



**HAL**  
open science

# Chélates azamacrocycliques de l' $Y^{3+}$ et du $Gd^{3+}$ pour la radiothérapie et le diagnostic du cancer du foie

Mariane Le Fur

► **To cite this version:**

Mariane Le Fur. Chélates azamacrocycliques de l' $Y^{3+}$  et du  $Gd^{3+}$  pour la radiothérapie et le diagnostic du cancer du foie. Chimie organique. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2017. Français. NNT : 2017BRES0075 . tel-02917983

**HAL Id: tel-02917983**

**<https://theses.hal.science/tel-02917983>**

Submitted on 20 Aug 2020

**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 / UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE**

sous le sceau de l'Université de Bretagne Loire

pour obtenir le titre de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE**

Mention : Chimie

**École Doctorale Matière, Molécules, Matériaux**

présentée par

**Mariane Le Fur**

Thèse CIFRE préparée entre l'UMR CNRS  
6521 CEMCA et le groupe Guerbet

**Chélates azamacrocycliques  
de l' $Y^{3+}$  et du  $Gd^{3+}$  pour la  
radiothérapie et le diagnostic  
du cancer du foie**

**Thèse soutenue le 4 octobre 2017**

devant le jury composé de :

**Eléna ISHOW**

Professeur, Université de Nantes / Rapporteur

**Olivier MAURY**

Directeur de recherche, ENS Lyon / Rapporteur

**Mathieu SOLLOGOUB**

Professeur, IPCM Paris / Examineur

**Maryline BEYLER**

Maître de conférences, Université de Brest / Encadrante

**Olivier ROUSSEAU**

PhD, Guerbet / Co-directeur de thèse

**Raphaël TRIPIER**

Professeur, Université de Brest / Directeur de thèse







## *Remerciements*

Cette thèse a été réalisée à l'UMR CNRS 6521 CEMCA au sein de l'équipe COSM, thématique « Macrocycles azotés et Coordination » en collaboration avec le groupe Guerbet basé à Aulnay-sous-Bois. Cette thèse a été financée par Guerbet et l'ANRT au travers d'une bourse CIFRE.

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail de thèse : Eléna Ishow, Professeur à l'Université de Nantes et Olivier Maury, Directeur de Recherche à l'ENS de Lyon en tant que rapporteurs ainsi que Matthieu Sollogoub, Professeur à l'IPCM Paris en tant qu'examineur et Président du jury. Merci de l'intérêt que vous avez porté à mes travaux ainsi que pour la discussion menée lors de la soutenance.

Un grand merci au Professeur Raphaël Tripier qui, pendant ces six dernières années, a été tour à tour mon enseignant, mon maître de stage, mon directeur de thèse et surtout mon ami. Merci à toi pour ta gentillesse et ta disponibilité, pour la confiance que tu m'as portée et d'avoir toujours été là, même dans les moments difficiles.

Un immense merci au Docteur Maryline Beyler qui a été mon encadrante pendant ces trois années de thèse. Je suis heureuse et fière d'avoir été ta première thésarde. Merci à toi pour tout le savoir que tu m'as transmis au laboratoire, ainsi que pour tes précieux conseils. Merci de m'avoir donné le goût pour la potentiologie même si, là encore, j'ai beaucoup à apprendre !

Je souhaite également remercier le groupe Guerbet pour avoir accepté de collaborer avec notre équipe au travers de cette thèse CIFRE.

Merci à mon co-directeur de thèse, le Docteur Olivier Rousseaux ainsi qu'à Olivier Fougère qui ont été mes encadrants côté entreprise, pour leur gentillesse, leur accueil chaleureux lors de nos réunions à Aulnay, ainsi que pour leur contribution importante au bon déroulement de cette thèse.

Je remercie également Claire Corot et Sarah Catoen ainsi que les personnes ayant participé de près ou de loin à ces travaux de thèse : Marie-Christine Degoltstein, Françoise Neth, François Yip, Sylvaine Trevet, Nathalie Poteau, Yohan Lenoir, Elisabeth Lasri, William Pauly-Batard, Cécile Claudon, Emmanuelle Marais, Evelyne Leray, Alain Dorlhène.

Un grand merci à Carlos Platas-Iglesias, Professeur à l'Université de La Corogne, qui m'a accueillie au sein de son laboratoire pendant un mois pour réaliser les manip de luminescence et de RMN paramagnétique. J'aurais aimé y rester plus longtemps, tant il y avait de choses à y apprendre. Je remercie également toute l'équipe de La Corogne, David, Rosa et Laura d'avoir pris le temps de me faire visiter La Corogne !

Je souhaite également remercier nos collaborateurs : le Professeur Gyula Tircsó de l'Université de Debrecen en Hongrie, pour ses travaux sur la stabilité, l'inertie et la relaxivité des complexes de Gd(III), et le Docteur Nicolas Lepareur du Centre Eugène Marquis à Rennes, pour les études de radiomarquage à l'yttrium 90 et également pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire pendant quelques jours.

Un grand merci à tous les membres du laboratoire pour les bons moments passés ensemble et la bonne ambiance au quotidien. Merci à Véro, Nathalie, Hélène, Thibault, Olivier, Nadège, Pierre-Yves, Amaury, Thomas, Laura, Jonathan, Gwladys, les petits nouveaux Evan et Alexandra que j'ai été ravie de rencontrer, mais également ceux qui sont partis, Aurora et Zach.

Merci à ma famille pour leur soutien pendant ces 8 années d'études qui s'achèvent enfin, et mon travail de chercheur qui commence.

# Table des matières

<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>10</b>
<b>FORMULAIRE .....</b>	<b>11</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>12</b>
<b>CHAPITRE I .....</b>	<b>20</b>
<b>LES COMPLEXES MACROCYCLIQUES DE LANTHANIDES : PROPRIETES ET APPLICATIONS EN SANTE.....</b>	<b>20</b>
I.    Propriétés des lanthanides et de l'yttrium .....	22
II.   Propriétés des polyazacycloalcanes et de leurs complexes .....	23
1.   Propriétés acido-basiques des polyazacycloalcanes .....	25
2.   Complexation, stabilité et inertie des complexes macrocycliques .....	28
a.   Cinétique de complexation.....	28
b.   Stabilité thermodynamique.....	30
c.   Inertie cinétique.....	31
III.  Les chélates macrocycliques de Ln(III) en imagerie et thérapie .....	34
1.   Les lanthanides(III) et l'yttrium(III) en médecine nucléaire .....	34
a.   Principe de fonctionnement .....	34
b.   L'yttrium 90 .....	37
2.   Imagerie par résonance magnétique.....	38
a.   Principe de fonctionnement .....	38
b.   La théorie de la relaxivité .....	40
c.   Les produits de contraste commerciaux à base de gadolinium.....	42
d.   Vers des agents de contraste plus performants.....	43
3.   Luminescence et imagerie optique.....	50
a.   Principe de fonctionnement .....	50
b.   Complexes luminescents de lanthanides(III) .....	53
c.   Spectre d'émission de complexes d'euporium(III) et de terbium(III).....	56
IV.  Conclusion et objectifs des travaux.....	57
<b>CHAPITRE II .....</b>	<b>60</b>
<b>SYNTHESE ET ETUDE DE DERIVES DU PYCLEN POUR LA COMPLEXATION DE L'Y<sup>3+</sup> ET DE L'<sup>90</sup>Y<sup>3+</sup> POUR LA RADIOTHERAPIE INTERNE DU CANCER DU FOIE .....</b>	<b>60</b>

<b>Introduction du chapitre II.....</b>	<b>62</b>
<b>1 Le carcinome hépatocellulaire.....</b>	<b>64</b>
I. Généralités .....	64
1. Statistiques et causes du carcinome hépatocellulaire .....	64
2. Les traitements du carcinome hépatocellulaire .....	65
II. La radiothérapie interne.....	68
1. Le Lipiodol.....	68
2. Les agents emboliques.....	69
3. Les produits de radiothérapie .....	69
<b>2 Etude du ligand PCTMB.....</b>	<b>72</b>
I. Introduction.....	72
II. Synthèse et caractérisation du complexe YPCTMB.....	72
1. Synthèse des complexes MPCTMB .....	73
2. Etude à l'état solide par diffraction des rayons X .....	73
3. Caractérisation en solution.....	76
III. Etudes cinétiques .....	79
1. Cinétique de complexation.....	80
2. Inertie cinétique.....	81
IV. Etude thermodynamique.....	82
1. Constantes de protonation du ligand PCTMB.....	82
2. Constantes de stabilité thermodynamique du complexe YPCTMB .....	84
V. Radiomarquage et solubilité dans le Lipiodol .....	85
1. Synthèse du radiochélate <sup>90</sup> YPCTMB.....	85
2. Stabilité de <sup>90</sup> YPCTMB.....	87
3. Solubilité dans le Lipiodol et stabilité .....	88
VI. Conclusion.....	89
<b>3 Synthèse de nouveaux dérivés du pycnol.....</b>	<b>90</b>
I. Introduction.....	90
II. Synthèse des ligands et des complexes d'yttrium(III).....	91
1. Synthèse du chlorure de picolinate.....	91
2. Synthèse des ligands symétriques.....	91
a. Selon la « voie directe » .....	92
b. Selon la « voie pycnol BOC » .....	94
3. Synthèse des ligands non symétriques.....	96
a. Synthèse et caractérisation du pycnol oxalate .....	96
b. Mise à profit de la di-N-protection .....	97
4. Synthèse et caractérisation des complexes d'yttrium(III).....	99
a. Synthèse des complexes d'yttrium(III).....	99
b. Caractérisation par diffraction des rayons X .....	99

c.	Caractérisation par RMN.....	101
III.	Etudes cinétiques .....	103
1.	Cinétique de complexation.....	103
2.	Inertie cinétique.....	104
IV.	Etude de stabilité thermodynamique.....	105
1.	Constantes de protonation.....	105
2.	Constantes de stabilité thermodynamique.....	107
V.	Relation structure-propriétés .....	108
VI.	Radiomarquage et solubilité dans le Lipiodol.....	110
1.	Synthèse des radiochélates <sup>90</sup> YL.....	110
2.	Solubilité dans le Lipiodol .....	112
VII.	Conclusion .....	113
<b>4</b>	<b>Vers des ligands plus lipophiles.....</b>	<b>114</b>
I.	Introduction.....	114
II.	Synthèse du ligand L5 et de son complexe d'yttrium(III) .....	115
1.	Synthèse du dérivé lipophile du chlorure de picolinate .....	115
2.	Synthèse du ligand lipophile L5.....	115
3.	Synthèse du complexe YL5 .....	116
III.	Caractérisation par RMN .....	117
IV.	Radiomarquage à l'yttrium 90 et solubilité dans le Lipiodol .....	118
1.	Synthèse du radiochélate <sup>90</sup> YL5.....	118
2.	Solubilité dans le Lipiodol et stabilité en sérum physiologique.....	119
V.	Conclusion .....	119
	<b>Conclusion du chapitre II .....</b>	<b>120</b>
	<b>CHAPITRE III .....</b>	<b>122</b>
	<b>ETUDE DES COMPLEXES DE LANTHANIDES(III) POUR UNE APPLICATION EN IRM</b>	
	<b>HEPATOBLIAIRE .....</b>	<b>122</b>
	<b>Introduction du chapitre III .....</b>	<b>124</b>
<b>1</b>	<b>L'IRM hépatobiliaire.....</b>	<b>126</b>
I.	Agents de contraste commerciaux .....	126
II.	Développement d'agents de contraste hépatospécifiques .....	128
<b>2</b>	<b>Etude des complexes de Ln(III).....</b>	<b>130</b>
I.	Synthèse des complexes de lanthanides(III) .....	130
II.	Etude par diffraction des rayons X.....	131
III.	Etude RMN .....	135

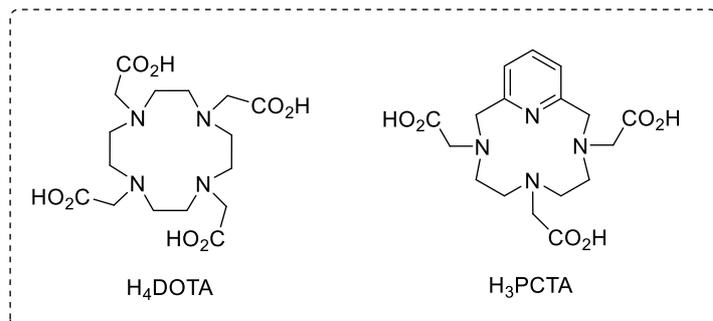
1.	RMN paramagnétique .....	135
2.	RMN de l'yttrium 89.....	138
IV.	Etudes photophysiques des complexes EuL, TbL et YbL.....	142
1.	Spectres d'absorption, d'excitation et d'émission .....	142
a.	Complexes d'euporium(III).....	142
b.	Complexes de terbium(III).....	144
c.	Complexes d'ytterbium(III).....	145
2.	Durée de vie de l'état excité.....	146
3.	Rendement quantique.....	148
V.	Etude des complexes GdL.....	152
1.	Mesure de relaxivité.....	152
2.	Stabilité thermodynamique.....	153
3.	Stabilité en milieu compétiteur.....	154
a.	En milieu acide .....	155
b.	En présence de Zn <sup>2+</sup> .....	156
	<b>Conclusion du chapitre III .....</b>	<b>158</b>
	<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>160</b>
	<b>EXPERIMENTAL SECTION .....</b>	<b>168</b>
	<b>ANNEXES .....</b>	<b>220</b>
	<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>240</b>
	<b>TABLEAU RECAPITULATIF DU CHAPITRE II .....</b>	<b>250</b>
	<b>TABLEAU RECAPITULATIF DU CHAPITRE III.....</b>	<b>251</b>
	<b>PUBLICATIONS, BREVETS ET COMMUNICATIONS.....</b>	<b>252</b>

## *Liste des abréviations*

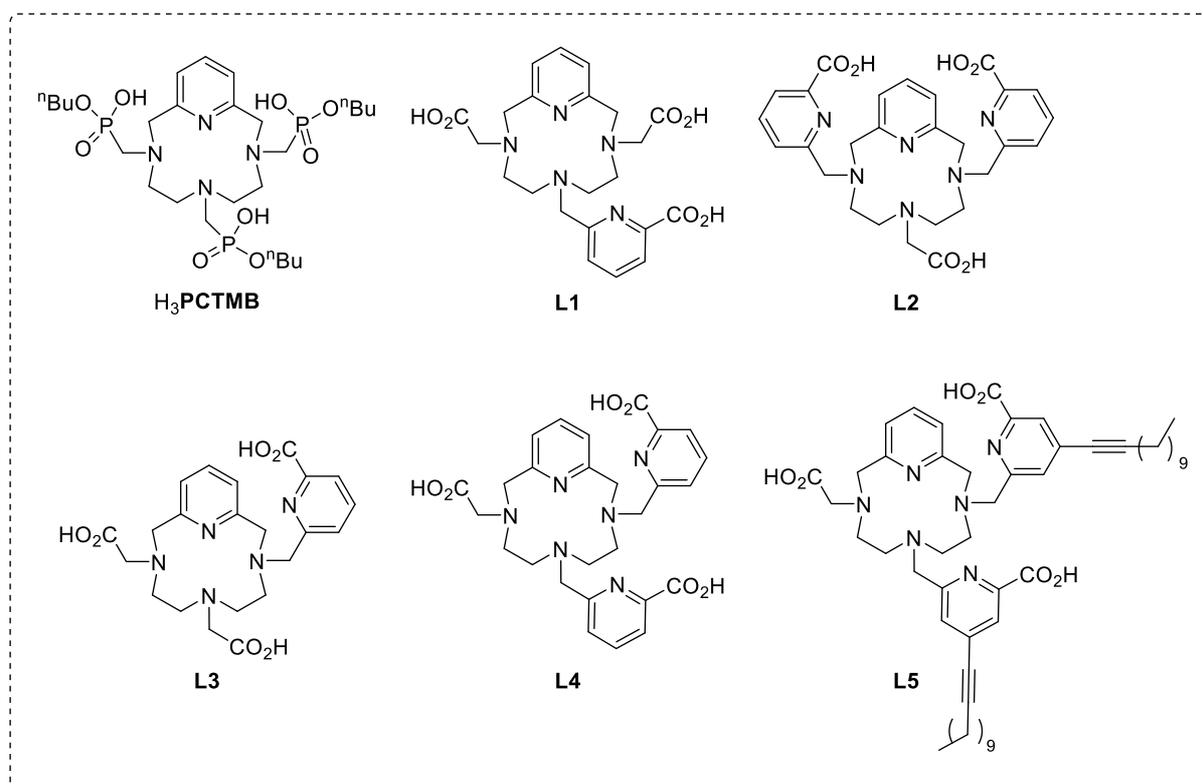
- CHC : Carcinome hépatocellulaire
- Cyclam : 1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane
- Cyclen : 1,4,7,10-tétraazacyclododécane
- COSY : Correlation spectroscopy
- DFT : Density functional theory
- DOTA : Acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique
- DOSY : Diffusion ordered spectroscopy
- DRX : Diffraction des rayons X
- DTPA : Acide diéthylène triamine pentaacétique
- EDTA : Acide éthylène diamine tétracétique
- ESI : Electrospray ionisation
- FDG : Fluorodésoxyglucose
- FSN : Fibrose systémique néfrogénique
- HMBC : Heteronuclear multiple-bond correlation
- HMQC : Heteronuclear multiple-quantum correlation
- HSA : Human serum albumin
- IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
- PCTA : Acide 3,6,9,15-tétraazabicyclo[9.3.1]pentadéca-1(15),11,13-triène-3,6,9-triacétique
- PCTMB : 3,6,9-Tris[méthylène(butylphosphonate)]-3,6,9,15-tétraazabicyclo[9.3.1]pentadéca-1(15),11,13-triène
- PRC : Pureté radiochimique
- Pyclen : 3,6,9,15-tétraazabicyclo[9.3.1]pentadéca-1(15),11,13-triène
- Tacn : 1,4,7-triazacyclononane
- TEP : Tomographie par émission de positons
- TEMP : Tomographie par émission monophotonique

# Formulaire

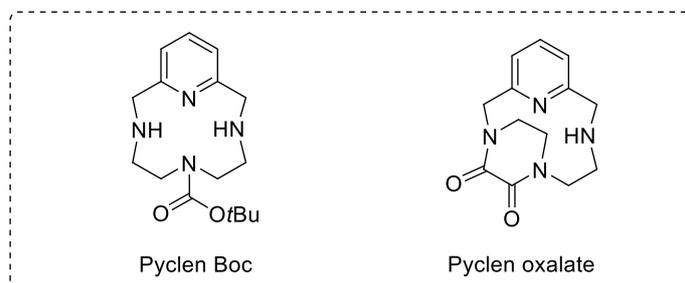
## LIGANDS DE REFERENCE



## LIGANDS SYNTHETISES



## INTERMEDIAIRES CLES



---

## Introduction générale

---



Que ce soit dans les domaines de la santé, de la biologie ou des matériaux, en recherche fondamentale comme industrielle, les polyazacycloalcanes et leurs propriétés complexantes font l'objet d'une attention particulière. Dans le cadre, par exemple, de l'imagerie par résonance magnétique (IRM), ils sont employés sous forme d'agents de contraste, permettant aussi bien le diagnostic d'un large nombre de pathologies que la détection de tumeurs. Le ligand H<sub>4</sub>DOTA, cyclen N-fonctionnalisé par quatre groupements acétate et son complexe de gadolinium(III) GdDOTA<sup>-</sup> figurent parmi les dérivés polyazamacrocycliques les plus connus à ce jour (Figure 1). Employé comme agent de contraste pour l'IRM, le dérivé gadoliné commercialisé sous le nom Dotarem<sup>®</sup> est produit à hauteur de 80 tonnes par an par l'entreprise pharmaceutique Guerbet qui le distribue à travers le monde. Fort du succès rencontré avec ce dérivé, de nombreux autres agents de contraste sont apparus sur le marché, souvent appelés « dota-like » tant la popularité de ce macrocycle est importante.

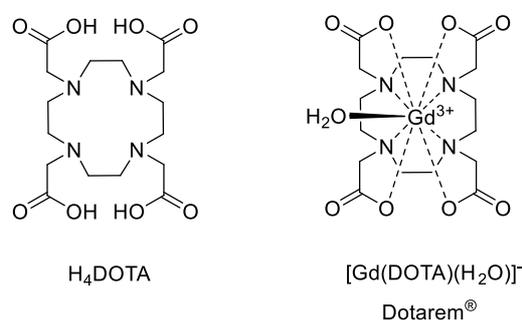


Figure 1 : Ligand polyazamacrocyclique H<sub>4</sub>DOTA et son complexe de gadolinium(III) utilisé pour l'IRM.

Associés à un radionucléide, les polyazacycloalcanes présentent également un intérêt dans le domaine de la médecine nucléaire. L'accessibilité grandissante de radionucléides compatibles avec une application in vivo permet désormais d'exploiter les propriétés de ces macrocycles. Couplés à une molécule vectrice (anticorps, peptide...), les radiocomplexes permettent de visualiser ou de traiter spécifiquement une tumeur en préservant le tissu sain environnant.

Bien que ces produits soient communément utilisés dans le domaine de la santé, la recherche scientifique s'emploie à développer des produits de thérapie et d'imagerie encore plus performants. En IRM, une augmentation de l'efficacité des agents de contraste de faible poids moléculaire, de type Dotarem<sup>®</sup>, permettrait d'améliorer la sensibilité de la technique et de diminuer les doses injectées pendant l'examen clinique, celles-ci étant actuellement de l'ordre de 2 grammes. Cette efficacité étant étroitement liée à la structure des chélates, plusieurs approches sont à l'étude, allant de la conception de nouveaux dérivés macrocycliques de faible poids moléculaire à la formation d'objets macromoléculaires voire de nanomatériaux (dendrimères, liposomes, nanoparticules...).<sup>1</sup> Cependant, que ce soit en IRM ou en médecine

nucléaire, l'utilisation in vivo d'ions métalliques présente un risque de toxicité émanant de l'accumulation de gadolinium(III) dans les tissus, ou de l'irradiation causée par les radionucléides libres. C'est pourquoi leur complexation par des polyazacycloalcanes est nécessaire pour garantir la sûreté de leur utilisation.

Au laboratoire, notre équipe travaille sur la conception de nouveaux ligands polyazamacrocycliques pour la complexation de cations métalliques, allant des métaux de transition aux lanthanides, destinés à un vaste champ d'applications dont les domaines de la thérapie et de l'imagerie médicale. Les chélatants développés dérivent principalement de trois plateformes : le triazacyclononane (tacn), le cyclen et le cyclam (Figure 2). Grâce au savoir-faire acquis pendant ces dernières années, ces macrocycles peuvent être N-fonctionnalisés de manière régiospécifique par divers groupements coordinants afin d'adapter la structure du ligand au cation métallique à complexer.<sup>2,3</sup>

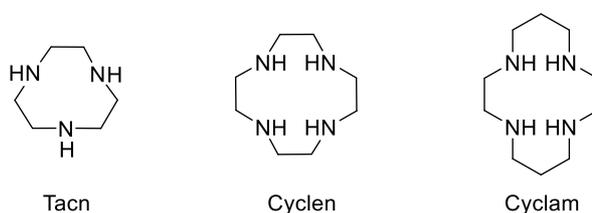


Figure 2 : Plateformes macrocycliques.

La majeure partie de la recherche développée dans l'équipe est consacrée aux chélates du cuivre(II) pour une application en imagerie TEP (Tomographie par Emission de Positons) avec l'isotope  $^{64}\text{Cu(II)}$ .<sup>4</sup> Tout comme en IRM, l'utilisation de dérivés du DOTA foisonne en médecine nucléaire pour la complexation de métaux de transition ( $^{64}\text{Cu}^{2+}$ ,  $^{68}\text{Ga}^{2+}$  ...) en raison de sa disponibilité et de son utilisation approuvée par les autorités de santé. Bien que ses complexes de lanthanides(III), dont  $\text{GdDOTA}^-$ , soient à ce jour les plus stables et plus inertes rencontrés, ses complexes formés avec les métaux de transition ne sont pas des plus satisfaisants.<sup>5</sup> La conception de nouveaux ligands adaptés à ces cations métalliques reste ainsi nécessaire. Parmi les nombreux ligands étudiés au laboratoire, le HTE1PA, cyclam mono-N-fonctionnalisé par un groupement picolinate, a été radiomarqué au  $^{64}\text{Cu}^{2+}$ .<sup>5</sup> Le couplage du radiochélate à un anticorps a permis la visualisation spécifique de tumeurs chez la souris.<sup>6</sup>

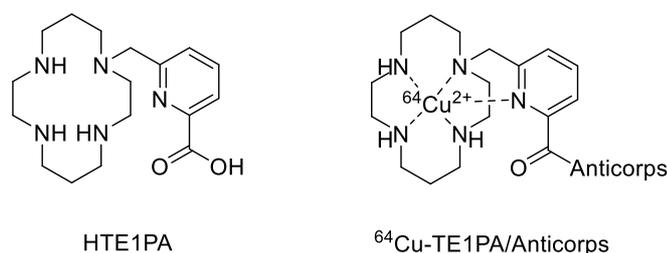


Figure 3 : Structure du ligand HTE1PA et du radiotracteur utilisé à des fins d'imagerie TEP.

Toujours en médecine nucléaire, le ligand  $\text{H}_2\text{MeDODPA}$ , cyclen di-N-fonctionnalisé par des groupements picolinate, a été étudié pour la complexation des ions  $^{212}\text{Pb(II)}$  et  $^{212}\text{Bi(II)}$ .<sup>7</sup> Ces travaux ont permis de poser le concept de générateur in situ. Effectivement, la courte période radioactive du  $^{212}\text{Bi}$ , de 61 minutes, peut être contrée en complexant en amont l'isotope parent  $^{212}\text{Pb(II)}$ , caractérisé par une demi-vie radioactive de 11h.

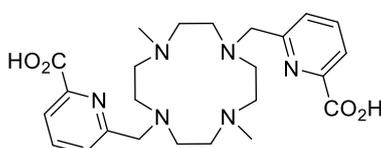


Figure 4 : Ligand  $\text{H}_2\text{MeDODPA}$ , chélatant du  $\text{Pb}^{2+}$  et du  $\text{Bi}^{2+}$ .

En plus de ces deux exemples, les groupements picolinate ont été très largement investis par notre équipe avec les différentes plateformes macrocycliques, tacn, cyclen et cyclam.<sup>8-11</sup> Plusieurs raisons expliquent cet intérêt, dont la stabilité et l'inertie des complexes formés avec de tels ligands, notamment par l'apport simultané de deux atomes coordinants par groupement picolinate qui compense l'alkylation d'amine secondaire souvent néfaste à la stabilité thermodynamique. De plus, la position des atomes donneurs est en parfaite adéquation avec la sphère de coordination de nombreux cations. L'équipe et ses collaborateurs ont ainsi étudié ces ligands pour la complexation des métaux de transition et les lanthanides(III) pour des applications en IRM,<sup>12</sup> en médecine nucléaire<sup>7</sup> et en imagerie optique.<sup>13</sup>

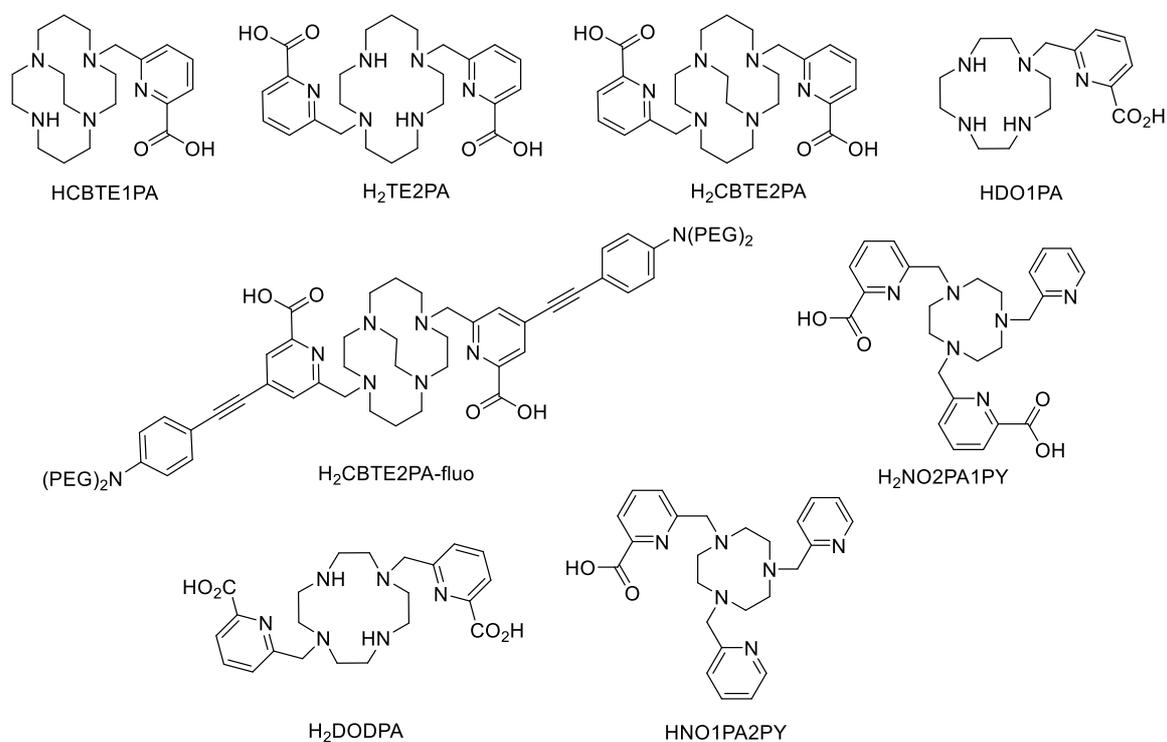


Figure 5 : Exemples de ligands N-fonctionnalisés par des groupements picolinate développés au laboratoire.

Pouvant être considéré comme un analogue rigide du cyclen, le pyclyen (ou 3,6,9,15-tétraazabicyclo[9.3.1]pentadéca-1(15),11,13-triène), peu étudié à ce jour, fait également partie de la famille des polyazacycloalcanes (Figure 6). En plus de former des complexes de lanthanides(III) neutres aux propriétés adéquates pour une utilisation *in vivo*, les dérivés du pyclyen présentent un caractère lipophile induit par le noyau pyridinique. Son dérivé H<sub>3</sub>PCTA, pyclyen tri-N-fonctionnalisé par trois groupements acétate, forme avec l'ion Gd<sup>3+</sup> un chélate intéressant pour une application en IRM. Ses complexes neutres de lanthanides(III) maintiennent une bonne stabilité en comparaison aux chélates du H<sub>3</sub>DO3A, pour lesquels la perte d'un bras coordonnant par rapport au H<sub>4</sub>DOTA conduit à une perte drastique de ses propriétés.<sup>14</sup>

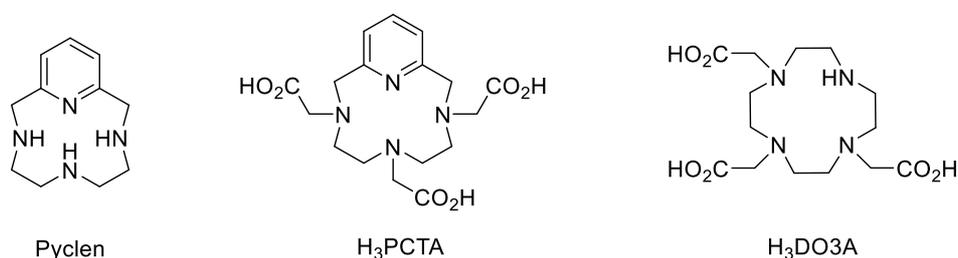


Figure 6 : Macrocycle pyclyen et son dérivé H<sub>3</sub>PCTA, analogue rigide du ligand H<sub>3</sub>DO3A.

Dans le cadre de cette thèse Cifre en collaboration avec l'entreprise Guerbet, nous avons entrepris la synthèse de dérivés macrocycliques pour la complexation de l'yttrium(III) et du gadolinium(III) pour des applications respectives en radiothérapie interne et en IRM, avec, cependant, une spécificité pour le traitement et le diagnostic du cancer du foie. Un ciblage spécifique de cet organe est rendu possible par l'introduction de groupements lipophiles sur le ligand, permettant l'accumulation de l'agent de radiothérapie au sein de la tumeur et une élimination préférentielle de l'agent de contraste IRM par le foie. A cet effet, notre choix s'est porté sur le développement de ligands dérivés du pyclyen formant avec l'yttrium(III) et le gadolinium(III) des complexes neutres aux propriétés lipophiles.

La première partie de ce travail est une introduction à l'utilisation des complexes d'yttrium(III) et de lanthanides(III) dans le domaine de la santé. Après un bref rappel des propriétés des complexes polyazamacrocycliques, nous aborderons le principe des techniques d'imagerie et de thérapie mettant à profit les chélates de lanthanides(III). Cette partie sera illustrée d'exemples parmi les plus pertinents de la littérature en lien avec ces travaux de thèse.

Le deuxième chapitre de ce manuscrit sera axé sur le développement de chélates d'yttrium(III) à des fins de radiothérapie. Une première partie introduira les généralités du carcinome hépatocellulaire ainsi que les traitements propres à ce cancer. La deuxième partie sera dédiée à l'étude du dérivé  $H_3PCTMB$ , déjà connu de la littérature<sup>15-17</sup> et de son complexe d'yttrium(III) neutre et lipophile. Elle nous permettra d'établir un premier constat quant aux propriétés nécessaires pour l'application de radiothérapie du foie.

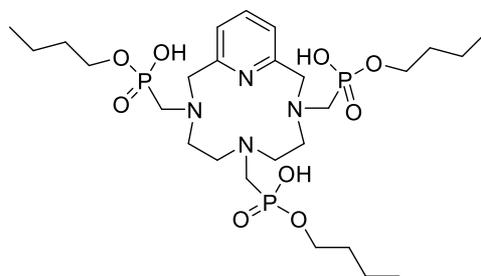


Figure 7 : Ligand  $H_3PCTMB$ .

Les propriétés remarquables des complexes macrocycliques N-fonctionnalisés par des groupements picolinate, démontrées, entre autres, par les travaux de notre équipe, nous amèneront à synthétiser et étudier l'association du macrocycle pyclyen avec ces groupements aromatiques fonctionnels, jamais étudiée à ce jour. Enfin, ce chapitre se refermera sur le développement d'analogues lipophiles. L'efficacité des complexes synthétisés et leur

potentielle utilisation en radiothérapie interne seront évaluées grâce aux études de stabilité thermodynamique, d'inertie cinétique et de radiomarquage à l'yttrium 90.

Dans un dernier chapitre, la similarité des propriétés de coordination de l'yttrium(III) et du gadolinium(III) nous conduira à étudier et valoriser les ligands synthétisés précédemment en tant qu'agents de contraste pour l'IRM hépatobiliaire avec l'ion  $Gd^{3+}$ . Les produits de contraste commerciaux développés à cet effet seront discutés dans la première partie. Ensuite, les propriétés de ces complexes de gadolinium seront évaluées en termes de stabilité thermodynamique, d'inertie cinétique et de relaxivité. Enfin, les propriétés optiques des complexes de lanthanides (Eu(III), Tb(III), Yb(III)) seront également évoquées.

---

# Chapitre I

Les complexes macrocycliques de lanthanides : propriétés et applications en santé

---



Pour faire face à l'augmentation du nombre de décès liés au cancer à travers le monde, le domaine de l'oncologie s'est adapté et s'emploie à détecter et traiter les tumeurs à un stade précoce. Parmi les nombreuses techniques d'imagerie et de thérapie existantes à ce jour, l'imagerie par résonance magnétique (IRM), la tomographie par émission de positons (TEP) ou encore la radiothérapie vectorisée se distinguent des autres. En effet, avec ces techniques et dans certains cas, l'injection de cations métalliques permet d'agir en tant que catalyseur afin d'augmenter la sensibilité ou comme un principe actif pour traiter exclusivement la zone désirée.

Ainsi, grâce à leurs propriétés physiques, les ions lanthanides(III) sont tout autant au cœur de la médecine nucléaire et de l'IRM que de l'imagerie optique. Pour une application en milieu biologique, ces ions métalliques, toxiques à l'état libre, doivent être utilisés sous la forme de chélates stables ne se dissociant pas *in vivo*. C'est pourquoi les chélates macrocycliques dérivés de polyazacycloalcanes, dont le très connu DOTA, sont de plus en plus utilisés en imagerie et en thérapie, du fait de leurs propriétés adaptées au milieu biologique : la coordination du cation métallique par un ligand macrocyclique tend à former des espèces stables et inertes. Ainsi, dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons principalement aux complexes macrocycliques de lanthanides(III) et de l'yttrium(III).

Dans un premier temps, ce chapitre bibliographique a pour objectif de décrire les propriétés des ions lanthanides(III) et des cations analogues ainsi que celles des polyazacycloalcanes en comparaison aux analogues linéaires. Le principe des différentes techniques d'imagerie et de thérapie, mettant en jeu des ions lanthanides(III) sera ensuite détaillé et illustré par des exemples pertinents en lien avec les travaux réalisés ici.

## I. Propriétés des lanthanides et de l'yttrium

Leur faible teneur dans les minerais et les difficultés rencontrées pour les isoler a donné au groupe composé de l'yttrium, du scandium et des lanthanides, le nom de terres rares. Ce nom peut être qualifié d'inapproprié puisque ces éléments sont en fait plus abondants que l'or ou encore le molybdène dans la croûte terrestre. L'association de l'yttrium et du scandium avec les lanthanides s'explique également par la similarité de leurs propriétés chimiques.

Le groupe des lanthanides, aussi appelés éléments 4f, s'étend du lanthane au lutécium. Les lanthanides forment le plus souvent, en solution, des ions au degré d'oxydation +III. Leur structure électronique est constituée d'un cœur Xénon et d'électrons de valence 4f :  $[Xe]4f^n$ . Ces électrons de valence sont blindés vis-à-vis des interactions extérieures ce qui influence les

propriétés chimiques, magnétiques ou spectroscopiques de ces ions. Le remplissage progressif de la couche 4f du La(III) ( $4f^0$ ) au Lu(III) ( $4f^{14}$ ) implique une diminution du rayon ionique des lanthanides(III) (Tableau 1). Ce phénomène est connu sous le nom de « contraction des lanthanides ». L'yttrium(III), quant à lui, possède une structure électronique  $[\text{Kr}]4d^0$ .

Les ions  $\text{Ln}^{3+}$  et  $\text{Y}^{3+}$  sont considérés comme des acides durs selon la théorie HSAB de Pearson et forment ainsi des liaisons ioniques avec des bases dures telles que des atomes d'oxygène ou d'azote. Ainsi, les ligands macrocycliques N-fonctionnalisés par des groupements anioniques (carboxylate, phosphonate ou phosphinate) sont adaptés pour complexer les lanthanides(III) et leur apporter le nombre d'atomes coordinants adéquat compris entre 7 et 10, les plus courants étant 8 et 9.

Lanthanides	Ions	Configuration électronique	Rayon ionique (NC 9)
Scandium	Sc(III)	[Ar]	0,93
Yttrium	Y(III)	[Kr]	1,08
Lanthane	La(III)	[Xe]	1,22
Cérium	Ce(III)	[Xe]4f <sup>1</sup>	1,20
Praséodyme	Pr(III)	[Xe]4f <sup>2</sup>	1,18
Néodyme	Nd(III)	[Xe]4f <sup>3</sup>	1,16
Prométhium	Pm(III)	[Xe]4f <sup>4</sup>	1,14
Samarium	Sm(III)	[Xe]4f <sup>5</sup>	1,13
Europium	Eu(III)	[Xe]4f <sup>6</sup>	1,12
Gadolinium	Gd(III)	[Xe]4f <sup>7</sup>	1,11
Terbium	Tb(III)	[Xe]4f <sup>8</sup>	1,10
Dysprosium	Dy(III)	[Xe]4f <sup>9</sup>	1,08
Holmium	Ho(III)	[Xe]4f <sup>10</sup>	1,07
Erbium	Er(III)	[Xe]4f <sup>11</sup>	1,06
Thulium	Tm(III)	[Xe]4f <sup>12</sup>	1,05
Ytterbium	Yb(III)	[Xe]4f <sup>13</sup>	1,04
Lutécium	Lu(III)	[Xe]4f <sup>14</sup>	1,03

Tableau 1 : Caractéristiques des ions Ln(III), Y(III) et Sc(III).

## II. Propriétés des polyazacycloalcanes et de leurs complexes

Comme présenté en introduction générale, les polyazacycloalcanes sont des macrocycles constitués de fonctions amine espacées par deux à trois atomes de carbone, les plus connus étant le tacn, le cyclen et le cyclam (Figure 8). Ces macrocycles peuvent être N-fonctionnalisés par divers groupements adaptés pour la complexation d'un cation métallique particulier en vue d'une application spécifique. La cavité macrocyclique du tacn, de faible taille, est intéressante pour la complexation de métaux de transition alors que le cyclen est adapté pour la complexation de cations métalliques aux rayons ioniques plus importants dont les lanthanides(III).

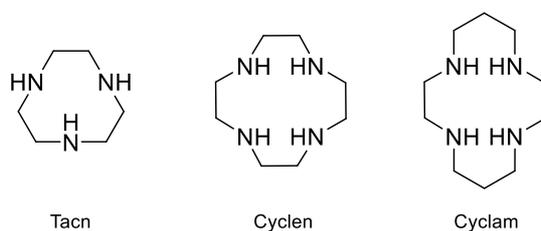


Figure 8 : Polyazacycloalcanes couramment utilisés pour la complexation de cations métalliques.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à un autre macrocycle encore relativement peu étudié à ce jour : le pyclen ou 3,6,9,15-tétraazabicyclo[9.3.1]pentadéca-1(15),11,13-triène (Figure 9). Le pyclen peut être considéré comme l'analogue du cyclen ayant un noyau pyridinique intégré au macrocycle. Le fait qu'il ne présente qu'un cycle aromatique sans autre conjugaison explique qu'il soit classé malgré tout parmi les polyazacycloalcanes. La rigidification induite par la présence de cette pyridine impacte les propriétés des chélates dérivés du pyclen.<sup>14</sup> Par ailleurs, la N-fonctionnalisation des trois fonctions amine permet d'introduire trois charges négatives pour ensuite former des complexes de lanthanides(III) neutres.

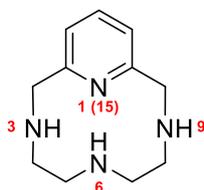


Figure 9 : Macrocycle pycen (3,6,9,15-tétraazabicyclo[9.3.1]pentadéca-1(15),11,13-triène), analogue rigide du cyclen. La numérotation des atomes d'azote est indiquée en rouge.

Ces macrocycles peuvent être N-fonctionnalisés par une large variété de groupements coordinants. Les groupements acétate, amide, phosphonate ou phosphinate figurent parmi les plus couramment utilisés<sup>18</sup> (Figure 10). La N-fonctionnalisation par un groupement picolinate présente également un intérêt grâce à l'apport simultané de deux atomes coordinants (Figure 10). Ces groupements picolinate ont été étudiés pour la complexation de nombreux cations métalliques allant des métaux de transition aux lanthanides.<sup>7,19</sup> Ils seront d'ailleurs très largement décrits au cours de ce chapitre puisqu'ils sont au cœur de nombreuses études visant des applications en IRM et en imagerie optique. Enfin, les groupements thiazole sont également étudiés au laboratoire pour la complexation du cuivre aux degrés d'oxydation +I et +II.<sup>20,21</sup>

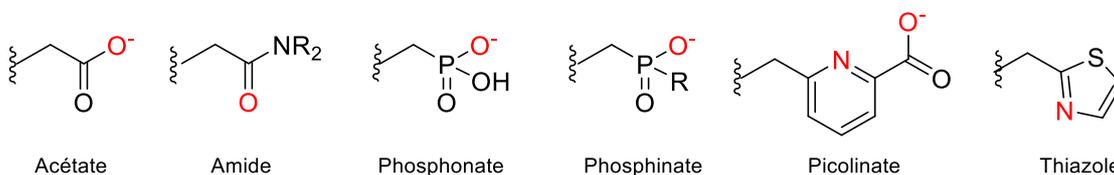


Figure 10 : Groupements coordinants très utilisés pour la N-fonctionnalisation des macrocycles. Les atomes impliqués dans la coordination des cations métalliques sont indiqués en rouge.

La compréhension des propriétés physico-chimiques des ligands macrocycliques et de leurs complexes, au travers des constantes thermodynamiques et cinétiques, est essentielle pour appréhender le comportement des chélates *in vivo*. Ainsi, nous décrirons ici brièvement leurs propriétés.

### 1. Propriétés acido-basiques des polyazacycloalcanes

Les fonctions amine ainsi que les groupements portés par la plateforme macrocyclique, confèrent aux polyazacycloalcanes des propriétés acido-basiques. Les protonations successives d'un ligand peuvent être décrites par les logarithmes des constantes de protonation partielles ( $\log K_n$ ) ou par ceux des constantes de protonation globales ( $\log \beta_n$ ) (Tableau 2). En général, ces constantes sont déterminées par titrage potentiométrique. La détermination de ces constantes est indispensable pour ensuite mesurer les constantes de stabilité thermodynamique du complexe mais aussi pour comprendre ses processus de formation et de dissociation.

Constantes	Equilibres		
$K_1 = \frac{[HL]}{[H][L]}$	H + L	$\xrightleftharpoons{K_1}$	HL
$K_2 = \frac{[H_2L]}{[H][HL]}$	H + HL	$\xrightleftharpoons{K_2}$	H <sub>2</sub> L
$K_n = \frac{[H_nL]}{[H][H_{(n-1)}L]}$	H + H <sub>(n-1)</sub> L	$\xrightleftharpoons{K_n}$	H <sub>n</sub> L
$\beta_n = K_n \times K_{n-1} \times \dots \times K_1$	nH + L	$\xrightleftharpoons{\beta_n}$	H <sub>n</sub> L

Tableau 2 : Equilibres de protonation et constantes partielles associées.

Les deux premières constantes de protonation d'un ligand macrocyclique correspondent, en général, à la protonation de deux fonctions amine de la plateforme macrocyclique. La valeur de la deuxième constante de protonation varie avec la taille du macrocycle. Ainsi elle décroît du cyclam, au cyclen jusqu'au tacn (Tableau 3,  $\log K_2$ ), un deuxième proton étant plus difficile à introduire à cause des répulsions électrostatiques.<sup>12,22</sup> La deuxième constante de protonation

du pycnol est également plus faible que celle du cyclen (Figure 11, Tableau 3). La rigidité apportée par la pyridine du macrocycle explique cette différence de basicité.

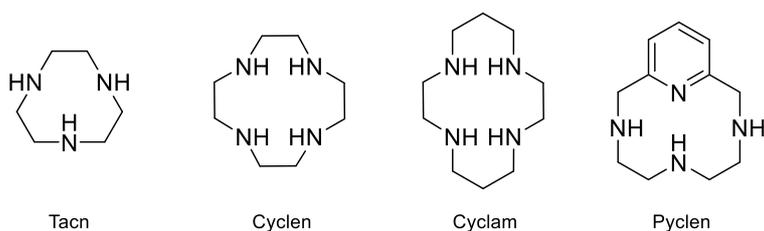


Figure 11 : Squelettes macrocycliques discutés dans cette partie.

	Tacn <sup>12</sup>	Cyclen <sup>12</sup>	Cyclam <sup>12</sup>	Pycnol <sup>22</sup>
log $K_1$	10,50	11,05	11,29	10,33
log $K_2$	6,80	9,78	10,19	7,83
log $K_3$	-	-	1,91	1,27
log $K_4$	-	-	1,61	< 1
$\Sigma \log K_i$	17,30	20,83	25,00	19,43

Tableau 3 : Constantes de protonation des macrocycles usuels.

Le mécanisme de protonation d'un ligand peut être démontré par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  en suivant les déplacements chimiques en fonction du pH.<sup>22,23</sup> La protonation d'un site basique tel qu'une fonction amine, carboxylate ou phosphonate induit une variation du déplacement chimique des protons non labiles adjacents au site protoné. Aime et al.<sup>23</sup> ont, par cette méthode, démontré le mécanisme de protonation du pycnol et de ses dérivés dont le H<sub>3</sub>PCTA (Schéma 1). La première protonation concerne l'amine secondaire **6** opposée à la pyridine du macrocycle (log  $K_1 = 10,90$ ) (Tableau 4). L'ajout d'un deuxième proton dans la cavité du macrocycle induit un réarrangement des positions des protons afin de minimiser les répulsions électrostatiques. Les deux amines secondaires **3** et **9**, adjacentes à la pyridine du pycnol, se retrouvent ainsi protonées (log  $K_2 = 7,11$ ). La troisième protonation concerne le groupement acétate porté par la fonction amine non protonée **6**, suivie par celle des deux groupements acétate restants. Ce mécanisme s'applique également pour les autres dérivés du pycnol.<sup>22</sup>

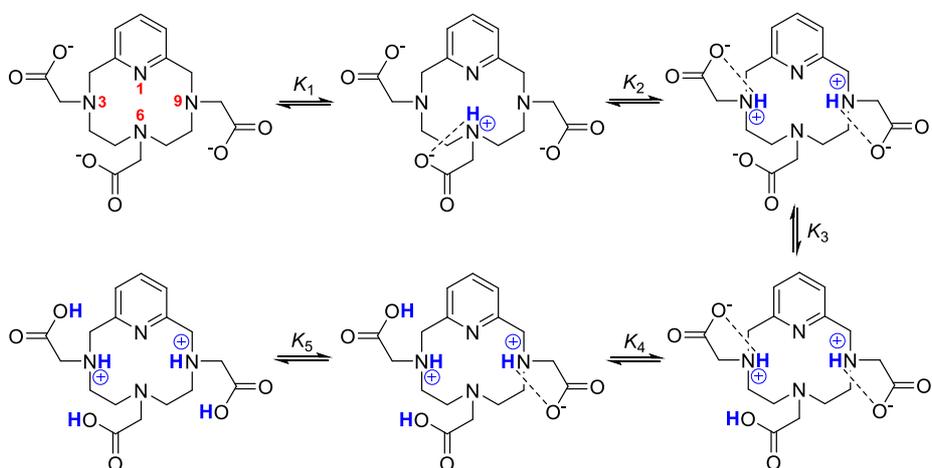


Schéma 1 : Mécanisme de protonation du ligand PCTA.

La substitution d'un bras acétate par un bras méthylènéphosphonate, plus basique, augmente la basicité globale du ligand comme en témoigne la comparaison des constantes des ligands HPCMA ( $\Sigma \log K_i = 21,97$ ) et H<sub>2</sub>PCMP ( $\Sigma \log K_i = 28,70$ ) (Figure 12). La basicité plus élevée du groupement phosphonate a également un impact sur les constantes de protonation du macrocycle. A titre d'exemple, la première constante de protonation du ligand HPCMA ( $\log K_1 = 10,47$ ) est plus faible que celle du ligand H<sub>2</sub>PCMP ( $\log K_1 = 11,84$ ). Ceci s'explique par la capacité du groupement phosphonate à stabiliser le proton présent dans la cavité macrocyclique par la formation d'une forte liaison hydrogène entre l'atome d'azote protoné et le groupement phosphonate. Ainsi, la première constante de protonation des ligands dérivés du cyclen diffère d'un ligand à un autre en fonction du groupement porté par l'amine **6** (Tableau 4).

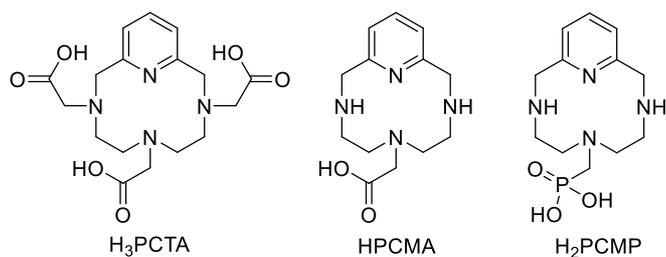


Figure 12 : Ligands dérivés du macrocycle cyclen.

	HPCMA <sup>22</sup>	H <sub>3</sub> PCTA <sup>22</sup>	H <sub>2</sub> PCMP <sup>22</sup>
$\log K_1$	10,47	10,90	11,84
$\log K_2$	8,71	7,11	9,64
$\log K_3$	2,79	3,88	6,23
$\log K_4$	-	2,27	0,99
$\Sigma \log K_i$	21,97	24,16	28,70

Tableau 4 : Constantes de protonation de ligands dérivés du cyclen.

La basicité d'un ligand se verra donc influencée par différents facteurs dont les répulsions électrostatiques entre les atomes donneurs protonés, la basicité des groupements coordinants mais aussi la force de la liaison hydrogène formée entre l'atome d'azote protoné et le groupement donneur.

## 2. Complexation, stabilité et inertie des complexes macrocycliques

Afin de prédire le comportement d'un chélate au sein d'un système aussi complexe que le milieu biologique, des modèles basés sur la stabilité thermodynamique et l'inertie cinétique permettent d'envisager le taux de dissociation d'un complexe *in vivo*. Ces notions vont être expliquées à l'aide d'exemples de la littérature dont celui du ligand linéaire H<sub>5</sub>DTPA, une diéthylènetriamine N-fonctionnalisée par cinq groupements acétate et du ligand macrocyclique H<sub>4</sub>DOTA, cyclen N-fonctionnalisé par quatre groupements acétate (Figure 13).

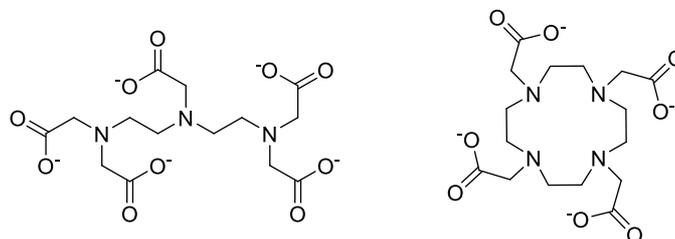
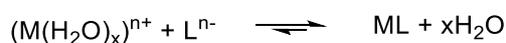


Figure 13 : Ligands DTPA<sup>5-</sup> (gauche) et DOTA<sup>4-</sup> (droite).

### a. Cinétique de complexation

La formation d'un complexe est un processus ayant une contribution entropique favorable, d'une part, grâce à la désolvation du cation métallique, et d'autre part, grâce aux interactions électrostatiques entre le cation métallique et le ligand, induisant une neutralisation des charges :



Cependant, la vitesse de complexation peut varier sensiblement d'un ligand à un autre. En plus des facteurs contrôlables, comme la température, le pH et la concentration, la formation d'un complexe est dépendante du type de ligand, macrocyclique ou linéaire, des intermédiaires réactionnels formés mais aussi de la basicité du ligand. À titre d'exemple, le complexe GdDTPA<sup>2-</sup> se forme en quelques secondes contre plusieurs minutes, voire heures, pour le complexe GdDOTA<sup>-</sup>. Ces différences de comportement ont été constatées avec la série des ions lanthanides.<sup>24</sup> Grâce à sa flexibilité, le ligand linéaire H<sub>5</sub>DTPA va pouvoir « s'enrouler » autour du cation métallique formant ainsi directement l'espèce thermodynamique. Dans le cas du

H<sub>4</sub>DOTA, l'espèce cinétique est formée rapidement (Schéma 2) : le cation métallique se retrouve au-dessus de la cavité macrocyclique générant un intermédiaire rigide : [Ln(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>H<sub>2</sub>DOTA]<sup>-</sup>. Dans cet intermédiaire, Ln<sup>3+</sup> est coordonné par les quatre atomes d'oxygène des groupements acétate et par quatre à cinq molécules d'eau, laissant deux protons dans la cavité macrocyclique.<sup>24</sup> L'espèce thermodynamique est formée une fois les protons de la cavité macrocyclique retirés (Schéma 2). Étant donné la rigidité de l'intermédiaire formé et la basicité des deux protons des amines du macrocycle, l'insertion de l'ion lanthanide(III) au sein de la cavité requiert plus de temps. Travailler à pH plus basique permet d'augmenter la vitesse de formation du complexe puisque le ligand est déprotoné. Néanmoins, la formation d'hydroxydes métalliques insolubles est inévitable à pH basique. C'est la raison pour laquelle, le pH de formation d'un complexe est le plus souvent compris entre 5 et 7. Toutefois, une complexation à chaud permet de contrer la lente formation de l'espèce thermodynamique.

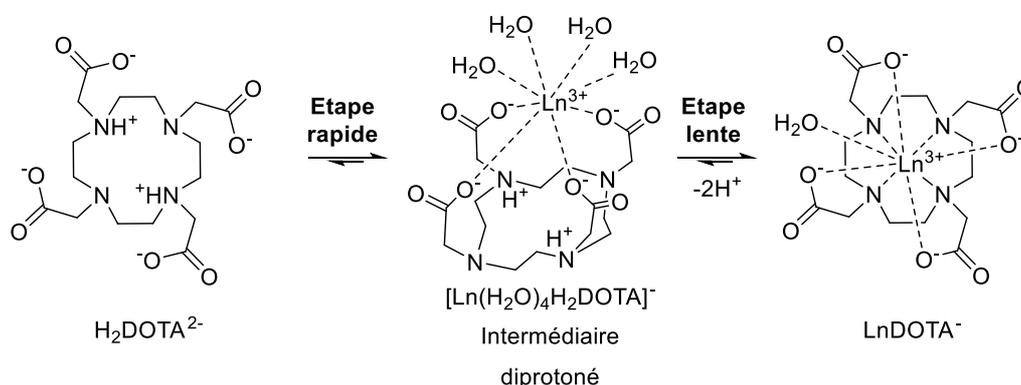


Schéma 2 : Etapes de formation d'un complexe LnDOTA<sup>-</sup>.

La formation d'intermédiaires similaires diprotonés, a également été constatée pour les complexes LnPCTA avec un mécanisme similaire au H<sub>4</sub>DOTA. Cependant, la formation des complexes de lanthanide avec le H<sub>3</sub>PCTA s'effectue dix fois plus rapidement qu'avec le H<sub>4</sub>DOTA.<sup>1</sup> Cette différence majeure s'expliquerait par la pré-organisation induite par la pyridine du macrocycle. Les études menées sur le H<sub>3</sub>PCTA par Tircsó et al.<sup>14</sup>, ont montré que les complexes LnPCTA présentaient la cinétique de complexation la plus rapide, parmi tous les dérivés tri- et tétra-azamacrocycliques (de 9 à 14 atomes) étudiés à ce jour.

Le remplacement des groupements carboxylate du H<sub>4</sub>DOTA par un à quatre groupements phosphonate augmente le temps de complexation. Les complexes du H<sub>8</sub>DOTP et H<sub>4</sub>DOTPMB se formeront plus lentement que ceux du H<sub>4</sub>DOTA.<sup>25</sup> La basicité plus importante des groupements phosphonate va stabiliser les protons de la cavité macrocyclique, rendant la compétition métal-proton plus importante. Le remplacement d'un groupement acétate du DOTA par un groupement picolinate augmente également la vitesse de complexation à cause

de la rigidité du groupement.<sup>19</sup> Ainsi, la basicité et la rigidité des groupements portés par le macrocycle impacte également la vitesse de formation des complexes de lanthanide.

La complexation rapide d'un cation métallique à température ambiante n'est pas primordiale lors de la conception d'agents de contraste à base de gadolinium (III) pour l'IRM. Elle est néanmoins indispensable pour la synthèse de radiopharmaceutiques où le vecteur biologique, le plus souvent un anticorps, impose des conditions de complexation douces, l'anticorps se dégradant avec un chauffage trop élevé. Par ailleurs, une complexation rapide est également recherchée lors du radiomarquage avec des radionucléides à la période radioactive courte.

#### b. Stabilité thermodynamique

L'évaluation de la stabilité thermodynamique d'un complexe consiste à déterminer sa constante de formation  $\log K_{ML}$ . Les constantes de formation des espèces MLH et ML(OH) peuvent également être déterminées (Tableau 5). MLH désigne la forme protonée du complexe ML alors que ML(OH) correspond au complexe ML possédant un ion hydroxo coordonné au cation métallique.

Constantes	Equilibres
$K_{MLH} = \frac{[MLH]}{[ML][H]}$	$ML + H \xrightleftharpoons{K_1} MLH$
$K_{ML} = \frac{[ML]}{[M][L]}$	$M + L \xrightleftharpoons{K_2} ML$
$K_{ML} = \frac{[ML]}{[ML(OH)][H]}$	$ML(OH) + H \xrightleftharpoons{K_n} ML$

Tableau 5 : Constantes de stabilité partielles ( $\log K$ ) et équilibres correspondants.

En plus des interactions électrostatiques favorables à la complexation, la pré-organisation du ligand apporte une contribution entropique favorable, le ligand ayant la même conformation à l'état libre et au sein du complexe. A cet effet, connu sous le nom « d'effet macrocyclique », s'ajoute « l'effet chélate » induit par le nombre de cycles à cinq chaînons (N-M-N ou N-M-O) formés après complexation.<sup>26</sup> Par définition, les ligands linéaires ne sont pas concernés par l'effet macrocyclique. De plus, à nombre de coordination égal, le nombre de cycles à cinq chaînons est plus faible pour les complexes linéaires.

La constante de stabilité thermodynamique du complexe GdDOTA<sup>-</sup> ( $\log K_{GdL} = 24,9$ ) est supérieure à celle du complexe GdDTPA<sup>2-</sup> ( $\log K_{GdL} = 22,2$ ) (Tableau 6). Cependant, à cause

de la différence de basicité des ligands DTPA ( $\log K_i = 27,42$ ) et DOTA ( $\log K_i = 30,45$ ), les constantes de stabilité thermodynamique ne peuvent pas être directement comparées. Leur comparaison est valable uniquement lorsque le ligand est entièrement déprotoné. Or, aux conditions d'études, le plus souvent à pH physiologique 7,4, le ligand existe sous différentes formes protonées. De plus, le pourcentage de ces espèces diffère d'un ligand à un autre pour un même pH puisque leurs constantes de protonation varient. La toxicité d'un complexe in vivo pouvant être reliée à la concentration en cations métalliques libres  $[M_{\text{libre}}^{n+}]$ , la stabilité thermodynamique d'un complexe peut s'exprimer au travers de la constante pM ( $pM = -\log[M_{\text{libre}}^{n+}]$ ) où M correspond au cation métallique étudié.<sup>27</sup> Grâce à cette constante introduite par le groupe de K. Raymond,<sup>27</sup> il est possible de comparer la stabilité de plusieurs chélates, tout en prenant en considération la différence de basicité des ligands. En général, ces constantes pM sont calculées à pH 7,4 pour  $C_L = 10 \times C_M = 10^{-5}$  M.<sup>28</sup> Ainsi, les constantes pGd des complexes GdDTPA<sup>2-</sup> et GdDOTA<sup>-</sup> peuvent être considérées identiques avec pour valeurs respectives 19,1 et 18,9 alors que la constante de stabilité  $\log K_{ML}$  de GdDOTA<sup>-</sup> est supérieure à celle de GdDTPA<sup>2-</sup> (Tableau 6). Ainsi, le calcul des constantes pM s'impose pour comparer la stabilité de plusieurs chélates.

	H <sub>5</sub> DTPA <sup>29</sup>	H <sub>4</sub> DOTA <sup>30,31</sup>
log $K_i$	27,42	30,45
log $K_{GdL}$	22,2	24,9
pM = $-\log[M]^a$	19,1	18,9

<sup>a</sup> pM =  $-\log[M^{3+}]$  à pH 7,4 avec  $[L] = 10 \times [M^{3+}]_{\text{tot}} = 10^{-5}$  M, calculé à partir des constantes de protonation et de stabilité thermodynamique correspondantes

Tableau 6 : Comparaison des constantes de protonation des ligands H<sub>5</sub>DTPA et H<sub>4</sub>DOTA et de stabilité de leurs complexes de Gd(III).

### c. Inertie cinétique

L'inertie cinétique d'un complexe est requise pour éviter toute accumulation d'un cation métallique libre, potentiellement toxique, en milieu biologique. Cette accumulation est le résultat de la dissociation du complexe causée par la présence de protéines, d'anions (phosphate, citrate...) et de cations (Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>...) entrant en compétition avec le ligand ou avec le métal par des processus de transchélation et de transmétallation. La résistance d'un complexe en milieu biologique peut être vérifiée au travers d'expériences de compétition mimant ces deux phénomènes. La transchélation est évaluée en suivant la dissociation d'un complexe en présence d'un excès de ligand comme par exemple l'EDTA. La stabilité du complexe en présence d'un excès de cation Na<sup>+</sup> ou de protons H<sup>+</sup>, reflète le

processus de transmétallation. Parmi toutes ces études, la dissociation en milieu acide est très couramment utilisée pour déterminer l'inertie cinétique, d'autant plus que la corrélation entre le taux de dissociation en milieu acide et l'accumulation de cations métallique in vivo a été démontrée à plusieurs reprises.<sup>32-34</sup> Plusieurs grandeurs témoignent de cette inertie comme le temps de demi-vie  $t_{1/2}$ , temps au bout duquel la moitié du complexe s'est dissocié ou encore la constante de dissociation  $k_{obs}$  ( $M^{-1}.s^{-1}$ ). Ces deux grandeurs sont liées par l'équation  $t_{1/2} = \ln(2)/k_{obs}$ . Par conséquent, un complexe inerte sera caractérisé par un  $t_{1/2}$  élevé ou par une constante de dissociation  $k_{obs}$  la plus faible possible. La faible dissociation d'un complexe étant synonyme de sa forte inertie cinétique, ces études sont cruciales pour sélectionner les meilleurs candidats pour les tests in vivo.

Malgré leur stabilité thermodynamique similaire (Tableau 6), l'inertie cinétique des complexes  $GdDTPA^{2-}$  et  $GdDOTA^{-}$  diffère considérablement avec un temps de demi-vie  $t_{1/2}$  en milieu HCl 0,1 M de 229 h pour le dérivé macrocyclique contre une dissociation immédiate pour le dérivé linéaire (Tableau 7). La dissociation en milieu acide s'opère, le plus souvent, par la protonation d'un site basique d'un des bras coordinants et s'ensuit de la protonation des amines du macrocycle provoquant la libération du cation métallique. Grâce à la pré-organisation et à la rigidité des ligands, la dissociation des chélates macrocycliques requiert plus de temps. D'une part, le cation métallique, piégé dans la cavité macrocyclique, ne peut être coordonné par des ligands compétiteurs, d'autre part, sa présence rend les amines du macrocycle plus difficilement protonables. Ces observations expliquent de nouveau l'intérêt porté pour les dérivés macrocycliques au détriment des chélates acycliques.

Il est également à noter que la dissociation in vivo sera favorisée si le ligand est substitué par des groupements basiques et protonables à pH physiologique 7,4. Au contraire, les chélates fonctionnalisés par des groupements faiblement basiques verront leur inertie cinétique croître. Dans le cas du ligand DTMA (Figure 14), seules les constantes de protonation du macrocycle ont pu être déterminées ( $\log K_1 = 9,56$ ,  $\log K_2 = 5,95$ ) ce qui témoigne de la faible basicité des groupements méthylamide ( $\log K_3 < 2$ ).<sup>35</sup> Malgré une stabilité thermodynamique du complexe  $EuDTMA^{3+}$  ( $pEu = 12,7$ ) très inférieure à celle du complexe  $EuDOTA^{-}$  ( $pEu = 17,0$ ), l'inertie cinétique de ces deux complexes atteint des valeurs similaires avec des constantes de dissociation  $k_{obs}$  respectives de  $5,6.10^{-8}$  et  $1,4.10^{-6} M^{-1}.s^{-1}$  pour  $[H^+] = 0,1 M$  (Tableau 7). Ainsi, la basicité des groupements coordinants joue un rôle important quant à l'inertie cinétique d'un complexe.

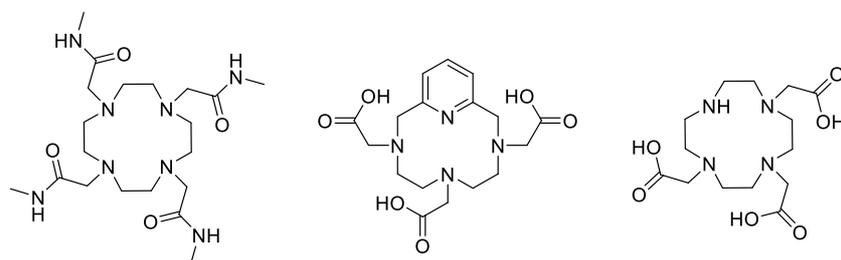


Figure 14 : Ligands DTMA, H<sub>3</sub>PCTA et H<sub>3</sub>DO3A (de gauche à droite).

L'inclusion d'un groupement rigide induit une augmentation de la pré-organisation du ligand et se traduit par une amélioration de l'inertie cinétique du complexe. L'introduction d'une pyridine au sein du ligand H<sub>3</sub>DO3A mène au ligand H<sub>3</sub>PCTA (Figure 14). Les complexes LnPCTA présentent des valeurs de  $k_{obs}$  inférieures à celle des complexes LnDO3A de deux ordres de grandeur (Tableau 7). La rigidification du squelette macrocyclique, par le biais de la pyridine, expliquerait l'augmentation de l'inertie cinétique. D'autre part, la présence de cette pyridine ralentirait la protonation du macrocycle lors de l'étape de dissociation. Ainsi, l'augmentation de la rigidité du chélate impacte favorablement l'inertie cinétique.

	GdDTPA <sup>36</sup>	GdDOTA <sup>36</sup>	EuDOTA <sup>35</sup>	EuDTMA <sup>35</sup>	EuPCTA <sup>14,37</sup>	GdDO3A <sup>36</sup>
$k_{obs}$ en s <sup>-1</sup> pour [H <sup>+</sup> ] = 0,1 M <sup>a</sup>	0,058	8,4.10 <sup>-7</sup>	1,4.10 <sup>-6</sup>	5,6.10 <sup>-8</sup>	5,1.10 <sup>-5</sup>	1,2.10 <sup>-3</sup>
$t_{1/2}$ (HCl 0,1 M) <sup>b</sup>	12 s	229 h	-	-	3,8 h	9,6 min
Log K <sub>LnL</sub> (pM) <sup>c</sup>	22,4 (19,3)	25,3 (19,2)	23,5 (17,0)	13,67 (12,7)	20,26 (17,0)	21,0 (15,9)

<sup>a</sup> Calculé à partir des constantes  $k_1$  avec  $k_{obs} = k_1 \times [H^+]$ , <sup>b</sup> Calculé avec  $t_{1/2} = \ln(2) / k_{obs}$ , <sup>c</sup> pM =  $-\log [M^{3+}]$  à pH 7,4 avec [L] =  $10 \times [M^{3+}]_{tot} = 10^{-5}$  M. Pour des raisons de clarté, les charges des complexes ne sont pas indiquées.

Tableau 7 : Inertie cinétique et stabilité thermodynamique des complexes de la littérature.

En somme, les paramètres suivant sont à prendre en considération lors de la conception de nouveaux chélates de lanthanides(III) :

- Les propriétés acido-basiques du ligand et des groupements coordinants influencent la complexation, la dissociation et la stabilité thermodynamique d'un chélate.
- La nature du ligand : les dérivés macrocycliques forment des chélates rigides où le cation métallique se retrouve encapsulé. Le confinement du métal au sein de la cavité macrocyclique ralentit la dissociation du chélate in vivo en comparaison aux dérivés linéaires.
- Une inertie cinétique élevée est le facteur clé recherché pour une application in vivo.
- Un chélate idéal sera caractérisé par une forte inertie cinétique et une stabilité thermodynamique élevée.

L'utilisation de dérivés macrocycliques doit être privilégiée par rapport aux dérivés linéaires du type DTPA afin de minimiser la libération d'ions métalliques dans l'organisme, tant en IRM, puisque le gadolinium(III) est toxique, qu'en médecine nucléaire où les radionucléides peuvent irradier l'organisme. De plus, le développement de chélates dérivés du pyclen semble être une bonne alternative au DOTA qui est actuellement le ligand de référence pour la complexation des lanthanides(III). La rigidité du pyclen, apportée par le noyau pyridinique, permet une complexation rapide tout en maintenant une inertie cinétique et une stabilité thermodynamique adaptées au milieu biologique.

### III. Les chélates macrocycliques de Ln(III) en imagerie et thérapie

Cette partie a pour objectif d'expliquer les bases de la médecine nucléaire, de l'IRM et de l'imagerie optique. Elle sera étoffée d'exemples en lien avec les travaux réalisés au laboratoire, c'est pourquoi une attention particulière sera portée aux dérivés polyazacycloalcanes et leurs complexes de lanthanides(III).

#### 1. Les lanthanides(III) et l'yttrium(III) en médecine nucléaire

##### a. Principe de fonctionnement

Grâce à la surexpression de certains récepteurs à leur surface, les cellules cancéreuses peuvent être ciblées en utilisant des sondes spécifiques. Cette technique de ciblage offre la possibilité d'imager ou de traiter ces cellules en greffant un radionucléide sur un vecteur biologique. L'utilisation d'une telle entité, dénommée « radiopharmaceutique » est le principe même de la médecine nucléaire. C'est un outil non-invasif qui permet de diagnostiquer une tumeur ou de la traiter en préservant le tissu sain environnant. Les radioisotopes, instables, se désintègrent et émettent une particule jusqu'au retour à l'état stable. En fonction de sa nature, cette particule peut soit être détectée pour les applications de diagnostic, soit détruire les cellules cancéreuses dans le cas de la thérapie.

Ainsi, les techniques d'imagerie ou de thérapie se distinguent par le radionucléide employé (Tableau 8). L'émission de particules  $\alpha$  ou  $\beta^-$  donne lieu aux techniques de radiothérapie. Les particules  $\beta^+$  ou  $\gamma$  sont utilisées respectivement, en imagerie TEP (Tomographie par Emission de Positons) et TEMP (Tomographie par Emission MonoPhotonique). Ces dernières reposent sur la détection de rayonnement  $\gamma$ , c'est-à-dire de

photons. En imagerie TEP, l'annihilation provoquée par la collision entre le positon émis par le radionucléide et un électron présent dans le milieu biologique, s'ensuit de l'émission simultanée de deux photons dans des sens opposés d'énergie  $E = 511 \text{ keV}$  (Tableau 8). Contrairement aux particules  $\alpha$  et  $\beta^-$ , les rayonnements  $\gamma$  traversent le corps du patient. Après détection par des caméras  $\gamma$ , des images en deux ou trois dimensions permettent de visualiser une éventuelle accumulation du radiopharmaceutique au sein de l'organisme. Une fois le radionucléide à proximité des cellules tumorales, les particules  $\alpha$  ou  $\beta^-$  vont pénétrer dans la tumeur et entraîner la mort cellulaire. Le rayon d'action des particules  $\alpha$  est de 40 à 100  $\mu\text{m}$  avec une énergie de 5 à 8 MeV contre 0,5 à 10 mm pour les particules  $\beta^-$  avec une énergie moindre de 0,1 à 2,2 MeV.<sup>38</sup> Ces différences permettent d'adapter le radionucléide à la taille et la nature de la tumeur.

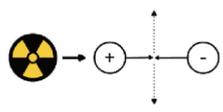
Emission	Equation bilan de l'émission	Particules émises	Techniques de médecine nucléaire
$\alpha$	${}^A_Z X \rightarrow {}^{A-4}_{Z-2} Y + {}^4_2 \text{He}$	Emission d'un <b>noyau d'hélium</b>	Radiothérapie
$\beta^-$	${}^A_Z X \rightarrow {}^A_{Z+1} Y + {}^0_{-1} e^- + \bar{\nu}_e$	Emission d' <b>électrons</b> et d'antineutrinos	Radiothérapie
$\beta^+$	${}^A_Z X \rightarrow {}^A_{Z-1} Y + {}^0_1 e^+ + \nu_e$ 	Emission de <b>positons</b> et de neutrinos puis émission de <b>rayonnement <math>\gamma</math></b> suite à l'annihilation d'un électron et du positon.	Imagerie TEP
$\gamma$	${}^A_Z X^* \rightarrow {}^A_Z X + \gamma$	Emission d'un <b>rayonnement <math>\gamma</math></b> par transition isomérique (le noyau passe d'un état métastable à son état fondamental)	Imagerie TEMP
$\gamma$	${}^A_Z X + {}^0_{-1} e^- \rightarrow {}^A_{Z-1} Y + \nu_e$	Emission d'un <b>rayonnement <math>\gamma</math></b> par capture électronique (formation d'un neutron après rencontre d'un électron de cœur avec un proton)	Imagerie TEMP

Tableau 8 : Caractéristiques des différentes désintégrations.

Les vecteurs biologiques servant à acheminer un radionucléide, peuvent être classés en trois catégories : anticorps monoclonaux, peptides spécifiques à un récepteur et enfin, petites molécules. Le radionucléide peut être introduit au sein du radiopharmaceutique, par liaison covalente ou par le biais d'un chélate, lui-même relié au vecteur (Figure 15). Le 18-FDG (18-Fluorodésoxyglucose) est un radiotracer très utilisé en imagerie TEP. La modification d'une molécule de glucose par l'insertion d'un atome de fluor-18, permet de cibler les cellules cancéreuses puisqu'elles ont une consommation de glucose supérieure à celle des cellules

saines. L'accumulation de 18-FDG dans la tumeur permet ainsi son diagnostic. Un autre exemple de radiopharmaceutique employant, cette fois-ci un chélate, est le Zevalin® (Ibritumomab tiuxetan-<sup>90</sup>Y). Ce chélate de l'yttrium 90, dérivé du DTPA, est utilisé en radiothérapie pour traiter les cancers du système immunitaire (lymphome non hodgkinien). Une fonction de greffage, aussi appelée connecteur, a été introduite par modification du squelette DTPA et permet par la formation d'un lien thiourée, de lier le chélate à un anticorps monoclonal (Figure 15).

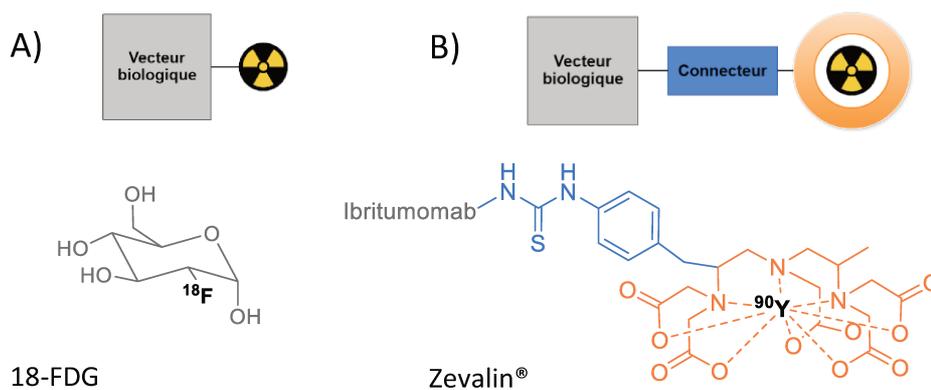


Figure 15 : Deux types de radiopharmaceutiques et exemples correspondants : A) Le radionucléide est lié au vecteur par liaison covalente (18-FDG), B) Le radionucléide est complexé par un ligand, le chélate est relié au vecteur par le biais d'un connecteur (Zevalin®).

Chaque radionucléide est caractérisé par son type de désintégration, sa période radioactive, la distance parcourue dans un milieu biologique et l'énergie de l'émission (Tableau 9). La période radioactive ou temps de demi-vie d'un radioélément correspond au temps nécessaire pour que la moitié des atomes radioactifs passe de l'état instable à l'état fondamental. Le choix d'un radionucléide repose également sur sa disponibilité, le coût et le moyen de production (cyclotron ou générateur). Actuellement, les radionucléides les plus couramment utilisés sont le <sup>99m</sup>Tc, le <sup>67</sup>Ga et l'<sup>111</sup>In pour l'imagerie TEMP, le <sup>18</sup>F pour la TEP et les émetteurs  $\beta^-$  <sup>90</sup>Y et <sup>131</sup>I pour la radiothérapie.<sup>38,39</sup> Les lanthanides <sup>153</sup>Sm et <sup>177</sup>Lu figurent parmi les émetteurs  $\beta^-$  utilisés en clinique pour la thérapie.<sup>40</sup> Le temps de demi-vie d'un radionucléide détermine sa potentielle utilisation en médecine nucléaire. Ce temps doit être suffisamment long pour préparer le radiopharmaceutique, l'injecter au patient, attendre son accumulation dans la tumeur et son élimination de l'organisme. Néanmoins, l'utilisation de radionucléides aux  $t_{1/2}$  trop longs est à éviter pour minimiser les risques d'irradiation. La préparation d'un radiopharmaceutique doit donc être la plus courte possible pour bénéficier au maximum de l'activité du radionucléide.

	Isotope radioactif	Demi-vie	émission	Mode de désintégration	Portée maximale	Portée moyenne	Production
Thérapie	<sup>131</sup> I	8,04 j	$\beta^-$ , $\gamma$	$\beta^-$ (971 keV), $\gamma$ (80, 284, 364, 637 keV)	2,9 mm	0,40 mm	fission
	<sup>90</sup> Y	2,67 j	$\beta^-$	$\beta^-$ (2282 keV)	11 mm	2,76 mm	C : <sup>89</sup> Y (n, $\gamma$ ) G : <sup>90</sup> Sr/ <sup>90</sup> Y
	<sup>177</sup> Lu	6,71 j	$\beta^-$ , $\gamma$	$\beta^-$ (498 keV), $\gamma$ (113, 208 keV)	2 mm	0,28 mm	C : <sup>176</sup> Lu (n, $\gamma$ )
	<sup>153</sup> Sm	1,93 j	$\beta^-$	$\beta^-$ (808 keV)		0,53 mm	C : <sup>152</sup> Sm (n, $\gamma$ )
TEP	<sup>18</sup> F	1,83 h	$\beta^+$	$\beta^+$ (633,5 keV), $\gamma$ (CE, 511 keV)			
	<sup>64</sup> Cu	12,7 h	$\beta^+$	$\beta^-$ (578 keV, 40%), $\beta^+$ (650 keV, 19%), CE (41 %)			C : <sup>64</sup> Ni(p, n)
TEMP	<sup>99m</sup> Tc	6,01 h	$\gamma$	TI (142 keV)			G : <sup>99</sup> Mo/ <sup>99m</sup> Tc
	<sup>111</sup> In	2,80 j	$\gamma$	CE, $\gamma$ (171, 245 keV)			C : <sup>112</sup> Cd(p,2n)
	<sup>67</sup> Ga	3,26 j	$\gamma$	CE, $\gamma$ (93 keV, 37%, 184 keV 20%, 300 keV, 17%)			C : <sup>68</sup> Zn(p,2n)

CE : capture électronique, TI : transition isomérique, C : production par cyclotron, G : production *via* un générateur

Tableau 9 : Caractéristiques de radionucléides couramment utilisés en médecine nucléaire.

### b. L'yttrium 90

L'objectif premier de cette thèse est de développer des chélates d'yttrium 90 pour une application en radiothérapie interne. L'yttrium 90 est un émetteur  $\beta^-$  pur, qui se désintègre en un isotope stable <sup>90</sup>Zr sans émettre de rayonnement  $\gamma$ . Toutefois, cet isotope émet indirectement des rayons  $\gamma$  suite au rayonnement continu de freinage des particules  $\beta^-$  (Bremsstrahlung).<sup>41</sup> Ce radionucléide thérapeutique présente plusieurs avantages dont une période radioactive de 64 h et l'émission d'une particule  $\beta^-$  avec une énergie de 2,28 MeV (Tableau 9).<sup>42</sup> L'yttrium 90 peut être produit à partir de l'isotope naturel <sup>89</sup>Y par activation de neutron ou via un générateur <sup>90</sup>Sr/<sup>90</sup>Y.<sup>42,43</sup> L'intérêt porté à l'yttrium(III) est d'autant plus justifié par l'existence d'un émetteur  $\beta^+$  adapté à l'imagerie TEP : l'yttrium 86. Contrairement à l'yttrium 90, cet isotope n'est pas approuvé pour des applications chez l'homme. Néanmoins, il possède des caractéristiques intéressantes dont une demi-vie de 14,2 h et l'émission de particules  $\beta^+$  (33%) avec une énergie de 1,2 MeV.<sup>42</sup>

En plus d'être utilisés avec des anticorps monoclonaux, les chélates à base d'yttrium 90 sont très utilisés en association avec des peptides analogues de la somatostatine (peptide inhibant les hormones de croissance ou les hormones gastro-intestinales). Les analogues de la somatostatine, DOTA-TOC et DOTA-TATE ont été radiomarqués par de nombreux radionucléides dont <sup>111</sup>In, <sup>177</sup>Lu et <sup>90</sup>Y.<sup>44</sup> Le radiopharmaceutique <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE a

notamment démontré son efficacité pour le traitement de tumeurs du cerveau.<sup>44</sup>

L'yttrium 90 figure parmi les radionucléides déjà utilisés pour l'application de radiothérapie interne visée ici. Cette application sera détaillée dans le chapitre suivant. Intéressons-nous maintenant à une technique d'imagerie très répandue mettant, le plus souvent en jeu des complexes de gadolinium(III) : l'imagerie par résonance magnétique.

## 2. Imagerie par résonance magnétique

### a. Principe de fonctionnement

Le principe de l'imagerie par résonance magnétique est basé sur celui de la résonance magnétique nucléaire (RMN). Cette technique d'imagerie a vu le jour dans les années 70, suite aux travaux de Paul Lauterbur et Peter Mansfield, qui leur ont valu le prix Nobel de médecine en 2003. Le contraste observé pendant un examen IRM est directement corrélé à la répartition de l'eau dans les tissus du corps humain. Cette technique repose sur le comportement des protons des molécules d'eau sous l'influence d'un champ magnétique. De fait, l'étude du noyau  $^1\text{H}$  est judicieuse de par son abondance naturelle (99,98%), son rapport gyromagnétique élevé et la teneur abondante en eau au sein de l'organisme (60%).

Soumis à un champ magnétique statique  $B_0$ , la précession des moments de spin nucléaire peut se faire de façon parallèle ou antiparallèle au champ  $B_0$  avec une fréquence dépendant du noyau étudié et du champ appliqué ( $\nu_0 = -(\gamma/2\pi)B_0$ ).<sup>1</sup> Selon l'équation de Boltzmann, la majeure partie des noyaux  $^1\text{H}$  sont alignés parallèlement au champ magnétique. Ainsi, d'un point de vue macroscopique, les moments de spin nucléaire des protons peuvent être représentés par une magnétisation globale  $M_0$ , parallèle à  $B_0$  (Figure 16.A). L'application d'une impulsion radiofréquence  $B_1$  selon l'axe x, fait basculer la magnétisation globale  $M$  dans le plan  $Oxy$  (Figure 16.B) et fait apparaître les deux composantes  $M_{xy}$  et  $M_z$  (Figure 16.C). La précession de la magnétisation  $M$ , autour de l'axe z jusqu'au retour à l'équilibre  $M_0$ , engendre une diminution de la composante  $M_{xy}$  (Figure 17.A) et une augmentation de la composante  $M_z$  (Figure 17.B). Ainsi, le temps de relaxation longitudinal  $T_1$  est caractéristique du retour à l'équilibre de la magnétisation selon l'axe z et le temps de relaxation transversal  $T_2$  correspond au retour à l'équilibre selon le plan xy.

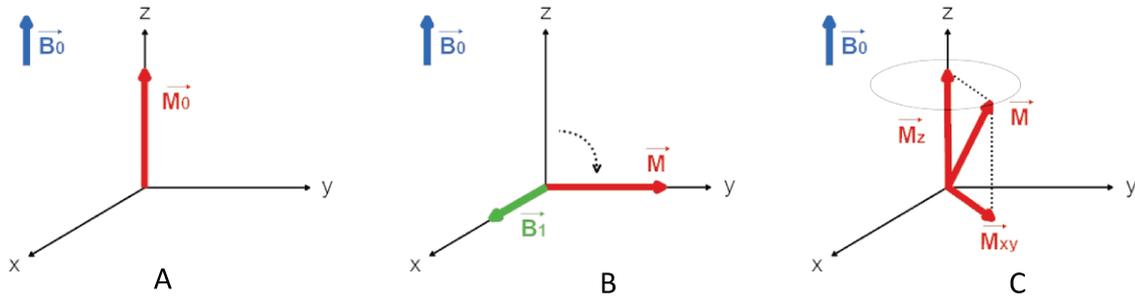


Figure 16 : A - Magnétisation globale, B - Bascule de la magnétisation dans le plan 0xy sous l'impulsion radiofréquence B<sub>1</sub>, C- Retour à l'équilibre.

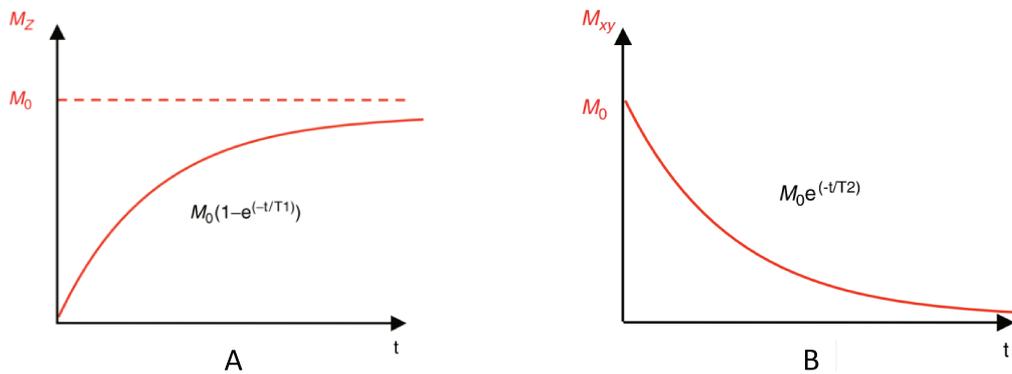


Figure 17 : Retour à l'équilibre selon l'axe z (A) et selon le plan 0xy (B).<sup>1</sup>

Un examen IRM consiste à mesurer ces temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$ . La concentration en eau des tissus impacte ces temps de relaxation ce qui permet d'obtenir un contraste. Cette technique permet également de visualiser des anomalies, telles que des tumeurs, des inflammations ou encore du tissu nécrosé, puisque les caractéristiques biologiques de telles lésions diffèrent considérablement du tissu sain et présentent notamment une concentration en eau variable. Toutefois, certaines lésions ne peuvent pas être discernées par un examen IRM classique et nécessitent l'utilisation d'un agent de contraste afin d'augmenter la sensibilité et la résolution de la technique.

