



HAL
open science

Polyrotaxanes anioniques de cyclodextrines fonctionnalisées pour l'imagerie bimodale

Hugo Vervoitte

► **To cite this version:**

Hugo Vervoitte. Polyrotaxanes anioniques de cyclodextrines fonctionnalisées pour l'imagerie bimodale. Polymères. Sorbonne Université, 2020. Français. NNT : 2020SORUS168 . tel-03893946

HAL Id: tel-03893946

<https://theses.hal.science/tel-03893946>

Submitted on 12 Dec 2022

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.

Sorbonne Université

École Doctorale de Chimie Moléculaire Paris Centre – ED 406

Institut Parisien de Chimie Moléculaire – UMR 8232

*Équipe Glycochimie Organique Biologique et Chimie
Supramoléculaire*

Polyrotaxanes Anioniques de Cyclodextrines Fonctionnalisées pour l’Imagerie Bimodale

Par Hugo Vervoitte

Thèse de Doctorat de Chimie

Dirigée par :

Dr. Guillaume Vives et Pr. Bernold Hasenknopf

Soutenue publiquement le :

11 décembre 2020

Devant un jury composé de :

Mme Célia BONNET	Chargée de Recherche	CBM, Orléans	Rapportrice
M. Frédéric COUTROT	Maître de Conférences	Université de Montpellier	Rapporteur
M. Jean-François NIERENGARTEN	Directeur de Recherche	Université de Strasbourg	Examineur
M. Laurent BOUTEILLER	Directeur de Recherche	Sorbonne Université	Examineur
M. Guillaume VIVES	Maître de Conférences	Sorbonne Université	Co-directeur
M. Bernold HASENKNOPF	Professeur	Sorbonne Université	Directeur

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à adresser mes remerciements à mes encadrants pour m'avoir accepté dans ce projet depuis 4 ans avec un stage de master 2. Merci **Matthieu**, que j'ai rencontré en cours de master, et grâce à qui j'ai intégré le laboratoire GOBS pour mon stage de fin d'études, qui m'a permis de découvrir la chimie supramoléculaire et les nombreuses thématiques de recherche de l'équipe. Au cours de ma thèse, tu as toujours été disponible pour discuter et explorer de nouvelles approches du sujet, et échanger avec toi a été un plaisir ! Merci à **Berni**, qui m'a encadré pendant ces 4 années, faisant toujours preuve de bienveillance et avec qui les discussions sont toujours enrichissantes, quel que soit le sujet. Ton calme et ta sagesse apporte beaucoup de sérénité aux étudiants et est d'une grande importance tout au long d'une thèse. Finalement, merci à **Guillaume**, toujours disponible, et sans qui certaines études présentes dans ce manuscrit n'auraient pas pu être réalisées. Je pense notamment au premier chapitre, qui n'aurait tout simplement pas existé sans toi ! Un grand merci pour m'avoir sorti de ma zone de confort et ainsi permis d'explorer de nouveaux domaines, je ne pensais pas faire, écrire et parler d'autant de thermodynamique et de cinétique en commençant ma thèse. Un grand merci également pour ta présence tout au long de ma rédaction, qui n'a pas été simple et surtout très longue, au cours de cette année difficile. Tu as toujours été disponible et prompt à donner de bons conseils pour m'aider dans cet exercice complexe.

Je vous souhaite à tous les trois mes meilleurs vœux de réussite pour vos carrières et projets, et je suis déjà impatient de voir comment évolueront ces nouveaux assemblages supramoléculaires.

Un grand merci à **Célia Bonnet**, **Frédéric Coutrot**, **Jean-François Nierengarten**, et **Laurent Bouteiller** d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse, avec une discussion longue et très intéressante.

Merci à **Bich-Thuy**, **Sarah**, et **Clémentine** pour nos collaborations, arrivées malheureusement assez tard mais qui se sont révélées intéressantes, et ont permis de mettre en valeur ce projet par l'évaluation de nos assemblages en imagerie *in vivo*.

Merci aux autres personnels de l'IPCM, et plus particulièrement, les gestionnaires, **Sylvie**, **Sylvie** et **Patricia** ; le laboratoire de RMN, avec **Aurélie** et **Claire** ; le laboratoire de

spectrométrie de Masse, avec **Omar** ; les secrétaires, **Dominique** et **Christel**, et enfin toutes les personnes avec qui j'ai pu interagir, à savoir **Lise-Marie, Jutta, Gaëlle, et Laurent**.

Merci à l'équipe **GOBS**, équipe qui a vu passer beaucoup de monde au cours de ces 3 années. Merci à ses permanents **Sylvain, Mickaël, Olivia** et **Yongmin**. Il y a également les doctorants de l'équipe, et pour cela je souhaite commencer par les anciens. Tu es le premier à qui j'ai parlé en arrivant au laboratoire, *gracias* **Jorge** pour toutes nos discussions de bureau et de laboratoire, ainsi qu'à **Lorien, Sawsen, et Martin**, avec qui nous avons partagé énormément d'instant, au laboratoire et en dehors. Merci à tous ceux avec qui j'ai partagé le laboratoire, **Haipeng, Zhihao, Guangcan, Enxu, Pierre, Changping, Lisa, Wenting**.

Je tiens à adresser un mot particulier à la paire inséparable **Floriane** et **Kajetan**. Bon courage à Floriane qui soutient très prochainement. Kajetan, bon courage pour cette dernière année, et rendez-vous l'année prochaine pour une super soutenance (et un super pot, j'espère).

Leonid, nos routes se sont croisées il y a 5 ans, et quand j'ai su que l'on partagerait le même laboratoire pour nos thèses, je savais que cela se passerait très bien ! Cela a été un vrai plaisir de partager chaque étape de ce parcours du combattant ensemble, conclu par la rédaction et la soutenance. Je te souhaite le meilleur pour la suite et te dis évidemment à très bientôt !

Le laboratoire a vu passer quelques stagiaires depuis 2017, alors merci à **Nathan** et **Manon**, que j'ai eu le plaisir d'encadrer, et que je retiens comme une superbe expérience, ainsi qu'à **Maxime** et **Louise**, passés par le laboratoire, et à qui je souhaite bon courage pour le début de leurs thèses.

Merci à mes amis **Pierre, Etienne, Antoine, Valérie-Anne, Elsa, Domitille, Lorianne, Christophe** (merci d'être resté jusqu'au bout de ma soutenance, tu es le meilleur !).

Je tiens finalement à remercier de tout mon cœur **ma famille**, qui a été un soutien permanent pendant toute cette thèse. Enfin, merci **Elnaz**, pour tout, et bon courage pour la fin de la rédaction et la future soutenance, tu y es presque ! La fin de nos thèses est une page qui se tourne, pour laisser place à une nouvelle, à écrire ensemble.

Table des matières

INTRODUCTION	9
I. Chimie supramoléculaire : principes des molécules entrelacées.....	12
1. Interactions et effets impliqués.....	12
a. Interactions moléculaires.....	12
b. Effet hydrophobe	13
2. Les molécules entrelacées	14
a. Caténanes	15
b. Rotaxanes.....	16
c. Polyrotaxanes	19
3. Molécules entrelacées à base de cyclodextrines.....	20
a. Rotaxanes de cyclodextrines	21
b. Polyrotaxanes de cyclodextrines	24
II. Imagerie biomédicale : principes et techniques d'analyses	28
1. Imagerie par Résonance Magnétique	30
a. Principe général.....	30
b. Les agents de contraste	31
2. Imagerie de fluorescence.....	39
3. Agents d'imagerie multimodaux	42
a. Agents d'imagerie bimodaux moléculaires	42
b. Agents d'imagerie bimodaux macromoléculaires.....	43
III. Applications biomédicales avec des polyrotaxanes de cyclodextrines.....	44
1. Polyrotaxanes de cyclodextrines pour le transport de principe actif	44
a. Hydrogels de polyrotaxanes de cyclodextrines	44
b. Polyrotaxanes conjugués biodégradables.....	46
2. Imagerie avec des polyrotaxanes de cyclodextrines	48
IV. Contexte du projet.....	51
1. Design d'une nouvelle plateforme d'imagerie multimodale	51
2. Résultats précédents	52
a. Cyclodextrines fonctionnalisées.....	52
b. Rotaxanes de cyclodextrines pour l'IRM.....	54
c. Polyrotaxanes polycationiques pour l'imagerie bimodale.....	55
3. Objectifs de la thèse	57
CHAPITRE I : ÉTUDES CONFORMATIONNELLES DE <i>PSEUDOROTAXANES</i>	59
I. Synthèses et études de <i>pseudorotaxanes</i> diphosphates	61
1. Synthèses des axes diphosphates.....	62
2. Formation en solution de <i>pseudorotaxanes</i> de cyclodextrines.....	64
a. Méthodes d'études	64
b. Étude de l'axe C ₆	66

