. P. Eur J Org Chem 2013, 2013 (29), 6629-6643.

77. (a) Das, T.; Chakraborty, S.; Sarma, H. D.; Banerjee, S.; Venakatesh, M. Nucl Med Biol 2010, 37 (5), 655-663; (b) Mittal, S.; Bhadwal, M.; Das, T.; Sarma, H. D.; Chakravarty, R.; Dash, A.; Banerjee, S.; Pillai, M. R. A. Cancer Biother Radio 2013, 28 (9), 651-656; (c) Luo, J.; Chen, L. F.; Hu, P.; Chen, Z. N. Inorg Chem 2014, 53 (8), 4184-4191; (d) Zhang, J. X.; Li, H. G.; Chan, C. F.; Lan, R. F.; Chan, W. L.; Law, G. L.; Wong, W. K.; Wong, K. L. Chemm Commun 2012, 48 (77), 9646-9648.

78. Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Glodmacher, J.; Assour, J.; L., K. J Org Chem 1967, 32 (2), 476-476.

79. (a) Gong, L.-C.; Dolphin, D. Canadian Journal of Chemistry 1985, 63, 401-405; (b) Devillers, C. H.; Hebie, S.; Lucas, D.; Cattey, H.; Clement, S.; Richeter, S. J Org Chem 2014, 79 (14), 6424-6434.

80. (a) Baldwin, J. E.; Crossley, M. J.; Debernardis, J. Tetrahedron 1982, 38 (5), 685-692; (b) Annoni, E.; Pizzotti, M.; Ugo, R.; Quici, S.; Morotti, T.; Bruschi, M.; Mussini, P. Eur J Inorg Chem 2005, (19), 3857-3874.

81. (a) Luguya, R.; Jaquinod, L.; Fronczek, F. R.; Vicente, A. G. H.; Smith, K. M. Tetrahedron 2004, 60 (12), 2757-2763; (b) Bhatt, R. K.; Sharma, S.; Nath, M. Monatshefte Fur Chemie 2012, 143 (2), 309-316; (c) Rochford, J.; Galoppini, E. Langmuir 2008, 24 (10), 5366-5374; (d) Kruper, W. J.; Chamberlin, T. A.; Kochanny, M. J Org Chem 1989, 54, 2753.

82. Mathew, S.; Johnston, M. R. Chem-Eur J 2009, 15 (1), 248-253.

83. Eggenspiller, A. Thèse de l'université de Bourgogne. 2012.

84. Goswami, L. N.; Ma, L. X.; Kueffer, P. J.; Jalisatgi, S. S.; Hawthorne, M. F. Molecules 2013, 18 (8), 9034-9048.

85. Ostrowski, S.; Grzyb, S.; Mikus, A. Helv Chim Acta 2007, 90 (10), 2000-2008.

86. (a) Pastyrikova, T.; Iakobson, G.; Vida, N.; Pohl, R.; Beier, P. Eur J Org Chem 2012, (11), 2123-2126; (b) Titova, I. A.; Vakul'skaya, T. I.; Larina, L. I.; Mizandrontsev, M. I.; Volkov, V. A.; Dolgushin, G. V.; Lopyrev, V. A. Russ J Org Chem 2005, 41 (9), 1306-1315; (c) Lemek, T.; Makosza, M.; Golinski, J. Tetrahedron 2001, 57 (22), 4753-4757.

87. Lu, Y. J.; Low, P. S. Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54 (5), 675-693.

88. Woller, E. K.; Cloninger, M. J. Biomacromolecules 2001, 2 (3), 1052-1054.
89. Olaya, A. J.; Schaming, D.; Brevet, P. F.; Nagatani, H.; Zimmermann, T.; Vanicek, J.; Xu, H. J.; Gros, C. P.; Barbe, J. M.; Girault, H. H. J Am Chem Soc 2012, 134 (1), 498-506.
90. Xu, H. J.; Gros, C. P.; Brandes, S.; Ge, P. Y.; Girault, H. H.; Barbe, J. M. J. Porphyrins Phthalocyanines 2011, 15 (7-8), 560-574.
91. Lindsey, J. S. Accounts Chem Res 2010, 43 (2), 300-311.
92. Ruzie, C.; Michaudet, L.; Boitrel, B. Tetrahedron Lett. 2002, 43 (41), 7423-7426.
93. Nowak-Krol, A.; Lukasiewicz, L. G.; Haley, J. E.; Drobizhev, M.; Rebane, A.; Cooper, T. M.; Gryko, D. T. J. Porphyrins Phthalocyanines 2014, 18 (10-11), 998-1013.
94. Ftouni, H.; Bolze, F.; de Rocquigny, H.; Nicoud, J. F. Bioconjugate Chemistry 2013, 24 (6), 942-950.