Ces agents de contraste ont pour but d'accélérer la relaxation des protons des molécules d'eau en interagissant avec elles. Ce sont des substances paramagnétiques qui vont, par leurs électrons célibataires, générer un champ magnétique fluctuant. Ainsi, l'interaction dipôle-dipôle entre le spin nucléaire du proton et ce champ magnétique fluctuant permet de diminuer les temps  $T_1$  et  $T_2$ , c'est-à-dire, d'accélérer le phénomène de résonance. Ces agents de contraste sont classés en deux catégories<sup>45</sup> :

- Type  $T_1$  ou positif, lorsque le temps de relaxation longitudinal  $T_1$  est le plus affecté

- Type T<sub>2</sub> ou négatif, lorsque le temps de relaxation transversal T<sub>2</sub> est le plus affecté

La famille des agents de contraste T<sub>1</sub> est principalement constituée de complexes d'éléments paramagnétiques Gd(III) et Mn(II) qui possèdent respectivement 7 et 5 électrons non appariés. Les nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer sont utilisées comme agents T<sub>2</sub> sous la dénomination USPIO ou SPIO en fonction de leur taille (Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide < 50 nm / Superparamagnetic Iron Oxide > 50 nm).<sup>1,46</sup> Ces agents négatifs ne seront pas décrits ici, mais ont fait l'objet de nombreuses revues.<sup>47,48</sup>

#### b. La théorie de la relaxivité

La présence d'un agent de contraste permet d'accélérer la vitesse de relaxation des protons de l'eau R<sub>i</sub>, c'est-à-dire, de réduire les temps de relaxation longitudinal T<sub>1</sub> et transversal T<sub>2</sub>. Le temps longitudinal T<sub>1</sub> étant principalement affecté par les agents de contraste à base de gadolinium, les équations suivantes seront adaptées au cas d'un produit T<sub>1</sub>.<sup>18,49</sup>

La vitesse de relaxation observée est la somme d'une contribution diamagnétique, propre au milieu (sans agent de contraste), avec une contribution paramagnétique, induite par la présence du produit de contraste :

$$R_1(obs) = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{dia} + \left(\frac{1}{T_1}\right)_{para}$$

La contribution paramagnétique est dépendante de la concentration en espèces paramagnétiques [Gd]. La relaxivité r<sub>1</sub> d'un agent de contraste peut être calculée en mesurant la pente de la vitesse de relaxation observée en fonction de la concentration en agent de contraste.

$$R_1(obs) = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{dia} + r_1[Gd] \quad \text{avec } [Gd] \text{ en mmol.L}^{-1}; r_1 \text{ en mM}^{-1}.s^{-1}$$

Ainsi, la relaxivité r<sub>1</sub> peut être simplement définie comme le changement de la vitesse de relaxation induit après introduction de l'agent de contraste ( $\Delta(1/T_1)$ ) par concentration millimolaire d'agent de contraste :

$$r_1 = \Delta(1/T_1)/[Gd] \quad \text{avec } [Gd] \text{ en mmol.L}^{-1}; r_1 \text{ en mM}^{-1}.s^{-1}$$

Cette grandeur de relaxivité r<sub>1</sub> traduit l'efficacité d'un agent de contraste. Une augmentation de

la relaxivité étant synonyme de l'augmentation du contraste, l'objectif primordial lors de la conception d'un agent de contraste est d'atteindre une relaxivité élevée.

La relaxivité est dépendante des interactions entre l'espèce paramagnétique et les molécules d'eau dans son proche environnement. Les chélates à base de Gd(III) ou de Mn(II) doivent posséder au minimum une molécule d'eau coordonnée au cation métallique. Cette molécule d'eau va s'échanger avec les molécules d'eau voisines, permettant la propagation de l'effet de relaxation. En fonction de leur nature intra- ou inter- moléculaire, deux types de contributions à la relaxivité ont été mis en évidence :

- Sphère interne (inner sphere IS) : le nombre de molécules d'eau coordonnées  $q$  contribue à la relaxivité de sphère interne. L'effet paramagnétique est transmis à l'environnement par échange de cette molécule d'eau.
- Sphère externe (Outer sphere OS) : l'effet paramagnétique est également ressenti par les molécules d'eau à proximité du complexe par un mécanisme de diffusion.

Pour les chélates de gadolinium, les relaxivités  $r_1^{IS}$  et  $r_1^{OS}$  contribuent de façon égale à la relaxivité observée  $r_1$ .

$$r_1 = r_1^{IS} + r_1^{OS}$$

Ainsi, en plus d'être sensible à la température et au champ magnétique, la relaxivité dépend du nombre de molécules d'eau coordonnées  $q$ , de la vitesse d'échange de cette molécule d'eau  $k_{ex}$  et du temps de corrélation rotationnel  $\tau_r$ , c'est-à-dire la vitesse de rotation du complexe sur lui-même (Figure 18).<sup>50</sup> En d'autres termes, l'augmentation du nombre de molécules d'eau coordonnées, de la masse molaire du chélate et de la compression stérique autour de la molécule d'eau contribuent à une augmentation de la relaxivité.

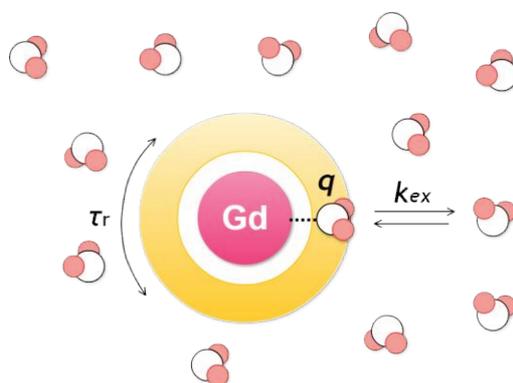


Figure 18 : Paramètres influençant la relaxivité  $r_1$ .

c. Les produits de contraste commerciaux à base de gadolinium

Un tiers des examens IRM s'effectue avec injection d'un agent de contraste.<sup>1</sup> Le Gd(III) est très utilisé en imagerie par résonance magnétique grâce à son spin électronique  $S = 7/2$  et sa lente relaxation électronique. Pour ces raisons, la majorité des produits de contraste commerciaux sont des complexes de Gd(III). A ce jour, seuls les ligands H<sub>5</sub>DTPA, H<sub>4</sub>DOTA et leurs dérivés sont commercialisés en tant qu'agent de contraste à base de gadolinium(III) (Figure 19).

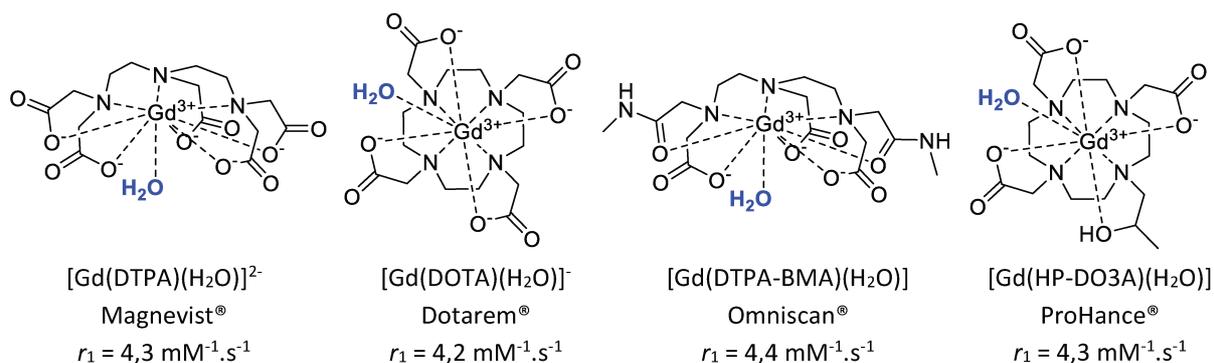


Figure 19 : Agents de contraste commerciaux dérivés des ligands H<sub>5</sub>DTPA et H<sub>4</sub>DOTA (20 MHz, 25°C).

Ces complexes doivent répondre à plusieurs exigences pour une administration in vivo : une faible toxicité, une bonne solubilité en milieu aqueux, une élimination rapide et une osmolalité faible.<sup>46</sup> Toute la difficulté dans la conception d'un agent de contraste à base de Gd(III) repose sur l'équilibre entre le nombre de molécules d'eau coordonnées et la stabilité du complexe. De fait, enlever un atome coordinant au profit d'une molécule d'eau permettra d'augmenter la relaxivité au détriment de la stabilité du complexe. Or, il est nécessaire d'utiliser des chélates stables et inertes puisque l'ion Gd<sup>3+</sup> non complexé est toxique. Son rayon ionique étant proche de celui du Ca(II), le Gd(III) interfère avec le métabolisme calcique en altérant la cinétique du processus catalysé par certaines enzymes.<sup>1,18</sup> De plus, le manque de stabilité et d'inertie de certains agents de contraste serait impliqué dans la Fibrose Systémique Néphrogénique (FSN) chez les patients souffrant d'une insuffisance rénale.<sup>1</sup> Reconnue depuis 2006, cette maladie rare provoque progressivement une fibrose de la peau et des organes, pouvant entraîner la mort.<sup>1,49</sup> Elle serait causée par l'accumulation des ions Gd<sup>3+</sup> dans l'organisme.<sup>51</sup> La comparaison du nombre de cas de FSN, rapporté au nombre de doses administrées, avec les log K<sub>GdL</sub> et les temps de vie en milieu acide (t<sub>1/2</sub>) des complexes, montre une corrélation entre la FSN et le manque d'inertie des complexes linéaires (Tableau 10).<sup>49,52</sup>

Nom commercial / Complexe	Structure du ligand	Cas de FSN	Doses administrées	Cas / Doses administrées	Log $K_{GdL}$ (pGd) <sup>53</sup>	$t_{1/2}$ <sup>54</sup> (pH 1,0, 25°C)
Omniscan® [Gd(DTPA-BMA)H <sub>2</sub> O]	Linéaire	438	47 millions	9,3	16,8 (15,8)	<5s
Magnevist® [Gd(DTPA)H <sub>2</sub> O] <sup>2-</sup>	Linéaire	135	95 millions	1,4	22,2 (19,1)	<5s
ProHance® [Gd(HP-DO3A)H <sub>2</sub> O]	Cyclique	1	12,3 millions	0,1	23,8	3,9 h
Dotarem® [Gd(DOTA)H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	Cyclique	1	22,4 millions	0	25,6 (19,2)	338 h

Tableau 10 : Agents de contraste commerciaux, relation entre leurs propriétés, le nombre de cas de FSN et le nombre de doses administrées jusqu'en 2009.<sup>49</sup>

En temps normal, l'hydrophilie de ces agents de contraste permet une élimination rapide par les reins.<sup>55</sup> Dans le cas du [Gd(DOTA)H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>, l'élimination par les urines est complète en moins de 24 h chez les patients sains (Figure 20).<sup>1</sup> Pour les patients présentant une déficience rénale plus ou moins prononcée, l'élimination nécessite beaucoup plus de temps. Dans le cas de produits de contraste acycliques, le chélate est injecté avec un excès de ligand en prévention de sa faible inertie cinétique, et donc d'une potentielle dissociation in vivo.<sup>55</sup> Cependant, chez les patients en insuffisance rénale, la longue élimination laisse place à la dissociation du complexe.

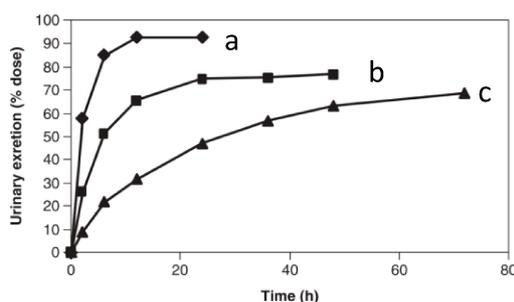


Figure 20 : Excrétion urinaire du [Gd(DOTA)H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup> chez des patients sains (a), et chez des patients avec une insuffisance rénale sévère (b) à très sévère (c).<sup>1</sup>

#### d. Vers des agents de contraste plus performants

Augmenter la relaxivité permet d'améliorer la sensibilité de la technique et de diminuer les doses injectées pour un examen IRM. La principale stratégie repose sur la modification de la structure du ligand pour, de ce fait, agir sur les paramètres régissant la relaxivité. Comme détaillé précédemment, la relaxivité observée est dépendante d'un certain nombre de paramètres comme par exemple le nombre de molécules d'eau coordonnées au cation métallique  $q$ , la vitesse d'échange de ces molécules d'eau  $k_{ex}$  ou encore la vitesse de rotation du chélate  $\tau_r$ .

L'optimisation de ces paramètres permettrait d'atteindre des valeurs de relaxivité de  $100 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  avec  $q = 1$  à un champ magnétique de  $1 \text{ T}$ .<sup>48</sup> Sachant que les relaxivités des agents de contraste commerciaux sont actuellement de l'ordre de  $4,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , la conception d'agents de contraste performants reste un challenge pour le chimiste. Ainsi, dans cette partie nous verrons l'influence de ces paramètres sur la relaxivité.

- Augmentation de  $q$

Le complexe devant être stable et inerte in vivo, l'augmentation du nombre de molécules d'eau dans la sphère interne présente des limitations puisque cela revient à enlever des groupements coordinants contribuant à la stabilité du complexe, au profit de molécules d'eau coordonnées. Les complexes GdDO3A et GdPCTA possèdent deux molécules d'eau coordonnées au gadolinium(III) contre une pour le GdDOTA<sup>-</sup> (Figure 21). Même si la stabilité et l'inertie du complexe GdDO3A restent adaptées pour une application in vivo (Tableau 11), ses propriétés s'en trouvent réduites alors qu'aucune augmentation importante de la relaxivité n'est observée entre les complexes GdDOTA<sup>-</sup> et GdDO3A. Cependant, le passage du ligand H<sub>3</sub>DO3A au H<sub>3</sub>PCTA, c'est-à-dire l'insertion d'une pyridine au sein du macrocycle, permet d'augmenter à la fois la relaxivité de près de deux points mais également la stabilité et l'inertie du complexe (Tableau 11). L'augmentation du nombre de molécules d'eau coordonnées constitue un challenge puisque, en plus de réduire la stabilité du complexe, ces molécules d'eau peuvent être déplacées par des anions présents en milieu biologique (phosphate, carbonate...) réduisant ainsi la relaxivité, comme observé dans le cas du GdDO3A<sup>56</sup> et partiellement dans le cas du GdPCTA.<sup>57</sup>

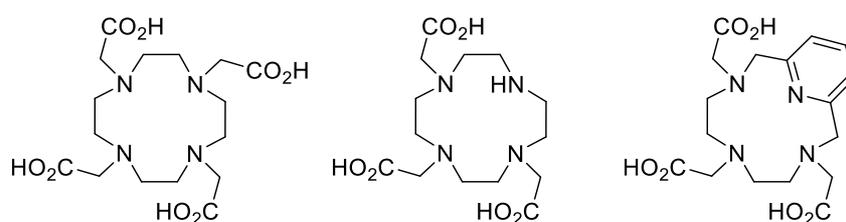


Figure 21 : Ligands H<sub>4</sub>DOTA, H<sub>3</sub>DO3A et H<sub>3</sub>PCTA (De gauche à droite).

	GdDOTA <sup>36</sup>	GdPCTA <sup>37</sup>	GdDO3A <sup>36</sup>
$q$	1	2	2
$k_{\text{obs}}$ en $\text{s}^{-1}$ pour $[\text{H}^+] = 0,1 \text{ M}$ <sup>a</sup>	$8,4 \cdot 10^{-7}$	$5,1 \cdot 10^{-5}$ (Eu)	$1,2 \cdot 10^{-3}$
$t_{1/2}$ (HCl 0,1 M) <sup>b</sup>	229 h	3,8 h (Eu)	9,6 min
Log $K_{\text{LnL}}$ (pM) <sup>c</sup>	25,3 (19,2)	21,0 (17,1)	21,0 (15,9)
$r_1^{\text{d}}$ ( $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )	4,2 (4,8) <sup>e</sup>	6,9	4,8 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Calculé à partir des constantes  $k_1$  avec  $k_{\text{obs}} = k_1 \times [\text{H}^+]$ , <sup>b</sup> Calculé avec  $t_{1/2} = \ln(2) / k_{\text{obs}}$ , <sup>c</sup> pM =  $-\log [\text{M}^{3+}]$  à pH 7,4 avec  $[\text{L}] = 10 \times [\text{M}^{3+}]_{\text{tot}} = 10^{-5} \text{ M}$ , <sup>d</sup> 20 MHz, 25°C, <sup>e</sup> 20 MHz, 40°C.

Tableau 11 : Valeurs caractéristiques des complexes GdDOTA<sup>-</sup>, GdPCTA et GdDO3A.

- *Vitesse d'échange de la molécule d'eau coordonnée* et compression stérique.

Les groupements coordinants jouent un rôle important, tant pour la stabilité et l'inertie du chélate mais aussi pour la relaxivité. Leur présence induit une compression stérique autour de la molécule d'eau accélérant ainsi sa vitesse d'échange avec l'environnement aqueux. A titre d'exemple, le remplacement des groupements acétate du GdPCTA par des groupements phosphonate (GdPCTP) permet d'augmenter la relaxivité alors que ce dernier possède une seule molécule d'eau coordonnée contre deux pour le GdPCTA (Figure 22, Tableau 12). En cause, la compression stérique autour de la molécule d'eau du complexe GdPCTP qui permet un échange jusqu'à 12 fois plus rapide que pour GdPCTA.<sup>58</sup> Cependant, l'augmentation de la relaxivité est également le résultat d'échanges de molécule d'eau dans la seconde sphère du complexe observée avec les dérivés phosphonate.<sup>59-61</sup> Outre les groupements coordinants, le squelette macrocyclique peut également être source de compression stérique. L'insertion d'un groupement cyclohexyl au sein du pyclen du PCTA induit une augmentation de la relaxivité dans le cas du dérivé Gd(cyclo-PCTA) de 5,4 à 6,1 mM<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup> (20 MHz, 310 K) grâce à une rigidité plus importante et donc une vitesse d'échange plus rapide (Tableau 12).<sup>57</sup>

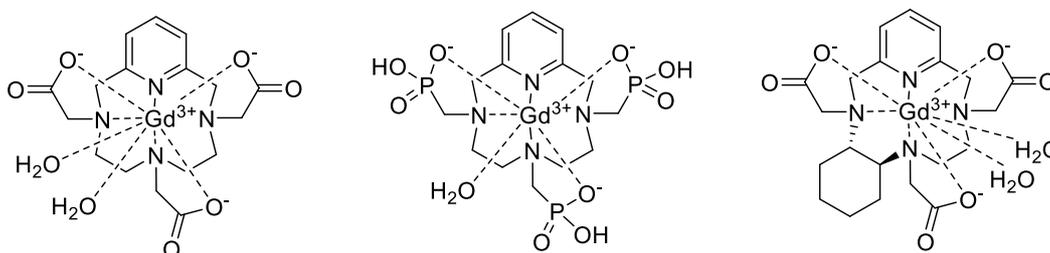


Figure 22 : Complexes [Gd(PCTA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>], [Gd(PCTP)(H<sub>2</sub>O)] et [Gd(Cyclo-PCTA)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>].

Les chélates GdDODPA<sup>+</sup> et GdMeDODPA<sup>+</sup>, étudiés par notre équipe et ses collaborateurs, témoignent également de la difficulté à prévoir et contrôler la compression stérique<sup>11</sup> (Figure 23, Tableau 12). Pour GdDODPA<sup>+</sup>, la présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination de l'ion Gd(III) permet d'atteindre une relaxivité proche de celle du GdDOTA<sup>-</sup> grâce à une vitesse d'échange  $k_{ex}$  élevée contrairement au GdMeDODPA<sup>+</sup> pour lequel une faible relaxivité a été observée (Tableau 12). Effectivement, l'ajout des groupements méthyl augmente considérablement la compression stérique, à tel point qu'aucune molécule d'eau n'est présente dans la sphère interne du chélate (Tableau 12). Ainsi, l'augmentation de la compression stérique autour de la molécule d'eau peut également s'avérer néfaste pour la relaxivité.

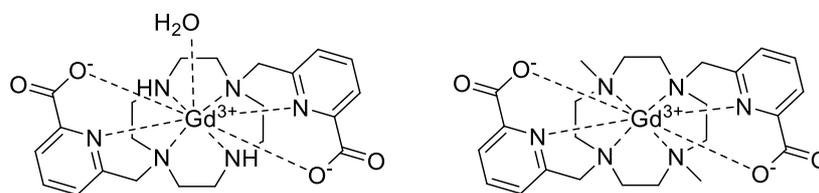


Figure 23 : Complexes  $[\text{Gd}(\text{DODPA})(\text{H}_2\text{O})]^+$  et  $[\text{Gd}(\text{MeDODPA})]^+$ .

	GdDOTA <sup>18</sup>	GdPCTA <sup>18</sup>	GdPCTP <sup>18</sup>	GdDODPA <sup>11</sup>	GdMeDODPA <sup>11</sup>	Gd(cyclo-PCTA) <sup>62</sup>
$q$	1	2	1	1	0	2
$k_{\text{ex}} (10^6 \text{ s}^{-1})$	4,10	14	170	58	-	29
$r_1$ à 25°C, 20 MHz ( $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )	4,2	6,9 5,4 (37°C)	7,5	4	<2	6,1 (37°C)

Tableau 12 : Valeurs caractéristiques des complexes GdDOTA<sup>-</sup>, GdPCTA, GdPCTP, GdDODPA<sup>+</sup>, GdMeDODPA<sup>+</sup> et Gd(cyclo-PCTA).

- Augmentation de la masse moléculaire

Augmenter la masse molaire du complexe tend à ralentir la rotation du chélate au profit de la relaxivité. A cet effet, les chélates de gadolinium(III) ont été utilisés sous formes de polymères, de dendrimères, ou encore de micelles.<sup>63-65</sup> L'incorporation de plusieurs chélates de gadolinium(III) sur une même structure permet également d'atteindre une relaxivité élevée puisque cette grandeur est proportionnelle à la concentration en agent de contraste. La rotation d'un agent de contraste macromoléculaire se verra réduite grâce à sa taille, cependant, pour atteindre des relaxivités optimales, la rotation intramoléculaire doit être minimale.<sup>45</sup> L'approche développée par Livramento et al.,<sup>66</sup> a consisté à greffer deux unités GdDTPA<sup>2-</sup> sur une bipyridine puis de relier trois entités par la formation d'un complexe de Fe(II) (Figure 24.A). Grâce à la rigidité de ce système, la relaxivité par chélate GdDTPA<sup>2-</sup> atteint  $12,5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (40 MHz, 37°C) contre  $3,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  pour le complexe  $[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2-}$  dans ces mêmes conditions, montrant ainsi le gain de relaxivité induit par la diminution de la vitesse de rotation  $\tau_r$ . L'introduction de groupements hydrophiles au niveau des bras acétate du chélate GdDOTA<sup>-</sup> (Figure 24.B), connu sous le nom de Vistarem<sup>®</sup>, a permis d'atteindre une relaxivité très élevée de  $39 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (37°C, 0,47T) grâce au blocage du mouvement intramoléculaire couplé à l'augmentation du poids moléculaire.<sup>67</sup> Enfin, un trimère du complexe GdDO3A, développé par notre équipe et ses collaborateurs a également permis d'augmenter la relaxivité par unité GdDO3A grâce à la diminution de la vitesse de rotation mais également par une augmentation de la vitesse d'échange des molécules d'eau coordonnées (Figure 24.C).<sup>68</sup>

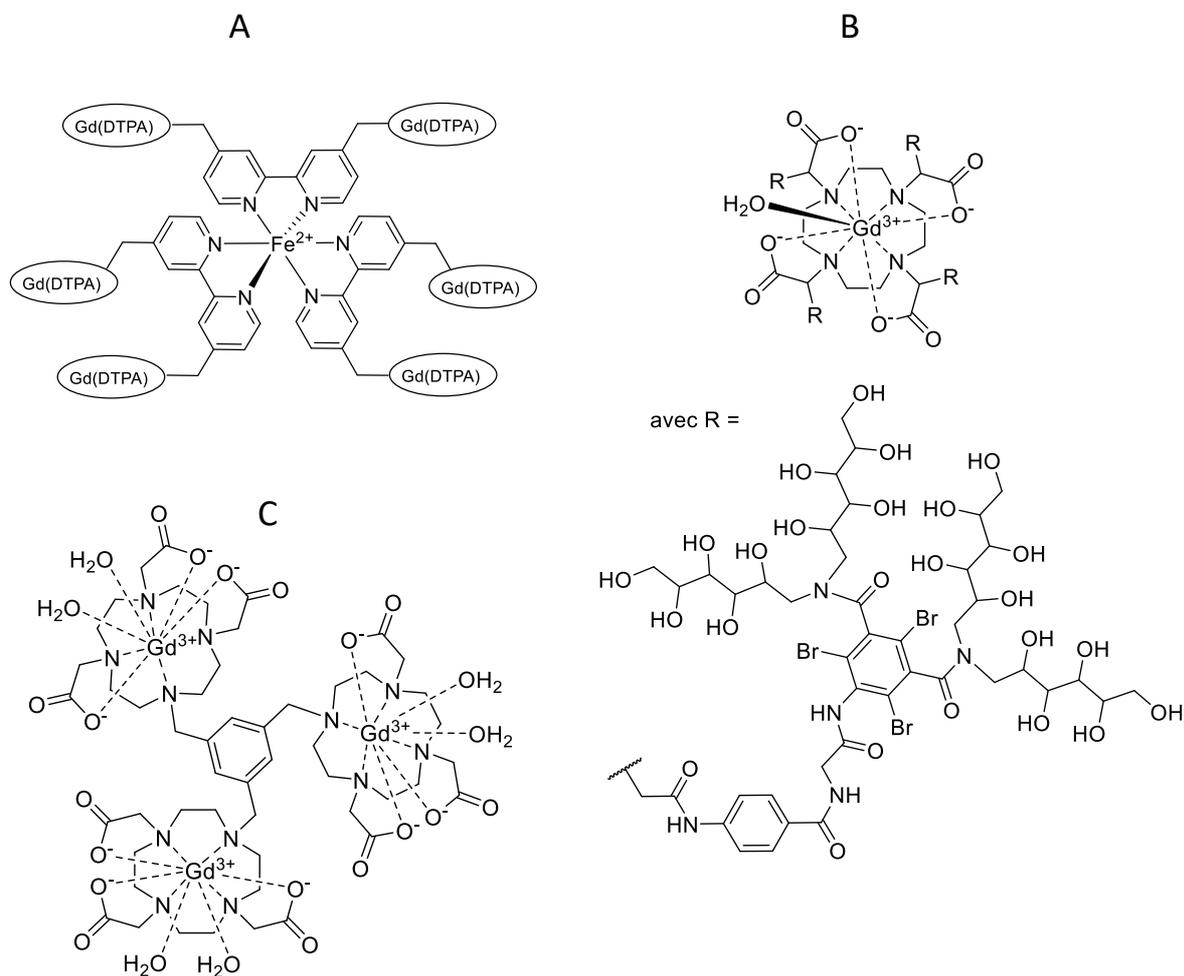


Figure 24 : Exemples d'agents de contraste macromoléculaires à relaxivité élevée par Gd : A) Objet obtenu par auto-assemblage possédant six entités  $\text{GdDTPA}^{2-}$ ,<sup>66</sup> B) Dérivé du  $\text{GdDOTA}^-$  aux chaînes hydrophiles (Vistarem<sup>®</sup>)<sup>67</sup>, C) Trimère composé de trois unités  $[\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})_2]$ .<sup>68</sup>

Une autre stratégie consiste à augmenter la sensibilité de l'IRM en ciblant spécifiquement des protéines ou des récepteurs. L'introduction d'un groupement pouvant se fixer à une protéine permet de diminuer la rotation de l'agent de contraste et, ainsi, d'augmenter la relaxivité. Pour de tels objectifs, il est nécessaire de cibler une protéine ou un récepteur abondant dans l'organisme comme l'albumine sérique (HSA, Human Serum Albumin). Par exemple, la fixation du dérivé MS-325 (Vasovist<sup>®</sup>) à cette protéine permet une augmentation de la relaxivité de 6 à  $42 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (Figure 25).<sup>45,69</sup> Ce type de composé extracellulaire trouve une application pour la visualisation du flux sanguin (AngioIRM).

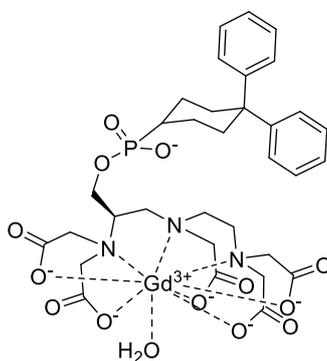


Figure 25 : MS-325 se liant à l'albumine sérique.

- Position apicale *et rotation de la molécule d'eau*

Si la présence d'une molécule d'eau est nécessaire à la relaxivité, sa position au sein de la sphère de coordination du Gd(III) joue également un rôle important. Suite aux travaux de notre équipe, réalisés sur les ligands H<sub>2</sub>MeDODPA et H<sub>2</sub>DODPA, d'autres dérivés du cyclen, N-fonctionnalisés par des groupements acétate et picolinate, ont été synthétisés et étudiés pour la complexation du gadolinium(III). Il a été démontré que le remplacement d'un groupement acétate du ligand H<sub>4</sub>DO3AMPA par un groupement méthyle en position cis ou trans du picolinate a une conséquence non négligeable sur la relaxivité<sup>70</sup> (Figure 26). Lorsque la substitution du groupement se fait en trans du picolinate (1,7-H<sub>4</sub>DO3AMPA), la molécule d'eau fait partie intégrante du polyèdre de coordination. Par contre, lorsque la substitution se fait en cis du picolinate, la molécule d'eau se retrouve en position apicale, au-dessus du polyèdre (Figure 26). Les liaisons Gd-O<sub>H<sub>2</sub>O</sub> s'en retrouvent affectées avec une longueur de 2,549 Å lorsque la molécule d'eau est en position apicale contre 2,476 Å pour le deuxième complexe. La molécule d'eau dans cette position étant plus labile, elle s'échange plus rapidement avec l'environnement aqueux induisant une augmentation de la relaxivité. Tout comme sa labilité, la rotation de la molécule d'eau coordonnée à l'ion Gd<sup>3+</sup> est importante. Récemment, Boros et al.<sup>71</sup> ont démontré que la formation de liaisons hydrogène entre cette molécule d'eau et des groupements introduits sur les bras coordinants du chélate, permettait de ralentir sa rotation et ainsi augmenter la relaxivité.

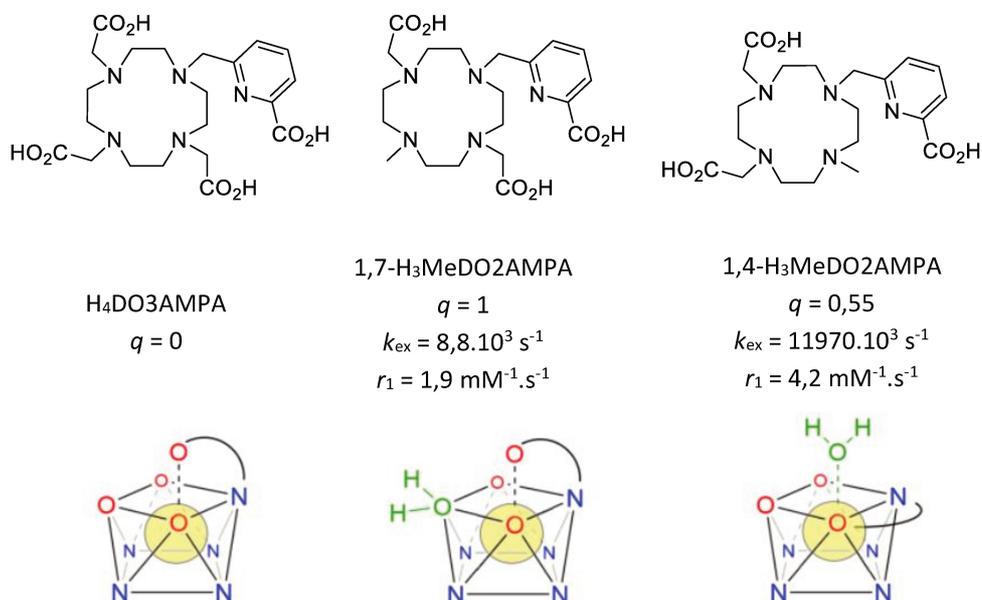


Figure 26 : Influence de la position de la molécule d'eau sur la relaxivité.

Cette discussion a mis en évidence que l'utilisation de complexes macrocycliques de gadolinium(III) en IRM s'imposait face aux équivalents linéaires. Effectivement, leur inertie cinétique et leur stabilité thermodynamique élevées paraissent plus adaptées à une application *in vivo*. Nous avons également vu que la relaxivité, grandeur traduisant l'efficacité d'un agent de contraste, est gouvernée par de nombreux paramètres étroitement liés à la structure du complexe. Ainsi, le type de groupements coordinants, la taille de l'agent de contraste ainsi que l'organisation des atomes coordinants au sein de la sphère de coordination du métal impactent la relaxivité. En prenant en considération l'ensemble de ces paramètres pour approcher les valeurs de relaxivité théorique, la conception d'un agent de contraste plus performant que ceux actuellement sur le marché, reste un challenge.

Outre le gadolinium(III) et l'IRM, la complexation d'ions lanthanide aux propriétés de luminescence donne accès à un autre type d'imagerie détaillé dans la partie suivante : l'imagerie optique.

### 3. Luminescence et imagerie optique

#### a. Principe de fonctionnement

Les chélates de lanthanides trouvent également un intérêt en imagerie optique. En effet, les propriétés spectroscopiques de certains cations lanthanides(III) en font des alternatives intéressantes aux fluorophores organiques. Leurs bandes d'émission fines et reconnaissables sont un avantage par rapport aux bandes larges des sondes organiques. Certains lanthanides émettent dans le visible, d'autres dans le proche infrarouge (Figure 27). La couleur émise est propre à chaque ion Ln(III) : les ions Tm(III), Tb(III), Dy(III), Eu(III), Sm(III) émettent respectivement dans le bleu, vert, jaune, rouge et orange et, les ions Yb(III), Nd(III) et Er(III) émettent dans le proche infrarouge.

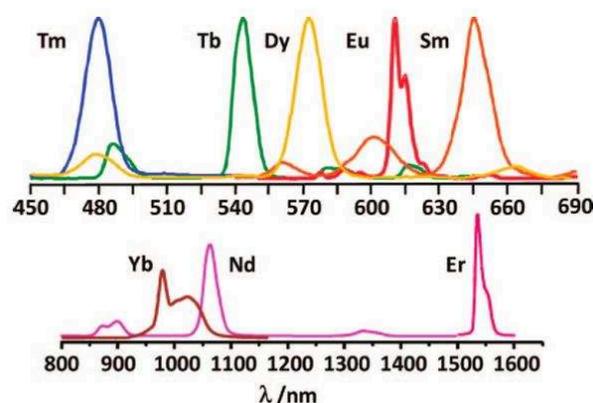


Figure 27 : Spectres d'émission caractéristiques des ions Ln(III).<sup>72</sup>

Du fait de la nature interdite des transitions f-f, l'excitation directe des ions Ln<sup>3+</sup> génère des coefficients d'extinction molaire très faibles ( $\epsilon < 4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), la population des états excités nécessitant des sources très puissantes. En 1942, Weissman s'est aperçu qu'en présence de certains composés organiques, l'intensité d'émission des ions Ln(III) était accentuée suite à l'excitation de l'échantillon dans l'UV.<sup>73</sup> Il mit ainsi en évidence que l'excitation du ligand permettait, par un transfert d'énergie, de peupler les niveaux excités de l'ion lanthanide(III), le retour à l'état fondamental générant ensuite l'émission d'un photon. Ce phénomène est aujourd'hui nommé « effet d'antenne » et facilite ainsi la population des états excités des Ln(III).<sup>49,74,75</sup>

Le diagramme de Jablonski simplifié permet de comprendre cet effet d'antenne (Figure 28). La première étape consiste en l'absorption d'un photon par le ligand, du niveau fondamental S<sub>0</sub> au niveau excité S<sub>1</sub> suivi par un transfert d'énergie de cet état singulet S<sub>1</sub> à l'état

triplet  $T_1$  du ligand s'effectuant par un croisement intersystème (CIS). L'énergie peut être dissipée depuis les états singulet  $S_1$  et triplet  $T_1$  du ligand par les processus respectifs de fluorescence (F) ou de phosphorescence (P). Mais depuis l'état triplet  $T_1$ , le ligand peut également transférer son énergie vers les états excités des ions Ln(III). La dernière étape consiste alors en l'émission d'un photon par un processus de désactivation radiative depuis les états excités vers l'état fondamental du Ln(III). Cependant, cette émission de photon peut être inhibée par des processus de désexcitations non radiatives à partir de l'état excité du lanthanide(III). Plusieurs transferts d'énergie sont en cause dont un transfert en retour depuis l'état excité du Ln(III) vers l'état triplet du ligand ou, encore, une perte d'énergie via les oscillateurs O-H, N-H voire C-H. Ainsi la présence d'une molécule d'eau coordonnée au cation métallique a pour conséquence une diminution de l'intensité de luminescence.

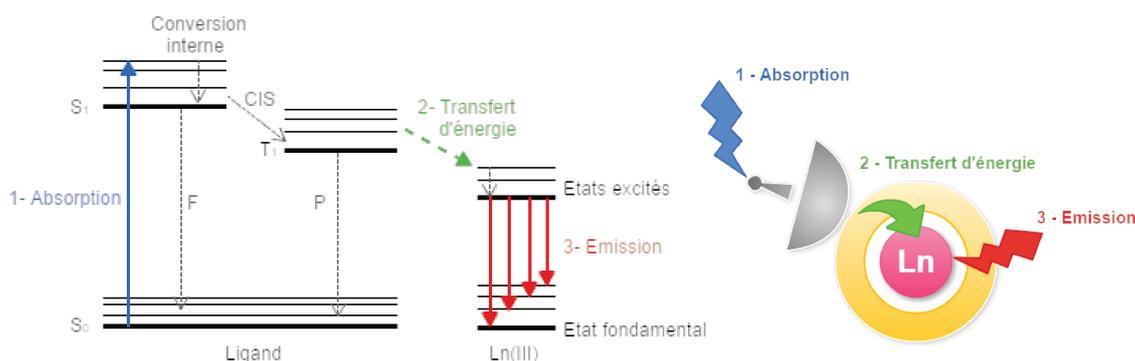


Figure 28 : Diagramme simplifié de Jablonski et effet d'antenne (Adapté de la littérature<sup>49</sup>).

Il est à noter que la transition énergétique est qualifiée de fluorescence lorsqu'elle s'effectue entre deux niveaux ayant le même état de spin ou de phosphorescence si elle se produit entre deux niveaux aux états de spin différents. Au sein des ions lanthanides, les deux processus sont observés (Tableau 13): phosphorescence pour les ions Eu(III) et Tb(III) et fluorescence pour l'ion Yb(III). Ces deux phénomènes sont regroupés sous le terme de luminescence des lanthanides.

Ln(III)	Etat fondamental	Etat excité	Région de l'émission	Nature de l'émission
Pr	$^3H_4$	$^1D_2, ^3P_0$	Visible et proche IR	P et F
Nd	$^4I_{9/2}$	$^4F_{3/2}$	Proche IR	F
Sm	$^6H_{5/2}$	$^4G_{5/2}$	Visible	P
Eu	$^7F_0$	$^5D_0$	Visible	P
Gd	$^8S_{7/2}$	$^6P_{7/2}$	UV	P
Tb	$^7F_6$	$^5D_4$	Visible	P
Dy	$^6H_{15/2}$	$^4F_{9/2}$	Visible	P
Ho	$^5I_8$	$^5S_2, ^5F_5$	Visible et proche IR	F
Er	$^4I_{15/2}$	$^4I_{13/2}$	Proche IR	F

Tm	$^3H_6$	$^1D_2, ^1G_4, ^3H_4$	Visible	P
Yb	$^2F_{7/2}$	$^2F_{5/2}$	Proche IR	F

Tableau 13 : Caractéristiques de l'émission des ions lanthanides(III)<sup>49</sup> (P : Phosphorescence, F : Fluorescence).

Le processus de luminescence est gouverné par les paramètres physiques suivants :

- Les longueurs d'onde d'absorption  $\lambda_{abs}$  et d'émission  $\lambda_{em}$
- La durée de vie de luminescence observée  $\tau_{obs}$
- Le rendement quantique  $\Phi$
- La brillance  $B(\lambda_{ex}) = \varepsilon(\lambda_{ex}) \times \Phi$  ( $M^{-1}.cm^{-1}$ )

La nature interdite des transitions f-f, qui s'avérait être à l'origine un inconvénient, présente finalement plusieurs avantages. La population de l'état excité des ions Ln(III) via l'état triplet  $T_1$ , a pour conséquence un large déplacement de Stokes ( $\lambda_{abs} < \lambda_{em}$ ), l'énergie du photon absorbé étant largement supérieure à celle du photon émis. Par ailleurs, la durée de vie de luminescence des complexes de Ln(III) est très longue en comparaison aux fluorophores classiques ( $\tau_{obs} \approx 1$  ms pour les complexes d'Eu(III) contre  $\tau_{obs} < 10$  ns pour les fluorophores organiques). Un des paramètres physiques des plus importants est le rendement quantique, correspondant au rapport du nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés. Cette grandeur reflète l'efficacité du transfert énergétique entre l'antenne et le lanthanide et donc la capacité d'un complexe à être utilisé comme sonde luminescente. Cependant, même si le rendement quantique est élevé, l'efficacité de l'excitation doit être prise en compte pour une application en milieu biologique. Ainsi l'efficacité d'un chélate luminescent est traduit par la grandeur de brillance qui correspond au produit du rendement quantique par le coefficient d'absorption à une longueur d'onde donnée.

Il est à noter que ces propriétés sont importantes à la fois pour des applications en imagerie médicale mais aussi dans le domaine de la microscopie. Comme toute application médicale, l'imagerie optique présente plusieurs limitations, les principales étant l'autofluorescence du milieu biologique provoquée par l'absorption de composants (hémoglobine, eau, mélanine), ainsi que la faible pénétration des rayonnements dans les tissus. La « fenêtre d'imagerie » située entre 650 et 1450 nm désigne les longueurs d'onde adéquates pour l'excitation et l'émission d'une sonde luminescente, là où l'absorbance des composants biologiques est minimale (Figure 29.A).<sup>76</sup> En microscopie, la longue durée de vie de luminescence des complexes de Ln(III) (quelques ms pour les complexes d'Eu(III) et de Tb(III)) est mise à profit où l'application d'un délai de l'ordre de la dizaine de  $\mu s$  avant l'enregistrement du signal, permet d'améliorer le rapport signal/bruit en excluant la

fluorescence des composants du milieu biologique qui présentent une durée de vie très courte, de l'ordre de la nanoseconde (Figure 29.B).<sup>77</sup>

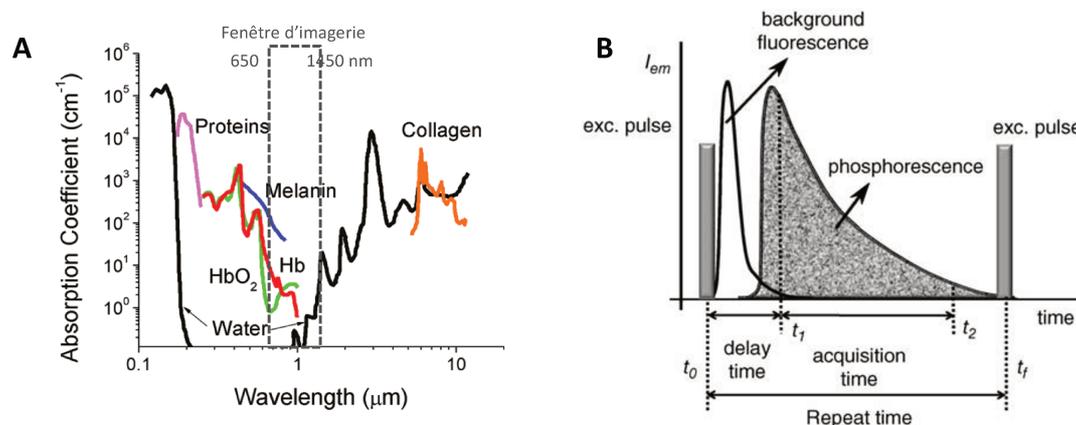


Figure 29 : A) Absorbance de composants biologiques et « fenêtre d'imagerie ». <sup>76</sup> B) Application d'un délai de quelques μs pour exclure la fluorescence du milieu biologique. <sup>77</sup>

### b. Complexes luminescents de lanthanides(III)

De façon analogue à l'IRM et à la médecine nucléaire, les complexes luminescents doivent être stables et inertes en milieu biologique. C'est la raison pour laquelle, les plateformes macrocycliques, tacn ou encore cyclen sont très étudiées pour le développement de sondes luminescentes. Pour une application en imagerie cellulaire, Parker et al. ont synthétisé une série de chélates d'euprium(III) et de terbium(III) dérivés du cyclen permettant de visualiser spécifiquement certains organites mais, aussi, de comprendre les processus biologiques cellulaires grâce au développement de « sondes intelligentes », sans perturber le système.<sup>78</sup> Le principe repose sur le fait qu'un changement dans l'environnement de coordination du cation métallique par la coordination d'une molécule d'eau, d'un anion, ou bien en fonction du pH, aura pour conséquence une modification de l'allure du spectre d'émission mais également de son intensité. C'est le cas du dérivé du cyclen N-fonctionnalisé par un groupement sulfonamide qui, en fonction du pH, présente des spectres d'émission différents dû à un changement de coordination (Figure 30).<sup>79</sup> Ce complexe a ainsi permis de mesurer le pH intracellulaire par microscopie.

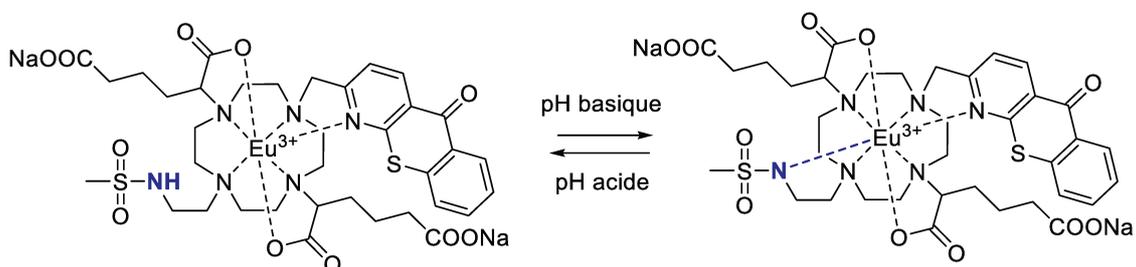


Figure 30 : Exemple de sonde luminescente intelligente sensible au pH. <sup>79</sup>

Toutefois, un changement de l'environnement de coordination du cation métallique n'est pas toujours recherché. Au contraire, la saturation de la sphère de coordination du lanthanide(III), c'est-à-dire l'absence de molécule d'eau coordonnée, permet d'atteindre des émissions intenses utiles pour augmenter la sensibilité des techniques d'imagerie puisque la présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination du métal inhibe l'émission du lanthanide(III) par des phénomènes de désexcitation non radiative causés par les oscillateurs O-H. La protection de l'ion métallique de son environnement permet de réduire ces processus. A cet effet, les groupements picolinate ont largement été étudiés pour agir en tant que chromophores tout en saturant la sphère de coordination du métal. D'abord utilisé sous la forme de complexes tris(dipicolinate)<sup>80,81</sup>  $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$  (Figure 31), les complexes d'euprium(III) et de terbium(III) présentent des rendements quantiques respectifs de 24 et 22%. Afin de former des complexes stables et inertes, ces groupements picolinate ont ensuite été utilisés en tant que groupements coordinants sur les macrocycles tacn, cyclen et cyclam (Figure 31).<sup>10,11,19,82,83</sup> Les chélates  $\text{TbNO}_3\text{PA}$  et  $\text{Tb}(\text{DO}_3\text{A-pic})^-$  présentent des rendements quantiques respectifs de 60 et 56 % contre 22% pour  $\text{Tb}(\text{DPA})_3^{3-}$ . Ces valeurs, des plus élevées, démontrent l'efficacité du transfert d'énergie entre le ligand et l'ion métallique ainsi que la protection efficace de ce dernier. D'abord étudiés pour une application en IRM ( $\text{Ln} = \text{Gd}$ ) par l'équipe et ses collaborateurs, les complexes  $\text{LnMeDODPA}^+$  (11) et  $\text{LnCBTEDPA}^+$  (10,83) dépourvus de molécule d'eau coordonnée, s'avèrent intéressants pour l'imagerie optique (Figure 31).

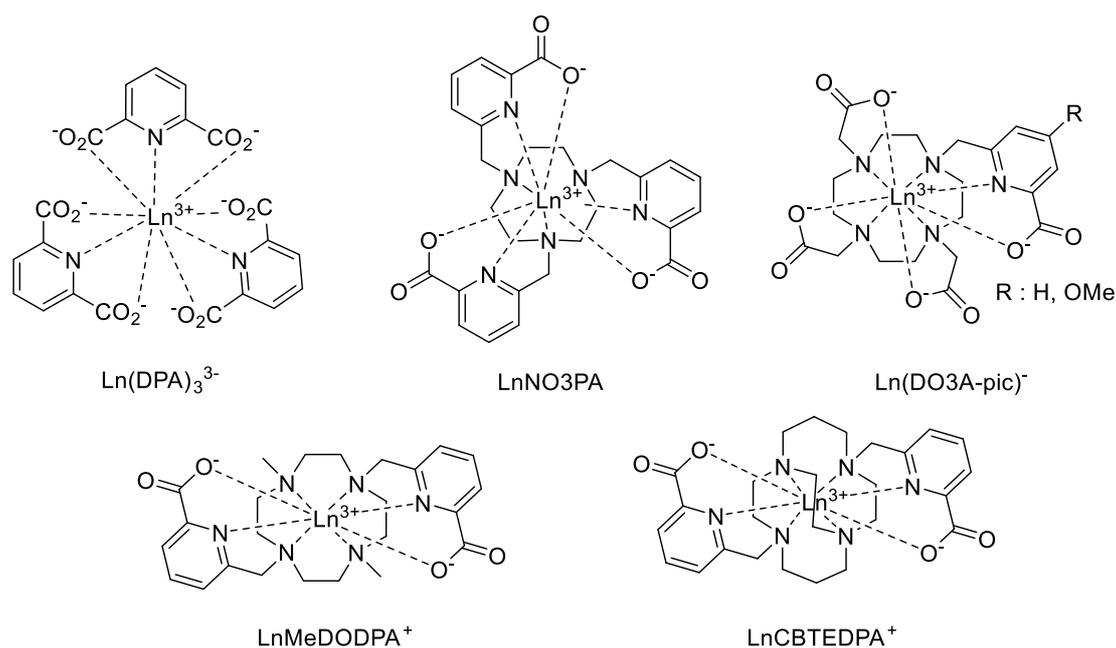


Figure 31 : Exemples de complexes de lanthanides(III) à base de groupements picolinate.

Toutefois, la brillance  $B(\lambda_{ex})$  de ces complexes, c'est-à-dire leur efficacité de luminescence, peut être améliorée en fonctionnalisant les groupements picolinate par des

systèmes fortement conjugués afin d'augmenter le coefficient d'absorption molaire  $\epsilon$ , puisque  $B(\lambda_{ex}) = \epsilon(\lambda_{ex}) \times \Phi$ . A cet effet, une large variété de groupements a été étudiée, d'abord pour les complexes tris(dipicolinate)<sup>84</sup> puis, ensuite, avec des dérivés macrocycliques.<sup>9,13</sup> Dans le cas de tels systèmes, la sensibilisation du lanthanide se fait via la bande de transfert de charge du ligand. Ainsi, la variation des groupements donneurs ou de la nature du système conjugué permet de changer la position énergétique de l'état excité du ligand pour maximiser l'efficacité du transfert d'énergie vers l'état excité du lanthanide(III). Les groupements picolinate du ligand H<sub>2</sub>MeDODPA ont été fonctionnalisés par des systèmes conjugués pour la complexation de l'euporium(III)<sup>9</sup> et de l'ytterbium(III)<sup>13</sup> menant à des brillances élevées malgré leur faible rendement quantique (Figure 32). Par ailleurs, il est à noter que l'introduction de groupements PEG favorise l'internalisation cellulaire permettant ainsi l'imagerie de cellules vivantes.

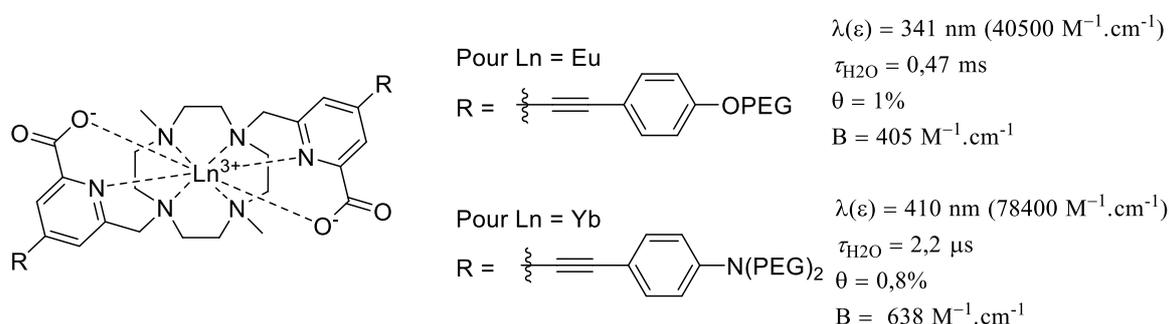


Figure 32 : Chélates d'euporium(III) et d'ytterbium(III) dérivés du ligand H<sub>2</sub>MeDODPA pour l'imagerie cellulaire.

Dans tous les exemples précédents, le groupement chromophore est amené par le biais des bras coordinants mais il peut également faire partie intégrante du macrocycle. C'est notamment le cas du complexe TbPCTMB, où la pyridine du pycen joue le rôle de groupement chromophore. Ce chélate est caractérisé par un rendement quantique élevé de 51% dans l'eau.<sup>15</sup> D'autre part, ce ligand sera abordé plus en détails dans le chapitre suivant puisqu'il constitue le point de départ des travaux réalisés au cours de cette thèse.

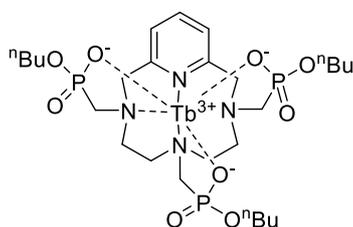


Figure 33 : Dérivé du pycen TbPCTMB utilisé comme sonde luminescente.

c. Spectre d'émission de complexes d'euporium(III) et de terbium(III)

En plus d'être utilisés en tant que sondes luminescentes, les chélates de lanthanides(III) sont d'une importance majeure pour évaluer la capacité d'un complexe de gadolinium(III) à être utilisé comme agent de contraste en IRM. Les propriétés photophysiques des complexes des ions Eu(III) et Tb(III), voisins du Gd(III) dans le tableau périodique, ont très largement été mises à profit afin de déterminer le nombre de molécules d'eau présentes dans la sphère de coordination du cation métallique. Puisque nous serons amenés à étudier les propriétés photophysiques de nos chélates de lanthanides, il est important de pouvoir interpréter les spectres d'émission de complexes d'euporium(III), de terbium(III) et d'ytterbium(III).

Pour les complexes d'Eu(III), les transitions  $^5D_0 \rightarrow ^7F_J$  ( $J = 0 - 4$ ) correspondent aux longueurs d'ondes de 580, 591, 615, 685 et 691 nm. Dans le cas du Tb(III), les transitions  $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$  ( $J = 6 - 3$ ) génèrent des bandes d'émission à 489, 543, 582 et 620 nm (Figure 34). L'énergie de l'état excité  $^5D_0$  de l'Eu(III) diffère de celle de l'état excité  $^5D_4$  du Tb(III) avec des énergies respectives de  $17\,200\text{ cm}^{-1}$  et  $20\,500\text{ cm}^{-1}$ .<sup>85</sup> Pour obtenir un transfert d'énergie efficace entre l'antenne et l'ion Ln(III), l'énergie de l'état triplet du ligand doit être supérieure à  $22\,000\text{ cm}^{-1}$  pour l'Eu(III) et  $22\,500\text{ cm}^{-1}$  pour le Tb(III).<sup>85</sup> C'est pourquoi l'antenne doit être judicieusement choisie en fonction du Ln(III) étudié. Enfin, l'émission d'un complexe d'ytterbium(III) est caractérisée par une bande large centrée vers 980 nm correspondant à l'unique transition  $^2F_{5/2} \rightarrow ^2F_{7/2}$ .

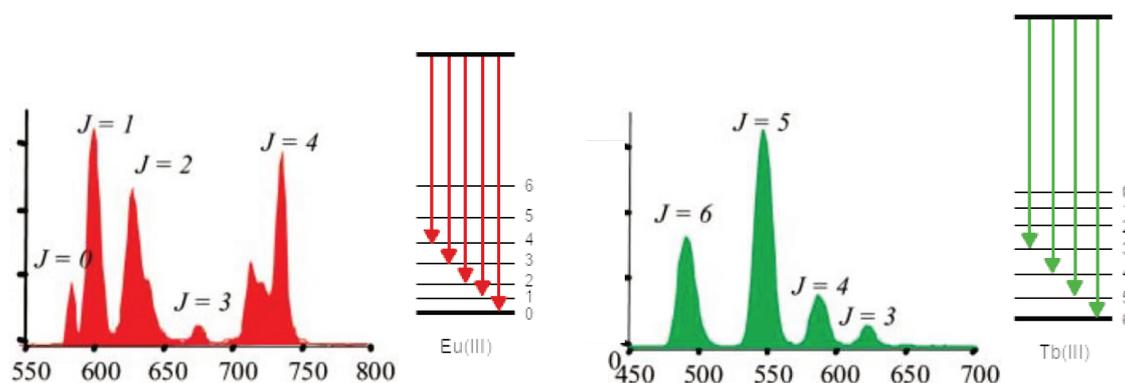


Figure 34 : Spectres d'émission et transitions associées de complexes d'Eu(III) (à gauche) et de Tb(III) (à droite). (Adapté de la littérature <sup>85</sup>)

Comme discuté précédemment, la présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination du cation Ln(III) va inhiber la luminescence par des phénomènes de désactivation non radiatifs causés par les oscillateurs O-H. Sur ce principe, la mesure de la durée de vie de

luminescence d'un complexe d'Eu(III) ou de Tb(III) dans H<sub>2</sub>O et D<sub>2</sub>O permet de connaître le nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination du cation métallique grâce aux équations développées par Parker et al.<sup>86,87</sup> et Horrocks et al.<sup>88</sup> La détermination du nombre de molécules d'eau coordonnées selon cette méthode est extrapolable au complexe de gadolinium(III) correspondant.

#### IV. Conclusion et objectifs des travaux

La discussion développée au cours de ce chapitre a permis de souligner la capacité des polyazamacrocycles à répondre aux exigences du milieu biologique par la formation de chélates stables thermodynamiquement et inertes cinétiquement. De plus, la variété des propriétés intrinsèques des ions lanthanides(III) et de l'yttrium(III) ainsi que leur mode de coordination identique, permettent d'envisager leur complexation par une même famille de ligands donnant ainsi accès à de nombreuses techniques d'imagerie et de thérapie dont l'IRM, l'imagerie optique et la médecine nucléaire. Comme nous l'avons vu, de nombreux paramètres influencent les propriétés des complexes : le type de macrocycles ou de groupements coordinants ont, entre autres, des conséquences sur l'inertie, la vitesse de complexation ou encore sur la relaxivité dans le cas de complexes destinés à l'IRM.

Afin de satisfaire les conditions requises pour la thérapie en médecine nucléaire avec l'yttrium 90 et en IRM avec le gadolinium, nous avons entrepris la synthèse et l'étude de dérivés du pycen. A ce jour, les complexes de lanthanides(III) dérivés du pycen ont fait preuve d'une stabilité thermodynamique et d'une inertie cinétique élevées mais également d'une cinétique de complexation rapide, facteur essentiel pour la médecine nucléaire. Grâce à sa pyridine intégrée au sein du macrocycle, le pycen semble ainsi être une bonne alternative au DOTA et à ses dérivés.

Le premier axe de cette thèse est dédié à la complexation de l'yttrium 90 pour le traitement du cancer du foie par radiothérapie interne. Puisque cette technique nécessite l'emploi de chélates d'yttrium 90 neutres et lipophiles, nous évaluerons dans un premier temps la capacité du ligand **H<sub>3</sub>PCTMB**, dérivé du pycen N-fonctionnalisé par trois groupements n-butylphosphonate, à être utilisé comme produit de radiothérapie avec l'yttrium 90. Ensuite, nous développerons la synthèse et l'étude de quatre nouveaux dérivés du pycen N-fonctionnalisés de façon symétrique ou non symétrique par des groupements picolinate ou acétate. Comme détaillé précédemment, l'organisation et le nombre d'atomes coordinants au sein de la sphère de coordination du cation métallique a une importance majeure quant aux

propriétés du chélate. L'étude de différents arrangements nous a ainsi semblé primordiale et pourrait répondre à nos attentes d'inertie et de stabilité élevées. Enfin, la lipophilie de ces ligands sera augmentée pour l'application visée.

Dans un dernier chapitre, ces nouveaux ligands dérivés du cyclen seront étudiés pour la complexation du gadolinium(III) en vue d'une application en IRM du foie. Les chélates de gadolinium(III) devront posséder, au minimum, une molécule d'eau coordonnée tout en répondant aux critères de stabilité et d'inertie nécessaires à une utilisation in vivo. A cette occasion, les propriétés photophysiques et relaxométriques de certains complexes de lanthanides(III) seront évaluées grâce à une collaboration avec le groupe du Pr Gyula Tircsó (Université de Debrecen, Hongrie) et celui du Pr Carlos Platas-Iglesias (Université de la Corogne, Espagne) dans lequel je me suis rendue au cours de mon doctorat afin de participer aux mesures photophysiques.



---

## Chapitre II

Synthèse et étude de dérivés du pycnol pour la complexation de  $l^{90}\text{Y}^{3+}$   
et de  $l^{90}\text{Y}^{3+}$  pour la radiothérapie interne du cancer du foie

---



## Introduction du chapitre II

Ce chapitre porte sur la synthèse et l'étude de nouveaux ligands dérivés du cyclen pour la complexation de l'yttrium 90 en vue d'une application en radiothérapie interne pour le traitement du cancer du foie. Comme mentionné au cours du chapitre bibliographique, l'emploi de chélates stables et inertes est un des prérequis indispensables à toute application *in vivo*. Cette condition est d'autant plus importante dans le cas du traitement du cancer du foie par radiothérapie interne puisque cette technique impose de longs temps de résidence du produit de thérapie dans la tumeur. A cela s'ajoute la nécessité de former des complexes neutres et lipophiles pour maximiser sa rétention dans la tumeur. Pour répondre à ces problématiques, une des voies envisagées est d'employer des dérivés macrocycliques et plus spécifiquement le cyclen. La discussion menée dans le chapitre précédent a permis de souligner le potentiel de ce dernier à former des complexes stables et inertes. De plus, le développement de dérivés du cyclen apparaît idéal pour cette application grâce à la lipophilie apportée par le noyau pyridinique, à la formation de complexes de lanthanides(III) neutres et à la possibilité d'insérer des groupements encore plus lipophiles si nécessaire.

Une première partie présentera le contexte de l'application visée : le cancer du foie et ses généralités ainsi que les traitements utilisés. Une deuxième partie sera consacrée à l'étude du ligand lipophile H<sub>3</sub>PCTMB pour la complexation de l'yttrium 90. Grâce aux trois chaînes n-butyl et à la neutralité du complexe d'yttrium(III), l'étude de ce dérivé nous permettra d'évaluer le caractère lipophile que le complexe doit posséder. La synthèse et l'étude de nouveaux dérivés du cyclen seront détaillées dans la troisième partie. Enfin, les excellentes propriétés de ces ligands nous amèneront à développer des analogues lipophiles.



# 1 Le carcinome hépatocellulaire

## I. Généralités

### 1. Statistiques et causes du carcinome hépatocellulaire

En dépit de dépistages de plus en plus précoces, la létalité du cancer du foie reste élevée. A l'échelle mondiale, le nombre de décès causés par le cancer du foie, tous types confondus, reste préoccupant avec pas moins de 745 500 cas recensés en 2012.<sup>89</sup> Il occupe de fait une place critique dans le classement de mortalité par cancer et par sexe, se plaçant second chez l'homme avec 521 000 décès, et sixième chez la femme avec 224 500 décès. Plus particulièrement, le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente 70 à 90% des cancers du foie diagnostiqués.<sup>90</sup> Ces tumeurs malignes se développent directement dans l'organe à partir des hépatocytes, ce qui les classe parmi les cancers primitifs du foie. Par ailleurs, par sa fréquence de diagnostic, le CHC est parfois nommé « cancer primitif du foie » même si d'autres types de cancers, plus rares, appartiennent à cette catégorie : le cholangiocarcinome intra-hépatique, cancer des voies biliaires, et l'angiosarcome, cancer des vaisseaux hépatiques. Outre le CHC, les cancers secondaires du foie désignent les métastases qui se développent au niveau du foie mais qui ont pour origine un autre organe tel que les poumons, les seins ou encore l'estomac. Enfin, l'adénome hépatocellulaire, tumeur bénigne, reste rare mais son taux d'incidence ne cesse d'augmenter depuis 50 ans, notamment chez la femme, coïncidant pour certains avec l'apparition et la généralisation des contraceptifs oraux.<sup>91</sup>

Dans 80 à 90% des cas, le CHC est associé à une cirrhose, maladie chronique du foie,<sup>92,93</sup> l'abus d'alcool et les virus de l'hépatite B et C en étant les causes principales.<sup>94</sup> En cause, la détérioration des hépatocytes, laissant place à un tissu fibreux provoquant une altération des fonctions hépatiques. Le tabac, le diabète, l'hémochromatose et l'exposition à des mycotoxines telle que l'aflatoxine sont également des facteurs de risque du CHC.

La disparité géographique de la présence des virus de l'hépatite B et C influence l'occurrence de cancers primitifs du foie, avec un taux de mortalité plus élevé dans les pays en voie de développement que dans les pays développés. A titre d'exemple, le nombre de décès liés au CHC chez l'homme reste à la deuxième place dans les pays en voie de développement (Asie du sud et de l'est, Afrique du nord et de l'ouest) alors qu'il décroît à la sixième place dans

les pays développés. Cette divergence s'explique par la forte présence du virus de l'hépatite B dans les pays en voie de développement.<sup>95</sup>

## 2. Les traitements du carcinome hépatocellulaire

L'évolution des techniques d'imagerie et la mise en place de programmes de dépistage des CHC, permettent un diagnostic de plus en plus précoce.<sup>96</sup> Cependant, l'absence de symptômes rend la détection du CHC tardive et aléatoire. Cette détection tardive associée à la présence d'une cirrhose sous-jacente, altérant le fonctionnement du foie, compliquent les possibilités de traitement. En oncologie, le pronostic repose majoritairement sur le stade de développement de la tumeur, exception faite du CHC, pour lequel l'état du foie influence considérablement les chances de survie et la démarche thérapeutique. Cinq stades du CHC ont été répertoriés par la classification « Barcelona Clinic Liver Cancer » qui associe un traitement à chaque stade de la maladie (Figure 35).<sup>97</sup> Ce système de classification prend en considération le stade de la tumeur ainsi que la déficience de la fonction hépatique.

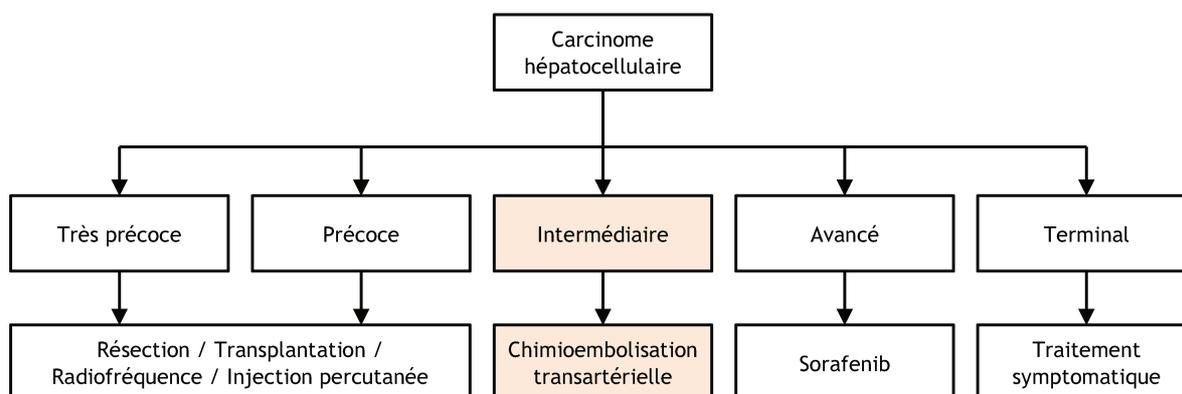


Figure 35 : Les différents stades du CHC et les traitements associés. Figure adaptée du système de classification « Barcelona Clinic Liver Cancer ».<sup>97</sup>

La **transplantation** de foie est indiquée selon des critères de taille de la tumeur (< 5 cm) et de nombre (moins de trois tumeurs < 3 cm), en l'absence de métastase. Ce traitement reste le plus efficace car il élimine à la fois la tumeur et la cirrhose. Seuls 5% des patients sont concernés et des taux de 10 à 15% de rechutes ont été observés. Cette technique reste marginale du fait du manque de donneurs compatibles et de temps d'attente trop longs. Pour les cancers de stade très précoce à précoce (30 à 40 %), d'autres traitements sont conseillés : résection, ablation par radiofréquence ou injection percutanée d'éthanol. On parle de **thérapies curatives**.<sup>98</sup> Une fois la tumeur éliminée, le risque de développer un CHC reste élevé,

principalement à cause de l'étendue trop importante de la cirrhose initiale, menant à un taux de rechute de 70% suite à une résection chirurgicale.<sup>99</sup> Le Sorafenib (Nevaxar®) est un inhibiteur de kinase utilisé en tant que **traitement systémique** pour les patients atteints d'un cancer au stade avancé. Malheureusement, ce type de traitement permet une survie de seulement deux à trois mois. Au stade terminal, les patients auront recours à un **traitement uniquement symptomatique**.

La **chimioembolisation transartérielle** est le traitement de référence pour les CHC de stade intermédiaire. Cette technique de thérapie interne a pour objectif de stopper la progression de la tumeur et de tendre à diminuer sa taille, de façon à rendre le patient éligible à une résection ou encore à une transplantation.

Cette technique repose sur la vascularisation du CHC. Un foie sain est constitué de deux lobes irrigués à 75% par la veine porte et 25% par l'artère hépatique. Un CHC se développe au niveau de l'artère hépatique et se retrouve irrigué à 90% par cette artère.<sup>100</sup> La chimioembolisation transartérielle consiste à injecter via cette artère hépatique, au plus près de la tumeur, un produit de chimiothérapie (Figure 36).<sup>93</sup> Ce produit est injecté dans la tumeur grâce à un vecteur pouvant être une huile iodée, comme le Lipiodol® que nous décrivons un peu plus loin, ou des microsphères. Une fois le mélange injecté, un agent embolique vient bloquer l'irrigation de la tumeur, permettant ainsi d'y maintenir le produit cytotoxique. La partie saine du foie est épargnée et conserve une vascularisation normale. De nombreux agents anti-cancéreux sont utilisés à cet effet, tels que la doxorubicine, le cis-platine ou encore l'épirubicine. Ces produits thérapeutiques sont injectés, seuls ou en mélange, sous forme d'émulsion avec l'huile iodée.<sup>93</sup>

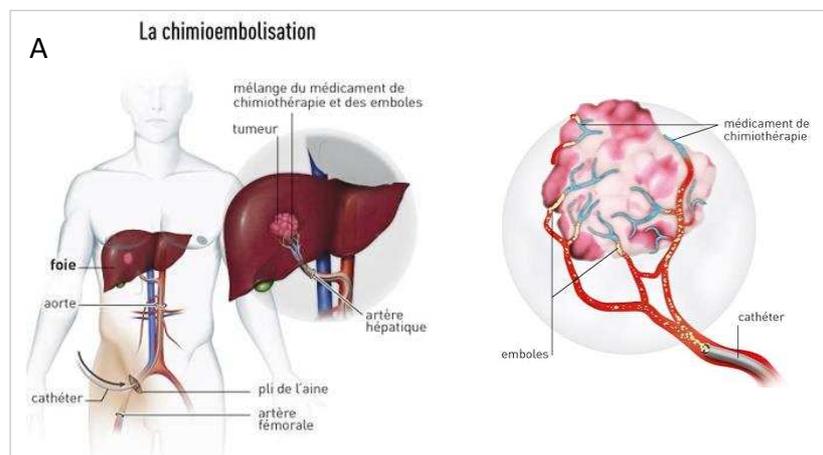


Figure 36 : Principe de la chimioembolisation transartérielle. Injection du produit cytotoxique mélangé au vecteur, au plus près de la tumeur via un cathéter (A). Maintien du produit de chimiothérapie au sein de la tumeur suite à l'injection d'un agent embolique, bloquant l'irrigation de la tumeur (B).<sup>101</sup>

Les résultats des études cliniques sur cette méthode sont souvent contradictoires, en cause, l'hétérogénéité de la maladie et la précarité de la fonction hépatique chez les patients retenus. Cependant, plusieurs études montrent l'efficacité de la chimioembolisation transartérielle avec un prolongement de la vie de un à deux ans.<sup>102,103</sup> Chez des patients traités par chimioembolisation, une diminution de 16 à 61% de la taille de la tumeur a été constatée en plus d'un taux de survie, à un an, de 82%.<sup>103</sup>

Parmi les thérapies par embolisation transartérielle, figurent également l'embolisation seule, la radioembolisation ou encore la chimioembolisation à l'aide de billes à élution médicamenteuse. Toutes ces thérapies reposent sur le même procédé mais diffèrent par le type d'agent de thérapie, de vecteur et d'agent embolique (Tableau 1).

Techniques	Acronymes anglais	Agent de chimiothérapie	Agent de radiothérapie	Type de vecteur	Agent embolique
Embolisation Transartérielle	TAE	non	non	Lipiodol ou aucun	oui
Chimioembolisation transartérielle	TACE	oui	non	Lipiodol	oui
Chimio-Lipiodolisation	TOCE	oui	non	Lipiodol	non
Radioembolisation transartérielle	TARE	non	oui	Lipiodol	oui/non
		non	oui	microsphères en résine ou en verre	non
Chimiothérapie transartérielle	TAC	oui	non	aucun	aucun
Perles à élution médicamenteuse	DEB-TACE	oui	non	polymère ionique et hydrophile	oui

Tableau 1 : Liste des techniques de thérapies transartérielles dérivées de la chimioembolisation transartérielle.<sup>93</sup>

La radioembolisation transartérielle emploie un agent de radiothérapie à la place du produit cytotoxique. Des microsphères, disponibles commercialement, en verre (TeraSphere®, MDS-Nordion) ou en résine (SIR-Spheres®, Sirtex medical), imbibées d'yttrium 90, permettent de délivrer de fortes doses de radioactivité au sein de la tumeur tout en préservant le tissu sain.<sup>104</sup> Ces microsphères diffèrent par leur nature (verre ou résine), leur taille (20-35µm), la dose de radioactivité par particule et le nombre de particules potentiellement injectées. L'efficacité de telles microsphères a été démontrée par plusieurs études, qui relatent une régression de la tumeur en plus d'un bénéfice de survie proportionnel à la dose de radioactivité injectée. Néanmoins, ce traitement reste difficile à mettre en place, d'autant plus que l'absence d'émission de rayons  $\gamma$  par l'yttrium 90 et la non radio-opacité des particules ne permettent pas un suivi de la procédure par imagerie.<sup>104</sup>

D'autres microsphères chargées avec des radionucléides thérapeutiques ( $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{32}\text{P}$ ) sont actuellement en cours de développement. Des particules en polymères à base

d'holmium-166 (activation sous flux de neutrons) peuvent être détectées en IRM et en TEMP grâce au paramagnétisme de l'holmium et aux rayons  $\gamma$  émis, facilitant ainsi la délivrance du traitement.<sup>105</sup>

En plus des microsphères, le Lipiodol peut également être utilisé comme vecteur de radionucléides pour la radioembolisation transartérielle. Les produits développés pour cette technique feront l'objet de la partie suivante.

## II. La radiothérapie interne

### 1. Le Lipiodol

Le Lipiodol est une huile constituée d'esters éthyliques di-iodés en C16 et C18, issue d'acides gras insaturés extraits des graines de pavot. Le Lipiodol est commercialisé sous le nom Lipiodol Ultra Fluide® par la société Guerbet. Cette huile jaune pâle est caractérisée par une concentration en iode de 480 mg/mL, une densité de 1,28 et une viscosité de 25 mPa.s à 37°C.<sup>93</sup> Ce produit a été synthétisé par Marcel Guerbet en 1901. Les premières utilisations du Lipiodol étaient à visée thérapeutique en lien avec les vertus de l'iode. Les principales indications étaient alors liées à la syphilis, les maladies cardiovasculaires ou pulmonaires. L'opacité aux rayons X de cette huile iodée était déjà connue mais n'a trouvé une utilité en radiologie qu'à partir de 1920 et a ainsi permis la détection de tumeurs de la moelle épinière dès 1921.<sup>106</sup> Les premières utilisation du Lipiodol pour la chimioembolisation datent des années 1980. Suite à l'injection de Lipiodol dans un hépatocarcinome via l'artère hépatique, le Pr. Konno a démontré que l'huile se fixait sélectivement dans la tumeur et qu'elle s'y accumulait plusieurs semaines.<sup>107</sup> L'idée de mélanger un produit cytotoxique au Lipiodol, afin de traiter sélectivement la tumeur, a ainsi émergé. Le premier produit utilisé à cet effet est l'agent anti-tumoral Néocarzinostatin qui, conjugué à un polymère (styrène acide maléique), est soluble dans le Lipiodol.<sup>108,109</sup> Ce produit, dénommé SMANCS, est utilisé comme traitement du CHC au Japon.

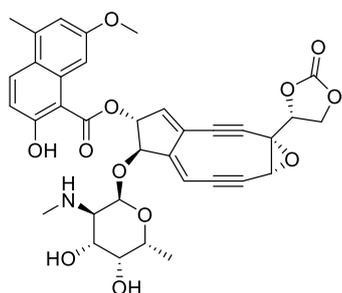


Figure 37 : Néocarzinostatin (NCS), premier agent antitumoral utilisé avec le Lipiodol pour le traitement du CHC.

## 2. Les agents emboliques

Les agents emboliques ont pour rôle de provoquer la nécrose de la tumeur en bloquant son irrigation, une fois le mélange [Lipiodol / produit de chimiothérapie] injecté. Il existe de nombreux agents emboliques se différenciant par leur composition (billes de verres, de polymères...), leur forme (sphérique ou non sphérique), leur taille (45 à 1200  $\mu\text{m}$ ), et leur capacité de résorption.<sup>93,110</sup> Le Lipiodol est également considéré comme un agent embolique grâce à son accumulation sélective dans la tumeur pendant une période prolongée.

## 3. Les produits de radiothérapie

Parmi les nombreux travaux menés pour la radiothérapie interne avec le Lipiodol, plusieurs approches de synthèse ont été développées : liaison covalente entre l'atome radioactif et le Lipiodol, liaison covalente entre le chélatant et le Lipiodol suivi de la complexation du radionucléide, ou encore la solubilisation d'un complexe lipophile dans le Lipiodol.

Commercialisé sous le nom Lipiocis® (CIS Bio international, France) l'<sup>131</sup>I-Lipiodol est synthétisé par échange entre l'iode stable du Lipiodol et le radionucléide <sup>131</sup>I (Figure 38). Ce produit est le premier ayant reçu une autorisation chez l'homme à des fins de radiothérapie interne. Ce traitement s'est révélé aussi efficace que la chimioembolisation avec une meilleure tolérance chez les patients atteints de CHC.<sup>111</sup> Néanmoins, la longue durée de vie de l'iode-131 et la forte énergie des rayons gamma rendent l'utilisation du Lipiocis® compliquée et nécessite de placer le patient en chambre radio-opaque pendant huit jours. En conséquence, ce produit a récemment été retiré du marché. Pour pallier à ce problème, l'utilisation d'autres radionucléides thérapeutiques a émergé tels que <sup>90</sup>Y, <sup>188</sup>Re, <sup>166</sup>Ho et <sup>177</sup>Lu (Tableau 14).

Radioélément	$t_{1/2}$	$E\beta_{\text{max}}$ (keV)	$E\gamma$ (keV)	Portée maximale (mm)	Portée moyenne (mm)	Production
<sup>131</sup> I	8,01 j	606	364 (81,7%)	2,9	0,40	fission
<sup>90</sup> Y	64,1h	2280	-	11	2,76	<sup>89</sup> Y (n, $\gamma$ ) <sup>90</sup> Sr/ <sup>90</sup> Y
<sup>188</sup> Re	16,9 h	2120	155 (15,0%)	11	2,43	<sup>187</sup> Re (n, $\gamma$ ) <sup>188</sup> W/ <sup>188</sup> Re
<sup>166</sup> Ho	26,8 h	1854	81 (6,7%)	8,6	2,5	<sup>165</sup> Ho (n, $\gamma$ )
<sup>177</sup> Lu	6,7 j	500	208 (11%)	2	0,28	<sup>176</sup> Lu (n, $\gamma$ )

Tableau 14 : Caractéristiques de radionucléides émetteurs  $\beta^-$  utilisés pour le traitement du CHC.

Wang et al. ont décrit la synthèse du chélate EDTB (Figure 38), relié par liaison covalente au Lipiodol.<sup>112</sup> L'EDTB/Lipiodol a d'abord été marqué avec l'yttrium 90. La biodistribution chez le rat sain a montré une accumulation importante dans le foie et les os mais moindre dans les poumons. L'accumulation de l'yttrium dans les os reflète un manque de stabilité du complexe <sup>90</sup>Y-EDTB. De plus, la longue et difficile synthèse de l'EDTB/Lipiodol rend son utilisation en tant que produit de radiothérapie interne rédhibitoire. Les complexes de l'oxine avec l'holmium-166 et le lutétium-177 ont également démontré une accumulation du radionucléide dans les os contrairement à l'étude menée avec l'yttrium 90 (Figure 38).<sup>113-115</sup>

Le rhénium-188 est l'un des radionucléides le plus étudié pour la radiothérapie interne. À ce jour, au moins deux complexes lipophiles du <sup>188</sup>Re sont étudiés en essais cliniques : le <sup>188</sup>Re-SSS et le <sup>188</sup>Re-HDD (Figure 38).<sup>116,117</sup> Les études menées sur le composé <sup>188</sup>Re-SSS sont prometteuses : le ligand et le complexe sont synthétisés rapidement avec un bon rendement et une bonne pureté radiochimique (PRC). Les études in vivo sur le rat indiquent une rétention importante dans la tumeur et une légère fixation dans le foie. Ces résultats sont corroborés par les premiers tests chez l'homme où l'utilisation du <sup>188</sup>Re-SSS/Lipiodol a permis de stabiliser la progression de tumeurs.<sup>118</sup>

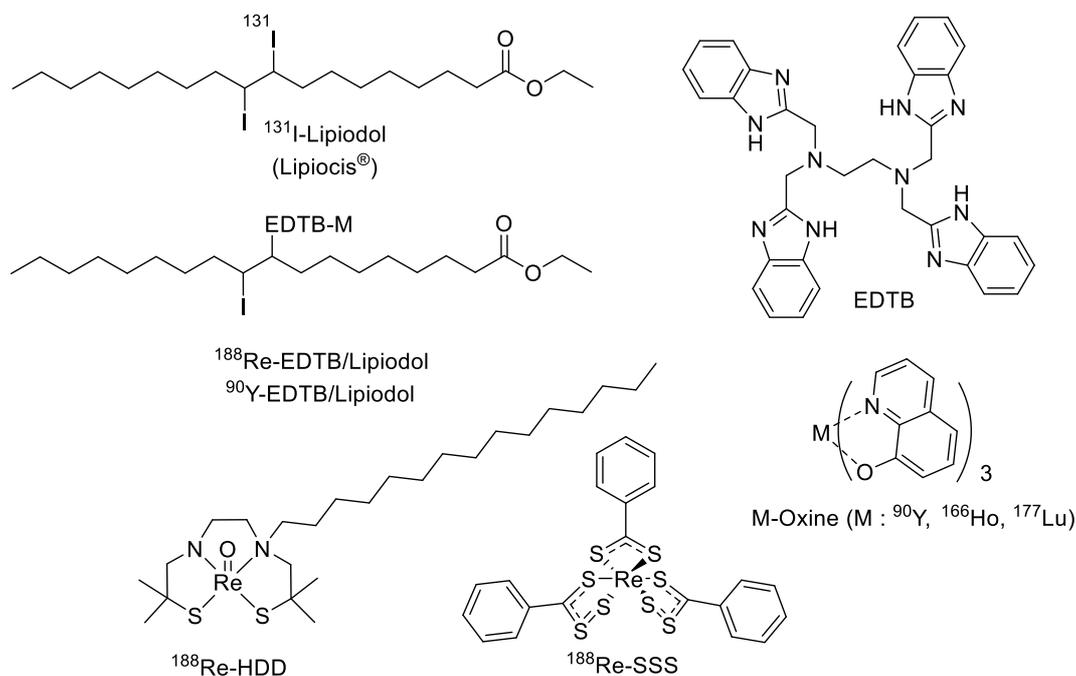


Figure 38 : Produits étudiés à des fins de radiothérapie interne du CHC.

La radioembolisation transartérielle permet de traiter les cancers du foie. Cette technique s'appuie sur la distribution sanguine propre aux tumeurs hépatiques pour injecter un radionucléide mélangé à une huile iodée (Lipiodol) en amont de la tumeur. A ce jour, aucun radiocomplexe macrocyclique n'a été étudié pour cette application qui, pourtant, permettrait

d'éviter toute accumulation de radionucléides non complexés en milieu biologique. Parmi les radionucléides utilisés pour la thérapie du foie, seul l'yttrium 90 n'émet pas de rayons gamma, ce qui en fait un radionucléide de choix pour l'application visée puisque la procédure peut être suivie grâce à la radio-opacité du Lipiodol.

Ainsi, nous avons entrepris le développement de chélates macrocycliques à base d'yttrium 90, répondant aux critères d'inertie cinétique et de stabilité thermodynamique imposés par le milieu biologique. Puisque la technique de radiothérapie interne visée consiste à injecter le produit radioactif en mélange avec une huile iodée (Lipiodol), le caractère lipophile des ligands synthétisés est également recherché. Pour ce faire, le développement de chélates dérivés du pyclyen nous a semblé judicieux. En plus des propriétés thermodynamiques et cinétiques déjà mentionnées au cours du premier chapitre, le caractère lipophile de la pyridine et la possibilité de former des complexes neutres sont des atouts pour l'application visée. C'est pourquoi, comme déjà exposé dans les objectifs chapitre I, les parties suivantes seront dédiées à l'étude du ligand  $H_3PCTMB$  et au développement de nouveaux dérivés du pyclyen N-fonctionnalisés par des groupements acétate et picolinate.

# 2 Etude du ligand PCTMB

## I. Introduction

Le ligand **H<sub>3</sub>PCTMB** (Schéma 3), dérivé du pyclen N-fonctionnalisé par trois groupements monobutyl-méthylphosphonate, a fait l'objet de nombreuses études pour des applications en imagerie médicale, comme chélatant de lanthanides(III) (Eu(III), Tb(III), Gd(III))<sup>15</sup> et de métaux de transitions émetteurs  $\gamma$  et  $\beta^+$  (<sup>64</sup>Cu, <sup>111</sup>In, <sup>67</sup>Ga, <sup>68</sup>Ga).<sup>17</sup> Le ligand **H<sub>3</sub>PCTMB** n'avait jamais été étudié en tant que chélatant de radionucléides thérapeutiques. La lipophilie, apportée par les chaînes n-butyles, ainsi que la neutralité des complexes formés avec des cations métalliques au degré d'oxydation +3 en font un ligand intéressant pour une application en radiothérapie interne avec l'yttrium 90. Ce ligand **H<sub>3</sub>PCTMB** nous a été fourni par l'entreprise Guerbet, ce qui nous a permis de démarrer directement l'étude des propriétés du complexe d'yttrium(III).<sup>15</sup>

Ce chapitre présentera la synthèse et la caractérisation du complexe **YPCTMB** à l'état solide et en solution, les études cinétiques de formation et de dissociation du complexe, les études de stabilité thermodynamique puis la synthèse du radiochélate **<sup>90</sup>YPCTMB** et la stabilité en sérum humain du système **<sup>90</sup>YPCTMB/Lipiodol**.