c. Études des axes de C ₈ à C ₁₂ par RMN	68
d. Études des axes C ₆ à C ₁₂ par ITC	71
3. Caractérisation et étude cinétique à pH 10	74
a. Étude cinétique à pH 10	74
b. Caractérisation des [3] <i>pseudorotaxanes</i>	77
II. Études conformationnelles des <i>pseudorotaxanes</i>	79
1. Études à l'état solide par DRX	79
2. Études en solution par RMN	82
a. Exemple de compression de chaîne alkyle	82
b. Application aux [3] <i>pseudorotaxanes</i>	83
III. Conclusion sur les études de <i>pseudorotaxanes</i> diphosphates	85
CHAPITRE II : VERS DES POLYROTAXANES PAR POLYMERISATION DE <i>PSEUDOROTAXANES</i>	87
I. Polymérisation de <i>pseudorotaxanes</i> diphosphates par couplage de phosphates	89
1. Principe de formation du polyrotaxane	89
2. Essais de polymérisation par couplage de phosphates	90
3. Tentatives d'optimisation du couplage de phosphates	93
II. Polymérisation de <i>pseudorotaxanes</i> phosphates par réaction sur la chaîne	95
1. Les poly(phosphoester)s dans le domaine biomédical	95
2. Méthodes de polymérisation de poly(phosphoester)s par les chaînes latérales	98
a. Polymérisation par ADMET	98
b. Polymérisation par couplage de Glaser	100
3. Synthèses et études de monomères dialkylphosphates fonctionnalisés	101
a. Monomères dialkylmonophosphates	102
b. Monomères dialkyldiphosphates	104
4. Essais de polymérisation de monomères dialkylphosphates en polyrotaxanes	107
a. Polymérisation par métathèse de diènes acycliques	107
b. Polymérisation de monomères alcynes par couplage de Glaser	109
5. Bilan des essais de polymérisation	111
III. Conclusions sur la stratégie de polymérisation de <i>pseudorotaxanes</i>	112
CHAPITRE III : POLY <i>PSEUDOROTAXANES</i> ANIONIQUES POUR L'IMAGERIE MULTIMODALE	113
I. Formation de poly(phosphoester)s par métathèse de diènes acycliques	115
1. Développement de la synthèse et utilisation du groupement protecteur nitrophénol	115
a. Synthèse du polymère protégé	115
b. Optimisations de l'étape de polymérisation	117
2. Déprotection sélective du groupement nitrophénol	119
II. Synthèses de cyclodextrines fonctionnalisées	120
1. Synthèses des CD-azotures	120
2. Synthèses des CD fonctionnalisées pour l'IRM et la fluorescence	122
III. Formations et caractérisations des assemblages	124
1. Études par RMN d'assemblages de cyclodextrines natives	125
2. Études par RMN d'assemblages de cyclodextrines fonctionnalisées	128
a. Poly <i>pseudorotaxanes</i> monomodaux	129

b. Polypseudorotaxanes bimodaux.....	130
IV. Études des polypseudorotaxanes mono et bimodaux	133
1. Études de relaxométrie	133
2. Mesures de fluorescence	135
3. Mesures de cytotoxicité <i>in vitro</i>	135
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	139
EXPERIMENTAL PART	145
General experimental conditions.....	147
Synthesis procedures	151
ANNEXES	185
LISTE DES ABREVIATIONS	191
BIBLIOGRAPHIE	197

Introduction

Comme l'a décrit Jean Marie Lehn, père fondateur de celle-ci, la chimie supramoléculaire est « la chimie au-delà de la molécule ».¹ Elle s'intéresse aux divers assemblages et à toutes les interactions permettant de construire des structures plus complexes entre des molécules. De nombreux exemples existent, parmi lesquels les molécules entrelacées, les cages, les capsules, les polymères supramoléculaires, etc.

La chimie supramoléculaire a vu apparaître ces dernières années des systèmes de plus en plus élaborés, trouvant des applications dans de nombreux domaines allant des matériaux à la médecine, en passant par la catalyse, ou encore le stockage de l'information. Ainsi, différentes branches du domaine biomédical en font parties, dont le secteur de l'imagerie biomédicale auquel s'intéresse cette thèse.

Ce projet de recherche propose le développement d'une plateforme d'imagerie multimodale modulable, dont l'architecture se base sur l'utilisation de polyrotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées, avec pour objectif ultime le diagnostic et le suivi de l'arthrite rhumatoïde.

Dans cette introduction seront présentés les principes et fondements des différents domaines impliqués dans ce projet interdisciplinaire. La chimie supramoléculaire sera présentée dans un premier temps, avec son histoire, et les diverses interactions et effets impliqués qui ont permis de révéler cette nouvelle façon de construire des assemblages moléculaires. Certains de ces assemblages seront ensuite présentés, et plus particulièrement ceux faisant intervenir la cyclodextrine, qui joue un rôle majeur dans la construction des plateformes d'imagerie visées. Afin de comprendre l'intérêt de cette approche, l'imagerie par résonance magnétique et de fluorescence seront décrites, ainsi que l'apport des assemblages supramoléculaires à ces techniques. Finalement, le contexte du projet et les résultats précédents pourront être expliqués, et les perspectives et propositions d'innovations énoncées.

I. Chimie supramoléculaire : principes des molécules entrelacées

Les molécules entrelacées sont formées par des processus d'auto-assemblages, régis par un ensemble d'interactions et autres effets qui ont lieu entre des briques élémentaires, conduisant à la construction d'objets plus complexes. Pour bien comprendre la chimie supramoléculaire, il est donc nécessaire dans un premier temps de décrire et d'illustrer les interactions non-covalentes exploitées dans ce domaine de la chimie.

1. Interactions et effets impliqués

La chimie supramoléculaire est souvent décrite comme étant la chimie « hôte-invité », où un « hôte » va interagir par liaisons non-covalentes avec un « invité », formant ainsi un complexe d'inclusion. Ces différents assemblages sont régis par un nombre important d'interactions ou d'effets, qui dépendent grandement de la nature des constituants utilisés. Ces interactions non-covalentes peuvent aussi bien avoir des effets d'attraction ou de répulsion, et peuvent avoir comme origine l'hôte, l'invité, mais également l'environnement dans lequel a lieu la réaction, comme par exemple les effets de solvatations.

a. Interactions moléculaires

Les interactions non-covalentes vont regrouper toutes celles considérées de faible énergie, allant jusqu'à la centaine de kJ/mol. Au-delà, il s'agit de liaisons covalentes, qui font partie de la chimie moléculaire, avec des énergies de l'ordre de plusieurs centaines de kJ/mol (Figure 1).

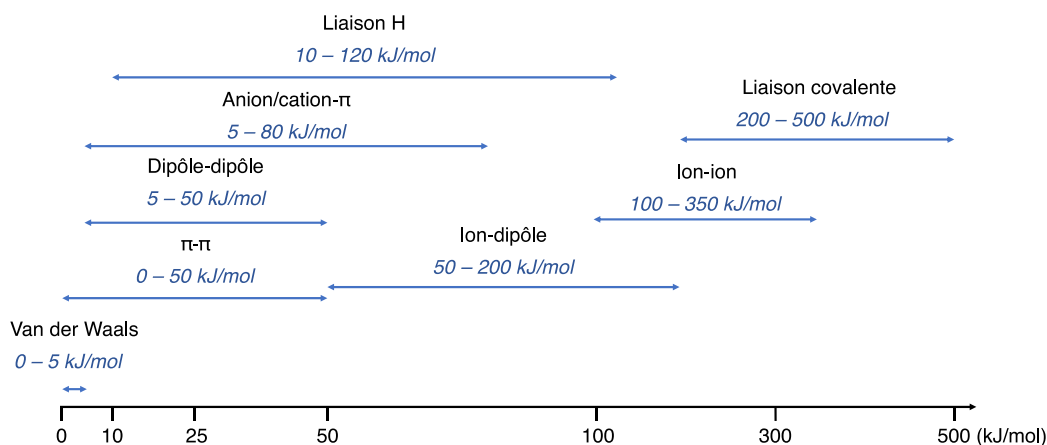


Figure 1 : Échelle d'énergie de dissociation de différentes forces de liaison

Les interactions ion-ion constituent une classe avec une énergie d'interaction relativement élevée, entre 100 et 350 kJ/mol, ainsi comparable énergétiquement à des liaisons covalentes, mais sans leur directionnalité. Autres interactions impliquant des ions, les interactions ions-dipôles, montrent des énergies entre 50 et 200 kJ/mol. Elles sont à l'origine de la reconnaissance des cations par les éthers couronnes, un des premiers types d'hôte étudié dans le domaine.

Les liaisons hydrogènes font partie d'une catégorie importante, dont les énergies peuvent être relativement variables et s'étendent de 5 à 120 kJ/mol.² Elles correspondent à l'attraction, par un dipôle voisin présent sur une molécule ou une fonction chimique, d'un hydrogène lié à un atome électronégatif, ou encore à un groupement fonctionnel électroattracteur, le plus souvent des atomes de carbone, d'azote ou d'oxygène. Les liaisons hydrogènes, par leur directionnalité, sont par exemple grandement impliquées dans la structuration secondaire et tertiaire des protéines, la reconnaissance de substrat par des enzymes, ou même la double hélice de l'ADN.

Finalement, les liaisons de Van der Waals se situent parmi les plus faibles interactions, avec des énergies ne dépassant pas 5 kJ/mol, et qui correspondent à la polarisation d'un nuage électronique par un atome voisin, provoquant une faible attraction électrostatique.

En plus de ces premières interactions présentées qui montrent une diversité fonctionnelle vaste, il existe encore d'autres possibilités, telles que les interactions π - π (molécules aromatiques), les liaisons halogènes (entre un halogène et un atome nucléophile), ou encore les liaisons de coordination (entre un acide et une base de Lewis). D'autres effets peuvent également entrer en jeu, et se combiner pour accéder à d'autres types d'assemblages. Toute une partie de la chimie supramoléculaire peut par exemple se faire dans l'eau et faire intervenir un effet permettant l'accès à certaines structures, à savoir l'effet hydrophobe.

b. Effet hydrophobe

L'effet hydrophobe est un paramètre majeur dans la construction de certaines architectures en chimie supramoléculaire. Il caractérise l'exclusion d'une particule faiblement solvatée dans l'eau, par exemple par absence de liaisons hydrogènes ou d'interactions dipolaires.