COMMUNICATION DES RESULTATS

Communication des résultats

Publications

1) Leyong, W. ; Michelin, C. ; Chambron, J.-C., *Synthesis* **2009**. (20), 3419-3426
2) Zhang, Y. ; Garg, J. A. ; Michelin, C. ; Fox, T. ; Blacque, O. ; Venkatesan K., Synthesis and Luminescent Properties of cis Bis-N-Heterocyclic Carbene Platinum(II) Bis-Arylacetylide Complexes. *Inorg. Chem.* **2011**. 50 (4), 1220-1228
3) Eggenspiller, A. ; Michelin, C. ; Desbois, N. ; Richard, P. ; Barbe, J.-M. ; Denat, F. ; Licona C. ; Gaiddon C. ; Sayeh A. ; Choquet P. ; Gros, C. P., Design of porphyrin-DOTA-like scaffolds as all-in-one multimodal heterometallic complexes for medical imaging. *Eur. J . Org. Chem*. **2013**. (29), 6629-6643
4) Tasan, S. ; Licona, C. ; Doulain, P.-E. ; Michelin, C. ; Gros, C. P. ; Le Gendre, P. ; Harvey, P. D. ; Paul, C. ; Gaiddon, C. ; Bodio E., Gold-phosphine-porphyrin as potential metal-based theranostics. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2014**. 20 (1), 143-154
5) Fang, Y ; Jiang, X ; Ou, Z., Michelin, C. ; Desbois, N. ; Gros, C. P. ; Kadish, K. M., Redox properties of nitrophenylporphyrins and electrosynthesis of nitrophenyl-linked Zn porphyrin dimers or arrays. J. Porphyrins Phthalocyanines **2014**. 18 (8), 832

Communications par affiches

1) Michelin C., « Préparation d'une plateforme porphyrinique : Application à l'imagerie médicale », XIII^{ème} Journée des Écoles Doctorales (JED) Carnot-Pasteur, Besançon, 14 au 15 juin **2012**
2) Michelin C., « Préparation d'une plateforme porphyrinique : Application à l'imagerie médicale », Journée en Hommage au Pr. Jean Tirouflet, Dijon, 14 décembre **2012**
3) Michelin, C. ; Eggenspiller, A. ; Desbois, N. ; Barbe, J.-M. ; Gros, C. P., « Élaboration de porphyrines-DOTA-like : Application à l'imagerie médicale multimodale », XIV^{ème} Journée des Écoles Doctorales (JED) Carnot-Pasteur, Dijon, 30 au 31 mai **2012**

4) Michelin, C. ; Eggenspiller, A. ; Desbois, N. ; Barbe, J.-M. ; Gros, C. P., « Élaboration de porphyrines-DOTA-like Application à l'imagerie médicale multimodale », Journées de Chimie de Coordination (JCC), Rennes, 30 au 31 Janvier **2014**
5) Desbois, N. ; Michelin, C. ; Bonnaud, M. ; Barbe, J.-M. ; Gros, C. P., «Synthèse et caractérisation de nouveaux agents bimodaux (IRM/TEP) associant un corrole à un dérivé (DOTA) Gd », Journées de Chimie de Coordination (JCC), Rennes, 30 au 31 Janvier **2014**
6) Michelin, C. ; Desbois, N. ; Barbe, J.-M. ; Gros, C. P., « Synthesis and characterization of novel bimodal agents for medical imaging (MRI / PET) involving corrole and DOTA derivatives », 8th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-8), Istanbul, Turquie, 22 au 27 juin **2014**
7) Michelin, C. ; Desbois, N. ; Barbe, J.-M. ; Gros, C. P., « Porphyrin-DOTA like derivatives as new contrast agents for bimodal imaging », 8th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-8), Istanbul, Turquie, 22 au 27 juin **2014**
8) Gros, C. P. ; Michelin, C. ; Desbois, N. ; Richard, P. ; Minh Ngo, H. ; Lopez, C. ; Ledoux, I. ; Nicoud, J.-F. ; Bolze, F., « Amphiphilic inner salt porphyrinic systems for membrane bio-imaging », 8th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-8), Istanbul, Turquie, 22 au 27 juin **2014**