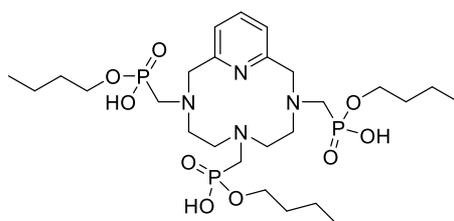


Schéma 3 : Ligand **H<sub>3</sub>PCTMB**.

## II. Synthèse et caractérisation du complexe YPCTMB

Tout comme l'<sup>90</sup>Y, les radionucléides émetteurs  $\beta^-$ , <sup>166</sup>Ho et <sup>177</sup>Lu possèdent des propriétés intéressantes pour la radiothérapie. Les différences d'énergie et de rayon d'action permettent d'adapter le radionucléide à la taille de la tumeur. Pour ces raisons et grâce à la similarité des propriétés de coordination des cations métalliques **Y<sup>3+</sup>**, **Lu<sup>3+</sup>** et **Ho<sup>3+</sup>**, la synthèse et la caractérisation à l'état solide des complexes **HoPCTMB** et **LuPCTMB** seront également présentées ici.

## 1. Synthèse des complexes MPCTMB

La synthèse des complexes **MPCTMB** ( $M = Y^{3+}, Ho^{3+}, Lu^{3+}$ ) est inspirée des méthodes décrites dans la littérature.<sup>16</sup> La complexation s'effectue entre le ligand **Na<sub>3</sub>PCTMB** et le sel métallique  $MCl_3 \cdot 6H_2O$  (1,5 eq) dans l'eau à pH 5 afin d'éviter la formation d'hydroxydes métalliques insolubles (Schéma 4). Le complexe précipite rapidement dans l'eau et est isolé par extraction dans un mélange chloroforme/méthanol 3:1. Les complexes **YPCTMB** et **HoPCTMB** sont obtenus avec des rendements respectifs de 82 et 78%. Le rendement plus faible du complexe **LuPCTMB** s'explique par la formation d'une émulsion lors de l'extraction conduisant à une perte de produit. Néanmoins, cette extraction est un bon indicateur du caractère lipophile des complexes.

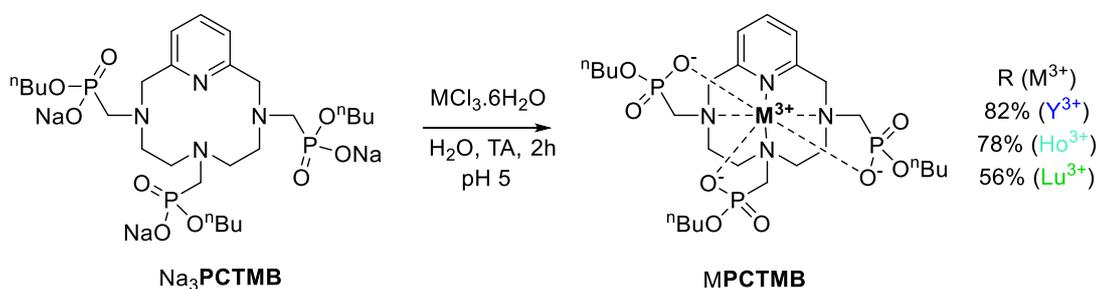


Schéma 4 : Voie de synthèse des complexes **MPCTMB**.

## 2. Etude à l'état solide par diffraction des rayons X

La solubilisation des complexes **MPCTMB** dans l'eau, après chauffage au reflux, suivie de la lente évaporation de ces solutions, ont permis l'obtention de monocristaux analysables par Diffraction des Rayons X (DRX). Les trois complexes existent sous forme de dimères constitués de deux entités  $M(PCTMB)$ , où un bras phosphonate de chaque monomère est coordonné à deux cations métalliques amenant la sphère de coordination du cation métallique à 8 ( $N_4O_4$ ). Les structures des complexes  $Y_2(PCTMB)_2 \cdot 9H_2O$ ,  $Ho_2(PCTMB)_2 \cdot 9H_2O$  et  $Lu_2(PCTMB)_2 \cdot 9H_2O$  sont isomorphes et cristallisent dans le groupe d'espace triclinique  $P\bar{1}$  (Figure 39). Les données cristallographiques sont répertoriées en annexe 1.

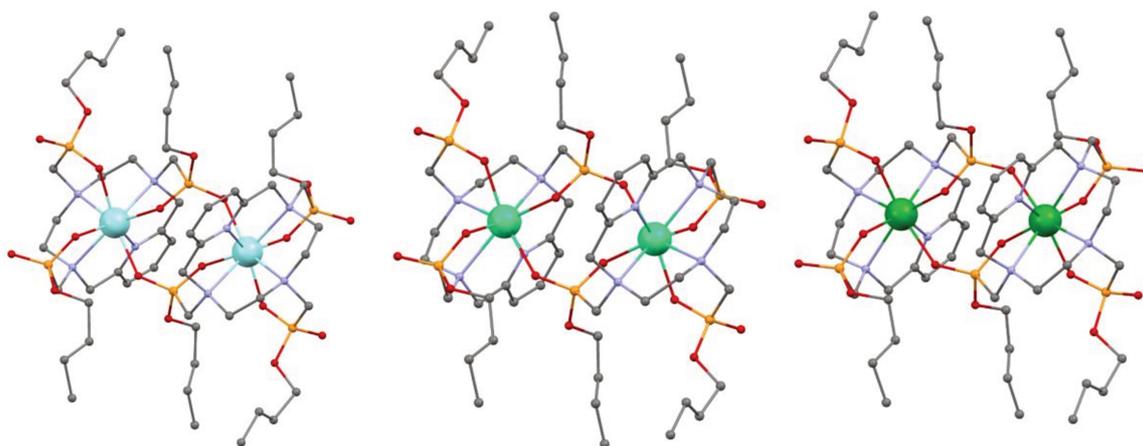


Figure 39 : Structures des complexes **MPCTMB** (M = Y, Ho, Lu) obtenues par DRX. Les atomes d'hydrogène et les molécules d'eau sont omis pour raison de clarté.

La sphère de coordination du métal est composée des quatre atomes d'azote du cyclen (N31, N38, N41 et N44) et de trois atomes d'oxygène des trois groupements phosphonate du ligand (O1, O21 et O11), la huitième coordination provenant d'un groupement phosphonate de l'entité **M(PCTMB)** voisine (O12<sup>i</sup>).

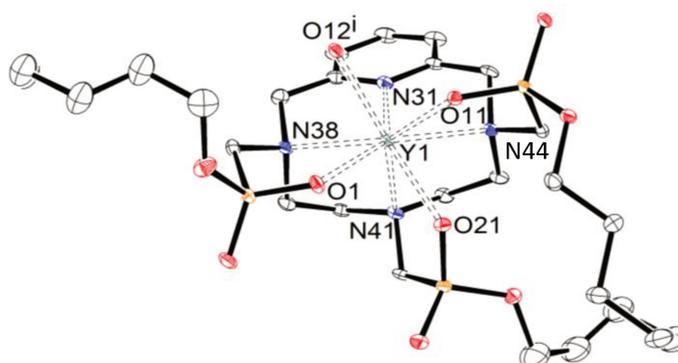


Figure 40 : Entité **YPCTMB** présente au sein du dimère  $Y_2(\text{PCTMB})_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ . Les atomes d'hydrogène et les molécules d'eau sont omis pour raison de clarté.

Ces résultats coïncident avec les travaux menés sur les complexes **EuPCTMB** et **TbPCTMB**.<sup>15</sup> Ce comportement a également été observé dans le cas de complexe de lanthanides à base de cyclen, N-fonctionnalisés par trois groupements phosphinate,<sup>119,120</sup> en opposition aux analogues N-alkylés par quatre groupements phosphinate qui cristallisent sous forme de monomère, la sphère de coordination du cation métallique étant déjà complète.<sup>121,122</sup>

Les longueurs de liaison M-N et M-O sont répertoriées dans le Tableau 15. Les trois complexes suivent la même tendance avec des longueurs de liaison de l'ordre de 2,6 Å pour les

liaisons M-N (amine) et 2,3 Å pour les liaisons M-O. Il est intéressant de noter que la liaison M-N (pyridine), de l'ordre de 2,47 Å, est plus courte que les liaisons M-N (amine). Une légère diminution des longueurs de liaisons est observée en fonction du cation métallique ce qui coïncide avec la diminution de leur rayon ionique. Les longueurs de liaisons au sein des complexes **EuPCTMB** et **TbPCTMB**, étudiés par Kiefer et al.<sup>15</sup> corroborent ces observations.

	[ <b>YPCTMB</b> ] <sub>2</sub> ·9H <sub>2</sub> O	[ <b>HoPCTMB</b> ] <sub>2</sub> ·9H <sub>2</sub> O	[ <b>LuPCTMB</b> ] <sub>2</sub> ·9H <sub>2</sub> O
Rayon ionique M <sup>3+</sup> pour CN = 8 (Å)	1.019	1.015	0.997
M(1)-N(31) py	2,488(3)	2,479(3)	2,450(5)
M(1)-N(38) am	2,614(3)	2,609(3)	2,583(5)
M(1)-N(41) am	2,642(3)	2,635(3)	2,602(5)
M(1)-N(44) am	2,611(3)	2,606(3)	2,570(6)
M(1)-O(1)	2,238(3)	2,240(3)	2,199(5)
M(1)-O(21)	2,296(3)	2,293(3)	2,271(4)
M(1)-O(11)	2,283(3)	2,288(3)	2,256(4)
M(1)-O(12)	2,324(3)	2,323(3)	2,292(4)

Tableau 15 : Longueurs de liaisons (Å) dans la sphère de coordination des cations métalliques des complexes M<sub>2</sub>(**PCTMB**)<sub>2</sub>·9H<sub>2</sub>O (M = Y, Ho, Lu) (py : pyridine, am : amine).

Le polyèdre de coordination permettant de décrire l'environnement de coordination du cation métallique est un antiprisme carré où les groupes d'atomes O12<sup>i</sup>, O11, N44, N31 et O1, O21, N41, N38 constituent les deux plans à face carrée du polyèdre. Ces deux plans sont décalés d'un angle de 39,4° pour le complexe d'yttrium, la valeur théorique étant de 45°.

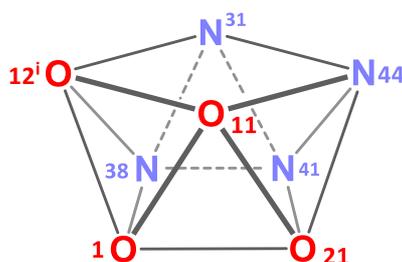


Figure 41 : Polyèdre de coordination (antiprisme carré) au sein de l'entité **MPCTMB** (M = Y, Ho, Lu).

L'étude en solution du complexe **YPCTMB** nous indiquera l'existence ou non du dimère en solution.

### 3. Caractérisation en solution

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  du ligand  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  et du complexe  $\text{YPCTMB}$  enregistrés à 298 K dans  $\text{CDCl}_3$  (Figure 42), indiquent clairement la formation du complexe d'yttrium(III) avec notamment un déblindage des signaux entre 7 et 8 ppm, signe de la coordination du cation métallique par l'atome d'azote de la pyridine du macrocycle. De plus, le doublet à 6,97 ppm sur le spectre du ligand génère deux signaux à 7,18 et 7,37 ppm synonyme de la présence de plusieurs espèces.

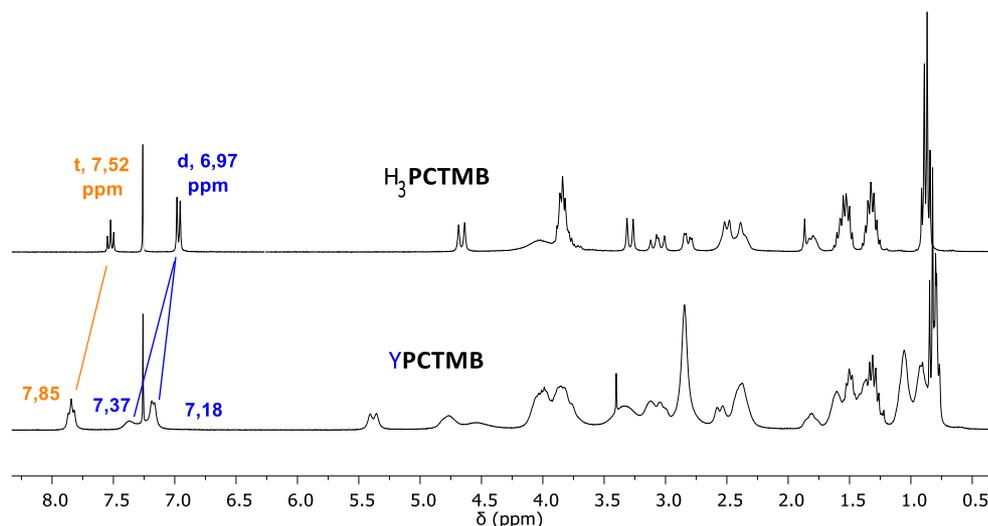


Figure 42 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  du ligand  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  et du complexe  $\text{YPCTMB}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298 K, 300 MHz).

Les signaux très larges obtenus en RMN  $^1\text{H}$  pour le complexe  $\text{YPCTMB}$  reflètent également un processus d'échange en solution. Pour mieux comprendre la spéciation et les échanges existant en solution dans  $\text{CDCl}_3$ , les spectres RMN  $^1\text{H}$  du complexe ont été enregistrés à différentes températures (Figure 43). Les signaux larges et mal définis obtenus à basse température s'affinent avec l'augmentation de la température.

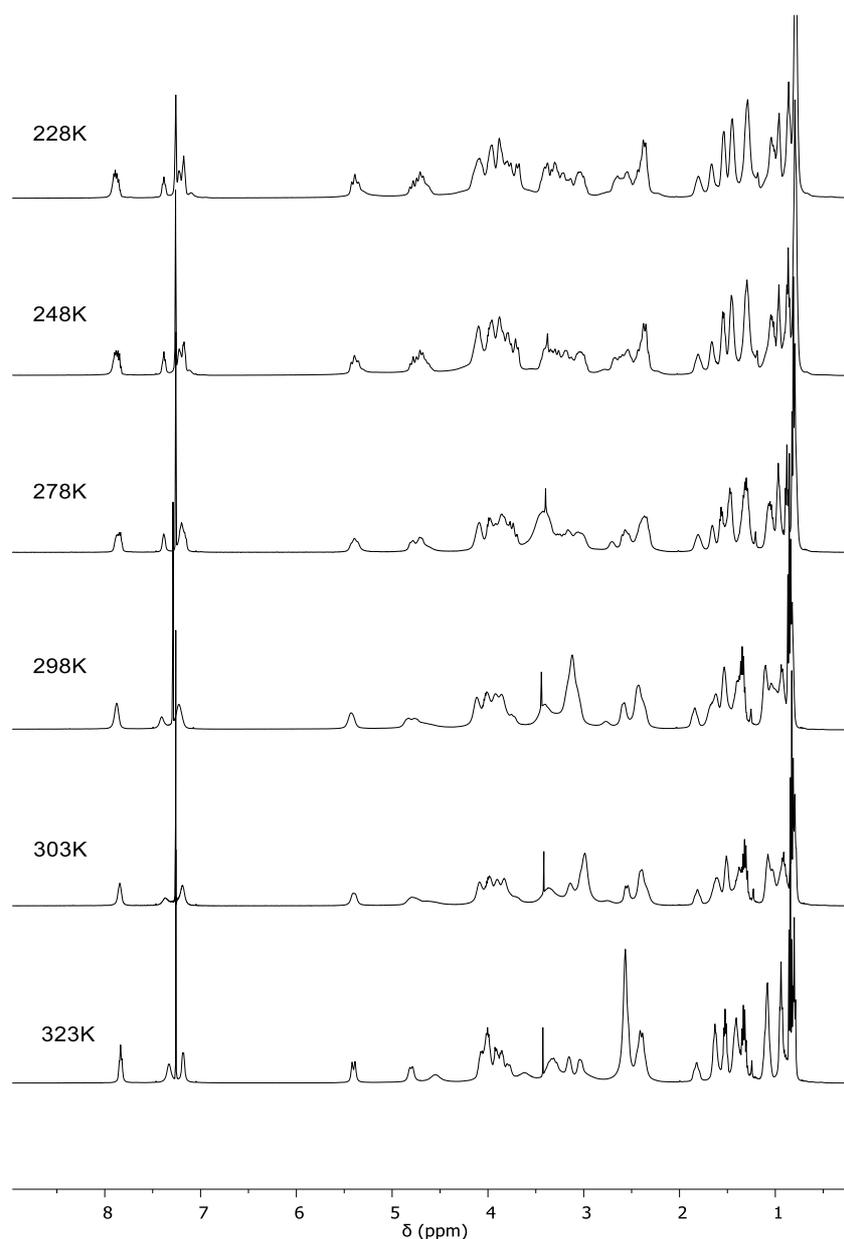


Figure 43 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  du complexe **YPCTMB** enregistrés à différentes températures ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz).

Le dédoublement de certains signaux et leur largeur s'explique par la présence d'isomères hélicoïdaux  $\Delta$  et  $\Lambda$ , générés par les orientations possibles des bras phosphonate au sein du complexe (Figure 44). Comme démontré par la structure RX du complexe **YPCTMB** à l'état solide, le polyèdre de coordination, antiprisme carré, est composé de deux plans parallèles, décalé d'un angle optimal de  $45^\circ$ . La jonction entre ces deux plans se fait via les bras phosphonate dans un sens ou dans l'autre, ce qui explique la formation des isomères.

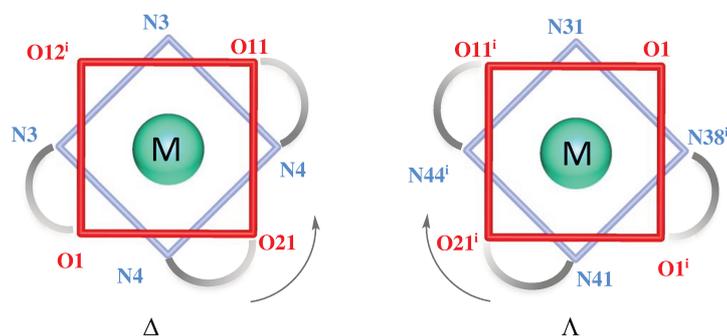


Figure 44 : Isomères hélicoïdaux générés par l'orientation des bras phosphonate dans le dimère  $Y_2(\text{PCTMB})_2$ .

La RMN DOSY (diffusion-ordered spectroscopy) est une expérience RMN à deux dimensions permettant de connaître le nombre d'espèces présentes en solution. Chaque espèce de taille différente se verra attribuer un coefficient de diffusion  $D$  différent. Connaissant le coefficient de diffusion  $D$  d'une espèce, l'équation suivante permet de remonter au rayon  $a$  de Van der Waals de l'espèce où  $k_B$ , correspond à la constante de Boltzmann ( $1,38065 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$ ) et  $\eta$  à la viscosité de la solution ( $\eta_{\text{CDCl}_3} = 0,548 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$  à 298 K).

$$D = \frac{k_B T}{6\pi a \eta}$$

Le spectre DOSY du complexe  $Y\text{PCTMB}$  indique la présence d'une seule espèce caractérisée par un coefficient de diffusion  $D = 5,1(1) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  (Figure 45) pour laquelle  $a = 7,8 \text{ \AA}$ . Ce résultat converge avec le rayon du dimère  $Y_2(\text{PCTMB})_2$  d'une valeur de  $7,2 \text{ \AA}$ , calculé par DFT par l'équipe du Pr. Carlos Platas-Iglesias en assimilant le dimère à une sphère.

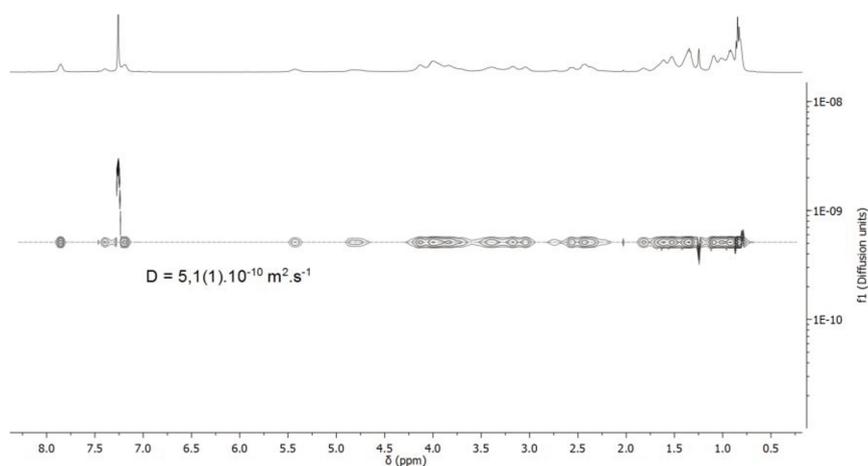


Figure 45 : Spectre RMN DOSY du complexe  $Y\text{PCTMB}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz, 298 K).

Cependant, la technique de diffusion dynamique de la lumière a également montré la présence de particules dans le chloroforme. Ces expériences ont été réalisées par le groupe Guerbet. Dans un premier temps, les mesures réalisées après filtration de la solution indiquaient l'absence d'agrégats. Néanmoins, les études sans filtration ont montré une organisation du complexe **YPCTMB**, sous forme de micelles d'environ 100 nm de diamètre (Figure 46). Ces agrégats n'ont pas été mis en évidence par l'expérience RMN DOSY décrite précédemment.

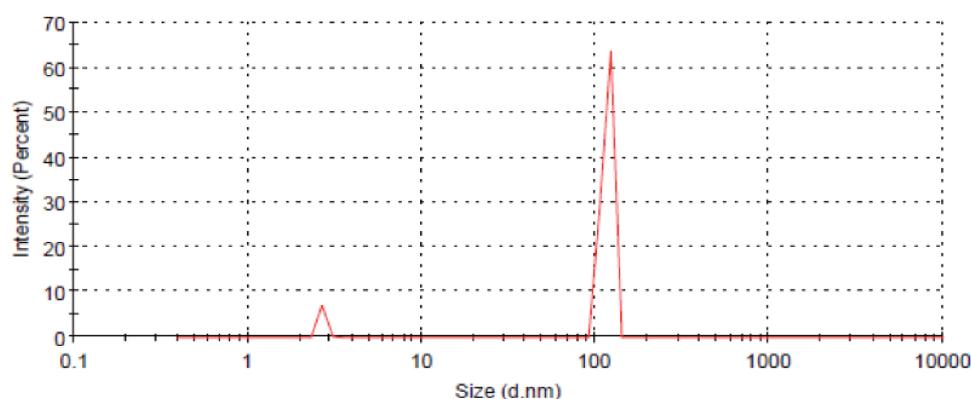


Figure 46 : Spectre de spectroscopie de corrélation de photon du complexe **YPCTMB** dans le chloroforme avec  $C = 2 \text{ mg/mL}$ .

En conclusion, le complexe d'yttrium(III) existe sous la forme de dimère à la fois à l'état solide et en solution dans le chloroforme où il s'organise en micelles.

### III. Etudes cinétiques

Les cinétiques de formation et de dissociation du complexe **YPCTMB** ont été suivies par spectroscopie UV-visible, grâce à la transition  $\pi-\pi^*$  de la pyridine du pyclyen. La différence de longueur d'onde entre le maximum d'absorption du ligand **H<sub>3</sub>PCTMB** et celui de son complexe d'yttrium est suffisant pour réaliser des suivis cinétiques (Figure 47).

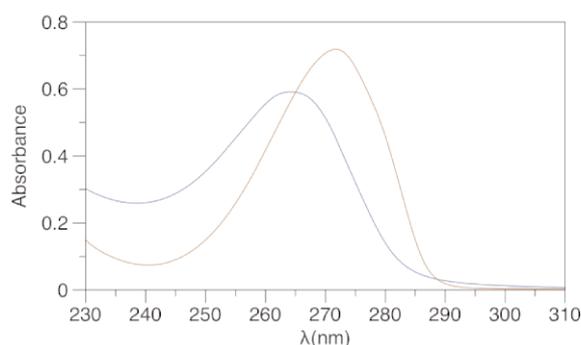


Figure 47 : Spectres UV-visible du ligand **H<sub>3</sub>PCTMB** (bleu) et du complexe **YPCTMB** (orange) enregistrés en milieu tampon acétate pH 5,5 avec  $C_L = C_{ML} = 2 \times 10^{-4} \text{ M}$  à  $25^\circ\text{C}$ .

## 1. Cinétique de complexation

L'objectif d'un tel suivi est, certes, de connaître la vitesse de complexation mais également d'anticiper un futur radiomarquage. Ainsi, les conditions choisies s'inspirent de celles utilisées classiquement en radiomarquage soit en tampon acétate aux pH 3,8 et 5,5 à 25°C. L'augmentation et le déplacement de la bande d'absorption  $\pi$ - $\pi^*$  de la pyridine dans le complexe vers des longueurs d'ondes plus grandes permettent de suivre la cinétique de complexation (Figure 48).

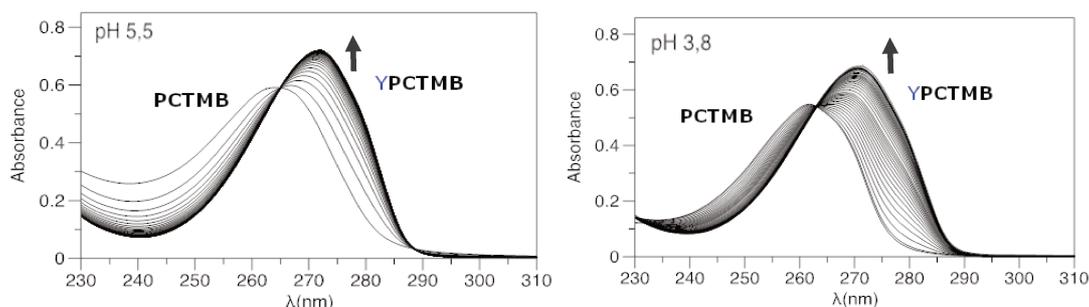


Figure 48 : Suivi de la formation du complexe **YPCTMB** par spectroscopie UV-Visible ( $C_L = C_{Y^{3+}} = 0,2$  mM, tampon acétate, pH 3,8 et 5,5).

Fixé au maximum d'absorption du complexe ( $\lambda = 272$  nm), le tracé de l'absorbance en fonction du temps permet de connaître le pourcentage de complexation et donc le temps au bout duquel la complexation est totale (Figure 49). A pH 3,8, la complexation est quantitative en 167 minutes contre seulement 13 minutes à pH 5,5. La protonation du ligand étant différente à pH 3,8 et à pH 5,5, la compétition entre le cation métallique et les protons du ligand est plus importante à pH acide d'où une complexation plus lente. En comparaison à d'autres ligands dont le DOTA,<sup>39,123,124</sup> la complexation à pH 5,5 entre le ligand  $H_3PCTMB$  et l' $Y^{3+}$  est rapide. Ces résultats montrant une complexation rapide sont encourageants pour les études de radiomarquage à l'yttrium 90.

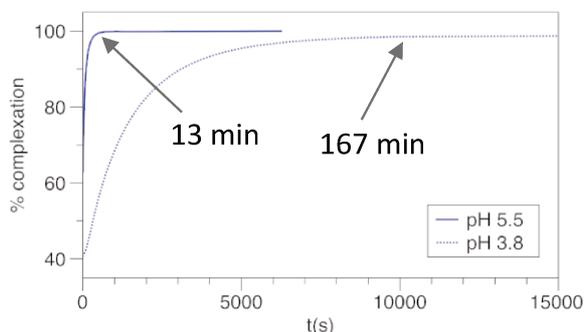


Figure 49 : Pourcentage de complexation en fonction du temps au maximum d'absorption du complexe ( $\lambda = 272$  nm).

## 2. Inertie cinétique

Comme décrit dans le chapitre I, l'inertie cinétique d'un chélate est le plus souvent évaluée en suivant sa dissociation en milieu acide. La cinétique de dissociation du complexe **YPCTMB** a été étudiée en milieu acide concentré 0,5, 1, 2, 4 et 5 M à 25°C sans contrôle de la force ionique. Plus la concentration en acide est élevée, plus la dissociation est rapide. Cette partie sera illustrée par l'étude en milieu HCl 1M (Figure 50). Les suivis de dissociation réalisés dans les autres conditions sont répertoriés en annexe 2.

Lors de la dissociation, la bande d'absorption du complexe diminue en intensité et se décale vers des longueurs d'ondes légèrement plus faibles jusqu'à atteindre le maximum d'absorption du ligand, c'est-à-dire une dissociation totale (Figure 50.A). Le tracé de l'intensité d'absorption du complexe à 272 nm en fonction du temps permet de calculer le temps de demi-vie ( $t_{1/2}$ ) correspondant au temps au bout duquel la moitié du complexe s'est dissociée (Figure 50.B). Ces études ont été réalisées sous des conditions de pseudo ordre 1 avec un large excès d'ions  $H^+$  par rapport au complexe. C'est pourquoi, ces dissociations suivent une loi exponentielle du type  $A_t = A_e + (A_0 - A_e)e^{-k_{obs}/t}$  où  $A_t$ ,  $A_0$  et  $A_e$  correspondent aux absorbances au temps  $t$ , au début de la réaction et à l'équilibre, et où  $k_{obs} = \ln(2)/t_{1/2}$ .

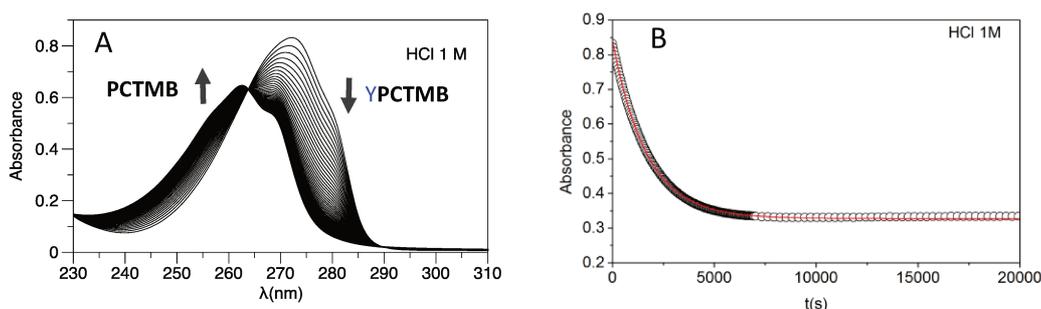


Figure 50 : (A) Suivi par spectroscopie UV-visible de la dissociation du complexe **YPCTMB** en milieu HCl 1 M à 298 K, (B) Diminution de l'intensité d'absorption du complexe en fonction du temps, superposition des points expérimentaux avec la courbe théorique  $A_t = A_e + (A_0 - A_e)e^{-k_{obs}/t}$  (tracé rouge).

En milieu HCl 0,5 - 4 M, les temps de demi-vie  $t_{1/2}$  calculés pour le complexe **YPCTMB** sont légèrement plus faibles que ceux obtenus pour le complexe **YPCTA**, mesurés dans les mêmes conditions (Tableau 16). En milieu HCl 5 M, les temps de demi-vie des deux complexes sont très proches avec 2,6 et 3,1 minutes pour **YPCTMB** et **YPCTA** respectivement. Ces temps de demi-vie témoignent d'une bonne inertie cinétique, en comparaison avec les complexes acycliques de l'EDTA et du DTPA,<sup>125</sup> pour lesquels la dissociation est immédiate dans des

milieux faiblement acides. Ces différences confirment la forte inertie cinétique des chélates macrocycliques.

	$t_{1/2}$ (minutes)			
	YPCTMB	YPCTA	YEDTA	YDTPA
HCl 0,5 M	37	95	< 1 s	-
HCl 1 M	20	39	-	-
HCl 2 M	9	17	-	-
HCl 4 M	3,2	6,7	-	-
HCl 5 M	2,6	3,1	-	-
$k_1$ (M <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	1,25.10 <sup>-4</sup>	5,8.10 <sup>-4</sup>	-	111 <sup>126</sup>

Tableau 16 : Temps de demi-vie ( $t_{1/2}$ ) des complexes YPCTMB, YPCTA, YEDTA et YDTPA.

## IV. Etude thermodynamique

Les constantes de protonation du ligand H<sub>3</sub>PCTMB et les constantes de stabilité thermodynamiques du complexe YPCTMB ont été mesurées par titrage potentiométrique. La signification de ces constantes et l'influence du type de groupements coordinants sur la stabilité des complexes ont été expliquées au cours du chapitre I.

### 1. Constantes de protonation du ligand PCTMB

Le ligand PCTMB possède sept sites de protonation : les trois amines tertiaires et la pyridine du pyclyen ainsi que les trois fonctions phosphonate (Figure 51). Trois de ces sept constantes ont pu être déterminées par potentiométrie (Tableau 17).

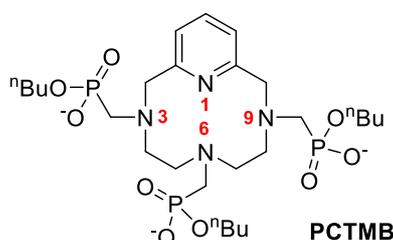


Figure 51 : Structure du ligand PCTMB et rappel de la numérotation des atomes d'azote du macrocycle.

Les deux premières constantes partielles ( $\log K_1 = 11,16$  et  $\log K_2 = 5,28$ ) correspondent à la protonation de deux amines tertiaires du macrocycle. Comme évoqué dans la partie bibliographique, la valeur de la deuxième constante, plus faible que la première, s'explique par la difficulté à introduire un deuxième proton dû aux répulsions électrostatiques et à la rigidité

du macrocycle. L'ajout d'un troisième proton dans le macrocycle étant trop contraignant, la dernière constante mesurée ( $\log K_3 = 1,72$ ) est attribuée à la protonation d'un groupement phosphonate. Le mécanisme de protonation du ligand **PCTMB** peut être considéré identique à celui de PCTA.<sup>23</sup> En premier lieu, l'amine tertiaire **6** est protonée ( $\log K_1 = 11,16$ ). L'ajout d'un deuxième proton dans la cavité du cyclen engendre un réarrangement : les deux amines tertiaires **3** et **9** adjacentes à la pyridine deviennent ainsi protonées ( $\log K_2 = 5,28$ ). La dernière constante ( $\log K_3 = 1,72$ ) peut être attribuée au groupement phosphonate en trans de la pyridine, porté par l'atome d'azote non protoné **6**.

Equilibre <sup>a</sup>	Pyclen <sup>127, b</sup>	<b>PCTMB</b> <sup>b</sup>	PCTA <sup>14, c</sup>	DOTA <sup>30, d</sup>
<b>log K<sub>n</sub></b>				
L + H $\rightleftharpoons$ HL	10,33(4)	11,16(2)	11,36(1)	12,09(1)
HL + H $\rightleftharpoons$ H <sub>2</sub> L	7,83(5)	5,28(3)	7,35(1)	9,68(2)
H <sub>2</sub> L + H $\rightleftharpoons$ H <sub>3</sub> L	1,27	1,72(4)	3,83(1)	4,55(3)
H <sub>3</sub> L + H $\rightleftharpoons$ H <sub>4</sub> L	<1	-	2,12(1)	4,13(3)
H <sub>4</sub> L + H $\rightleftharpoons$ H <sub>5</sub> L	-	-	1,29(1)	-
<b><math>\Sigma \log K_i</math></b>				
	19,43	18,16	25,95	30,45

<sup>a</sup> Les charges ne sont pas indiquées pour des raisons de clarté, <sup>b</sup> I = 0,1 M KNO<sub>3</sub>, 25°C, <sup>c</sup> I = 1,0 M KCl, 25°C, <sup>d</sup> I = 0,1 M Me<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 25°C

Tableau 17 : Constantes de protonation du ligand **PCTMB** et de ligands de la littérature.

À denticité égale, la basicité globale du ligand **PCTMB** ( $\Sigma \log K_i = 18,16$ ) est plus faible que celle du ligand PCTA ( $\Sigma \log K_i = 25,95$ ) (Tableau 17). Ceci s'explique par la différence de basicité des groupements portés par le macrocycle, augmentant dans l'ordre suivant : -PO(OR)OH < -COOH. La deuxième constante de protonation des ligands **PCTMB** ( $\log K_2 = 5,28$ ) et PCTA ( $\log K_2 = 7,11$ ) illustre également cette différence de basicité : les groupements acétate ont une meilleure capacité à stabiliser la forme protonée du ligand que les groupements phosphonate.

La répartition des espèces en fonction du pH est représentée sur le diagramme de spéciation (Figure 52). De pH 2 à 12, le ligand existe sous les formes LH<sub>3</sub>, LH<sub>2</sub>, LH et L avec, à pH physiologique, l'espèce monoprotonée LH majoritaire. Il est à noter la présence des espèces mono- et di-protonées sur la gamme de pH 3,5 – 5,5, utilisée couramment pour le radiomarquage.

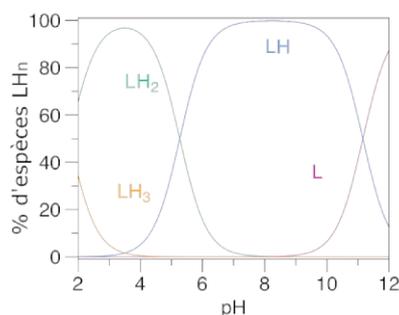


Figure 52 : Diagramme de spéciation du ligand **PCTMB**.

## 2. Constantes de stabilité thermodynamique du complexe YPCTMB

Du fait d'une complexation rapide et totale à pH acide, les constantes de stabilité thermodynamique du complexe **YPCTMB** n'ont pas pu être mesurées par titrage potentiométrique direct. Une technique par compétition avec le ligand H<sub>4</sub>EDTA a donc été employée. Cette méthode est détaillée dans la partie expérimentale.

Les constantes de stabilité thermodynamique du complexe **YPCTMB** sont répertoriées dans le Tableau 18. La constante mesurée pour la formation de l'espèce YL (log K<sub>YL</sub> = 19,49) est synonyme d'une bonne stabilité thermodynamique. Cette constante est du même ordre de grandeur que celles obtenues pour les complexes d'yttrium des ligands EDTA (log K<sub>YL</sub> = 18,5) et PCTA (log K<sub>YL</sub> = 20,28), mais reste néanmoins inférieure à celles du DOTA (log K<sub>YL</sub> = 24,9) et DTPA (log K<sub>YL</sub> = 22,5). Comme expliqué au cours du chapitre I, les constantes pM servent à comparer la stabilité thermodynamique des complexes puisqu'elles prennent en considération la différence de basicité des ligands. La constante pY du complexe **YPCTMB** d'une valeur de 16,7 est proche de celle du complexe YPCTA (17,0) et témoigne d'une bonne stabilité thermodynamique. Cette valeur reste inférieure à celles des complexes YDTPA<sup>2-</sup> (19,4) et YDOTA<sup>-</sup> (18,9), ce qui s'explique par leur nombre de coordination supérieur.

Equilibre <sup>a</sup>	<b>PCTMB</b> <sup>b</sup>	PCTA <sup>14,c</sup>	EDTA <sup>29, d</sup>	DTPA <sup>29, d</sup>	DOTA <sup>31, e</sup>
<b>log K<sub>MHnL</sub></b>					
M + L ⇌ ML	19,49 (5)	20,28	18,5	22,5	24,9
ML + H ⇌ MLH	3,45 (6)	1,81	-	-	-
ML(OH) + H ⇌ ML	9,10 (8)	11,10	-	-	-
<b>pY<sup>f</sup></b>					
	16,7	17,0	16,7	19,4	18,9

<sup>a</sup> Les charges des différentes espèces ont été omises pour des raisons de clarté, <sup>b</sup> Ce travail, constantes déterminées par compétition avec H<sub>4</sub>EDTA avec I = 0,1 M KNO<sub>3</sub> à 25°C, <sup>c</sup> I = 1,0 M KCl, 25°C, <sup>d</sup> I = 0,1 M NMe<sub>4</sub>Cl, 25°C, <sup>e</sup> I = 0,1 M Me<sub>4</sub>NNO<sub>3</sub>, 25°C, <sup>f</sup> pY = -log[Y<sup>3+</sup>], constantes calculées pour [L] = 10 x [Y<sup>3+</sup>] = 10<sup>-5</sup> M à partir des constantes de protonation détaillées précédemment et des log K<sub>ML</sub>.

Tableau 18 : Constantes de stabilité thermodynamique log K<sub>YL</sub> et pY du complexe **YPCTMB** en comparaison aux données de la littérature.

Le diagramme de spéciation, tracé à partir des constantes de protonation et de complexation mesurées par potentiométrie, permet de connaître le pourcentage de chaque espèce de l'yttrium présente sur la gamme de pH 2-12 (Figure 53). Le complexe **YPCTMB** existe sous trois formes : monoprotonée **YLH**, neutre **YL** et hydroxo **YL(OH)<sup>-</sup>**, avec la présence exclusive de l'espèce **YL** à pH physiologique. Il est à noter l'absence d'ion **Y<sup>3+</sup>** non coordonné à pH acide et d'hydroxyde d'yttrium à pH basique. La complexation de l'yttrium(III) sur toute la gamme de pH est idéale pour une utilisation en milieu biologique ainsi que pour les études de radiomarquage à l'yttrium 90.

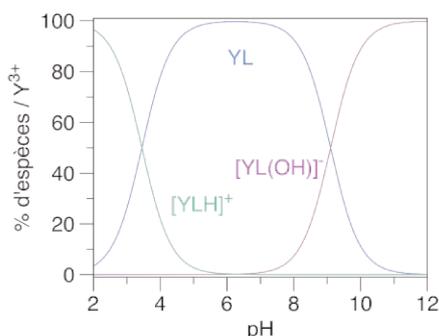


Figure 53 : Diagramme de spéciation du ligand **PCTMB** en présence d'ions **Y<sup>3+</sup>**.

## V. Radiomarquage et solubilité dans le Lipiodol

Le ligand **H<sub>3</sub>PCTMB** et son complexe d'yttrium présentent des propriétés intéressantes : une complexation rapide, une bonne inertie cinétique ainsi qu'une stabilité thermodynamique satisfaisante. C'est pourquoi le radiomarquage du ligand **H<sub>3</sub>PCTMB** à l'yttrium 90, la stabilité du radiochélate **<sup>90</sup>YPCTMB** dans le sérum humain et sa solubilité dans le Lipiodol ont été entrepris. Ces études ont été réalisées par Dr. Nicolas Leparreur au Centre Eugène Marquis à Rennes où j'ai eu l'opportunité de passer trois jours pour participer au déroulement des études de radiomarquage (décembre 2015).

### 1. Synthèse du radiochélate **<sup>90</sup>YPCTMB**

Classiquement, le ligand est solubilisé dans un tampon acétate pH 4,75 puis est mélangé avec une solution d'**<sup>90</sup>Y<sup>3+</sup>** également en milieu tampon acétate pH 4,75. Les puretés radiochimiques (PRC) sont contrôlées par CCM sur papier Whatman 1 (MeOH/NEt<sub>3</sub> 0,1%) révélées par un phosphoimageur. Les analyses HPLC sont réalisées sur C18 (H<sub>2</sub>O/ MeOH) avec un détecteur radiochromatographique.

Afin de déterminer les conditions optimales de synthèse du radiochélate  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$ , une étude de cinétique de complexation a été réalisée à température ambiante et à  $80^\circ\text{C}$  (Figure 54.A). En seulement cinq minutes, à température ambiante, le complexe  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  est obtenu avec une PRC supérieure à 80 %. Après 60 minutes de réaction, la PRC ne dépasse pas les 90%. Lorsque la complexation est effectuée à  $80^\circ\text{C}$ , la PRC atteint près de 98% en seulement cinq minutes. Ces résultats témoignent d'une complexation rapide et corroborent les résultats obtenus précédemment lors des études cinétiques réalisées avec l'isotope stable de l'yttrium malgré des conditions différentes. Ces résultats contrastent avec le radiomarquage du ligand  $\text{H}_4\text{DOTA}$  avec  $^{90}\text{Y}^{3+}$  qui requiert des températures plus élevées et des temps de réaction plus longs.<sup>43</sup> La PRC a été étudiée sur une gamme de température (20 à  $80^\circ\text{C}$ , Figure 54.B), de concentration ( $10^{-5}$  à  $10^{-1}$  M, Figure 54.C) et de pH (1 à 13, Figure 54.D). Les prélèvements ont été réalisés au bout de 15 minutes de réaction pour la variation de la température et de la concentration, et au bout de 30 minutes de réaction dans le cas de la variation du pH.

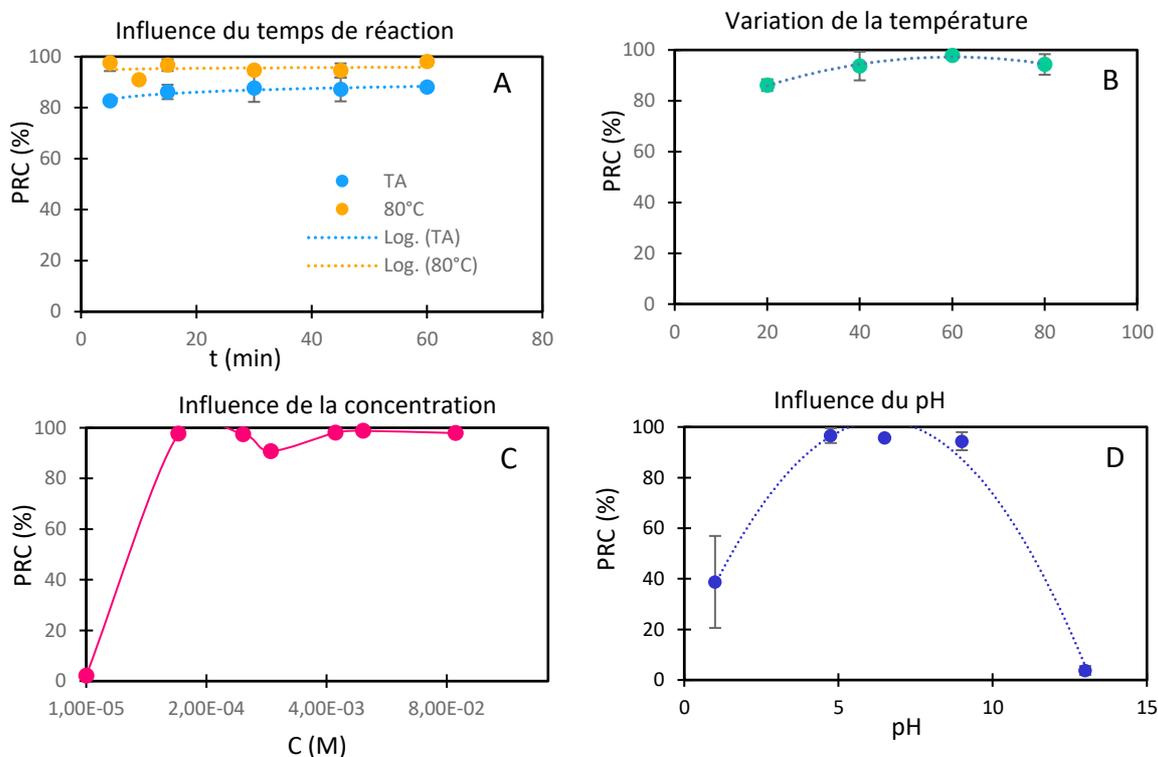


Figure 54 : (A) Cinétique de radiomarquage à TA et  $80^\circ\text{C}$ , (B) Influence de la variation de température, (C) Influence de la variation de la concentration en ligand, (D) Influence de la variation du pH.

D'après les graphiques précédents (Figure 54), les conditions optimales de synthèse du radiochélate  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  sont les suivantes : tampon acétate entre pH 4,75 et 9, avec une concentration en ligand comprise entre  $10^{-4}$  et  $10^{-2}$  M pendant 15 minutes à une température allant de 45 à  $60^\circ\text{C}$ . Le chromatogramme HPLC (Figure 55) indique que le radiocomplexe, synthétisé avec  $C_L = 10^{-2}$  M à pH 4,75 pendant 15 minutes à  $60^\circ\text{C}$ , est obtenu avec une efficacité

de radiomarquage de  $96,44 \pm 3,25\%$ . De plus, l'unique pic du chromatogramme indique qu'une seule espèce est formée.

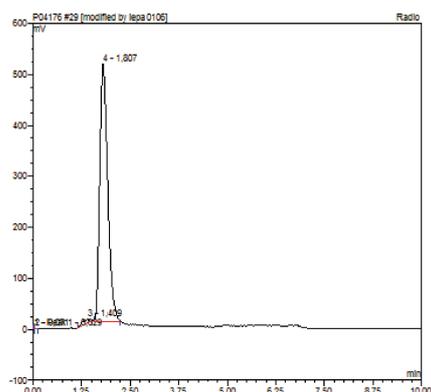


Figure 55 : Chromatogramme HPLC du  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  obtenu avec une PRC de  $96,44 \pm 3,25\%$  ( $C_L = 10^{-2}$  M, pH 4,75, 15 minutes,  $60^\circ\text{C}$ ).

## 2. Stabilité de $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$

La stabilité du radiochélate  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  a été évaluée en milieu sérum humain. Pour cette étude, le radiocomplexe a été synthétisé selon les conditions optimales de radiomarquage puis est incubé en sérum humain à  $37^\circ\text{C}$ . Un aliquot est analysé par HPLC et CCM toutes les 24h. Par ce biais, l'évolution (la dissociation) du radiochélate peut être suivie. Les résultats montrent une présence de plus de 90% du radiocomplexe après 24 h d'incubation allant jusqu'à 80% après 48h. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus pour  $^{90}\text{Y}\text{DOTA}^-$  pour lequel moins de 10% de dissociation a été observée, et meilleurs que ceux du  $^{90}\text{Y}\text{DTPA}^{2-}$  dont seulement 60% du complexe est présent en solution au bout de 24h.<sup>43</sup> Ces résultats reflètent parfaitement les propriétés des ligands macrocycliques, capables de complexer un cation métallique de façon stable et inerte.

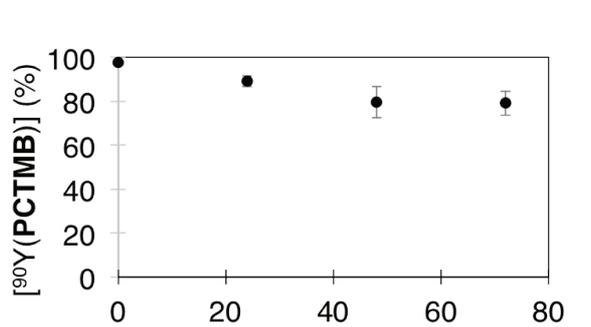


Figure 56 : Stabilité du radiochélate  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  en sérum humain.

### 3. Solubilité dans le Lipiodol et stabilité

Comme détaillé dans la première partie de ce chapitre, nous avons pour objectif d'utiliser des chélates d' $^{90}\text{Y}(\text{III})$  neutres et lipophiles pour le traitement du cancer du foie par radiothérapie interne en employant le Lipiodol comme vecteur. Cette partie vise donc à évaluer la solubilité du radiochélate  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  dans le Lipiodol ainsi que la stabilité du système  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}/\text{Lipiodol}$ .

Pour cette expérience, le radiochélate a été synthétisé selon les conditions précédentes. La solution a été purifiée sur colonne Sep-Pak  $\text{C}_{18}$  : les impuretés hydrophiles sont éluées avec 5 mL d'eau puis le radiochélate est élué avec 5 mL d'éthanol. Après évaporation de l'éthanol, le résidu est repris dans 5 mL de Lipiodol. Cette phase huileuse est lavée avec 5 mL de sérum physiologique. Après séparation, la radioactivité des phases est mesurée au compteur  $\gamma$  pour connaître la solubilité du radiochélate dans le Lipiodol. Cette étude a permis de démontrer que le complexe  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  est soluble à 58,1% dans le Lipiodol. Cette valeur est insuffisante et se doit d'être supérieure à 90% puisque l'objectif est d'injecter le maximum d'activité dans la tumeur. Pour comparaison, le complexe  $^{188}\text{Re}\text{-SSS}$ , actuellement en essai clinique, est soluble dans le Lipiodol à 97%.<sup>128</sup>

Malgré la faible solubilité, la stabilité du système  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}/\text{Lipiodol}$  a été évaluée en sérum physiologique et en sérum de rat. Pour ce faire, le mélange  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}/\text{Lipiodol}$  est laissé sous agitation en présence de sérum physiologique ou de rat à 37°C pendant toute l'étude de stabilité. Un aliquot de la phase aqueuse de chaque échantillon est prélevé. L'activité est mesurée au compteur gamma puis corrigée par rapport à la décroissance de l'yttrium 90 et au volume prélevé, elle est ensuite comparée à l'activité initiale. En sérum physiologique (Figure 57.A), l'activité mesurée dans la phase aqueuse passe de 20 à 50% en seulement 18 h et atteint 80% au bout de 67h. En sérum de rat (Figure 57.B), l'activité reste proche de 30% tout au long de l'étude. Une augmentation de l'activité dans la phase aqueuse est synonyme du relargage du radiochélate  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  depuis la phase Lipiodol. Elle ne correspond pas à une dissociation du radiochélate puisque la présence du complexe lipophile dans le sérum, et donc la stabilité du complexe, a été démontrée par CCM. Ainsi, ces résultats indiquent un manque d'affinité du complexe  $^{90}\text{Y}\text{PCTMB}$  pour le Lipiodol et donc une lipophilie trop faible.

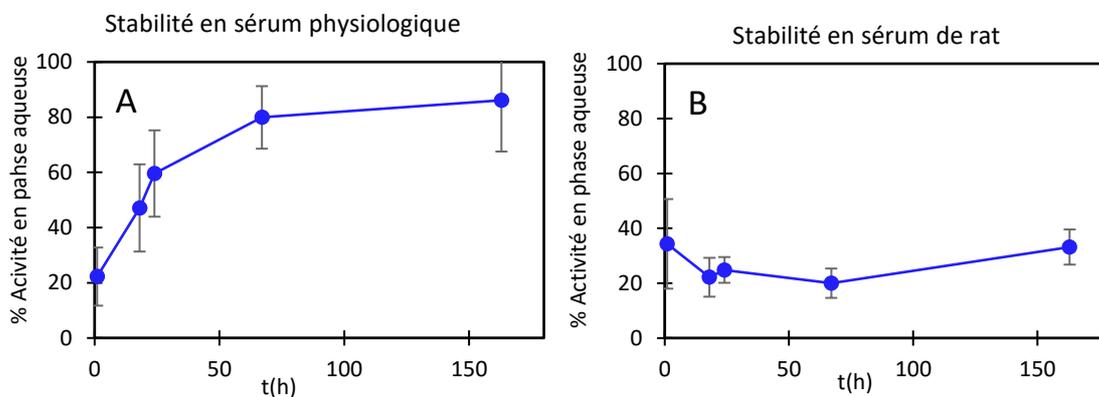


Figure 57 : Stabilité du radiotracteur  $^{90}\text{Y PCTMB}$ /Lipiodol en sérum physiologique (A) et en sérum de rat (B).

## VI. Conclusion

Le ligand  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  et son complexe d'yttrium(III) ont été étudiés à l'état solide par diffraction des rayons X, et en solution par RMN  $^1\text{H}$ . Nous avons également déterminé les propriétés physico-chimiques du chélate en solution : la vitesse de complexation de l'yttrium(III), la stabilité thermodynamique ainsi que l'inertie cinétique. Ces travaux ont permis de confirmer la complexation rapide du cation  $\text{Y}^{3+}$  rencontrée avec les dérivés du cyclen. Les bonnes propriétés cinétiques et thermodynamiques indiquent une potentielle utilisation du ligand  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  comme chélate de l'yttrium 90 en radiothérapie. Cependant, même si les valeurs de stabilité et d'inertie du complexe  $\text{Y PCTMB}$  sont correctes, elles restent néanmoins inférieures à celles des complexes  $\text{Y PCTA}$  et  $\text{YDOTA}^-$ . De plus, les études de radiomarquage à l'yttrium 90 ont démontré la faible solubilité du radiochélate  $^{90}\text{Y PCTMB}$  dans le Lipiodol rendant ainsi son emploi en radiothérapie interne rédhibitoire.

Ainsi, nous avons mis en évidence que la lipophilie apportée par la pyridine du cyclen et des chaînes butyles semble insuffisante pour une solubilisation dans le Lipiodol. Pour contrer cette faible solubilité, une des possibilités aurait été de synthétiser des analogues aux chaînes alkyles plus longues. Néanmoins, le développement de nouveaux dérivés du cyclen aux propriétés supérieures à celle du complexe  $\text{Y PCTMB}$  nous a semblé plus pertinent afin d'atteindre les propriétés du DOTA, ligand de référence. Remplacer les groupements phosphonate par des groupements acétate et picolinate aurait pour conséquence une augmentation de la stabilité thermodynamique et de l'inertie cinétique des complexes d'yttrium notamment grâce à un nombre d'atomes coordinants plus important. Tel est l'objectif de la partie suivante.

# 3 Synthèse de nouveaux dérivés du cyclen

## I. Introduction

Comme décrit dans le chapitre bibliographique, les complexes formés entre les ions Ln(III) et le ligand DOTA font preuve d'excellentes propriétés. C'est la raison pour laquelle le DOTA est le ligand de référence pour la complexation des lanthanides(III) et de nombreuses applications in vivo. Cependant, le complexe  $^{90}\text{YDOTA}^-$ , hydrophile et chargé négativement, n'est pas adapté pour l'application de radiothérapie interne. Avec ses sept atomes coordinants, le ligand  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  complexe, certes, l'yttrium(III) de façon stable et inerte mais ses propriétés restent inférieures à celle du DOTA. De plus, la lipophilie du radiochélate  $^{90}\text{YPCTMB}$  est insuffisante pour l'application visée (Chapitre II.2). Ainsi, notre objectif est le suivant : synthétiser des chélates d'yttrium(III) dérivés du cyclen qui soient neutres, lipophiles et aussi stables thermodynamiquement et inertes cinétiquement que le complexe  $\text{YDOTA}^-$ .

Pour ce faire, nous avons entrepris la synthèse d'une nouvelle famille de dérivés du cyclen N-fonctionnalisés par des groupements acétate et picolinate (Figure 58). Les groupements picolinate, déjà étudiés avec les macrocycles cyclam,<sup>10</sup> cyclen<sup>19</sup> et tacn,<sup>12</sup> ont été choisis pour introduire un nombre d'atomes coordinants supérieur aux ligands  $\text{H}_3\text{PCTA}$  et  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  et ainsi augmenter les propriétés de stabilité thermodynamique et d'inertie cinétique des complexes formés avec l'yttrium(III) tout en maintenant la neutralité des complexes. Ainsi quatre ligands ont été synthétisés<sup>1</sup> :

- Cyclen substitué par deux groupements acétate et un picolinate, N-fonctionnalisation symétrique (**L1**) et non symétrique (**L3**)
- Cyclen substitué par deux groupements picolinate et un acétate, N-fonctionnalisation symétrique (**L2**) et non symétrique (**L4**)

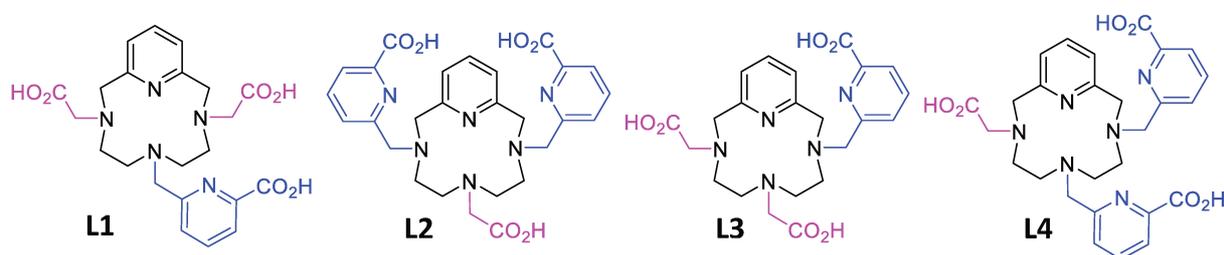


Figure 58 : Nouveaux dérivés du cyclen diversement N-fonctionnalisés par des groupements acétate et picolinate.

<sup>1</sup> Pour plus de clarté, les ligands seront dénommés **L1**, **L2**, **L3** et **L4** au lieu de  $\text{H}_3\text{L1}$ ,  $\text{H}_3\text{L2}$ ,  $\text{H}_3\text{L3}$  et  $\text{H}_3\text{L4}$ .

Nous pouvons d'ores et déjà nous attendre à ce que le caractère lipophile de ces ligands soit insuffisant pour une solubilisation des chélates d'yttrium 90 dans le Lipiodol. Cependant, si les propriétés des chélates sont adaptées pour une utilisation in vivo, leur lipophilie pourra être augmentée par l'introduction de groupements lipophiles.

Dans un premier temps, ce chapitre présentera la synthèse des ligands symétriques et non symétriques suivi, de la synthèse des quatre complexes d'yttrium(III). Après la caractérisation des ligands et des complexes en solution et à l'état solide, nous évaluerons les propriétés des chélates d'yttrium(III) au travers des études cinétiques et thermodynamiques. Enfin, les études de radiomarquage à l'yttrium 90 et les tests de solubilité dans le Lipiodol seront réalisés.

## II. Synthèse des ligands et des complexes d'yttrium(III)

### 1. Synthèse du chlorure de picolinate

La synthèse de l'ester méthylique du chlorure de picolinate **6**, précurseur des groupements picolinate, a déjà été décrite dans la littérature.<sup>129</sup> La synthèse débute par l'estérification de l'acide 2,6-pyridinedicarboxylique dans le méthanol en présence d'acide sulfurique suivie par la monoréduction, par NaBH<sub>4</sub>, d'une des fonctions ester méthylique en alcool puis, enfin, par la chloration de la fonction alcool (Schéma 5). Le dérivé **6** est obtenu en trois étapes avec un rendement global de 57%. Cette synthèse permet d'obtenir des quantités importantes de chlorure de picolinate de l'ordre de la dizaine de grammes.

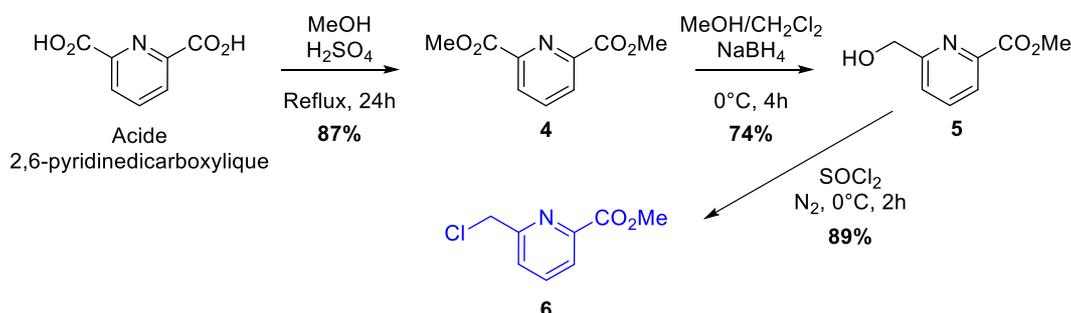


Schéma 5 : Synthèse de l'ester méthylique du chlorure de picolinate **6**.

### 2. Synthèse des ligands symétriques

Nous avons entrepris la synthèse des ligands **L1** et **L2** selon deux voies dénommées « voie directe » et « voie cyclen Boc ». Ces deux méthodes emploient une stratégie de N-

fonctionnalisation déjà décrite dans la littérature qui consiste à construire progressivement le macrocycle à partir d'une triamine linéaire selon les procédés de Richman et Atkins.<sup>130,131</sup> Par ailleurs, cette méthode est elle-même inspirée de la voie de synthèse du macrocycle pyclyen décrite pour la première fois en 1981 par Stetter et al.<sup>132</sup> Les dérivés du pyclyen et du ligand H<sub>3</sub>PCTA ont, pour la plupart, été synthétisés selon cette voie.<sup>22,133,134</sup>

a. Selon la « voie directe »

Les ligands **L1** et **L2** ont été synthétisés selon une voie identique avec cependant un ordre d'addition des substituants inversé (Schéma 6). Ces synthèses débutent par la protection des deux amines primaires de la diéthylène triamine par le chlorure de 2-nitrophénylsulfonyl, menant à l'intermédiaire diprotégé **7**, commun à la synthèse des ligands **L1** et **L2**. La N-fonctionnalisation de l'amine secondaire par le dérivé **6** ou par le bromoacétate de tertibutyle, permet d'introduire directement un premier bras coordonnant.

L'étape suivante consiste à faire réagir les dérivés de la diéthylène triamine **8** ou **12** avec le 2,6-bis(bromométhyl)pyridine conduisant à la formation respective des dérivés du pyclyen **9** et **13**. Lors de cette étape, la rigidité du dérivé 2,6-bis(bromométhyl)pyridine et l'encombrement des groupements nosyl des composés **8** et **12** rendent ces dérivés « pré-organisés », c'est-à-dire qu'ils adoptent une conformation identique à celle qu'ils ont dans le produit final. Ainsi, cette pré-organisation des réactifs favorise la cyclisation.<sup>130</sup>

La déprotection des groupements nosyle par le thiophénol s'avère être l'étape délicate. Le rendement sur deux étapes (cyclisation + déprotection) est de 19% lorsque le pyclyen est substitué par un groupement picolinate (**9** → **10**) et de 54% avec un groupement acétate (**13** → **14**). Ce faible rendement inattendu de 19% laisse supposer que des réactions secondaires ont lieu en présence du groupement picolinate. Il est à noter que le dérivé **14** a été obtenu avec un rendement global de 20%, légèrement inférieur aux 25% obtenus par le groupe de Siaugue et al.<sup>130</sup> dans les mêmes conditions.

Enfin, les dernières étapes de N-fonctionnalisation des deux amines secondaires et d'hydrolyse des fonctions ester en milieu acide conduisent aux ligands **L1** et **L2** avec des rendements globaux de 1 et 8% respectivement. Ces faibles rendements nous ont amenés à modifier la voie de synthèse de ces deux ligands.

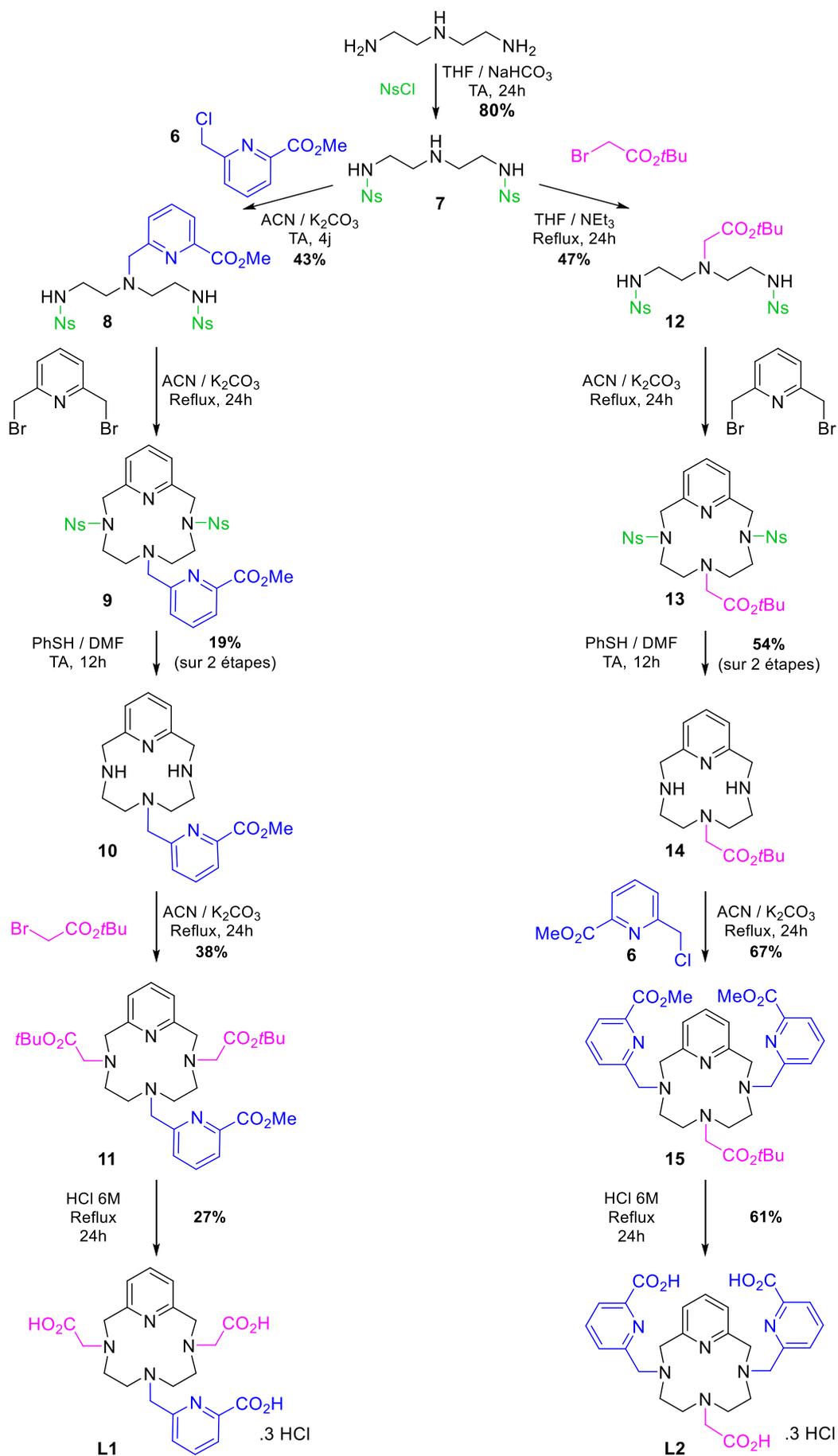


Schéma 6 : Synthèse des ligands **L1** et **L2** selon la « voie directe ».

b. Selon la « voie cyclen BOC »

En plus d'améliorer les rendements, le changement de la voie de synthèse a été motivée par l'idée de pouvoir synthétiser un intermédiaire macrocyclique commun aux deux ligands **L1** et **L2** malgré un nombre d'étapes plus grand. Cet intermédiaire commun, numéroté **18**, est un cyclen N-protégé par un groupement « Boc » en position **6**.

Le dérivé cyclen-Boc **18** a également été synthétisé selon le procédé décrit par Siaugue et al.<sup>130</sup> Après l'étape de protection de l'amine secondaire du dérivé **7** par un groupement « Boc », la cyclisation avec le dérivé 2,6-bis(bromométhyl)pyridine puis la déprotection des groupements nosyle par le thiophénol, l'intermédiaire **18** est obtenu avec un rendement global de 46%, proche des 42% de la littérature (Schéma 7). Il apparaît clairement que le groupement Boc contribue à l'amélioration des rendements lors des étapes de cyclisation et de déprotection des groupements nosyle. En effet, sur ces deux étapes le rendement est de 58% contre 19 et 54% pour les dérivés « cyclen mono picolinate » **10** et « cyclen mono acétate » **14** (Schéma 6).

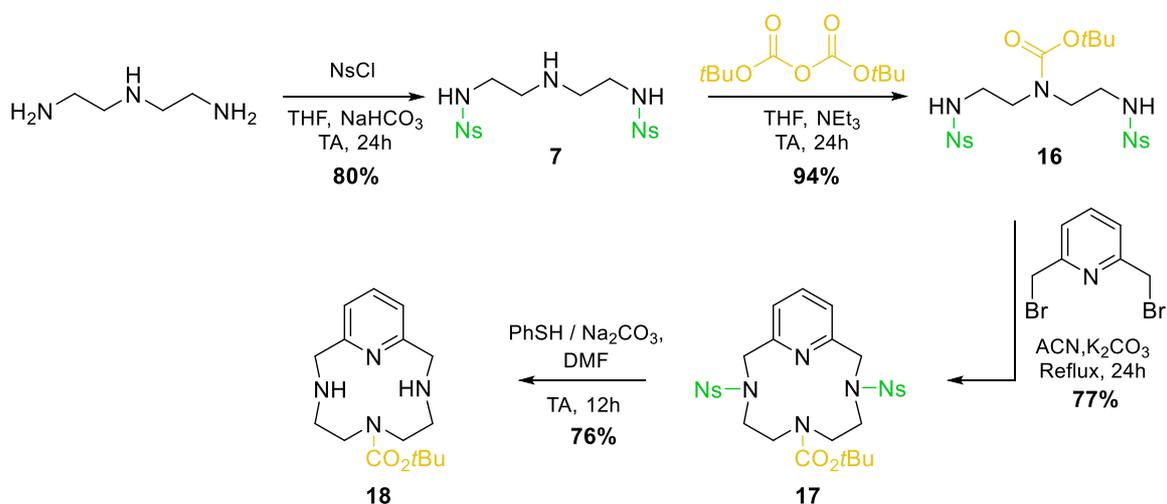


Schéma 7 : Synthèse de l'intermédiaire cyclen-Boc **18** selon la voie décrite par Siaugue et al.<sup>130</sup>

La N-fonctionnalisation du dérivé cyclen-Boc **18**, par les groupements acétate ou picolinate, conduit aux composés di-fonctionnalisés **19** et **23** avec des rendements respectifs de 76 et 63%. La déprotection du groupement Boc a, dans un premier temps, été testée en milieu HCl 6 M sur le dérivé **19**. Dans ces conditions, la déprotection des fonctions ester est inévitable (**20**) et impose une étape de ré-estérification pour protéger, à nouveau, les groupements acétate (**21**). Même si ces composés ont été obtenus avec de bons rendements, des conditions d'estérification ont directement été testées sur le dérivé **23**, pour déprotéger le groupement Boc tout en maintenant les protections ester méthylique. Ainsi en milieu méthanol/acide sulfurique, le dérivé **24** a été obtenu avec un rendement de 63%. Les ligands **L1** et **L2** ont été obtenus après les deux étapes d'alkylation et d'hydrolyse. Avant purification des produits finaux par HPLC-

C18, le rendement estimé de l'hydrolyse est supérieur à 90%. Une perte de produit importante est constatée lors de cette purification. Toutefois, les ligands **L1** et **L2** ont été synthétisés avec des rendements globaux respectifs de 16 et 13% à partir du pyclyen-Boc ou 7 et 6% à partir de la diéthylène triamine. La synthèse des ligands symétriques par l'intermédiaire pyclyen-Boc est plus efficace que la voie directe même si certains points doivent encore être améliorés comme la purification des ligands finaux.

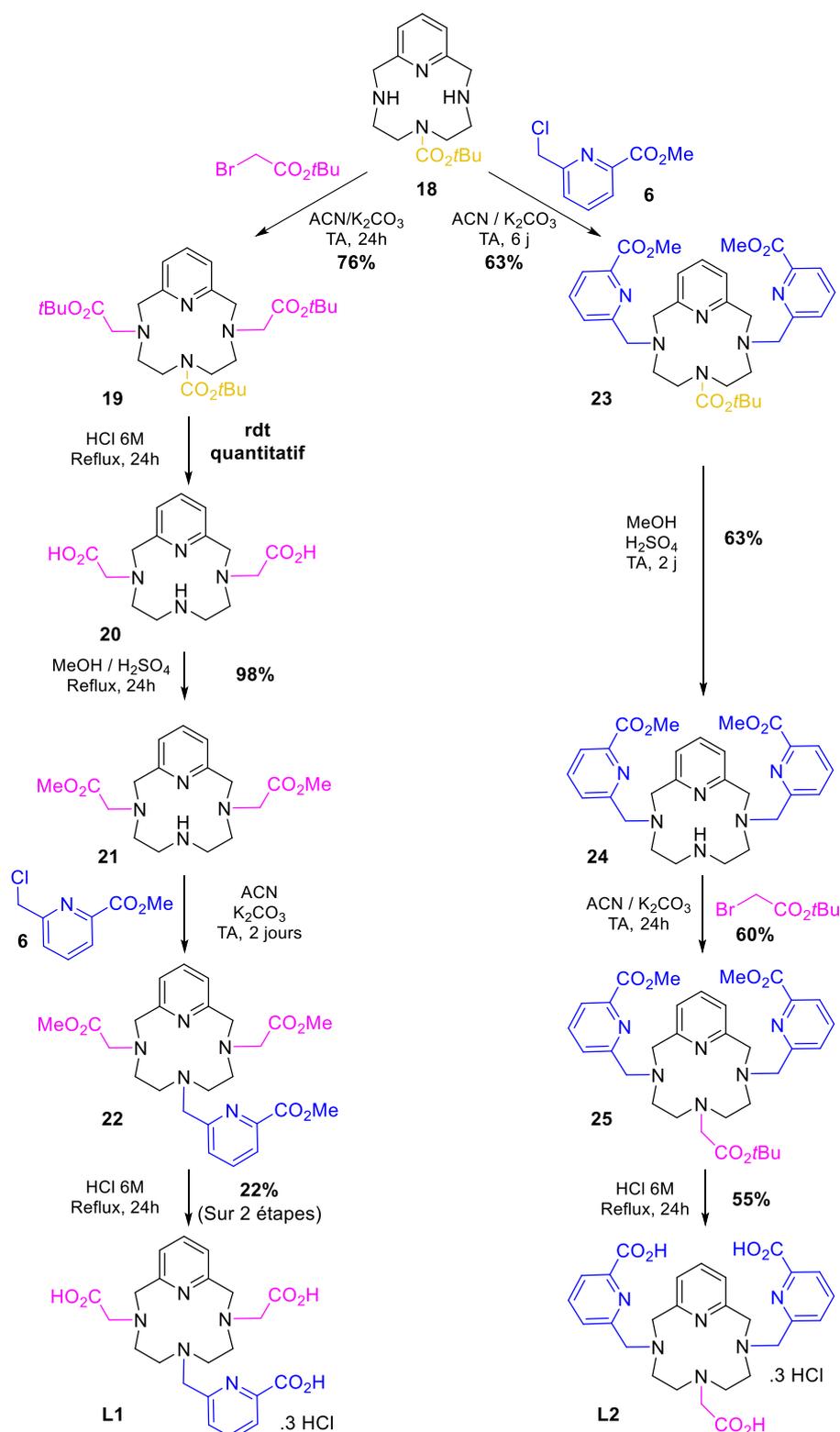


Schéma 8 : Synthèse des ligands **L1** et **L2** à partir du pyclyen-Boc **18**.

### 3. Synthèse des ligands non symétriques

Puisqu'il n'existe à ce jour aucun exemple de pyclen N-fonctionnalisé de façon non symétrique, nous avons dû mettre au point une nouvelle stratégie de N-fonctionnalisation régiosélective pour synthétiser les ligands **L3** et **L4**. A cet effet, nous nous sommes inspirés des voies de N-fonctionnalisation régiosélectives faisant partie intégrante de la chimie macrocyclique avec notamment la chimie des bisaminals et les méthodes de protection des macrocycles.<sup>4,5,8</sup> Parmi les méthodes testées, la protection du pyclen par un pont oxalate s'est avérée efficace. Par ailleurs, cette méthode de protection a déjà été utilisée avec les macrocycles cyclen et cyclam dans la synthèse de dérivés cis-disubstitués.<sup>135</sup>

#### a. Synthèse et caractérisation du pyclen oxalate

La première étape consiste à neutraliser le pyclen.3HCl pour former le pyclen base **26** (Schéma 9). Comme pour la protection des macrocycles cyclen et cyclam,<sup>135</sup> nous avons employé l'éthanol comme solvant pour l'étape de protection du pyclen avec l'oxalate de diéthyle. Le rendement de cette étape n'atteignant que 19%, les conditions de réaction ont été optimisées. L'utilisation de méthanol a permis l'obtention du produit **27** avec un rendement de 90%. Cette augmentation de rendement s'explique par une meilleure solubilité du pyclen **26** dans le méthanol. Le produit **27** est ensuite obtenu par recristallisation dans un mélange méthanol / acétate d'éthyle avec un rendement global de 81%.

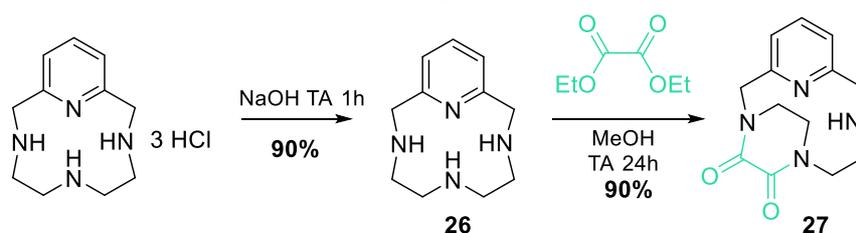


Schéma 9 : Voie de synthèse du pyclen oxalate **27**.

L'obtention de monocristaux analysables par DRX a permis de confirmer la structure du produit **27** à l'état solide (Figure 59). La formation d'un cycle à six chaînons est favorable à l'obtention du pyclen oxalate **27**. La structure RX témoigne de la rigidité de ce dérivé induite par l'introduction du pont oxalate. Notons également le caractère chiral de ce dérivé avec la formation d'un atropoisomère. La rigidité de ce produit est également observée en RMN <sup>1</sup>H où les protons portés par les atomes de carbone 2, 4, 5, 7, 8 et 10 deviennent diastéréotopiques (Figure 60). Le spectre RMN <sup>13</sup>C confirme l'obtention du produit **27** avec la présence de deux signaux à 162,93 et 161,22 ppm correspondant aux deux carbones des carbonyles (Figure 60).

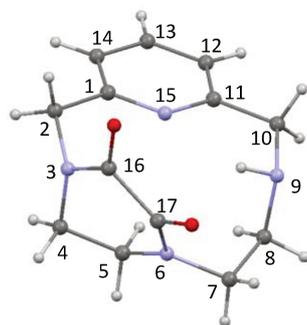


Figure 59 : Unité asymétrique de la maille cristalline du composé **27** (Les molécules d'eau ne sont pas représentées pour des raisons de clarté).

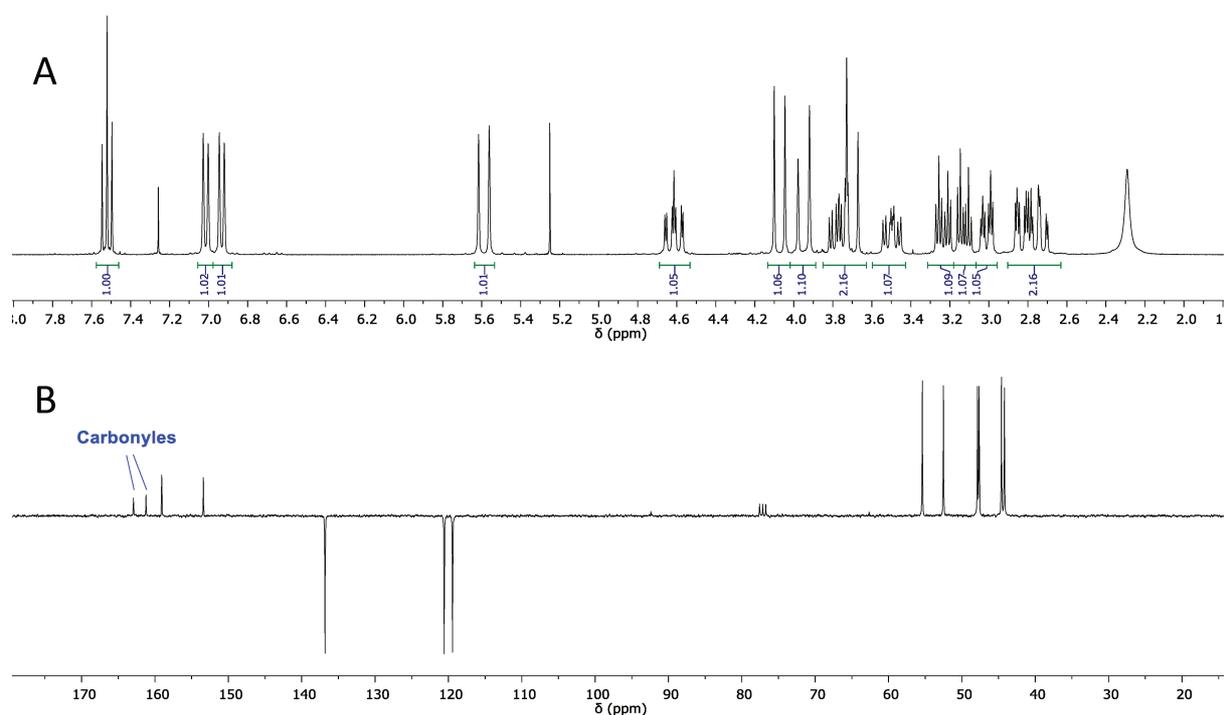


Figure 60 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (A) et  $^{13}\text{C}$  (B) du cyclen oxalate **27** enregistrés dans  $\text{CDCl}_3$  à 298 K à respectivement 300 et 75 MHz.

#### b. Mise à profit de la di-N-protection

Les ligands non symétriques **L3** et **L4** ont ainsi été synthétisés à partir du cyclen oxalate **27**, la première étape étant la fonctionnalisation de l'amine secondaire adjacente à la pyridine par les groupements picolinate ou acétate, pour former les composés mono-fonctionnalisés **28** et **31** (Schéma 10). Ces deux dérivés ont été obtenus avec d'excellents rendements, ce qui démontre l'avantage de la protection employée. La déprotection du pont oxalate a d'abord été effectuée en milieu acide chlorhydrique 6 M suivie d'une ré-estérification (**28**  $\rightarrow$  **29**). De façon analogue à la déprotection des groupements Boc, détaillée précédemment (Schéma 8), des conditions d'estérification (méthanol / acide sulfurique) ont été directement appliquées, afin de

maintenir une protection ester sur les acides carboxyliques (**32**). Les étapes d'alkylation et d'hydrolyse conduisent ensuite aux ligands **L3** et **L4**. Les rendements estimés de l'hydrolyse sont supérieurs à 90%. Cependant, les rendements inférieurs obtenus après purification par HPLC-C18 s'expliquent par une perte importante de produit. Les ligands **L3** et **L4** ont été synthétisés avec des rendements respectifs de 19 et 16% à partir du pyclen oxalate **27**. Les étapes d'alkylation et de purification sur HPLC doivent encore être améliorées.

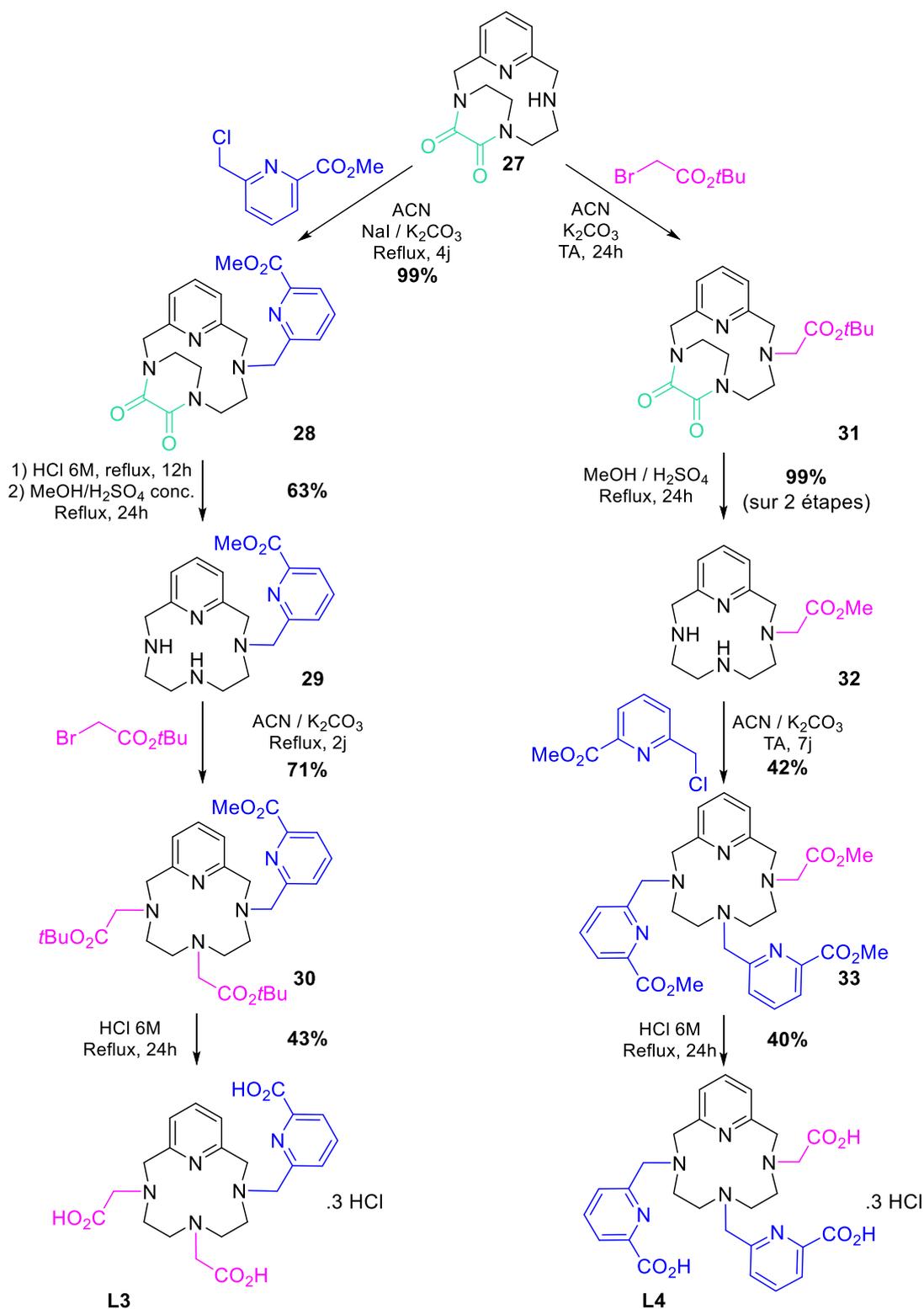


Schéma 10 : Synthèse des ligands **L3** et **L4** via le pyclen oxalate **27**.