Ce phénomène peut se caractériser par deux aspects thermodynamiques, avec une influence sur l'enthalpie et l'entropie du système³ (Figure 2).

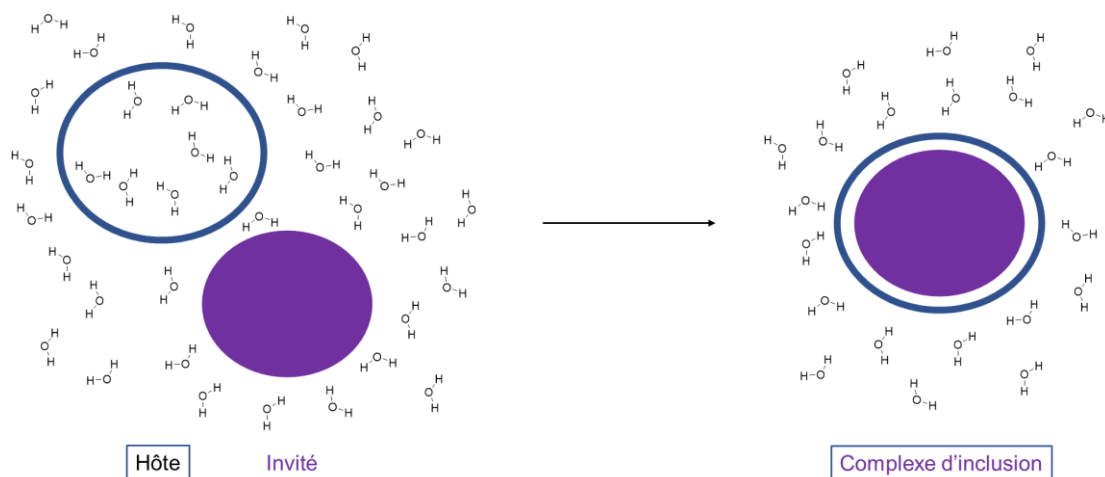


Figure 2 : formation d'un complexe d'inclusion provoqué par effet hydrophobe

Du point de vue enthalpique, la libération de molécules d'eau présentes dans une cavité hydrophobe, et donc de haute énergie, contribue à la stabilisation du système, par une meilleure solvation du milieu. Par ailleurs, la formation du complexe d'inclusion aura également un effet stabilisant par interaction entre l'hôte et l'invité. Enfin, l'association de l'hôte et de l'invité en une seule structure dans le milieu génère une augmentation de l'entropie du système, d'une part grâce à la libération de molécules d'eau présentes dans la cavité de l'hôte, et également par la complexation de l'invité, qui permet une libre orientation des molécules d'eau servant à sa solvation, et diminuant ainsi le coût en énergie totale nécessaire. Des récepteurs typiques pour illustrer cet effet sont les cyclodextrines, macrocycles avec une cavité hydrophobe et une surface hydrophile, qui seront présentées plus en détail par la suite, et qui permettent la formation de nombreux complexes d'inclusions avec toutes sortes d'invités hydrophobes.

2. Les molécules entrelacées

Les molécules entrelacées tiennent un rôle très important en chimie supramoléculaire, et ont ainsi fait l'objet de nombreuses études et publications depuis près de quarante ans. Parmi ces travaux se trouvent notamment ceux de Jean-Pierre Sauvage et Sir J. Fraser Stoddart, qui se sont vus attribuer, avec Ben Feringa le prix Nobel de Chimie 2016, pour la conception et la synthèse de machines moléculaires.⁴⁻⁶

Parmi les molécules entrelacées, les rotaxanes et polyrotaxanes sont les objets utilisés dans ce projet et seront présentés en détail, ainsi qu'un autre exemple d'assemblage de ce type, à savoir les caténanes (Figure 3).

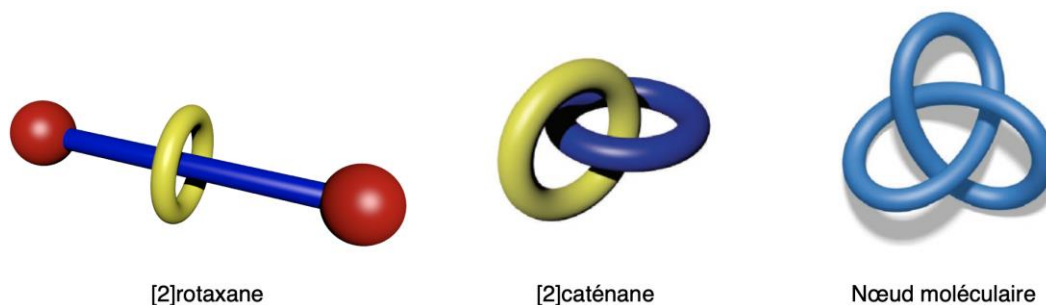


Figure 3 : représentation de plusieurs types de molécules entrelacées

a. Caténanes

Exemple de molécules entrelacées, les caténanes correspondent à l'imbrication d'au moins deux macrocycles, dont la séparation nécessite la rupture de liaisons covalentes d'un des macrocycles. Un cas particulier a lieu lorsqu'un assemblage est obtenu avec un seul macrocycle, enchevêtré sur lui-même, il s'agit alors d'un nœud moléculaire.⁷

La première mise en évidence de caténane a été faite en 1960 par l'équipe de Wassermann,⁸ qui a montré l'obtention de ce type d'assemblage (Schéma 1).

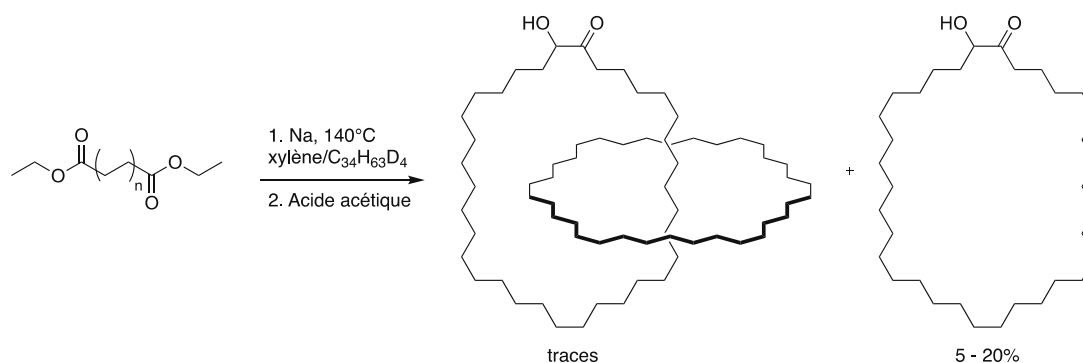


Schéma 1 : Caténane de Wassermann⁸

Obtenu par condensation acyloïne intramoléculaire, cette réaction conduit à la formation de macrocycles libres, mais également à des traces de caténane, quand la macrocyclisation a lieu après enfilage dans un premier macrocycle. Cette réaction est donc basée sur un phénomène statistique d'enfilage, constituant une grande limitation en termes de rendement, et met en avant la nécessité de l'emploi d'interactions spécifiques permettant une pré-organisation du système, afin d'améliorer la synthèse et la formation d'une telle structure.

Cette préorganisation peut être obtenue avec l'effet « *template* », rencontré par exemple lors de l'utilisation de métal lors de l'assemblage (Figure 4).

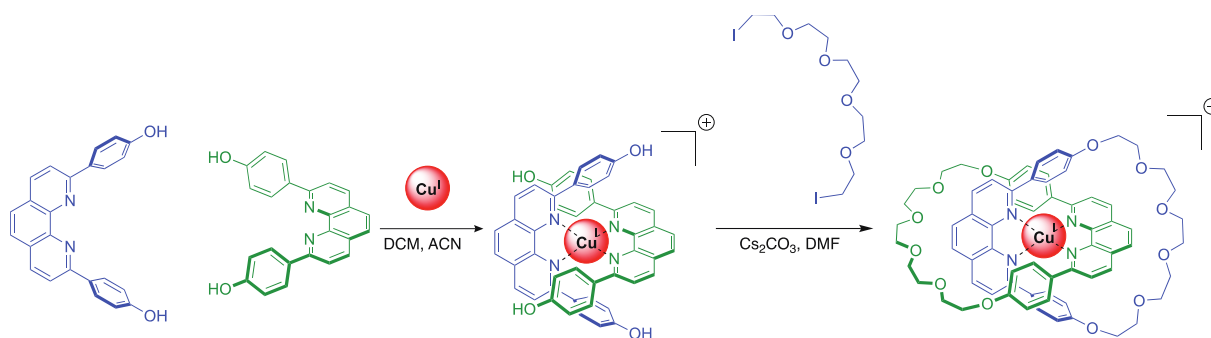


Figure 4 : assemblage de caténane par effet « template »⁹

Cette approche apparaît dès 1983 avec les travaux de Jean-Pierre Sauvage décrivant l'obtention d'un caténane par coordination avec du Cuivre (I), puis macrocyclisation conduisant à l'obtention d'une structure entrelacée.⁹ Alors isolé avec un rendement de 27 %, cette méthode constitue une avancée importante pour la synthèse de caténanes. Par la suite, cette approche sera adaptée à d'autres réactivités et substrats,^{10,11} avec notamment le développement de systèmes « *template* » actifs avec des métaux ayant un rôle à la fois de « *template* » et de catalyseur,^{12,13} mais également pour la formation d'autres assemblages supramoléculaires,¹⁴ parmi lesquels se trouveront les rotaxanes.¹⁵

b. Rotaxanes

Les rotaxanes correspondent à un assemblage entre un axe et un ou plusieurs macrocycles enfilés. Le nombre de macrocycles enfilés est défini dans le nom donné à l'assemblage, nommé [n]rotaxane, avec [n] correspondant au nombre de constituants dans l'objet. Le nombre de macrocycles présents sur l'axe peut dépendre de plusieurs paramètres, tels que le nombre de sites d'interaction que possède l'hôte, ou encore le rapport de taille entre l'axe et le macrocycle. D'autre part, les conditions d'assemblage, les équivalents des espèces, ou encore le temps d'expérience, peuvent également influencer sur la nature de l'assemblage final. Une autre notion importante concernant les rotaxanes relève de la stabilité de l'assemblage, et pour cela il est possible de distinguer deux familles,¹⁶ les *pseudorotaxanes* et les rotaxanes (Figure 5).