Communications orales

1) Michelin, C., « Élaboration de porphyrines-DOTA-like : Application à l'imagerie médicale multimodale », Journée ChiMi, Lyon, 11 au 12 juillet **2013**
2) Michelin, C., « Synthèse de composés pour l'imagerie médicale par optique non-linéaire », XVème Journée des Écoles Doctorales (JED) Carnot-Pasteur, Besançon, 26 au 27 mai **2014**

The goal of my PhD studies was to synthesize new compounds for possible medical imaging applications.

The first part of my thesis focused on the synthesis of heteroleptic ligands to achieve the chelation of two different metals aimed at addressing two types of medical imaging. We first synthesized porphyrins, which are well-known for the chelation of numerous transition metals. We focused on copper, whose copper-64 isotope is a β^+ emitter usable in Positron Emission Tomography (PET). These porphyrins have been coupled with a DOTA derivative. This molecule, metallated with gadolinium, is well-known in Magnetic Resonance Imaging (MRI). Our compounds display encouraging relaxivities for MRI applications. At last, these molecular probes have been conjugated to a few biomolecules in order to vectorize our compounds.

The second part of this work is related to the synthesis of fluorophores for nonlinear optical imaging. We first synthesized amphiphilic zwitterionic porphyrins for Second Harmonic Generation (SHG). The efficiency of these compounds has been measured and was satisying enough to consider the possibility to perform imaging studies. We also worked on the synthesis of compounds for Two Photon Emission Fluorescence (TPEF) imaging and MRI. We have linked a DOTA derivative with a diketopyrrolopyrrole (DPP). This conjugate has been metallated with gadolinium and its relaxivity has been measured. Interestingly, this value is superior to that of DOTA(Gd).

Keywords :

Porphyrins	MRI / PET	Nonlinear optics
Tetraazamacrocycles	SHG	Relaxivity
DPP	TPEF	Hyperpolarizability

Le travail présenté dans ce mémoire de thèse avait pour but de synthétiser de nouveaux composés pour des applications en imagerie médicale.

La première partie porte sur la synthèse de ligands hétéroleptiques pour la chélation de deux métaux différents en vue d'une utilisation dans deux types d'imagerie. Pour cela, nous avons d'abord synthétisé des porphyrines. Ces molécules sont connues pour la chélation de nombreux métaux de transition et notamment le cuivre, dont l'isotope cuivre-64 est un radioémetteur β^+ utilisable en Tomographie par Émission de Positron (TEP). Ces porphyrines ont été couplées à un dérivé du DOTA, molécule connue pour son application, après métallation avec du gadolinium, en Imagerie par Résonance Magnétique (IRM). Ces composés possèdent des valeurs de relaxivité encourageantes pour une application en IRM. Enfin, des biomolécules ont été modifiées afin de vectoriser nos composés.

La seconde partie porte sur la synthèse de composés pour l'imagerie médicale par optique non-linéaire. Nous avons dans un premier temps synthétisé des porphyrines amphiphiles et zwiterrioniques pour la Génération de Second Harmonique (GSH). Leur efficacité a été mesurée et celle-ci est suffisante pour pouvoir envisager l'obtention d'images. Dans un second temps, nous avons travaillé sur la synthèse d'un composé pour une application en imagerie biphotonique et en IRM. Pour cela, nous avons relié un dérivé du DOTA avec un fluorophore de type DPP. Le composé final a été métallé avec du gadolinium et sa relaxivité est supérieure à celle du DOTA(Gd).

Mots clés :

Porphyrines	IRM / TEP	Optique non-linéaire
Tétraazamacrocycles	GSH	Relaxivité
DPP	F2P	Hyperpolarisabilité