## 4. Synthèse et caractérisation des complexes d'yttrium(III)

### a. Synthèse des complexes d'yttrium(III)

Les complexes d'yttrium(III) des quatre ligands **L1**, **L2**, **L3** et **L4** ont été synthétisés dans l'eau ultrapure à pH 5 en faisant réagir le ligand avec 1,5 à 1,9 équivalents de sel métallique  $YCl_3 \cdot 6H_2O$  (Schéma 11). Le milieu réactionnel est chauffé au reflux pendant une nuit, puis concentré et purifié par HPLC-C18 ( $H_2O$  / acétonitrile) pour enlever les sels. Les complexes **YL1**, **YL2**, **YL3** et **YL4** ont été obtenus avec les rendements respectifs, quasi quantitatifs, de 91, 88, 94 et 92%.

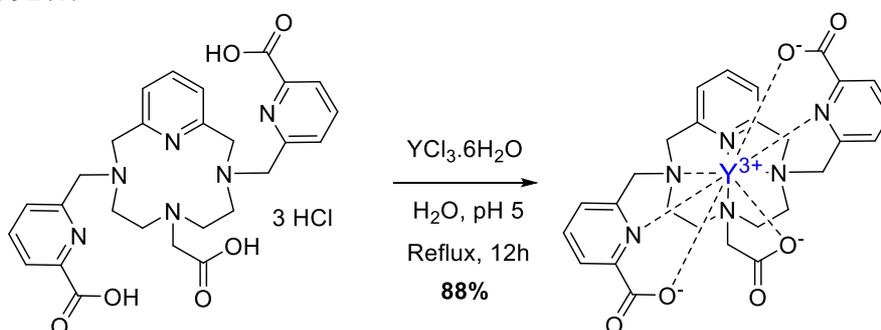


Schéma 11 : Synthèse du complexe **YL2**.

### b. Caractérisation par diffraction des rayons X

L'obtention de monocristaux analysables par DRX nous a permis de caractériser deux des quatre complexes à l'état solide : les complexes **YL2** et **YL4**, tous deux substitués par deux groupements picolinate de façon symétrique et non symétrique. Les cristaux ont été obtenus par la lente évaporation des solutions aqueuses de ces chélates. Les deux complexes d'yttrium présentent une sphère de coordination  $N_6O_3$  et adoptent une géométrie prismatique trigonale tricappée (Figure 61). Pour les deux complexes d'yttrium(III), la longueur de liaison Y-N(pyridine) est comprise entre les longueurs des liaisons Y-N(amine) et Y-N(picolinate) (Tableau 19). Le complexe **YL2** cristallise en mélange racémique avec la présence des deux isomères hélicoïdaux  $\Delta$  et  $\lambda$ . Pour le complexe **YL4**, seul l'isomère  $\Delta$  existe dans le cristal analysé. Les données cristallographiques sont répertoriées en annexe 1.

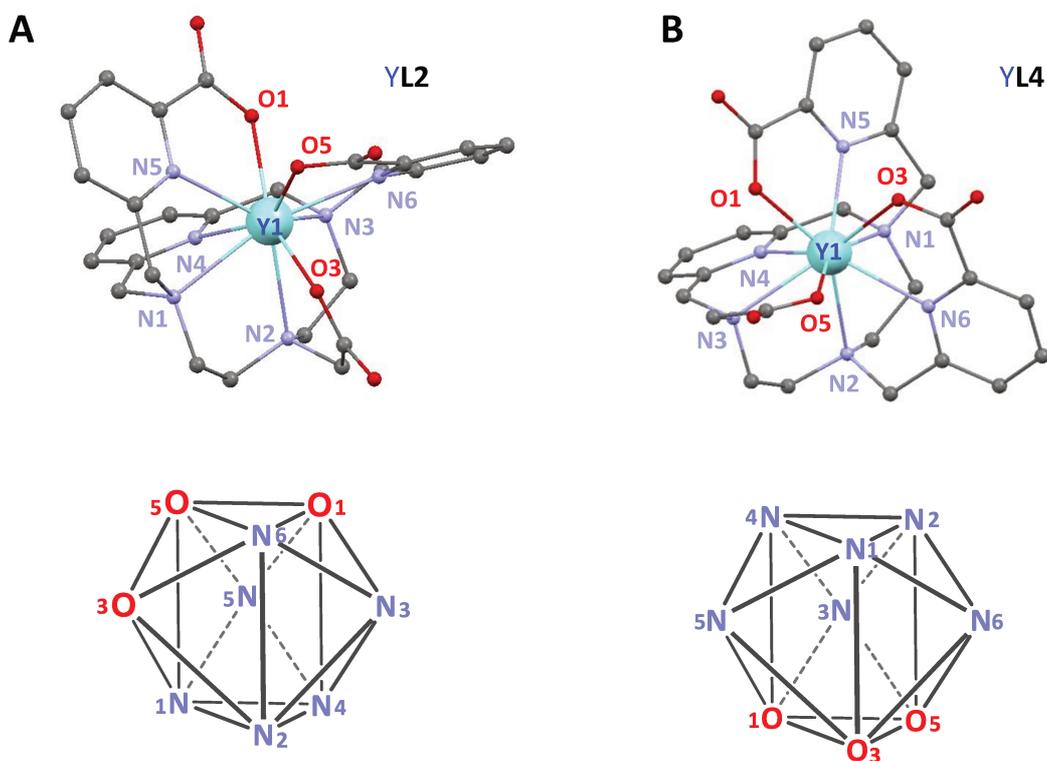


Figure 61 : Structures cristallographiques et polyèdres de coordination correspondants des complexes **YL2** (A) et **YL4** (B). Les atomes d'hydrogène et les molécules d'eau sont omis pour des raisons de clarté.

	<b>YL2</b>	<b>YL4</b>
Y(1)-N(1) amine	2,606	2,603
Y(1)-N(2) amine	2,630	2,645
Y(1)-N(3) amine	2,614	2,575
Y(1)-N(4) pyridine	2,486	2,548
Y(1)-N(5) picolinate	2,458	2,465
Y(1)-N(6) picolinate	2,476	2,535
Y(1)-O(1)	2,327	2,307
Y(1)-O(3)	2,315	2,361
Y(1)-O(5)	2,398	2,338

Tableau 19 : Longueurs des liaisons Y-N et Y-O au sein de la sphère de coordination du cation métallique des complexes **YL2** et **YL4**.

### c. Caractérisation par RMN

Les quatre ligands et leurs complexes d'yttrium(III) ont été caractérisés par RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans  $\text{D}_2\text{O}$ . L'attribution des signaux a été effectuée grâce aux expériences RMN 2D (COSY, HMBC, HMQC). Tous les déplacements chimiques et les attributions sont présentés en annexes 3 - 10. La présence d'un métal au sein d'un ligand macrocyclique rend les protons portés par un même carbone, diastéréotopiques. Ainsi, pour chaque proton du complexe, un signal est observé puisque leur environnement diffère (Figure 62 à Figure 65). A titre d'exemple, pour les spectres des dérivés **L4** et **YL4**, les deux protons numérotés **24** conduisent à deux signaux **24<sub>eq</sub>** et **24<sub>ax</sub>** après complexation (Figure 65). Le déblindage du proton **24<sub>eq</sub>** est induit par sa proximité avec le centre métallique.

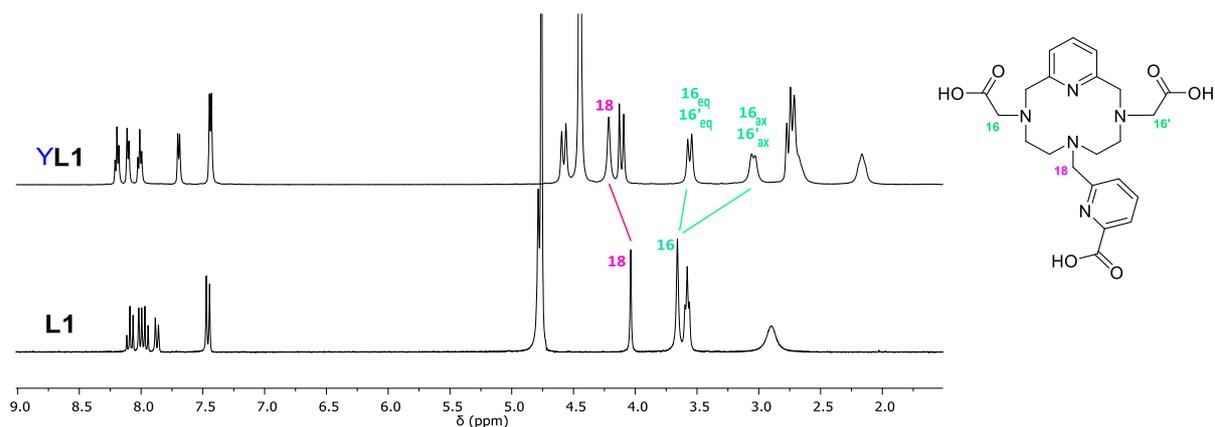


Figure 62 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  du ligand **L1** (298 K,  $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz) et de son complexe d'yttrium(III) (328 K,  $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).

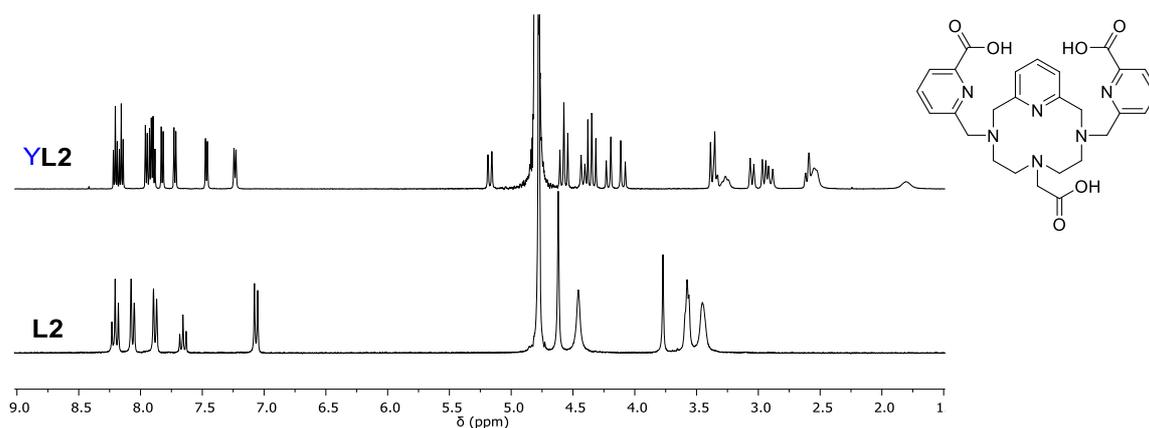


Figure 63 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  du ligand **L2** et de son complexe d'yttrium(III) (298 K,  $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).

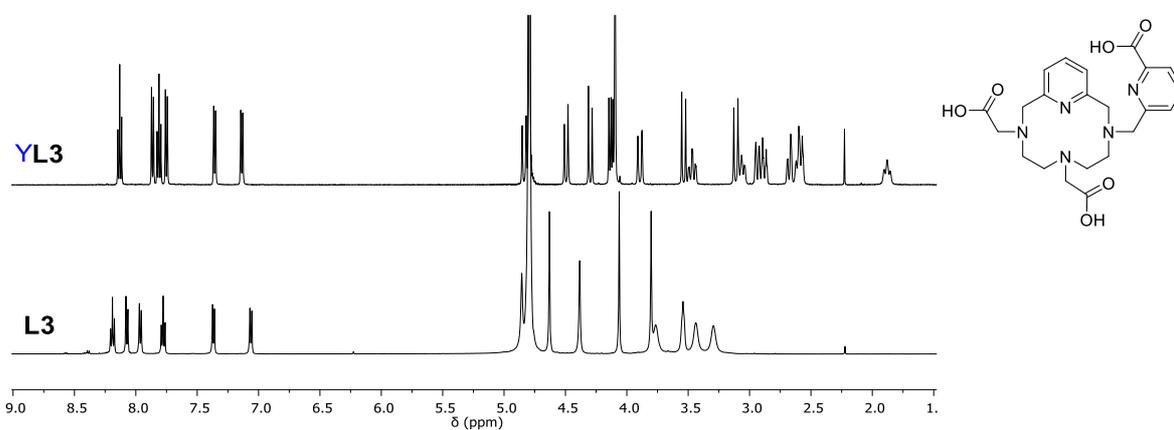


Figure 64 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  du ligand **L3** et de son complexe d'yttrium(III) (298 K,  $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).

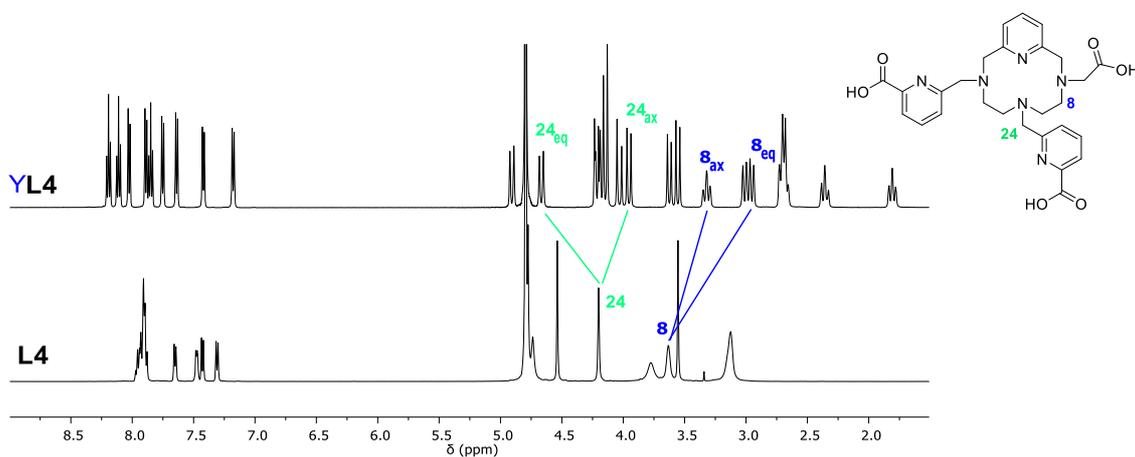


Figure 65 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  du ligand **L4** et de son complexe d'yttrium(III) (298 K,  $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).

L'ensemble des spectres a été enregistré à 298 K excepté le spectre du complexe **YL1** pour lequel des signaux larges sont observés à cette température. Le chauffage de 298 K à 328 K permet d'obtenir des signaux fins et résolus (Figure 66). La largeur des signaux à 298 K est synonyme d'un processus d'échange entre les conformères. Suite à la complexation, les protons portés par le carbone **18** conduisent à un seul signal (Figure 62). Les protons **16<sub>eq</sub>** et **16'<sub>eq</sub>** sont équivalents, tout comme les protons en position axiale **16<sub>ax</sub>** et **16'<sub>ax</sub>**. Ainsi, le chauffage à 328 K tend vers la formation d'une seule espèce possédant un plan de symétrie, passant à travers la pyridine du pyclen.

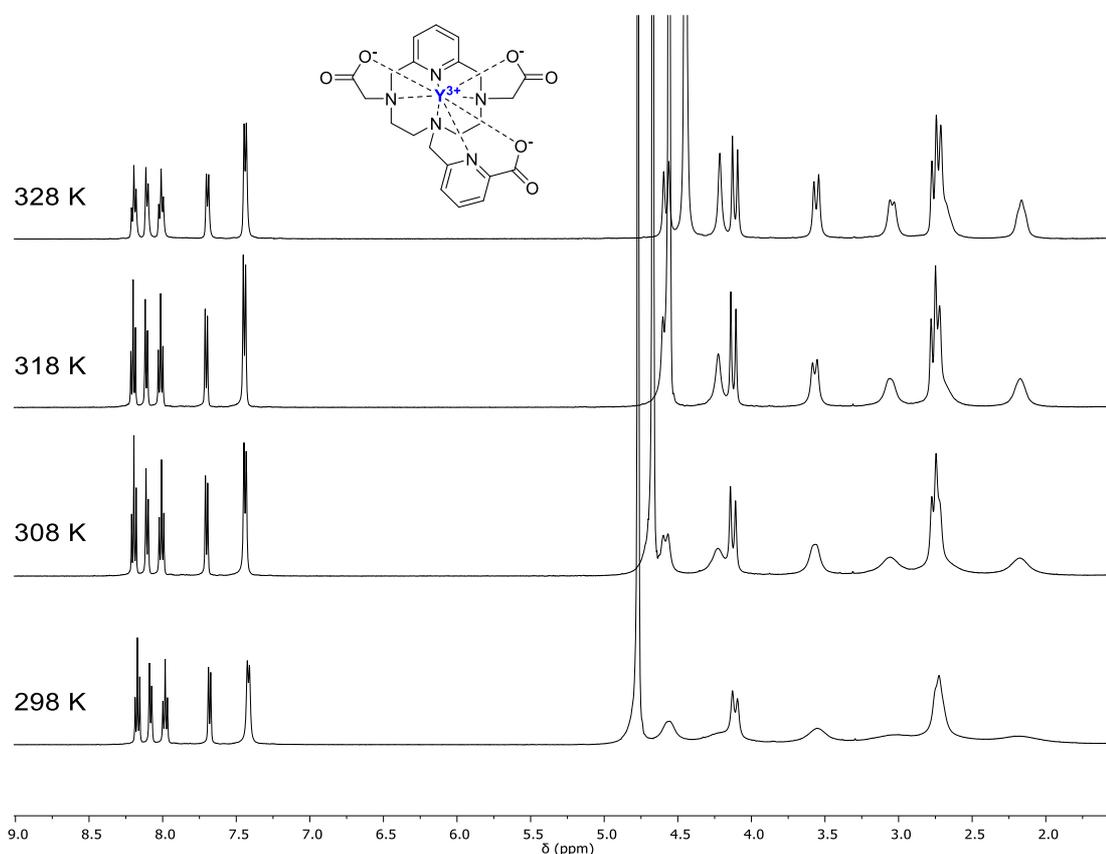


Figure 66 : Spectres RMN  $^1\text{H}$  du complexe **YL1** de 298 K à 328 K ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).

Malgré l'existence possible d'isomères hélicoïdaux, une seule espèce est présente en solution pour les complexes **YL2**, **YL3** et **YL4** à 298 K. Seul le complexe **YL1** fait preuve d'un comportement dynamique en solution résultant d'une interconversion entre ses isomères.

### III. Etudes cinétiques

#### 1. Cinétique de complexation

Grâce aux transitions  $\pi\text{-}\pi^*$  des pyridines, la cinétique de formation des quatre complexes a été suivie par spectroscopie UV-visible dans des conditions identiques au complexe **YPCTMB** (Chapitre II.2), en milieu acétate aux pH 3,8 et 5,5. Les spectres d'absorption des ligands et des complexes, enregistrés dans ces conditions, sont répertoriés en annexe 11.

La variation de l'intensité de l'absorbance a été suivie dans la région UV, soit au maximum d'absorption du ligand, soit à celui du complexe avec  $C_L = C_M = 4.10^{-5}$  M pour les ligands **L2** et **L4**,  $8.10^{-5}$  M pour le ligand **L1** et  $5.10^{-5}$  M pour le ligand **L3** (Figure 67).

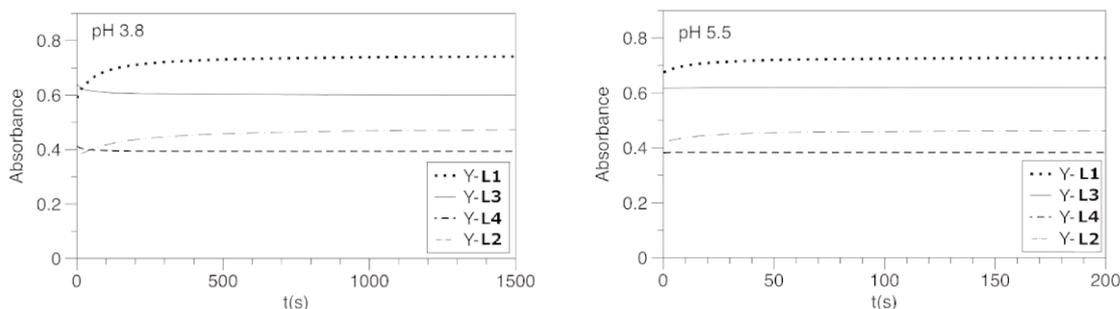


Figure 67 : Variation de l'intensité d'absorbance en milieu acétate pH 3,8 et 5,5.

A pH 5,5, la complexation est complète en moins de 3 minutes pour les ligands monopicolinate **L1** et **L3** et presque instantanée pour les ligands dipicolinate **L2** et **L4** (Tableau 20). A pH 3,8, une tendance identique est observée avec une complexation totale en seulement 8 minutes pour les ligands **L2** et **L4** contre 15 et 20 minutes pour les ligands **L1** et **L3** respectivement. Les quatre complexes d'yttrium(III) sont formés très rapidement aux deux pH étudiés. Ce comportement est comparable aux complexes formés avec  $H_3DTPA$  et  $H_3PCTA$ <sup>14</sup> et est très satisfaisant par rapport à la complexation plus longue de l'yttrium(III) par le  $H_4DOTA$ .<sup>39,123,124</sup> Il est à noter une complexation plus rapide pour les ligands **L2** et **L4**, N-fonctionnalisés par deux groupements picolinate.

pH	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	<b>PCTMB</b>
3,8	15 min	8 min	20 min	8 min	167 min
5,5	3 min	< 1 min	3 min	< 1 min	13 min

Tableau 20 : Temps nécessaires pour la complexation quantitative de l'ion  $Y^{3+}$  par les ligands **L1**, **L2**, **L3** et **L4**.

Les quatre ligands complexent l'ion  $Y^{3+}$  très rapidement à pH 5,5. Ils semblent donc adaptés pour la complexation d'yttrium 90.

## 2. Inertie cinétique

Comme précédemment, l'inertie cinétique est évaluée en suivant la dissociation du complexe en milieu acide concentré. La décomplexation a été étudiée par spectroscopie UV-Visible, en milieu HCl 0,5, 1, 2, 4 et 5 M. Les spectres d'absorption sont présentés en annexes 12 - 15. Les temps de demi-vie  $t_{1/2}$  ont été mesurés en se plaçant, soit au maximum d'absorption du complexe, soit à celui du ligand.

Les complexes symétriques **YL1** et **YL2** présentent des temps  $t_{1/2}$  semblables à ceux

des complexes **YPCTMB** et **YPCTA** (Tableau 21). L'inertie cinétique des complexes non symétriques **YL3** et **YL4**, est très largement supérieure à celle des dérivés du pyclyen **YPCTMB** et **YPCTA**. Le complexe **YL4** présente un temps de demi-vie remarquable de 698 heures en milieu HCl 1M contre 12,8 h pour le DOTA en milieu HCl 0,1M.<sup>33</sup> Cette excellente inertie cinétique s'expliquerait par une forte affinité métal/ligand et une inaccessibilité des amines du macrocycle aux protons, ralentissant la dissociation. Il est à noter la variation de l'inertie cinétique selon la fonctionnalisation du ligand. En milieu HCl 1M, le temps  $t_{1/2}$  des complexes symétriques **YL1** et **YL2** sont respectivement de 27 et 140 minutes, alors qu'ils sont de 357 minutes et 698 heures pour les complexes non-symétriques **YL3** et **YL4**. Le passage d'un à deux groupements picolinate a également une conséquence importante sur l'inertie cinétique des complexes grâce à un nombre d'atomes coordinants supérieur (NC : 8 → 9).

	$t_{1/2}$ (minutes)						
	<b>YL1</b> <sup>a</sup>	<b>YL2</b> <sup>a</sup>	<b>YL3</b> <sup>b</sup>	<b>YL4</b> <sup>a</sup>	<b>YPCTMB</b> <sup>c</sup>	<b>YPCTA</b>	<b>YDOTA</b> <sup>(33)</sup>
NC	8	9	8	9	7	7	8
Organisation	sym	sym	disym	disym	-	-	-
HCl 0,1 M	-	-	-	-	92 min <sup>d</sup>	199 min <sup>e</sup>	12,8 h <sup>f</sup>
HCl 0,5M	55	347	16,9 h	-	37	95	-
HCl 1M	27	140	357	698 h	20	39	77 min <sup>g</sup>
HCl 2M	11	51	137	46 h	9	17	-
HCl 4M	2,8	13	87	907	3,2	6,7	-
HCl 5M	0,8	8,5	68	433	2,6	3,1	-

<sup>a</sup> Dissociation en milieu HCl avec  $C_{YL} = 4.10^{-5}$  M, <sup>b</sup> Dissociation en milieu HCl avec  $C_{YL} = 1.10^{-5}$  M, <sup>c</sup> cf. Chapitre II.2, <sup>d</sup> Calculé à partir de  $k_{obs} = 1,25.10^{-4} s^{-1}$  pour  $[H^+] = 0,1$  M (Cf. chapitre II.2), <sup>e</sup> calculé à partir de  $k_{obs} = 5,8.10^{-4} s^{-1}$  pour  $[H^+] = 0,1$  M (Cf. chapitre II.2), <sup>f</sup> Calculé à partir de  $k_{obs} = 15.10^{-6} s^{-1}$  pour  $[H^+] = 0,1$  M, <sup>g</sup> Calculé à partir de  $k_{obs} = 15.10^{-5} s^{-1}$  pour  $[H^+] = 1$  M.

Tableau 21 : Temps de demi-vie ( $t_{1/2}$ ) des complexes **YL1**, **YL2**, **YL3** et **YL4** et de complexes de la littérature.

Les complexes non symétriques **YL3** et **YL4** témoignent d'une inertie cinétique élevée, dépassant, dans le cas du complexe **YL4**, l'inertie du produit de référence **YDOTA**. Ainsi, ces chélates semblent adaptés à une utilisation in vivo.

## IV. Etude de stabilité thermodynamique

### 1. Constantes de protonation

Les constantes de protonation des quatre ligands ont été mesurées par titrage potentiométrique (Tableau 22). Nous avons réalisé ces études dans notre laboratoire avec une force ionique  $I = 0,1$  M  $KNO_3$ . Elles ont été reproduites au sein du laboratoire du Pr. Gyula Tircsó dans les conditions  $I = 0,15$  M  $NaCl$  dans le cadre d'une collaboration. Quatre à cinq

constantes de protonation ont été mesurées. Exceptée la première constante de protonation qui est toujours impactée par le sel de fond utilisé, l'ensemble des constantes déterminées dans les deux laboratoires sont similaires. La numérotation des atomes d'azote du pyclen est rappelée en Figure 68.

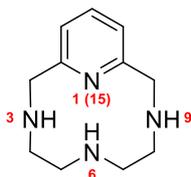


Figure 68 : Numérotation des atomes d'azote du pyclean.

	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	PCTMB	PCTA <sup>14</sup>	DOTA <sup>30</sup>
<i>I</i>	0,1 M KNO <sub>3</sub> (0,15 M NaCl)	0,1 M KNO <sub>3</sub>	1,0 M KCl	0,1 M Me <sub>4</sub> NNO <sub>3</sub>			
Equilibre	<b>log K<sub>n</sub></b>						
L + H ⇌ HL	10,43(1) (9,69(2))	11,30(2) (11,22(1))	11,30(1) (10,43(1))	10,50(2) (9,90(1))	11,16	11,36(1)	12,09(1)
HL + H ⇌ H <sub>2</sub> L	7,38(1) (7,63(2))	5,58(3) (5,96(3))	6,46(1) (6,47(1))	6,73(3) (6,81(1))	5,28	7,35(1)	9,68(2)
H <sub>2</sub> L + H ⇌ H <sub>3</sub> L	3,95(2) (4,02(3))	4,23(2) (4,42(3))	4,27(1) (4,13(2))	3,86(3) (3,96(1))	1,73	3,83(1)	4,55(3)
H <sub>3</sub> L + H ⇌ H <sub>4</sub> L	2,15(2) (2,35(3))	3,01(2) (3,17(3))	2,90(1) (2,71(2))	2,98(2) (3,12(1))	-	2,12(1)	4,13(3)
H <sub>4</sub> L + H ⇌ H <sub>5</sub> L	-	- (1,89(3))	- (1,39(2))	- (1,70(1))	-	1,29(1)	-
	<b>Σ log K<sub>i</sub></b>						
	23,90 (23,69)	24,12 (26,66)	24,92 (25,13)	24,06 (23,44)	18,17	25,95	30,45

Tableau 22 : Constantes de protonation des ligands **L1**, **L2**, **L3** et **L4** mesurées avec *I* = 0,1 M KNO<sub>3</sub> ou 0,15 M NaCl, et comparaison à des ligands de la littérature.

Les quatre ligands suivent le mécanisme de protonation du ligand PCTA décrit dans le chapitre bibliographique. Les ligands **L1** et **L4**, substitués par un groupement picolinate en position **6**, ont une première constante de protonation plus faible ( $\log K_{1, L1} = 9,69$ ,  $\log K_{1, L4} = 9,90$ ) que les ligands **L2**, **L3** et PCTA qui portent un groupement acétate ( $\log K_{1, L2} = 11,22$ ,  $\log K_{1, L3} = 10,43$ ,  $\log K_{1, PCTA} = 10,90$ ), ce qui est souvent observé lorsque l'on remplace un groupement acétate par un picolinate.<sup>19</sup> La deuxième protonation implique un réarrangement, les deux fonctions amine **3** et **9** deviennent protonées. Le ligand **L1**, fonctionnalisé par deux groupements acétate a une constante proche de celle du ligand PCTA ( $\log K_{2, L1} = 7,63$ ,  $\log K_{2, PCTA} = 7,11$ ) et supérieure à celle du ligand **L2** qui porte deux groupements picolinate ( $\log K_{2, L2} = 5,96$ ). Les ligands **L3** et **L4**, fonctionnalisés par un groupement acétate et un groupement picolinate en positions **3** et **9**, présentent une constante de valeur intermédiaire

( $\log K_{2,L3} = 6,47$ ,  $\log K_{2,L4} = 6,81$ ). Les groupements acétate, plus basiques que les groupements picolinate, stabilisent de façon plus importante le proton présent dans la cavité macrocyclique. Les constantes  $\log K_3$ ,  $\log K_4$  et  $\log K_5$  correspondent à la protonation des acides carboxyliques. Les dérivés du pycnol ont une basicité globale ( $\sum \log K_i$ ) plus faible que celle du ligand DOTA pour lequel les deux fonctions amine du macrocyclique sont très basiques.

Les diagrammes de spéciation des ligands ont été tracés à partir des constantes de protonation déterminées en milieu  $I = 0,15 \text{ M NaCl}$  (Figure 69). Pour les quatre ligands, les espèces  $LH_3$  et  $LH_2$  coexistent sur la gamme de pH 3,5-5,5, couramment utilisée pour le radiomarquage.

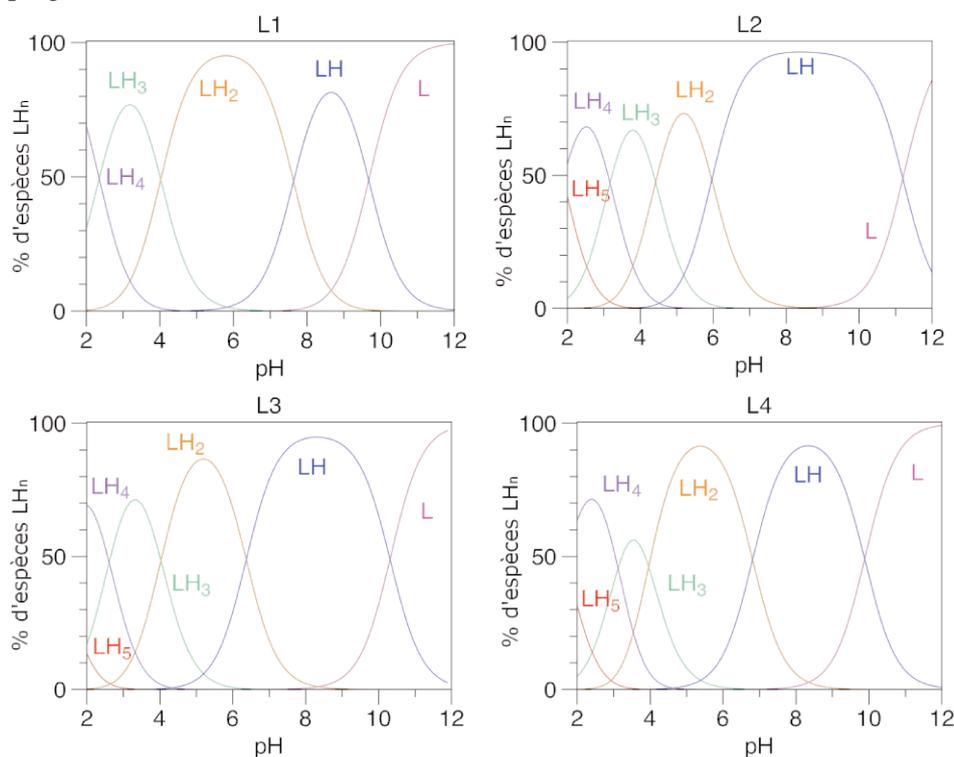


Figure 69 : Diagrammes de spéciation des quatre ligands de pH 2 à 12. Pour des raisons de clarté, les charges ne sont pas indiquées.

## 2. Constantes de stabilité thermodynamique

Les constantes de stabilité thermodynamique des quatre complexes ont été mesurées par relaxométrie au sein du laboratoire du Pr. Gyula Tircsó par compétition avec l'ion  $Gd^{3+}$  (Tableau 23). Pour confirmation, ces constantes sont en cours de mesure dans notre laboratoire par potentiométrie.

Seule la constante  $\log K_{YL}$  a pu être mesurée. Les conditions sont détaillées dans la partie expérimentale. Les  $\log K_{YL}$  des complexes d'yttrium(III) des ligands **L1**, **L2**, **L3** et **L4** ont respectivement pour valeurs : 19,89, 23,36, 22,44 et 23,07. Les constantes des ligands **L2**, **L3**

et **L4** sont supérieures à celle du PCTA ( $\log K_{YL} = 20,28$ ) et légèrement inférieures à celle du DOTA ( $\log K_{YL} = 24,9$ ). Cependant, si l'on tient compte de leur différence de basicité, le calcul des constantes pM démontre une stabilité thermodynamique excellente pour les quatre complexes d'yttrium avec des valeurs de 18,14 (**L1**), 20,49 (**L2**), 20,33 (**L3**) et 21,45 (**L4**). La stabilité thermodynamique des trois derniers complexes est non seulement supérieure à celle des dérivés du pyclyen YPCTA (pM = 17,0) et YPCTMB (pM = 16,7) mais aussi très largement supérieure à celle du chélate de référence YDOTA<sup>-</sup> (pM = 18,9). Ainsi, la stabilité thermodynamique (pM) des complexes **YL2**, **YL3** et **YL4** est supérieure à celle du complexe YDOTA<sup>-</sup> de 1,6 à 2,6 unités de log.

Le nombre d'atomes coordinants et leur arrangement a un impact considérable sur la stabilité des complexes. En effet, les complexes non symétriques présentent une meilleure stabilité thermodynamique que les analogues symétriques (pM<sub>L1</sub> = 18,14 → pM<sub>L3</sub> : 20,33 et pM<sub>L2</sub> : 20,49 → pM<sub>L4</sub> : 21,45). A denticité égale, la constante pM<sub>L3</sub> est supérieure à celle du DOTA. Les valeurs des pM<sub>L2</sub> et pM<sub>L4</sub>, également supérieures au pM<sub>DOTA</sub>, s'expliquent par la présence d'un atome coordinant en plus.

Equilibre <sup>a</sup>	<b>L1</b> <sup>b</sup>	<b>L2</b> <sup>b</sup>	<b>L3</b> <sup>b</sup>	<b>L4</b> <sup>b</sup>	PCTMB <sup>c</sup>	PCTA <sup>14, d</sup>	DOTA <sup>31, e</sup>
<b>log K<sub>MH<sub>n</sub>L</sub></b>							
M + L ⇌ ML	19,89(1)	23,36(2)	22,44(2)	23,07(2)	19,49 (5)	20,28	24,9
<b>pY <sup>f</sup></b>							
	18,14	20,49	20,33	21,45	16,7	17,0	18,9

<sup>a</sup> Les charges des différentes espèces ont été omises pour des raisons de clarté, <sup>b</sup> I = 0,15 M NaCl, <sup>c</sup> Chapitre II.2, I = 0,1 M KNO<sub>3</sub>, <sup>d</sup> I = 1,0 M KCl, <sup>e</sup> I = 0,1 M Me<sub>4</sub>NNO<sub>3</sub>, <sup>f</sup> pY = -log[Y<sup>3+</sup>], constantes calculées pour [L] = 10 x [Y<sup>3+</sup>] = 10<sup>-5</sup> M à partir des constantes de protonation et des log K<sub>ML</sub>.

Tableau 23 : Constantes de stabilité thermodynamique et constantes pM des complexes d'yttrium étudiés, en comparaison aux données de la littérature.

L'ensemble des ligands possèdent d'excellentes propriétés d'inertie et de stabilité. Il faut souligner que le ligand **L4**, pyclyen N-fonctionnalisé par deux groupements picolinate et un groupement acétate de façon non-symétrique, présente une inertie cinétique et une stabilité thermodynamique très élevées, supérieures aux propriétés du YDOTA<sup>-</sup> et adaptées à une utilisation in vivo.

## V. Relation structure-propriétés

Les études d'inertie cinétique et de stabilité thermodynamique nous ont permis de mettre

en évidence l'impact de la N-fonctionnalisation des groupements coordinants sur les propriétés d'un chélate. En l'absence de structure RX des complexes **YL1** et **YL3**, des calculs DFT ont été réalisés pour comprendre les différences de stabilité et d'inertie observées entre ces deux chélates. Ces calculs DFT ont été réalisés par l'équipe du Pr. Carlos Platas-Iglesias.

La sphère de coordination des complexes **YL1**(H<sub>2</sub>O).2H<sub>2</sub>O (Figure 70) et **YL3**(H<sub>2</sub>O).2H<sub>2</sub>O (Figure 71) est composée de 9 atomes coordinants dont une molécule d'eau coordonnée au centre métallique. Les deux complexes adoptent une géométrie prismatique trigonale tricappée identique à celle observée à l'état solide pour les complexes **YL2** et **YL4**. Pour le complexe **YL1**, les positions apicales sont occupées par un atome d'azote du groupement picolinate (N5), un atome d'azote d'une fonction amine du macrocycle (N4) et par un atome d'oxygène d'un groupement carboxylate (O2) (Figure 70). Dans le cas du complexe **YL3**, ces positions apicales sont occupées par deux atomes d'azote de fonctions amine du macrocycle (N2 et N4) et par l'atome d'oxygène de la molécule d'eau coordonnée (O1) (Figure 71).

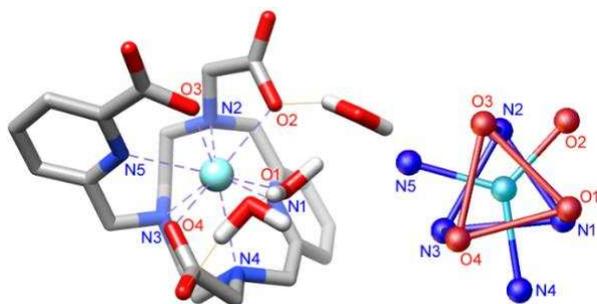


Figure 70 : Structure optimisée du complexe **YL1**(H<sub>2</sub>O).2H<sub>2</sub>O obtenue par calculs DFT.

Longueur de liaisons (Å): Y-N1 2,572, Y-N2 2,614, Y-N3 2,709, Y-N4 2,652, Y-N5 2,530, Y-O1 2,379, Y-O2 2,401, Y-O3 2,313 et Y-O4 2,320.

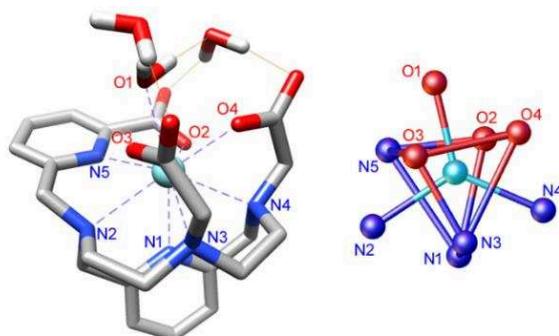


Figure 71 : Structure optimisée du complexe **YL3**(H<sub>2</sub>O).2H<sub>2</sub>O obtenue par calculs DFT.

Longueur de liaisons (Å): Y-N1 2,602, Y-N2 2,665, Y-N3 2,594, Y-N4 2,593, Y-N5 2,465, Y-O1 2,490, Y-O2 2,295, Y-O3 2,280 et Y-O4 2,327.

Par ailleurs, la longueur de liaison entre l'yttrium(III) et la molécule d'eau Y-O1 est supérieure pour le complexe **YL3** (2,49 Å) par rapport à **YL1** (2,38 Å). Dans le complexe **YL3**, les trois longueurs de liaison Y-O (carboxylate) sont similaires et comprises entre 2,28 et

2,33 Å, contrairement au complexe **YL1** où seules deux des trois liaisons Y-O (carboxylate) sont proches avec pour valeurs 2,31-2,32 Å, la troisième ayant pour valeur 2,40 Å (Y-O2). Les distances Y-O2 (**YL1**) et Y-O1 (**YL3**), plus longues correspondent aux atomes présents en position apicale.

Comme discuté au cours du chapitre bibliographique, la position d'une molécule d'eau au sein de la sphère de coordination peut impacter les propriétés d'un complexe. Nous avons notamment vu, dans le cas de chélate de gadolinium(III), qu'une molécule d'eau, présente en position apicale s'échangeait rapidement en raison de sa labilité, induite par une liaison plus faible. Ces observations peuvent être étendues à d'autres atomes coordinants. Dans le cas du complexe **YL1**, la labilité du groupement acétate en position apicale explique les valeurs de stabilité et d'inertie plus faibles que celles déterminées pour le complexe **YL3**, pour lequel la position apicale est occupée par la molécule d'eau (Tableau 21, Tableau 23). Effectivement, la labilité du groupement carboxylate rend sa protonation plus aisée et facilite ainsi la dissociation du complexe par protonation du macrocycle. Cette labilité justifie également les processus dynamiques observés en RMN  $^1\text{H}$  (Figure 66) : la liaison étant faible, le passage d'un isomère de conformation à un autre est facilité.

En l'absence de structure RX, ces calculs DFT nous ont permis de comprendre les propriétés d'un chélate grâce à sa structure. Les plus faibles valeurs de stabilité et d'inertie du complexe **YL1** par rapport au complexe **YL3**, s'expliquent par la labilité d'un des groupements carboxylate présent en position apicale. Ce constat ne peut être appliqué aux complexes **YL2** et **YL4** puisqu'aucune longueur de liaison en position apicale ne semble se démarquée. Néanmoins, leurs différences de propriétés peuvent s'expliquer par une meilleure protection du cation métallique par le ligand dans le cas du complexe **L4**, rendant les fonctions amine du macrocycle plus difficilement protonables lors des études d'inertie.

## VI. Radiomarquage et solubilité dans le Lipiodol

### 1. Synthèse des radiochélates $^{90}\text{Y}$ L

Les conditions optimales de radiomarquage ont été déterminées en faisant varier le temps de réaction, la température, la concentration en ligand et le pH (Figure 72). L'influence du temps de réaction a été évaluée pour  $C_L = 10^{-3}$  M à pH 5,2 à 80°C (Figure 72.A). En seulement cinq minutes, les ligands **L2**, **L3** et **L4** ont été radiomarqués avec des PRC respectives de 94, 97 et 98%. Le ligand **L1** est radiomarqué avec une PRC de seulement 63% et aucune

amélioration n'est constatée avec l'augmentation du temps de réaction. D'après les graphiques suivants (Figure 72.B-D), les radiochélates  $^{90}\text{YL2}$ ,  $^{90}\text{YL3}$ , et  $^{90}\text{YL4}$  peuvent être synthétisés à un pH compris entre 3 et 9, à une concentration allant de 1 à 0,1 mM, à 60°C pendant 15 minutes. Il apparaît clairement que le ligand **L1** se démarque des autres ligands avec l'obtention de PRC nettement inférieures. Seul le chauffage à 100°C pendant 15 minutes a permis l'obtention du radiochélate  $^{90}\text{YL1}$  avec une PRC de 85%.

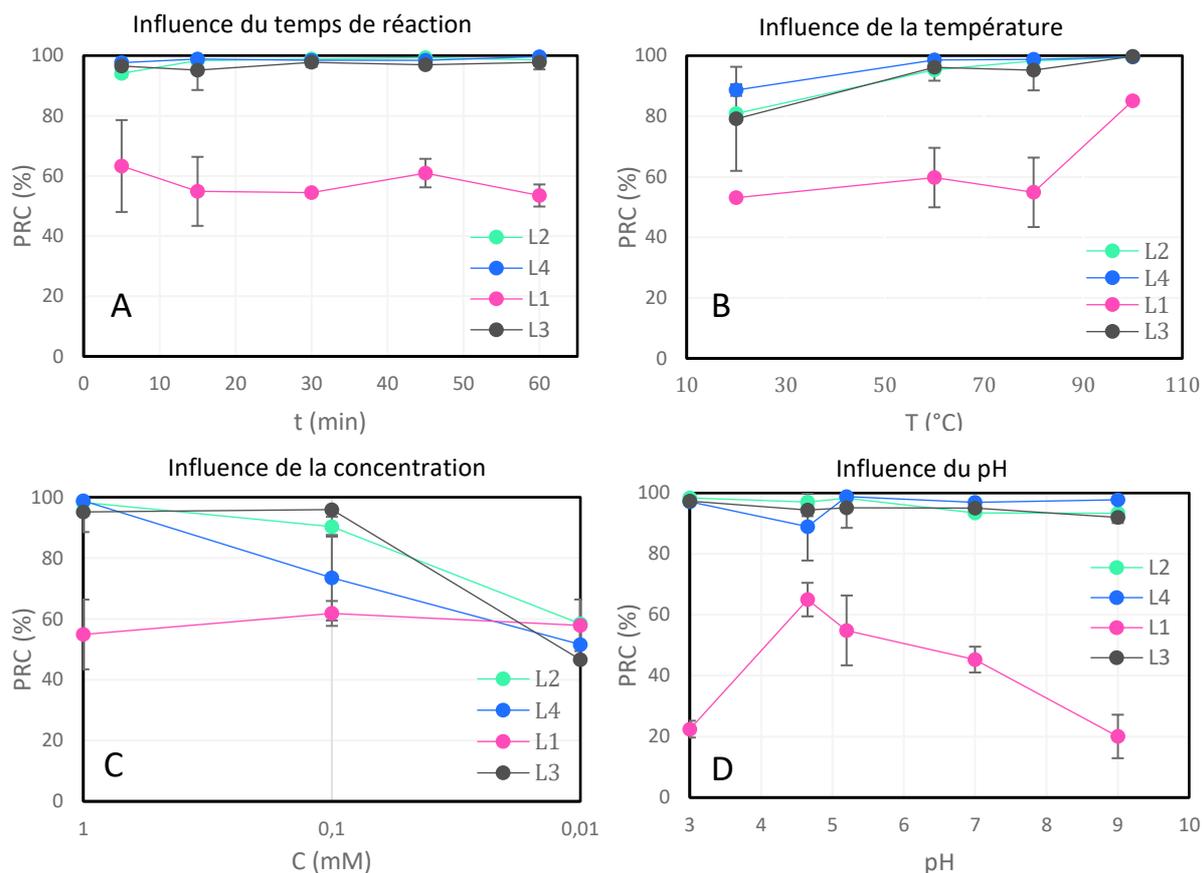


Figure 72 : (A) Cinétique de radiomarquage à 80°C, (B) Variation de température pour t = 15 min, (C) Variation de la concentration en ligand pour t = 15 min à 80°C, (D) Variation du pH pour t = 15 min à 80°C.

Pour les mesures de stabilité, les radiocomplexes ont été synthétisés avec  $C_L = 1$  mM, à pH 5,2 à 80°C pendant 15 minutes. L'inertie cinétique des quatre radiocomplexes  $^{90}\text{YL}$  a été étudiée dans trois milieux : en sérum physiologique 0,9% NaCl, en sérum humain et en présence d'un excès d'EDTA (100 eq) (Figure 73). Les radiochélates  $^{90}\text{YL2}$ ,  $^{90}\text{YL3}$  et  $^{90}\text{YL4}$  sont très stables dans les trois milieux avec une PRC constante sur 72h, de l'ordre de 97%. Au contraire, le radiochélate  $^{90}\text{YL1}$  démontre une plus faible stabilité avec une importante chute de la PRC en sérum physiologique et en présence d'EDTA en une heure. En sérum humain, sa PRC décroît de 20% en 72h. Les trois radiochélates  $^{90}\text{YL2}$ ,  $^{90}\text{YL3}$  et  $^{90}\text{YL4}$  présentent une stabilité en sérum humain non seulement supérieure au  $^{90}\text{YPCTMB}$  (Chap. II.2) mais aussi supérieure à celle du  $^{90}\text{YDOTA}^-$  pour lequel une dissociation inférieure à 10% après 24 h a été observée dans les

mêmes conditions.<sup>43</sup>

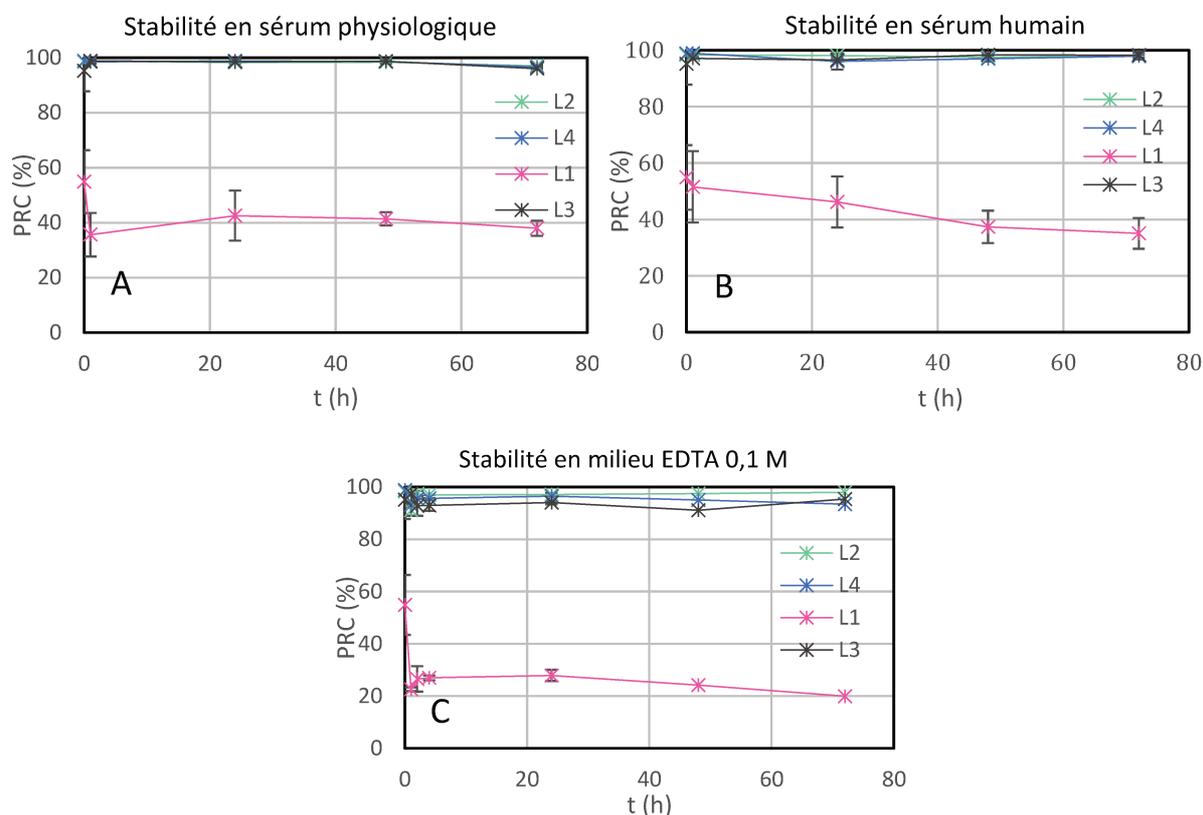


Figure 73 : Stabilité des radiochélates  $^{90}\text{Y}\text{L}$  en milieu A) sérum physiologique 0,9% NaCl, B) sérum humain, C) EDTA (100 eq).

Ces études de radiomarquage et de stabilité en milieu compétiteur confirment les résultats obtenus précédemment. Effectivement, le manque de stabilité du radiochélate  $^{90}\text{Y}\text{L1}$  est en accord avec les études de stabilité thermodynamique et d'inertie cinétique décrites pour  $\text{YL1}$ . Par ailleurs, les trois ligands **L2**, **L3** et **L4** complexent rapidement et efficacement l'yttrium 90. La stabilité de leurs radiochélates prouve que ces ligands peuvent être utilisés pour des applications en radiothérapie.

## 2. Solubilité dans le Lipiodol

La solubilité du radiochélate  $^{90}\text{Y}\text{L4}$  dans le Lipiodol a été testée de la manière suivante : synthèse du radiochélate dans les conditions optimales, ajout de Lipiodol, agitation, centrifugation et séparation des phases. La radioactivité de chaque phase est ensuite mesurée au compteur gamma pour connaître la proportion de radiochélate dans chaque phase. Comme l'on pouvait s'y attendre, toute l'activité se retrouve dans la phase aqueuse ce qui reflète un manque d'affinité du radiocomplexe  $^{90}\text{Y}\text{L4}$  pour le Lipiodol. Un comportement identique est a

priori attendu pour les autres radiochélates. Leur lipophilie doit donc être augmentée pour une application en radiothérapie interne.

## VII. Conclusion

Une nouvelle série de ligands dérivés du cyclen, N-fonctionnalisés par des groupements acétate et picolinate a été développée. Les ligands symétriques **L1** et **L2** ont été synthétisés selon des schémas adaptés de la littérature basés sur la cyclisation du cyclen. Pour les ligands non symétriques, une voie de protection du macrocycle cyclen a dû être pensée pour permettre sa N-fonctionnalisation régiosélective. Après optimisation, la protection par l'oxalate de diéthyle s'est avérée être une méthode efficace permettant la synthèse des ligands **L3** et **L4**. Suite à l'obtention des quatre ligands, leurs complexes d'yttrium(III) **YL** ont été synthétisés et caractérisés à l'état solide et en solution. Les études cinétiques menées sur les quatre ligands ont démontré une formation très rapide des complexes d'yttrium, caractéristique des dérivés du cyclen. L'inertie cinétique des complexes **YL2**, **YL3** et **YL4** est supérieure à celle de **YPCTMB** et **YPCTA**. Le complexe **YL4** se démarque avec une inertie cinétique du même ordre de grandeur que celle du **YDOTA<sup>-</sup>**. La stabilité thermodynamique des quatre complexes est élevée et supérieure à celles des complexes **YPCTA** et **YPCTMB** mais surtout très largement supérieure à celle du chélate de référence **YDOTA<sup>-</sup>** pour les complexes **YL2**, **YL3** et **YL4**.

Les ligands **L2**, **L3** et **L4** ont été radiomarqués efficacement à l'yttrium 90. D'autre part, ces trois radiochélates sont stables à la fois en sérum humain et en milieu compétiteur EDTA où aucune dissociation des radiochélates n'a été observée pendant 72h. Seul le ligand **L1** a présenté des résultats décevants de radiomarquage et de stabilité. Cependant, ces résultats sont en accord non seulement avec les mesures d'inertie et de stabilité réalisées mais aussi avec les calculs DFT qui ont mis en évidence l'importance de l'organisation des atomes coordinants au sein de la sphère de coordination de l'ion métallique et notamment la labilité du groupement acétate en position apicale pour le complexe **YL1**. Enfin, la solubilité du radiochélate <sup>90</sup>**YL4**, présentant les meilleures propriétés, a été testée dans le Lipiodol. Cependant, son insolubilité ne permet pas son utilisation en radiothérapie du cancer du foie. Les propriétés de cette famille de ligands, et plus particulièrement celles du ligand **L4**, étant remarquables, l'objectif suivant est de synthétiser des analogues lipophiles.

# 4 Vers des ligands plus lipophiles

## I. Introduction

Comme démontré précédemment, le ligand **L4** et son complexe d'yttrium(III) présentent les meilleures propriétés de stabilité thermodynamique et d'inertie cinétique. Afin de favoriser la solubilité du complexe **YL4** dans le Lipiodol, notre objectif a été d'augmenter sa lipophilie en y insérant des chaînes lipophiles, tout en conservant les bonnes propriétés de coordination du ligand **L4**. Pour ce faire, le ligand peut être modifié à divers endroits : au niveau de la pyridine du pycen, des CH<sub>2</sub> des bras acétate ou picolinate, du macrocycle ou encore au niveau des pyridines des groupements picolinate. Notre stratégie a été d'insérer des chaînes lipophiles en position para de la pyridine des groupements picolinate. Plusieurs raisons ont aiguillé notre choix, dont la possibilité d'ajouter deux chaînes grasses au niveau des groupements picolinate et, de conserver le même schéma réactionnel mis au point pour la synthèse des ligands non symétriques.

Dans un premier temps, ce chapitre présentera la synthèse d'un nouveau ligand lipophile **L5**, dérivés du ligand **L4**, fonctionnalisés par deux chaînes en C12 (Figure 74). Les études de radiomarquage à l'yttrium 90, et de solubilité dans le Lipiodol seront ensuite détaillées.

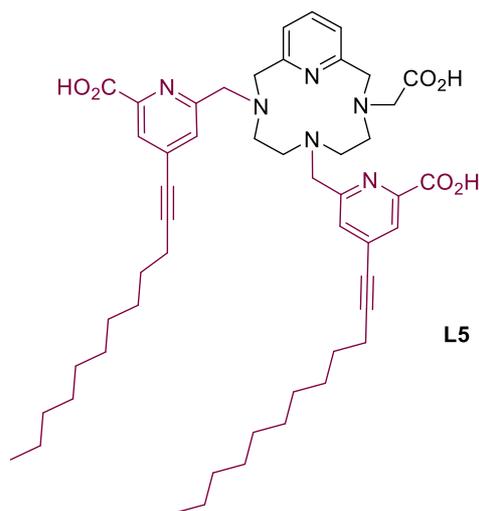


Figure 74 : Ligand lipophile **L5** présenté dans ce chapitre.

## II. Synthèse du ligand L5 et de son complexe d'yttrium(III)

### 1. Synthèse du dérivé lipophile du chlorure de picolinate

La synthèse du composé **37** débute par la bromation en position para de l'azote de la pyridine de l'acide chélidamique par du pentabromure de phosphore  $\text{PBr}_5$ , suivie par l'estérification des groupements acide carboxylique dans le méthanol (Schéma 12). Le composé mono-réduit **35** est obtenu par réduction d'une seule fonction ester en alcool primaire à l'aide du réducteur  $\text{NaBH}_4$ . Un couplage de Sonogashira est ensuite effectué entre ce dérivé **35** et le 1-dodécyne en présence de catalyseur  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ , de  $\text{CuI}$  et de triéthylamine dans le THF. L'alcyne **36** obtenu est mis à réagir avec du tribromure de phosphore  $\text{PBr}_3$  pour conduire à 1,12 g de dérivé bromé **37** avec un rendement global de 22%.

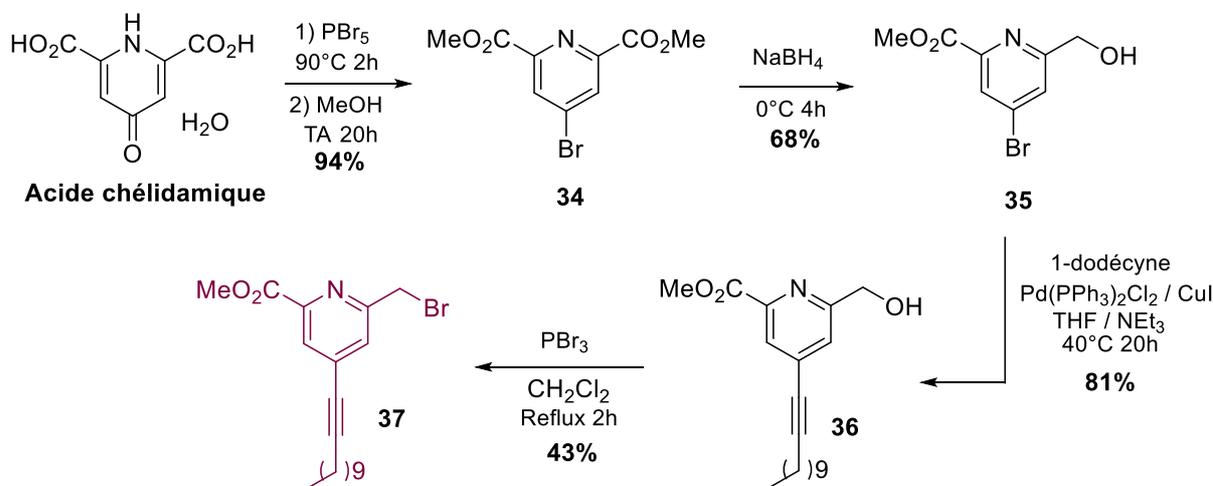


Schéma 12 : Voie de synthèse de l'ester méthylique du chlorure de picolinate C12.

### 2. Synthèse du ligand lipophile L5

La synthèse du ligand **L5** commence par l'alkylation du macrocycle **32** par le dérivé bromé **37** en présence de  $\text{NaI}$  et de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  dans de l'acétonitrile anhydre (Schéma 13). Cette étape d'alkylation nécessite un chauffage au reflux pendant 7 jours. Contrairement à l'alkylation avec l'ester méthylique du chlorure de picolinate non fonctionnalisé, l'alkylation avec l'analogue C12 s'avère plus difficile et conduit à un mélange de produit monoalkylé et dialkylé. L'encombrement des chaînes alkyles peut être la source de cette faible réactivité. A ce stade l'étape de purification est cruciale. La séparation des produits mono- et di-alkylés a d'abord été

testée par chromatographie sur alumine neutre dans un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (de 100 : 0 à 98 : 2). Cette purification s'étant avérée peu efficace, une méthode de précipitation en milieu acétate d'éthyle / hexane a permis la séparation des deux produits de réaction et l'obtention de l'ester **38**. L'étape de saponification a également été délicate, elle s'effectue dans un mélange biphasique  $\text{KOH}$  1M / THF sous forte agitation, pendant 5 h à température ambiante. Nous avons privilégié la saponification en milieu biphasique à l'hydrolyse en milieu acide, d'une part pour des raisons d'insolubilité du produit **38** en solution aqueuse et, d'autre part à cause de la présence de la fonction alcyne sensible aux conditions acide.

Après réaction, le produit est purifié par chromatographie à exclusion de taille (Sephadex® LH20). Cette technique permet d'éluer dans un premier temps les molécules à haut poids moléculaire. Dans notre cas, l'adsorption du produit sur le matériau nous a permis d'éluer d'abord les sels et les impuretés de faible poids moléculaire. Le produit est ensuite récupéré dans un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ . Le ligand **L5** a été obtenu avec un rendement global de 23% à partir du macrocycle **32**.

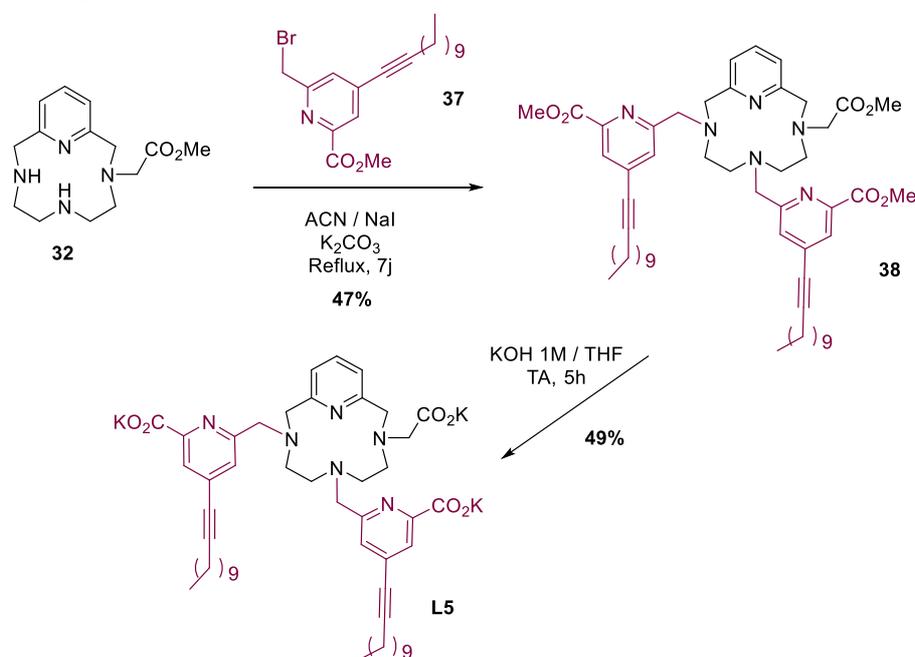


Schéma 13 : Voie de synthèse des ligands lipophiles **L5** et **L6**.

### 3. Synthèse du complexe YL5

Pour des raisons de solubilité, la synthèse du complexe **YL5** a été effectuée dans le méthanol en présence de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  et d'un excès de sel métallique  $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (3,2 eq). Le mélange a été agité pendant deux jours à température ambiante. Après filtration des sels, le complexe **YL5** a été obtenu avec un rendement quantitatif. La caractérisation RMN, détaillée dans la partie suivante, confirme la formation du complexe d'yttrium(III).

### III. Caractérisation par RMN

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  confirment la formation du ligand **L5** avec la présence de 4 carbones quaternaires sp (alcyne) et de 7 protons aromatiques (Figure 75). Contrairement au spectre RMN  $^1\text{H}$  du ligand, où les signaux des protons des  $\text{CH}_2$  macrocycliques sont faibles et mal résolus, le spectre RMN  $^1\text{H}$  du complexe **YL5** présente une meilleure résolution. Le déblindage des protons aromatiques confirme la formation du complexe.

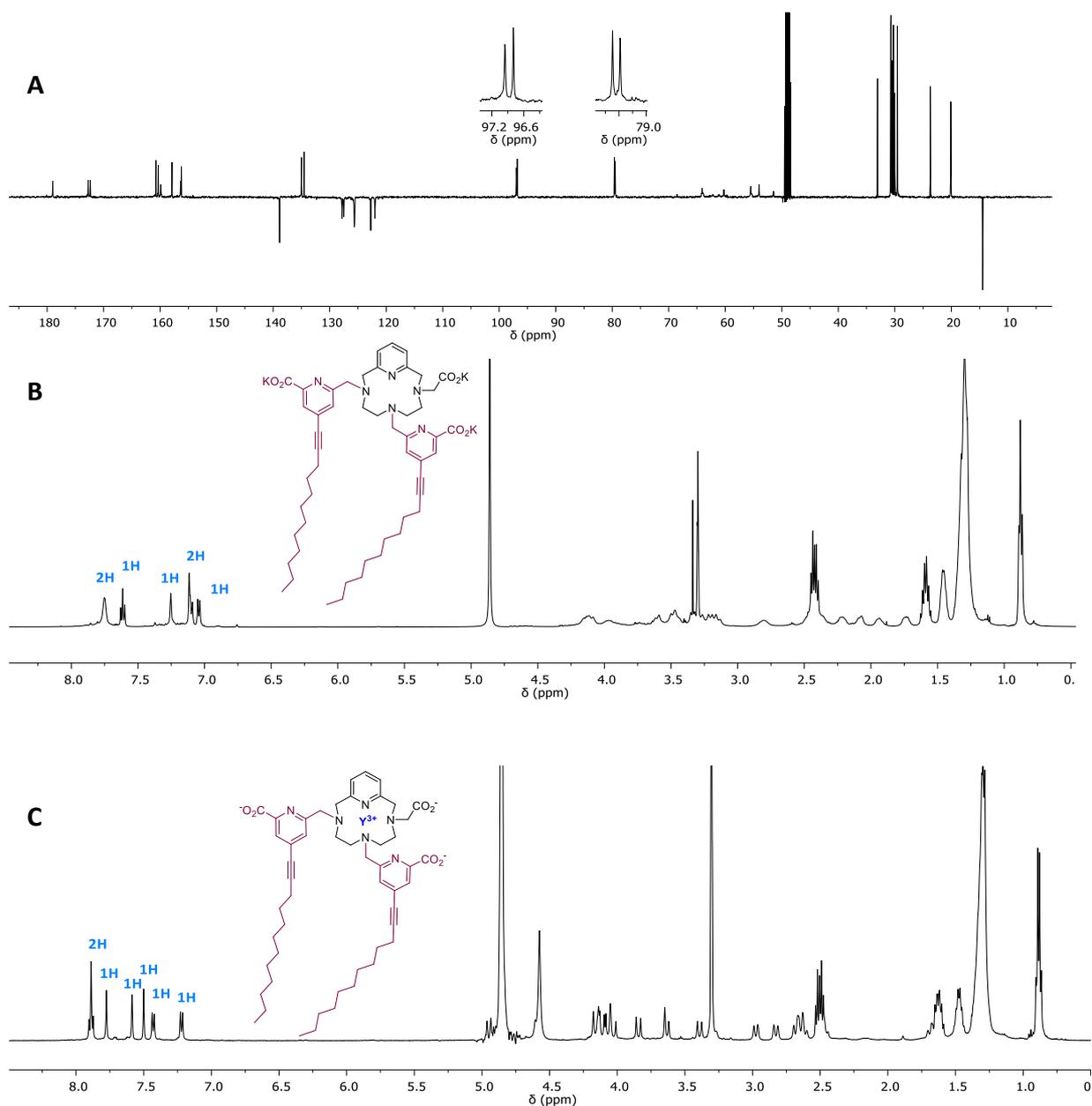


Figure 75 : Spectres RMN  $^{13}\text{C}$  (A) et  $^1\text{H}$  (B) du ligand **L5** et spectre RMN  $^1\text{H}$  du complexe **YL5** (C) enregistrés dans MeOD à 298 K, 125 et 500 MHz.

## IV. Radiomarquage à l'yttrium 90 et solubilité dans le Lipiodol

Ces travaux ont pour objectif de vérifier l'influence des chaînes alkyles sur la solubilité du complexe dans le Lipiodol. Le ligand **L5**, fonctionnalisé par deux chaînes en C12, a donc été étudié pour le radiomarquage à l'yttrium 90.

### 1. Synthèse du radiochélate $^{90}\text{YL5}$

Les conditions optimales de radiomarquage du ligand **L5** à l'yttrium 90 ont pu être déterminées en faisant varier le temps de réaction, la température, la concentration et le pH (Figure 76). Le ligand, très lipophile, est solubilisé dans l'éthanol puis est mis à réagir avec l'yttrium 90 solubilisé en tampon acétate pH 4,65. En seulement cinq minutes de réaction, la PRC atteint 88% à TA et 98% en chauffant à 90°C. Les conditions optimales de radiomarquage sont similaires à celles déterminées pour le radiochélate  $^{90}\text{YL4}$ , soit à pH compris entre 6,5 et 9, à 50°C pendant 15 minutes avec  $C_L = 10^{-3}$  M. Le radiochélate  $^{90}\text{YL5}$  est obtenu avec une pureté radiochimique de 98%.

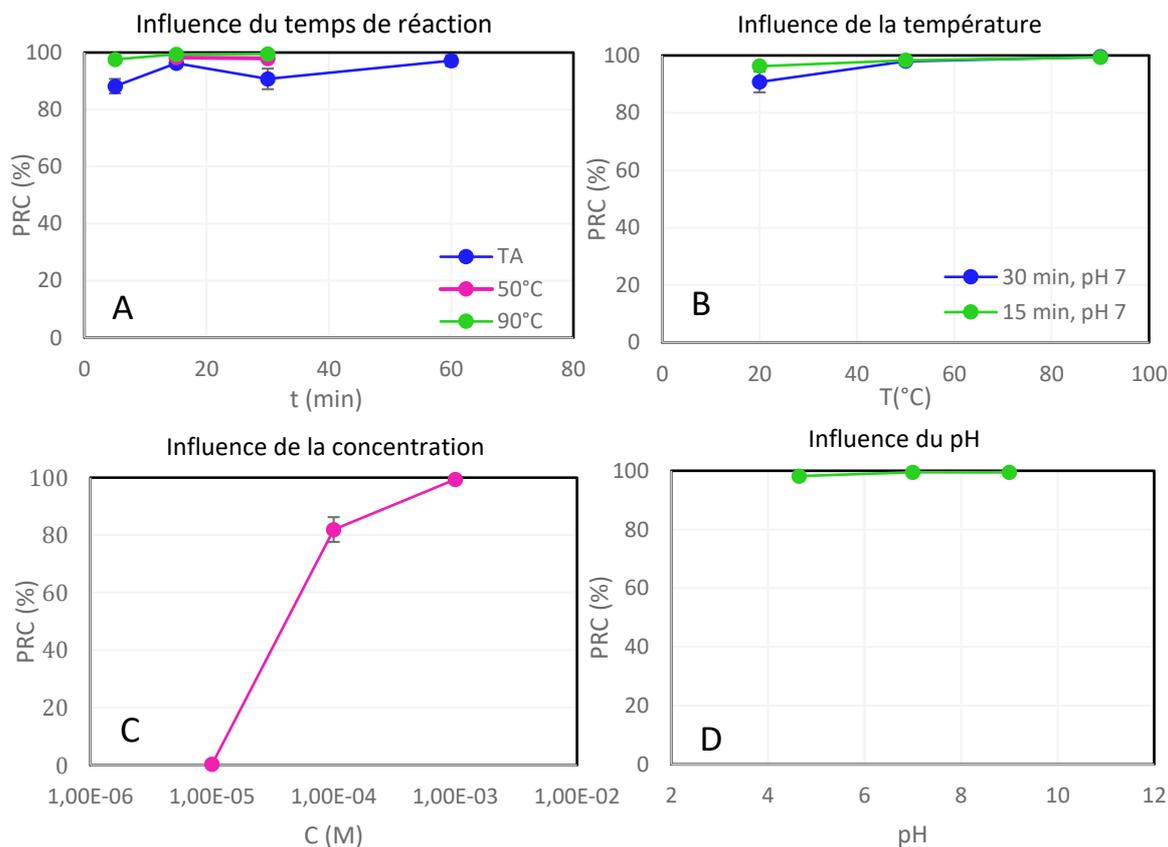


Figure 76 : (A) Cinétique de radiomarquage ( $C_L = 10^{-3}$  M, pH 4,65) (B) Variation de la température ( $C_L = 10^{-3}$  M, pH 7, t = 15 et 30 min), (C) Variation de la concentration en ligand (pH 4,65, t = 30 min, 90°C), (D) Variation du pH ( $C_L = 10^{-3}$  M, t = 30 min, 90°C).

## 2. Solubilité dans le Lipiodol et stabilité en sérum physiologique

Le radiochélate  $^{90}\text{YL5}$  a été synthétisé selon les conditions optimales de radiomarquage déterminées précédemment. Le volume du milieu réactionnel a été complété à 2 mL par du sérum physiologique. Le radiochélate est extrait par 2 mL de Lipiodol à hauteur de  $89,8 \pm 5 \%$ . Cet excellent rendement d'extraction prouve l'efficacité des chaînes alkyles en C12 en comparaison aux rendements d'extraction de 58% pour  $^{90}\text{YPCTMB}$  et 0% pour  $^{90}\text{YL4}$ .

Pour les études de stabilité, le système  $^{90}\text{YL5}$ /Lipiodol est agité vigoureusement en présence de sérum physiologique à 37°C. L'activité de la phase aqueuse est mesurée régulièrement pendant une semaine pour évaluer l'affinité du radiochélate  $^{90}\text{YL5}$  pour la phase Lipiodol. La stabilité du complexe  $^{90}\text{YL5}$  est excellente et elle atteint celle du composé  $^{188}\text{Re-SSS}$  actuellement en essais clinique avec moins de 1% de relargage dans la phase aqueuse sur une semaine (Figure 77).

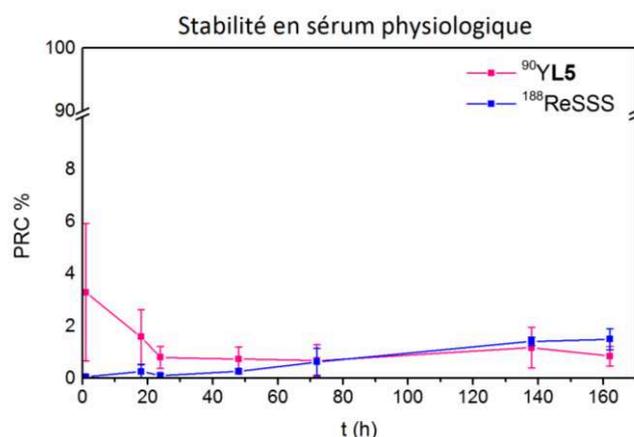


Figure 77 : Stabilité du système  $^{90}\text{YL5}$ /Lipiodol en sérum physiologique en comparaison au système  $^{188}\text{Re-SSS}$ /Lipiodol.

## V. Conclusion

Un analogue lipophile du ligand **L4**, fonctionnalisé par deux chaînes alkyles en C12, a été synthétisé. Le travail d'introduction de chaînes lipophiles a eu l'effet escompté et a permis l'extraction du radiochélate  $^{90}\text{YL5}$  dans le Lipiodol à hauteur de 90%. La stabilité en sérum physiologique humaine est excellente avec le maintien du radiocomplexe dans le Lipiodol. Le ligand **L5** est un excellent candidat pour le traitement du cancer du foie par radiothérapie interne.

## Conclusion du chapitre II

Dans l'optique d'une application en radiothérapie interne pour le traitement du cancer du foie, nous avons entrepris le développement de ligands lipophiles, chélatants de l'yttrium 90, solubles dans le Lipiodol. Le travail a consisté à développer des nouveaux dérivés du cyclen et à évaluer les propriétés de stabilité thermodynamique et d'inertie cinétique des complexes d'yttrium(III), radiomarquer les ligands à l'yttrium 90 et vérifier leur solubilité dans le Lipiodol. A cet effet, nous nous sommes premièrement intéressés au ligand lipophile H<sub>3</sub>PCTMB, nous avons ensuite synthétisé quatre nouveaux dérivés du cyclen N-fonctionnalisés par des groupements acétate et picolinate de façon symétrique (**L1**, **L2**) ou non-symétrique (**L3**, **L4**).

Le complexe formé entre le ligand H<sub>3</sub>PCTMB et l'yttrium(III) a été synthétisé puis caractérisé par RMN et par DRX. Les propriétés d'inertie cinétique et de stabilité thermodynamique du complexe YPCTMB ( $t_{1/2} = 20$  min dans HCl 1 M, pY = 16,7) sont similaires à celles du YPCTA ( $t_{1/2} = 39$  min dans HCl 1 M, pY = 17,0). Le ligand H<sub>3</sub>PCTMB a été radiomarké efficacement à l'yttrium 90. Le rendement d'extraction du radiochélate par le Lipiodol atteint 58%, ce qui reste insuffisant pour l'application visée.

Au lieu d'augmenter ce rendement d'extraction par l'introduction de chaînes alkyles plus longues, notre intérêt s'est porté sur la synthèse et l'étude de quatre dérivés du cyclen pour lesquels, la N-fonctionnalisation par des groupements picolinate a permis d'atteindre d'excellentes propriétés de stabilité et d'inertie. Les deux ligands symétriques **L1** et **L2** ont été synthétisés selon un schéma réactionnel adapté de la littérature. La synthèse des ligands **L3** et **L4**, non symétriques, a été réalisée grâce au développement d'une méthode de protection du cyclen par l'oxalate de diéthyle. Les quatre complexes d'yttrium(III) sont formés en moins de 4 minutes à pH 5,5 (tampon acétate). L'inertie cinétique et la stabilité thermodynamique des quatre complexes d'yttrium sont élevées avec pour les complexes **YL2**, **YL3** et **YL4** des valeurs de  $t_{1/2}$  et de pY supérieures à celles du complexe YDOTA<sup>-</sup>. Quant au chélate **YL1**, sa stabilité est légèrement supérieure à celle du complexe YPCTA, cependant son inertie est moindre. Le radiomarkage à l'yttrium 90 des ligands **L2**, **L3** et **L4** a mis en évidence la formation rapide des radiochélates et leur stabilité en milieu sérum physiologique et humain ainsi qu'en présence d'EDTA à hauteur de 97% sur 72h, c'est-à-dire, plus stables que le radiochélate <sup>90</sup>YDOTA<sup>-</sup>. Seul le ligand **L1** présente des résultats médiocres à la fois pour la formation du radiochélate et sa stabilité ce qui confirme les résultats d'inertie cinétique et de stabilité thermodynamique. Grâce aux calculs DFT, nous avons mis en évidence que le comportement du complexe **YL1** pouvait s'expliquer par la labilité de la liaison entre l'yttrium(III) et l'acide carboxylique d'un

groupement acétate présent en position apicale. Cette labilité facilite la protonation du carboxylate mais aussi le transfert du proton vers les amines du macrocycle provoquant la dissociation du complexe.

L'extraction des radiochélates par le Lipiodol étant nulle, un analogue lipophile du ligand **L4** a été synthétisé sans modifier les bonnes propriétés de chélation : le ligand **L5** possède des chaînes en C12 en position para des pyridines des groupements picolinate. L'extraction du radiocomplexe  $^{90}\text{Y}\text{L5}$  par le Lipiodol atteint 90% et prouve ainsi l'efficacité des chaînes lipophiles. Le système  $^{90}\text{Y}\text{L5}$ /Lipiodol est très stable en sérum physiologique avec un relargage inférieur à 1% sur une semaine.

Une application en radiothérapie nécessitant une formation rapide de chélates stables et inertes, nous pouvons affirmer que les ligands **L2**, **L3**, **L4** répondent à l'ensemble de ces critères et sont adaptés à une utilisation in vivo avec l'yttrium 90. Le ligand lipophile **L5** est quant à lui, adapté pour le traitement du cancer du foie par radiothérapie interne avec l'yttrium 90.

---

## Chapitre III

Etude des complexes de lanthanides(III) pour une application en IRM  
hépatobiliaire

---



## Introduction du chapitre III

Développer des ligands adaptés pour la complexation de plusieurs cations métalliques menant à des applications en thérapie et/ou en imagerie médicale est le principe même du multimodal et du « théranostique ». La série de ligands dérivés du pyclyen, synthétisée pour la complexation de l'yttrium(III) a fait ses preuves avec la formation de complexes à haute stabilité thermodynamique et inertie cinétique élevée. Ces ligands pourraient également être adaptés à la complexation de l'ion  $Gd^{3+}$  grâce à la proximité des propriétés de coordination des ions  $Y^{3+}$  et  $Gd^{3+}$ . Ainsi, en plus de traiter les cancers du foie par la technique de radiothérapie interne avec les complexes à base d'yttrium 90, les chélates de gadolinium permettraient le diagnostic de la tumeur et le suivi de l'efficacité du traitement par IRM.

En IRM, les agents de contraste lipophiles permettent la détection de cancers du foie. La lipophilie du produit entraîne la modification des voies d'élimination, augmentant ainsi l'excrétion par les voies hépatiques. Ainsi, la lipophilie amenée par la pyridine du macrocycle pyclyen pourrait conduire à ce type d'élimination. Le temps de résidence prolongé des produits de contraste lipophiles implique la nécessité de développer des agents de contraste stables et inertes. La majeure partie des produits commerciaux actuels sont dérivés du ligand linéaire  $H_5DTPA$  pour lesquels ces critères pourraient être grandement améliorés (cf. Chapitre I). En plus de la lipophilie, de la stabilité thermodynamique et de l'inertie cinétique, les agents de contraste dérivés du pyclyen devront répondre aux critères suivants : présence d'une molécule d'eau dans la sphère interne du gadolinium(III) et une relaxivité la plus élevée possible.

Dans un premier temps, ce chapitre présentera les agents de contraste IRM utilisés pour le diagnostic du cancer du foie. La deuxième partie sera dédiée à l'étude des complexes de lanthanides(III) :  $YbL$ ,  $Yl$ ,  $EuL$ ,  $TbL$  et  $GdL$ . L'étude en solution des complexes d'yttrium(III) par la technique de RMN  $^{89}Y$ , ainsi que les études photophysiques menées sur les complexes d'euporium(III) et terbium(III) permettront de connaître le nombre de molécules d'eau coordonnées au cation métallique, critère nécessaire à une application en IRM. Enfin, les études de relaxivité, de stabilité thermodynamique et d'inertie cinétique des complexes de gadolinium(III) seront présentées.



# 1 L'IRM hépatobiliaire

L'utilisation d'agents de contraste pour l'imagerie du foie permet la détection de pathologies en augmentant le contraste entre le foie sain et les tissus anormaux. L'hydrophilie de la majeure partie des agents de contraste facilite l'élimination du produit par les reins. Ces agents ont un temps de résidence court et figurent dans la catégorie des agents extracellulaires. La stratégie mise en place pour imager le foie repose sur l'introduction d'un groupement lipophile sur le chélate afin de modifier la voie d'élimination et de favoriser la voie hépatique. A ce jour, aucun dérivé macrocyclique n'est utilisé pour l'IRM hépatobiliaire.

## I. Agents de contraste commerciaux

Un agent de contraste lipophile sert à la fois d'agent de contraste extracellulaire classique et hépatobiliaire. Vingt minutes après l'injection de l'agent de contraste, la phase dite hépatospécifique, c'est-à-dire le début de son accumulation dans le foie, permet de différencier le foie sain du carcinome hépatocellulaire. Ces produits vont s'accumuler au sein des hépatocytes par le biais des transporteurs OATP1B1/B3 (Organic Anion Transport Polypeptides) et être éliminés par les canalicules biliaires.<sup>136-138</sup> La détection de CHC est rendue possible par l'absence de tels récepteurs à la surface des cellules tumorales. Ainsi, après injection d'un agent de contraste hépatobiliaire, les CHC apparaissent hypointenses, le produit ne s'y accumulant pas.

Très peu de chélates de gadolinium(III) ont été développés pour l'IRM du foie. Les deux produits commerciaux existants sont dérivés du DTPA : il s'agit des chélates  $Gd(EOB-DTPA)^{2-}$  et  $GdBOPTA^{2-}$  (Figure 78).<sup>139,140</sup> Dans le cas du  $Gd(EOB-DTPA)^{2-}$ , l'introduction d'un groupement lipophile permet une clairance hépatique à hauteur de 50% (Tableau 24). Suite à leur accumulation dans les hépatocytes, ces agents de contraste sont excrétés via les voies biliaires sans transformation métabolique, permettant également la visualisation du tronc biliaire par IRM. De plus, cette accumulation dans le foie permet une importante augmentation de la relaxivité (Tableau 24). A titre d'exemple, dans le cas du  $GdBOPTA^{2-}$  la relaxivité passe de 4,39 à 30  $mM^{-1}.s^{-1}$  dans le foie.<sup>141</sup> Cette hausse de la relaxivité s'expliquerait, non pas par une interaction avec des protéines, mais par une augmentation de la viscosité intracellulaire ralentissant la rotation de l'agent de contraste.

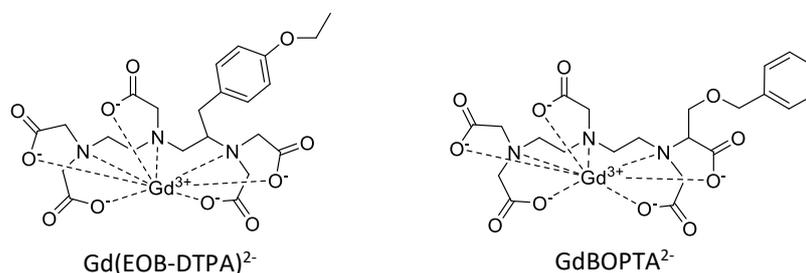


Figure 78 : Agents hépatobiliaires commerciaux.

Ces deux agents de contraste servent principalement à confirmer la présence d'un CHC grâce à la modification de l'expression des transporteurs OATP1B1/B3 chez les hépatocytes anormaux. L'objectif final serait de pouvoir différencier les stades du CHC par IRM grâce à la présence plus ou moins prononcée de récepteurs spécifiques aux hépatocytes sains au cours de la carcinogénèse.<sup>136</sup>

Les complexes de manganèse(II) commencent à émerger dans le domaine de l'IRM.<sup>22,50,142</sup> Le seul agent de contraste commercial à base de manganèse(II) est dédié à l'imagerie du foie (Figure 79). Contrairement aux agents de contraste classiques, le complexe  $\text{MnDPDP}^{2-}$  ne possède pas de molécule d'eau coordonnée et ne joue pas le rôle d'agent extracellulaire. Le principe repose sur la labilité du complexe.<sup>143</sup> Ainsi, le ligand sert exclusivement à retarder la libération des ions  $\text{Mn}^{2+}$ . Au moment où le foie est atteint, l'accumulation du  $\text{Mn}^{2+}$  dans les hépatocytes peut avoir lieu, induisant, de ce fait, une augmentation de la relaxivité (Tableau 24). Cependant, tout comme les ions  $\text{Gd}^{3+}$ , la libération d'ions  $\text{Mn}^{2+}$  présente des risques de toxicité,<sup>1</sup> c'est d'ailleurs la raison pour laquelle le produit  $\text{MnDPDP}^{2-}$  a été retiré du marché.