L'axe du rotaxane présente généralement des groupements chimiques pouvant avoir une influence, positive ou négative, sur l'enfilage des macrocycles. Lorsqu'ils empêchent le passage du macrocycle par effet de gêne stérique ou électronique, ils constituent alors des points d'arrêt appelés « bouchons ».

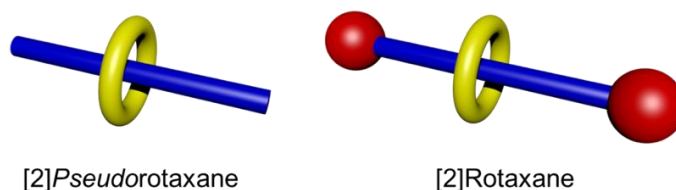


Figure 5 : représentation comparative d'un [2]pseudorotaxane avec un [2]rotaxane

Les premiers rotaxanes datent de la même période que les premiers caténanes,¹⁷ et correspondent à l'enfilage d'un ou de plusieurs macrocycles le long d'un axe, le plus souvent constitué d'une chaîne aliphatique. En prenant en compte les différentes briques impliquées, il est possible de concevoir plusieurs voies d'accès à ces composés (Figure 6).

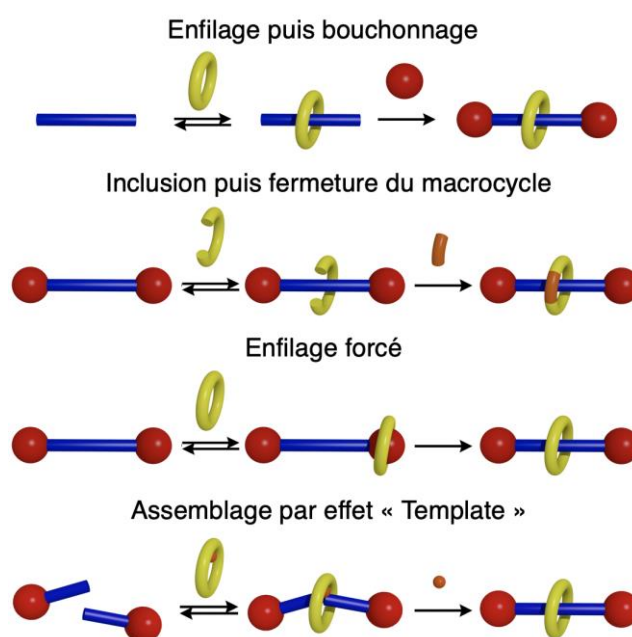


Figure 6 : voies de synthèses de rotaxanes

Une première approche consiste à faire l'enfilage du macrocycle sur l'axe pour former un *pseudorotaxane* intermédiaire, puis de le bloquer par addition de groupements suffisamment encombrants pour jouer le rôle de bouchons. Toujours par enfilage, il est envisageable de forcer le passage du macrocycle sur l'axe, alors que des bouchons de tailles intermédiaires sont déjà présents. Généralement, cette approche doit faire intervenir un processus d'activation, par exemple une modification de température du système, pour passer la barrière d'activation de l'enfilage pour arriver à la structure entrelacée. Une synthèse différente peut impliquer une fermeture du macrocycle après interaction de celui-ci avec l'axe. Il est à noter que cette approche ne sera applicable que pour les macrocycles avec lesquels une fermeture de cycle est possible, à la différence des deux premières, a priori compatibles avec tous types de systèmes.

Cette approche de la synthèse de rotaxanes permet de s'intéresser au choix du macrocycle, et permet de montrer la grande diversité chimique rencontrée avec ces assemblages (Figure 7).

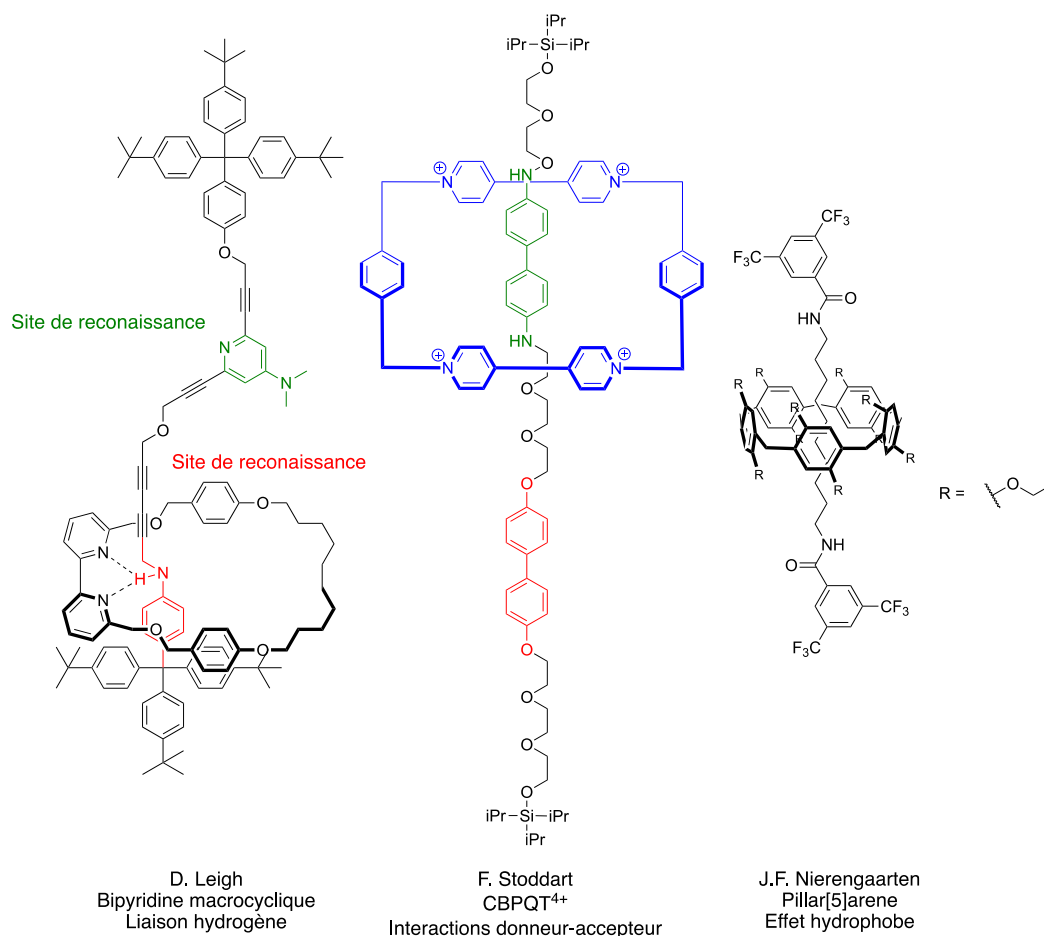


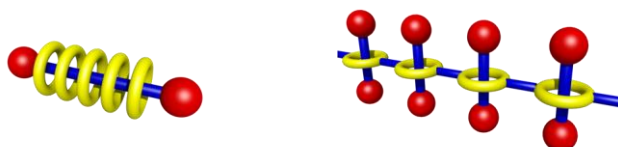
Figure 7 : exemples de rotaxanes formés avec différents macrocycles

Ces macrocycles peuvent former des rotaxanes avec des axes dont la nature va varier, ainsi que le type d'interactions impliquées dans leur construction. Si le cyclobis(paraquat-*p*-phenylene) (CBPQT)⁴⁺ pauvre en électrons va former des assemblages par interaction donneur-accepteur avec des sites riches en électrons, comme dans les nombreux systèmes développés par Stoddart,^{4,18} d'autres donneront lieu à la formation d'assemblages sous certaines conditions, comme par exemple en jouant sur un effet hydrophobe, avec la formation de rotaxanes en milieu aqueux avec des invités hydrophobes.¹⁹ La présentation de ces différents rotaxanes permet d'évoquer la dernière voie de synthèse impliquant l'utilisation de l'effet « *template* ». ²⁰ L'exemple de Leigh présenté ici permet un contrôle de la position du macrocycle entre deux sites de reconnaissance différents le long d'un axe dissymétrique *via* une réaction de Cadiot-Chodkiewicz. En outre, ce rotaxane et celui de Stoddart permettent d'illustrer une des applications des rotaxanes, avec les navettes moléculaires, qui comptent des exemples avec diverses macrocycles²¹ et modes de fonctionnement.

c. Polyrotaxanes

Si les rotaxanes sont des molécules présentant un axe avec un ou plusieurs macrocycles enfilés sur celui-ci, il existe le même type d'assemblage avec des chaînes polymères, correspondant ainsi aux polyrotaxanes. Étant par définition des constructions plus complexes, plusieurs arrangements existent quant à la structure de l'assemblage final²² (Figure 8).

a) Polyrotaxanes à chaînes principales



b) Polyrotaxanes à chaînes latérales

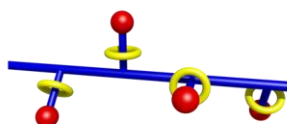


Figure 8 : représentation de polyrotaxanes a) à chaînes principales ; b) à chaînes latérales

Il est possible de regrouper ces différents types de polyrotaxanes en plusieurs catégories. Les polyrotaxanes à chaînes principales sont ceux présentant un axe polymère principal, sur lequel sont enfilés des macrocycles, et qui peut être complété par l'ajout de bouchons afin de garantir la stabilité de l'assemblage. Harada fournit un premier exemple en 1992 de polyrotaxanes de cyclodextrines, avec un poly(éthylène glycol) comme axe principal.²³ Les polyrotaxanes à chaînes principales peuvent être construits en inversant les deux composants de la structure, où le macrocycle fait partie de la chaîne principale et l'axe est enfilé sur celui-ci.