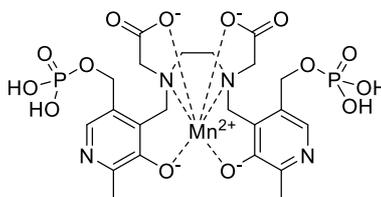


Figure 79 :  $\text{MnDPDP}^{2-}$  (Teslascan®), unique agent de contraste commercial à base de Mn(II).

Agents de contraste	$r_1$ ( $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) (20 MHz, 37°C)	$r_1$ foie ( $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )	Voie d'élimination
$\text{Gd(EOB-DTPA)}^{2-}$	5,3	16	Biliaire : 50% Rénale : 50%
$\text{GdBOPTA}^{2-}$	4,39	30	Biliaire : 2-4% Rénale : 75-99%
$\text{MnDPDP}^{2-}$	2,8	21,7	Biliaire : 45-55% Rénale : 15-25%

Tableau 24 : Propriétés des agents de contraste hépatospécifiques.<sup>141</sup>

## II. Développement d'agents de contraste hépatospécifiques

Les acides biliaires sont des dérivés du cholestérol. Leur rôle consiste à solubiliser les lipides lors de la digestion pour favoriser leur absorption dans le conduit digestif. Ainsi, l'ajout d'un dérivé stérol sur le squelette DTPA a été entrepris dans le but de mimer la circulation des acides biliaires et donc le passage dans les hépatocytes sains (Figure 80).<sup>144</sup> Ce dérivé du complexe  $GdDTPA^{2-}$  se lie à une protéine au sein des hépatocytes entraînant une hausse de la relaxivité de 8,4 à 24,3  $mM^{-1}.s^{-1}$ . Un dérivé lipophile du complexe  $MnEDTA^{2-}$  a été synthétisé dans le but de former un complexe stable in vivo, contrairement au complexe  $MnDPDP^{2-}$  instable (Figure 80). La relaxivité de ce complexe atteint 3,47  $mM.s^{-1}$  et a démontré sa capacité à imager les cancers du foie.<sup>145</sup>

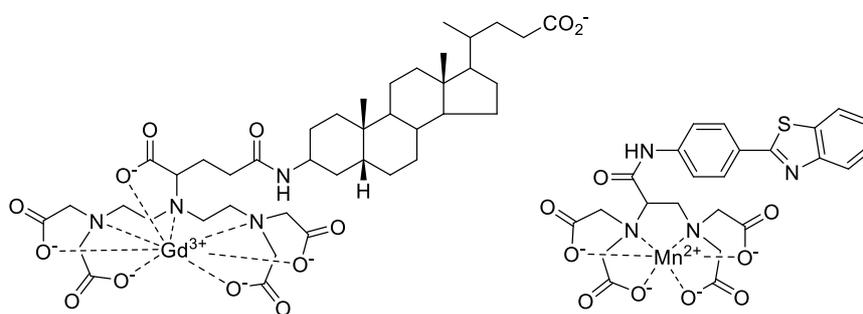


Figure 80 : Dérivés des complexes  $GdDTPA^{2-}$  et  $MnEDTA^{2-}$  pour l'IRM hépatobiliaire.

Une autre stratégie, consistant à détecter la fibrose du foie, permet d'aller dans le sens d'une prévention du cancer du foie. Une fibrose est le résultat de lésions hépatiques multiples entraînant un mécanisme de réparation du tissu provoquant ainsi la formation de tissu cicatriciel. Au stade de la fibrose, cette formation de tissu est réversible si la pathologie est détectée de façon précoce. Dans le cas contraire, la fibrose laisse place à la cirrhose puis, le plus souvent, au cancer. Le dérivé EP-3533 a été développé dans l'optique de détecter la fibrose en ciblant spécifiquement le collagène de type I du tissu cicatriciel, de manière réversible. Il s'agit de trois unités  $GdDTPA^{2-}$  reliées à un peptide spécifique au récepteur ciblé.<sup>146,147</sup>

A ce jour, aucun chélate macrocyclique n'est utilisé pour l'IRM du foie. Il nous a donc semblé intéressant de tirer profit de ce constat et d'étudier la capacité de nos chélates macrocycliques dérivés du pycnolone à agir en tant qu'agents de contraste hépatospécifiques. La neutralité de nos chélates ainsi que le caractère lipophile du noyau pyridinique permettraient une élimination de l'agent de contraste par le foie.



## 2 Etude des complexes de Ln(III)

Afin d'évaluer la capacité des complexes de gadolinium(III) à être utilisés en tant qu'agents de contraste, les complexes analogues de lanthanides(III) ont été synthétisés et caractérisés à l'état solide et en solution. La RMN de l'yttrium 89 et les propriétés de luminescence de certains complexes ont été mises à profit pour déterminer le nombre de molécules d'eau coordonnées au centre métallique et donc à l'ion gadolinium. De plus, la relaxivité, la stabilité thermodynamique ainsi que l'inertie cinétique des complexes **GdL** ont été mesurées.

Cette partie est le fruit de collaborations entre le laboratoire du Pr Carlos Platas-Iglesias (Université de La Corogne, Espagne), le laboratoire du Pr Gyula Tircsó (Université de Debrecen, Hongrie), le groupe Guerbet et notre laboratoire. Une mobilité d'une durée de quatre semaines au sein du laboratoire du Pr. Platas-Iglesias, m'a permis de réaliser les études photophysiques des complexes d'euporium(III), de terbium(III) et d'ytterbium(III) ainsi que les études de RMN paramagnétique. L'étude des complexes de gadolinium(III) a été réalisée par le groupe Guerbet et l'équipe du Pr. Tircsó.

### I. Synthèse des complexes de lanthanides(III)

Les complexes d'euporium(III), de terbium(III), d'ytterbium(III) et de gadolinium(III) ont été synthétisés avec les quatre nouveaux ligands dérivés du pyclen **L1**, **L2**, **L3** et **L4**. Ces synthèses ont été effectuées avec 1,2 équivalents de sel métallique  $MCl_3 \cdot 6H_2O$ , dans l'eau ultrapure, à pH 5-6 et chauffage au reflux pendant 12h. Après purification par HPLC-C18 ( $H_2O$  / acétonitrile) et lyophilisation, tous les complexes ont été obtenus avec des rendements quasi quantitatifs (Tableau 25).

M \ L	L1	L2	L3	L4
Eu(III)	91	96	92	87
Tb(III)	95	92	89	98
Yb(III)	96	92	98	93
Gd(III)	98	99	99	98

Tableau 25 : Rendements obtenus pour les complexes synthétisés (en %).

## II. Etude par diffraction des rayons X

Des cristaux des complexes **EuL2**, **YbL2**, **EuL4** et **YbL4**, analysables par DRX, ont été obtenus après lente évaporation des solutions aqueuses de ces chélates. Les complexes **EuL4** et **YbL4** (Figure 81) présentent une sphère de coordination  $N_6O_3$  et cristallisent de façon isomorphe à l'analogue **YL4**, étudiés à l'état solide dans la partie II.3. Les complexes **EuL4** et **YbL4** adoptent également une géométrie prismatique trigonale tricappée.

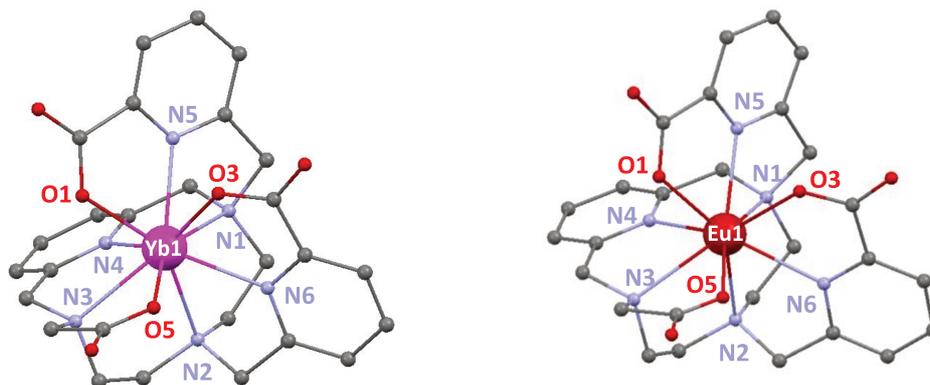


Figure 81 : Structures cristallographiques des complexes **YbL4** et **EuL4** obtenues par diffraction des rayons X. Les atomes d'hydrogène et les molécules d'eau sont omis pour des raisons de clarté.

Pour un nombre de coordination 9, les rayons ioniques des cations  $Eu^{3+}$ ,  $Y^{3+}$  et  $Yb^{3+}$  ont pour valeurs respectives 1,12, 1,08 et 1,04 Å. Les longueurs de liaison de la sphère de coordination du complexe **EuL4**, plus importantes que celles des complexes **YL4** et **YbL4** reflète l'augmentation du rayon ionique de l' $Yb^{3+}$  à l'ion  $Eu^{3+}$  en passant par l'ion  $Y^{3+}$  (Tableau 26).

	<b>EuL4</b>	<b>YL4</b>	<b>YbL4</b>
Ln(1)-N(1) amine	2,648	2,603	2,604
Ln(1)-N(2) amine	2,647	2,645	2,591
Ln(1)-N(3) amine	2,592	2,575	2,538
Ln(1)-N(4) pyridine	2,600	2,548	2,515
Ln(1)-N(5) picolinate	2,501	2,465	2,453
Ln(1)-N(6) picolinate	2,558	2,535	2,483
Ln(1)-O(1)	2,358	2,307	2,272
Ln(1)-O(3)	2,419	2,361	2,359
Ln(1)-O(5)	2,375	2,338	2,304

Tableau 26 : Longueurs des liaisons dans la sphère de coordination des cations métalliques (en Å).

Le complexe **YbL2** cristallise de façon isomorphe à son analogue **YL2** et présente une sphère de coordination  $N_6O_3$  organisée selon un prisme trigonal tricappé (Figure 82). Les longueurs de liaisons des complexes **YL2** et **YbL2** suivent une tendance identique avec, comme observé précédemment, des distances plus courtes pour le complexe d'ytterbium(III) (Tableau 27).

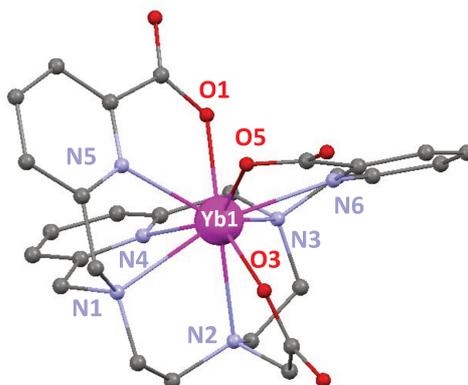


Figure 82 : Structure cristallographique du complexe **YbL2** obtenue par DRX. Les atomes d'hydrogène et les molécules d'eau sont omises des pour raisons de clarté.

Toutefois, le complexe **EuL2** cristallise différemment des complexes **YbL2** et **YL2** (Figure 83). Il existe sous forme de dimère constitué de deux entités **EuL2** où un groupement acétate de chaque monomère coordine deux cations métalliques (Figure 84). Par conséquent, la sphère de coordination de l'ion  $Eu^{3+}$  atteint 10 atomes coordinants contre 9 pour les complexes **YbL2** et **YL2**. Les distances entre le métal et les atomes d'oxygène des groupements acétate pontants sont plus importantes (Eu-O3 2,51 Å ; Eu-O3' 2,45 Å) que celles observées pour le complexe **EuL4** (Eu-O3 2,38 Å). Par ailleurs, la longueur de liaisons Eu-N1 (2,87 Å) est largement supérieure aux liaisons Eu-N2 (2,70 Å) et Eu-N3 (2,68 Å). Cette complétion de la sphère de coordination d'un cation métallique à l'état solide par formation de dimère a déjà été observée dans le deuxième chapitre de ce manuscrit avec les dérivés du ligand  $H_3PCTMB$  mais également avec les dérivés DODPA<sup>148</sup> et DO3A.<sup>149</sup>

L'hypothèse posée dans le chapitre précédent visant à justifier la stabilité et l'inertie plus faible du complexe **YL2** par une protection moindre du cation métallique par le ligand, en comparaison au complexe **YL4**, est confirmée par la formation de dimère à l'état solide pour le complexe **EuL2**. Effectivement, même si la formation de dimère à l'état solide n'a pas été observée pour le complexe **YL2**, ce qui est probablement dû au plus faible rayon ionique du cation  $Y^{3+}$ , nous pouvons supposer que la protonation du macrocycle en milieu acide est facilitée puisque le métal semble être moins confiné, en admettant le maintien en solution de la structure observée à l'état solide.

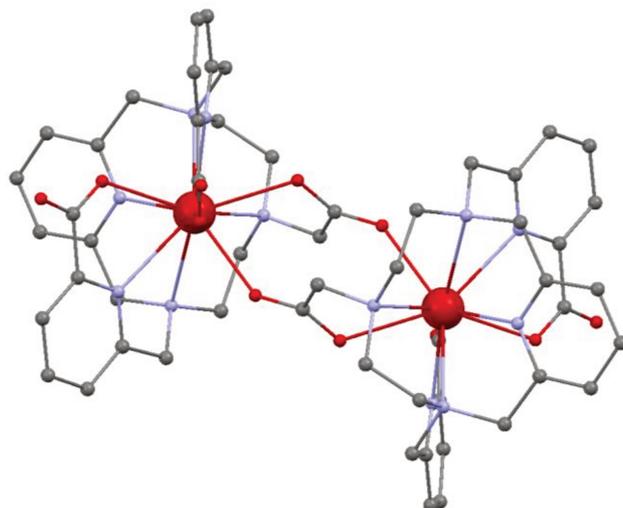


Figure 83 : Structure cristallographique du complexe (EuL2)<sub>2</sub> obtenue par DRX. Les atomes d'hydrogène et les molécules d'eau sont omis pour des raisons de clarté.

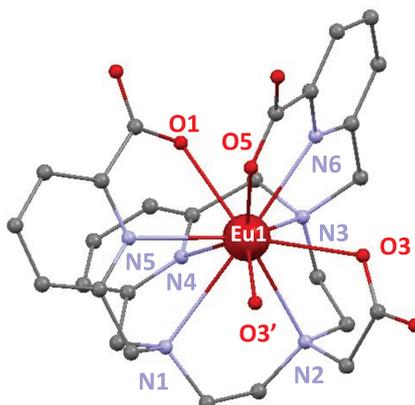


Figure 84 : Entité EuL présente au sein du dimère (EuL2)<sub>2</sub>. Les atomes d'hydrogène et les molécules d'eau sont omis pour des raisons de clarté.

	EuL2	YL2	YbL2
Ln(1)-N(1) amine	2,868	2,606	2,596
Ln(1)-N(2) amine	2,703	2,630	2,629
Ln(1)-N(3) amine	2,676	2,614	2,593
Ln(1)-N(4) pyridine	2,625	2,486	2,459
Ln(1)-N(5) picolinate	2,615	2,458	2,437
Ln(1)-N(6) picolinate	2,594	2,476	2,459
Ln(1)-O(1)	2,467	2,327	2,311
Ln(1)-O(3)	2,513	2,315	2,304
Ln(1)-O(5)	2,415	2,398	2,392
Ln(1)-O(3')	2,453	-	-

Tableau 27 : Longueurs des liaisons dans la sphère de coordination des cations métalliques (en Å).

Nous avons également obtenu des cristaux du complexe **YbL3** analysables par DRX. Le complexe présente une sphère de coordination N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> où 8 des 9 atomes sont apportés par le ligand, la neuvième coordination correspondant à celle d'une molécule d'eau (Figure 85). L'absence de structure RX pour les complexes **YL1** et **YL3** dans le chapitre précédent, nous avait amenés à déterminer leurs structures par calculs DFT et nous avait ainsi permis de comprendre que la différence de stabilité observée entre ces deux complexes était induite par l'élongation de liaisons en position apicale (Chap. II.3). Il est à noter que la structure du complexe **YbL3** obtenue par DRX présente la même géométrie ainsi qu'un arrangement des atomes coordinants identique à la structure du complexe **YL3** obtenue par calculs DFT. Cette structure permet de confirmer que la longueur de liaison entre l'Yb<sup>3+</sup> et la molécule d'eau Yb-O1 (2,393 Å) est supérieure à celle des liaisons Yb-O (carboxylate). Ces observations coïncident avec les calculs DFT réalisés pour **YL3** (Tableau 28).

La présence d'une molécule dans la sphère de coordination du cation métallique à l'état solide est une excellente indication de la structure en solution du complexe **GdL3** et démontre ainsi le potentiel de ce chélate pour une application en IRM.

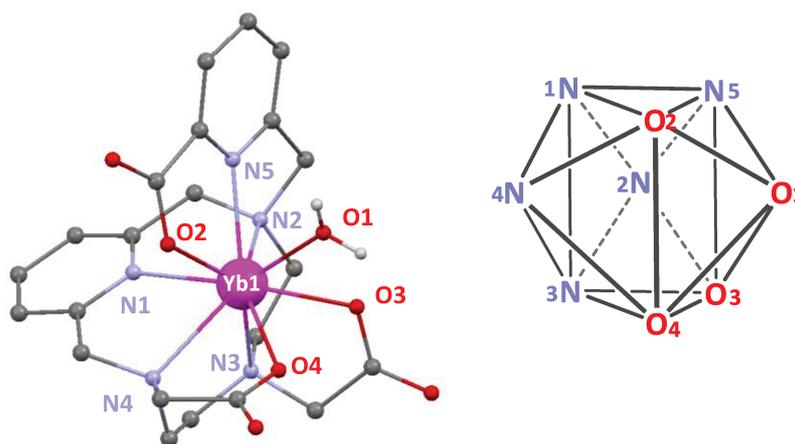


Figure 85 : Structure cristallographique du complexe **YbL3** (à gauche) et sphère de coordination correspondante (à droite). Les atomes d'hydrogène et les molécules d'eau non coordonnées sont omis pour des raisons de clarté.

	<b>YbL3</b> (DRX)	<b>YL3</b> (DFT)
Ln(1)-N(1) pyridine	2,510	2,602
Ln(1)-N(2) amine	2,570	2,665
Ln(1)-N(3) amine	2,513	2,594
Ln(1)-N(4) amine	2,547	2,593
Ln(1)-N(5) picolinate	2,425	2,465
Ln(1)-O(1) H <sub>2</sub> O	2,393	2,490
Ln(1)-O(2)	2,300	2,295
Ln(1)-O(3)	2,324	2,280
Ln(1)-O(4)	2,308	2,327

Tableau 28 : Longueurs des liaisons dans la sphère de coordination de l'ion Yb<sup>3+</sup> d'après la structure RX et comparaison avec les longueurs de liaison du complexe **YL3** obtenu par calculs DFT (en Å).

### III. Etude RMN

#### 1. RMN paramagnétique

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  du complexe paramagnétique **YbL4** a été enregistré dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 298 K à une concentration de 30 mM (Figure 86). Les signaux bien résolus nous ont permis d'analyser la structure du complexe en solution et de la comparer à la structure à l'état solide, calculée par DFT à partir de la structure RX du complexe **YL4**. Le spectre consiste en 26 signaux intégrant pour 27 protons correspondants aux 27 protons du complexe, allant de 75 à -30 ppm. Chaque signal a été attribué à un proton de la molécule à l'aide d'une expérience RMN COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figure 87). Certains couplages sont mis en évidence sur le spectre 2D à titre d'exemple. La largeur des pics à mi-hauteur permet de différencier les protons axiaux ou équatoriaux. 8 des 9 protons axiaux ont une largeur à mi-hauteur comprise entre 40 et 100 Hz. Pour 8 des 9 protons équatoriaux, cette largeur est comprise entre 20 et 45 Hz. Les mesures n'ont pas pu être effectuées pour le proton axial **7<sub>ax</sub>** et le proton équatorial **7<sub>eq</sub>** restants, pour cause de superposition. Ces différences résultent de la proximité du proton avec l'ion  $\text{Yb(III)}$  : plus la distance est courte, plus le signal sera large et inversement. Les spectres RMN  $^1\text{H}$  des autres complexes paramagnétiques **EuL** et **YbL** n'ont pas pu être exploités à cause de l'absence et de la largeur de certains signaux (Annexe 16).

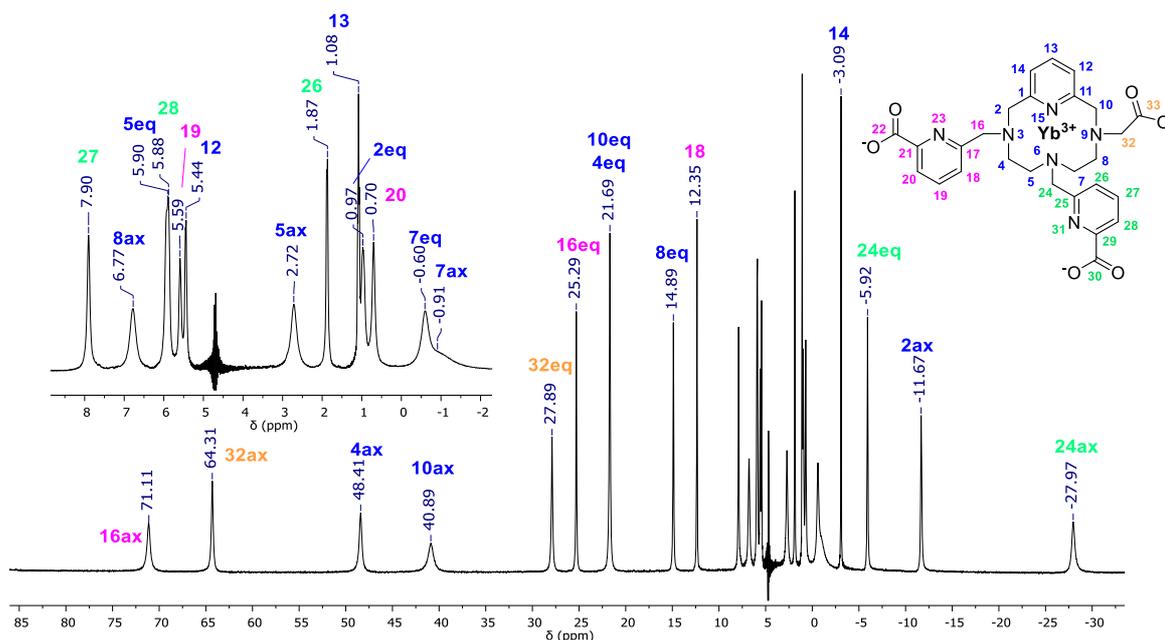


Figure 86 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du complexe paramagnétique **YbL4** enregistré dans  $\text{D}_2\text{O}$  (30 mM, 298 K, 300 MHz).

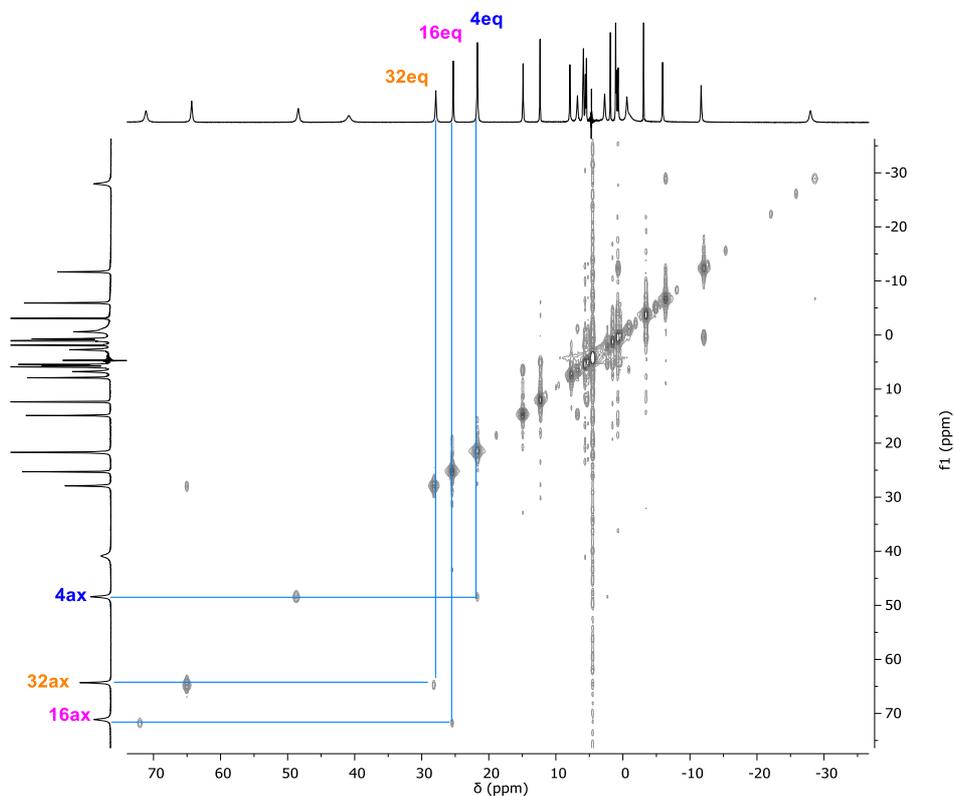


Figure 87 : Spectre RMN COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  du complexe **YbL4** enregistré dans  $\text{D}_2\text{O}$  avec  $C = 30 \text{ mM}$  (298 K, 500 MHz).

Le déplacement chimique observé d'un noyau  $i$   $\delta_{ij}^{exp}$ , induit par la présence d'un ion lanthanide  $j$ , est la somme de contributions diamagnétiques  $\delta_i^{dia}$  et paramagnétiques  $\delta_{ij}^{para}$  (Equation 1). La contribution diamagnétique est obtenue par l'enregistrement du spectre RMN  $^1\text{H}$  d'un complexe diamagnétique, comme **YL4**, pour lequel l'attribution complète a déjà été effectuée (Annexe 10). Dans le cas d'un ion  $\text{Yb}^{3+}$ , la contribution paramagnétique est majoritairement dipolaire  $\delta_{ij}^{dip}$  et résulte d'un couplage entre les électrons non appariés et le noyau observé.<sup>10</sup> Ce terme est la somme d'un facteur rhombique et d'un facteur axial détaillés dans la littérature.<sup>11</sup> Dans le cas d'un complexe à symétrie élevée, le facteur rhombique est négligeable. Or la faible symétrie du complexe **YbL4** complique les attributions.

$$\delta_{ij}^{exp} = \delta_i^{dia} + \delta_{ij}^{para} = \delta_{ij}^{dip} \quad (1)$$

Toutefois, les calculs DFT ont permis de trouver la position de l'axe magnétique de l'ion  $\text{Yb}^{3+}$  et de faire coïncider parfaitement les déplacements chimiques calculés  $\delta^1\text{H}_{calc}^{obs}$  (**YbL4**) avec ceux observés expérimentalement  $\delta^1\text{H}^{obs}$  (**YbL4**) (Tableau 29). Les variations entre les déplacements calculés et expérimentaux sont faibles et vont de 0,07 à 3,24

ppm. Le tracé  $\delta^1\text{H}_{calc}^{obs}$  en fonction de  $\delta^1\text{H}^{obs}$  témoigne de cette convergence (Figure 88).

	$\delta^1\text{H}^{dia}$ (YL4)	$\delta^1\text{H}^{obs}$ (YbL4)	$\delta^1\text{H}^{para}$ (YbL4)	$\delta^1\text{H}_{calc}^{para}$ (YbL4)	$\delta^1\text{H}_{calc}^{obs}$ (YbL4)
2eq	4,21	0,98	3,23	1,41	2,80
2ax	4,03	-11,68	15,98	16,41	-12,38
4eq	2,68	21,69	-19,01	-17,57	20,25
4ax	2,36	48,41	-45,74	-45,43	47,79
5eq	3,01	5,9	-2,89	-4,41	7,42
5ax	2,66	2,71	-0,05	0,97	1,69
7eq	2,71	-0,61	3,32	3,16	-0,45
7ax	1,81	-0,9	2,71	2,91	-0,2
8ax	3,32	6,78	-3,46	-2,00	5,32
8eq	2,95	14,88	-11,93	-12,17	15,65
10eq	4,91	21,69	-16,78	-18,66	23,57
10ax	4,22	40,89	-36,67	-35,47	39,69
12	7,42	5,44	1,96	1,02	6,18
13	7,85	1,08	6,77	5,44	2,41
14	7,18	-3,06	10,24	8,92	-1,73
16eq	4,15	25,29	-21,14	-21,22	25,37
16ax	3,62	71,13	-67,51	-66,92	70,54
18	7,64	12,34	-4,70	-4,29	11,93
19	8,11	5,58	2,53	2,58	5,53
20	7,89	0,7	7,19	7,89	0,00
24eq	4,67	-5,93	10,60	8,27	-3,60
24ax	3,95	-27,98	31,93	31,31	-27,36
26	7,75	1,86	5,89	5,30	2,45
27	8,19	7,9	0,29	2,19	6,00
28	8,03	5,88	2,15	0,72	7,31
32eq	4,15	27,89	-23,74	-26,98	31,13
32ax	3,56	64,31	-60,75	-61,40	64,96

Tableau 29 : Déplacements chimiques et attribution des signaux des complexes YL4 et YbL4 issus de l'expérience et des calculs DFT.

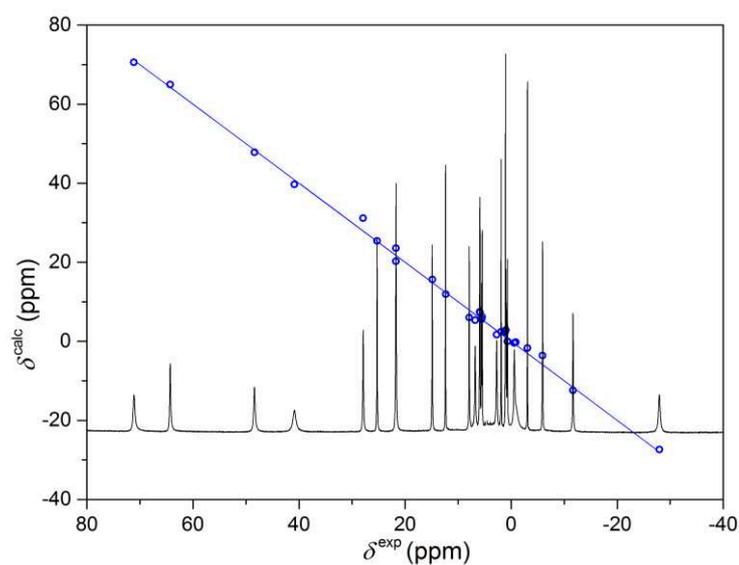


Figure 88 : Graphique des déplacements chimiques expérimentaux en fonction des déplacements calculés, superposé au spectre RMN  $^1\text{H}$  du complexe YbL4.

## 2. RMN de l'yttrium 89

En plus du diamagnétisme de l'ion  $Y^{3+}$ , le spin nucléaire de l'yttrium 89 d'une valeur  $I = \frac{1}{2}$  et son abondance naturelle de 100%, rendent possible l'étude de ce noyau en RMN. Le déplacement chimique d'un ion  $Y(III)$  au sein d'un complexe est étroitement lié à son environnement et à sa sphère de coordination. La plage de déplacement chimique s'étend sur 1300 ppm,<sup>150</sup> et, par conséquent, cette technique est sensible aux faibles changements intervenant dans l'environnement de l'ion métallique. Grâce à la similarité des rayons ioniques des ions  $Y^{3+}$  (1,019 pour  $NC = 8$ ) et  $Gd^{3+}$  (1,059 pour  $NC = 8$ ), et à la formation de complexes identiques en solution,<sup>29</sup> l'investigation du comportement d'un complexe d'yttrium(III) sert de modèle à celui du complexe de Gd(III).

L'enregistrement d'un spectre d'yttrium 89 nécessite de très long temps d'acquisition à cause du long temps de relaxation de ce noyau.<sup>33</sup> Les expériences RMN  $^1H$ - $^{89}Y$  HMQC permettent de contourner ce problème en détectant de manière indirecte le déplacement chimique des ions  $^{89}Y(III)$  à travers un couplage scalaire. Cette méthode a été mise en place dans notre service RMN et nous a permis de mesurer le déplacement chimique de l'yttrium 89 de plusieurs complexes. A cet effet, les complexes  $YCB-TE2PA^+$ ,  $YMeDO2PA^+$ ,  $YPCTA$ , et  $YDOTA^-$  ont été synthétisés (Figure 89).

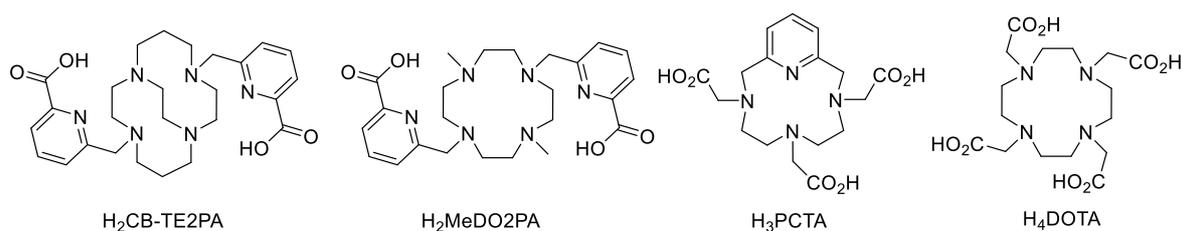


Figure 89 : Ligands discutés dans cette partie.

Grâce à une collaboration entre notre laboratoire et les groupes du Pr Sherry (Université du Texas) et du Pr Platas-Iglesias,<sup>151</sup> une corrélation entre le déplacement chimique de l'yttrium 89 et la structure chimique des complexes a pu, pour la première fois,<sup>152,153</sup> être établie grâce à l'équation empirique suivante (2) :

$$(2) \quad \delta^{calc} (^{89}Y) = A - (S_{Nam} \cdot n_{Nam} + S_{Npy} \cdot n_{Npy} + S_{Oc} \cdot n_{Oc} + S_{Oh} \cdot n_{Oh} + S_{Oe} \cdot n_{Oe} + S_{Oa} \cdot n_{Oa} + S_{Ow} \cdot n_{Ow})$$

où  $A = 863 \pm 48$  ppm ;  $S_{N_{am}} = 68,1 \pm 6,4$  ;  $S_{N_{py}} = 85,7 \pm 5,4$  ;  $S_{O_c} = 94,0 \pm 5,8$  ;  $S_{O_h} = 97,3 \pm 4,9$  ;  $S_{O_e} = 95,7 \pm 4,9$  ;  $S_{O_a} = 89,5 \pm 5,4$  ;  $S_{O_w} = 107,6 \pm 6,2$  ;  $n_X$  : nombre d'atomes coordinants (Atome d'azote de fonction amine  $N_{am}$ , atome d'azote de pyridine  $N_{py}$ , atome d'oxygène de fonction carboxylique  $O_c$ , atome d'oxygène de fonction alcool  $O_h$ , atome d'oxygène de fonction éther  $O_e$ , atome d'oxygène de fonction amide  $O_a$ , atome d'oxygène de molécules d'eau  $O_w$ ).

D'après cette équation, chaque type d'atome coordinant apporte une contribution au déplacement chimique  $\delta^{calc} {}^{89}Y$  qui lui est propre. De ce fait, le déplacement observé dépend du nombre d'atomes coordinants et de leur type. Ceci est confirmé par la convergence des déplacements chimiques calculés à partir de cette équation  $\delta^{calc} {}^{89}Y$  avec ceux obtenus expérimentalement  $\delta^{exp} {}^{89}Y$  (Tableau 30). Les spectres HMQC  ${}^1H$ - ${}^{89}Y$  des quatre ligands **YL** ont été enregistrés (Figure 90 à Figure 93). Dans le cas des dérivés du pyclen, la meilleure corrélation entre  $\delta^{exp}$  et  $\delta^{calc}$  est obtenue en considérant la contribution de l'azote de la pyridine du macrocycle comme étant plus proche de celle d'un atome d'azote d'une fonction amine que d'une pyridine (Tableau 30). Cette observation est corroborée par les structures RX obtenues pour les complexes **YL2** et **YL4** pour lesquels les longueurs Y- $N_{py}$  sont comprises entre les longueurs Y- $N_{pico}$  et Y- $N_{am}$  (Tableau 19, Chapitre II.3). Grâce à cette hypothèse, les valeurs calculées sont proches des valeurs théoriques pour les quatre complexes ainsi que pour le complexe YPCTA. Par ailleurs, ces calculs mettent en évidence la présence d'une molécule d'eau coordinée au centre métallique pour les complexes **YL1** et **YL3** avec des valeurs expérimentales  $\delta {}^{89}Y$  de 116,4 et 131,4 ppm, respectivement (Tableau 30). Ces valeurs sont inférieures de près de 100 ppm à celles mesurées pour les complexes YCB-TE2PA<sup>+</sup> ( $\delta^{exp} {}^{89}Y = 218,5$  ppm) et YMeDO2PA<sup>+</sup> ( $\delta^{exp} {}^{89}Y = 244,7$  ppm) pour lesquels l'absence de molécules d'eau coordinées a été démontrée avec les complexes de lanthanides(III).<sup>11,83</sup>

Complexes	$\delta^{exp} {}^{89}Y$	$\delta^{calc} {}^{89}Y$	$n_{Nam}$	$n_{Npy}$	$n_{Oc}$	$n_{Ow}$
[Y(CB-TE2PA)] <sup>+</sup>	218,5	231,2	4	2	2	0
[Y(Me-DO2PA)] <sup>+</sup>	244,7	231,2	4	2	2	0
[Y(DOTA)(H <sub>2</sub> O)] <sup>-</sup>	112,2	107	4	0	4	1
[Y(PCTA)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ]	95,9	93,4	4	0	3	2
[Y( <b>L1</b> )(H <sub>2</sub> O)]	116,4	115,3	4	1	3	1
[Y( <b>L2</b> )]	147,8	137,2	4	2	3	0
[Y( <b>L3</b> )(H <sub>2</sub> O)]	131,4	115,3	4	1	3	1
[Y( <b>L4</b> )]	151,1	137,2	4	2	3	0

Tableau 30 : Déplacements chimiques mesurés et calculés, nombres et types d'atomes coordinants.

Ces expériences RMN HMQC  $^1\text{H}$ - $^{89}\text{Y}$  mettent en évidence un couplage entre l'yttrium et certains protons du macrocycle. Pour le complexe **YL4**, les couplages avec les protons  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{24\text{ax}}$  et  $\text{H}_{32\text{ax}}$  apparaissent plus intenses que ceux des protons  $\text{H}_{5\text{eq}}$  et  $\text{H}_{8\text{eq}}$  (Figure 93). A partir de la structure RX, la mesure des angles dièdres H-C-N-Y indique des valeurs de  $91,17$ ,  $81,07$ ,  $89,85$ ,  $157,69$  et  $169,98^\circ$  pour les protons  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{24\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{32\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{5\text{eq}}$  et  $\text{H}_{8\text{eq}}$ , respectivement. Ces valeurs suggèrent que l'intensité du couplage  $^1\text{H}$ - $^{89}\text{Y}$  diminue lorsque la valeur de l'angle dièdre augmente. Le spectre HMQC  $^1\text{H}$ - $^{89}\text{Y}$  du complexe **YL2** (Figure 91) indique des couplages intenses pour les protons  $\text{H}_{2\text{ax}}$ ,  $\text{H}_{16\text{ax}}$  et  $\text{H}_{10\text{ax}}$  correspondant à des angles dièdres respectifs de  $74,49$ ,  $80,88$  et  $92,95^\circ$ . Des couplages sont également observés pour les complexes **YL1** et **YL3**. Malgré l'absence de structure RX, nous pouvons supposer que l'intensité du couplage augmente lorsque la distance Y-H diminue, de façon analogue aux complexes **YL2** et **YL4**.

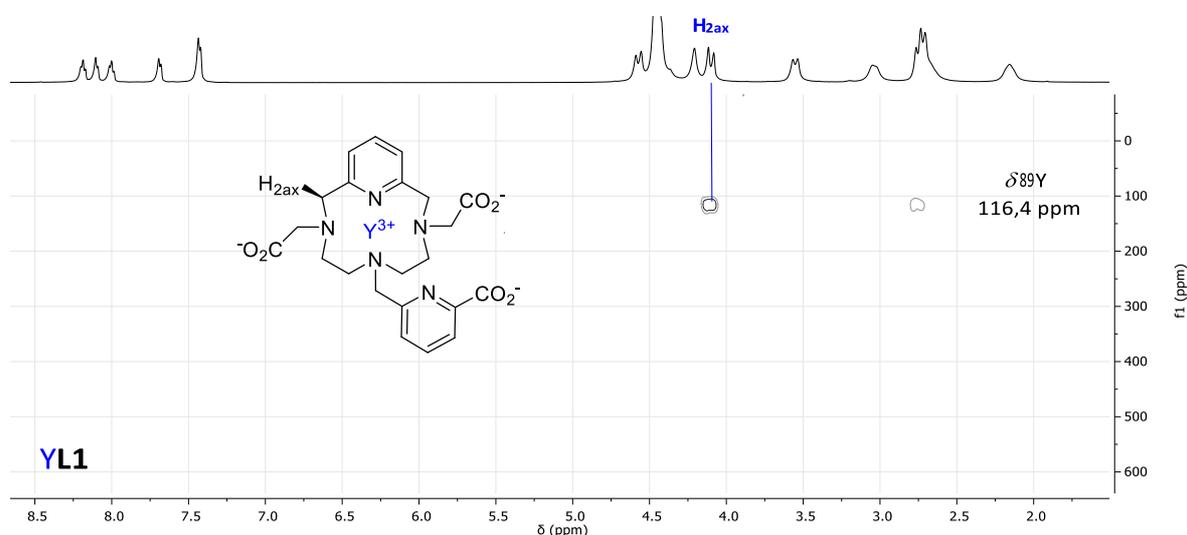


Figure 90 : Spectre HMQC  $^1\text{H}$ - $^{89}\text{Y}$  enregistré pour le complexe **YL1** dans  $\text{D}_2\text{O}$  (328 K).

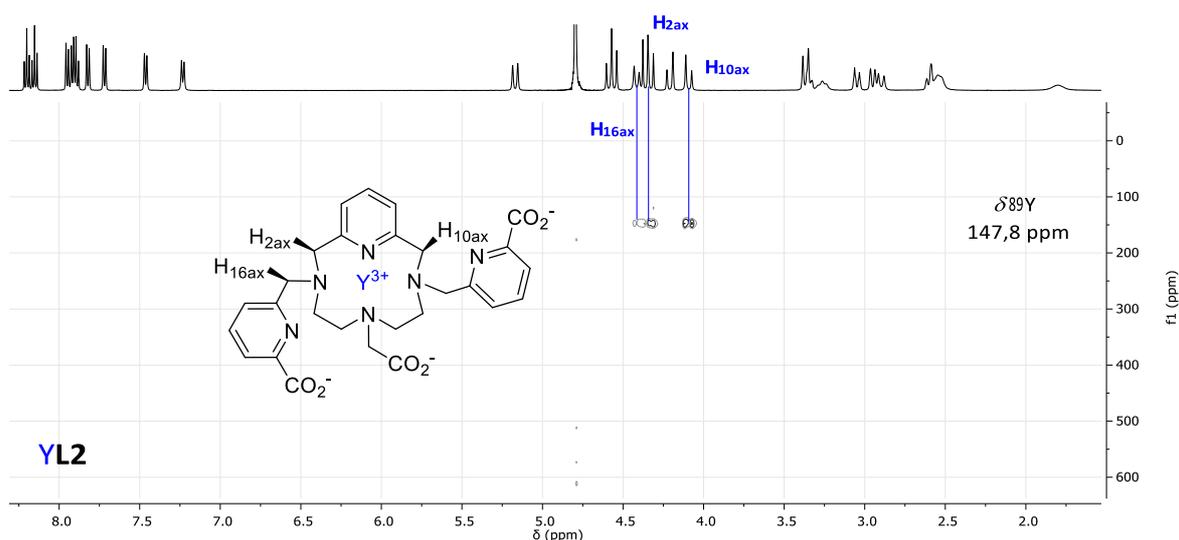


Figure 91 : Spectre HMQC  $^1\text{H}$ - $^{89}\text{Y}$  enregistré pour le complexe **YL2** dans  $\text{D}_2\text{O}$  (298 K).

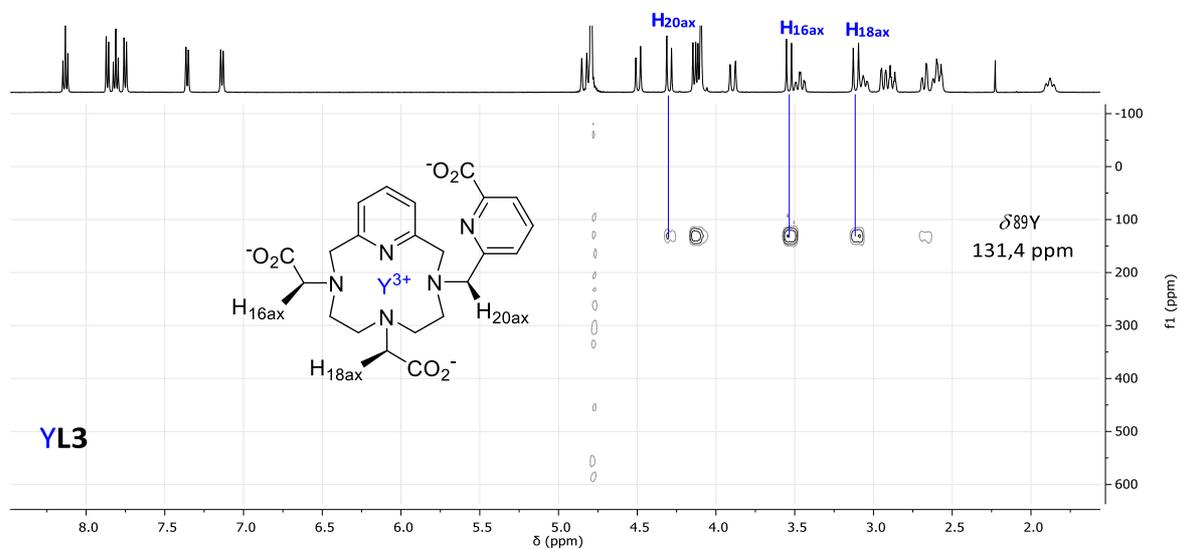


Figure 92 : Spectre HMQC  $^1\text{H}$ - $^{89}\text{Y}$  enregistré pour le complexe **YL3** dans  $\text{D}_2\text{O}$  (298 K).

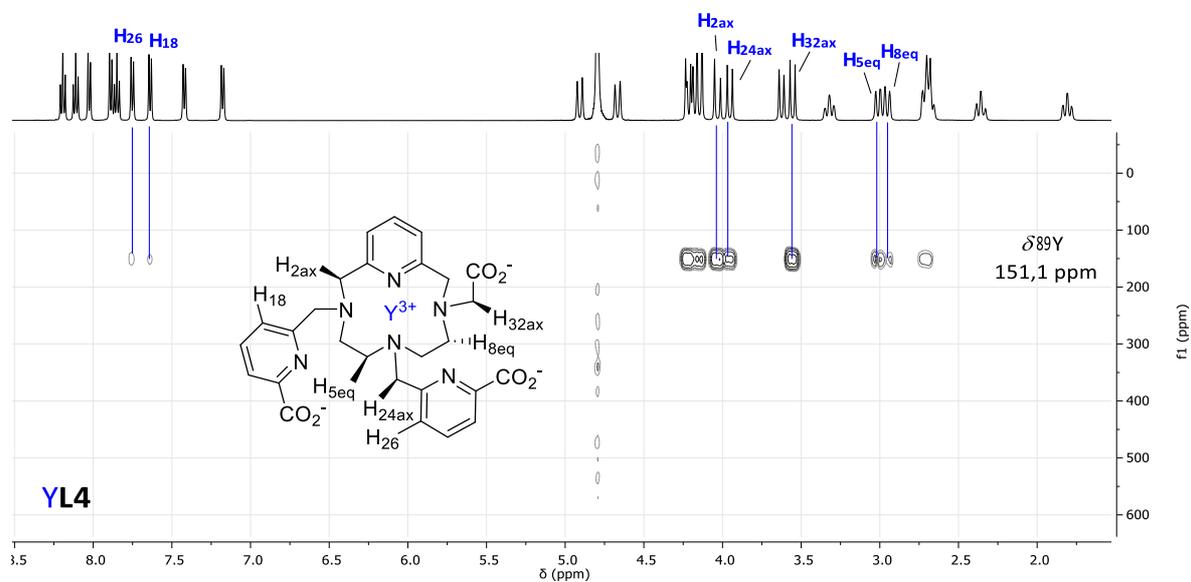


Figure 93 : Spectre HMQC  $^1\text{H}$ - $^{89}\text{Y}$  enregistré pour le complexe **YL4** dans  $\text{D}_2\text{O}$  (298 K).

## IV. Etudes photophysiques des complexes EuL, TbL et YbL

Le noyau pyridinique du pyclyen et les groupements picolinate des complexes LnL vont pouvoir agir comme groupements chromophores, en absorbant de l'énergie et en la transférant à l'ion Ln(III) qui émettra ensuite l'énergie à des longueurs d'onde plus élevées (Chap. I). L'étude des propriétés photophysiques des complexes **EuL**, **TbL** et **YbL** est essentielle pour déterminer l'hydratation des centres métalliques et l'extrapoler aux complexes de Gd(III). En plus de la structure RX (**YbL3**), des calculs DFT (**YL1** et **YL3**) et des expériences RMN du noyau  $^{89}\text{Y}$ , ces études permettront de confirmer la présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination de l'ion  $\text{Gd}^{3+}$ . En cas d'absence de molécule d'eau coordonnée, elles permettront d'évaluer la potentielle utilisation de ces complexes comme sonde luminescente.

### 1. Spectres d'absorption, d'excitation et d'émission

#### a. Complexes d'euporium(III)

Les spectres d'absorption, d'excitation et d'émission des quatre complexes d'euporium(III) ont été enregistrés en tampon Tris 0,1 M à pH 7,45 avec une concentration en complexe proche de  $2 \cdot 10^{-5}$  M (Figure 94).

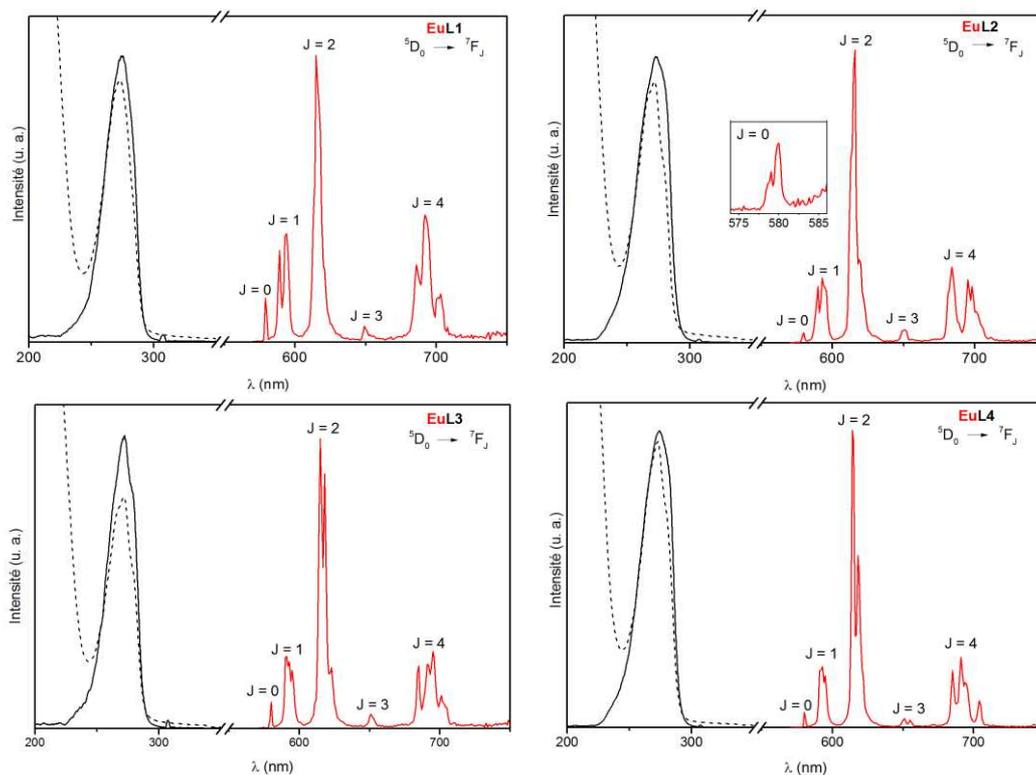


Figure 94 : Spectres d'absorption (---), d'excitation (—) et d'émission (—) des complexes **EuL1**, **EuL2**, **EuL3** et **EuL4** enregistrés en tampon Tris 0,1 M (pH = 7,45).

Comme attendu pour des dérivés picolinate, les spectres d'absorption présentent une bande large avec un maximum à 272 nm correspondant à une transition  $\pi-\pi^*$  centrée sur les groupements picolinate et la pyridine du pyclyen. Sous excitation à 272 nm, les complexes **EuL** génèrent des bandes d'émission caractéristiques des transitions  ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$  à 580, 591, 615, 685 et 691 nm ( $J = 0 - 4$ ). Les profils d'émission obtenus pour les quatre complexes présentent des intensités de bandes très proches où les bandes  $J = 2$  et  $J = 4$  apparaissent les plus intenses et contribuent, en moyenne, pour 50 et 30% de l'intensité totale de l'émission (Tableau 31). L'enregistrement des spectres d'excitation s'effectue en se plaçant à 615 nm, maximum de l'intensité de l'émission des complexes. Ces spectres d'excitation sont obtenus en fixant cette longueur d'onde de détection et en balayant les longueurs d'onde d'excitation, l'objectif étant de déterminer la longueur d'onde d'excitation optimale soit 272 nm pour les quatre complexes.

	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>
${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$	1,9	0,8	1,3	1,2
${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$	16,9	14,9	14,8	13,9
${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$	42,7	51,2	52,5	55,7
${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$	2,6	3,1	2,9	2,6
${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$	35,9	30,0	28,5	26,6

Tableau 31 : Intensité des transitions  ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$ .

Grâce à la non-dégénérescence de l'état initial et de l'état final, la transition  ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$  est particulièrement intéressante pour connaître la spéciation en solution. Ainsi, une seule bande est attendue pour chaque espèce présente en solution. Au regard des spectres d'émission et de la transition  ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ , une seule espèce existe pour les complexes **EuL1**, **EuL3** et **EuL4** (Figure 94). Néanmoins, deux bandes de transition sont présentes dans le cas du complexe **EuL2** mettant en évidence des environnements multiples pour l'ion  $\text{Eu}^{3+}$ , provenant soit de l'existence de deux isomères de conformation générés par l'orientation des bras coordinants, soit de la présence d'un équilibre entre une espèce non hydratée ( $q = 0$ ) et une espèce mono-hydratée ( $q = 1$ ). Au regard de la structure RX du complexe **EuL2** (Figure 83), présent à l'état solide sous forme de dimère, l'hypothèse d'un équilibre  $q = 0 / q = 1$  semble plausible. En admettant que le dimère observé à l'état solide est présent en solution, l'équilibre entre le dimère et le monomère pourrait correspondre à  $q = 0$  et  $q = 1$ . La mesure du nombre de molécules d'eau coordinées permettra de confirmer ou non cette hypothèse.

## b. Complexes de terbium(III)

Les spectres d'absorption, d'excitation et d'émission des complexes **TbL** ont été enregistrés de façon analogue aux complexes **EuL** (Figure 95). Les spectres d'absorption sont similaires à ceux des complexes d'euporium avec un maximum d'absorption à 272 nm. Le profil des spectres d'émission est caractéristique des complexes de terbium(III) avec les transitions  $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$  observées pour  $J = 6, 5, 4$  et  $3$  à 489, 543, 582 et 620 nm respectivement. Pour les quatre spectres d'émission la bande  $J = 5$  est majoritaire et représente 50% de l'intensité de l'émission totale (Tableau 32).

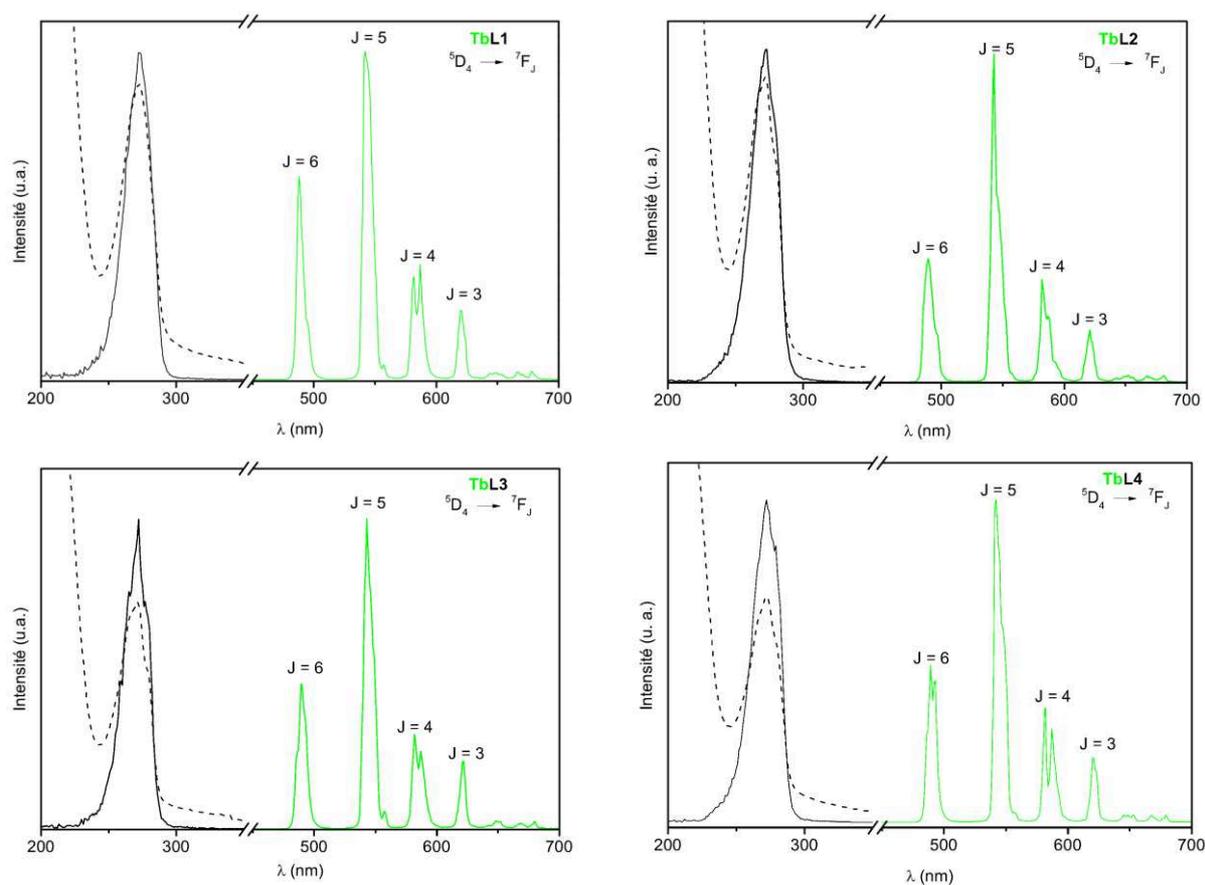


Figure 95 : Spectres d'absorption (---), d'excitation (—) et d'émission (—) des complexes **TbL1**, **TbL2**, **TbL3** et **TbL4** enregistrés en tampon Tris 0,1 M (pH = 7,45).

	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>
$^5D_4 \rightarrow ^7F_6$	23,9	24,0	23,4	24,2
$^5D_4 \rightarrow ^7F_5$	50,1	50,5	51,0	50,3
$^5D_4 \rightarrow ^7F_4$	18,1	17,9	17,7	17,9
$^5D_4 \rightarrow ^7F_3$	7,9	7,6	7,9	7,6

Tableau 32 : Intensité des transitions  $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$ .

### c. Complexes d'ytterbium(III)

Les spectres d'absorption, d'émission et d'excitation des complexes **YbL** ont été enregistrés dans l'eau avec  $C_{\text{YbL}} = 4.10^{-5}$  M (Figure 96). L'excitation au maximum d'absorption du complexe (272 nm), génère une bande d'émission centrée dans le proche infrarouge vers 980 nm qui s'étend de 950 à 1050 nm, caractéristique de l'unique transition  ${}^2F_{5/2} \rightarrow {}^2F_{7/2}$  de l'ion  $\text{Yb}^{3+}$ . Associées à un rendement quantique élevé et un temps de vie de luminescence raisonnable, ces longueurs d'onde d'émission sont adaptées à une application biologique puisqu'elles coïncident avec la « fenêtre d'imagerie » où l'absorption des composants du tissu biologique est la plus faible possible.

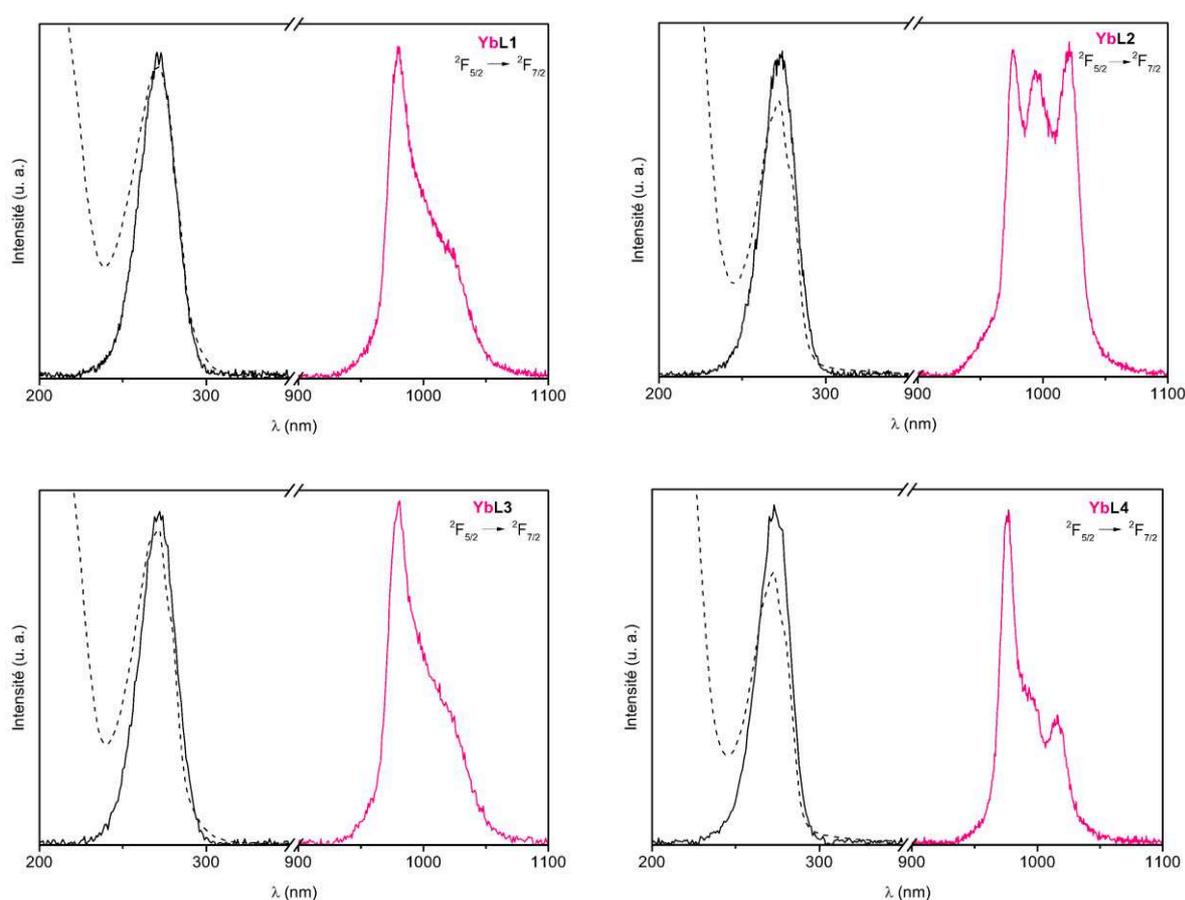


Figure 96 : Spectres d'absorption (---), d'excitation (—) et d'émission (—) des complexes **YbL1**, **YbL2**, **YbL3** et **YbL4** enregistrés dans l'eau.

## 2. Durée de vie de l'état excité

Les durées de vie de luminescence des états excités des complexes **EuL** et **TbL** ont été mesurées dans H<sub>2</sub>O et D<sub>2</sub>O à 293K (Figure 97 et Figure 98). Les durées de vie de luminescence des complexes **YbL** n'ont pas pu être mesurées. Classiquement, ces temps sont de l'ordre de 1 ms pour les complexes d'euporium(III) et de terbium(III), et de 1  $\mu$ s pour les complexes d'ytterbium(III). Ces durées de vie ont été enregistrées au maximum d'émission de chaque complexe soit, vers 615 nm pour les complexes d'euporium(III) ( $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ ) et 543 nm pour les complexes de terbium(III) ( $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ ). Pour l'ensemble des complexes **EuL** et **TbL**, la décroissance de l'intensité lumineuse  $I$  en fonction du temps  $t$  suit une loi mono-exponentielle du type  $I = I_0 \cdot e^{(-\tau/t)}$  où  $I_0$  correspond à l'intensité à  $t = 0$  et  $\tau$  à la durée de vie de luminescence. La validité d'une loi mono-exponentielle pour le complexe **EuL2**, pour lequel deux espèces ont été observées à l'état solide, indique un échange rapide entre ces deux espèces. Dans le cas contraire, une décroissance de la forme d'une double exponentielle aurait été observée.<sup>15</sup>

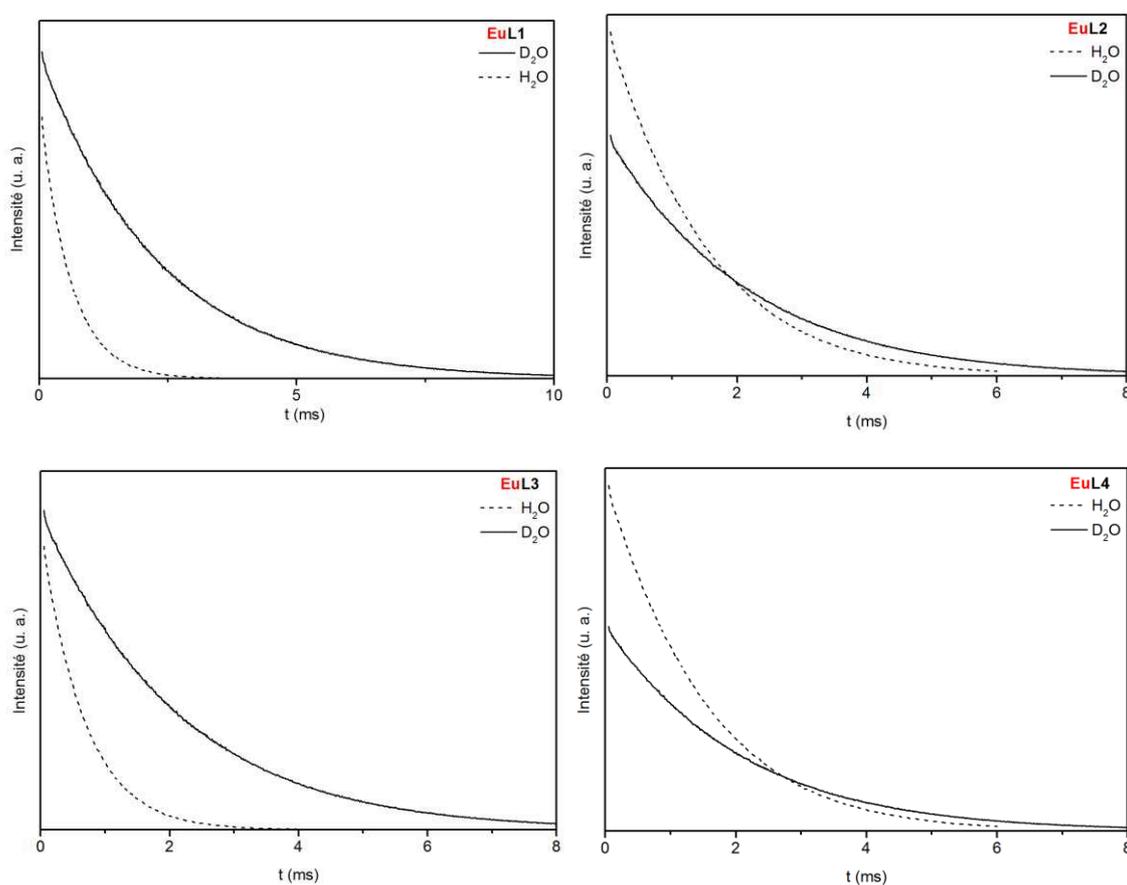


Figure 97 : Courbes de décroissance de l'intensité de luminescence en fonction du temps des complexes **EuL** dans H<sub>2</sub>O et D<sub>2</sub>O avec  $\lambda_{\text{ex}} = 272$  nm et  $\lambda_{\text{em}} = 615$  nm.

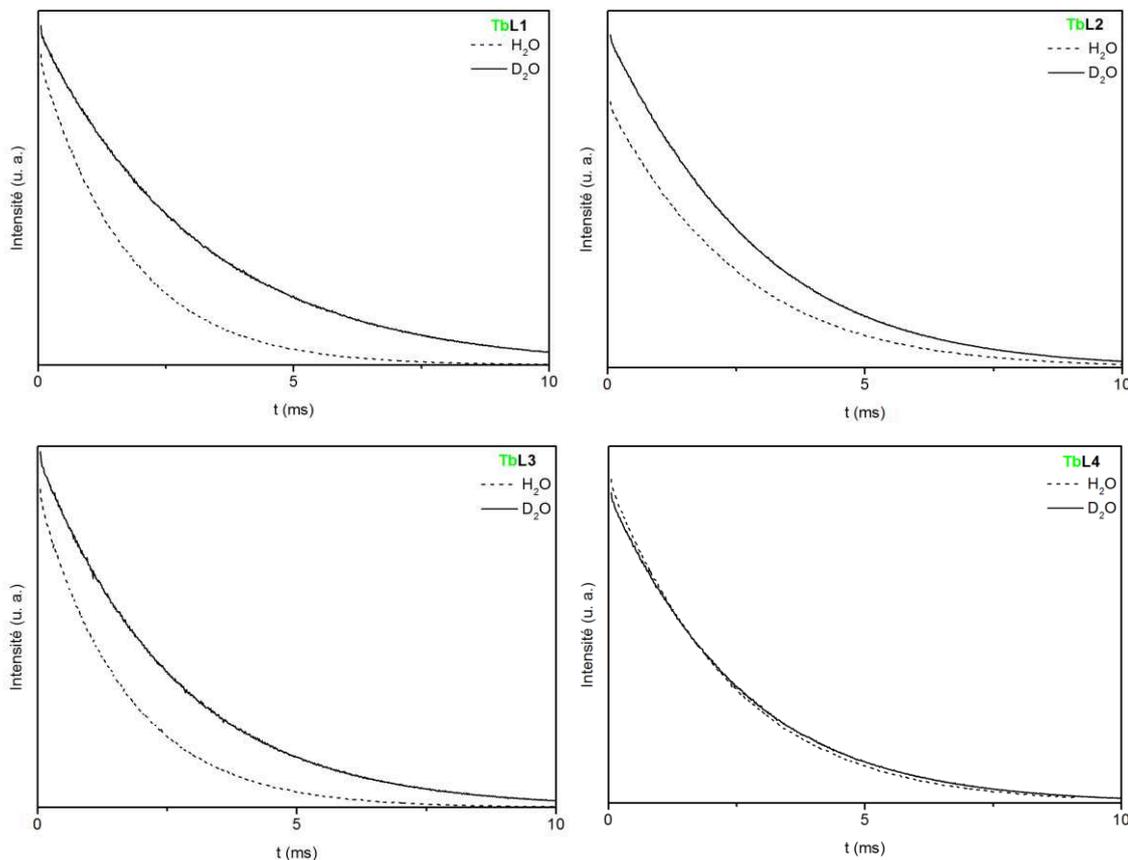


Figure 98 : Courbes de décroissance de l'intensité de luminescence en fonction du temps des complexes **TbL** dans H<sub>2</sub>O et D<sub>2</sub>O avec  $\lambda_{ex} = 272$  nm et  $\lambda_{em} = 543$  nm.

Les oscillateurs OH des molécules d'eau coordonnées au cation métallique induisent une désexcitation non radiative, contrairement aux oscillateurs OD, inefficaces. En présence d'une molécule d'eau coordonnée, la durée de vie de luminescence mesurée dans D<sub>2</sub>O sera supérieure à celle enregistrée dans H<sub>2</sub>O. Ces durées de vie seront similaires pour les complexes non hydratés. Ainsi, à partir des durées de vie de luminescence des complexes d'euporium(III) et de terbium(III) mesurées dans H<sub>2</sub>O et D<sub>2</sub>O, le nombre de molécules d'eau coordonnées  $q$  au centre métallique peut être calculé grâce aux équations de Parker<sup>87</sup> (Equations 3 et 4) et Horrocks<sup>154</sup> (Equation 5) où  $k_{H_2O} = 1/\tau_{H_2O}$  et  $k_{D_2O} = 1/\tau_{D_2O}$ .

$$\text{Parker et al. }^{87} \quad qEu(1) = 1,2(k_{H_2O} - k_{D_2O} - 0,25) \quad (3)$$

$$qTb(1) = 5(k_{H_2O} - k_{D_2O} - 0.06) \quad (4)$$

$$\text{Horrocks et al. }^{154} \quad qEu(2) = 1,11(k_{H_2O} - k_{D_2O} - 0,31) \quad (5)$$

Les valeurs de durée de vie de luminescence  $\tau$  et le nombre de molécules d'eau coordonnées  $q$  sont répertoriées dans le Tableau 33. Comme attendu pour les complexes **EuL1** et **EuL3**, une

molécule d'eau est coordonnée au cation métallique, amenant ainsi la sphère de coordination à 9. Pour **EuL1** et **EuL3**, les valeurs déterminées à partir de l'équation 1 (Parker) sont respectivement  $q = 1,23$  et  $q = 0,94$  contre  $q = 1,07$  et  $q = 0,80$  avec l'équation 2 (Horrocks). Les complexes **TbL1** et **TbL3** sont également mono-hydratés avec  $q = 1,04$  et  $q = 0,75$ . Ces résultats sont en accord avec le nombre de molécules d'eau  $q = 1$  déterminé pour les complexes **YL1** et **YL3** par RMN  $^{89}\text{Y}$ .

Pour le complexe **EuL2**, les valeurs  $q = 0,36$  et  $q = 0,27$  confirment la présence d'un équilibre entre les deux espèces  $q = 0$  et  $q = 1$ , pouvant a priori correspondre au dimère non hydraté, observé à l'état solide par DRX, et au monomère hydraté. Cependant, les mesures effectuées pour le complexe **TbL2** indiquent l'absence de molécule d'eau, pouvant s'expliquer par un rayon ionique de l'ion  $\text{Tb}^{3+}$  plus faible que celui de l'ion  $\text{Eu}^{3+}$  et donc une sphère de coordination réduite empêchant la présence d'une dixième coordination. Enfin, aucune molécule d'eau ne coordine les ions  $\text{Eu(III)}$  et  $\text{Tb(III)}$  pour les complexes **EuL4** et **TbL4**.

M(III)	Ligands	$\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ (ms)	$\tau_{\text{D}_2\text{O}}$ (ms)	$k_{\text{H}_2\text{O}}$	$k_{\text{D}_2\text{O}}$	qLn(1)	qLn(2)
<b>Eu(III)</b>	<b>L1</b>	0,58	2,25	1,72	0,44	1,23	1,07
	<b>L2</b>	0,98	2,12	1,02	0,47	0,36	0,27
	<b>L3</b>	0,66	2,11	1,51	0,47	0,94	0,80
	<b>L4</b>	1,52	2,07	0,66	0,48	-0,09	-0,15
<b>Tb(III)</b>	<b>L1</b>	1,71	3,15	0,59	0,32	1,04	-
	<b>L2</b>	2,48	2,79	0,40	0,36	-0,07	-
	<b>L3</b>	1,68	2,59	0,60	0,39	0,75	-
	<b>L4</b>	2,40	2,54	0,42	0,39	-0,19	-

Tableau 33 : Durées de vie de luminescence mesurées pour les complexes **EuL** et **TbL** dans  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{D}_2\text{O}$  et nombre de molécules d'eau coordonnées à l'ion métallique calculé à partir des équations de Parker<sup>87</sup> et Horrocks.<sup>154</sup>

### 3. Rendement quantique

Le rendement quantique est le rapport du nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés. Pour les huit complexes d'euprium(III) et de terbium(III), la mesure du rendement quantique a été effectuée en tampon Tris 0,1 M pH 7,45 avec pour références les complexes tris-dipicolinate  $\text{Cs}_3[\text{Eu}(\text{dpa})_3]$  et  $\text{Cs}_3[\text{Tb}(\text{dpa})_3]$ , synthétisés selon la procédure décrite dans la littérature.<sup>155</sup> L'équation suivante 6 permet de calculer le rendement quantique d'un complexe  $\Phi_{\text{obs}}$  avec une erreur expérimentale de 15% :<sup>80,81</sup>

$$\Phi_{\text{obs}} = \Phi_r \frac{E_x}{E_r} \frac{A_r(\lambda_r)}{A_x(\lambda_x)} \quad (6)$$

avec le rendement quantique de la référence  $\Phi_r$ , l'intégration de l'intensité d'émission du complexe  $E_x$  ou de la référence  $E_r$ , l'absorbance à la longueur d'onde d'excitation ( $\lambda = 279$  nm) du complexe  $A_x$  ou de la référence  $A_r$ .

Les rendements quantiques des complexes **EuL1**, **EuL2**, **EuL3** et **EuL4** sont respectivement de 6, 16, 6 et 22% (Tableau 34). Ces valeurs sont cohérentes avec celles obtenues pour les dérivés macrocycliques fonctionnalisés par des groupements picolinate ou acétate (Tableau 34, Figure 99). Comme attendu, le complexe **EuL4**, non-hydraté, présente le rendement quantique le plus élevé avec 22%, proche de la valeur obtenue pour le complexe  $\text{Eu}(\text{DO3A-pic})^-$  ( $\Phi_{\text{obs}} \text{H}_2\text{O} = 24$  %). Cette valeur est supérieure aux rendements quantiques de complexes composés de trois groupements picolinate ( $\text{EuNO}_3\text{PA}$ ,  $\text{Eu}(\text{AMPED-pic})$ ).

Les quatre complexes de terbium(III) présentent des rendements quantiques très élevés, compris entre 22 et 100%. Les deux complexes non-hydratés **TbL2** et **TbL4** atteignent des rendements quantitatifs supérieurs à ceux des complexes  $\text{TbNO}_3\text{PA}$  et **TbPCTMB**, caractérisés par des rendements respectifs de 60 et 51% (Tableau 34). Le rendement quantique du complexe **TbL1** d'une valeur de 66%, reste importante malgré la présence d'une molécule d'eau dans la sphère interne de l'ion Tb(III), en comparaison à celui du complexe **TbL3** de 22%. L'obtention de valeurs de rendements quantiques si élevées traduit le fait que le ligand protège efficacement le cation métallique des interactions avec l'environnement du chélate, ce qui minimise la désexcitation non radiative au profit de l'émission de l'ion Tb(III).<sup>156</sup>

Ligands	Eu(III)		Tb(III)	
	$q$	$\Phi_{\text{obs}} \text{H}_2\text{O}$ (%)	$q$	$\Phi_{\text{obs}} \text{H}_2\text{O}$ (%)
<b>L1</b>	1,2	6	1,0	66
<b>L2</b>	0,4	16	0	< 95
<b>L3</b>	0,9	6	0,8	22
<b>L4</b>	0	22	0	< 95
$\text{H}_3\text{PCTMB}^{15}$	-	-	0,09 - 1,04	51
$\text{H}_3\text{PCTA}^{157, 158, 159}$	2,3-2,4	2,9 / 4,3	2,4	8,3
$\text{H}_3\text{NO}_3\text{PA}^{82}$	0	9	0	60
$\text{H}_3\text{AMPED-pic}^{160}$	0	10	0	20
$\text{H}_4\text{DO3A-pic}^{19}$	0,2	24	0,1	56

Tableau 34 : Nombre de molécules d'eau coordonnées  $q$  et rendement quantique observé  $\Phi_{\text{obs}}$  ( $\Delta = 15\%$ ) des complexes de terbium(III) et d'euporium(III) mesurés en tampon Tris 0,1 M (pH 7,45).

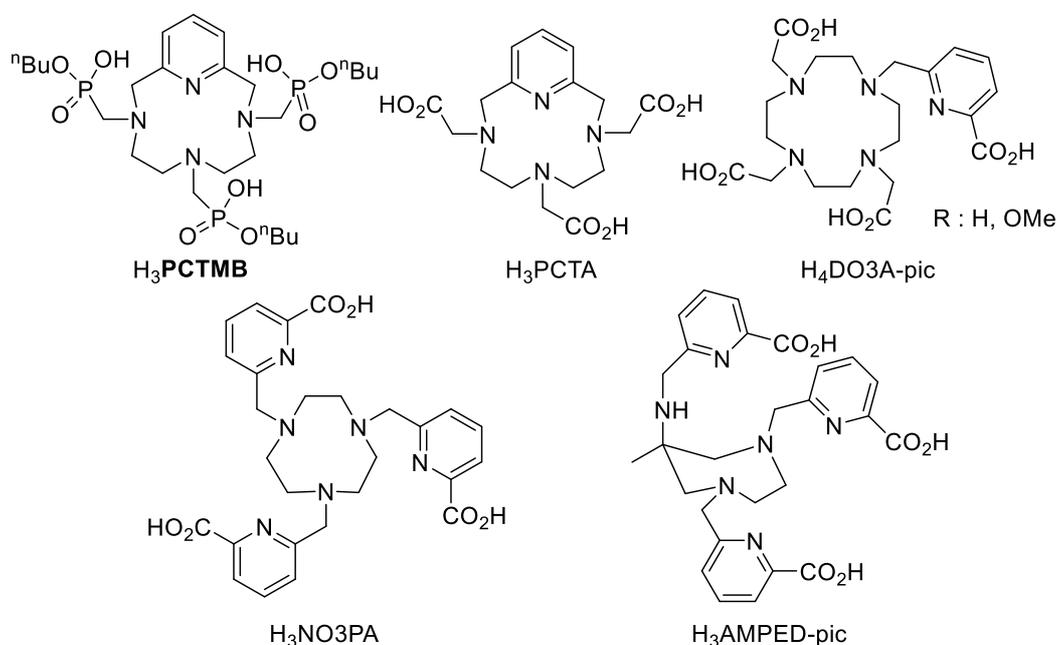


Figure 99 : Structure des ligands discutés dans cette partie.

Le calcul de la durée de vie radiative  $\tau_r$  de l'euporium(III) aide à la compréhension des transferts d'énergie prenant place au sein des complexes **EuL**. En considérant la transition  $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$  de l'euporium(III) comme étant d'origine purement magnétique dipolaire, c'est-à-dire indépendante de l'environnement chimique de l'ion Eu(III), l'équation 7 donne accès à la durée de vie radiative  $\tau_r$ :<sup>160</sup>

$$\frac{1}{\tau_r} = A_{MD,0} n^3 \frac{I_{tot}}{I_{J=1}} \quad (7)$$

Où  $A_{MD,0} = 14,65 \text{ s}^{-1}$  correspond à la probabilité de l'émission spontanée de la transition  $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ ,  $n$  correspond à l'indice de réfraction du solvant (1,333 pour  $\text{H}_2\text{O}$ ),  $I_{tot}$  et  $I_{J=1}$  sont respectivement les intensités de l'émission totale et de la transition  $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ .

Le rendement quantique intrinsèque  $\Phi_{Eu}$  à l'ion Eu(III) peut être calculé à partir de la durée de vie observée dans l'eau  $\tau_{\text{H}_2\text{O}}$  et de la durée de vie radiative de l'euporium(III)  $\tau_r$  (Equation 8).

$$\Phi_{Eu} = \frac{\tau_{\text{H}_2\text{O}}}{\tau_r} \quad (8)$$

Le rendement quantique observé  $\Phi_{\text{Obs}}$  résulte de l'efficacité des transferts d'énergie du ligand au métal suite à la sensibilisation du ligand. Comme détaillé dans le chapitre I avec le diagramme de Jablonski, trois processus interviennent : le croisement intersystème (CIS) de l'état singulet  $\text{S}_1$  à l'état triplet  $\text{T}_1$  du ligand, le transfert d'énergie (TE) de l'état triplet  $\text{T}_1$  du

ligand vers l'état excité de l'ion Eu(III)  $^5D_0$  puis l'émission depuis l'état excité  $^5D_0$  vers l'état fondamental de l'ion Eu(III)  $^7F_J$ . Cette dernière étape est caractérisée par le rendement quantique intrinsèque de l'ion Eu(III)  $\Phi_{Eu}$  qui correspond à la luminescence observée sous l'excitation directe des transitions 4f-4f. Le rendement quantique observé  $\Phi_{Obs}$  est lié au rendement quantique intrinsèque  $\Phi_{Eu}$  par l'équation 9 où  $\eta_{sens}$  désigne l'efficacité de sensibilisation de l'ion Eu(III) (Equation 10).

$$\Phi_{obs} = \eta_{CIS}\eta_{TE}\Phi_{Eu} = \eta_{sens}\Phi_{Eu} \quad (9)$$

$$\eta_{sens} = \frac{\Phi_{obs}}{\Phi_{Eu}} \quad (10)$$

Les valeurs calculées pour l'ensemble des complexes d'euporium(III) sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tableau 35). L'évolution des rendements quantiques  $\Phi_{Eu}$  sur la série de complexes, suit une tendance identique à celle des rendements quantiques observés  $\Phi_{obs}$ . L'efficacité de sensibilisation des quatre complexes d'euporium(III) est comprise entre 38 et 69%. Les valeurs de  $\eta_{sens}$  des complexes **EuL2** (69%) et **EuL4** (58%) témoignent d'un transfert d'énergie efficace contrairement aux valeurs, plus modestes, des complexes **EuL1** (49%) et **EuL3** (38%). L'efficacité de la sensibilisation est limitée par la différence d'énergie entre l'état triplet  $T_1$  du ligand et l'état excité  $^5D_0$  de l'ion Eu(III). Une faible valeur de  $\eta_{sens}$  est synonyme d'un écart trop important entre ces deux niveaux d'énergie.<sup>160</sup>

Complexes	$\Phi_{obs}$	$I_{J=1}/I_{tot}$	$\tau_r$ (ms)	$\Phi_{Eu}$	$\eta_{sens}$
<b>EuL1</b>	6	0,17	4,78	0,12	0,49
<b>EuL2</b>	16	0,15	4,22	0,23	0,69
<b>EuL3</b>	6	0,15	4,20	0,16	0,38
<b>EuL4</b>	22	0,14	3,98	0,38	0,58

Tableau 35 : Valeurs de  $\tau_r$ ,  $\Phi_{Eu}$ ,  $\eta_{sens}$  calculées à partir des valeurs expérimentales  $\Phi_x$  et  $I_{J=1}/I_{tot}$ .

Grâce aux études réalisées sur les complexes **EuL**, **TbL** et **YL**, nous avons démontré la mono-hydratation des centres métalliques des complexes formés avec les ligands **L1** et **L3** et l'absence de molécule d'eau dans la sphère de coordination des complexes Ln**L4**. Le comportement des complexes Ln**L2** diffère d'un métal à un autre. Étudiés à l'état solide ou en solution, les complexes **YbL2**, **TbL2** et **YL2** présentent une sphère de coordination  $N_6O_3$  sans molécule d'eau coordonnée. Le comportement du complexe **EuL2** est quant à lui inhabituel : le

rayon ionique plus important de l'ion  $\text{Eu}^{3+}$  autorise la présence d'une dixième coordination générant ainsi un équilibre en solution entre le dimère ( $q = 0$ ) et le monomère ( $q = 1$ ).

Ainsi, caractérisés par des rendements quantiques élevés et des longues durées de vie de luminescence, les complexes **EuL4** et **TbL4**, non hydratés, sont intéressants pour une application en imagerie optique. Les propriétés du chélate **EuL2** semblent également intéressantes, néanmoins sa spéciation en solution reste à éclaircir. Enfin, même si la présence d'une molécule d'eau dans la sphère interne des complexes de gadolinium(III) doit être confirmée par des mesures de relaxivité, les complexes **GdL1** et **GdL3** semblent prometteurs pour une utilisation en tant qu'agent de contraste pour l'IRM.

## V. Etude des complexes GdL

Grâce aux études photophysiques et à la RMN de l'yttrium 89, la présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination a pu être démontrée pour les complexes d'euporium(III), de terbium(III) et d'yttrium(III) formés avec les ligands **L1** et **L3**. Ainsi, la formation de complexes **GdL1** et **GdL3** mono-hydratés peut-être affirmée. Afin d'évaluer la potentielle utilisation des complexes **GdL** comme agents de contraste pour l'IRM, cette partie présentera les mesures de relaxivité, les propriétés de stabilité thermodynamique et les études de stabilité en milieu compétiteur. Les quatre complexes de gadolinium(III) ont été étudiés, le complexe **GdL4** servira de référence pour  $q = 0$ . La relaxivité, les constantes de stabilité thermodynamique ainsi que l'inertie en milieu acide des complexes **GdL** ont été mesurées par l'équipe du Pr. Gyula Tircsó. L'étude de transmétallation a été effectuée au sein du groupe Guerbet.

### 1. Mesure de relaxivité

La grandeur de relaxivité  $r_1$ , reflète l'efficacité d'un agent de contraste à accélérer la vitesse de relaxation  $R_1$  des protons des molécules d'eau. La présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination du gadolinium(III), et son échange avec l'environnement aqueux à proximité de l'agent de contraste, permet de disperser l'effet paramagnétique à l'origine de la diminution du temps de relaxation. Cet échange de molécules d'eau se fait par des mécanismes de sphère interne et de sphère externe, expliqués au cours du chapitre I. Dans le cas des agents de contraste à faible poids moléculaire, la coordination de molécules d'eau au cation métallique contribue de façon importante à la grandeur de relaxivité.

La relaxivité étant proportionnelle à la concentration en agent de contraste, elle peut être déterminée expérimentalement en mesurant la vitesse de relaxation pour une gamme de concentration en agent paramagnétique [Gd]. La pente de la droite donne accès à la relaxivité  $r_1$  (Equation 11).

$$R_1(obs) = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{dia} + r_1[Gd] \quad (11)$$

Les mesures ont été effectuées à différentes concentrations de **GdL** à 20 MHz à une température de 25°C. Les valeurs sont répertoriées dans le tableau suivant (Tableau 36). Les complexes mono-hydratés **GdL1** et **GdL3** ont comme relaxivité respective  $r_1 = 4,74 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  et  $r_1 = 4,95 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . La relaxivité du complexe **GdL4**, pour lequel  $q = 0$ , atteint  $2,10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . Le complexe **GdL2** a, quant à lui, une relaxivité intermédiaire de  $3,58 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , ce qui corrobore l'équilibre  $q = 0 / q = 1$  mesuré lors des études photophysiques menées avec le complexe **EuL2**. Le complexe **GdL2** aurait donc un comportement proche de son analogue **EuL2**. Toutes ces relaxivités sont inférieures à celle du complexe GdPCTA ( $r_1 = 6,9 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ), où la sphère interne de l'ion  $\text{Gd}^{3+}$  est composée de deux molécules d'eau. Les relaxivités des complexes **GdL1** et **GdL3** sont supérieures à la relaxivité du complexe GdDOTA<sup>-</sup> (Dotarem®) pour lequel  $r_1 = 4,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . En comparaison aux agents de contraste commerciaux utilisés pour l'IRM hépatobiliaire (EOB-DTPA et BOBPTA), la relaxivité des complexes **GdL1** et **GdL3** est légèrement inférieure (Tableau 36).

	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	PCTA <sup>18</sup>	DOTA <sup>18</sup>	EOB-DTPA <sup>18</sup>	BOBPTA <sup>18</sup>
$r_1 (\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	4,74	3,58	4,95	2,10	6,9	4,2	5,3 (à 37°C)	5,2
$q$	1	0,4	1	0	2	1	1	1

Tableau 36 : Valeurs de relaxivité  $r_1$  mesurées à 25°C et 20 MHz.

## 2. Stabilité thermodynamique

La coordination d'une ou plusieurs molécules d'eau au cation métallique paramagnétique, nécessaire à la technique d'IRM, peut être défavorable pour la stabilité thermodynamique du complexe. Cependant, au vu des excellentes constantes déterminées pour les complexes **YL**, nous pouvons nous attendre à la formation de complexes **GdL** tout aussi stables thermodynamiquement.

Les constantes de stabilité thermodynamique des complexes **GdL** ont été déterminées par relaxométrie. Seule la constante  $\log K_{GdL}$  a pu être mesurée (Tableau 37). Pour les quatre

complexes, les constantes  $\log K_{GdL}$  sont comprises entre 20,49 et 23,56 contre 20,39 pour le GdPCTA et 25,3 pour le GdDOTA<sup>-</sup>. Les constantes pGd ont été calculées à partir des constantes de protonation des ligands et de stabilité des complexes pour  $[L] = 10 \times [Gd^{3+}] = 10^{-5} M$  à pH 7,4. Le pGd du complexe GdL1, d'une valeur de 18,7, est supérieur au pGd du GdPCTA (17,0) et légèrement inférieur à celui du GdDOTA (19,2). Les trois autres complexes présentent des pGd largement supérieurs à celui du complexe GdDOTA<sup>-</sup>, avec des valeurs de 20,7, 20,3 et 21,8, respectivement pour GdL2, GdL3 et GdL4. Ainsi, le complexe GdL3, caractérisé par une relaxivité ( $r_1 = 4,95 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et une stabilité thermodynamique (pGd = 20,3) supérieures au produit de référence GdDOTA<sup>-</sup> ( $r_1 = 4,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , pGd = 19,2), est un excellent candidat pour une application en IRM. La stabilité très élevée du complexe GdL4 peut être soulignée avec un pGd supérieur à celui du GdDOTA<sup>-</sup> de près de 2,6 unités de log, pouvant s'expliquer par l'apport de 9 atomes coordinants via le ligand L4 contre 8 pour le DOTA.

	L1	L2	L3	L4	PCTA <sup>14</sup>	DOTA <sup>29</sup>
<i>I</i>	0,15 M NaCl	0,15 M NaCl	0,15 M NaCl	0,15 M NaCl	1,0 M KCl	0,1 M Me <sub>4</sub> NNO <sub>3</sub>
<i>NC</i>	8	9	8	9	7	8
<i>organisation</i>	Sym	Sym	Disym	Disym	-	-
$\log K_{ML}$	20,49(2)	23,56(2)	22,37(3)	23,44(2)	20,39	25,3
pGd <sup>a</sup>	18,7	20,7	20,3	21,8	17,0	19,2

<sup>a</sup> pGd =  $-\log[Gd^{3+}]$ , constantes calculées pour  $[L] = 10 \times [M] = 10^{-5} M$  à partir des constantes de protonation détaillées précédemment et des  $\log K_{ML}$ .

Tableau 37 : Constantes de stabilité thermodynamique  $\log K_{GdL}$  et constantes pGd des complexes GdL1, GdL2, GdL3 et GdL4 en comparaison aux complexes de la littérature.

La stabilité des complexes de gadolinium(III) suit la même tendance que celle mesurée pour les complexes d'yttrium(III) (Chapitre II.3). Les stabilités des complexes issus des ligands L3 et L4, N-fonctionnalisés de façon non symétrique, témoignent une fois de plus, de l'importance de l'arrangement des atomes coordinants. A nombre de coordination égal, les pGd des complexes monopicolinate, GdL1 et GdL3, augmentent de 18,7 à 20,3. Ceux des complexes GdL2 et GdL4 passent de 20,7 à 21,8 (Tableau 37).

### 3. Stabilité en milieu compétiteur

Pour évaluer le comportement d'un agent de contraste en milieu biologique, l'inertie cinétique prévaut sur la stabilité thermodynamique. Celle des quatre complexes a été mesurée dans deux milieux compétiteurs : en milieu acide et en présence d'ions Zn<sup>2+</sup>.

a. En milieu acide

Comme expliqué dans le chapitre I, plusieurs grandeurs permettent de caractériser l'inertie cinétique d'un chélate : le temps de demi-vie  $t_{1/2}$  et la constante de dissociation  $k_{obs}$  qui sont liées par l'équation :  $t_{1/2} = \ln(2)/k_{obs}$ . La dissociation d'un complexe en milieu acide peut s'effectuer selon plusieurs procédés dont le passage par l'espèce monoprotonée LnLH ou encore l'espèce diprotonée LnLH<sub>2</sub>.<sup>161</sup> Le tracé de la constante de dissociation observée  $k_{obs}$  en fonction de la concentration en acide  $[H^+]$  permet de connaître le processus de dissociation mais donne également accès aux valeurs de  $t_{1/2}$ . Les études cinétiques menées sur les complexes **GdL** ayant été réalisées par l'équipe du Pr. Gyula Tircsó, nous emploierons uniquement dans cette partie les valeurs de  $t_{1/2}$  calculées à partir des constantes  $k_{obs}$ .

Les valeurs de  $t_{1/2}$  calculées pour  $[H^+] = 0,1$  M des quatre complexes GdL suivent la même tendance observée pour les complexes d'yttrium(III) (Tableau 38). Avec un  $t_{1/2}$  de 52 jours en milieu HCl 0,1M, le complexe **GdL4** est plus inerte que le GdDOTA<sup>-</sup> qui présente un  $t_{1/2}$  de 45 jours. Les complexes **GdL1** et **GdL3**, N-fonctionnalisés par un seul groupement picolinate, sont caractérisés par des  $t_{1/2}$  respectifs de 167 et 542 min. Ainsi, l'inertie cinétique des complexes croît dans l'ordre suivant **GdL1** < EuPCTA < **GdL3** < **GdL2** < GdDOTA<sup>-</sup> ~ **GdL4**. Dans le chapitre précédent, nous avons vu dans le cas du complexe **YL1** que le manque de stabilité et d'inertie du complexe était lié à la labilité d'une liaison entre un groupement carboxylate et le métal. Ce constat s'appliquerait également pour le complexe **GdL1** qui possède le plus faible  $t_{1/2}$ .

	<b>GdL1</b>	<b>GdL2</b>	<b>GdL3</b>	<b>GdL4</b>	EuPCTA	GdDOTA <sup>-</sup>
NC	8	9	8	9	7	8
organisation	Sym	Sym	Disym	Disym	-	-
$t_{1/2}$ [H <sup>+</sup> ] = 0,1 M	167 min	844 min	542 min	52 jours	227 min	45 jours
$t_{1/2}$ [H <sup>+</sup> ] = 0,5 M	33 min	207 min	108 min	75 h	45 min	214 h
$k_1$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	(6,9±0.1) ×10 <sup>-4, a</sup>	(1,45±0.07) ×10 <sup>-4, b</sup>	(2,13±0.08) ×10 <sup>-4, a</sup>	(6,3±0.2) ×10 <sup>-7, c</sup>	5,08×10 <sup>-4, d</sup>	1,8×10 <sup>-6, d</sup>
$k_2$ (M <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	—	—	—	(9,0±0.8) ×10 <sup>-6</sup>		
$K_H$	—	0,60±0.11	—	—		

<sup>a</sup>  $k_{obs}=k_1 \times [H^+]$ , <sup>b</sup>  $k_{obs}=(k_1 \times [H^+]) / (1 + K_H \times [H^+])$ , <sup>c</sup>  $k_{obs}=k_1 \times [H^+] + k_2 \times [H^+]^2$ , <sup>d</sup> Ref<sup>14</sup>.

Tableau 38 : Constantes de dissociation mesurées et  $t_{1/2}$  calculés pour les complexes **GdL** en comparaison aux complexes EuPCTA et GdDOTA<sup>-</sup>.

Parmi les quatre complexes, seuls **GdL1** et **GdL3** possèdent une molécule d'eau coordonnée au cation métallique. Au vu de sa stabilité thermodynamique ( $pGd = 20,3$ ), de son inertie cinétique ( $t_{1/2} = 542$  min HCl 0,1M) et de sa relaxivité ( $r_1 = 4,95$  mM<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>), le complexe **GdL3** est adapté pour une utilisation in vivo en tant qu'agent de contraste pour l'IRM.

b. En présence de Zn<sup>2+</sup>

L'inertie des complexes de Gd(III) peut également être déterminée en évaluant le processus de transmétallation en présence de cations endogènes dont Zn<sup>2+</sup>. L'expérience consiste à mesurer la relaxivité  $r_1$  (20 MHz, 37°C) d'un complexe de gadolinium (III) en présence d'un équivalent de cation métallique (ZnCl<sub>2</sub>, 2,5 mM) en milieu tampon phosphate pH 7 (500 mM). Lors du processus de transmétallation, les ions Gd<sup>3+</sup> dissociés précipitent sous la forme de GdPO<sub>4</sub> et ne contribuent plus à la relaxivité mesurée. Le suivi de la grandeur  $r_1$  en fonction du temps permet donc d'évaluer ce processus de transmétallation.

Cette réaction d'échange a été effectuée pour les complexes **GdL1** et **GdL3** puis comparée à trois agents de contraste commerciaux dont deux dérivés macrocycliques (Dotarem<sup>®</sup>, Gadovist<sup>®</sup>) et un linéaire (Omniscan<sup>®</sup>) (Figure 100). Jusqu'à  $t = 100$  h, la relaxivité mesurée pour nos deux dérivés peut être considérée comme constante avec une valeur identique à la valeur initiale et un comportement semblable aux dérivés macrocycliques commerciaux (Figure 101). A partir de  $t = 100$  h, une diminution progressive de la relaxivité est observée, ce qui reflète le processus de transmétallation avec Zn<sup>2+</sup>. Même si cette stabilité est inférieure à long terme à celle des dérivés du DOTA, elle reste cependant très satisfaisante pour une application en IRM. Elle vient corroborer également les études précédentes de stabilité et d'inertie. Il est à noter l'instabilité du dérivé linéaire Omniscan<sup>®</sup> pour lequel une chute de la relaxivité est observée en seulement une heure, ce qui explique les problèmes de toxicité rencontrés avec ce produit ainsi que son retrait du marché.

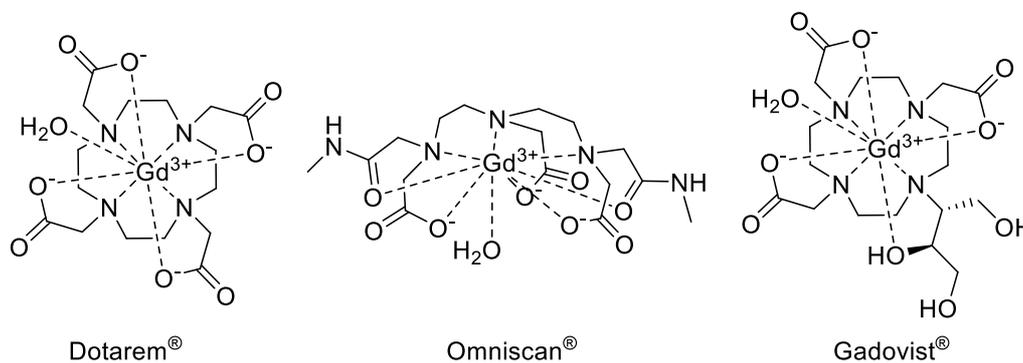


Figure 100 : Agents de contraste commerciaux discutés dans cette partie.

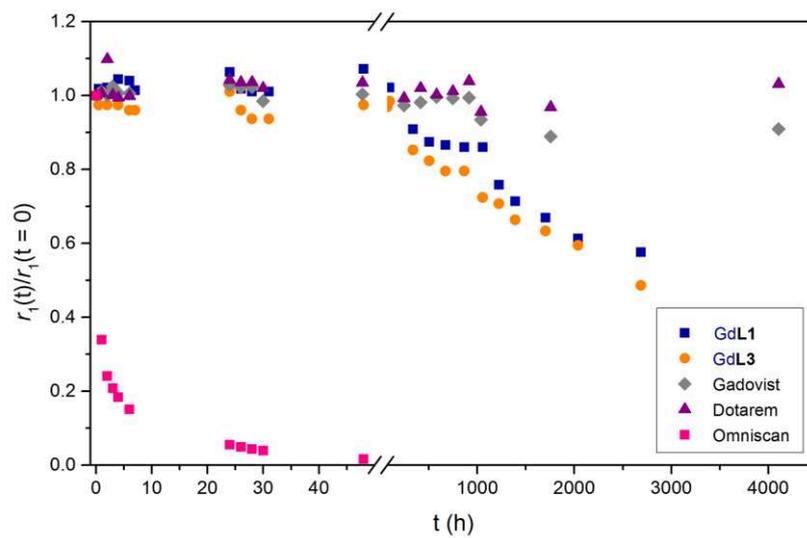


Figure 101 : Suivi de la dissociation des chélates **GdL1**, **GdL3** et d'agents de contraste commerciaux réalisé en milieu  $\text{ZnCl}_2$  (2,5 mM), tampon phosphate pH 7 (500 mM) avec  $C_{\text{GdL}} = 2,5$  mM.

## Conclusion du chapitre III

La proximité des propriétés de coordination des ions  $Y^{3+}$  et  $Gd^{3+}$ , nous a amené à étudier les complexes de gadolinium(III) formés avec les quatre nouveaux ligands dérivés du pyclyen, dans le but d'une application en IRM du foie. En plus de répondre aux critères de stabilité et d'inertie imposés par le milieu biologique, un agent de contraste doit posséder une molécule d'eau dans sa sphère de coordination ainsi qu'une relaxivité élevée. Un caractère lipophile est également recherché pour favoriser l'élimination de l'agent de contraste par les voies hépatiques et ainsi imager le foie. L'objectif de ce chapitre a été d'estimer le potentiel d'utilisation de ces complexes de gadolinium(III) comme agents de contraste hépatobiliaires.

A cet effet, les complexes d'yttrium(III), d'euporium(III), d'ytterbium(III), de terbium(III) et de gadolinium(III), formés avec les quatre nouveaux dérivés du pyclyen, ont été synthétisés. Grâce au développement d'une équation corrélant le déplacement chimique du noyau  $^{89}Y$  à son environnement de coordination, la RMN de l'yttrium 89, nous a permis de mettre en évidence la présence d'une molécule d'eau coordonnée pour les complexes **YL1** et **YL3**. Ces résultats ont été confirmés d'une part, à l'état solide grâce à la structure RX du complexe **YbL3** pour lequel la coordination d'une molécule d'eau a été observée et, d'autre part en solution, avec les études photophysiques menées sur les complexes d'euporium(III) et de terbium(III) démontrant la mono-hydratation des complexes **EuL1**, **EuL3**, **TbL1** et **TbL3**. Pour **EuL2**, un équilibre entre une espèce mono-hydratée ( $q = 1$ ) et non-hydratée ( $q = 0$ ) a été observé et correspondrait à un échange rapide entre le dimère, observé à l'état solide, et le monomère. Les complexes **LnL4** étudiés ne possèdent pas de molécule d'eau coordonnée.

Ces résultats concordent avec la relaxivité des complexes de gadolinium(III). Les complexes mono-hydratés présentent les valeurs de relaxivité les plus élevées :  $r_1 = 4,74 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  pour **GdL1** et  $r_1 = 4,95 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  pour **GdL3**, supérieures à celle du complexe de référence  $GdDOTA^-$  ( $r_1 = 4,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ). La stabilité thermodynamique et l'inertie cinétique des complexes de Gd(III) suivent une tendance identique à celles mesurées pour les complexes d'Y(III). Même s'il ne possède pas de molécule d'eau coordonnée, il faut souligner les excellentes propriétés du complexe **GdL4** ( $pGd = 21,45$ ,  $t_{1/2} = 54 \text{ j}$ ) qui sont supérieures à celle du  $GdDOTA^-$  ( $pGd = 19,2$ ,  $t_{1/2} = 45 \text{ j}$ ). Le complexe **GdL3** présente une inertie cinétique élevée ( $t_{1/2} = 542 \text{ min}$ ) ainsi qu'une excellente stabilité thermodynamique ( $pGd = 20,3$ ). Les propriétés plus faibles du complexe **GdL1** peuvent être attribuées à la labilité d'un groupement coordinant présent en position apicale. Enfin, l'étude de stabilité en milieu  $Zn^{2+}$  a permis de démontrer la bonne stabilité des chélates face aux processus de transmétallation où un comportement

identique a été observé pour les complexes **GdL1** et **GdL3**.

Ainsi, parmi les complexes mono-hydratés, **GdL3** réponds le mieux aux critères nécessaires pour une application in vivo avec une stabilité et une inertie adaptées au milieu biologique. Même si nous devons encore évaluer si la neutralité du complexe et la lipophilie amenée par le noyau pyridinique du cyclen sont suffisantes pour imager le foie, ce complexe présente d'ores et déjà des propriétés supérieures aux dérivés linéaires commerciaux utilisés pour l'IRM hépatobiliaire.

---

## Conclusion générale

---



Cette thèse CIFRE est issue d'une étroite collaboration entre l'entreprise Guerbet et l'équipe brestoise du Pr Raphaël Tripier, toutes deux spécialisées dans le développement de produits de thérapie et de diagnostic. Ce travail de thèse a consisté en la synthèse et l'étude de dérivés du pyclyen (3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-triene) pour la complexation de l' $^{90}\text{Y}^{3+}$  et du  $\text{Gd}^{3+}$  pour des applications respectives en radiothérapie et en IRM et plus spécifiquement pour le traitement et le diagnostic du cancer du foie. Notre objectif a été de développer des chélates stables et inertes répondant aux critères imposés par le milieu biologique. La neutralité et la lipophilie des chélates ont également été recherchées pour favoriser l'accumulation des produits d'imagerie ou de thérapie dans le foie, d'autant plus que la technique de radiothérapie interne repose sur l'injection du radiothérapeutique en mélange avec une huile iodée (Lipiodol). Afin de répondre à ces problématiques, nous avons mis à profit les propriétés de coordination des polyazacycloalcanes. Notre choix s'est porté sur le macrocycle pyclyen, encore peu étudié dans la littérature, mais dont les résultats publiés démontrent la capacité de ses dérivés à complexer rapidement les ions lanthanides(III) en plus de former des chélates stables et inertes, adaptés à des applications *in vivo*.

Le premier axe de recherche a été dédié au développement de chélates d'Y(III) stables thermodynamiquement et inertes cinétiquement en vue d'une application en radiothérapie interne avec l'yttrium 90.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés au ligand  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  disponible au sein du groupe Guerbet (Chap. II.2). Il s'agit d'un dérivé du pyclyen N-fonctionnalisé par trois groupements monobutyl-méthylphosphonate (Figure 102) qui forme avec l'yttrium(III) un complexe lipophile et non-chargé. Cette étude a permis de mettre en évidence une formation rapide du complexe d'yttrium(III) ainsi qu'une stabilité thermodynamique ( $\text{pY} = 16,9$ ) et une inertie cinétique ( $t_{1/2, \text{HCl } 1\text{M}} = 20 \text{ min}$ ) proche du chélate YPCTA ( $\text{pY} = 17,0$ ,  $t_{1/2, \text{HCl } 1\text{M}} = 39 \text{ min}$ ), actuellement une des références pour la formation de chélates neutres de l'yttrium 90. Cependant, la solubilité du radiochélate dans le Lipiodol étant insuffisante, le complexe n'est pas adapté à une utilisation en radiothérapie interne pour le traitement du cancer du foie.

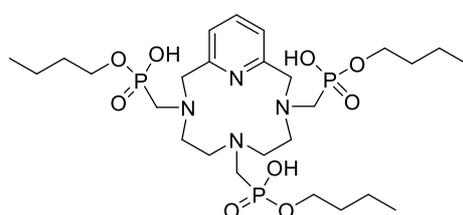


Figure 102 : Ligand  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  étudié pour la complexation de l'yttrium(III) (Chap.II.2).

Ayant également pour objectif de développer des chélates à stabilité thermodynamique et inertie cinétique élevées, proches de celle du complexe de référence YDOTA<sup>-</sup>, nous avons entrepris la synthèse de quatre nouveaux dérivés du pyclen, N-fonctionnalisés par des groupements picolinate et acétate arrangés de façon symétrique ou non-symétrique (Chap.II.3). En association avec les macrocycles, les groupements picolinate ont démontré une très grande capacité à former des complexes stables et inertes, c'est pourquoi le développement de dérivés du pyclen N-fonctionnalisés par de tels groupements nous a semblé pertinent.

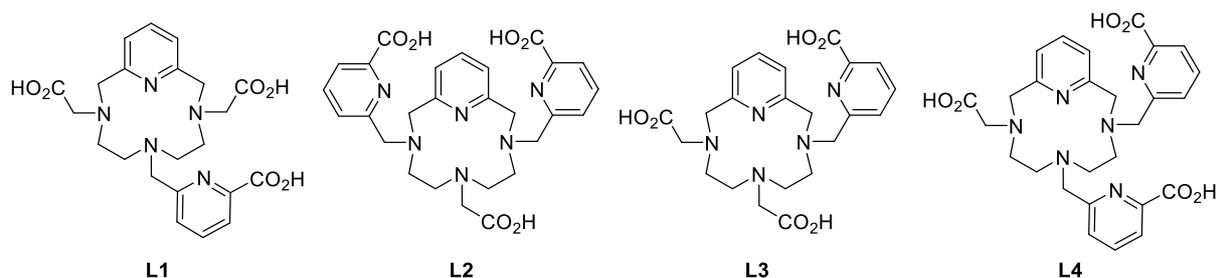


Figure 103 : Dérivés du pyclen synthétisés au cours du chapitre II.3 et étudiés pour la complexation de l'yttrium(III) (Chap. II.2) et du gadolinium(III) (Chap.III.2).

La synthèse de ces quatre nouveaux dérivés du pyclen a nécessité le développement de deux voies de N-fonctionnalisation régiospécifiques. La synthèse des dérivés **L1** et **L2** N-fonctionnalisés de façon symétrique a été effectuée par construction du macrocycle pyclen (Figure 104.A) selon des voies décrites dans la littérature.<sup>130</sup> La synthèse des dérivés N-fonctionnalisés de façon non symétrique a nécessité le développement d'une voie de protection du macrocycle pyclen (Figure 104.B). Grâce à la protection par un « pont oxalate », les ligands **L3** et **L4** ont été synthétisés avec succès.

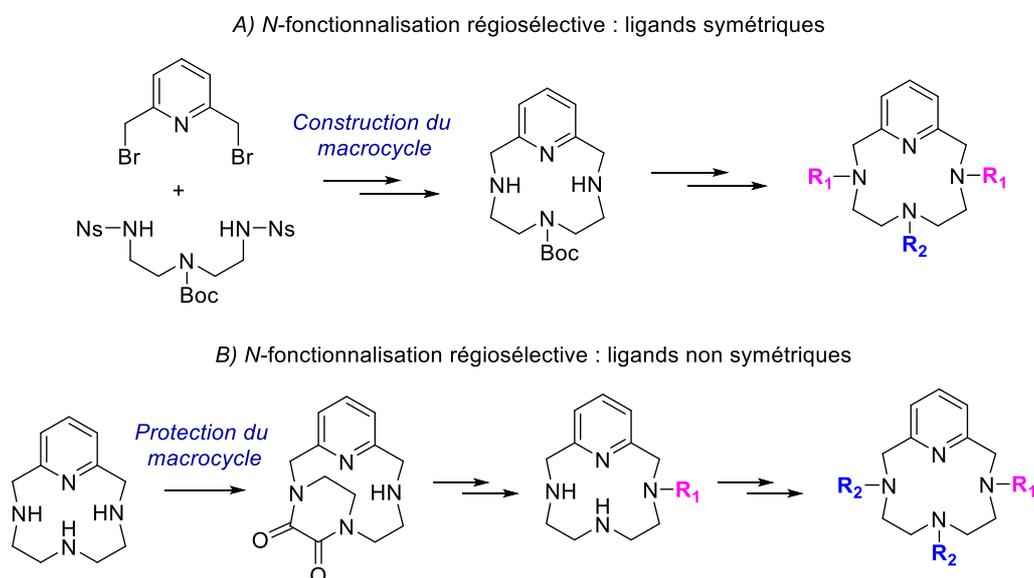


Figure 104 : Voies de N-fonctionnalisation développées pour la synthèse des dérivés du pyclen.

Les études structurales et physico-chimiques menées sur les quatre complexes d'yttrium(III) ont mis en évidence d'une part, la formation très rapide des quatre complexes et, d'autre part, la stabilité et l'inertie élevées des trois chélates **YL2**, **YL3** et **YL4**. Les constantes  $pY$ , caractéristiques de la stabilité thermodynamique des complexes augmentent de la façon suivante : PCTA (17,0) < **L1** (18,14) < DOTA (18,9) << **L3** (20,33) < **L2** (20,49) < **L4** (21,45) et l'inertie cinétique ( $t_{1/2, HCl\ 1M}$ ) évolue dans l'ordre croissant suivant : **L1** (27 min) < PCTA (39 min) < DOTA (77 min) < **L2** (140 min) < **L3** (357 min) < **L4** (698 h), démontrant ainsi la forte stabilité et la forte inertie cinétique des dérivés **YL2**, **YL3** et **YL4** en comparaison au produit de référence YDOTA<sup>-</sup>.

Le radiomarquage des quatre ligands à l'yttrium 90 a permis d'obtenir des radiochélates avec une PCR (Pureté radiochimique) supérieure à 95% excepté dans le cas du ligand **L1** pour lequel la PRC atteint seulement 85%. Les études de stabilité des radiochélates ont démontré, une fois de plus, la stabilité et la résistance des radiocomplexes à la transchélation et à la transmétallation. Les deux types de N-fonctionnalisation ont également permis de confirmer l'importance de l'organisation des atomes coordinants et son influence sur les propriétés des chélates. En effet, nous avons pu constater l'augmentation importante de la stabilité thermodynamique et de l'inertie cinétique lors du passage des chélates N-fonctionnalisés de façon symétrique aux non symétriques.

Ainsi, nous avons atteint notre objectif puisque les complexes **YL2**, **YL3** et **YL4** présentent des meilleures propriétés que les chélates de référence YDOTA<sup>-</sup> et YPCTA et qu'ils répondent aux critères nécessaires pour une application en milieu biologique avec l'yttrium 90. Pour favoriser leur solubilisation dans le Lipiodol, nous avons ensuite synthétisé un analogue lipophile.

La suite des travaux a donc consisté à fonctionnaliser les groupements picolinate en position para de la pyridine par des chaînes alkyles en C12 (Chap.II.4) afin d'augmenter le caractère lipophile du chélate sans modifier les excellentes propriétés de coordination du ligand. Ce type de fonctionnalisation a été motivé par la simplicité du motif inséré ainsi que par la richesse de sa littérature. Nous avons choisi de synthétiser l'analogue lipophile **L5** du ligand le plus efficace sélectionné grâce aux études précédentes (**L4**) (Figure 105). L'introduction de deux chaînes alkyles en C12 a été choisie afin de favoriser la solubilité dans le Lipiodol qui était insuffisante dans le cas du <sup>90</sup>YPCTMB, fonctionnalisé par trois chaînes n-butyle. La présence de ces deux chaînes lipophiles en C12, a rendu les étapes de synthèse et de purification plus délicates. Toutefois, le radiochélate <sup>90</sup>YL5 a été synthétisé avec succès. Sa solubilité dans le Lipiodol à hauteur de 90% ainsi que la stabilité du système <sup>90</sup>YL5/Lipiodol en sérum physiologique sur une semaine, témoignent du potentiel du ligand **L5** à être utilisé en

radiothérapie interne pour le traitement du cancer du foie. L'objectif suivant est d'étudier le comportement de ce système *in vivo* pour conforter les résultats obtenus jusqu'à présent. La variation de la longueur des chaînes lipophiles ainsi que leur nature sont actuellement en cours d'étude pour évaluer leur impact quant à la solubilité et la stabilité du chélate dans le Lipiodol.

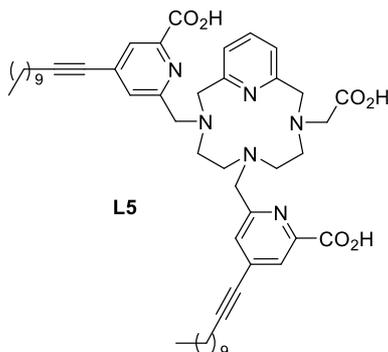


Figure 105 : Ligand lipophile **L5** développé pour une application en radiothérapie interne avec l'yttrium 90.

Forts de ces résultats obtenus avec les complexes d'yttrium(III) et grâce à la similarité des propriétés de coordination des ions  $Y^{3+}$  et  $Gd^{3+}$ , nous avons souhaité évaluer le potentiel des complexes de gadolinium(III) à être utilisés comme agent de contraste IRM (Chap.III.2) avec pour objectif d'obtenir une paire « théranostic » permettant le diagnostic et le traitement de la tumeur. La lipophilie apportée par la pyridine du pyclen ainsi que la neutralité des complexes permettraient une élimination par le foie et ainsi la visualisation de tumeurs hépatocellulaires.

Dans un premier temps, plusieurs méthodes ont été mises à profit pour déterminer le nombre de molécules d'eau coordonnées : la RMN de l'yttrium 89 ainsi que les propriétés photophysiques des complexes d'euporium(III) et de terbium(III). Ces études ont démontré la coordination d'une molécule d'eau au centre métallique pour les complexes **GdL1** et **GdL3** et donc une potentielle utilisation de ces chélates en tant qu'agent de contraste.

Nous avons ensuite étudié la relaxivité, l'inertie cinétique et la stabilité thermodynamique des quatre complexes de gadolinium(III). Les résultats de relaxivité coïncident avec le nombre de molécules d'eau déterminé précédemment et sont en accord avec les valeurs classiquement obtenues pour des petites molécules mono-hydratées ( $r_1 \approx 4 - 5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ). La stabilité thermodynamique ( $pGd$ ) des complexes de Gd(III) augmente de la façon suivante : PCTA (17,0) < **L1** (18,7) < DOTA (19,2) < **L3** (20,3) < **L2** (20,7) < **L4** (21,8) et leur inertie cinétique ( $t_{1/2, HCl\ 0,1M}$ ) croît selon l'ordre suivant : **L1** (167 min) < PCTA (227 min) < **L3** (542 min) < **L2** (844 min) << DOTA (45 j) ~ **L4** (52 j). Ainsi, parmi les deux chélates mono-hydratés, le complexe **GdL3** présente d'excellentes propriétés de stabilité thermodynamique et d'inertie cinétique compatibles avec le milieu biologique. L'objectif

suivant sera d'évaluer le comportement du chélate **GdL3** in vivo pour savoir si l'élimination par le foie est favorisée. Dans le cas contraire, une augmentation de la lipophilie du ligand est envisageable comme démontré lors du chapitre II.4 avec le ligand **L5**.

Enfin, l'étude photo-physique des complexes d'euprium(III) et de terbium(III) a mis en évidence le potentiel des nouveaux dérivés du cyclen à être utilisés en imagerie optique. L'absence de molécule d'eau coordonnée au cation métallique pour les complexes **EuL4**, **TbL2** et **TbL4** permet d'atteindre de longues durées de vie de luminescence (1,52, 2,48 et 2,40 ms respectivement) et des rendements quantiques quantitatifs dans le cas des complexes de terbium(III), démontrant ainsi l'efficacité du transfert d'énergie entre le ligand et l'ion Ln(III).

En conclusion, ce travail de thèse a permis de développer une série de ligands aptes à complexer rapidement et de façon stable et inerte les ions Y(III) et Gd(III) pour des applications en radiothérapie et en IRM pour le traitement et le diagnostic du cancer du foie. Suite à ces travaux, nous pouvons envisager la modification de la structure de certains ligands pour étendre le champ d'application. De nombreuses stratégies sont envisageables :

**En imagerie optique :** nos dérivés du cyclen peuvent également être modifiés pour être utilisés comme sondes luminescentes avec l'Eu(III), le Tb(III) ou encore l'Yb(III). Comme déjà étudiée avec le dérivé du cyclen MeDODPA<sup>+</sup>,<sup>9</sup> l'introduction d'antennes en position para des groupements picolinate pourrait mener à une augmentation de la brillance (Figure 106). Le développement de tels composés est actuellement en cours dans notre laboratoire.

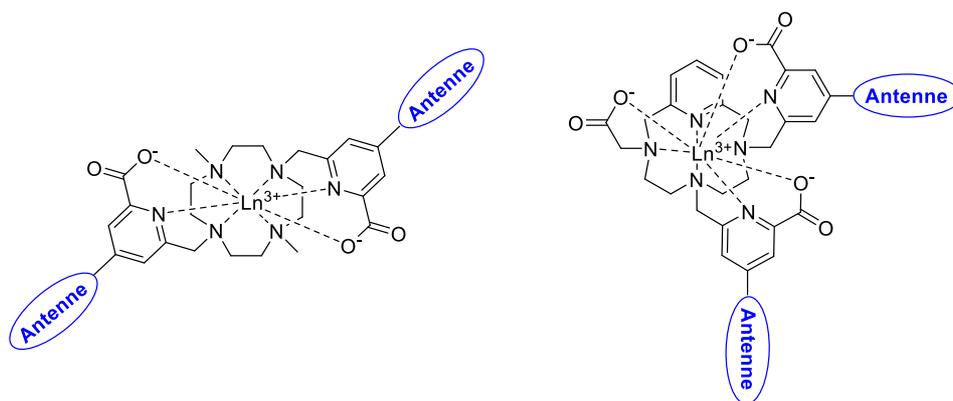


Figure 106 : Sondes luminescentes dérivés des ligands MeDODPA<sup>+</sup> <sup>(9)</sup> et **L4** (en cours d'étude).

**Radiothérapie vectorisée avec l'yttrium 90 :** l'introduction d'une fonction de greffage en position para de la pyridine du cyclen du ligand **L4** permettrait de former un chélate bifonctionnel pouvant être couplé à un vecteur biologique (peptide, anticorps...) pour ciblage spécifique.

**En IRM :** l'objectif principal étant d'atteindre une relaxivité élevée, une des stratégies possibles consiste à former des objets polytopiques contenant plusieurs unités **L3**, comme décrit dans le chapitre bibliographique avec les dérivés du GdDO3A et du GdDTPA<sup>2-</sup>. Nous pouvons également envisager de modifier le ligand **L4** pour qu'une molécule d'eau coordine l'ion Gd(III) tout en maintenant les excellentes propriétés du chélate. Nous souhaitons cependant, privilégier une toute autre stratégie qui consiste à utiliser l'ion Mn(II) comme agent de relaxation. Comme nous l'avons vu très brièvement (Chap III.1), l'utilisation de chélates de manganèse commence à émerger, notamment pour contrer la toxicité rencontrée avec certains des dérivés du gadolinium(III). C'est pourquoi nous avons également entrepris, au cours de cette thèse, la synthèse de dérivés du cyclen aptes à complexer le Mn(II), dont le ligand **HPC1PA**, cyclen mono-N-fonctionnalisé par un groupement picolinate (Figure 107). Par choix, ces travaux n'ont pas été décrits dans ce manuscrit.

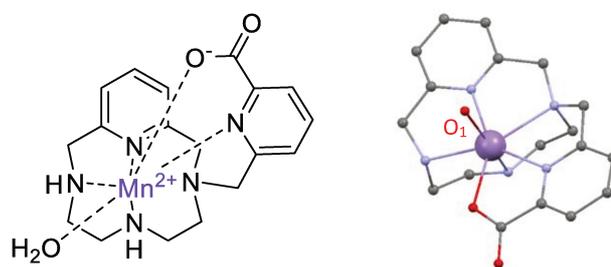


Figure 107 : Complexe MnPC1PA<sup>+</sup> synthétisés au cours de cette thèse et sa structure RX (O<sub>1</sub> : atome d'oxygène du bras acétate voisin ; les molécules d'eau et le contre ion ne sont pas indiqués pour des raisons de clarté).

Notre objectif est de comparer les propriétés de ce chélate avec celles de l'analogue renforcé synthétisé à partir du cyclen oxalate (Figure 108). La rigidité d'un ligand étant le plus souvent favorable à la stabilité et l'inertie du complexe résultant, ces futurs travaux seront très certainement prometteurs.

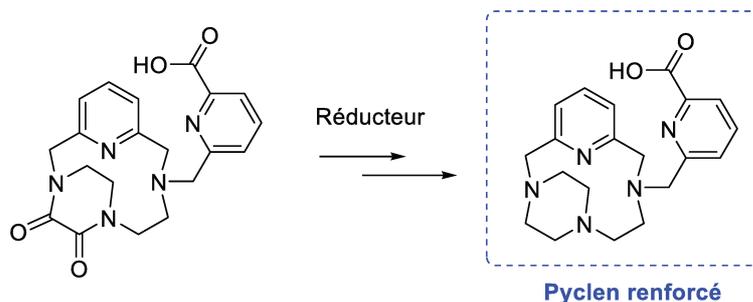


Figure 108 : Synthèse du cyclen renforcé à partir du cyclen oxalate.

Ainsi, cette thèse et ses travaux s'inscrivent dans une voie résolument ouverte, d'abord car les résultats qui en découlent sont concluants, mais aussi et surtout en ce que les développements possibles qu'ils suggèrent recouvrent un champ important d'applications possibles.

---

## Experimental section

---



## General methods

---

### Reagents and solvents.

Reagents used for the synthesis were purchased from ACROS ORGANICS<sup>®</sup> and SIGMA-ALDRICH<sup>®</sup>, and used without further purification. Water was distilled before use. A solvent purification system was used to dispense dry solvents before each reaction.

### Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy.

<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>89</sup>Y NMR spectra were recorded with Bruker Avance 500 (500 MHz for <sup>1</sup>H), Bruker Avance III HD 500 (500.25 MHz for <sup>1</sup>H, 125.79 MHz for <sup>13</sup>C, 24.51 MHz for <sup>89</sup>Y) or Bruker DRX 300 (300.13 MHz for <sup>1</sup>H, 74.47 MHz for <sup>13</sup>C) spectrometers. The  $\delta$  scales are relative to TMS (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C). Chemical shifts ( $\delta$ ) are reported in ppm. Splitting patterns are designated as follow: s, singlet; d, doublet; t, triplet; m, multiplet and br, broad.

### Mass Spectrometry.

High Resolution Mass Spectrometry analyses were realized by Cyril Colas on a HRMS Q-Tof MaXis, sources ESI, APCI, APPI, nano-ESI (at the Institute of Organic and Analytic Chemistry – ICOA in Orléans). Mass Spectrometry measurements were recorded with ESI on a Shimadzu LCMC 2020.

### High Performance Liquid Chromatography.

The analytic HPLC were performed on a Prominence Shimadzu HPLC/LCMS-2020 equipped with a UV SPD-20 A detector. The chromatographic system employs semi-preparative HPLC (VisionHT C18 HL 5 $\mu$ m 250  $\times$  10 mm) with either H<sub>2</sub>O - MeCN (v/v) or H<sub>2</sub>O (0.1% HCl) - MeCN (v/v) as eluents at a flow rate of 5 mL/min and UV detection at 254 and 350 nm. The following method was used: 100% H<sub>2</sub>O for 5 minutes, up to 90% MeCN in 20 minutes and 90% MeCN for 5 minutes.

### Nomenclature.

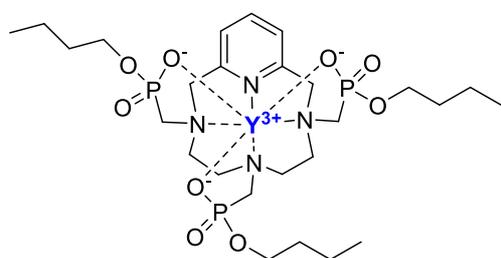
The pyclen derivatives were named by following the method used in the literature.<sup>130</sup>

## Synthesis of PCTMB complexes

---

### General procedure for preparation of [M(PCTMB)] chelates.

Na<sub>3</sub>PCTMB (500 mg, 0.69 mmol) was dissolved in water (10 mL) and the pH was adjusted to 5 with HCl 1 M. MCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (1.5 equiv.) was then added to the solution of the ligand and the pH adjusted to 5 with NaOH 1 M. The solution was stirred at rt for 2 h. The aqueous layer was extracted with a CHCl<sub>3</sub>/MeOH 3:1 mixture (3 × 30 mL). Organic layers were recombined, washed with water (2 × 20 mL) and concentrated. The residue was purified by flash chromatography on C18 (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN 90/10, 10 minutes; up to 10/90 in 5 minutes; then 10/90 for 5 minutes) and the solvent was evaporated.



### Compound 1

#### Y-PCTMB

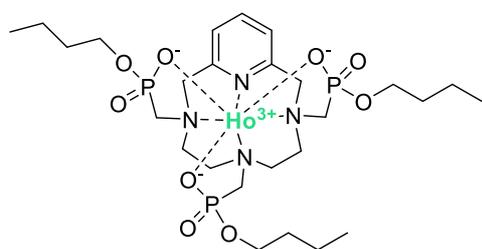
C<sub>26</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Y

M = 742.51 g.mol<sup>-1</sup>

Yttrium(III) 3,6,9-Tris[methylene(butylphosphonate)]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-triene.

The compound was obtained as a white solid (421 mg, 82%).

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>49</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Y, 743.1761; found 743.1765 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Y, 372.0919; found 372.0924 [M + 2H]<sup>2+</sup>.



### Compound 2

#### Ho-PCTMB

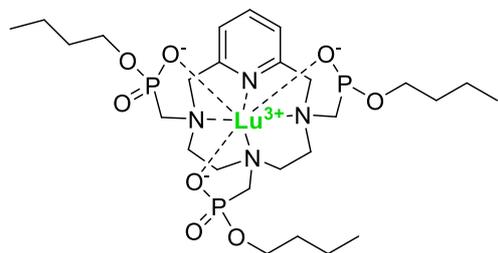
C<sub>26</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Ho

M = 818.53 g.mol<sup>-1</sup>

Holmium(III) 3,6,9-Tris[methylene(butylphosphonate)]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-triene

The compound was obtained as a pale pink solid (441 mg, 78%).

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>49</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Ho, 819.2010; found 819.2000 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Ho, 410.1041; found 410.1044 [M + 2H]<sup>2+</sup>.



**Compound 3**

**Lu-PCTMB**

C<sub>26</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Lu

M = 828.57 g.mol<sup>-1</sup>

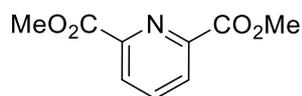
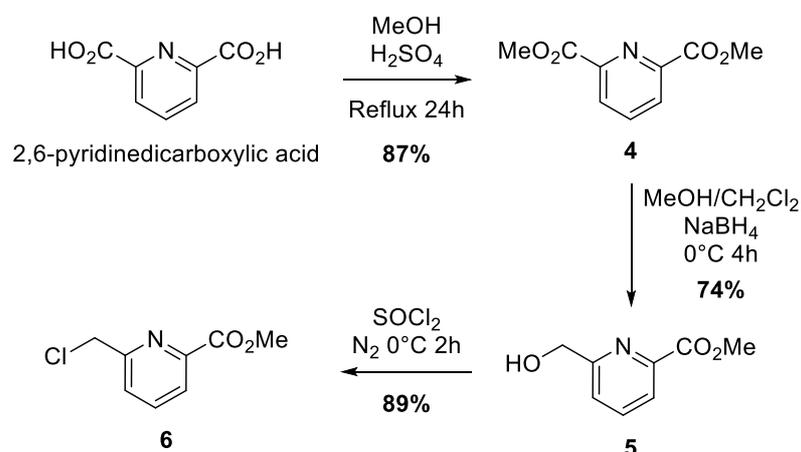
Lutetium (III) 3,6,9-Tris[methylene(butylphosphonate)]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca -1(15),11,13-triene

The compound was obtained as a white solid (321 mg, 56%).

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>49</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Lu, 829.2115; found 829.2115 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>P<sub>3</sub>Lu, 415.1096; found 415.1094 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

## Synthesis of chloromethylpyridine-2-carboxylic acid methylester

---



### Compound 4

C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

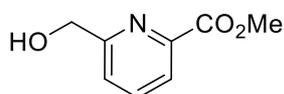
M = 195.17 g.mol<sup>-1</sup>

### Dimethyl-2,6-pyridinedicarboxylate

2,6-pyridinedicarboxylic acid (20 g, 0.120 mol) was solubilized in methanol (200 mL). Then, concentrated sulfuric acid (50 mL) was slowly added. The mixture was stirred to reflux for 24h. After cooling to rt, water (300 mL) was added and the pH adjusted to 7 with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 × 300 mL). Organic layers were recombined, dried over MgSO<sub>4</sub> and filtered. The filtrate was evaporated under reduce pressure yielding a white solid (20.35 g, 87%). Compound 4 was used in the next step without further purification.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.32 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 8.03 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 4.02 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.01, 148.16, 138.41, 128.03, 53.18.



### Compound 5

C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>

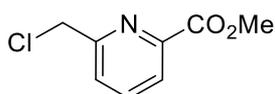
M = 167.16 g.mol<sup>-1</sup>

#### 6-Hydroxymethylpyridine-2-carboxylic acid methyl ester

Dimethylpyridine-2,6-dicarboxylate **4** (22 g, 0.113 mol) was dissolved in methanol (250 mL) and dichloromethane (75 mL), then the mixture was cooled down to 0°C. NaBH<sub>4</sub> (6.41 g, 0.170 mol) was added by small portions and the reaction was followed by TLC. The mixture was stirred at 0°C for 4h. HCl 3 M was added until pH 5, the solvents were evaporated and the pH was adjusted to 8 with Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. The aqueous layer was extracted with chloroform (2 × 200 mL). The organic layers were recombined, dried over MgSO<sub>4</sub> and filtered. The filtrate was evaporated under reduce pressure yielding a white solid. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95/5) to yield compound **5** as a white solid (12.59 g, 74%)

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.01 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.83 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.53 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 4.86 (s, 2H), 3.97 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.56, 160.90, 146.74, 137.70, 124.08, 123.62, 64.69, 52.85.



### Compound 6

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>2</sub>

M = 185.61 g.mol<sup>-1</sup>

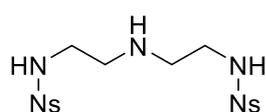
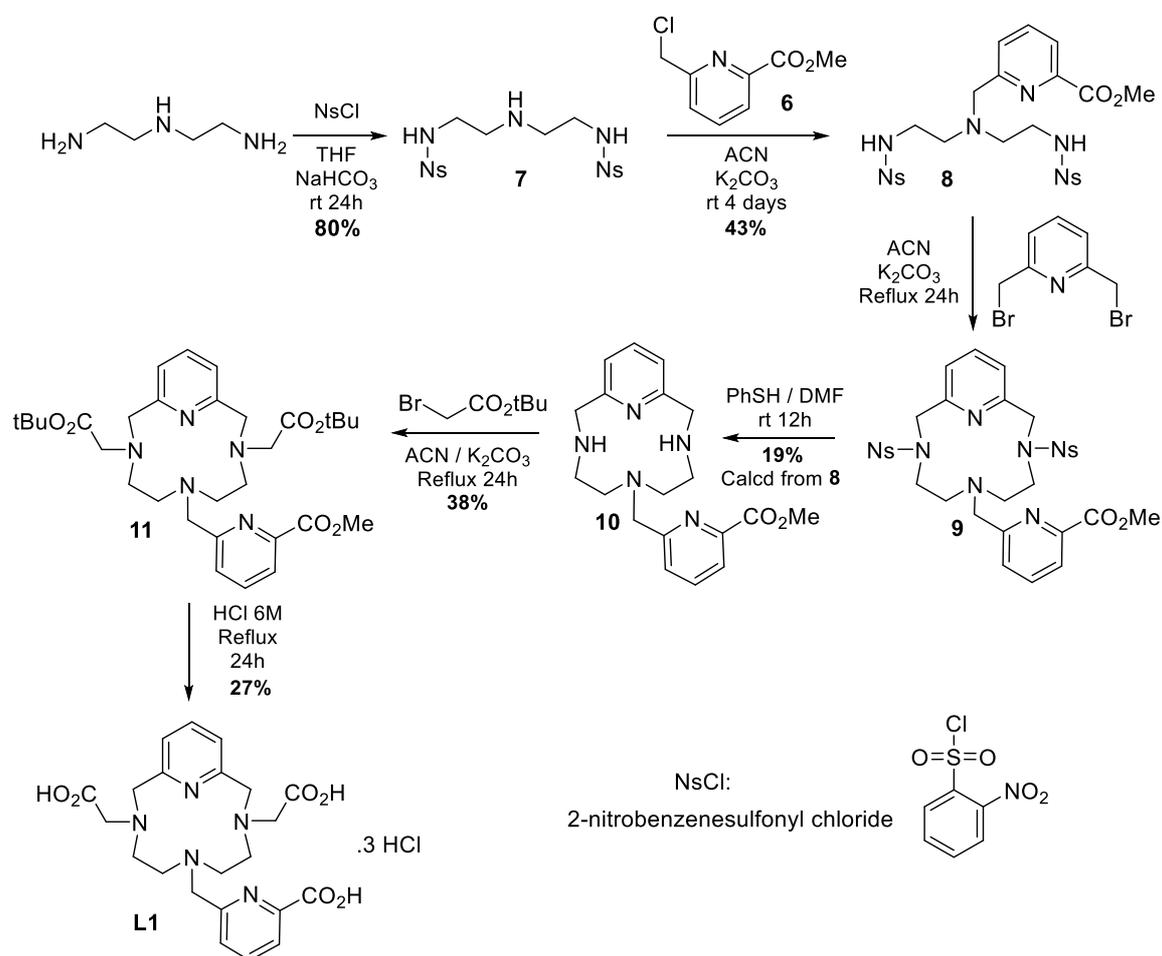
#### 6-Chloromethylpyridine-2-carboxylic acid methyl ester

Compound **5** (12.59 g, 0.0748 mol) was dissolved in SOCl<sub>2</sub> (70 mL) under nitrogen at 0°C and the mixture was stirred for 2h. SOCl<sub>2</sub> was evaporated by trap-to-trap distillation. The residue was solubilized in chloroform (10 mL) and the solvent was evaporated under vacuum. The white solid was solubilized in toluene (200 mL), the organic layer was washed with NaHCO<sub>3</sub> 1 M (2 × 200 mL), then dried over MgSO<sub>4</sub> and filtered. The filtrate was concentrated yielding compound **6** as a clear oil which crystallized under vacuum (12.6 g, 89 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.08 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.89 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.72 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 4.76 (s, 2H), 4.0 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.32, 157.19, 147.43, 138.20, 126.21, 124.47, 53.03, 46.27.

## Synthesis of L1: direct pathway



### Compound 7

$\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2$

$M = 473.48 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

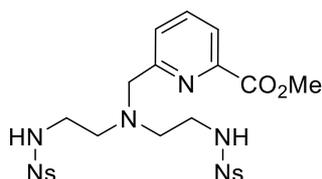
### 1,7-Bis(2-nitrophenylsulfonyl)-1,4,7-triazaheptane

A solution of 2-nitrobenzenesulfonyl chloride (8.6 g, 38.8 mmol) in dry THF (350 mL) was slowly added to a solution of diethylenetriamine (2.0 g, 19.4 mmol) in THF (200 mL) in presence of  $\text{NaHCO}_3$  (6.5 g, 77.6 mmol) at  $0^\circ\text{C}$ . The reaction mixture was stirred at rt for 24 h and filtered. The filtrate was concentrated yielding a white solid. The crude product was purified by column chromatography on silica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 100/0 to 95/5) yielding **7** as a white solid (7.34 g, 80%).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  8.03–7.82 (m, 8H), 2.87 (t, 4H,  $^3J = 6.0 \text{ Hz}$ ), 2.47 (t, 4H,  $^3J = 6.0 \text{ Hz}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  147.73, 133.99, 132.68, 132.60, 129.49, 124.39, 47.80, 42.65.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  474.05  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 496.10  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .



### Compound 8

$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{S}_2$

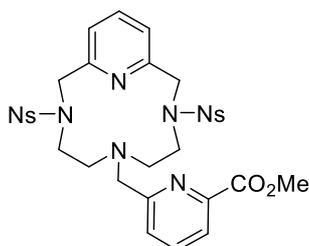
$M = 622.63 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

4-[(6-Methoxycarbonyl-2-pyridyl)methyl]-1,7-bis(2-nitrophenylsulfonyl)-1,4,7-triazaheptane  
Chloromethylpyridine-2-carboxylic acid methylester **6** (1.93 g, 10.42 mmol) was added to a solution of compound **7** (4.935 g, 10.42 mmol) in acetonitrile (60 mL) in presence of  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (4.3 g, 31.26 mmol). The reaction mixture was stirred at rt for 4 days, then the solvent was evaporated. The residue was taken up in dichloromethane, filtered and concentrated. After a column chromatography on silica gel (ethyl acetate / pentane: 5/5 to 8/2), compound **8** was obtained as a yellow oil (2.78 g, 43 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.08-7.99 (m, 2H), 7.95 (d, 1H,  $^3J = 7.9 \text{ Hz}$ ), 7.82-7.61 (m, 7H), 7.47 (d, 1H,  $^3J = 7.9 \text{ Hz}$ ), 6.21 (m, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 3.10 (m, 4H), 2.68 (t, 4H,  $^3J = 5.5 \text{ Hz}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  165.64, 159.19 (2C), 148.11, 147.80, 138.01, 133.58, 132.71, 130.71, 126.16, 125.18, 123.99, 59.45, 54.83, 53.03, 41.58.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  623.15  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 645.15  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .



### Compound 9

$\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_{10}\text{S}_2$

$M = 725.75 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

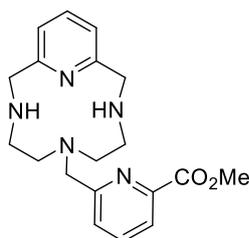
Methyl 3,9-bis(2-nitrophenylsulfonyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-(methylene)picolinate

A mixture containing compound **8** (2.78 g, 4.46 mmol) and  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (3.7 g, 26.8 mmol) in acetonitrile (30 mL) was heated to reflux. A solution of 2,6-bis(bromomethyl)pyridine (1.42 g, 5.36 mmol) in acetonitrile (10 mL) was added. The reaction mixture was refluxed overnight, then filtered and concentrated under vacuum. Compound **9** was used in the next step without further purification.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.88-7.50 (m, 12H), 7.35 (d, 2H,  $^3J = 7.5 \text{ Hz}$ ), 4.52 (s, 4H), 3.89 (s, 3H), 3.77 (s, 2H), 3.27 (m, 4H), 2.52 (m, 4H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  165.23, 159.52, 153.98, 147.55, 146.63, 138.66, 137.10, 133.39, 131.81, 131.45, 130.08, 125.18, 123.78, 123.57, 123.25, 59.82, 53.62, 52.33, 48.61, 43.35.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  726.20  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 764.15  $[\text{M}+\text{K}]^+$ .



### Compound 10

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_2$

$M = 355.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

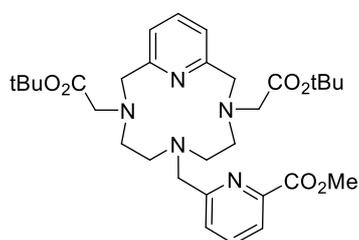
Methyl 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-(methylene)picolinate

Compound **9** (3.9 g, 5.5 mmol) was solubilized in DMF in presence of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (4.6 g, 43.9 mmol). Thiophenol (2.42 g, 21.9 mmol) was added using a syringe. The reaction mixture was stirred at rt overnight. The solvent was evaporated and the residue was solubilized in dichloromethane (100 mL). The organic layer was washed with a solution of NaOH 0.5 M (3  $\times$  40 mL), then dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated under reduce pressure. Compound **10** was obtained after chromatography on neutral alumina ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 99/1) as a yellow oil (0.297 g, 19 % calcd from **8**).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.93 (d, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 7.76 (t, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 7.61 (t, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 7.40 (d, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 7.07 (d, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz), 4.13 (s, 4H), 4.00 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.73 (m, 8H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  165.32, 159.60, 155.26, 147.50, 137.96, 137.52, 125.85, 123.96, 120.60, 61.47, 55.96, 52.67, 51.96, 47.09.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  356.15  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### Compound 11

$\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_6$

$M = 583.72 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Methyl 3,9-bis[(tert-butoxycarbonyl)methyl]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-(methylene)picolinate

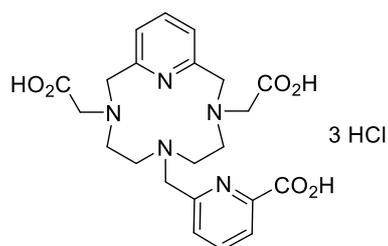
A solution of tert-butylbromoacetate (0.294 g, 1.50 mmol) in acetonitrile (10 mL) was added to a solution of compound **10** (0.297 g, 0.84 mmol) in acetonitrile (10 mL) in presence of  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.464 g, 3.4 mmol). The reaction mixture was refluxed overnight, then filtered and

concentrated. The crude product was purified by column chromatography using neutral alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 100/0 to 95/5) yielding **11** as a yellow oil (0.185 g, 38 %).

NMR: The <sup>1</sup>H NMR spectrum couldn't be described because of its complexity.

<sup>13</sup>C NMR (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 171.30, 165.44, 159.91, 158.10, 146.73, 139.20, 138.53, 127.43, 123.68, 121.97, 82.37, 61.93, 59.22, 58.69, 53.46, 53.14, 52.60, 27.98.

ESI-MS (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 50/50): m/z 584.35 [M+H]<sup>+</sup>, 606.35 [M+Na]<sup>+</sup>.



**L1**

C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>

M = 457.48 g.mol<sup>-1</sup>

3,9-Bis(carboxymethyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-(methylene)picolinic acid

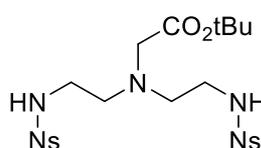
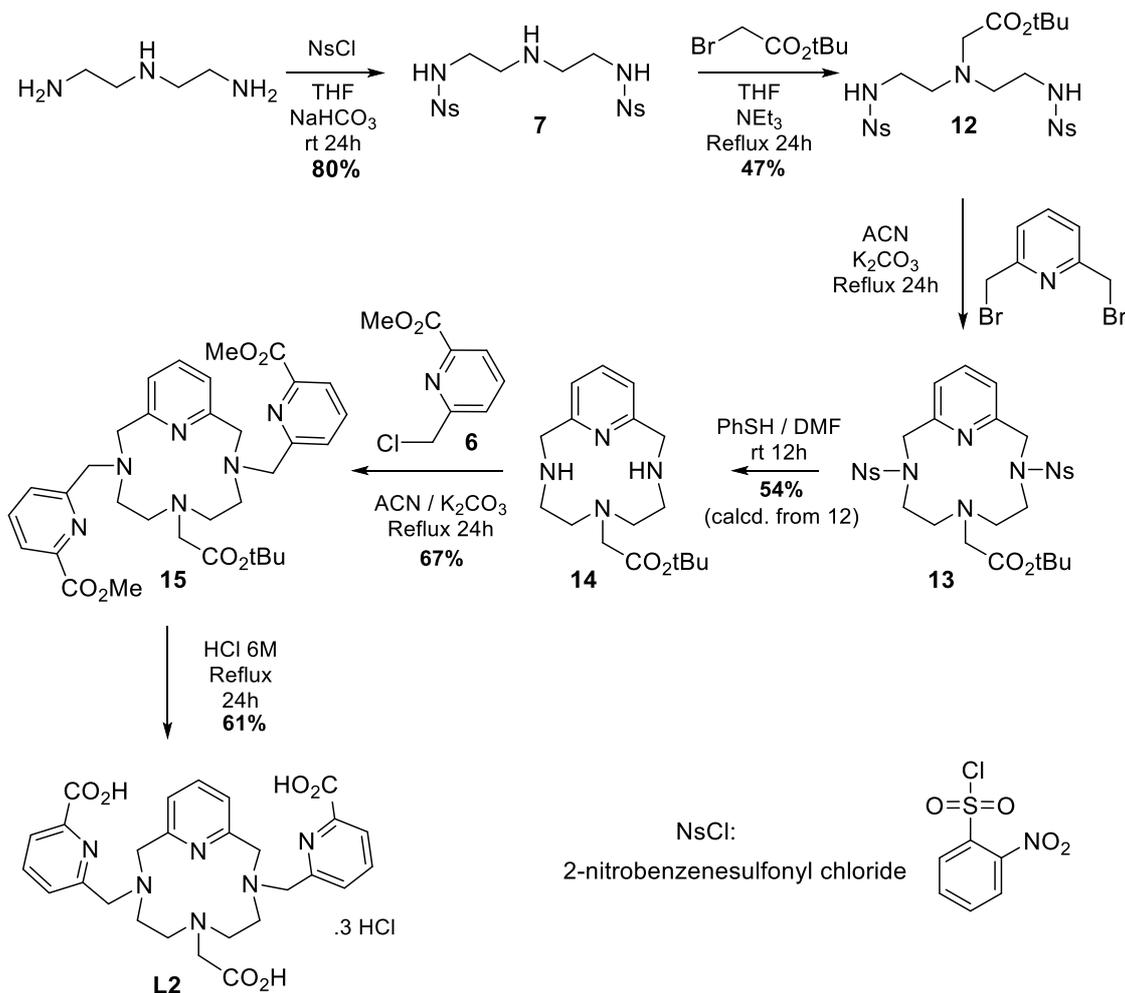
Compound **11** (0.185 g, 0.32 mmol) was dissolved in HCl 6 M (20 mL). The mixture was refluxed overnight and then concentrated under vacuum. After purification by HPLC-C18 (H<sub>2</sub>O/acetonitrile 100/0 to 10/90) ligand **L1** was obtained as its hydrochloride salt (0.050 g, 27% calcd for 3 HCl, the number of HCl molecules was determined by potentiometric titration).

<sup>1</sup>H NMR (500.25 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8.33 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 8.25 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 8.07 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 8.00 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.49 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 4.81 (s, 4H), 4.20 (s, 2H), 3.76 (s, 4H), 3.63 (m, 4H), 2.99 (s, br, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (125.79 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 172.17, 168.64, 157.78, 152.89, 150.25, 146.36, 142.80, 131.30, 128.33, 125.60, 62.35, 60.08, 59.47, 56.09, 52.88.

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 458.2034; found 458.2037 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 229.6053; found 229.6053 [M + 2H]<sup>2+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>Na]<sup>2+</sup>, 480.1854; found 480.1856 [M + Na]<sup>+</sup>.

## Synthesis of L2: direct pathway



### Compound 12

$\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{S}_2$

$M = 587.62 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

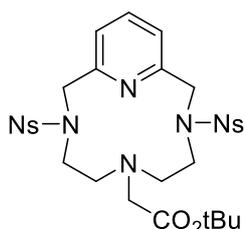
### 4-((tert-Butoxycarbonyl)methyl)-1,7-bis(2-nitrophenylsulfonyl)-1,4,7-triazahheptane

A solution of tert-butylbromoacetate (6.09 g, 31.2 mmol) in THF (50 mL) was added to a solution of compound **7** (4.93 g, 10.4 mmol) in THF (75 mL) in presence of triethylamine (6.31 g, 62.4 mmol). The mixture was heated to reflux for 24h. After cooling to rt, a saturated solution of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (50 mL) was added, then THF was evaporated. The aqueous layer was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 50 \text{ mL}$ ). The organic layers were recombined, dried over  $\text{MgSO}_4$  and filtered. The filtrate was concentrated yielding a white solid. After chromatography on silica gel (ethyl acetate / pentane: 5/5 to 8/2), compound **12** was obtained as a white solid (2.86 g, 47 %)

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.09 (m, 2H), 7.82 (m, 2H), 7.72 (m, 4H), 5.94 (t, 2H,  $^3\text{J} = 5.7$  Hz), 3.17 (s, 2H), 3.07 (m, 4H), 2.76 (t, 4H,  $^3\text{J} = 5.7$  Hz), 1.41 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.78, 148.27, 133.71, 133.45, 132.78, 130.97, 125.52, 82.13, 55.99, 54.65, 41.90, 28.16.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  588.15  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### Compound 13

$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{S}_2$

$M = 690.74 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

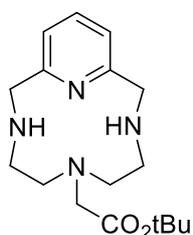
tert-Butyl 3,9-bis(2-nitrophenylsulfonyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-acetate

A mixture containing compound **12** (2.86 g, 4.87 mmol) and  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (4.03 g, 29.3 mmol) in acetonitrile (20 mL) was heated to reflux. 2,6-Bis(bromomethyl)pyridine (1.55 g, 5.84 mmol) in acetonitrile (10 mL) was added. The reaction mixture was refluxed overnight, then filtered and concentrated under vacuum (2.9 g). Compound **13** was used in the next step without further purification.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.1-7.6 (m, 9H), 7.42 (d, 2H,  $^3\text{J} = 7.8$  Hz), 4.56 (s, 4H), 3.30 (m, 4H), 3.17 (s, 2H), 2.57 (m, 4H), 1.37 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.09, 154.75, 148.33, 139.17, 133.81, 132.74, 131.91, 130.86, 124.39, 124.27, 81.25, 57.51, 54.33, 51.18, 44.93, 28.18.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  691.25  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### Compound 14

$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2$

$M = 320.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

tert-Butyl 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-acetate

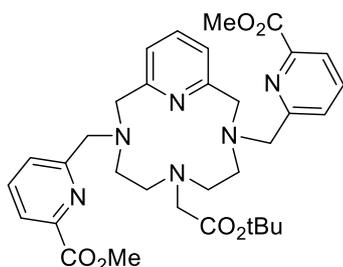
Compound **13** (2.9 g, 4.29 mmol), was solubilized in DMF in presence of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (3.64 g, 34.3 mmol). Thiophenol (1.88 g, 17.2 mmol) was added using a syringe. The reaction mixture was stirred at rt overnight. The solvent was evaporated and the residue was solubilized in dichloromethane (100 mL). The organic layer was washed with a solution of NaOH 0.5 M (3  $\times$  40 mL), then dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated under reduce pressure. Compound

**14** was obtained after chromatography on neutral alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 99/1) as a white solid (0.835 g, 54 % calcd from **12**).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.40 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz), 6.86 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz), 3.83 (s, 4H), 3.22 (s, 2H), 2.48 (m, 4H), 2.40 (m, 4H), 1.28 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 171.06, 157.49, 136.65, 120.03, 80.98, 59.10, 56.00, 52.67, 47.41, 27.95.

ESI-MS (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 50/50): m/z 321.15 [M+H]<sup>+</sup>, 343.20 [M+Na]<sup>+</sup>.



### Compound 15

C<sub>33</sub>H<sub>42</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>

M = 618.72 g.mol<sup>-1</sup>

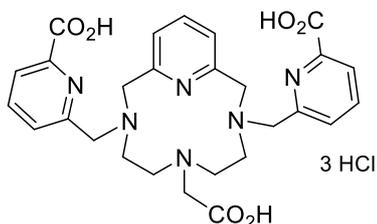
Dimethyl 6-[(tert-butoxycarbonyl)methyl]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-di(methylene)picolinate

Chloromethylpyridine-2-carboxylic acid methylester **6** (0.872 g, 4.70 mmol) was added to a solution of compound **14** (0.835 g, 2.61 mmol) in acetonitrile (35 mL) in presence of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.4 g, 10.4 mmol). The reaction mixture was refluxed overnight, then filtered and concentrated. The crude product was purified by column chromatography using neutral alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 98/2) yielding compound **15** as a yellow oil (1.09 g, 67 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.79 (m, 4H), 7.57-7.39 (m, 3H), 6.92 (m, 2H), 4.11 (s br, 4H), 3.98 (m, 2H), 3.70 (m, 8H), 2.98-2.85 (m, 4H), 2.58 (m, 4H), 1.71 (m, 2H), 1.30 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.19, 165.25, 158.74, 158.66, 146.28, 138.52, 137.80, 126.89, 123.39, 120.18, 81.43, 62.75, 62.09, 54.74, 53.41, 52.46, 51.42, 27.80.

ESI-MS (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 50/50): m/z 619.30 [M+H]<sup>+</sup>, 641.25 [M+Na]<sup>+</sup>.



### L2

C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>

M = 534.56 g.mol<sup>-1</sup>

6-(Carboxymethyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-di(methylene)picolinic acid

Compound **15** (1.09 g, 1.76 mmol) was dissolved in HCl 6 M (40 mL). The mixture was refluxed overnight and then concentrated. After purification by semi-preparative HPLC-C18

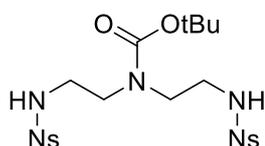
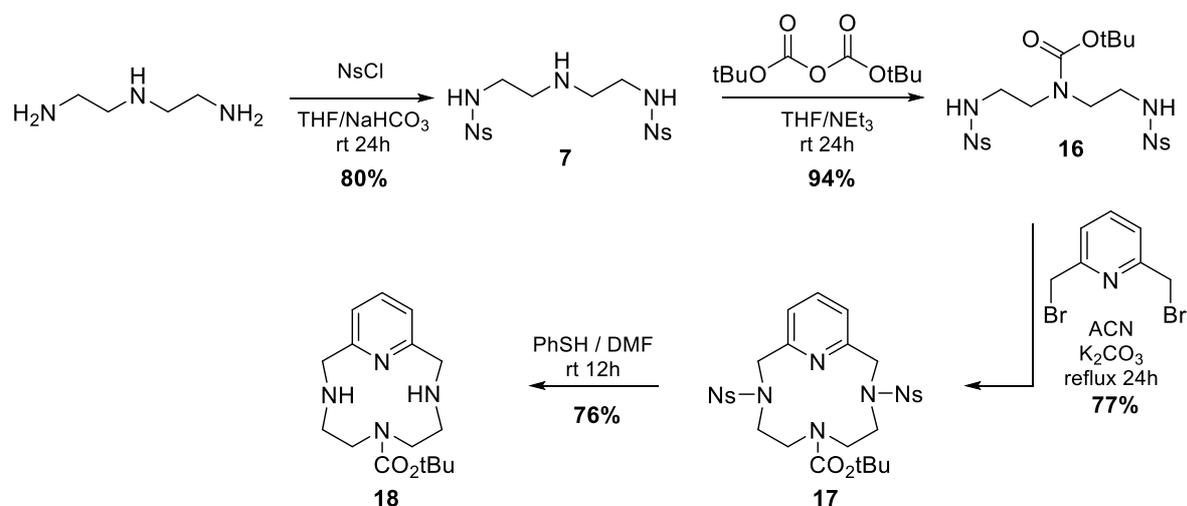
(H<sub>2</sub>O/acetonitrile 100/0 to 10/90) the desired product **L2** was obtained as its hydrochloride salt (0.690 g, 61 % calcd for 3 HCl, the number of HCl molecules was determined by potentiometric titration).

<sup>1</sup>H NMR (500.25 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  8.21 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 8.07 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.88 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.68 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.07 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 4.63 (s, 4H), 4.45 (s, br, 4H), 3.78 (s, 2H), 3.58 (m, 4H), 3.46 (s, br, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (125.79 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  175.11, 170.44, 157.33, 153.78, 152.13, 145.76, 142.12, 131.02, 127.79, 124.63, 62.55, 60.72, 57.63, 56.20, 54.67.

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 535.2300; found 535.2305 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 268.1186; found 268.1187 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

## Synthesis of “pyclen Boc” intermediate



### Compound **16**

$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{S}_2$

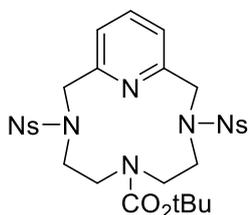
$M = 573.60 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

### 4-(tert-Butoxycarbonyl)-1,7-bis(2-nitrophenylsulfonyl)-1,4,7-triazaheptane

To a solution of compound **7** (3.00 g, 6.34 mmol) and triethylamine (1.52 g, 15.05 mmol) in dry THF (100 mL) at 0°C was added a solution of di-tert-butyl dicarbonate (1.99 g, 9.03 mmol) in dry THF (20 mL). The reaction mixture was stirred at rt for 24h. A saturated aqueous solution of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  was added and THF was evaporated. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 × 80 mL). Organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated. After chromatography on silica gel (ethyl acetate/heptane: 3/7 to 7/3), compound **16** was obtained as a yellow oil (3.43 g, 94 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.05-7.63 (m, 2H), 7.79-7.63 (m, 6H), 5.99 (s, br, 1H), 5.77 (s, br, 1H), 3.3 (m, 4H), 3.19 (m, 4H), 1.37 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  155.78, 147.75, 133.77, 133.09, 132.95, 130.71, 125.20, 80.85, 48.23, 42.34, 28.16.



### Compound 17

$C_{28}H_{32}N_6O_{10}S_2$

$M = 676.72 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

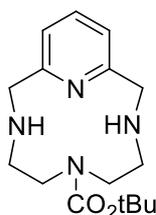
tert-Butyl 3,9-bis(2-nitrophenylsulfonyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-carbamate

A solution of compound **16** (3.43 g, 5.98 mmol) and  $K_2CO_3$  (4.96 g, 35.52 mmol) in dry acetonitrile (40 mL) was heated to reflux for 1h. Then, a solution of 2,6-bis(bromomethyl)pyridine (1.76 g, 6.51 mmol) in dry acetonitrile (10 mL) was added dropwise. The reaction mixture was refluxed for 24 h and then cooled to rt. A white precipitate was filtered and stirred in water for 2 h at rt to solubilize  $K_2CO_3$ . The mixture was filtered again to yield compound **17** as a white solid (3.10 g, 77%).

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.10-7.80 (m, 9H), 7.35 (m, 2H), 4.60 (s, 4H), 3.53 (s, 8H), 1.38 (s, 9H).

$^{13}C$  NMR (75.47 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  155.82, 155.74, 154.58, 147.95, 147.91, 138.39, 134.63, 134.55, 132.74, 132.61, 131.15, 130.96, 129.51, 129.18, 124.60, 124.52, 122.52, 122.43, 78.80, 55.16 (2C), 50.01, 49.76, 45.43, 44.65, 27.95.

ESI-MS ( $CH_3CN/H_2O$ , 50/50):  $m/z$  677.25  $[M+H]^+$ .



### Compound 18

$C_{16}H_{26}N_4O_2$

$M = 306.40 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

tert-Butyl 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-carbamate

Compound **17** (1.45 g, 2.14 mmol) was solubilized in anhydrous DMF (100 mL) in presence of  $Na_2CO_3$  (1.81 g, 16.95 mmol). Thiophenol (0.843 g, 8.56 mmol) was added to the mixture using a syringe. The reaction mixture was stirred at rt for 12h. DMF was evaporated and the residue was taken up in dichloromethane (100 mL). The organic layer was washed with water, dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by chromatography on silica gel ( $MeOH/NH_{3(aq)}$  5 M: 100/0 to 95/5) to yield compound **18** as a yellow oil (499 mg, 76%).

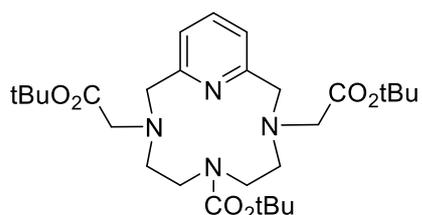
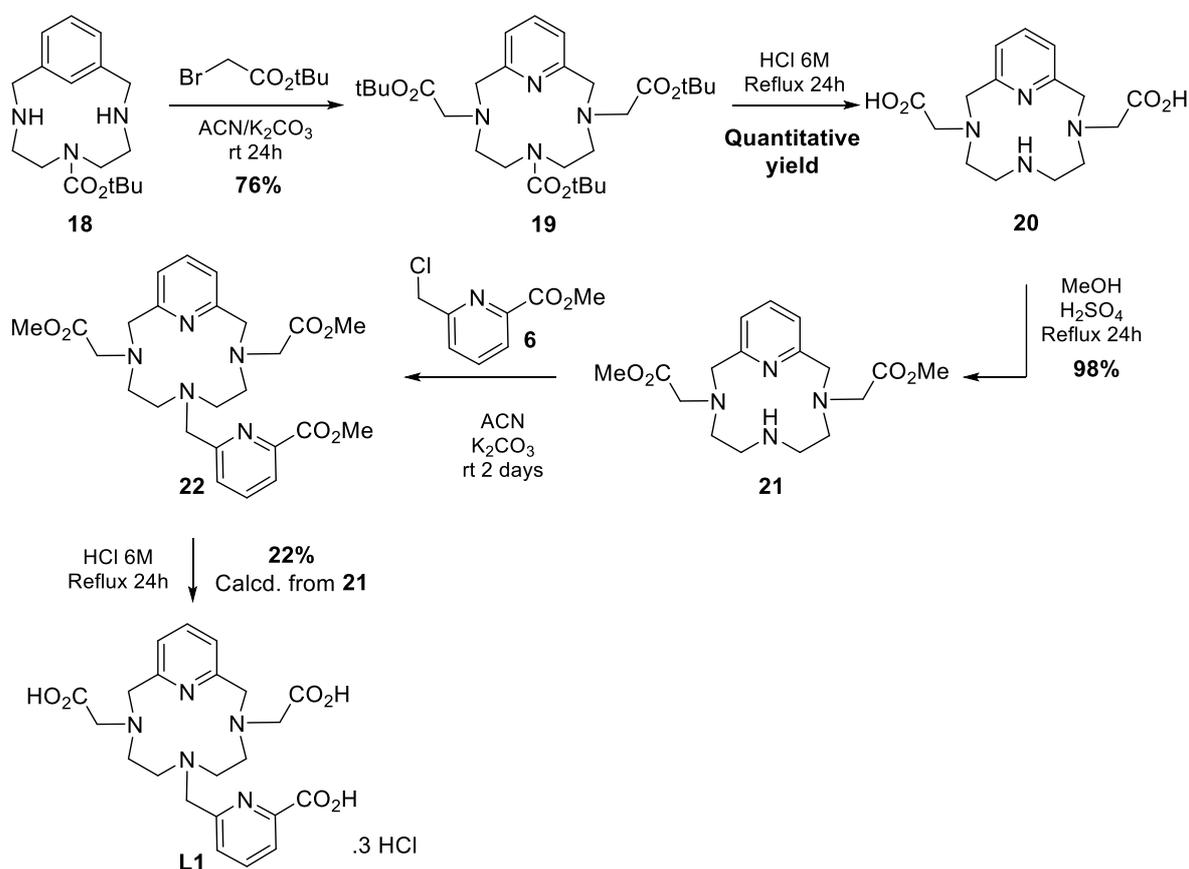
$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.51 (t, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 6.94 (d, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz), 3.94 (s, 4H),

3.52 (t, 4H,  $^3J = 5.1$  Hz), 3.04 (s, 2H), 2.61 (t, 4H,  $^3J = 5.65$  Hz), 1.49 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  158.22, 157.53, 136.65, 120.34, 80.27, 52.06, 50.78, 48.88, 28.59.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  307.20  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

## Synthesis of L1: "pyclen Boc" pathway



### Compound 19

$\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_6$

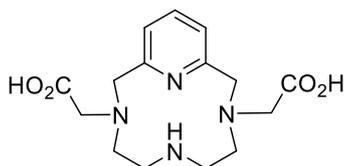
$M = 534.69 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Di-tert-butyl 6-(tert-butoxycarbonyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-diacetate

A solution of tert-butyl bromoacetate (1.022 g, 5.24 mmol) in dry acetonitrile (50 mL) was added to a solution of compound **18** (0.803 g, 2.62 mmol) and  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.45 g, 10.5 mmol) in dry acetonitrile (150 mL). The reaction mixture was stirred at rt for 24h. The solvent was evaporated and the residue was taken up in dichloromethane, filtered and concentrated. The crude product was purified by column chromatography using silica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 100/0 to 98/2) yielding compound **19** as a yellow oil (1.06 g, 76 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.5 (t, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 7.08 (d, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz), 3.86 (s, br, 4H), 3.27 (d, 4H,  $^3J = 9.4$  Hz), 3.01 (m, 4H), 2.75-2.55 (m, 4H), 1.34 (s, 18H), 1.24 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.45, 170.27, 157.44, 156.97, 155.26, 137.18, 122.67, 122.61, 80.75, 78.71, 59.99, 59.60, 59.02, 58.67, 51.77, 51.27, 45.04, 44.81, 28.21, 28.03.  
ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  535.45  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 573.40  $[\text{M}+\text{K}]^+$ .



### Compound 20

$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4$

$M = 322.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

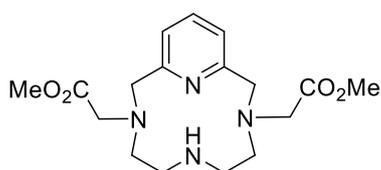
3,6,9,15-Tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-diacetic acid

Compound **19** (1.06 g, 1.98 mmol) was solubilized in hydrochloric acid (20 mL, 6 M) and the mixture was refluxed overnight. After cooling to rt, the solvent was evaporated. Compound **20** was obtained under its chlorhydrate salt and used without further purification.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  7.91 (t, 1H,  $^3J = 7.9$  Hz), 7.36 (d, 2H,  $^3J = 7.9$  Hz), 4.20 (s, 4H), 3.65 (s, 4H), 2.96 (m, 4H), 2.78 (m, 4H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  175.61, 154.59, 147.87, 127.29, 60.26, 59.52, 54.14, 46.69.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  323.15  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 352.20  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .



### Compound 21

$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4$

$M = 350.41 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

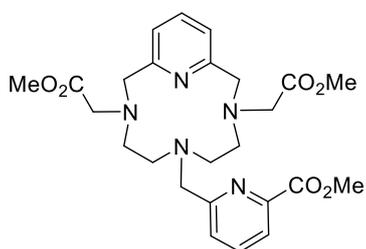
Dimethyl 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-diacetate

Concentrated sulfuric acid (5 mL) was slowly added to a solution of compound **20** in MeOH (30 mL). The mixture was heated to reflux overnight. After cooling to rt, the solvent was evaporated, water (10 mL) was added and the pH was adjusted to 7 with a saturated solution of  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Water was evaporated and the residue was taken up in dichloromethane. Magnesium sulfate was added and the organic layer was filtered and concentrated. Compound **21** was obtained as a yellow oil (0.67 g, 98 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.34 (t, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 6.84 (d, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz), 3.86 (s, 4H), 3.51 (s, 10H), 2.69 (m, 4H), 2.02 (m, 4H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.12, 159.24, 136.56, 120.66, 59.54, 57.73, 52.59, 50.95, 46.99.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  351.20  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### Compound 22

$C_{25}H_{33}N_5O_6$

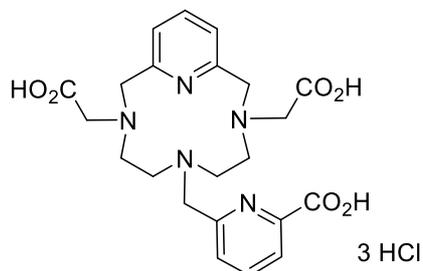
$M = 499.56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Methyl 3,9-bis[(methoxycarbonyl)methyl]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-(methylene)picolinate

6-Chloromethylpyridine-2-carboxylic acid methylester **6** (0.353 g, 1.9 mmol) was added to a solution of **21** (0.67 mg, 1.9 mmol) in acetonitrile (50 mL) in presence of  $K_2CO_3$  (0.524 g, 3.8 mmol). The reaction mixture was stirred at rt for 2 days and the solvent was evaporated. The residue was taken up in dichloromethane and the salts were removed by filtration. The filtrate was concentrated. The product was engaged in the next step without further purification.

NMR:  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR spectra couldn't be described because of their complexity.

ESI-HR-MS (positive,  $H_2O$ )  $m/z$  calcd. for  $[C_{25}H_{34}N_5O_6]^+$ , 500.2504; found 500.2502  $[M + H]^+$ , calcd. for  $[C_{25}H_{33}N_5O_6Na]^+$ , 522.2323; found 522.2319  $[M + Na]^+$ , calcd. for  $[C_{25}H_{35}N_5O_6]^{2+}$ , 250.6288; found 250.6288  $[M + 2H]^{2+}$ .



### L1

$C_{22}H_{27}N_5O_6$

$M = 457.48 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

3,9-Bis(carboxymethyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-6-(methylene)picolinic acid

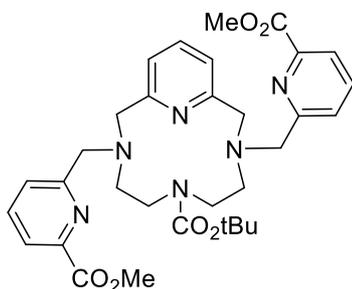
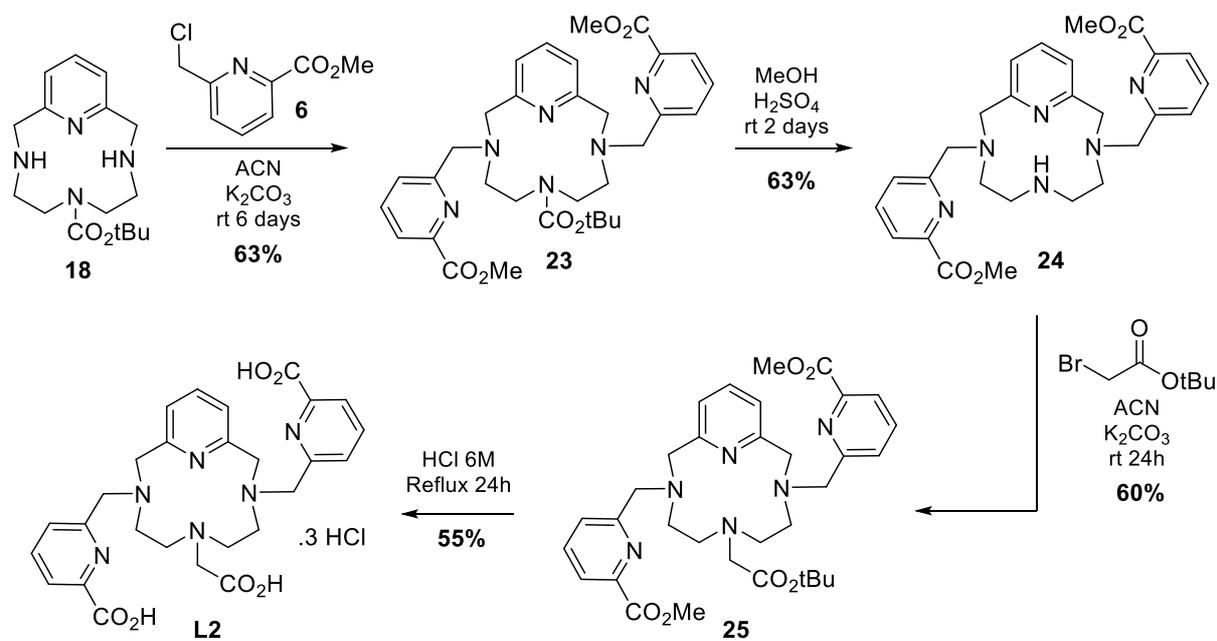
Hydrochloric acid (20 mL, 6 M) was added to compound **22** and the mixture was refluxed overnight. The solvent was evaporated and the crude product was purified by HPLC (C18  $H_2O$  0.1% HCl /ACN: 100/0 to 10/90) to yield **L1** as a colorless oil (0.237 g, 22% calcd from **21** for 3 HCl, the number of HCl molecules was determined by potentiometric titration).