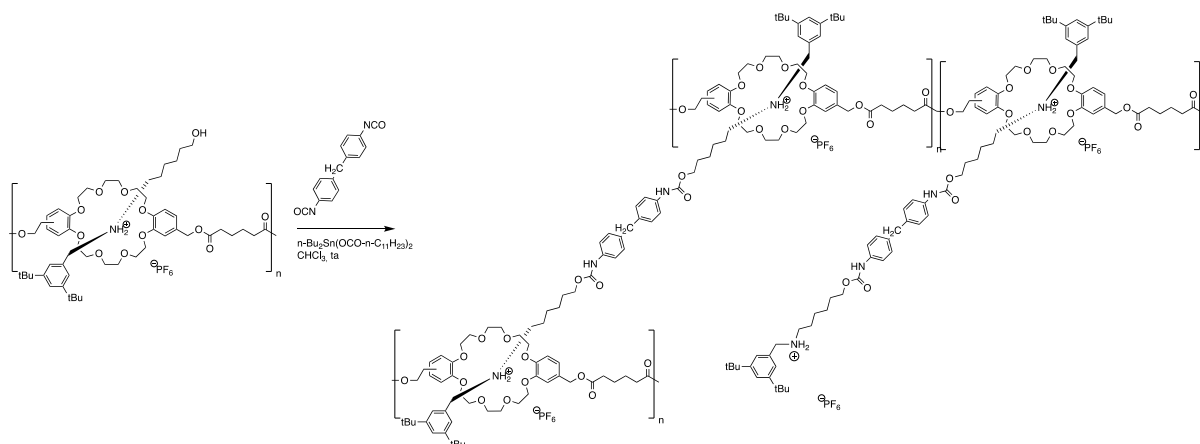


Schéma 2 : polyrotaxane de Takata avec axe polymère de type poly(éther couronne)²²

Takata illustre ceci avec des poly(éther couronne)^{s22} dans lesquels sont enfilés des axes à base de sels d'ammonium (Schéma 2). Ce polyrotaxane est obtenu par enfilage de l'axe *sec*-ammonium avec le poly(éther couronne), suivi du bouchonnage avec des isocyanates aromatiques encombrés. Les effets sur la *pseudorotaxanation* de différents paramètres ont été étudiés, tels que le choix de solvant, de température, le temps de réaction ou encore le ratio initial des deux composants de l'assemblage. L'optimisation de ces paramètres a permis de montrer un contrôle de l'enfilage en fonction des conditions initiales, et également d'arriver à un système pour lequel 99 % d'enfilage est observé pour un ratio éther couronne/ammonium de 1:2, dans le chloroforme deutéré à 25°C. Par la suite, ces polyrotaxanes sont utilisés pour leur capacité à former des gels par modification du bouchon utilisé, en passant à un di-isocyanate permettant de réticuler la structure.

En plus de ces divers exemples, d'autres types de polyrotaxanes peuvent être construits,^{24,25,14} montrant ainsi comment la complexité de ces assemblages est capable de mener à un grand nombre de possibilités d'arrangements supramoléculaires.

3. Molécules entrelacées à base de cyclodextrines

Parmi tous les macrocycles utilisables pour faire des molécules entrelacées, la cyclodextrine constitue un choix très intéressant de par ses caractéristiques physico-chimiques particulières. En effet, les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques constituées d'unités glucopyranosides, formant une cavité en forme de cône tronqué dont la taille varie en fonction du nombre de sous-unités. De cette façon sont distinguées les cyclodextrines α (6 unités), β (7 unités) et γ (8 unités) (Figure 9).

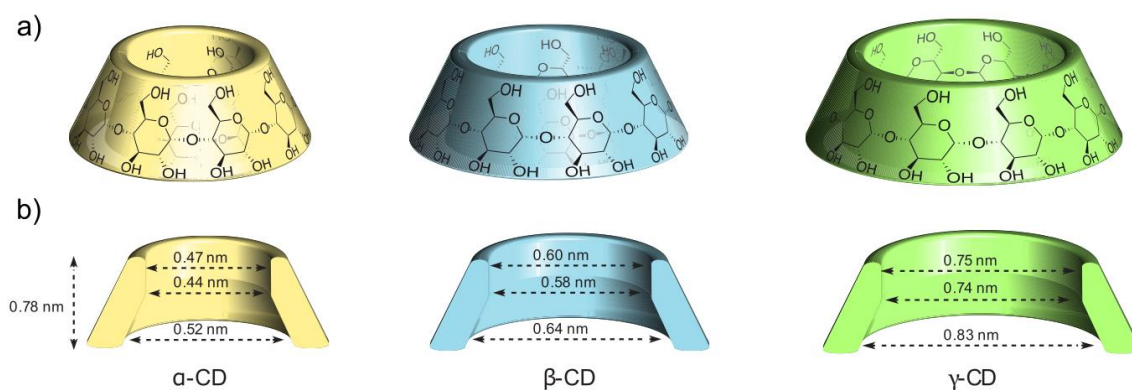


Figure 9 : a) représentation conique des cyclodextrines ; b) vue en coupe de l'intérieur de la cavité

Les cyclodextrines présentent une surface hydrophile avec des groupements hydroxyles, et une cavité qui est quant à elle hydrophobe. Cette dualité fait donc de ces macrocycles naturels

des candidats très attrayants pour la construction de rotaxanes en milieu aqueux. Cet assemblage est favorisé par plusieurs forces motrices, à commencer par l'effet hydrophobe.

a. Rotaxanes de cyclodextrines

Les cyclodextrines, qui constituent un macrocycle de choix pour la formation de rotaxanes et polyrotaxanes, ont fait l'objet de plusieurs revues majeures par Wenz²⁶, ou plus récemment par Harada,²⁷ qui présentent ces assemblages ainsi que leurs diverses applications.

Les rotaxanes de cyclodextrines ont connu beaucoup d'évolutions depuis leur première apparition dans les années 80, avec le groupe de Ogino²⁸ présentant des rotaxanes ayant des bouchons à base de complexes de Cobalt (III) (Schéma 3).

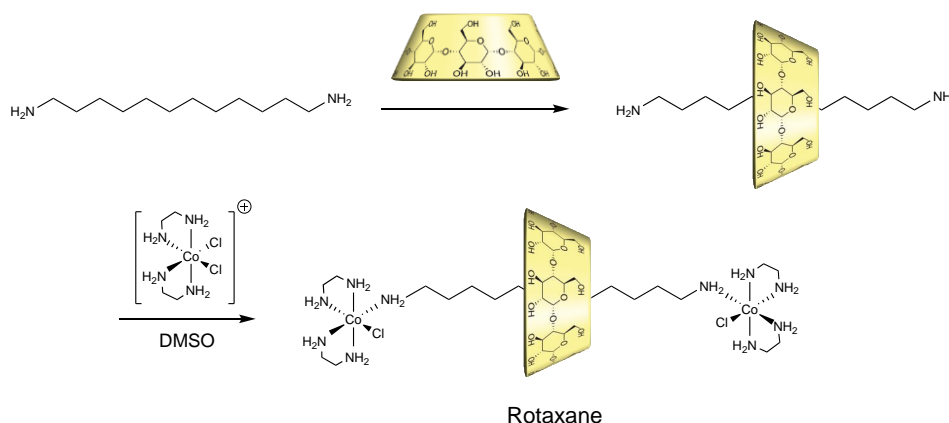
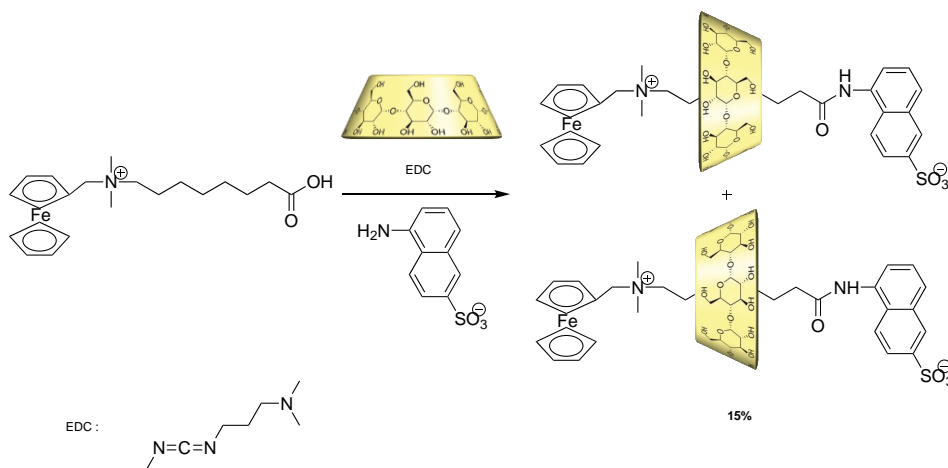


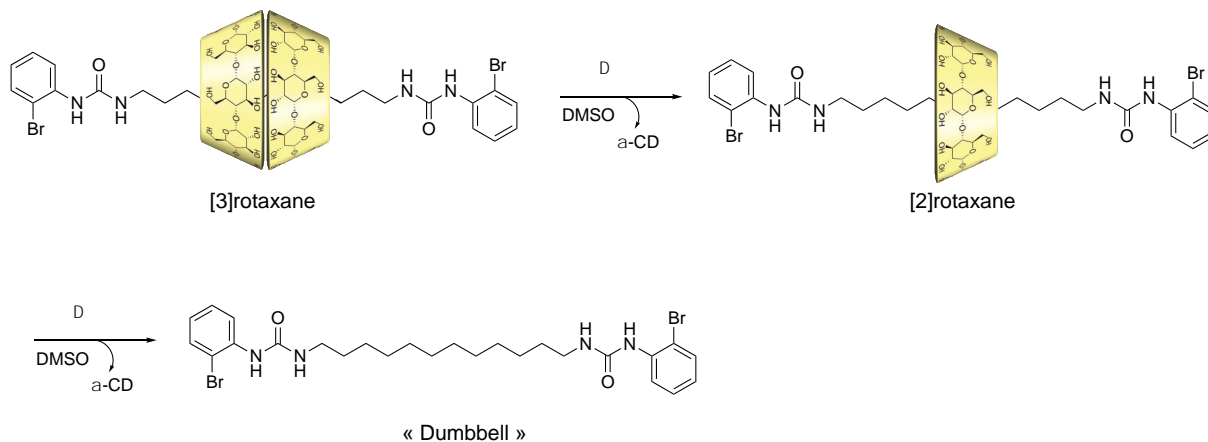
Schéma 3 : synthèse du [2]rotaxane d'Ogino²⁸

L'encombrement généré par les complexes de cobalt, par coordination avec les amines de l'axe permet de conserver la cyclodextrine sur l'axe et d'obtenir ainsi un rotaxane. Des rotaxanes avec des bouchons faisant intervenir un complexe métallique ont également été obtenus avec d'autres cations, comme le Fer (II)²⁹ ou encore le Ruthenium (II).³⁰ Cependant, la plupart des bouchons employés pour obtenir des rotaxanes de cyclodextrines sont des groupements aromatiques suffisamment encombrés.

Une des problématiques lors de la synthèse de rotaxanes est le choix du bouchon, et la méthode utilisée pour ajouter celui-ci qui doivent être compatibles avec un milieu aqueux, utilisé pour favoriser la formation de l'intermédiaire *pseudorotaxane* par effet hydrophobe. Isnin³¹ propose ainsi un couplage peptidique formant un amide entre un dérivé ferrocène porteur d'un acide carboxylique et le 5-amino-2-naphtalenesulfonate de potassium, qui en présence de cyclodextrine, permet l'obtention partielle du rotaxane (Schéma 4).

Schéma 4 : structures de [2]rotaxane de Isnin³¹

Il existe d'autres exemples de bouchons utilisables pour faire des rotaxanes de cyclodextrines, parmi lesquels se trouvent les benzènes substitués, comme par exemple le 2,4,6-trinitrobenzène utilisé à plusieurs reprises.^{32,33,34} La taille des groupements présents sur le cycle aromatique est importante puisqu'elle peut permettre dans certains cas un désenfilage lent de la cyclodextrine, comme l'illustre Takata³⁵ avec un pseudo-bouchon 2-bromophenyl (Schéma 5).

Schéma 5 : Étude de désenfilage de cyclodextrines à partir d'un [3]rotaxane par Takata³⁵

Dans un premier temps la synthèse du rotaxane est réalisée dans des conditions classiques, à savoir l'enfilage dans l'eau de cyclodextrines sur un axe diamine avec des bouchons isocyanates permettant la formation d'urées, le rotaxane étant ensuite isolé avec un bon rendement de 73 %. Un désenfilage thermiquement activé dans le DMSO est par la suite réalisé, conduisant progressivement au désenfilage d'une première cyclodextrine, donnant ainsi un [2]rotaxane, puis l'axe avec bouchons, après le désenfilage de la deuxième, aussi appelé « *dumbbell* ». La cinétique de ce processus a été caractérisée par RMN en suivant l'évolution

du spectre proton au cours du temps, et permet d'accéder aux constantes de vitesses de défilage des [3]rotaxane et [2]rotaxane (Figure 10).

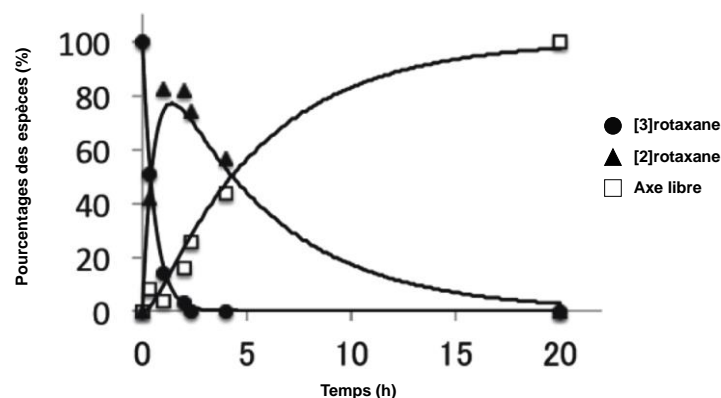


Figure 10 : pourcentages des espèces présentes lors du défilage contrôlé en fonction du temps

Il apparaît que la vitesse de défilage pour le [3]rotaxane est bien supérieure à celle observée pour le [2]rotaxane, pour lequel une vingtaine d'heures sont nécessaires pour observer une disparition presque totale, contre moins de trois heures pour le [3]rotaxane. Ce phénomène est justifié par la stabilité de chaque assemblage, avec la détermination de paramètres thermodynamiques tels que l'enthalpie et l'entropie d'activation. Le [2]rotaxane montre une plus grande stabilité que le [3]rotaxane, potentiellement due à de fortes interactions entre la cyclodextrine restante et les bouchons aromatiques, justifié par RMN avec le spectre NOESY, montrant des corrélations spatiales entre des protons aromatiques et les protons H₃ (orientés vers l'intérieur de la cavité) du macrocycle. Ce type d'études fournit ainsi des informations intéressantes sur le défilage de cyclodextrines, pouvant trouver un intérêt dans le cadre d'études sur des phénomènes de commutation ou encore de dégradation contrôlée.

Les systèmes basés sur les rotaxanes de cyclodextrines ont pu se diversifier et se complexifier pour amener à l'obtention de tout une gamme d'objets supramoléculaires aux propriétés différentes. Dans cette gamme se trouve par exemple les navettes moléculaires comme celle développée par Stoddart³⁶ (Figure 11). Ces rotaxanes ont la particularité d'avoir des propriétés pouvant être modulable par l'intermédiaire d'un stimulus donné qui peut être la température, un changement de pH, une réaction chimique, photochimique ou encore électrochimique. Le cas présenté Figure 11 est un système qui répond à un stimulus redox. Le rotaxane est constitué d'une α -cyclodextrine et d'un axe comportant deux sites de reconnaissance, triazole et tetrathiafulvalène (TTF). La cyclodextrine a une meilleure affinité pour le tetrathiafulvalène neutre. L'oxydation à deux électrons de ce site diminue son affinité et donne lieu à un changement de station de la cyclodextrine vers le triazole. Les cyclodextrines

ont également été utilisés dans d'autres machines moléculaires comme des cliquets moléculaires³⁷ ou encore muscles moléculaires.³⁸

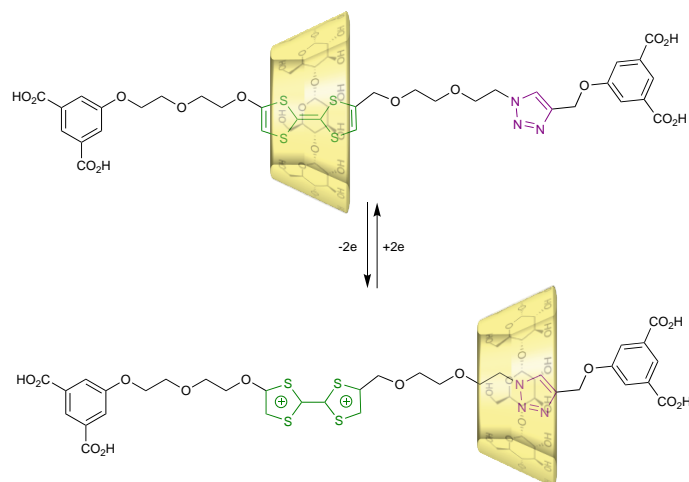


Figure 11 : rotaxane de Stoddart développé comme navette moléculaire³⁶

b. Polyrotaxanes de cyclodextrines

Les polyrotaxanes de cyclodextrines sont nettement plus représentés dans la littérature que les rotaxanes, et peuvent être formés à partir de différents types de polymères.