$^1H$  NMR (500.25 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  8.33 (t, 1H,  $^3J = 7.8$  Hz), 8.25 (d, 1H,  $^3J = 7.8$  Hz), 8.07 (d, 1H,  $^3J = 7.8$  Hz), 8.00 (t, 1H,  $^3J = 7.8$  Hz), 7.49 (d, 2H,  $^3J = 7.8$  Hz), 4.81 (s, 4H), 4.20 (s, 2H), 3.76 (s, 4H), 3.63 (m, 4H), 2.99 (s, br, 4H).

$^{13}C$  NMR (125.79 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  172.17, 168.64, 157.78, 152.89, 150.25, 146.36, 142.80, 131.30, 128.33, 125.60, 62.35, 60.08, 59.47, 56.09, 52.88.

ESI-HR-MS (positive,  $H_2O$ )  $m/z$  calcd. for  $[C_{22}H_{28}N_5O_6]^+$ , 458.2034; found 458.2032  $[M + H]^+$ , calcd. for  $[C_{22}H_{29}N_5O_6]^{2+}$ , 229.6053; found 229.6054  $[M + 2H]^{2+}$ .

## Synthesis of L2: "pyclen Boc" pathway



### Compound **23**

$C_{32}H_{40}N_6O_6$

$M = 604.70 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

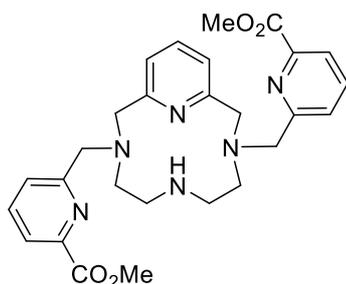
Dimethyl 6-(tert-butoxycarbonyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-di(methylene)picolinate

A solution of 6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid methyl ester **6** (0.395 g, 2.13 mmol) in dry acetonitrile (20 mL) was added to a solution of compound **18** (0.326 g, 1.06 mmol) and  $K_2CO_3$  (0.587 g, 4.3 mmol) in acetonitrile (50 mL). The reaction mixture was stirred at rt for 5 days and the solvent was evaporated. The residue was taken up in dichloromethane and the salts were removed by filtration. The filtrate was concentrated and the crude product was purified by column chromatography using neutral alumina ( $CH_2Cl_2/MeOH$ : 100/0 to 98/2) yielding compound **23** as a yellow oil (0.407 g, 63 %).

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.05-7.95 (m, 2H), 7.87-7.73 (m, 4H), 7.66 (t, 1H,  $^3J = 7.2$  Hz), 7.2 (m, 2H), 4.10-3.80 (m, 14H), 3.46-3.31 (m, 4H), 2.75-2.50 (m, 4H), 1.17 (s, 9H).

$^{13}C$  NMR (75.47 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  165.95, 165.88, 160.85, 160.70, 156.79, 156.53, 155.44, 147.40, 147.31, 137.61, 137.50, 137.33, 126.08, 126.02, 123.80, 123.78, 123.09, 122.91, 78.98, 62.90, 62.71, 59.96, 58.75, 52.98, 52.95, 51.58, 51.25, 45.12, 44.74, 28.28.

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>32</sub>H<sub>41</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 605.3082; found 605.3078 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>32</sub>H<sub>40</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Na]<sup>+</sup>, 627.2901; found 627.2896 [M + Na]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>]<sup>2+</sup>, 253.1315; found 153.1318 [M – Boc + 3H]<sup>2+</sup>.



### Compound 24

C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

M = 504.58 g.mol<sup>-1</sup>

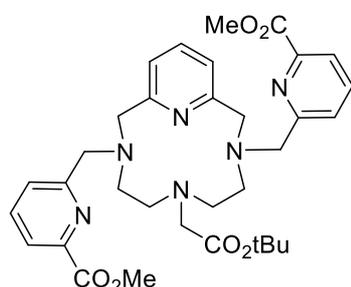
Dimethyl 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-di(methylene)picolinate

Concentrated sulfuric acid (1 mL) was added to a solution of compound **23** (0.407 g, 0.67 mmol) in MeOH (20 mL). The mixture was heated to reflux for 2 days. After cooling to rt., the solvent was evaporated, water (10 mL) was added and the pH was adjusted to 7 with a saturated solution of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Water was evaporated and the residue was taken up in dichloromethane. Magnesium sulfate was added and the organic layer was filtered and concentrated. The crude product was purified by column chromatography using neutral alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 100/0 to 98/2). Compound **24** was obtained as a yellow oil (0.214 g, 63 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.91 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz), 7.76 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz), 7.60 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz), 7.34 (m, 1H), 6.76 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.9), 4.29 (s, 4H), 4.01 (s, 4H), 3.98 (s, 6H), 3.40 (m, 4H), 3.20 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.60, 159.30, 159.24, 146.64, 137.17 (2C), 127.10, 123.58, 119.79, 61.92, 57.51, 52.72, 52.56, 46.12.

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 505.2558; found 505.2554 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Na]<sup>+</sup>, 527.2377; found 527.2372 [M + Na]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>]<sup>2+</sup>, 253.1315; found 153.1315 [M + 2H]<sup>2+</sup>.



### Compound 25

C<sub>33</sub>H<sub>42</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>

M = 618.72 g.mol<sup>-1</sup>

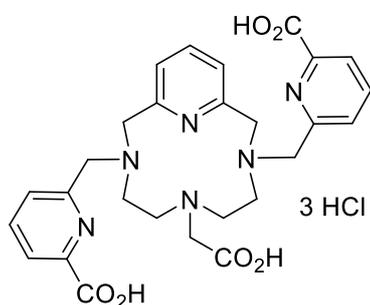
Dimethyl 6-[(tert-butoxycarbonyl)methyl]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-di(methylene)picolinate

A solution of tert-butylbromoacetate (0.083 g, 0.423 mmol) in 10 mL of dry acetonitrile was added to a solution of compound **24** (0.214 g, 0.423 mmol) and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.117 g, 0.85 mmol) in dry acetonitrile (20 mL). The mixture was stirred for 24 h at rt and concentrated. The residue was taken up in dichloromethane and the insoluble salts were filtered off. After chromatography column using neutral alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 100/0 to 98/2) the desired product **25** was obtained as a yellow oil (0.155 g, 60 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.79 (m, 4H), 7.57-7.39 (m, 3H), 6.92 (m, 2H), 4.11 (s br, 4H), 3.98 (m, 2H), 3.70 (m, 8H), 2.98-2.85 (m, 4H), 2.58 (m, 4H), 1.71 (m, 2H), 1.30 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 169.82, 164.85, 158.37, 158.26, 145.83, 138.17, 137.41, 126.59, 122.96, 119.81, 80.91, 62.30, 61.66, 54.27, 52.99, 52.05, 51.15, 27.38

ESI-MS (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 50/50): m/z 619.40 [M+H]<sup>+</sup>, 641.30 [M+Na]<sup>+</sup>, 657.30 [M+K]<sup>+</sup>.



## L2

C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>

M = 534.56 g.mol<sup>-1</sup>

6-(Carboxymethyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,9-di(methylene)picolinic acid

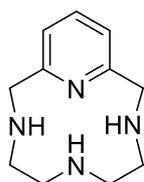
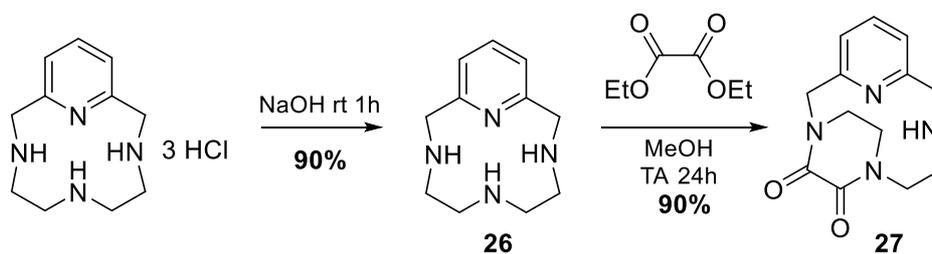
Hydrochloric acid (20 mL, 6 M) was added to compound **25** and the mixture was refluxed overnight. The solvent was evaporated and the crude product was purified by HPLC (C18 H<sub>2</sub>O/ACN: 100/0 to 90/10) to yield **L2** as a colorless oil (0.089 g, 55 % calcd for 3 HCl, the number of HCl molecules was determined by potentiometric titration).

<sup>1</sup>H NMR (500.25 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8.21 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 8.07 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.88 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.68 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.07 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 4.63 (s, 4H), 4.45 (s, br, 4H), 3.78 (s, 2H), 3.58 (m, 4H), 3.46 (s, br, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (125.79 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 175.11, 170.44, 157.33, 153.78, 152.13, 145.76, 142.12, 131.02, 127.79, 124.63, 62.55, 60.72, 57.63, 56.20, 54.67.

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 535.2300; found 535.2297 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Na]<sup>+</sup>, 557.2119; found 557.2113 [M + Na]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 268.1186; found 268.1191 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

## Synthesis of “pyclen oxalate” intermediate



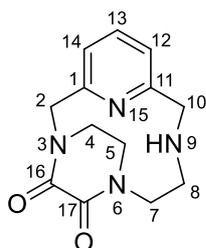
**Compound 26**

C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>

M = 206.29 g.mol<sup>-1</sup>

3,6,9,15-Tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene

Pyclen.3HCl (10 g, 31.36 mmol) was solubilized in water (10 mL) and a concentrated solution of NaOH (10 M, 20 mL) was added. The mixture was stirred for 1 h and concentrated under vacuum. The white powder was dried in oven (100°C) overnight. Acetonitrile was added, the mixture was filtered and the filtrate was concentrated to yield compound **26** as a white powder (5.88 g, 91 %).



**Compound 27**

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

M = 260.29 g.mol<sup>-1</sup>

3,6,9,15-Tetraazatricyclo[9.3.2<sup>3,6</sup>.1]heptadecane-1(15),11,13-triene-16,17-dione

A solution of diethyl oxalate (4.21 g, 28.49 mmol) in MeOH (100 mL) was added to a solution of pyclen **26** (5.88 g, 28.49 mmol) in MeOH (200 mL). The reaction mixture was stirred at rt overnight and then concentrated. The residue was taken up in dichloromethane, filtered and concentrated to remove the remaining pyclen. The solid was solubilized in a small amount of methanol. A large amount of ethyl acetate was then added. Crystals were formed and filtered to yield compound **27** (6.28 g, 85 %).

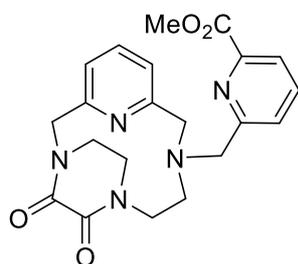
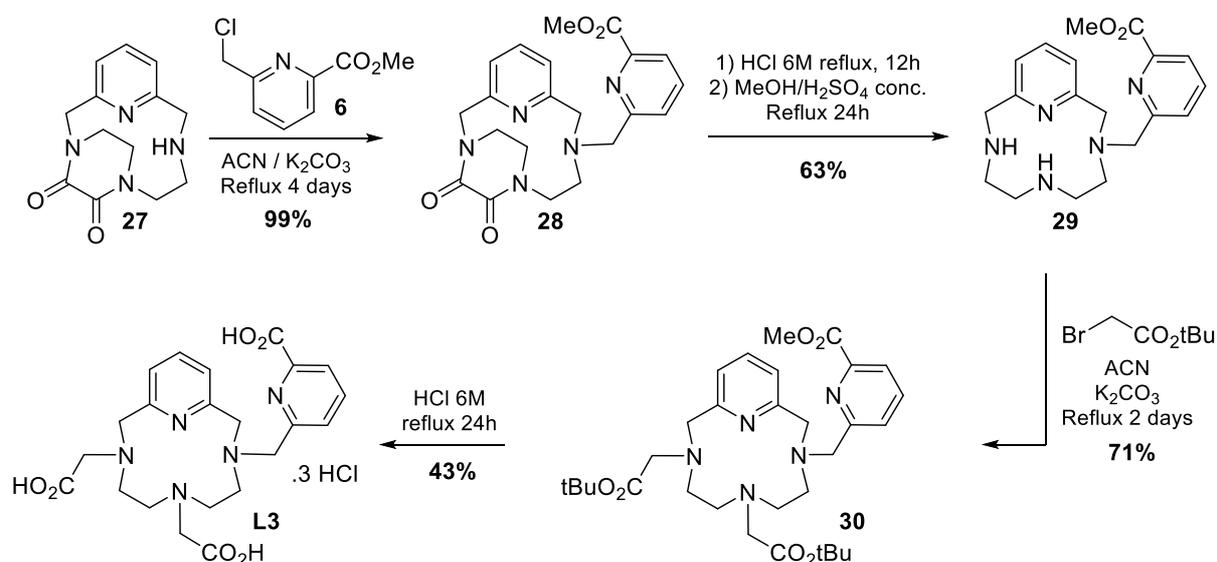
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.52 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz), 7.02 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz), 6.93 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz), 5.59 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.2 Hz), 4.62 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, <sup>3</sup>J = 11.1 Hz, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz),

4.08 (d, 1H,  $^2J = 16.6$  Hz), 3.95 (d, 1H,  $^2J = 17.3$  Hz), 3.77 (ddd, 1H,  $^2J = 13.9$  Hz,  $^3J = 10.6$  Hz,  $^3J = 4.52$  Hz), 3.70 (d, 1H,  $^2J = 17.3$  Hz), 3.5 (ddd, 1H,  $^2J = 12.4$  Hz,  $^3J = 10.6$  Hz,  $^3J = 4.5$  Hz), 3.24 (dt, 1H,  $^2J = 13.9$  Hz,  $^3J = 4.4$  Hz), 3.13 (dt, 1H,  $^2J = 12.4$  Hz,  $^3J = 4.1$  Hz), 3.01 (dt, 1H,  $^2J = 12.2$  Hz,  $^3J = 3.2$  Hz), 2.83 (dt, 1H,  $^2J = 13.9$  Hz,  $^3J = 3.0$  Hz), 2.74 (td, 1H,  $^2J = 11.7$  Hz,  $^3J = 2.3$  Hz).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  162.96, 161.23, 159.10, 153.42, 136.83, 120.58, 119.44, 55.40, 52.53, 47.89, 47.66, 44.61, 44.20.

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_2]^+$ , 261.1346; found 261.1346  $[\text{M} + \text{H}]^+$ .

## Synthesis of L3



### Compound 28

$C_{21}H_{23}N_5O_4$

$M = 409.44 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

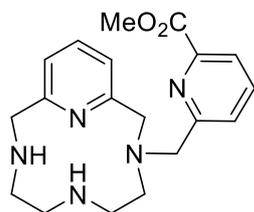
Methyl 16,17-dioxo-3,6,9,15-tetraazatricyclo[9.3.2<sup>3,6</sup>.1]heptadecane-1(15),11,13-triene-3-(methylene)picolinate

6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid methyl ester **6** (711 mg, 3.85 mmol) was added to a solution of compound **27** (1.0 g, 3.85 mmol) in acetonitrile (300 mL) in presence of  $K_2CO_3$  (1.5 g, 12 mmol). The reaction mixture was refluxed for 4 days, then filtered and concentrated. The crude product was purified by column chromatography using neutral alumina ( $CH_2Cl_2/MeOH$  98/2) yielding compound **28** as a yellow oil (1.56 g, 99 %).

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.90-7.80 (m, 2H), 7.72 (t, 1H,  $^3J = 7.91$  Hz), 7.38 (t, 1H,  $^3J = 7.72$  Hz), 6.97 (d, 1H,  $^3J = 7.91$  Hz), 6.65 (d, 1H,  $^3J = 7.54$  Hz), 5.59 (d, 1H,  $^2J = 16.20$  Hz), 4.70 (m, 1H), 4.19 (d, 1H,  $^2J = 14.3$  Hz), 4.12-3.92 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.86 (d, 1H,  $^2J = 14.3$  Hz), 3.77-3.54 (m, 3H), 3.20 (m, 1H), 2.99-2.76 (m, 3H), 2.72 (m, 1H).

$^{13}C$  NMR (75.47 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  165.71, 163.43, 160.97, 159.82, 158.63, 154.21, 146.15, 137.69, 136.67, 127.42, 123.44, 120.45, 119.28, 59.90, 59.47, 56.75, 53.02, 52.51, 46.19, 44.97, 44.68.

ESI-MS ( $CH_3CN/H_2O$ , 50/50):  $m/z$  410.15  $[M+H]^+$ , 432.10  $[M+Na]^+$ .



### Compound 29

$C_{19}H_{25}N_5O_2$

$M = 355.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

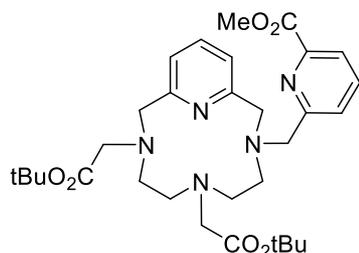
Methyl 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3-(methylene)picolinate

An aqueous solution of hydrochloric acid (30 mL, 6M) was slowly added to compound **28** (1.34 g, 3.27 mmol). The reaction mixture was refluxed for 12 h and then concentrated. The crude product was solubilized in MeOH (40 mL) and concentrated sulfuric acid was slowly added (1 mL). The mixture was refluxed for 24h. After cooling to rt, the solvent was evaporated. 20 mL of water were added and the pH was adjusted to 7 using  $K_2CO_3$ . Water was evaporated and the residue was taken up in dichloromethane. Magnesium sulfate was added and the organic layer was filtered and then concentrated. The crude product was purified by column chromatography using neutral alumina ( $CH_2Cl_2/MeOH$ : 98/2 to 95/5) yielding compound **29** as a yellow oil (0.727 g, 63 %).

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.79 (m, 1H), 7.55 (m, 2H), 7.35 (t, 1H,  $^3J = 7.8$  Hz), 6.85 (d, 1H,  $^3J = 7.8$  Hz), 6.66 (d, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 4.13 (s, 2H), 3.95 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.84 (s, 2H), 3.19 (m, 4H), 2.98 (m, 2H), 2.89 (m, 2H).

$^{13}C$  NMR (75.47 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  165.26, 158.46, 158.30, 155.86, 146.28, 137.45 (2C), 127.22, 123.43, 120.38, 120.23, 61.42, 57.67, 52.50, 50.54, 49.48, 45.65, 45.51, 45.20.

ESI-MS ( $CH_3CN/H_2O$ , 50/50):  $m/z$  356.15  $[M+H]^+$ .



### Compound 30

$C_{31}H_{45}N_5O_6$

$M = 583.72 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Methyl 6,9-bis[(tert-butoxycarbonyl)methyl]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3-(methylene)picolinate

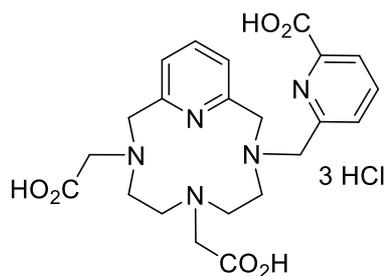
A solution of tert-butyl bromoacetate (0.774 g, 4.09 mmol) in acetonitrile (150 mL) was added to a solution of compound **29** (0.706 g, 1.99 mmol) and  $K_2CO_3$  (0.850 g, 6.15 mmol) in acetonitrile (150 mL). The reaction mixture was refluxed for two days. The solvent was evaporated, the residue was taken up in dichloromethane, filtered and concentrated. The crude product was purified by column chromatography using neutral alumina ( $CH_2Cl_2/MeOH$ : 98/2

to 95/5) yielding **30** as a yellow oil (0.821 g, 71 %).

NMR: the  $^1\text{H}$  NMR spectrum couldn't be described because of its complexity.

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.57, 171.49, 165.77, 150.05, 158.99, 158.17, 146.31, 138.76, 138.02, 127.17, 123.51, 120.94, 120.38, 81.68, 81.66, 63.49, 62.37, 61.64, 60.64, 60.45, 58.54, 57.68, 57.07, 55.11, 52.75, 27.82.

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  584.40  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 606.35  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .



### L3

$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_6$

$M = 457.48 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

6,9-Bis(carboxymethyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3-(methylene)picolinic acid

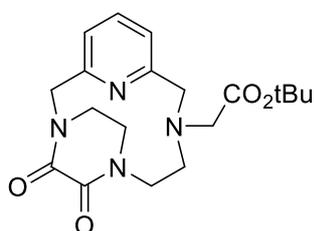
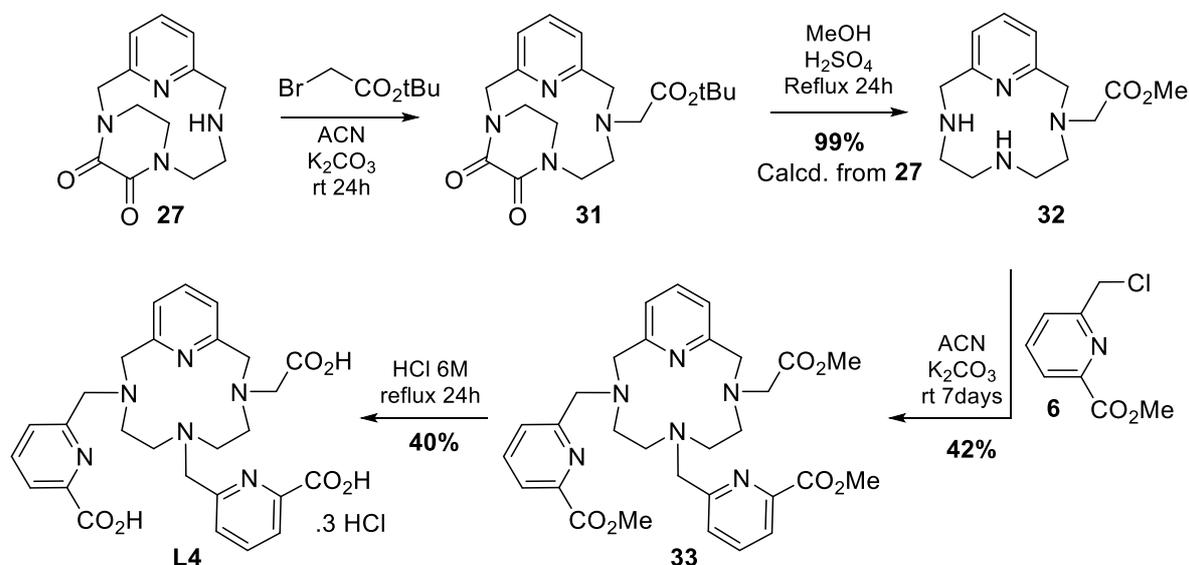
Hydrochloric acid (20 mL, 6 M) was slowly added to compound **30** (0.821 g, 1.41 mmol). The reaction mixture was refluxed for 24 h and then concentrated. The crude product was purified using HPLC-C18 ( $\text{H}_2\text{O}$  0.1% HCl/acetonitrile: 90/10 to 5/95) and the ligand **L3** was obtained as a colorless oil (0.346 g, 43 % calcd for 3 HCl, the number of HCl molecules was determined by potentiometric titration).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  8.19 (t, 1H,  $^3J = 7.9\text{Hz}$ ), 8.07 (d, 1H,  $^3J = 7.9\text{Hz}$ ), 7.96 (d, 1H,  $^3J = 7.9\text{Hz}$ ), 7.78 (t, 1H,  $^3J = 7.9\text{Hz}$ ), 7.37 (d, 1H,  $^3J = 7.9\text{Hz}$ ), 7.06 (d, 1H,  $^3J = 7.9\text{Hz}$ ), 4.86 (s, 2H), 4.63 (s, 2H), 4.38 (s, 2H), 4.06 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.77 (m, 2H), 3.54 (m, 2H), 3.44 (m, 2H), 3.29 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (125.77 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  175.98, 172.77, 169.14, 157.10, 153.90, 153.90, 150.52, 145.97, 142.32, 131.34, 127.90, 124.93, 124.48, 62.23, 61.85, 61.47, 60.96, 57.39, 55.64, 55.40, 55.23, 54.91.

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_6]^+$ , 458.2034; found 458.2035  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_6]^{2+}$ , 229.6053; found 229.6057  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

## Synthesis of L4



### Compound 31

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4$

$M = 374.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

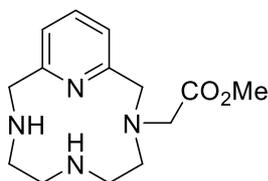
tert-Butyl 16,17-dioxo-3,6,9,15-tetraazatricyclo[9.3.2<sup>3,6</sup>.1]heptadecane-1(15),11,13-triene-3-acetate

A solution of tert-butyl bromoacetate (0.668 g, 3.42 mmol) in acetonitrile (100 mL) was added to a solution of compound **27** (0.890 g, 3.42 mmol) and  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.42 g, 10.3 mmol) in acetonitrile (150 mL). The reaction mixture was stirred at  $\text{rt}$  for 24h. The solvent was evaporated, the residue was taken up in dichloromethane filtered and concentrated. The desired product **31** was obtained as a yellow oil and used in the next step without further purification (1.25 g).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.28 (t, 1H,  $^3J = 7.7$  Hz), 6.8 (d, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 6.63 (d, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 5.26 (d, 1H,  $^2J = 16.6$  Hz), 4.08 (m, 1H), 3.89 (d, 1H,  $^2J = 16.6$  Hz), 3.68 (m, 4H), 3.0 (m, 4H), 2.77 (m, 2H), 2.52 (m, 1H), 1.18 (m, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.65, 162.42, 159.73, 158.43, 153.60, 136.48, 119.67, 119.11, 80.37, 61.08, 56.45, 52.59, 52.07, 46.64, 46.07, 44.76, 27.61.

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_4]^+$ , 375.2027; found 375.2027  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{Na}]^+$ , 397.1846; found 397.1846  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_4]^+$ , 319.1400; found 319.1400  $[\text{M} - \text{tBu} + 2\text{H}]^+$ .



### Compound 32

$C_{14}H_{22}N_4O_2$

$M = 278.35 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

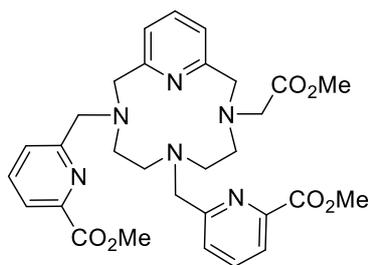
Methyl 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3-acetate

Compound **31** (1.25 g) was solubilized in MeOH (100 mL) and concentrated sulfuric acid was slowly added (10 mL). The mixture was refluxed for 24h. After cooling to rt, the solvent was evaporated. 20 mL of water were added and the pH was adjusted to 7 using a saturated solution of  $K_2CO_3$ . Water was evaporated and the residue was taken up in dichloromethane. Magnesium sulfate was added and the organic layer was filtered and then concentrated. The crude product was purified by column chromatography using neutral alumina ( $CH_2Cl_2/MeOH$ : 98/2 to 95/5) yielding product **32** as a white solid (0.939 g, 99 %).

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.52 (t, 1H,  $^3J = 7.5$  Hz), 6.96 (m, 2H), 3.97 (s, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.63 (s, 3H), 3.56 (s, 2H), 3.28 (m, 2H), 3.18 (m, 2H), 2.86 (m, 4H)

$^{13}C$  NMR (75.47 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  172.17, 161.02, 159.09, 137.57, 120.07, 119.97, 57.69, 57.04, 52.35, 51.72, 51.54, 46.80, 46.29, 46.23.

ESI-HR-MS (positive,  $H_2O$ )  $m/z$  calcd. for  $[C_{14}H_{23}N_4O_2]^+$ , 279.1815; found 279.1815  $[M + H]^+$ , calcd. for  $[C_{14}H_{24}N_4O_2]^{2+}$ , 140.0944; found 140.0945  $[M + 2H]^{2+}$ .



### Compound 33

$C_{30}H_{36}N_6O_6$

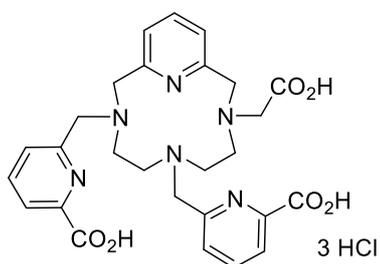
$M = 576.64 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Dimethyl 9-[(methoxycarbonyl)methyl]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,6-di(methylene)picolinate

6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid methylester **6** (0.627 g, 3.38 mmol) was added to a solution of compound **32** (0.939 g, 3.38 mmol) in acetonitrile (150 mL) in presence of  $K_2CO_3$  (1.8 g, 13.5 mmol). The reaction mixture was stirred at rt for one week, then filtered and concentrated. The crude product was purified by column chromatography using neutral alumina ( $CH_2Cl_2/MeOH$  98/2) yielding compound **33** as a yellow oil (0.822 g, 42 %).

NMR:  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR spectra couldn't be described because of their complexity.

ESI-MS ( $CH_3CN/H_2O$ , 50/50):  $m/z$  576.90  $[M+H]^+$ , 598.90  $[M+Na]^+$ .



**L4**

$C_{27}H_{30}N_6O_6$

$M = 534.56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

9-(Carboxymethyl)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,6-di(methylene)picolinic acid

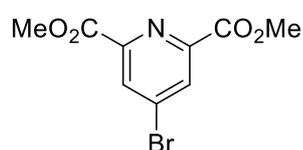
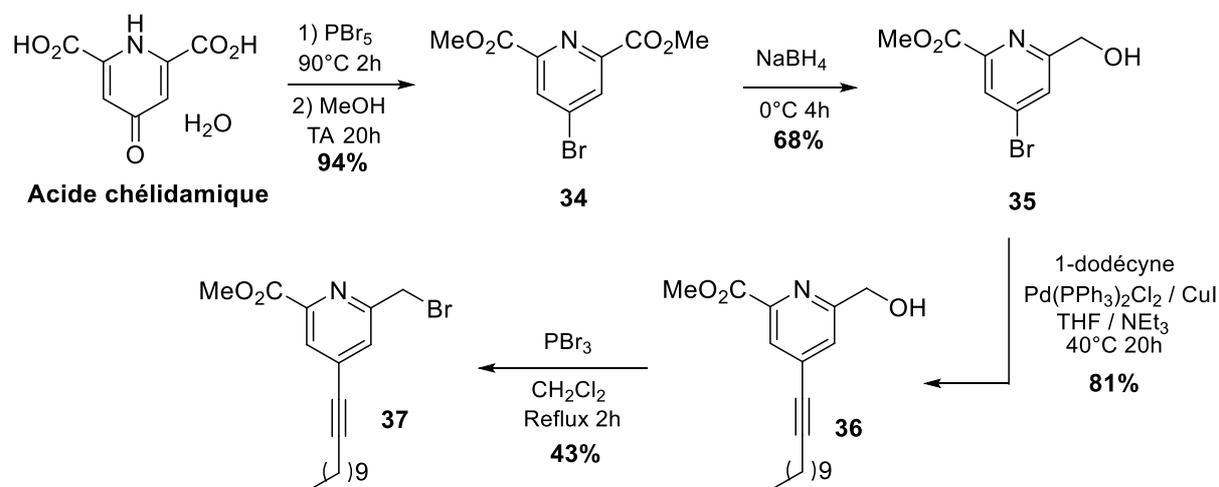
An aqueous solution of hydrochloric acid (20 mL, 6 M) was slowly added to compound **33** (0.822 g, 1.43 mmol). The reaction mixture was refluxed for 24 h and then concentrated. The crude product was purified using HPLC-C18 (H<sub>2</sub>O 0.1% HCl/acetonitrile: 90/10 to 5/95) and ligand **6** was obtained as a colorless oil (0.310 g, 35 % calcd for 3 HCl, the number of HCl molecules has been determined by potentiometric titration).

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  7.98-7.87 (m, 5H), 7.65 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz), 7.47 (m, 1H), 7.43 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz), 7.31 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz), 4.78 (s, 2H), 4.74 (s, br, 2H), 4.54 (s, 2H), 4.20 (s, 2H), 3.78 (s, br, 2H), 3.63 (s, br, 2H), 3.55 (s, 2H), 3.12 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (125.77 MHz, D<sub>2</sub>O): 172.25, 171.82, 170.66, 158.41, 153.72, 153.30, 152.78, 152.14, 151.95, 143.56, 142.61, 142.36, 130.33, 129.50, 127.63, 127.24, 125.33, 125.16, 61.91, 61.78, 61.72, 60.08 (x2), 56.17, 56.12, 53.57, 53.37.

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 535.2300; found 535.2300 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Na]<sup>+</sup>, 557.2119; found 557.2117 [M + Na]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 268.1186; found 268.1189 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

## Synthesis of picolinate derivative



### Compound 34

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>BrNO<sub>4</sub>

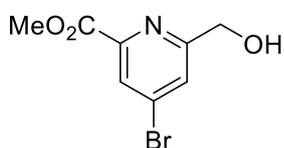
M = 274.07g.mol<sup>-1</sup>

### Dimethyl 4-bromo-2,6-pyridinedicarboxylate

Chelidamic acid monohydrate (5 g, 24.9 mmol) and phosphorus pentabromide (34 g, 79.0 mmol) were heated to 90°C. When a liquid mixture is obtained, heating is pursuing for 2h. After cooling down the mixture at 0°C with an ice bath, chloroform (100 mL) and MeOH (100mL) were carefully added. The solution was stirred for 20 h at rt and the pH was adjusted to 7 with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>. The organic solvents were evaporated and the aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 × 100 mL). The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated to give compound **34** as a white solid (6.43 g, 94 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.42 (s, 2H), 3.99 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 164.02, 149.12, 135.13, 131.33, 53.52.



### Compound 35

$C_8H_8BrNO_3$

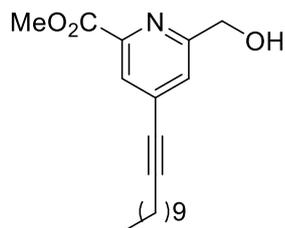
$M = 246.06 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

#### Methyl 4-bromo-6-(hydroxymethyl)picolinate

Compound **34** (6.43 g, 23.5 mmol) was solubilized in dichloromethane (50 mL) and methanol (70 mL). The mixture was cooled down at  $0^\circ\text{C}$  and  $\text{NaBH}_4$  (1.02 g, 28.2 mmol) was added under nitrogen in small portions. After 4 h of stirring, hydrochloric acid (3M) was added to adjust the pH to 5. Solvents were evaporated and the pH of the aqueous layer was adjusted to 12 using a saturated solution of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . The aqueous layer was extracted with dichloromethane ( $3 \times 100 \text{ mL}$ ) and the organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated in vacuo. After purification on silica gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  98/2), compound **35** was obtained as a white solid (3.92 g, 68 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.12 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 4.82 (s, 2H), 3.95 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  164.55, 162.33, 147.96, 134.66, 127.31, 127.21, 64.49, 53.29.



### Compound 36

$C_{20}H_{29}NO_3$

$M = 331.45 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

#### Methyl 4-(dodec-1-yn-1-yl)-6-(hydroxymethyl)picolinate

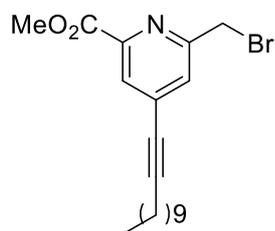
Under inert atmosphere,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (572 mg, 0.82 mmol) and  $\text{CuI}$  (310 mg, 1.63 mmol) were added to a degassed solution of 1-dodecyne (1.63 g, 9.79 mmol), triethylamine (25 mL) and compound **35** (2.0 g, 8.16 mmol) in dry THF (50 mL). The mixture was stirred at  $40^\circ\text{C}$  for 20h. After cooling to rt, the suspension was filtered and triturated with  $\text{Et}_2\text{O}$  (80 mL). The filtrate was washed with a saturated solution of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ( $2 \times 80 \text{ mL}$ ) and brine (80 mL). Then, the organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated in vacuo. The crude product was purified using silica gel (hexane/ethyl acetate: 7/3 to 4/6) yielding compound **36** as a white solid (2.19 g, 81 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.93 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 4.80 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 2.41 (t, 2H), 1.58 (m, 2H), 1.5-1.1 (m, 14H), 0.85 (t, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  165.37, 160.62, 147.05, 134.54, 126.15, 125.98, 97.83, 78.05, 64.62, 53.02, 31.99, 29.67, 29.59, 29.40, 29.21, 29.01, 28.39, 22.77, 19.60, 14.20.

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{NO}_3]^+$ , 332.2220; found 332.2224  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ,

calcd. for  $[\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_3\text{Na}]^{2+}$ , 354.2040; found 354.2040  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ .



### Compound 37

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{BrNO}_2$

$M = 394.35 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

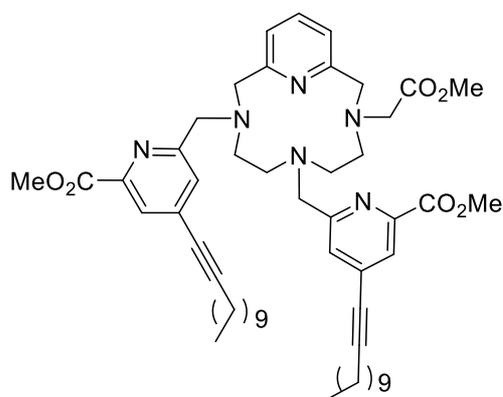
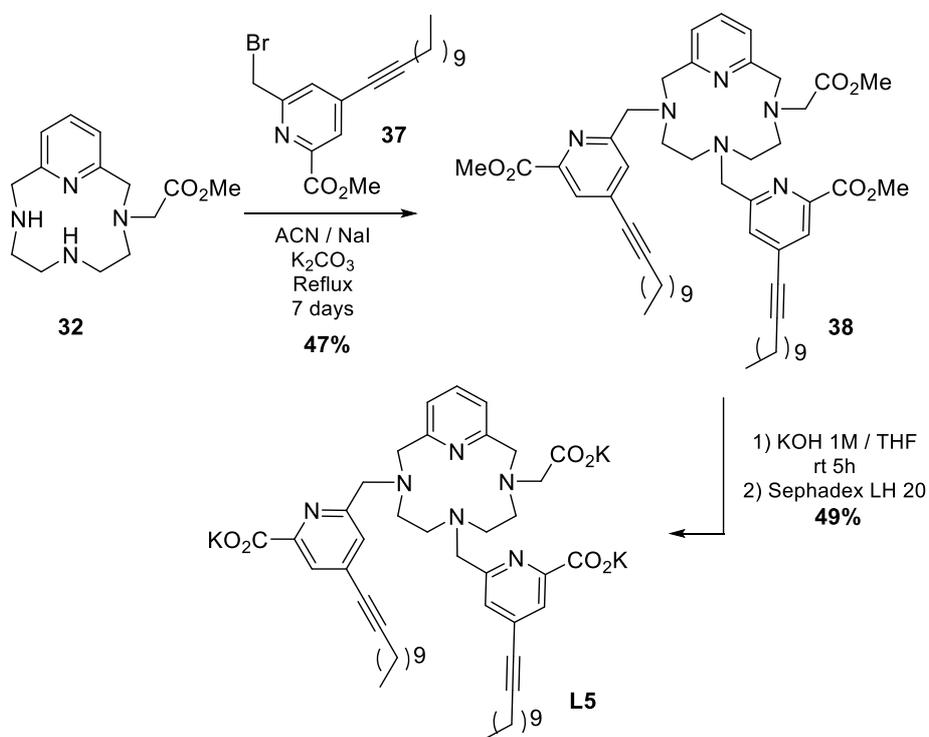
#### Methyl 6-(bromomethyl)-4-(dodec-1-yn-1-yl)picolinate

Compound **36** (2.19 g, 6.62 mmol) was solubilized in dichloromethane (250 mL). Under inert atmosphere, at  $0^\circ\text{C}$ , phosphorus tribromide (2.15 g, 7.94 mmol) was added and the mixture was refluxed for 3h. After cooling to rt, water (100 mL) was added and the pH adjusted to 7 with a saturated solution of  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . The aqueous layer was extracted with dichloromethane ( $3 \times 100$  mL). The organic layers were combined, dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated. After purification on silica gel (hexane/ethyl acetate 90/10 to 40/60), compound **37** was obtained as a white solid (1.12 g, 43%).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.89 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 4.50 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.35 (t, 2H), 1.60-1.45 (m, 2H), 1.42-1.30 (m, 2H), 1.29-1.07(m, 12H), 0.79 (t, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  164.90, 157.35, 147.59, 134.78, 128.74, 126.51, 98.14, 77.58, 52.95, 32.75, 31.82, 29.49, 29.42, 29.23, 29.03, 28.84, 28.18, 22.60, 19.44, 14.04.

## Synthesis of L5



### Compound 38

$C_{54}H_{76}N_6O_6$

$M = 905.22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Dimethyl 9-[(methoxycarbonyl)methyl]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,6-di(methylene(4-(dodec-1yn-1yl))))picolinate

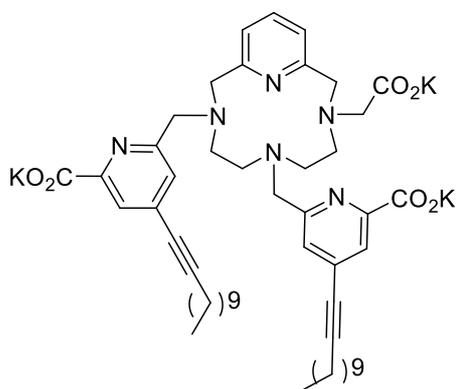
A solution of compound **37** (0.499 g, 1.26 mmol) in dry acetonitrile (50 mL) was added to a refluxed solution of compound **32** (0.214 g, 0.60 mmol) in dry acetonitrile (100 mL) in presence of  $K_2CO_3$  (0.250 g, 1.81 mmol) and NaI (0.188 g, 1.26 mmol). The mixture was refluxed for 7 days. After cooling to rt, the suspension was filtered and the solvent was evaporated. The crude product was solubilized in ethyl acetate (2 mL) and pentane was added until an oil was formed. This step was repeated twice to give compound **38** as a yellow oil (0.256 mg, 47 %).

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.83 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.60 (t, 1H,  $^3J = 7.7$  Hz), 7.47 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.11 (d, 1H,  $^3J = 7.7$  Hz), 7.03 (d, 1H,  $^3J = 7.7$  Hz), 4.22 (d, 1H), 4.10-3.32

(m, 19H), 2.90 (m, 1H), 2.79-2.57 (m, 3H), 2.45-2.21 (m, 5H), 2.04 (m, 1H), 1.82 (m, 1H), 1.58 (m, 4H), 1.46-1.15 (m, 28H), 0.84 (m, 6H).

$^{13}\text{C}$  NMR (125.8 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.84, 165.54, 164.71, 160.22, 159.00, 158.57, 158.02, 147.50, 147.45, 138.14, 135.24, 135.07, 128.65, 128.46, 125.82, 125.62, 121.55, 120.93, 99.29, 98.81, 77.63, 77.51, 62.81, 61.80, 61.53, 59.49, 57.34, 55.90, 55.07 (x2), 53.11, 52.74, 51.75, 51.50, 31.91, 29.59, 29.52, 29.33, 29.12, 28.98, 28.15, 22.70, 19.56, 14.14.

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{54}\text{H}_{77}\text{N}_6\text{O}_6]^+$ , 905.5899; found 905.5900  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{54}\text{H}_{76}\text{N}_6\text{O}_6\text{Na}]^+$ , 927.5719; found 927.5719  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{54}\text{H}_{78}\text{N}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 453.2986; found 453.2990  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .



### L5

$\text{C}_{51}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{O}_6\text{K}_3$

$M = 977.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

9-(Acetate)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadecane-1(15),11,13-triene-3,6-di(methylene(4-(dodec-1-yn-1-yl)))picolinate potassium salt

Compound **38** (0.091 g, 0.10 mmol) was solubilized in THF (2mL). 1 mL of KOH 1M (analytical grade) was added and the biphasic mixture was vigorously stirred for 5 h at rt. The organic layer was evaporated. The product was purified using exclusion size chromatography (Sephadex LH20,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 100/0 to 80/20). The desired product was obtained as a yellow solid (0.048 g, 49 %).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.75 (s br, 2H), 7.61 (t, 1H,  $^3J = 7.6 \text{ Hz}$ ), 7.25 (s br, 1H), 7.11 (m, 2H), 7.04 (d, 1H,  $^3J = 7.8 \text{ Hz}$ ), 4.12 (m, 2H), 3.97 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.48 (m, 2H), 3.37-3.08 (m, 4H), 2.80 (m, 1H), 2.43 (m, 7H), 2.21 (m, 1H), 2.08 (m, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.59 (m, 4H), 1.45 (m, 4H), 1.40-1.18 (m, 24H), 0.88 (m, 6H).

$^{13}\text{C}$  NMR (125.8 MHz, MeOD):  $\delta$  179.01, 172.74, 172.41, 160.77, 160.34, 159.92, 157.92, 156.40, 156.26, 138.89, 135.02, 134.55, 127.82, 127.51, 125.68, 125.60, 122.75, 122.01, 96.97, 96.81, 79.64, 79.49, 64.12, 60.26, 55.52, 54.03, 51.48, 33.08, 30.73, 30.70, 30.47, 30.29, 30.01, 29.56, 23.74, 20.10, 14.49 (pyclen backbone secondary C : only four broad signals have been observed).

ESI-MS ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ , 50/50):  $m/z$  861.15  $[\text{C}_{51}\text{H}_{69}\text{N}_6\text{O}_6]^-$ , 899.10  $[\text{C}_{51}\text{H}_{68}\text{N}_6\text{O}_6\text{K}]^-$ .

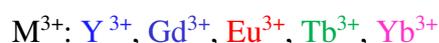
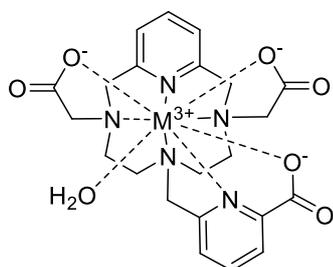
## Synthesis of ML complexes

---

### General procedure for preparation of ML chelates

L.3HCl was dissolved in H<sub>2</sub>O (5 mL) and the pH adjusted to 5 with a solution of KOH 1 M. A solution of MCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O in H<sub>2</sub>O (2 mL) was added to the ligand solution. The mixture was refluxed overnight and then concentrated. The complex was obtained after purification by semi-preparative HPLC-C18 (H<sub>2</sub>O/acetonitrile 100/0 to 10/90).

- Synthesis of [ML1(H<sub>2</sub>O)] complexes



### [YL1(H<sub>2</sub>O)] **39**

L1.3HCl (27.2 mg, 0.048 mmol), YCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (25.0 mg, 0.082 mmol)

Yield: 24.5 mg, 91%

<sup>1</sup>H NMR (500.25 MHz, D<sub>2</sub>O, 328 K): δ 8.19 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.78 Hz), 8.11 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.78 Hz), 8.01 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.78 Hz), 7.69 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.78 Hz), 7.44 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7.78 Hz), 4.58 (d, 2H, <sup>2</sup>J = 17.40 Hz), 4.21 (s, 2H), 4.11 (d, 2H, <sup>2</sup>J = 17.40 Hz), 3.56 (d, 2H, J = 16.02 Hz), 3.04 (m, 2H), 2.74 (m, 6H), 2.16 (s, br, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (125.79 MHz, D<sub>2</sub>O, 328 K): δ 181.79, 161.70, 160.97, 153.24, 144.85, 144.06, 127.82, 126.72, 123.72, 67.19, 66.24, 66.24, 65.40, 62.66, 60.32.

<sup>89</sup>Y NMR (24.51 MHz, D<sub>2</sub>O): 116.4

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>YN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 544.0858; found 544.0858 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>YN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 272.5465; found 272.5469 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

### [GdL1(H<sub>2</sub>O)] **40**

L1.3HCl (36.5 mg, 0.064 mmol), GdCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (27.5 mg, 0.074 mmol)

Yield: 39.8 mg, 98%

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>GdN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 613.1040; found 613.1031 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>GdN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 307.0557; found 307.0560 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

### [EuL1(H<sub>2</sub>O)] 41

L1.3HCl (22.0 mg, 0.039 mmol), EuCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (17.1 mg, 0.047 mmol)

Yield: 22.1 mg, 91%

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>EuN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 608.1012; found 608.1004 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>EuN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 304.5542; found 304.5544 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

### [TbL1(H<sub>2</sub>O)] 42

L1.3HCl (22.0 mg, 0.039 mmol), TbCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (17.4 mg, 0.047 mmol)

Yield: 22.6 mg, 95%

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>TbN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 614.1053; found 614.1048 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>TbN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 307.5563; found 307.5565 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

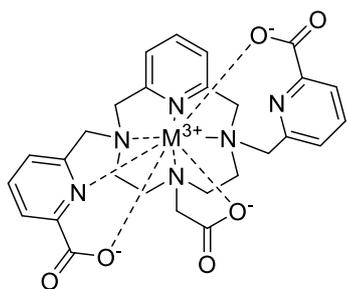
### [YbL1(H<sub>2</sub>O)] 43

L1.3HCl (25.0 mg, 0.044 mmol), YbCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (20.5 mg, 0.053 mmol)

Yield: 27.3 mg, 96%

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>YbN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 629.1188; found 629.1187 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>YbN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 315.0630; found 315.0635 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

#### • Synthesis of [ML<sub>2</sub>] complexes



M<sup>3+</sup>: Y<sup>3+</sup>, Gd<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>, Tb<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup>

### [YL<sub>2</sub>] 44

L2.3HCl (100.0 mg, 0.155 mmol), YCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (89.0 mg, 0.293 mmol)

Yield: 84.8 mg, 88%

<sup>1</sup>H NMR (500.25 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8.20 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz), 8.15 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz), 7.95 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz), 7.90 (m, 2H), 7.82 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz), 7.71 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz), 7.46 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz), 7.23 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz), 5.17 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz), 4.58 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz), 4.55 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz), 4.41 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz), 4.36 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz), 4.32 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz), 4.21 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 18.3 Hz), 4.09 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 18.3 Hz), 3.35 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 17.09 Hz), 3.33 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.89 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 17.09 Hz), 2.57 (m,

3H), 1.80 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (125.79 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  183.29, 174.65, 174.16, 162.21, 160.79, 160.44, 159.01, 154.78, 152.87, 144.85, 144.78, 143.71, 129.37, 127.66, 126.25, 126.04, 123.84, 123.13, 67.14, 66.63, 65.63, 63.90, 60.27, 60.23, 58.86.

$^{89}\text{Y}$  NMR (24.51 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 147.8

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{YN}_6\text{O}_6]^+$ , 621.1123; found 621.1116  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{YN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 311.0598; found 311.0603  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

#### [GdL2] 45

**L2.3HCl** (39.0 mg, 0.061 mmol),  $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (27.0 mg, 0.073 mmol)

Yield: 41.1 mg, 99%

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{GdN}_6\text{O}_6]^+$ , 690.1306; found 690.1313  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{GdN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 345.5689; found 345.5690  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

#### [EuL2] 46

**L2.3HCl** (25.0 mg, 0.039 mmol),  $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (17.1 mg, 0.047 mmol)

Yield: 25.3 mg, 96%

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{EuN}_6\text{O}_6]^+$ , 685.1277; found 685.1279  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{EuN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 343.0675; found 343.0680  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

#### [TbL2] 47

**L2.3HCl** (20.0 mg, 0.031 mmol),  $\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (13.9 mg, 0.037 mmol)

Yield: 19.6 mg, 92%

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{TbN}_6\text{O}_6]^+$ , 691.1318; found 691.1314  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{TbN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 346.0696; found 346.0697  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

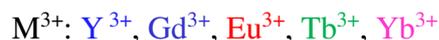
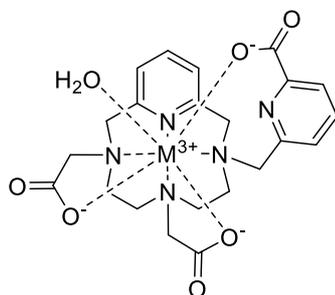
#### [YbL2] 48

**L2.3HCl** (22.0 mg, 0.034 mmol),  $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (15.9 mg, 0.041 mmol)

Yield: 22.1 mg, 92%

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{YbN}_6\text{O}_6]^+$ , 706.1453; found 706.1454  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{YbN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 353.5763; found 353.5764  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

- Synthesis of [ML<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)] complexes



**[YL<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)] 49**

**L3**.3HCl (30.0 mg, 0.053 mmol), YCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (24.0 mg, 0.079 mmol)

Yield: 28.0 mg, 94%

<sup>1</sup>H NMR (500.25 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8.13 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.86 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.81 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.75 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.36 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 7.13 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz), 4.83 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.0 Hz), 4.49 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 14.7 Hz), 4.29 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 14.7 Hz), 4.15 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.0 Hz), 4.10 (m, 3H), 3.88 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.7 Hz), 3.54 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.2 Hz), 3.47 (m, 1H), 3.10 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.7 Hz), 3.07 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.89 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.60 (m, 2H), 1.89 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (125.79 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 183.42, 182.93, 174.79, 162.30, 160.81, 159.29, 153.07, 144.78, 143.34, 129.50, 126.38, 123.75, 122.63, 66.34, 65.80, 65.52, 65.01, 64.27, 63.93, 60.16, 59.54, 59.46,

<sup>89</sup>Y NMR (24.51 MHz, D<sub>2</sub>O): 131.4

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>YN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 544.0858; found 544.0859 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>YN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 272.5465; found 272.5469 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

**[GdL<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)] 50**

**L3**.3HCl (53.0 mg, 0.093 mmol), GdCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (41.3 mg, 0.111 mmol)

Yield: 58.7 mg, 99%

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>GdN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 613.1040; found 613.1030 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>GdN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 307.0557; found 307.0568 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

**[EuL<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)] 51**

**L3**.3HCl (28.5 mg, 0.050 mmol), EuCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (22.1 mg, 0.060 mmol)

Yield: 29.0 mg, 92%

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>EuN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 608.1012; found 608.1007 [M +

H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>EuN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 304.5542; found 304.5544 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

### [TbL3(H<sub>2</sub>O)] 52

L3.3HCl (24.0 mg, 0.042 mmol), TbCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (19.0 mg, 0.051 mmol)

Yield: 23.2 mg, 89%

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>TbN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 614.1053; found 614.1049 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>TbN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 307.5563; found 307.5563 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

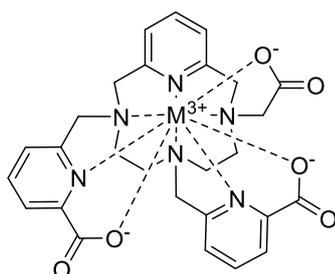
### [YbL3(H<sub>2</sub>O)] 53

L3.3HCl (25.0 mg, 0.044 mmol), YbCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (20.5 mg, 0.053 mmol)

Yield: 27.8 mg, 98%

ESI-HR-MS (positive, H<sub>2</sub>O) m/z calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>YbN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 629.1188; found 629.1182 [M + H]<sup>+</sup>, calcd. for [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>YbN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, 315.0630; found 315.0634 [M + 2H]<sup>2+</sup>.

#### • Synthesis of [ML<sub>4</sub>] complexes



M<sup>3+</sup>: Y<sup>3+</sup>, Gd<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>, Tb<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup>

### [YL4] 54

L4.3HCl (30.0 mg, 0.047 mmol), YCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (24.0 mg, 0.079 mmol)

Yield: 24.8 mg, 92%

<sup>1</sup>H NMR (500.25 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8.19 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.63 Hz), 8.11 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.63 Hz), 8.03 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.32 Hz), 7.89 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.32 Hz), 7.85 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7.93 Hz), 7.75 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.93 Hz), 7.64 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.93 Hz), 7.42 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.93 Hz), 7.18 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.93 Hz), 4.91 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.48 Hz), 4.67 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.48 Hz), 4.22 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.48 Hz), 4.21 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 18.92 Hz), 4.15 (d, 2H, <sup>2</sup>J = 15.87 Hz), 4.03 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 18.92 Hz), 3.95 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 16.48 Hz), 3.62 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 15.87 Hz), 3.56 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 15.87 Hz), 3.32 (t, br, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 2.71 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.36 (t, br, 1H), 1.81 (t, br, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (125.79 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 182.85, 175.74, 173.39, 161.99, 161.04, 160.55, 157.98, 152.71, 152.66, 144.80, 144.15, 143.52, 128.81, 128.08, 126.48, 125.96, 123.63, 122.80, 66.88,

66.84, 66.40, 65.12, 64.98, 63.68, 60.91, 60.60, 59.87.

$^{89}\text{Y}$  NMR (24.51 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 151.1

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{YN}_6\text{O}_6]^+$ , 621.1123; found 621.1121  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{YN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 311.0598; found 311.0601  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

#### [GdL4] 55

**L4.3HCl** (36.2 mg, 0.056 mmol), **GdCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O** (25.1 mg, 0.068 mmol)

Yield: 38.1 mg, 98%

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{GdN}_6\text{O}_6]^+$ , 690.1306; found 690.1321  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{GdN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 345.5698; found 345.5690  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

#### [EuL4] 56

**L4.3HCl** (23.5 mg, 0.036 mmol), **EuCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O** (16.0 mg, 0.044 mmol)

Yield: 21.8 mg, 87%

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{EuN}_6\text{O}_6]^+$ , 685.1277; found 685.1277  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{EuN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 343.0675; found 343.0680  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

#### [TbL4] 57

**L4.3HCl** (24.0 mg, 0.037 mmol), **TbCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O** (16.4 mg, 0.044 mmol)

Yield: 25.3 mg, 98%

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{TbN}_6\text{O}_6]^+$ , 691.1318; found 691.1316  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{TbN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 346.0696; found 346.0699  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

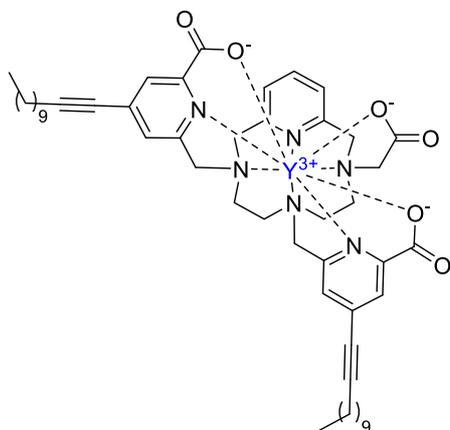
#### [YbL4] 58

**L4.3HCl** (30.0 mg, 0.047 mmol), **YbCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O** (21.7 mg, 0.056 mmol)

Yield: 30.4 mg, 93%

ESI-HR-MS (positive,  $\text{H}_2\text{O}$ )  $m/z$  calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{YbN}_6\text{O}_6]^+$ , 706.1453; found 706.1454  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd. for  $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{YbN}_6\text{O}_6]^{2+}$ , 353.5763; found 353.5768  $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ .

- **Synthesis of the lipophilic complex YL5**



**[YL5] 59**

Compound **L5** (26 mg, 0.027 mmol) was solubilized in MeOH (4 mL). K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (11 mg, 0.080 mmol) and YCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (26 mg, 0.086 mmol) were added. The mixture was stirred at rt for 2 days. The solvent was evaporated and the residu was taken up in MeOH to remove the inorganic salts. Compound **66** was obtained without further purification (quantitative yield).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOD): δ 7.89 (m, 2H), 7.77 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.22 (d, 1H), 4.95 (d, 1H), 4.57 (m, 6H), 4.17-4.01 (m, 4H), 3.84 (d, 1H), 3.62 (d, 1H), 3.39 (d, 1H), 2.98 (d, 1H), 2.82 (d, 1H), 2.66 (m, 2H), 2.53-2.47 (4H), 1.63 (m, 4H), 1.46 (m, 4H), 1.29 (m, 24), 0.88 (m, 6H).

ESI-MS (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 50/50): m/z 949.45 [M+H]<sup>+</sup>, 971.35 [M+Na]<sup>+</sup>, 987.35 [M+K]<sup>+</sup>.

## Potentiometric studies

---

### Potentiometric measurements (Brest).

Reagents and solutions. All solutions were prepared in ultrapure water. Carbonate-free solution of the KOH titrant and HNO<sub>3</sub> titrant were prepared from a Fluka<sup>®</sup> Analytical ampoule diluted until 1 L with ultrapure water (freshly boiled for about 2 h and allowed to cool down at r.t. under argon). The titrant solutions were standardized using the Gran method upon titration of a standard HNO<sub>3</sub> solution.<sup>162</sup> The stock solutions of Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> and Y<sup>3+</sup> were prepared from analytical grade salts and standardized by complexometric titrations with H<sub>4</sub>EDTA (edta = ethylenediaminetetraacetic acid) following standard methods.<sup>163</sup>

Equipment and working conditions. Protonation and complexation titrations were performed in a 50 mL glass-jacketed titration cell (Metrohm 727 TiStand), thermostated at 25.0 ± 0.1 °C with a Lauda ecoline 003 circulating water bath and sealed from the atmosphere under nitrogen gas. The pH-potentiometric titrations were carried out by using a Metrohm 702 SM Titrino connected to a Metrohm 6.0234.100 combined glass electrode. A Metrohm Dosimat Plus autoburette (5 mL capacity) was used. Sample solutions for protonation titrations contained approximately 0.050 mmol of ligand (0.045 mmol for **PCTMB**, 0.042 mmol for **L1**, 0.048 mmol for **L2**, 0.055 mmol for **L3** and 0.049 mmol for **L4**) in a total volume of 30 mL. The ionic strength was kept at 0.10 ± 0.01 M using KNO<sub>3</sub> as background electrolyte. Batch titrations (**PCTMB**) were prepared with approximately 0.09 mmol of the ligand in a total volume of 60.00 mL, with Y<sup>3+</sup> and H<sub>4</sub>edta added respectively at 1 and 4 equiv of the ligand amount. The ionic strength was kept at 0.10 ± 0.01 M using KNO<sub>3</sub> as background electrolyte. The solution was divided in 20 vials, and an increasing amount of standardized KOH solution at ca. 0.1 M was added to each one. Batch titration points were incubated at 25.0 ± 0.1 °C in a Lauda Alpha RA 24 thermostat during 4 weeks (until potential measurements reached complete stability) in tightly closed vials under argon. The titrations were automatically controlled by software upon selection of suitable parameters.

Measurements. The electromotive force of the sample solutions was measured after calibration of the electrode by titration of a standard 2×10<sup>-3</sup> M HNO<sub>3</sub> solution. The [H<sup>+</sup>] of the samples was determined by the measurement of the electromotive force of the cell,  $E = E^{\circ} + Q \log [H^+] + E_j$ , where the term pH is defined as  $-\log [H^+]$ .  $E^{\circ}$  and  $Q$  were determined by titration of a solution of known hydrogen-ion concentration at the same ionic strength. The liquid-junction potential,  $E_j$ , was found to be negligible under the experimental conditions used and a value of  $K_w$  equal to 10<sup>-13.78</sup> was determined for our experimental conditions.

Calculation of Equilibrium Constants. Data from potentiometric titrations were used to

determine the protonation constants of the ligands and the stability constants with  $M^{3+}$ . The overall equilibrium constants  $\beta_i^H$  and  $\beta_{M_mH_hL_l}$  (being  $\beta_{M_mH_hL_l} = [M_mH_hL_l]/[M]^m[H]^h[L]^l$  and  $\beta_{MH_{-1}L} = \beta_{ML(OH)} \times K_w$ ) were obtained by refinement of the potentiometric data with the HYPERQUAD program.<sup>164</sup> Differences, in log units, between the values of protonated (or hydrolysed) and non-protonated constants provide the stepwise (log K) constants (being  $K_{M_mH_hL_l} = [M_mH_hL_l]/[M_mH_{h-1}L_l][H]$ ). The errors quoted are the standard deviations of the overall stability constants calculated by the program using all the experimental data. At least two titration curves for each system were fitted together. Species distribution diagrams were plotted from the calculated constants with the HYSS program.<sup>165</sup>

**Potentiometry (Debrecen).** The protonation constants of the ligands were determined by H-potentiometric titrations carried out with a Metrohm 888 Titrando titration workstation using a Metrohm-6.0233.100 combined electrode. The titrated solutions (6.00 mL) were thermostated at 25°C and the ionic strength in the samples was set to 0.15 M NaCl. The samples were stirred and kept under inert gas atmosphere ( $N_2$ ) to avoid the effect of  $CO_2$ . For the pH-calibration of the electrode standard buffers (KH-phthalate (pH=4.005) and borax (pH=9.177)) were used. The concentrations of the ligands' solutions were determined by pH-potentiometric titration from the titration data obtained in the presence and absence of large  $Ca^{2+}$  excess. In the pH-potentiometric titrations of the ligands 199-303 mL-pH data pairs were recorded in the pH range of 1.7-11.9. The calculation of  $[H^+]$  from the measured pH values was performed with the use of the method proposed by Irving et al. by titrating a 0.01 M HCl solution (I=0.15 M NaCl) with a standardized NaOH solution. The differences between the measured and calculated pH values were used to obtain the  $[H^+]$  concentrations from the pH-data obtained in the titrations. The ion product of water was determined from the same experiment in the pH range 11.4–11.9. The protonation and stability constants were calculated from the titration data with the PSEQUAD program.

## UV-Visible spectra and kinetic studies

---

**UV-Visible spectra** were recorded at 298 K on a Jasco V-650 spectrometer using 1 cm cells. The UV-visible spectra of **PCTMB**, **L1**, **L2**, **L3**, **L4** and their yttrium(III) complexes were measured at 298 K in acetate buffer at pH 3.8 and 5.5 with  $C_{PCTMB} = C_{YPCTMB} = 2.10^{-4}$  M,  $C_{L1} = C_{YL1} = 8.10^{-5}$  M,  $C_{L2} = C_{YL2} = 4.10^{-5}$  M,  $C_{L3} = C_{YL3} = 5.10^{-5}$  M,  $C_{L4} = C_{YL4} = 4.10^{-5}$  M.

**The formation** of Y(III) complexes of H<sub>3</sub>PCTMB, H<sub>3</sub>PCTA, L1, L2, L3 and L4 was studied in acetate buffer at 25°C (Table 1). The increasing intensity of the absorption band in the UV range was followed at pH 3.8 and 5.5 with an ionic strength of 0.15 M. **The acid-assisted dissociation** of the yttrium(III) complexes was studied under pseudo-first order conditions without control of ionic strength by addition of an aqueous solution of HCl 6M (in order to obtain the following concentration in the quartz cell: 0.5, 1, 2, 4 and 5 M) to an aqueous solution of the preformed complex (see Table 1 for concentration). Dissociation was followed by the decreasing intensity of the absorption band of the complex or the increasing intensity of the absorption band of the ligand in the UV range. The data were fitted to a first-order exponential equation of the form  $A_t = A_e + (A_0 - A_e)e^{-k_{obs}/t}$ , where  $A_t$ ,  $A_e$ , and  $A_0$  are the absorbances at time  $t$ , at equilibrium, and at the start of the reaction, with  $k_{obs} = \ln(2)/t_{1/2}$ .

	H <sub>3</sub> PCTMB	L1	L2	L3	L4	PCTA
Formation	[L] = [M] = 2.10 <sup>-4</sup> M	[L] = [M] = 8.10 <sup>-5</sup> M	[L] = [M] = 4.10 <sup>-5</sup> M	[L] = [M] = 5.10 <sup>-5</sup> M	[L] = [M] = 4.10 <sup>-5</sup> M	-
Dissociation	[YL] = 2.10 <sup>-4</sup> M	[YL] = 4.10 <sup>-5</sup> M	[YL] = 4.10 <sup>-5</sup> M	[YL] = 1.10 <sup>-4</sup> M	[YL] = 4.10 <sup>-5</sup> M	[YL] = 2.10 <sup>-4</sup> M

Table 1 : Ligands and complexes concentration in quartz cell used for kinetic studies.

## Photon Correlation Spectroscopy experiments (Guerbet group)

---

Particles size and size distributions were assessed by dynamic light scattering method with a Zetasizer Nano ZS apparatus from Malvern (Malvern Instruments Orsay, France). For the first series, the solutions were filtered directly to the measuring cells through 0.22- $\mu$ m or 0.45  $\mu$ m Millipore membranes. As light source, a DPSS laser operating at 532 nm was used. All the measurements were made at a temperature of 20 °C. For each run, three correlation plots were acquired.

## <sup>90</sup>Y radiolabeling studies (Centre Eugène Marquis, Rennes)

---

Yttrium 90 chloride was provided by PerkinElmer Life Sciences, in 0.05 M HCl solution. The activity of the <sup>90</sup>Y solution was between 122.71  $\mu$ Ci and 2.94 mCi (4.54-108.78 MBq). Lipiodol Ultra Fluide was provided by Guerbet. Other chemicals (HPLC solvents, buffer solutions) were used as received from furnishers. Ligands (chlorhydrate form) were dissolved in 1 M buffer acetate pH = 4.75. Experiments were performed in borosilicated sealed glass flasks. Sealed

flasks were heated on a heating block Bioblock able to heat until 6 flasks. When agitation was necessary, a Lab Dancer S40 (VWR) vortex was used. Centrifugations were performed with a MF 20-R (Awel) centrifuge. Activities were measured with a CRC-127R (Capintec) dose calibrator. Quality controls were carried out by TLC on Whatman 1 paper eluted in MeOH with 0.1 %  $\text{NEt}_3$ . Radiochemical purities (RCP) were determined with a Cyclone Storage Phosphorimager (Perkin Elmer), using the Optiquant software. HPLC analyses were performed on a HPLC Dionex Ultimate 3000 instrument equipped with a diode array detector and a radiochromatographic fLumo (Berthold) detector piloted by the Chromeleon software. The chromatographic analytic system employs an Accucore  $\text{C}_{18}$   $100 \times 3$  mm,  $2.6 \mu$  column with A =  $\text{H}_2\text{O}$ ; B = MeOH; 0-10 min: 80 % B as eluents at a flow rate of 0.4 mL/min.

**$^{90}\text{Y}$ PCTMB synthesis.** 0.5 mL of a  $\text{H}_3\text{PCTMB}$  solution ( $C = 10^{-4} - 10^{-1}$  M) in acetate buffer pH = 4.75 were added to 0.5 mL of an yttrium 90 chloride solution in 1 M acetate buffer pH = 4.75. The resulting solution was heated at  $60^\circ\text{C}$  for 15 min.

**Stability of  $^{90}\text{Y}$ PCTMB in human serum.** 500  $\mu\text{L}$  of  $^{90}\text{Y}$ -PCTMB were incubated with 1 mL of human serum (True Human A Serum, pool of donors, Biopredic) at  $37^\circ\text{C}$  under light stirring in a Polytest 20 (Bioblock). Samples were withdrawn at different time points and analyzed with HPLC (Accucore  $\text{C}_{18}$   $100 \times 3$  mm,  $2.6 \mu$  with the following program: 0.4 mL/min; A=  $\text{H}_2\text{O}$ ; B= MeOH; 0-10 min: 80 % B) and TLC (Whatman 1 paper, MeOH/ $\text{NEt}_3$  0.1%). Experiments were done in triplicate.

**Lipiodol extraction and stability in serum of  $^{90}\text{Y}$ PCTMB.** The radiochelate was synthesized as previously described. 2 mL of Lipiodol was added. After vigorous stirring, the phases were separated by centrifugation and the activity of each phase was measured. 10 mL of saline solution 0.9% or human serum were added to the oily phase. The mixture was stirred at  $37^\circ\text{C}$  for several days. 100  $\mu\text{L}$  of the aqueous layer was withdrawn at different time points and the activity was measured and corrected.

**$^{90}\text{YL1}$ ,  $^{90}\text{YL2}$ ,  $^{90}\text{YL3}$  and  $^{90}\text{YL4}$  synthesis.** Several parameters such as concentration of ligands, volume and pH of the reaction mixture, incubation time, and temperature were varied extensively to obtain an optimised protocol. A 0.5 mL amount of a yttrium 90 chloride solution in 0.1 M HCl solution (pH = 3) or in acetate buffer (pH = 4.65-9) were added to 0.5 mL of a **L1**, **L2**, **L3** or **L4** solution ( $C = 0.01$ -1 mM) in ethanol. The resulting solution was heated at  $20$ - $100^\circ\text{C}$  for 15-60 min.

**Stability of  $^{90}\text{YL1}$ ,  $^{90}\text{YL2}$ ,  $^{90}\text{YL3}$  and  $^{90}\text{YL4}$ , and transchelation studies.** For the stability studies,  $^{90}\text{YL}$  were synthesized by using 1 mM of **L** at pH = 5.2 and at 80°C, for 15 min. Aliquots of  $^{90}\text{YL}$  solutions (0.5 mL) were alternatively mixed with i) 1 mL of a 0.9 % NaCl, ii) 1 mL of healthy human serum solution, iii) 0.5 mL of a 100 mM EDTA solution. The mixtures were incubated at 37 °C under slight stirring and analyzed on TLC after 0, 1, 24, 48 and 72 min, for i) and ii), and after 0, 1, 2, 4, 24, 48 and 72 h for iii).

**Lipiodol extraction of  $^{90}\text{YL4}$ .** The radiochelate was synthesized as previously described. 2 mL of Lipiodol was added. After vigorous stirring, the phases were separated by centrifugation and the activity of each phase was measured. Due to the insolubility of  $^{90}\text{YL4}$  in Lipiodol, the stability wasn't studied.

**$^{90}\text{YL5}$  synthesis.** 1 mL of a **L5** solution ( $C = 10^{-3}$  M) in ethanol was added to 1 mL of yttrium 90 chloride solution in 1M acetate buffer (pH 6.5 - 9). The resulting solution was heated at 50°C for 15 min.

**Lipiodol extraction and stability of  $^{90}\text{YL5}$ .** The radiochelate was synthesized as previously described. 2 mL of Lipiodol was added. After vigorous stirring, the phases were separated by centrifugation and the activity of each phase was measured. 10 mL of saline solution 0.9% was added to the oily phase. The mixture was stirred at 37°C for several days. 100  $\mu\text{L}$  of the aqueous layer was withdrawn at different time points and the activity was measured and corrected.

## Luminescence measurements (University of A Coruña)

---

UV-Vis spectra were recorded on a Jasco V-650 spectrometer using 1 cm cells. Emission and excitation spectra were measured on a Horiba FluoroMax Plus-P spectrofluorometer equipped with a 150 W ozone-free xenon arc lamp and a R928P photon counting emission detector, as well as a photodiode reference detector for monitoring lamp output. Luminescence decays were measured on the same instrument working in the phosphorescence mode using a xenon flash lamp.

Eu(III) and Tb(III) complexes solutions were prepared in Tris buffer 0.1 M at pH 7.45 and used for absorption, excitation, emission spectra and quantum yield measurements:  $[\text{EuL2}] = 2.78 \times 10^{-5}$  M,  $[\text{EuL4}] = 1.89 \times 10^{-5}$  M,  $[\text{EuL1}] = 2.49 \times 10^{-5}$  M,  $[\text{EuL3}] = 2.77 \times 10^{-5}$  M,  $[\text{TbL2}] = 1.58 \times 10^{-5}$  M,  $[\text{TbL4}] = 1.62 \times 10^{-5}$  M,  $[\text{TbL1}] = 2.20 \times 10^{-5}$  M,  $[\text{TbL3}] = 2.65 \times 10^{-5}$  M.

Eu(III) and Tb(III) complexes solutions for lifetime measurements were prepared in H<sub>2</sub>O and

D<sub>2</sub>O with [EuL] = 5.0 × 10<sup>-5</sup> M, [TbL] = 1.0 × 10<sup>-5</sup> M.

Yb(III) solutions were prepared in H<sub>2</sub>O for absorption, excitation and emission spectra measurements with [YbL] = 4 × 10<sup>-5</sup> M.

Emission spectra of Eu(III), Tb(III) and Yb(III) complexes were recorded with an excitation wavelength of 272 nm corresponding to the maximum of absorption. The excitation spectra were recorded using an emission wavelength corresponding to the maximum of emission (around 615 nm for Eu(III), 543 nm for Tb(III) and 978 nm for Yb(III) complexes). Due to the program configuration, no correction was applied during the emission spectra acquisition of Yb(III) complexes. The excited states lifetime measurements were carried out with an emission wavelength of 615 nm for Eu(III) complexes and 543 nm for Tb(III) complexes in both H<sub>2</sub>O and D<sub>2</sub>O. The curves were fitted by an exponential equation of the form  $y = y_0 + A_1 \cdot e^{-x/\tau}$  allowing the determination of the luminescence lifetime  $\tau$ . The quantum yields were calculated using the following equation 12 where x stands for the sample and r for the reference, E is the integrated luminescence intensity and A is the absorbance at 279 nm. [Cs(EuDPA)] ( $\Phi_r = 24\% \pm 2.5\%$ , Tris buffer 0.1M) and [Cs(TbDPA)] ( $\Phi_r = 22\% \pm 2.5\%$ , Tris buffer 0.1M) were used as references and synthesized as previously described in the literature.<sup>80,81,155</sup>

$$\frac{\Phi_x}{\Phi_r} = \frac{E_x A_r(\lambda_r)}{E_r A_x(\lambda_x)} \quad (12)$$

## NMR experiments

---

**Paramagnetic NMR.** The paramagnetic NMR experiments were performed on a Bruker 300 MHz in D<sub>2</sub>O, with [Yb(L)] = 30 mM and [Eu(L)] = 15 mM.

**<sup>89</sup>Y NMR.** One dimensional <sup>1</sup>H NMR spectra were recorded at 25°C on a BRUKER Avance III HD 500 spectrometer equipped with an indirect 5mm triple resonance probehead TBI <sup>1</sup>H/ {BB} /<sup>13</sup>C. Spectra were performed according BRUKER's pulse programs with standard pulses sequences of 2s of delay, a 30° pulse and 16 scans.

To assign chemical shifts of <sup>89</sup>Y, 2D sequences were performed, as Heteronuclear Multiple Bond Coherence <sup>1</sup>H-<sup>89</sup>Y (HMBC) with a delay for evolution of long range couplings of 41.66ms, 2s delay for relaxation time. For example, in an HMBC experiment the raw data set consisted of 48 fid of 1024 (F2) \* 98(F1) complex data points each zerofilled to 1k in the F1 dimension prior to Fourier transform with a spectral width of 31846 Hz and 4504 Hz in the F1 and F2 dimensions respectively.

$^1\text{H}$  Chemical shifts were expressed in ppm relative to TSP as external reference, in 99.97% D<sub>2</sub>O, and TMS for others solvents.

$^{89}\text{Y}$  chemicals shifts were expressed in ppm relative to Ytrium nitrate, hexahydrat 1M, pH=5.3 as external reference. One dimensional  $^{89}\text{Y}$  spectrum reference was recorded with 50s delay relaxation time, 976 scans, and 5980Hz spectral window.

## Relaxivity measurements (University of Debrecen)

---

The relaxivity was measured by using a Bruker Minispec MQ20 instrument 20 MHz at 25°C. The relaxivities ( $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) of the four **GdL** complexes were determined by plotting the reciprocal longitudinal relaxation times of the complexes against their concentrations.

**Kinetic inertness of GdL complexes.** The kinetic inertness of the **GdL** complexes was characterized by studying the acid catalyzed dissociation of the complexes under pseudo first order conditions (1 mM  $\text{Gd}^{3+}$  complex solutions were studied in the acid concentration range of 0.0965–0.9971 M (**GdL1**, **GdL3**), 0.0965–1.0131 M (**GdL2**) and 0.0965–0.9890 M (**GdL4**). The kinetic profiles obtained by recording the relaxivity as a function of time were fitted to eqn (9) using the Scientist™ program. In these calculations the relaxivities of the complex and the  $\text{Gd}^{3+}$  ion (at 25 °C and 20 MHz) were fixed to their values determined independently.

**Thermodynamic stability of GdL and YL complexes.** The stability constants of the **GdL** were determined by measuring the longitudinal relaxation times of the “out-of-cell” samples prepared in strongly acidic solutions. The measurements were performed with a Bruker Minispec MQ20 NMR analyzer (20 MHz, 25 °C) using the inversion recovery method ( $180^\circ - \tau - 90^\circ$ ) at 14 different  $\tau$  values by averaging 4-5 identical readouts. Altogether 12-13 different samples were prepared containing the ligand and  $\text{Gd}^{3+}$  at 2 mM concentration. The HCl concentration was varied in the concentration range of 5.78-70.85 mM for **L1**, 6.20-175.0 mM for **L3**, 11.0-102.4 mM for **L2** and 11.5-180.0 mM for **L4** systems respectively. The relaxivities of the samples were measured 4 weeks and 8 weeks after their preparation and since the two measurements returned identical results, it was concluded that the samples have attained the equilibrium. By fitting the relaxivity and acid concentration data including the relaxivity of the free (uncomplexed)  $\text{Gd}^{3+}$ -ion (which is being equal to  $13.172 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  at 20 MHz and 25 °C) it was possible to calculate the stability of the **GdL** complexes as well as their relaxivities. The **YL** complex stabilities were determined by competition titration with  $\text{Gd}^{3+}$  at pH = 4.70 in 50 mM DMP buffer in 0.15 M NaCl at 25 °C. The samples were prepared by mixing the two metal

ions together and then the buffered ligand solution was added to the mixture. The samples were set aside at 25°C for 8 weeks, and their relaxivities were recorded. A second measurement of the relaxivities was performed after another 8 weeks, which evidenced no significant changes of the relaxivities, indicating that thermodynamic equilibrium was attained during this period of time (16 weeks).

## Transmetallation studies (Guerbet group)

---

The relaxivity was measured by using a Bruker Minispec MQ20 instrument 20 MHz at 37°C. 5 mL of a GdL solution ( $C = 2.5$  mM) was added to a 5 mL ZnCl<sub>2</sub> solution ( $C = 2.5$  mM) both freshly prepared in phosphate buffer pH 7 (500 mM). The solution was kept at 37°C. 330  $\mu$ L of the solution was withdrawn at different time points and the T<sub>1</sub> relaxation time was measured at 37°C.

## DFT calculations (University of A Coruña)

---

Geometry optimisations of the YL1(H<sub>2</sub>O)·2H<sub>2</sub>O and YL2(H<sub>2</sub>O)·2H<sub>2</sub>O systems were carried out using DFT with the hybrid meta-GGA approximation (TPSSH exchange-correlation functional)<sup>166</sup> and the Gaussian 09 package (Revision D.01). In these calculations we employed the quasi-relativistic effective core potential ECP28MWB<sup>167</sup> and the related (8s7p6d2f1g)/[6s5p3d2f1g]-GTO valence basis set for Y.<sup>168</sup> For the ligand atoms the standard 6-31G(d,p) basis set was selected. No symmetry constraints have been imposed during the optimisations, while the default values for the integration grid (75 radial shells and 302 angular points) and the SCF energy convergence criteria ( $10^{-8}$ ) were used. The stationary points found on the potential energy surfaces were tested to represent true energy minima via frequency analysis. Bulk solvent effects (water) were considered with the integral equation formalism variant of the polarizable continuum model (IEFPCM), using the universal force field radii (UFF) scaled by a factor of 1.1 to define the solute cavities.

---

## Annexes

---



## 1. Données cristallographiques

Single-crystal X-ray diffraction data were collected by François Michaud at the University of Brest with a Xcalibur 2 CCD 4-circle Diffractometer (Oxford Diffraction) fitted with a graphite monochromated Mo K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ). Data were collected at 170 K and 298 K. Unit cell determination and data reduction, including interframe scaling, Lorentzian, polarization, empirical absorption, and detector sensitivity corrections, were carried out using attached programs of CrysAlis software (Oxford Diffraction).<sup>169</sup> Structures were solved by direct methods and refined by full matrix least-squares method on  $F^2$  with the SHELXL97<sup>170</sup> suite of programs. The hydrogen atoms were identified at the last step and refined under geometrical restraints and isotropic U-constraints.