La première voie de synthèse a été mise au point par Harada, entre des α -CDs et un poly(éthylène glycol) (PEG).^{23,39} Lors de l'ajout du polymère à une solution saturée de cyclodextrines, la formation d'un précipité a été observée et caractérisée par RMN et par diffraction rayon X sur poudre, mettant en évidence l'enfilage du macrocycle sur le polymère avec un rapport de deux motifs éthylène glycol pour une cyclodextrine. Par la suite, une version PEG-bisamine a été utilisée afin de pouvoir former le polyrotaxane par bouchonnage avec le 2,4-dinitrobenzène (Schéma 6).

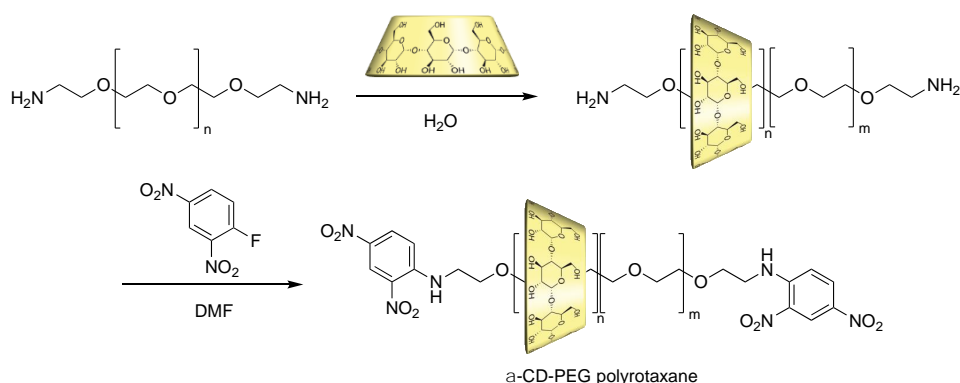


Schéma 6 : synthèse de Harada de polyrotaxane composé d' α -CDs et de PEG-bisamine²³

Le mélange est fait initialement dans l'eau, puis l'assemblage est précipité dans l'éther diéthylique. Des lavages successifs à l'éther et au DMF permettent d'éliminer d'abord l'excès

de bouchons libres, puis la cyclodextrine libre, et le polymère. Une deuxième purification est faite par dissolution du polyrotaxane dans le DMSO en milieu basique, permettant de solubiliser l'assemblage par ionisation des groupements hydroxyles de la cyclodextrine ($pK_a = 12$), puis lavage à l'eau. Les voies de synthèse principalement rencontrées sont par bouchonnage d'un *pseudopolyrotaxane*, ou encore par polymérisation de *pseudorotaxane*, et doivent répondre à certains critères importants.

Tout d'abord, le choix du polymère et notamment la nature de la chaîne, qui doit pouvoir s'insérer dans la cyclodextrine par effet hydrophobe. D'autres aspects concernent le bouchonnage en lui-même, le polymère doit présenter à ses extrémités des fonctions chimiques réactives permettant cette réaction, tout en étant compatible avec les fonctions hydroxyles que portent les cyclodextrines enfilées. Le bouchon doit quant à lui avoir des caractéristiques stériques ou électrostatiques pour bloquer totalement le passage du macrocycle. Une des possibilités très souvent rencontrée est la fonction amine, qui a des réactivités intéressantes dans les solvants imposés, et dont la réactivité nucléophile est supérieure à celle des fonctions hydroxyles libres des cyclodextrines, et donc compatible avec leur présence dans le milieu, enfilées ou non (Schéma 7).

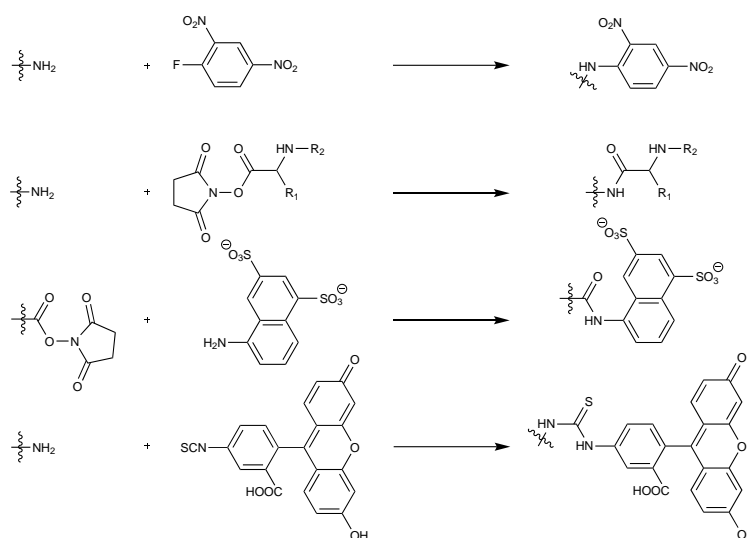


Schéma 7 : exemples de bouchons à partir de fonction amine

Parmi les réactions compatibles se trouvent notamment les couplages de type peptidique avec des acides carboxyliques et autres dérivés, conduisant à la formation d'amides^{40,41} ou encore de thiourées.⁴² Une S_NAr avec des cycles aromatiques halogénés⁴³ est également possible, permettant l'introduction de bouchons aromatiques diversement fonctionnalisés.

Deux architectures de polyrotaxanes sont ainsi principalement rencontrées avec les cyclodextrines, à savoir les polyrotaxanes à chaîne principale, et ceux à chaînes latérales.²⁷ Il existe de nombreuses synthèses pour ces deux architectures pouvant être employées avec des

briques élémentaires de natures différentes. Les polyrotaxanes à chaîne principale peuvent être illustrés avec un exemple de Takata⁴⁴ (Schéma 8).

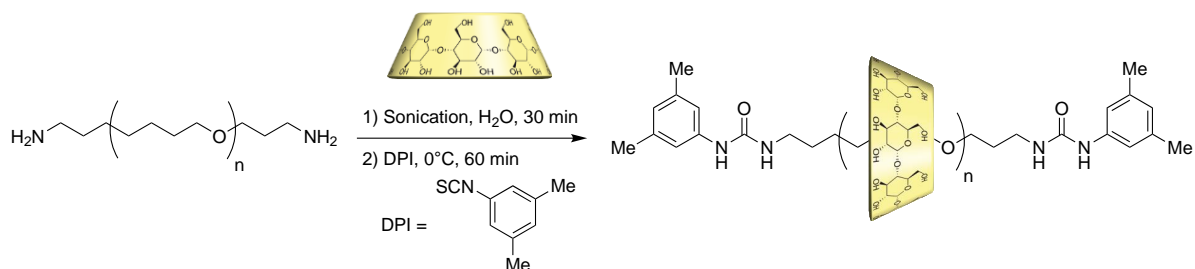


Schéma 8 : synthèse de polyrotaxane de cyclodextrines obtenues par enfilage⁴⁴

Cette synthèse implique l'utilisation d'un axe poly(tétrahydrofurane), formé par bouchonnage d'un *pseudopolyrotaxane*. L'étape de bouchonnage nécessite généralement un changement de conditions réactionnelles comme par exemple un changement de pH, l'ajout de catalyseur ou encore d'un copolymère. Dans le cas présenté, la synthèse est réalisée en « *one pot* » avec le bouchonnage des amines terminales sur l'axe, par ajout de 3,5-diméthylphénylisocyanate comme bouchon. Le polyrotaxane finalement isolé présente un taux de couverture intéressant d'environ 90 %, déterminé par intégration RMN ¹H avec les signaux caractéristiques de l'axe et des cyclodextrines enfilées. Cet exemple illustre l'efficacité de cette voie de synthèse avec une méthode « *one pot* » par rapport aux autres synthèses précédemment décrites. Parmi les précurseurs des polyrotaxanes de cyclodextrines, nous pouvons également citer les travaux de Wenz,⁴⁵ qui dès 1992 a décrit un assemblage avec un axe poly(amine) pour former un *polyseudorotaxane* (Figure 12).

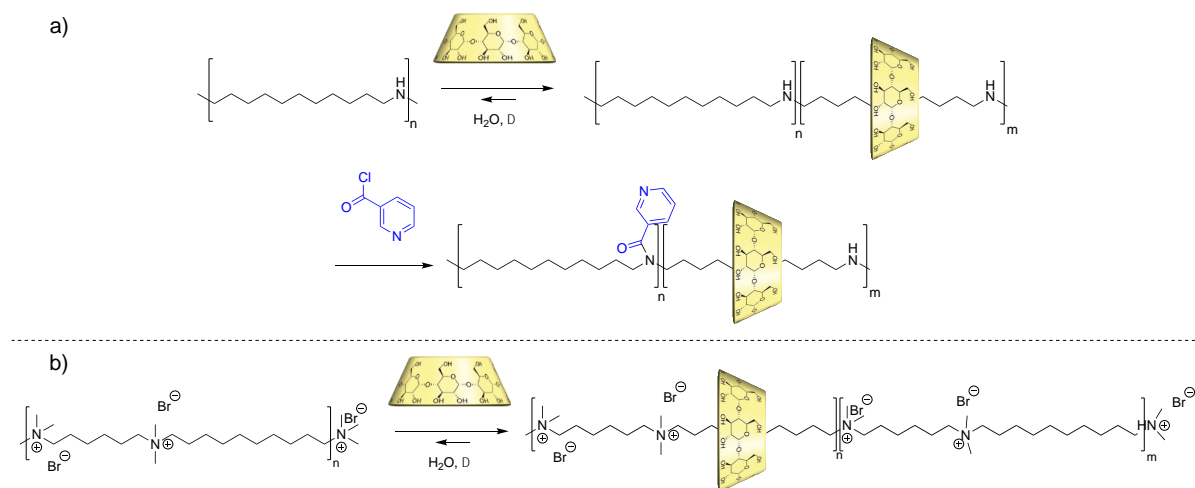


Figure 12 : a) polyrotaxane de Wenz à partir d'un axe poly(amine) ; b) polypseudorotaxane de Wenz à partir d'un axe poly(ammonium)

En constatant un désenfilage partiel des macrocycles, le système est ensuite modifié pour passer à un véritable polyrotaxane, par bouchonnage des fonctions amines de la chaîne avec un groupement encombrant. Par la suite, l'utilisation d'un axe poly(ammonium perméthylé), avec tout le long de la chaîne des fonctions ammoniums diméthyles jouant le rôle de *pseudobouchons*, permet de faire à chaud l'enfilage des cyclodextrines, et à température ambiante d'assurer la stabilité de l'assemblage. Un tel système permet de maintenir un taux d'enfilage élevé sans avoir recours à l'utilisation de bouchons, et d'avoir accès à un contrôle, ici thermique, de la nature de l'assemblage formé. Avec la présence des fonctions ammoniums, l'enfilage peut en revanche s'avérer plus difficile par rapport à un axe poly(amine).