	[Y(PCTMB)]	[Ho(PCTMB)]	[Lu(PCTMB)]	Pyclen oxalate
formula	C <sub>104</sub> H <sub>228</sub> N <sub>16</sub> O <sub>54</sub> P <sub>12</sub> Y <sub>4</sub>	C <sub>52</sub> H <sub>114</sub> HO <sub>2</sub> N <sub>8</sub> O <sub>27</sub> P <sub>6</sub>	C <sub>52</sub> H <sub>114</sub> Lu <sub>2</sub> N <sub>8</sub> O <sub>27</sub> P <sub>6</sub>	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
MW	3294.33	1799.21	1817.26	278.31
crystal system	triclinic	triclinic	triclinic	monoclinic
space group	P-1	P-1	P-1	P 1 21/n 1
T/K	150(2)	150(2)	150(2)	170(2)
a/Å	14.2900(4)	14.2369(10)	14.2622(13)	9.2194(11)
b/Å	16.5673(5)	16.5506(11)	16.5121(15)	9.4838(14)
c/Å	18.7158(5)	18.6914(13)	18.6191(16)	14.8594(18)
$\alpha$ /deg	116.106(1)	116.119(2)	115.848(3)	
$\beta$ /deg	94.895(1)	94.796(3)	95.323(3)	91.951(11)
$\gamma$ /deg	104.175(1)	104.039(3)	104.167(3)	
V/Å <sup>3</sup>	3761.65(18)	3743.6(4)	3724.8(6)	1298.5(3)
F(000)	1732	1844	1856	592
Z	1	2	2	4
$\lambda$ , Å (MoK $\alpha$ )	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073
$D_{\text{calc}}$ /g cm <sup>-3</sup>	1.454	1.596	1.620	1.424
$\mu$ /mm <sup>-1</sup>	1.742	2.306	2.844	0.104
$\theta$ range/deg	2.98 to 27.48	2.91 to 27.48	2.99 to 27.53	3.34 to 26.37
$R_{\text{int}}$	0.0552	0.0409	0.0860	0.0983
reflns measd	40870	53972	59739	8074
unique reflns	17006	17030	16486	2654
reflns obsd	11584	12694	11263	1391
GOF on $F^2$	1.032	1.043	1.023	1.019
$R_1^a$	0.0562	0.0367	0.0589	0.0739
$wR_2$ (all data) <sup>b</sup>	0.1422	0.0914	0.1734	0.2158
Largest differences peak and hole /eÅ <sup>-3</sup>	1.712 / -1.632	0.926 / -0.633	1.288 / -0.882	0.502 / -0.313

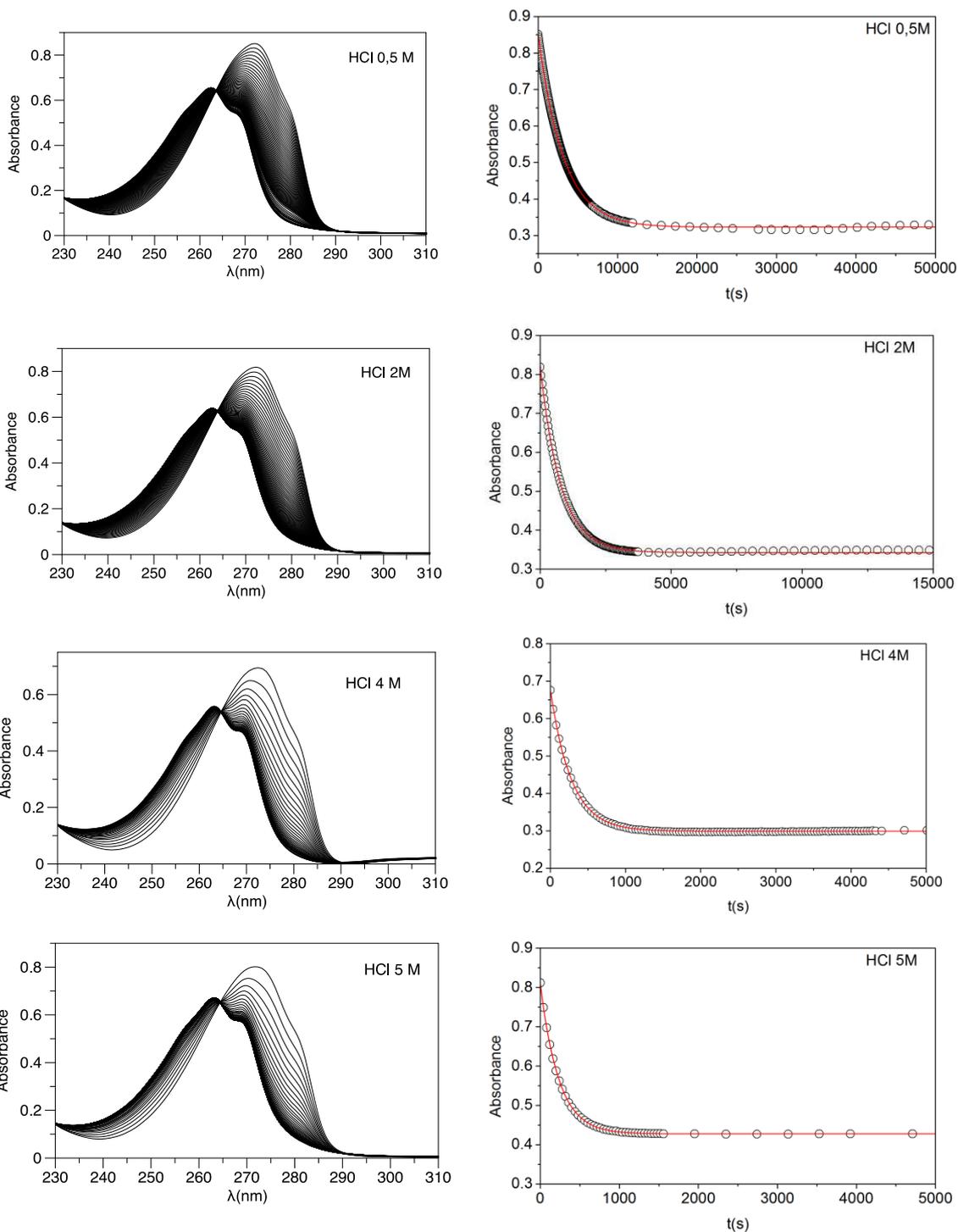
## Données cristallographiques (Suite)

	EuL2	YbL2	YL4	YL2
formula	C <sub>54</sub> H <sub>81</sub> N <sub>12</sub> O <sub>25.5</sub> Eu <sub>2</sub>	C <sub>108</sub> H <sub>190</sub> N <sub>24</sub> O <sub>65</sub> Yb <sub>4</sub>	C <sub>54</sub> H <sub>80</sub> N <sub>12</sub> O <sub>25</sub> Y <sub>2</sub>	C <sub>108</sub> H <sub>190</sub> N <sub>24</sub> O <sub>65</sub> Y <sub>4</sub>
MW	1610.23	3557.00	1475.12	3220.48
crystal system	Triclinic	Triclinic	monoclinic	triclinic
space group	P-1	P-1	P 1 21/n 1	P -1
T/K	170(2)	170(2)	170(2)	170(2)
a/Å	14.3800(5)	10.8261(11)	15.5382(4)	10.7418(4)
b/Å	14.5908(6)	16.2779(16)	19.0764(5)	16.1858(6)
c/Å	16.0093(6)	20.825(2)	21.5877(6)	20.7520(9)
α/deg	71.448(3)	86.283(8)		86.640(3)
β/deg	82.065(3)	80.254(9)	102.148(2)	80.159(3)
γ/deg	82.736(3)	81.024(8)		80.959(3)
V/Å <sup>3</sup>	3141.8(2)	3569.9(6)	6255.6	3508.9(2)
F(000)	1638	1806	3064	1682
Z	2	1	4	1
λ, Å (MoK <sub>α</sub> )	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073
D <sub>calc</sub> /g cm <sup>-3</sup>	1.702	1.655	1.566	1.524
μ/mm <sup>-1</sup>	2.071	2.699	1.939	1.743
θ range/deg	3.34 to 26.37	3.19 to 26.37	3.34 to 26.37	3.29 to 26.37
R <sub>int</sub>	0.0710	0.0765	0.0463	0.0699
reflns measd	22148	24719	38747	42069
unique reflns	12800	14575	12766	14315
reflns obsd	9135	10778	9455	10831
GOF on F <sup>2</sup>	1.024	1.050	1.028	1.060
R <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.0490	0.0591	0.0416	0.0481
wR <sub>2</sub> (all data) <sup>b</sup>	0.1136	0.1576	0.0946	0.1166
Largest differences peak and hole /eÅ <sup>-3</sup>	1.372/-1.320	2.094/-4.653	0.686 / -0.797	0.918 / -0.662

	EuL4	YbL4	YbL3
formula	C <sub>54</sub> H <sub>80</sub> Eu <sub>2</sub> N <sub>12</sub> O <sub>25</sub>	C <sub>54</sub> H <sub>79</sub> Yb <sub>2</sub> N <sub>12</sub> O <sub>24.5</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>40</sub> YbN <sub>5</sub> O <sub>14</sub>
MW	1601.22	1634.37	771.63
crystal system	Monoclinic	Monoclinic	Triclinic
space group	P21/n	P21/n	P-1
T/K	297(2)	100(2)	170(2)
a/Å	15.6350(4)	15.5257(6)	12.6435(2)
b/Å	19.2085(5)	19.0131(6)	14.7182(4)
c/Å	21.7831(6)	21.4856(12)	18.8791(4)
α/deg			110.510(2)
β/deg	101.760(3)	102.243(4)	90.006(2)
γ/deg			115.416(2)
V/Å <sup>3</sup>	6404.7(3)	6198.1(5)	2924.64(11)
F(000)	3256	3292	1556
Z	4	4	4
λ, Å (MoK <sub>α</sub> )	0.71073	0.71073	0.71073
D <sub>calc</sub> /g cm <sup>-3</sup>	1.661	1.751	1.752
μ/mm <sup>-1</sup>	2.031	3.091	3.273
θ range/deg	3.31 to 26.37	3.36 to 26.37	3.25 to 26.37
R <sub>int</sub>	0.0547	0.0581	0.0509
reflns measd	39907	27667	39182
unique reflns	12960	12642	11962
reflns obsd	9123	10040	10405
GOF on F <sup>2</sup>	1.007	1.097	1.086
R <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.0388	0.0480	0.321
wR <sub>2</sub> (all data) <sup>b</sup>	0.0756	0.1161	0.0876
Largest differences peak and hole /eÅ <sup>-3</sup>	1.044/-0.645	2.129/-2.188	1.101/-1.639

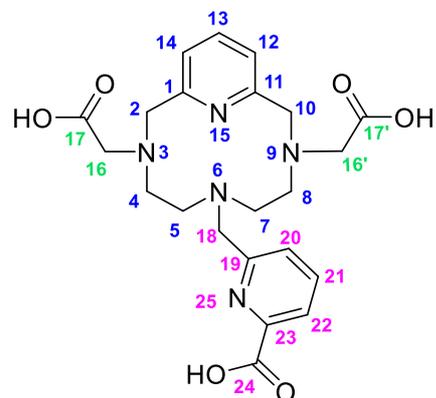
## 2. Dissociation du complexe YPCTMB en milieu acide

→ Etude réalisée en milieu HCl 0,5, 1, 2, 4, et 5 M avec  $[YL] = 2.10^{-4} M$  à  $25^{\circ}C$ .



### 3. Caractérisation du ligand L1 par RMN

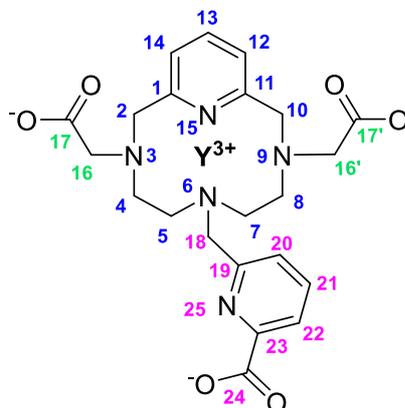
→ Les attributions ont été effectuées grâce aux expériences RMN 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC) enregistrées à 298 K dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 500 et 125 MHz.



	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	-	152,89
2	4,81 (s, 4H)	62,35
3	-	-
4	3,63 (m, 4H)	56,09
5	2,99 (s, br, 4H)	52,88
6	-	-
7	2,99 (s, br, 4H)	52,88
8	3,63 (m, 4H)	56,09
9	-	-
10	4,81 (s, 4H)	62,35
11	-	152,89
12	7,49 (d, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	125,60
13	8,00 (t, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	142,80
14	7,49 (d, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	125,60
15	-	-
16	3,76 (s, 4H)	60,08
17	-	172,17
18	4,20 (s, 2H)	59,47
19	-	157,78
20	8,07 (d, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	131,30
21	8,33 (t, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	146,36
22	8,25 (d, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	128,33
23	-	150,25
24	-	168,64
25	-	-

#### 4. Caractérisation du complexe YL1 par RMN

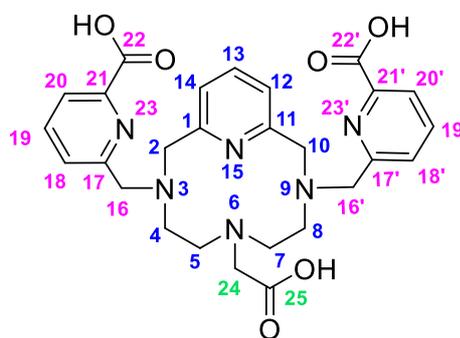
→ Les attributions ont été effectuées grâce aux expériences RMN 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC) enregistrées à 328K dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 500 et 125 MHz.



	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>1</b>	-	161,70
<b>2eq</b>	4,58 (d, 2H, $^2J = 17,4$ Hz)	67,19
<b>2ax</b>	4,11 (d, 2H, $^2J = 17,4$ Hz)	67,19
<b>3</b>	-	-
<b>4a</b>	2,74 (m, 6H)	60,32
<b>4b</b>	2,16 (s, br, 2H)	60,32
<b>5a</b>	2,74 (m, 6H)	62,66
<b>5b</b>	2,74 (m, 6H)	62,66
<b>6</b>	-	-
<b>7a</b>	2,74 (m, 6H)	62,66
<b>7b</b>	2,74 (m, 6H)	62,66
<b>8a</b>	2,74 (m, 6H)	60,32
<b>8b</b>	2,16 (s, br, 2H)	60,32
<b>9</b>	-	-
<b>10eq</b>	4,58 (d, 2H, $^2J = 17,4$ Hz)	67,19
<b>10ax</b>	4,11 (d, 2H, $^2J = 17,4$ Hz)	67,19
<b>11</b>	-	161,70
<b>12</b>	7,44 (d, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	123,72
<b>13</b>	8,01 (t, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	144,06
<b>14</b>	7,44 (d, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	123,72
<b>15</b>	-	-
<b>16eq</b>	3,56 (d, 2H, $J = 16,0$ Hz)	66,24
<b>16ax</b>	3,04 (m, 2H)	66,24
<b>16'eq</b>	3,56 (d, 2H, $J = 16,0$ Hz)	66,24
<b>16'ax</b>	3,04 (m, 2H)	66,24
<b>17</b>	-	181,79
<b>18</b>	4,21 (s, 2H)	65,40
<b>19</b>	-	160,97
<b>20</b>	7,69 (d, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	127,82
<b>21</b>	8,19 (t, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	144,85
<b>22</b>	8,11 (d, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	126,72
<b>23</b>	-	153,24
<b>24</b>	-	Non défini
<b>25</b>	-	-

## 5. Caractérisation du ligand L2 par RMN

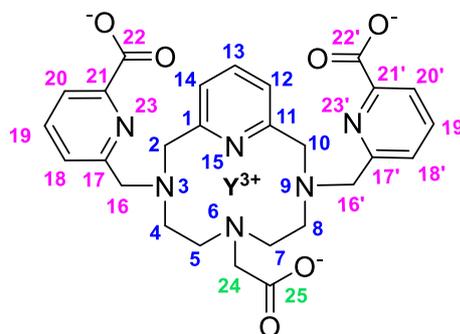
→ Les attributions ont été effectuées grâce aux expériences RMN 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC) enregistrées à 298 K dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 500 et 125 MHz.



	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>1</b>	-	157,33
<b>2</b>	4,45 (s, br, 4H)	60,72
<b>3</b>	-	-
<b>4</b>	3,58 (m, 4H)	54,67
<b>5</b>	3,46 (s, br, 4H)	56,20
<b>6</b>	-	-
<b>7</b>	3,46 (s, br, 4H)	56,20
<b>8</b>	3,58 (m, 4H)	54,67
<b>9</b>	-	-
<b>10</b>	4,45 (s, br, 4H)	60,72
<b>11</b>	-	157,33
<b>12</b>	7,07 (d, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	124,63
<b>13</b>	7,68 (t, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	142,12
<b>14</b>	7,07 (d, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	124,63
<b>15</b>	-	-
<b>16</b>	4,63 (s, 4H)	62,55
<b>17</b>	-	153,78
<b>18</b>	7,88 (d, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	131,02
<b>19</b>	8,21 (t, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	145,76
<b>20</b>	8,07 (d, 2H, $^3J = 7,8$ Hz)	127,79
<b>21</b>	-	152,13
<b>22</b>	-	170,44
<b>23</b>	-	-
<b>24</b>	3,78 (s, 2H)	57,63
<b>25</b>	-	175,11

## 6. Caractérisation du complexe YL2 par RMN

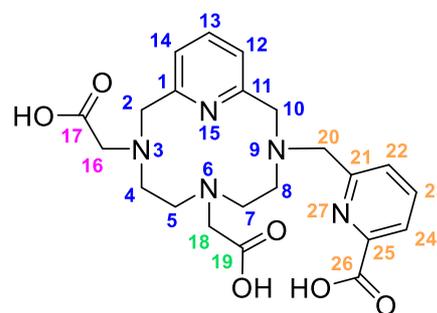
→ Les attributions ont été effectuées grâce aux expériences RMN 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC) enregistrées à 298 K dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 500 et 125 MHz.



	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>1</b>	-	160,79
<b>2eq</b>	5,17 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	67,14
<b>2ax</b>	4,32 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	67,14
<b>3</b>	-	-
<b>4ax</b>	3,26 (m, 1H)	59,94
<b>4eq</b>	3,05 (dd, 1H)	59,94
<b>5ax</b>	1,81 (m, 1H)	58,57
<b>5eq</b>	2,55 (m, 2H)	58,57
<b>6</b>	-	-
<b>7ax</b>	2,55 (m, 2H)	63,66
<b>7eq</b>	2,61 (m, 1H)	63,66
<b>8ax</b>	3,34 (m, 1H)	59,92
<b>8eq</b>	2,95 (m, 1H)	59,92
<b>9</b>	-	-
<b>10eq</b>	4,21 (d, 1H, $^2J = 18,3$ Hz)	65,63
<b>10ax</b>	4,09 (d, 1H, $^2J = 18,3$ Hz)	65,63
<b>11</b>	-	162,21
<b>12</b>	7,23 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	123,13
<b>13</b>	7,89 (t, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	143,71
<b>14</b>	7,46 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	123,84
<b>15</b>	-	-
<b>16eq</b>	4,58 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	66,63
<b>16ax</b>	4,41 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	66,63
<b>17</b>	-	160,44
<b>18</b>	7,71 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	127,66
<b>19</b>	8,15 (t, 1H, $^3J = 7,6$ Hz)	144,78
<b>20</b>	7,95 (d, 1H, $^3J = 7,3$ Hz)	126,04
<b>21</b>	-	154,78
<b>22</b>	-	174,16
<b>23</b>	-	-
<b>16'eq</b>	4,55 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	63,90
<b>16'ax</b>	4,36 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	63,90
<b>17'</b>	-	159,01
<b>18'</b>	7,82 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	129,37
<b>19'</b>	8,20 (t, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	144,85
<b>20'</b>	7,91 (d, 1H, $^3J = 7,3$ Hz)	126,25
<b>21'</b>	-	152,87
<b>22'</b>	-	174,65
<b>23'</b>	-	-
<b>24eq</b>	3,35 (d, $^2J = 17,09$ Hz)	63,90
<b>24ax</b>	2,89 (d, $^2J = 17,09$ Hz)	63,90
<b>25</b>	-	183,29

## 7. Caractérisation du ligand L3 par RMN

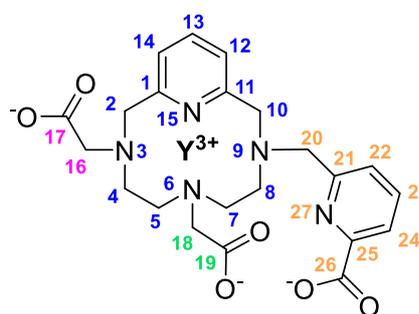
→ Les attributions ont été effectuées grâce aux expériences RMN 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC) enregistrées à 298 K dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 500 et 125 MHz.



	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>1</b>	-	153,91
<b>2</b>	4,86 (s, 2H)	61,47
<b>3</b>	-	-
<b>4</b>	3,77 (m, 2H)	55,41
<b>5</b>	3,44 (m, 2H)	54,92
<b>6</b>	-	-
<b>7</b>	3,29 (m, 2H)	55,24
<b>8</b>	3,54 (m, 2H)	55,65
<b>9</b>	-	-
<b>10</b>	4,38 (s, 2H)	60,97
<b>11</b>	-	157,12
<b>12</b>	7,06 (d, 1H, $^3J = 7,9\text{Hz}$ )	124,49
<b>13</b>	7,78 (t, 1H, $^3J = 7,9\text{Hz}$ )	142,33
<b>14</b>	7,37 (d, 1H, $^3J = 7,9\text{Hz}$ )	124,93
<b>15</b>	-	-
<b>16</b>	4,06 (s, 2H)	61,85
<b>17</b>	-	172,77
<b>18</b>	3,80 (s, 2H)	57,41
<b>19</b>	-	175,98
<b>20</b>	4,63 (s, 2H)	62,23
<b>21</b>	-	153,91
<b>22</b>	7,96 (d, 1H, $^3J = 7,9\text{Hz}$ )	131,35
<b>23</b>	8,19 (t, 1H, $^3J = 7,9\text{Hz}$ )	145,97
<b>24</b>	8,07 (d, 1H, $^3J = 7,9\text{Hz}$ )	127,90
<b>25</b>	-	150,53
<b>26</b>	-	169,14
<b>27</b>	-	-

## 8. Caractérisation du complexe YL3 par RMN

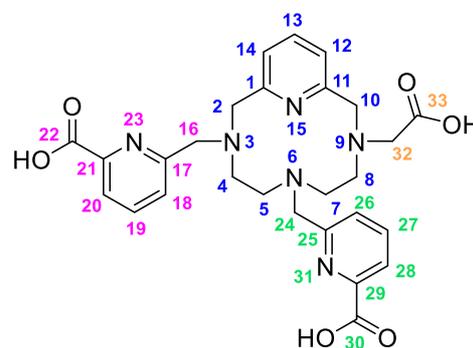
→ Les attributions ont été effectuées grâce aux expériences RMN 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC) enregistrées à 298 K dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 500 et 125 MHz.



	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>1</b>	-	160,81
<b>2a</b>	4,83 (d, 1H, $^2J = 16,0$ Hz)	65,52
<b>2b</b>	4,15 (d, 1H, $^2J = 16,0$ Hz)	65,52
<b>3</b>	-	-
<b>4eq</b>	3,07 (m,1H), 2,60 (m, 2H) / 1,89 (m, 1H), 2,89 (m, 1H)	59,54 / 59,46
<b>4ax</b>	3,07 (m,1H), 2,60 (m, 2H) / 1,89 (m, 1H), 2,89 (m, 1H)	59,54 / 59,46
<b>5eq</b>	3,07 (m,1H), 2,60 (m, 2H) / 1,89 (m, 1H), 2,89 (m, 1H)	59,54 / 59,46
<b>5ax</b>	3,07 (m,1H), 2,60 (m, 2H) / 1,89 (m, 1H), 2,89 (m, 1H)	59,54 / 59,46
<b>6</b>	-	-
<b>7a</b>	2,68 (m, 1H)	63,93
<b>7b</b>	2,60 (d, 1H, $^3J =$ )	63,93
<b>8ax</b>	3,47 (m, 1H)	60,16
<b>8eq</b>	2,94 (m, 1H)	60,16
<b>9</b>	-	-
<b>10eq</b>	4,10 (m, 3H)	65,80
<b>10ax</b>	4,10 (m, 3H)	65,80
<b>11</b>	-	162,30
<b>12</b>	7,13 (d, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	122,63
<b>13</b>	7,81 (t, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	143,34
<b>14</b>	7,36 (d, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	123,75
<b>15</b>	-	-
<b>16eq</b>	4,10 (m, 3H)	66,34
<b>16ax</b>	3,54 (d, 1H, $^2J = 16,2$ Hz)	66,34
<b>17</b>	-	182,93
<b>18eq</b>	3,88 (d, 1H, $^2J = 16,7$ Hz)	65,01
<b>18ax</b>	3,10 (d, 1H, $^2J = 16,7$ Hz)	65,01
<b>19</b>	-	183,42
<b>20eq</b>	4,49 (d, 1H, $^2J = 14,7$ Hz)	64,27
<b>20ax</b>	4,29 (d, 1H, $^2J = 14,7$ Hz)	64,27
<b>21</b>	-	159,29
<b>22</b>	7,75 (d, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	129,50
<b>23</b>	8,13 (t, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	144,78
<b>24</b>	7,86 (d, 1H, $^3J = 7,8$ Hz)	126,38
<b>25</b>	-	153,07
<b>26</b>	-	174,79
<b>27</b>	-	-

## 9. Caractérisation du ligand L4 par RMN

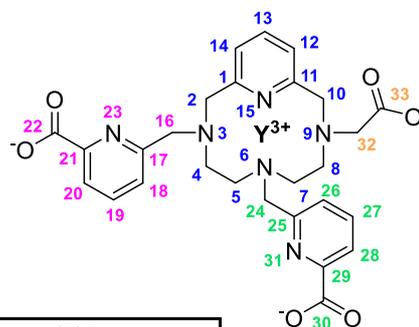
→ Les attributions ont été effectuées grâce aux expériences RMN 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC) enregistrées à 298 K dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 500 et 125 MHz.



	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>1</b>	-	153,30
<b>2</b>	4,74 (s, br, 2H)	61,78
<b>3</b>	-	-
<b>4</b>	3,78 (s, br, 2H)	56,17
<b>5</b>	3,12 (m, 4H)	53,37/53,57
<b>6</b>	-	-
<b>7</b>	3,12 (m, 4H)	53,37/53,57
<b>8</b>	3,63 (s, br, 2H)	56,12
<b>9</b>	-	-
<b>10</b>	4,78 (s, 2H)	61,72
<b>11</b>	-	152,78
<b>12</b>	7,43 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	125,16
<b>13</b>	7,98-7,87 (m, 5H)	143,56/142,61/142,36
<b>14</b>	7,31 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	125,33
<b>15</b>	-	-
<b>16</b>	4,54 (s, 2H)	61,91
<b>17</b>	-	152,14
<b>18</b>	7,47 (m, 1H)	130,33
<b>19</b>	7,98-7,87 (m, 5H)	143,56/142,61/142,36
<b>20</b>	7,98-7,87 (m, 5H)	127,63/127,24
<b>21</b>	-	153,72/151,95
<b>22</b>	-	171,82/170,66
<b>23</b>	-	-
<b>24</b>	4,20 (s, 2H)	60,08
<b>25</b>	-	158,41
<b>26</b>	7,65 (d, 1H, $^3J = 7,3$ Hz)	129,50
<b>27</b>	7,98-7,87 (m, 5H)	143,56/142,61/142,36
<b>28</b>	7,98-7,87 (m, 5H)	127,63/127,24
<b>29</b>	-	153,72/151,95
<b>30</b>	-	171,82/170,66
<b>31</b>	-	-
<b>32</b>	3,55 (s, 2H)	60,08
<b>33</b>	-	172,25

## 10. Caractérisation du complexe YL4 par RMN

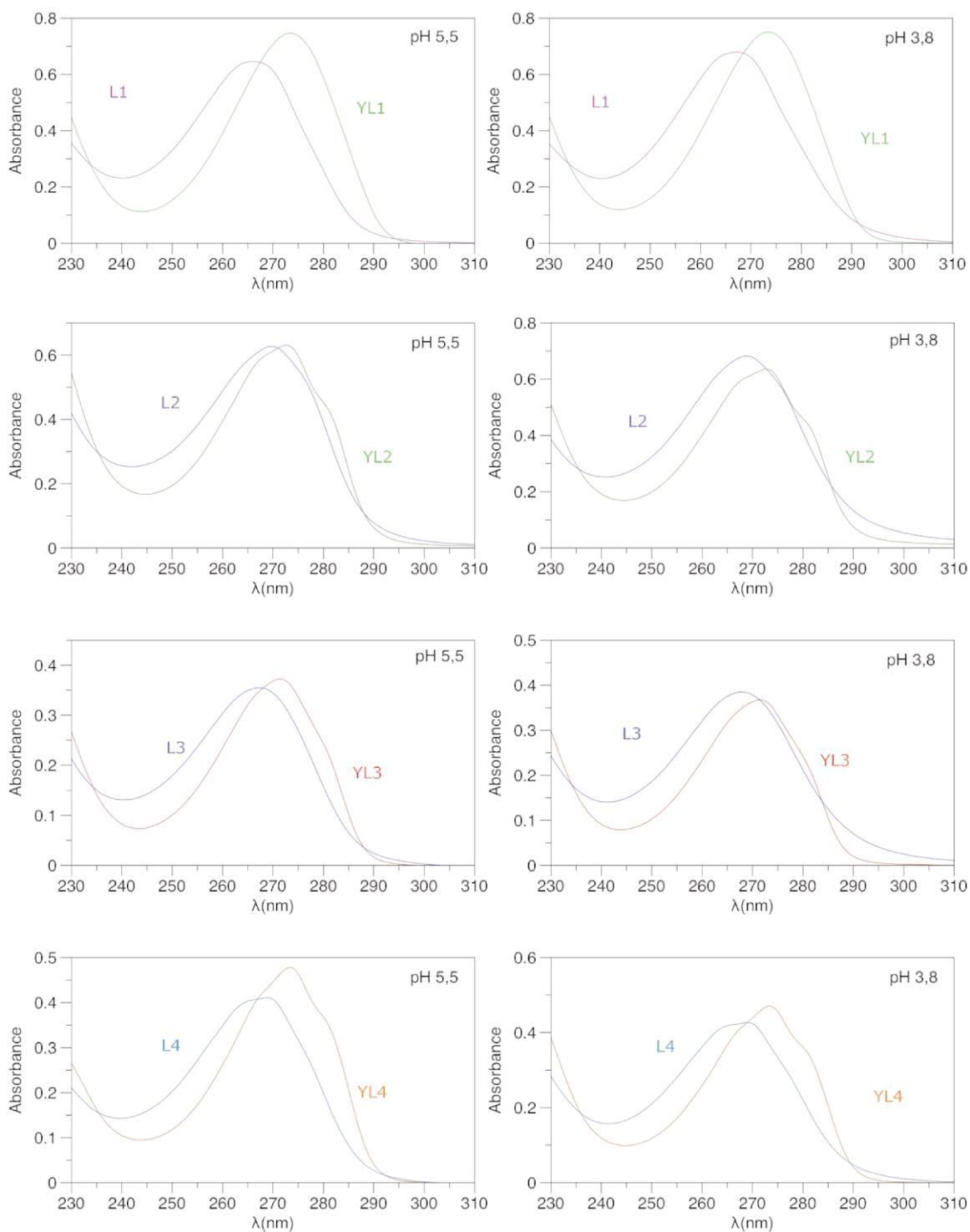
→ Les attributions ont été effectuées grâce aux expériences RMN 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC) enregistrées à 298 K dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 500 et 125 MHz.



	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>1</b>	-	161,99
<b>2eq</b>	4,21 (d, 1H, $^2J = 18,9$ Hz)	66,84-66,88
<b>2ax</b>	4,03 (d, 1H, $^2J = 18,9$ Hz)	66,84-66,88
<b>3</b>	-	-
<b>4eq</b>	2,68 (m, 1H)	60,91
<b>4ax</b>	2,36 (t, br, 1H)	60,91
<b>5eq</b>	3,01 (m, 1H)	65,12
<b>5ax</b>	2,66 (m, 1H)	65,12
<b>6</b>	-	-
<b>7eq</b>	2,71 (m, 1H)	60,60
<b>7ax</b>	1,81(t, br, 1H)	60,60
<b>8ax</b>	3,32 (t, br, 1H)	59,87
<b>8eq</b>	2,95 (m, 1H)	59,87
<b>9</b>	-	-
<b>10eq</b>	4,91 (d, 1H, $^2J = 16,5$ Hz)	66,40
<b>10ax</b>	4,22 (d, 1H, $^2J = 16,5$ Hz)	66,40
<b>11</b>	-	161,04
<b>12</b>	7,42 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	123,63
<b>13</b>	7,85 (t, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	143,52
<b>14</b>	7,18 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	122,80
<b>15</b>	-	-
<b>16eq</b>	4,15 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	63,68
<b>16ax</b>	3,62 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	63,68
<b>17</b>	-	157,98
<b>18</b>	7,64 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	128,81
<b>19</b>	8,11 (t, 1H, $^3J = 7,6$ Hz)	144,15
<b>20</b>	7,89 (d, 1H, $^3J = 7,3$ Hz)	125,96
<b>21</b>	-	152,66
<b>22</b>	-	175,74
<b>23</b>	-	-
<b>24eq</b>	4,67 (d, 1H, $^2J = 16,5$ Hz)	64,98
<b>24ax</b>	3,95 (d, 1H, $^2J = 16,5$ Hz)	64,98
<b>25</b>	-	160,55
<b>26</b>	7,75 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz)	128,08
<b>27</b>	8,19 (t, 1H, $^3J = 7,6$ Hz)	144,80
<b>28</b>	8,03 (d, 1H, $^3J = 7,3$ Hz)	126,48
<b>29</b>	-	152,71
<b>30</b>	-	173,39
<b>31</b>	-	-
<b>32eq</b>	4,15 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	66,84-66,88
<b>32ax</b>	3,56 (d, 1H, $^2J = 15,9$ Hz)	66,84-66,88
<b>33</b>	-	182,85

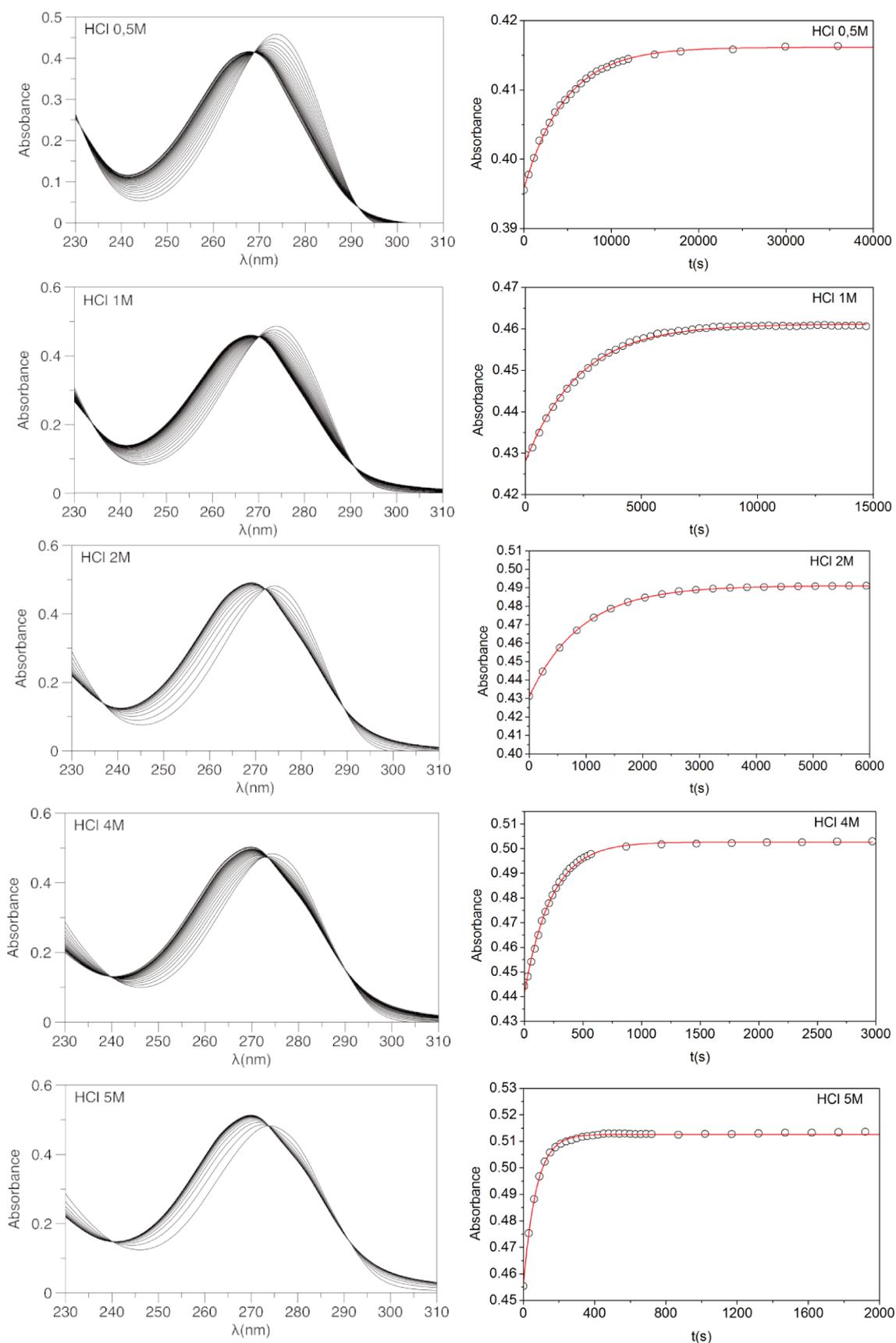
## 11. Spectres UV-visible des ligands et des complexes d'yttrium

→ Spectres enregistrés en milieu tampon acétate pH 5,5 et 3,8 avec  $[L] = [YL] = 4.10^{-5}$  M pour **L2** et **L4**,  $[L] = [YL] = 8.10^{-5}$  M pour **L1**,  $[L] = [YL] = 5.10^{-5}$  M pour **L3**.



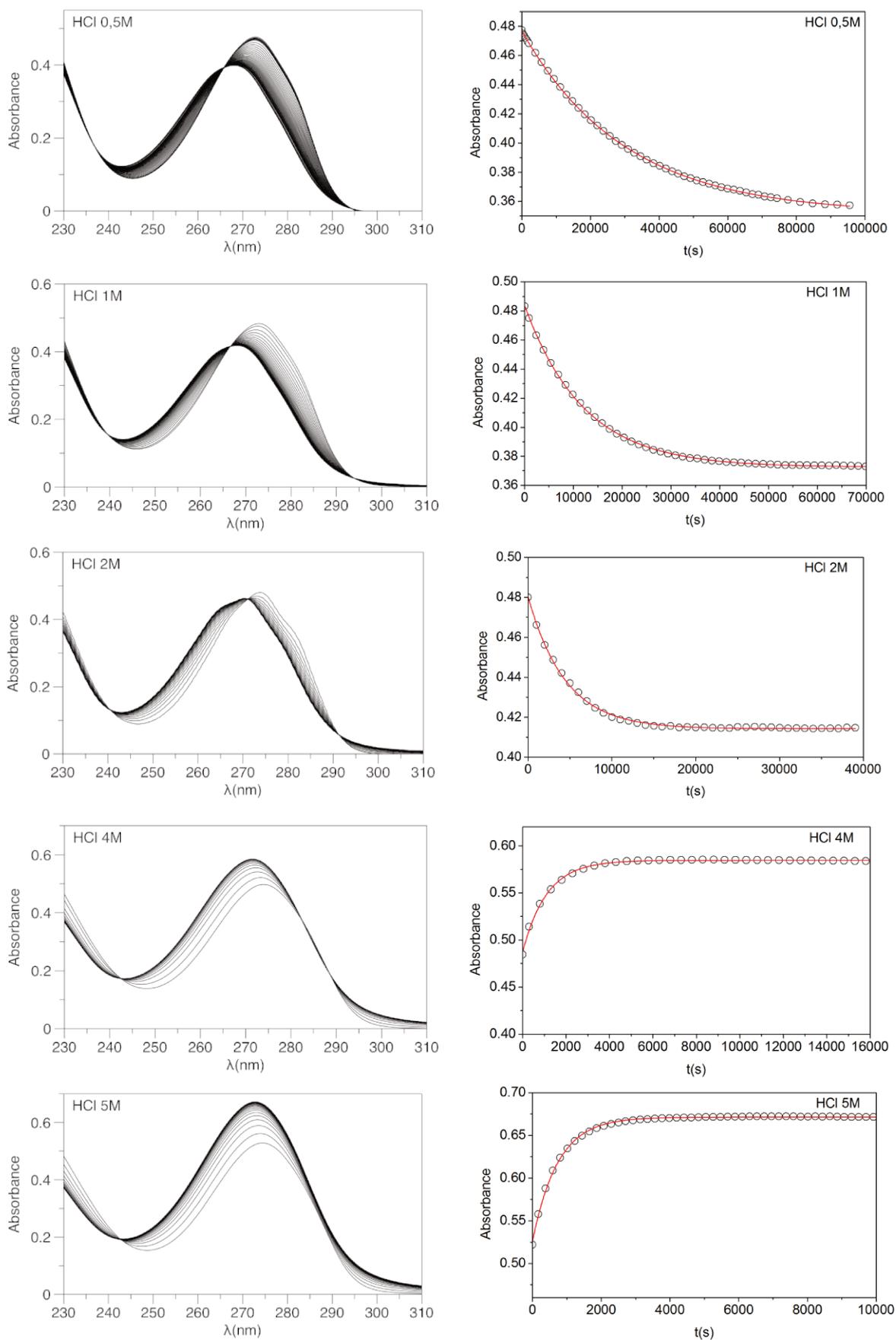
## 12. Dissociation du complexe YL1 en milieu acide

→ Etude réalisée en milieu HCl 0,5, 1, 2, 4, et 5M avec  $[YL] = 4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$  à  $25^\circ\text{C}$ .



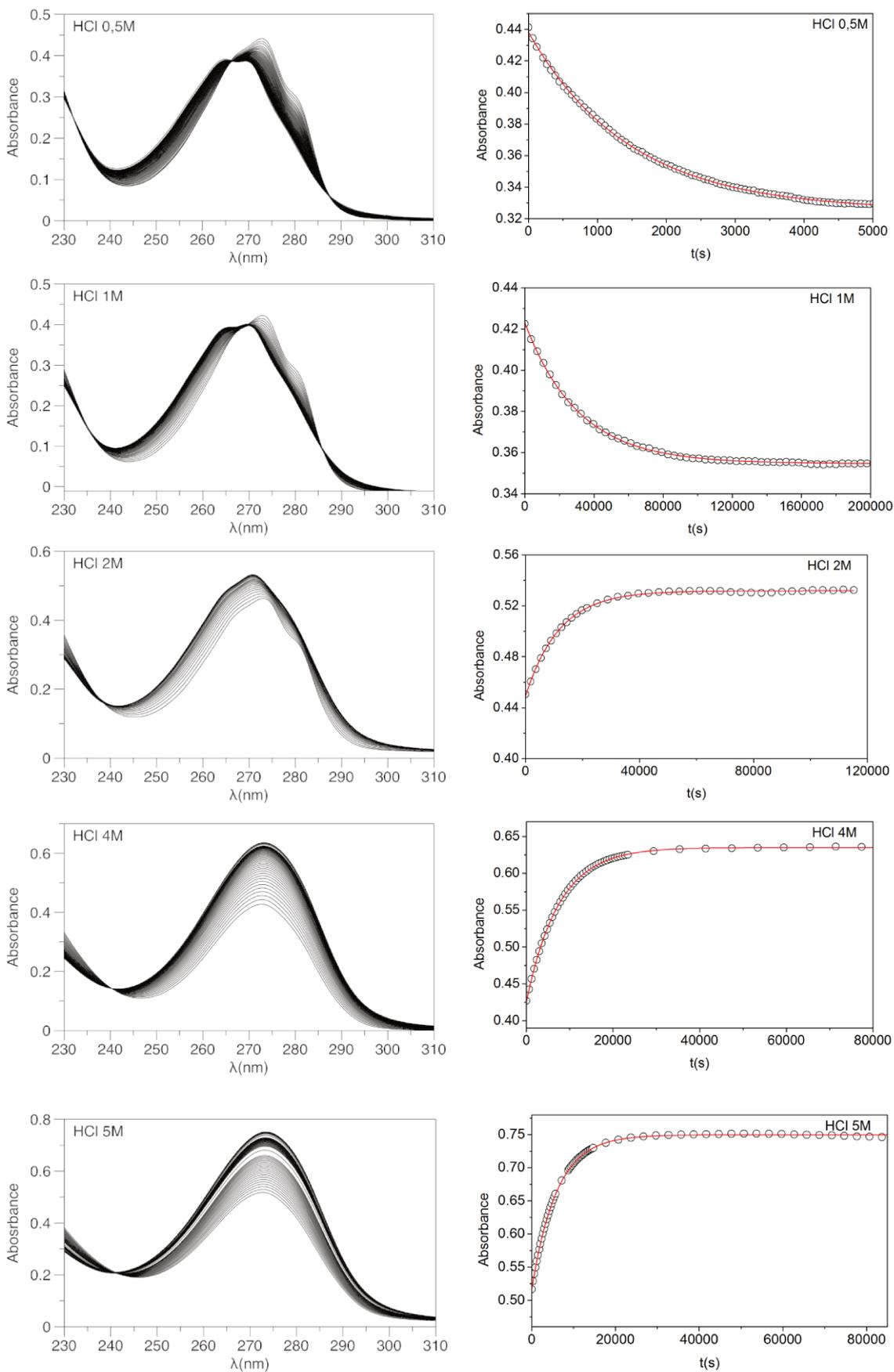
### 13. Dissociation du complexe YL2 en milieu acide

→ Etude réalisée en milieu HCl 0,5, 1, 2, 4, et 5M avec  $[YL] = 4.10^{-5} M$  à 25°C.



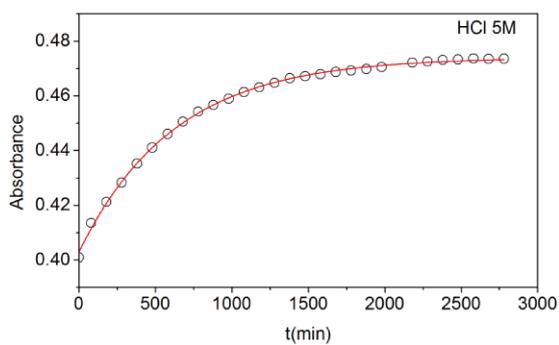
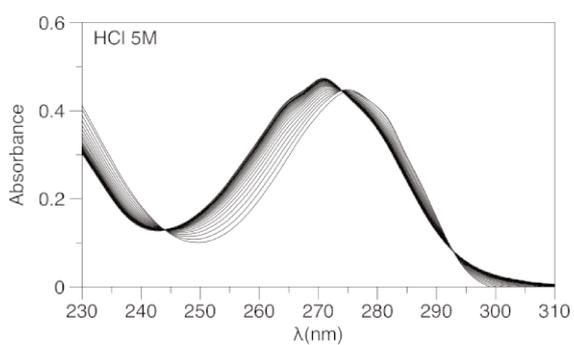
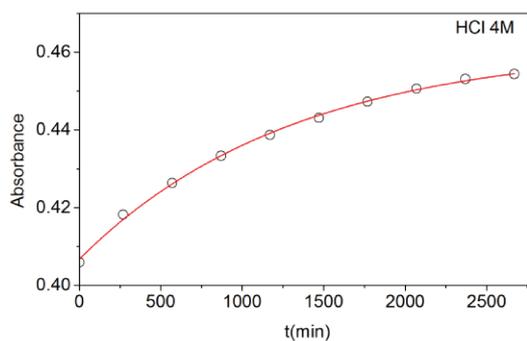
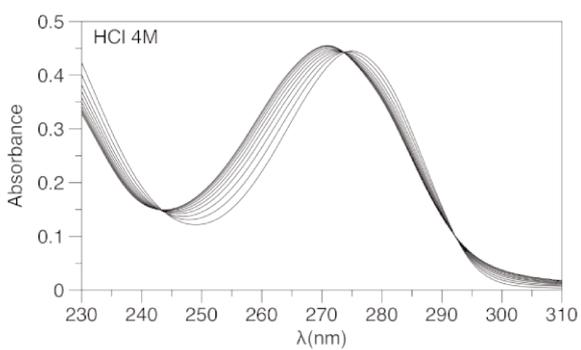
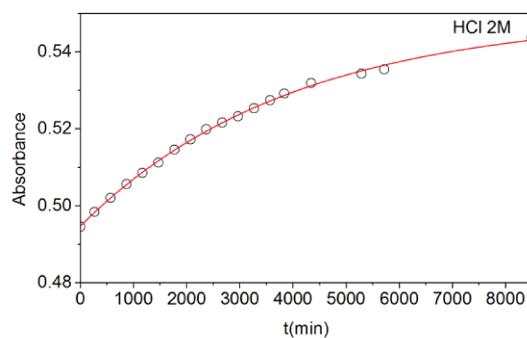
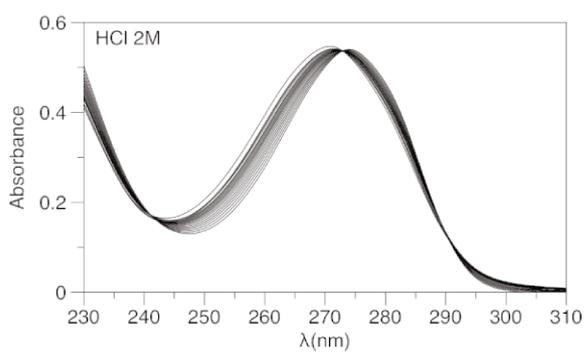
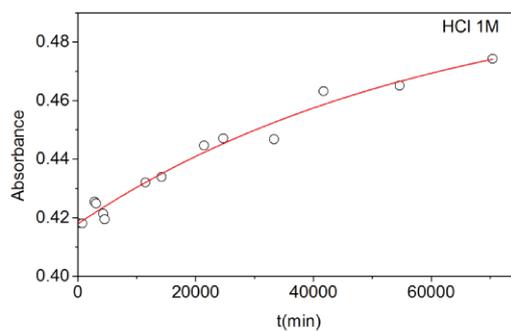
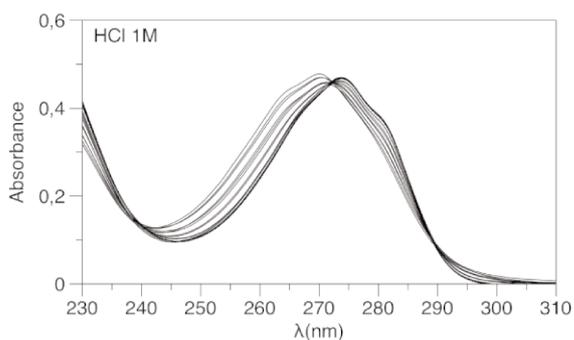
## 14. Dissociation du complexe YL3 en milieu acide

→ Etude réalisée en milieu HCl 0,5, 1, 2, 4, et 5M avec  $[YL] = 1.10^{-4} M$  à  $25^{\circ}C$ .



## 15. Dissociation du complexe YL4 en milieu acide

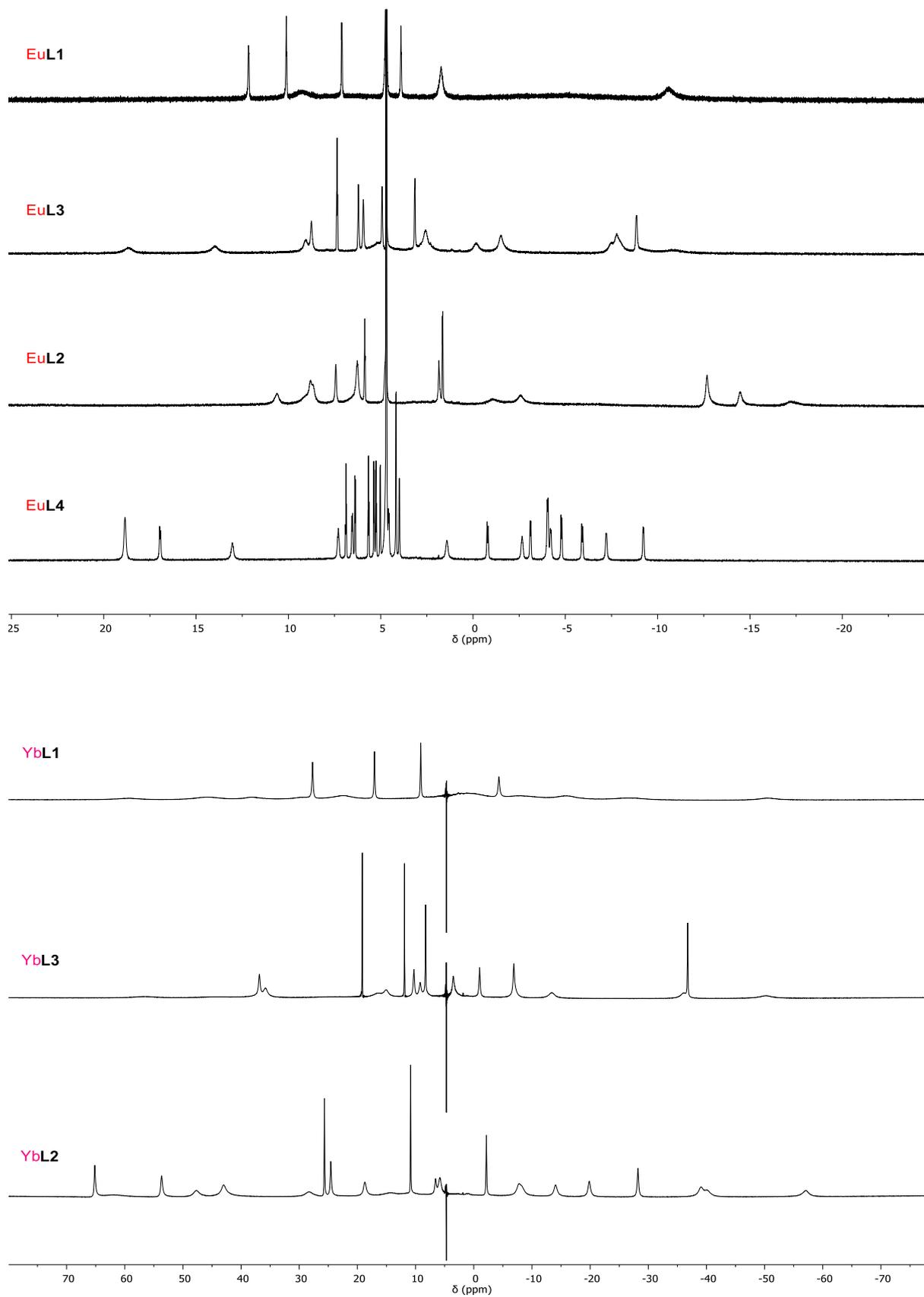
→ Etude réalisée en milieu HCl 1, 2, 4, et 5M avec  $[YL] = 4.10^{-5} M$  à  $25^{\circ}C$ .



## 16. Spectres RMN $^1\text{H}$ des complexes EuL et YbL ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300 MHz, 298 K)

→ Spectres enregistrés dans  $\text{D}_2\text{O}$  à 298 K et 300 MHz avec  $[\text{EuL}] = 15 \text{ mM}$  et

$[\text{YbL}] = 30 \text{ mM}$





---

## Références bibliographiques

---



- (1) Toth, E.; Helm, L.; Merbach, A. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; 2013.
- (2) Le Baccon, M.; Chuburu, F.; Toupet, L.; Handel, H.; Soibinet, M.; Déchamps-Olivier, I.; Barbier, J.-P.; Aplincourt, M. *New J. Chem.* **2001**, 25, 1168.
- (3) Delépine, A. S.; Tripier, R.; Bernard, H.; Le Bris, N.; Handel, H. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50 (21), 2521.
- (4) Roger, M.; Lima, L. M. P.; Frindel, M.; Platas-Iglesias, C.; Gestin, J. F.; Delgado, R.; Patinec, V.; Tripier, R. *Inorg. Chem.* **2013**, 52 (9), 5246.
- (5) Frindel, M.; Camus, N.; Rauscher, A.; Bourgeois, M.; Alliot, C.; Barré, L.; Gestin, J.-F.; Tripier, R.; Faivre-Chauvet, A. *Nucl. Med. Biol.* **2014**, 41, e49.
- (6) Frindel, M.; Le Saëc, P.; Beyler, M.; Navarro, A.-S.; Saï-Maurel, C.; Alliot, C.; Chérel, M.; Gestin, J.-F.; Faivre-Chauvet, A.; Tripier, R. *RSC Adv.* **2017**, 7, 9272.
- (7) Lima, L. M. P.; Beyler, M.; Delgado, R.; Platas-Iglesias, C.; Tripier, R. *Inorg. Chem.* **2015**, 54 (14), 7045.
- (8) Lima, L. M. P.; Esteban-Gómez, D.; Delgado, R.; Platas-Iglesias, C.; Tripier, R. *Inorg. Chem.* **2012**, 51 (12), 6916.
- (9) Bui, A. T.; Beyler, M.; Liao, Y.; Grichine, A.; Duperray, A.; Mulatier, J.; Le Guennic, B.; Andraud, C.; Maury, O.; Tripier, R. *Inorg. Chem.* **2016**, 55 (14), 7020.
- (10) Rodríguez-Rodríguez, A.; Regueiro-Figueroa, M.; Esteban-Gómez, D.; Tripier, R.; Tircsó, G.; Kálmán, F. K.; Bényei, A. C.; Tóth, I.; Blas, A. De; Rodríguez-Blas, T.; Platas-Iglesias, C. *Inorg. Chem.* **2016**, 55 (5), 2227.
- (11) Rodríguez-Rodríguez, A.; Esteban-Gómez, D.; De Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Fekete, M.; Botta, M.; Tripier, R.; Platas-Iglesias, C. *Inorg. Chem.* **2012**, 51 (4), 2509.
- (12) Molnár, E.; Camus, N.; Patinec, V.; Rolla, G. A.; Botta, M.; Tircsó, G.; Kálmán, F. K.; Fodor, T.; Tripier, R.; Platas-Iglesias, C. *Inorg. Chem.* **2014**, 53 (10), 5136.
- (13) Bui, A. T.; Beyler, M.; Grichine, A.; Duperray, A.; Mulatier, J.-C.; Guyot, Y.; Andraud, C.; Tripier, R.; Brasselet, S.; Maury, O. *Chem. Commun.* **2017**, 53, 6005.
- (14) Tircsó, G.; Kovacs, Z.; Sherry, A. D. *Inorg. Chem.* **2006**, 45 (23), 9269.
- (15) Kiefer, G. E.; Woods, M. *Inorg. Chem.* **2009**, 48 (24), 11767.
- (16) Bornhop, D. J.; Hubbard, D. S.; Houlne, M. P.; Adair, C.; Kiefer, G. E.; Pence, B. C.; Morgan, D. L. *Anal. Chem.* **1999**, 71, 2607.
- (17) Ferreira, C. L.; Holley, I.; Bensimon, C.; Jurek, P.; Kiefer, G. E. *Mol. Pharm.* **2012**, 9 (8), 2180.
- (18) Caravan, P.; Ellison, J. J.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B. *Chem. Rev.* **1999**, 99 (9), 2293.
- (19) Regueiro-Figueroa, M.; Bensenane, B.; Ruscsak, E.; Esteban-Gómez, D.; Charbonnière, L. J.; Tirso, G.; Toth, I.; De Blas, A.; Rodríguez-blas, T.; Platas-Iglesias, C. *Inorg. Chem.* **2011**, 50, 4125.
- (20) Rodríguez-Rodríguez, A.; Halime, Z.; Lima, L. M. P.; Beyler, M.; Deniaud, D.; Le Poul, N.; Delgado, R.; Platas-Iglesias, C.; Patinec, V.; Tripier, R. *Inorg. Chem.* **2016**, 55 (2), 619.

- (21) Le Fur, M.; Beyler, M.; Le Poul, N.; Lima, L. M. P.; Le Mest, Y.; Delgado, R.; Platas-Iglesias, C.; Patinec, V.; Tripier, R. *Dalt. Trans.* **2016**, 45 (17), 7406.
- (22) Drahos, B.; Kotek, J.; Cisarova, I.; Hermann, P.; Helm, L.; Lukes, I.; Toth, E. *Inorg. Chem.* **2011**, 50, 12785.
- (23) Aime, S.; Botta, M.; Geninatti Crich, S.; Giovenzana, G. B.; Jommi, G.; Pagliarin, R.; Sisti, M. *Inorg. Chem.* **1997**, 36 (14), 2992.
- (24) Burai, L.; Fabian, I.; Kiraly, R.; Szilagy, E.; Brucher, E. J. *Chem. Soc., Dalt. Trans.* **1998**, 243.
- (25) Burai, L.; Király, R.; Lázár, I.; Brücher, E. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2001**, 3, 813.
- (26) Martell, A. E.; Hancock, R. D.; Motekaitis, R. J. *Coord. Chem. Rev.* **1994**, 133, 39.
- (27) Harris, W. R.; Raymond, K. N.; Weitzel, F. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 2667.
- (28) Xu, J.; Franklin, S. J.; Whisenhunt, D. W.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 7245.
- (29) Kumar, K.; Chang, C. A.; Francesconi, L. C.; Dischino, D. D.; Malley, M. F.; Gougoutas, J. Z.; Tweedle, M. F. *Inorg. Chem.* **1994**, 33 (16), 3567.
- (30) Delgado, R.; Frausto Da Silva, J. J. R. *Talanta* **1982**, 29, 815.
- (31) Broan, C. J.; Cox, J. P. L.; Craig, A. S.; Katak, R.; Parker, D.; Harrison, A.; Randall, A. M.; Ferguson, G. J. *Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1991**, 87.
- (32) Wedeking, P.; Kumar, K.; Tweedle, M. F. *Magn. Reson. Imaging* **1992**, 10 (4), 641.
- (33) Pulukkody, K. P.; Norman, T. J.; Parker, D.; Royle, L.; Broan, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 605.
- (34) Harrison, A.; Walker, C. A.; Pereira, K. A.; Parker, D.; Royle, L.; Pulukkody, K.; Normant, T. *J. Magn. Reson. Imaging* **1993**, II, 761.
- (35) Pasha, A.; Tircsó, G.; Tircsoné Benyó, E.; Brücher, E.; Sherry, A. D. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 4340.
- (36) Brucher, E.; Tircsó, G.; Baranyai, Z.; Kovacs, Z.; Sherry, A. D. In *The Chemistry of Contrast Agents in The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; 2013; pp 157–208.
- (37) Rojas-Quijano, F. a; Benyó, E. T.; Tircsó, G.; Kálmán, F. K.; Baranyai, Z.; Aime, S.; Sherry, a D.; Kovács, Z. *Chem. - A Eur. J.* **2009**, 15 (47), 13188.
- (38) Ramogida, C. F.; Orvig, C. *Chem. Commun.* **2013**, 49 (42), 4720.
- (39) Liu, S. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 445.
- (40) Amoroso, A. J.; Fallis, I. A.; Pope, S. J. A. *Coord. Chem. Rev.* **2017**, 340, 198.
- (41) Shen, S.; DeNardo, G. L.; Yuan, A.; DeNardo, D. A.; DeNardo, S. J. *J. Nucl. Med.* **1994**, 35 (8), 1381.
- (42) Chakravarty, R.; Dash, A.; Pillai, M. R. A. *Cancer Biother. Radiopharm.* **2012**, 27 (10), 621.
- (43) Venkatesh, B. M.; Pandey, U.; Dhami, P. S.; Kannan, R.; Achuthan, P. V.; Chitnis, R. R.; Gopalakrishnan, V.; Samuel, G.; Pillai, M. R. A.; Ramanujam, A. *Radiochim. Acta* **2001**, 89, 413.
- (44) Prasad, V.; Fetscher, S.; Baum, R. P. J. *Pharm. Pharm. Sci.* **2007**, 10 (2), 321s.

- (45) Caravan, P. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35 (6), 512.
- (46) Bottrill, M.; Kwok, L.; Long, N. J. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35 (6), 557.
- (47) Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Elst, L. Vander; Muller, R. N. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2064.
- (48) Terreno, E.; Castelli, D. D.; Viale, A.; Aime, S. *Chem. Rev.* **2010**, 110 (5), 3019.
- (49) Amoroso, A. J.; Pope, S. J. A. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 4723.
- (50) Boros, E.; Gale, E. M.; Caravan, P. *Dalt. Trans.* **2015**, 44, 4804.
- (51) Kaewlai, R.; Abujudeh, H. *AJR* **2012**, 199, W17.
- (52) Reilly, R. F. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2008**, 3, 747.
- (53) Laus, S.; Ruloff, R.; Toth, E.; Merbach, A. E. *Chem. - A Eur. J.* **2003**, 9, 3555.
- (54) Port, M.; Idée, J.-M.; Medina, C.; Robic, C.; Sabatou, M.; Corot, C. *Biometals* **2008**, 21, 469.
- (55) Idée, J. M.; Port, M.; Robic, C.; Medina, C.; Sabatou, M.; Corot, C. *J. Magn. Reson. Imaging* **2009**, 30 (6), 1249.
- (56) Supkowski, R. M.; Horrocks, W. D. *Inorg. Chem.* **1999**, 38 (24), 5616.
- (57) Port, M.; Raynal, I.; Vander Elst, L.; Muller, R. N.; Dioury, F.; Ferroud, C.; Guy, A. *Contrast Media Mol. Imaging* **2006**, 1 (3), 121.
- (58) Aime, S.; Botta, M.; Crich, S. G.; Giovenzana, G.; Pagliarin, R.; Sisti, M.; Terreno, E. *Magn. Reson. Chem.* **1998**, 36 (S1), S200.
- (59) Avecilla, F.; Peters, J. A.; Geraldès, C. F. G. C. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 4179.
- (60) Geraldès, C. F. G. C.; Brown, R. D.; Cacheris, W. P.; Koenig, S. H.; Sherry, A. D.; Spiller, M. *Magn. Reson. Med.* **1989**, 9 (1), 94.
- (61) Aime, S.; Botta, M.; Terreno, E.; Anelli, P. L.; Uggeri, F. *Magn. Reson. Med.* **1993**, 30, 583.
- (62) Port, M.; Raynal, I.; Vander Elst, L.; Muller, R. N.; Dioury, F.; Ferroud, C.; Guy, A. *Contrast Media Mol. Imaging* **2006**, 1 (3), 121.
- (63) Hovland, R.; Gløgård, C.; Aasen, A. J.; Klaveness, J. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 644.
- (64) Kielar, F.; Tei, L.; Terreno, E.; Botta, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132 (23), 7836.
- (65) Aaron, A. J.; Bumb, A.; Brechbiel, M. W. *Chem. Rev.* **2010**, 110 (5), 2921.
- (66) Livramento, J. B.; Tóth, É.; Sour, A.; Borel, A.; Merbach, A. E.; Ruloff, R. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, 44 (10), 1480.
- (67) Port, M.; Corot, C.; Raynal, I.; Idée, J.-M.; Dencausse, A.; Lancelot, E.; Meyer, D.; Bonnemain, B.; Lautrou, J. *Invest. Radiol.* **2001**, 36, 445.
- (68) Miéville, P.; Jaccard, H.; Reviriego, F.; Tripier, R.; Helm, L. *Dalt. Trans.* **2011**, 40, 4260.
- (69) Caravan, P.; Cloutier, N. J.; Greenfield, M. T.; McDermid, S. A.; Dunham, S. U.; Bulte, J. W.; Amedio Jr., J. C.; Looby, R. J.; Supkowski, R. M.; Horrocks Jr., W. D.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124 (12), 3152.
- (70) Rodríguez-Rodríguez, A.; Regueiro-Figueroa, M.; Esteban-Gómez, D.; Rodríguez-Blas, T.; Patinec, V.; Tripier, R.; Tircsó, G.; Carniato, F.; Botta, M.; Platas-Iglesias, C. *Chem. - A Eur. J.* **2017**, 23 (5), 1110.

- (71) Boros, E.; Srinivas, R.; Kim, H.-K.; Raitsimring, A. M.; Astashkin, A. V.; Poluektov, O. G.; Niklas, J.; Horning, A. D.; Tidor, B.; Caravan, P. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2017**, 56 (20), 5603.
- (72) Bünzli, J.-C. *G. Chem. Rev.* **2010**, 110, 2729.
- (73) Weissman, S. I. *J. Chem. Phys.* **1942**, 10, 214.
- (74) Bünzli, J.-C. *G. Acc. Chem. Res.* **2006**, 39, 53.
- (75) Charbonnière, L. *J. Curr. Inorg. Chem.* **2011**, 1, 2.
- (76) Pansare, V. J.; Hejazi, S.; Faenza, W. J.; Prud'Homme, R. K. *Chem. Mater.* **2012**, 24 (5), 812.
- (77) Bünzli, J. G. In *Luminescence of lanthanide ions in coordination compounds and nanomaterials*, First Edition. Edited by Ana de Bettencourt-Dias.; 2014.
- (78) Montgomery, C. P.; Murray, B. S.; New, E. J.; Pal, R.; Parker, D. *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42 (7), 925.
- (79) Pal, R.; Parker, D. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6 (6), 1020.
- (80) Chauvin, A. S.; Gummy, F.; Imbert, D.; Bünzli, J.-C. *G. Spectrosc. Lett.* **2004**, 37, 517.
- (81) *Spectrosc. Lett.* **2007**, 40 (1), 193.
- (82) Nocton, G.; Nonat, A.; Gateau, C.; Mazzanti, M. *Helv. Chim. Acta* **2009**, 92, 2257.
- (83) Rodríguez-Rodríguez, A.; Esteban-Gómez, D.; Tripier, R.; Tircscó, G.; Garda, Z.; Tóth, I.; De Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Platas-Iglesias, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136 (52), 17954.
- (84) D'Aléo, A.; Picot, A.; Baldeck, P. L.; Andraud, C.; Maury, O. *Inorg. Chem.* **2008**, 47 (22), 10269.
- (85) Gunnlaugsson, T.; Leonard, J. P. *Chem. Commun.* **2005**, 3114.
- (86) Dickins, R. S.; Parker, D.; de Sousa, A. S.; Williams, J. A. G. *Chem. Commun.* **1996**, 697.
- (87) Beeby, A.; Clarkson, I. M.; Dickins, R. S.; Faulkner, S.; Parker, D.; Royle, L.; de Sousa, A. S.; Williams, J. A. G.; Woods, M. J. *Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, 2, 493.
- (88) Sudnick, D. R.; Horrocks, W. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101 (2), 334.
- (89) Torre, L. A.; Bray, F.; Siegel, R. L.; Ferlay, J.; Lortet-tieulent, J.; Jemal, A. *CA. Cancer J. Clin.* **2015**, 65 (2), 87.
- (90) Rampone, B.; Schavone, B.; Martino, A.; Viviano, C.; Confuorto, G. *Med. Clin. North Am.* **2009**, 15 (26), 3210.
- (91) Brandhagen, D. *J. Handbook of Liver Disease*; 1999; Vol. 74.
- (92) Llovet, J. M.; Burroughs, A.; Bruix, J. *Lancet* **2003**, 362, 1907.
- (93) Idée, J.-M.; Guiu, B. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2013**, 88 (3), 530.
- (94) Raoul, J.-L. *Semin. Nucl. Med.* **2008**, 38 (2), S13.
- (95) Bosch, F. X.; Ribes, J.; Díaz, M.; Cléries, R. *Gastroenterology* **2004**, 127, S5.
- (96) Forner, A.; Gilabert, M.; Bruix, J.; Raoul, J.-L. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2014**, 11, 525.
- (97) Llovet, J. M.; Bru, C.; Bruix, J. *Semin. Liver Dis.* **1999**, 19 (3), 329.
- (98) Bruix, J.; Sala, M.; Llovet, J. M. *Gastroenterology* **2004**, 127, S179.
- (99) El-Serag, H. B. *New Engl. J. Med.* **2011**, 365, 1118.
- (100) Breedis, C.; Young, G. *Am. J. Pathol.* **1954**, 30 (5), 969.

- (101) [www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr).
- (102) Llovet, J. M.; Real, M. I.; Montaña, X.; Planas, R.; Coll, S.; Aponte, J.; Ayuso, C.; Sala, M.; Muchart, J.; Solà, R.; Rodés, J.; Bruix, J. *Lancet (London, England)* **2002**, 359, 1734.
- (103) Lo, C.-M.; Ngan, H.; Tso, W.-K.; Liu, C.-L.; Lam, C.-M.; Poon, R. T.-P.; Fan, S. T.; Wong, J. *Hepatology* **2002**, 35 (5), 1164.
- (104) Murthy, R.; Habbu, A.; Salem, R. *Biomed. Imaging Interv. J.* **2006**, 2 (3), e43.
- (105) Smits, M. L. J.; Nijssen, J. F. W.; van den Bosch, M. A. A. J.; Lam, M. G. E. H.; Vente, M. A. D.; Mali, W. P. T. M.; van Het Schip, A. D.; Zonnenberg, B. A. *Lancet Oncol.* **2012**, 13 (10), 1025.
- (106) Bonnemain, B.; Guerbet, M. *Rev. Hist. Pharm. (Paris)*. **1995**, 83 (305), 159.
- (107) Nakakuma, K.; Tashiro, S.; Hiraoka, T.; Uemura, K.; Konno, T.; Miyauchi, Y.; Yokoyama, I. *Cancer* **1983**, 52 (12), 2193.
- (108) Konno, T.; Maeda, H.; Iwai, K.; Tashiro, S.; Maki, S.; Morinaga, T.; Mochinaga, M.; Hiraoka, T.; Yokoyama, I. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **1983**, 19 (8), 1053.
- (109) Maeda, H. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1991**, 46 (6), 181.
- (110) Vaidya, S.; Tozer, K. R.; Chen, J. *Semin. Intervent. Radiol.* **2008**, 25 (3), 204.
- (111) Raoul, J. L.; Guyader, D.; Bretagne, J. F.; Heautot, J. F.; Duvauferrier, R.; Bourguet, P.; Bekhechi, D.; Deugnier, Y. M.; Gosselin, M. *Hepatology* **1997**, 26 (5), 1156.
- (112) Wang, S. J.; Lin, W. Y.; Chen, M. N.; Shen, L. H.; Tsai, Z. T.; Ting, G. *Eur. J. Nucl. Med.* **1995**, 22 (3), 233.
- (113) Yu, J.; Häfeli, U. O.; Sands, M.; Dong, Y. *Appl. Radiat. Isot.* **2003**, 58 (5), 567.
- (114) Das, T.; Chakraborty, S.; Sarma, H. D.; Venkatesh, M.; Banerjee, S. *Nucl. Med. Commun.* **2009**, 30 (5), 362.
- (115) Subramanian, S.; Das, T.; Chakraborty, S.; Sarma, H. D.; Banerjee, S.; Samuel, G.; Venkatesh, M. *Cancer Biother. Radiopharm.* **2010**, 25 (5), 539.
- (116) Banka, V. K.; Moon, S.-H.; Jeong, J. M.; Seelam, S. R.; Lee, Y.-S.; Kim, Y. J.; Lee, D. S.; Chung, J.-K. *Nucl. Med. Biol.* **2015**, 42 (3), 317.
- (117) Garin, E.; Noiret, N.; Malbert, C.; Lepareur, N.; Roucoux, A.; Caulet-Maugendre, S.; Moisan, A.; Lecloirec, J.; Herry, J. Y.; Bourguet, P. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2004**, 31 (4), 542.
- (118) Lepareur, N.; Ardisson, V.; Noiret, N.; Garin, E. *Int. J. Mol. Imaging* **2012**, 2012, 278306.
- (119) Senanayake, K.; Thompson, A. L.; Howard, J. A. K.; Botta, M.; Parker, D. *Dalt. Trans.* **2006**, 5423.
- (120) Rohovec, J.; Vojtíšek, P.; Hermann, P.; Jirí, L.; Lukes, I. *Dalt. Trans.* **2000**, 141.
- (121) Aime, S.; Batsanov, A. S.; Botta, M.; Dickins, R. S.; Faulkner, S.; Foster, C. E.; Harrison, A.; Howard, J. A. K.; Moloney, J. M.; Norman, T. J.; Parker, D.; Williams, J. A. G. *J. Chem. Soc., Dalt. Trans.* **1997**, 3623.
- (122) Rohovec, J.; Vojtíšek, P.; Hermann, P.; Mosinger, J.; Žák, Z.; Lukeš, I. *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.* **1999**, 3585.

- (123) Chakravarty, R.; Chakraborty, S.; Dash, A. J. *Label. Compd. Radiopharm.* **2014**, *57* (2), 65.
- (124) Keire, D. A.; Kobayashi, M. *Bioconjug. Chem.* **1999**, *10* (3), 454.
- (125) Mcmurry, T. J.; Pippin, C. G.; Wu, C.; Deal, K. A.; Brechbiel, M. W.; Mirzadeh, S.; Gansow, O. A. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3546.
- (126) Jurkin, D.; Gildehaus, F. J.; Wierczinski, B. J. *Label. Compd. Radiopharm.* **2009**, *52*, 33.
- (127) Costa, J. *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 5257.
- (128) Lepareur, N.; Ardisson, V.; Garin, E.; Noiret, N. *Curr. Radiopharm.* **2008**, *1*, 87.
- (129) Mato-Iglesias, M.; Roca-Sabio, A.; Pálinkás, Z.; Esteban-Gómez, D.; Platas-Iglesias, C.; Tóth, É.; De Blas, A.; Rodríguez-Blas, T. *Inorg. Chem.* **2008**, *47* (17), 7840.
- (130) Siaugue, J.; Segat-Dioury, F.; Sylvestre, I.; Favre-Réguillon, A.; Foos, J.; Madic, C.; Guy, A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4713.
- (131) Richman, J. E.; Atkins, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96* (7), 2268.
- (132) Stetter, H.; Frank, W.; Mertens, R. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 767.
- (133) Dioury, F.; Guéné, E.; Di Scala-Roulleau, A.; Ferroud, C.; Guy, A.; Port, M. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46* (4), 611.
- (134) Tircso, G.; Tircsoné, E.; Suh, E. H.; Jurek, P.; Kiefer, G. E.; Sherry, A. D.; Kovács, Z. *Bioconjug. Chem.* **2009**, *20*, 565.
- (135) Bellouard, F.; Chuburu, F.; Kervarec, N.; Toupet, L.; Triki, S.; Le Mest, Y.; Handel, H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 3499.
- (136) Vilgrain, V.; Van Beers, B. E.; Pastor, C. M. *J. Hepatol.* **2016**, *64*, 708.
- (137) Ronot, M.; Clift, A. K.; Vilgrain, V.; Frilling, A. *J. Hepatol.* **2016**, *65* (5), 1017.
- (138) Beers, B. E. Van; Daire, J.; Garteiser, P. *J. Hepatol.* **2015**, *62* (3), 690.
- (139) Toth, E.; Burai, L.; Brücher, E.; Merbach, E. *J. Chem. Soc., Dalt. Trans.* **1997**, 1587.
- (140) Uggeri, F.; Aime, S.; Anelli, P. L.; Botta, M.; Brocchetta, M.; De Haën, C.; Ermondi, G.; Grandi, M.; Paoli, P. *Inorg. Chem.* **1995**, *34* (3), 633.
- (141) Karabulut, N.; Elmas, N. *Diagnostic Interv. Radiol.* **2006**, *12*, 22.
- (142) Gale, E. M.; Jones, C. M.; Ramsay, I.; Farrar, C. T.; Caravan, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 15861.
- (143) Gallez, B.; Bacic, G.; Swartz, H. M. *Magn. Reson. Med.* **1996**, *35*, 14.
- (144) Assfalg, M.; Gianolio, E.; Zanzoni, S.; Tomaselli, S.; Russo, V. Lo; Cabella, C.; Ragona, L.; Aime, S.; Molinari, H. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5257.
- (145) Islam, K.; Kim, S.; Kim, H.; Park, S.; Lee, G. H.; Kang, J.; Jung, J. C.; Park, J.; Kim, T.; Chang, Y. *J. Med. Chem.* **2017**.
- (146) Caravan, P.; Das, B.; Dumas, S.; Epstein, F. H.; Helm, P. A.; Jacques, V.; Koerner, S.; Kolodziej, A.; Shen, L.; Sun, W.; Zhang, Z. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2007**, *46*, 8171.
- (147) Fuchs, B. C.; Wang, H.; Yang, Y.; Wei, L.; Polasek, M.; Schühle, D. T.; Lauwers, G. Y.; Parkar, A.; Sinsky, A. J.; Tanabe, K. K.; Caravan, P. *J. Hepatol.* **2013**, *59* (5), 992.
- (148) Rodríguez-Rodríguez, A.; Garda, Z.; Ruscsák, E.; Esteban-Gómez, D.; de Blas, A.; Rodríguez-

- Blas, T.; Lima, L. M. P.; Beyler, M.; Tripier, R.; Tircsó, G.; Platas-Iglesias, C. *Dalt. Trans.* **2015**, 44 (11), 5017.
- (149) Regueiro-Figueroa, M.; Nonat, A.; Rolla, G. A.; Esteban-Gómez, D.; De Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Charbonnière, L. J.; Botta, M.; Platas-Iglesias, C. *Chem. - A Eur. J.* **2013**, 19 (35), 11696.
- (150) Löble, M. W.; Casimiro, M.; Thielemann, D. T.; Oña-Burgos, P.; Fernández, I.; Roesky, P. W.; Breher, F. *Chemistry* **2012**, 18 (17), 5325.
- (151) Xing, Y.; Jindal, A. K.; Regueiro-Figueroa, M.; Le Fur, M.; Kervarec, N.; Zhao, P.; Kovacs, Z.; Valencia, L.; Pérez-Lourido, P.; Tripier, R.; Esteban-Gómez, D.; Platas-Iglesias, C.; Sherry, A. *D. Chem. - A Eur. J.* **2016**, 1.
- (152) Holz, R. C.; Horrocks Jr., W. D. *J. Magn. Reson.* **1990**, 89, 627.
- (153) Bovens, E.; Hoefnagel, M. A.; Boers, E.; Lammers, H.; Van Bekkum, H.; Peters, J. A. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 7679.
- (154) Supkowski, R. M.; Horrocks, W. D. *Inorganica Chim. Acta* **2002**, 340, 44.
- (155) Brayshaw, P. A.; Bunzli, J. G.; Froidevaux, P.; Harrowfield, J. M.; Kim, Y.; Sobolev, A. N. *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 2068.
- (156) Faulkner, S.; Pope, S. J. A.; Burton-Pye, B. P. *Appl. Spectrosc. Rev.* **2005**, 40, 1.
- (157) Siaugue, J. M.; Segat-Dioury, F.; Favre-Régouillon, A.; Wintgens, V.; Madic, C.; Foos, J.; Guy, A. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2003**, 156 (1–3), 23.
- (158) Kim, W. D.; Kiefer, G. E.; Maton, F.; McMillan, K.; Muller, R. N.; Sherry, A. D. *Inorg. Chem.* **1995**, 34 (8), 2233.
- (159) Enel, M.; Leygue, N.; Balayssac, S.; Laurent, S.; Galaup, C.; Vander Elst, L.; Picard, C. *Dalt. Trans.* **2017**, 46, 4654.
- (160) Guanci, C.; Giovenzana, G.; Lattuada, L.; Platas-Iglesias, C.; Charbonnière, L. J. *Dalt. Trans.* **2015**, 44, 7654.
- (161) Brücher, E. *Top. Curr. Chem.* **2002**, 221, 104.
- (162) Gran, G. *Analyst* **1952**, 77, 661.
- (163) Schwarzenbach, G.; Flaschka, W. *Complexometric Titrations*; Methuen & Co: London; 1969.
- (164) Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Talanta* **1996**, 43, 1739.
- (165) Alderighi, L.; Gans, P.; Ienco, A.; Peters, D.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, 184, 311.
- (166) Tao, J.; Perdew, J. P.; Staroverov, V. N.; Scuseria, G. E. *Phys. Rev. Lett.* **2003**, 91, 146401.
- (167) Andrae, D.; Häußermann, U.; Dolg, M.; Stoll, H.; Preuß, H. *Theor. Chim. Acta* **1990**, 77, 123.
- (168) Martin, J. M. L.; Sundermann, A. *J. Chem. Phys.* **2001**, 114 (8), 3408.
- (169) CrysAlis software system, version 1.171.28 cycle4 beta; Oxford Diffraction Ltd.: Abingdon, U.K. 2005.
- (170) Sheldrick, G. M. *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* **2008**, A64, 112.



**Tableau récapitulatif du chapitre II**

	<b>Ligands</b>	<b>H<sub>3</sub>PCTMB</b>	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	
Constantes de protonation	Log K <sub>1</sub>	11,16	9,69	11,22	10,43	9,90	-	
	Log K <sub>2</sub>	5,28	7,63	5,96	6,47	6,81	-	
	Log K <sub>3</sub>	1,72	4,02	4,42	4,13	3,96	-	
	Log K <sub>4</sub>	-	2,35	3,17	2,71	3,12	-	
	Log K <sub>5</sub>	-	-	1,39	1,39	1,70	-	
	Σ Log K <sub>i</sub>	18,16	23,90	24,12	24,92	24,06		
Stabilité thermodynamique	Log K <sub>YL</sub>	19,49	19,89	23,36	22,44	23,07	-	
	pY	16,7	18,14	20,49	20,33	21,45	-	
Cinétique	Vitesse de complexation pH 5,5 (min)	13	3	< 1	3	<1	-	
	Inertie t <sub>1/2</sub> HCl 1M	20 min	27 min	140 min	357 min	698 h	-	
Radiomarquage <sup>90</sup> Y <sup>3+</sup> et stabilité	Conditions optimales	pH	4,7-9	5,2	3-9	3-9	3-9	6,5-9
		C (M)	10 <sup>-4</sup> - 10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup> - 10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup> - 10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup> - 10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>
		T (°C)	45 - 60	100	60	60	60	50
		t (min)	15	15	15	15	15	15
	PRC	96,44%	85 %	>95%	>95%	>95%	>95%	98%
	Stabilité sérum physiologique à 37°C	-	43% à 24h 41% à 48h	> 95 %	> 95 %	> 95 %	> 95 %	-
Stabilité en sérum humain à 37°C	90% à 24h 80% à 48h	46% à 24h 37% à 48h	> 95 %	> 95 %	> 95 %	> 95 %	-	
Stabilité EDTA	-	28% à 24h 20% à 48h	> 95 %	94% à 24h 91% à 48h	> 95 %	> 95 %	-	
Lipiodol	Solubilité Lipiodol	58%	0%	0%	0%	0%	90%	
	Stabilité <sup>90</sup> YL/Lipiodol en sérum physiologique	80% du radiochélate en phase aqueuse à 67h	-	-	-	-	< 1% du radiochélate en phase aqueuse à 162h	

### Tableau récapitulatif du chapitre III

	<b>Ligands</b>	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>
<b>Gd(III)</b>	Log $K_{GdL}$	20,49	23,56	22,37	23,44
	pGd	18,7	20,7	20,3	21,8
	$t_{1/2}$ pour $[H^+] = 0,1$ M	167 min	844 min	542 min	1258 min
	$r_1$ ( $mM^{-1}.s^{-1}$ ) à 25°C et 20 MHz	4,74	3,58	4,95	2,10
<b>Eu(III)</b>	$q$ (Eu)	1	0,36	1	0
	$\tau_{H_2O}$ (ms)	0,58	0,98	0,66	1,52
	$\tau_{D_2O}$ (ms)	2,25	2,12	2,11	2,07
	$\Phi_{obs}$ (H <sub>2</sub> O) %	6	16	6	22
<b>Tb(III)</b>	$q$ (Tb)	1	0	1	0
	$\tau_{H_2O}$ (ms)	1,71	2,48	1,68	2,40
	$\tau_{D_2O}$ (ms)	3,15	2,79	2,59	2,54
	$\Phi_{obs}$ (H <sub>2</sub> O) %	66	100	22	100

## *Publications, Brevets et communications*

### Publications

Pyclen Tri-n-butylphosphonate Ester as Potential Chelator for Targeted Radiotherapy: From Yttrium(III) Complexation to  $^{90}\text{Y}$  Radiolabeling.

M. Le Fur, M. Beyler, N. Lepareur, O. Fougère, C. Platas-Iglesias, O. Rousseaux, and R. Tripier. *Inorg. Chem.*, **2016**, 55, 8003-8012.

The relationship between NMR chemical shifts of thermally polarized and hyperpolarized  $^{89}\text{Y}$  complexes and their solution structures.

Y. Xing, A. K. Jindal, M. Regueiro-Figueroa, M. Le Fur, N. Kervarec, P. Zhao, Z. Kovacs, L. Valencia, P. Pérez-Lourido, R. Tripier, D. Esteban-Gómez, C. Platas-Iglesias, and A. D. Sherry. *Chem. Eur. J.*, **2016**, 22, 16657-16667.

Role of labile capping bonds on cyclen  $^{\text{nat}}\text{Y}^{3+}/^{90}\text{Y}^{3+}$  chelates stability: full control of the regiospecific N-functionalization makes the difference.

M. Le Fur, M. Beyler, E. Molnár, O. Fougère, D. Esteban-Gómez, G. Tircsó, C. Platas-Iglesias, N. Lepareur, O. Rousseaux, R. Tripier *Chem. Commun.* **2017**, 53, 9534-9537.

Improving the stability and inertness of Cu(II) and Cu(I) complexes with methylthiazolyl ligands by tuning the macrocyclic structure.

M. Le Fur, M. Beyler, N. Le Poul, L. M. P. Lima, Y. Le Mest, R. Delgado, C. Platas-Iglesias, V. Patinec and R. Tripier. *Dalton Trans.*, **2016**, 45, 7406-7420 (publication hors thèse).

### Brevets

M. Le Fur, M. Beyler, O. Rousseaux and R. Tripier. French Patent Guerbet/UBO (FR15633446, December **2015**)

M. Le Fur, M. Beyler, O. Rousseaux and R. Tripier. French Patent Guerbet/UBO (June **2017**)

## Communications orales

New Ln<sup>3+</sup>-pyclen chelates for further applications in diagnostic and therapy.  
GPOL, Roscoff, Juillet **2017**.

PCTMB as potential chelator for targeted radiotherapy: from Y<sup>3+</sup> complexation to <sup>90</sup>Y<sup>3+</sup> radiolabeling.  
Cancéropôle Grand Ouest, Le Bono, Septembre **2016**.

Exploring the properties of Y<sup>3+</sup> and <sup>90</sup>Y<sup>3+</sup> pyclen-based complexes for future applications in radiotherapy.  
Colloque SFR ScInBioS / IBSAM, Brest, Juin **2016**.

→ **Prix de la meilleure présentation**

No2th: a dithiazole tacn derivative for stable Cu<sup>2+</sup> and Cu<sup>+</sup> complexes.  
Société Chimique de France, Nantes, Mai **2015**.

## Communications par affiche

<sup>90</sup>Y-PCTMB: a promising chelate for vectorized radiotherapy.  
42<sup>nd</sup> International Conference on Coordination Chemistry (ICCC), Brest, Juillet **2016**.

Dithiazole-tacn derivative: synthesis and Cu(II) complexation for applications in nuclear medicine.  
Le Studium, Orléans, Septembre **2015**.

New chelators for nuclear medicine.  
Graduate school meeting, Septembre **2015**.

Tacn dithiazole: synthesis and Cu(II) complexation for potential applications in nuclear medicine.  
Colloque SFR ScInBioS / IBSAM, Brest, Juin **2015**.

→ **Prix du meilleur poster**

Tacn dithiazole: synthesis and Cu(II) complexation for potential applications in nuclear medicine.  
Dalton Discussion 15, York (UK), Septembre **2014**.

→ **Prix du meilleur poster**



# ***Chélates azamacrocycliques de l'Y<sup>3+</sup> et du Gd<sup>3+</sup> pour la radiothérapie et le diagnostic du cancer du foie***

## ***Résumé***

Ce travail de thèse a consisté en la synthèse et l'étude de dérivés du macrocycle pycen (3,6,9,15-tétrazabicyclo[9.3.1]pentadéca-1(15),11,13-triène) pour la complexation de l'<sup>90</sup>Y<sup>3+</sup> et du Gd<sup>3+</sup> pour le traitement et le diagnostic du cancer du foie par les techniques respectives de radiothérapie interne et d'IRM. Notre objectif a été de développer des chélates stables et inertes répondant aux critères imposés par le milieu biologique. La lipophilie et la neutralité de ces composés ont également été recherchées en raison des applications visées.

Nous avons synthétisé des dérivés du pycen N-fonctionnalisés par des groupements phosphonate puis développé une série de quatre ligands diversement N-fonctionnalisés par des groupements picolinate et acétate. Ces derniers ont été synthétisés grâce au développement de nouvelles voies de N-fonctionnalisation régiospécifiques. Ces synthèses ont été optimisées et les complexes d'Y<sup>3+</sup> et Gd<sup>3+</sup> étudiés. Les résultats obtenus nous ont amené à synthétiser un analogue lipophile qui forme avec l'yttrium 90 un excellent chélate pour le traitement du cancer du foie. Enfin, ces études ont mis en évidence le potentiel de certains chélates de Gd<sup>3+</sup> à être utilisés comme agents de contraste hépatobiliaires.

Mots-clés : pycen, yttrium, gadolinium, polyazamacrocycle, picolinate, radiothérapie, IRM, foie, lipophile.

## ***Y<sup>3+</sup> and Gd<sup>3+</sup> azamacrocyclic chelates for liver cancer's radiotherapy and imaging***

### ***Abstract***

This work consisted in the synthesis and study of Y<sup>3+</sup> and Gd<sup>3+</sup> pycen derivatives for liver cancer's treatment and diagnosis by means of internal radiotherapy and MRI techniques. For these applications, the chelates of interest must fulfill numerous criteria: being thermodynamically stable and kinetically inert but also being lipophilic and neutral.

In this work, we have synthesized a pycen derivative N-functionalized by three phosphonate pendant arms and developed four new pycen derivatives N-functionalized by either picolinate or acetate moieties arranged in various way, thanks to the development of new synthetic pathways leading to regiospecific N-functionalization. These syntheses were optimized and the properties of Y<sup>3+</sup> and Gd<sup>3+</sup> chelates were studied. The good results we have obtained encouraged us to synthesize a lipophilic analogue which forms with yttrium 90 a very promising chelate, suitable for liver cancer's internal radiotherapy. The gadolinium(III) chelates also show good properties for a use as a liver-specific MRI contrast agent.

Keywords: pycen, yttrium, gadolinium, polyazamacrocycle, picolinate, radiotherapy, MRI, liver, lipophilicity.