Finalement, une méthode alternative ne partant pas d'un polymère déjà formé est envisageable. Elle implique la formation d'un complexe d'inclusion (*pseudorotaxane*), puis sa polymérisation pour donner le polyrotaxane. L'utilisation d'un monomère stable dans l'eau et suffisamment réactif est nécessaire ce qui limite grandement les possibilités. L'utilisation de thiophène⁴⁶ qui peut être polymérisé dans l'eau en présence de complexe de fer (III) fournit un des rares exemples, réalisé autant avec l' α que la β cyclodextrine (Schéma 9).

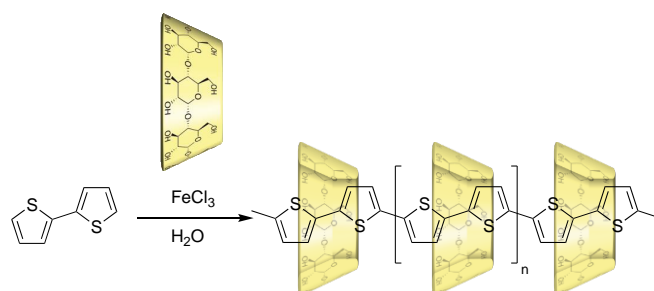


Schéma 9 : exemple de synthèse de polyrotaxane avec l' α -cyclodextrine par inclusion puis polymérisation⁴⁶

La formation de complexe d'inclusion entre des dérivés thiophènes et des cyclodextrines a tout d'abord été démontrée et caractérisée par diffraction RX (Figure 13). Ce type d'analyse permet une validation de structure et apporte généralement des informations complémentaires sur la conformation de l'assemblage. Dans cet exemple, les structures RX permettent de mettre en évidence différents complexes, en fonction des constituants. Un complexe 2:3 est par exemple obtenu pour l'association [2 β CD:3T] qui en conditions de polymérisation en présence de FeCl₃ forme un *pseudopolyrotaxane* qui est ensuite caractérisé par diverses méthodes telles que la RMN ¹H, ¹³C CP/MAS ou encore par spectroscopie de masse MALDI-TOF fournissant des informations sur la taille des polymères notamment.

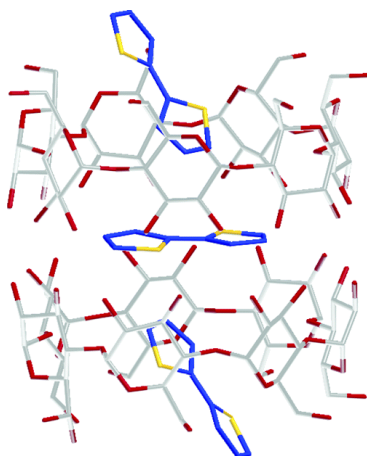


Figure 13 : structure cristallographique du complexe d'inclusion β -CD/bithiophène. Pour la β -CD, les carbones et oxygènes sont respectivement en gris et rouge. Pour le bithiophène les carbones et les sulfures sont respectivement en bleu et en jaune⁴⁶

Ceux-ci sont ainsi estimés avec des masses entre 3000 et 7000 Da, correspondant à des polymères de tailles modestes mais qui restent intéressantes pour d'une part une polymérisation en milieu aqueux, et d'autre part pour une polymérisation de dérivés thiophènes qui habituellement ne polymérisent pas dans de telles conditions. Cet exemple permet donc d'illustrer la synthèse de polyrotaxanes de cyclodextrines par la méthode de polymérisation de complexes d'inclusions monomériques, mais il existe d'autres possibilités en termes de réactivité chimique pour suivre cette même voie de synthèse. Il est possible de citer l'approche proposée par l'équipe de Wenz⁴⁷ qui exploite la chimie radicalaire et des complexes d'inclusions avec l'isoprène, pour former des polyrotaxanes par cette méthode d'inclusion puis polymérisation.

II. Imagerie biomédicale : principes et techniques d'analyses

Après avoir défini la chimie supramoléculaire, premier pilier du projet soutenant cette thèse, et plus précisément les rotaxanes et polyrotaxanes de cyclodextrines, il est utile de présenter le domaine d'application visé, à savoir l'imagerie et plus précisément celle appliquée au suivi et au diagnostic médical. L'imagerie biomédicale est un outil d'analyse et de diagnostic permettant la mise en évidence, par le biais de procédés physico-chimiques, de toute une gamme de composés, processus et activités biologiques. Des technologies diverses⁴⁸ sont apparues et se sont développées au cours du temps, pour être toujours plus avancées et efficaces, comme résumé sur la Figure 14.

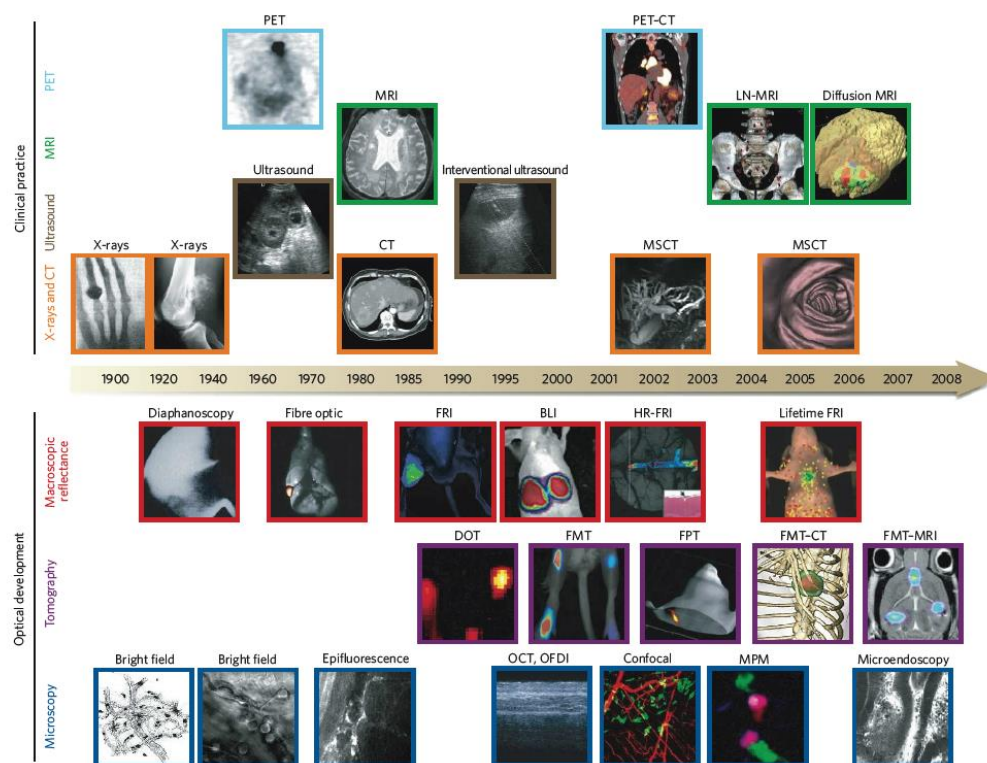


Figure 14 : historique des techniques d'imagerie, entre 1900 et 2008⁴⁸

Toutes ces techniques d'imagerie peuvent être classifiées par instrumentation, et constituent ainsi plusieurs groupes. Au-dessus de la chronologie sont regroupées toutes les méthodes employées en routine au niveau clinique. Parmi ces méthodes, se retrouvent les rayons X, première technique mise au point à la fin du XIX^{ème} siècle, pour l'étude des os. Les tissus mous tels que les muscles et les vaisseaux sanguins, sont eux observables par ultrasons, Imagerie par Résonance Magnétique et par Tomographie. Cette dernière est également utilisée pour l'obtention d'images d'organes en 3D. Sous la chronologie sont regroupées les méthodes optiques utilisées pour des études de processus génétiques, moléculaires et cellulaires en conditions *in vivo*.

Ces techniques présentent chacune des avantages et limitations et apportent différents types d'informations complémentaires. Dans le cadre d'imagerie moléculaire, l'imagerie optique et l'IRM sont deux méthodes de choix, grâce à une bonne sensibilité de la première et une bonne résolution spatiale et pénétration dans les tissus de la seconde.

Afin de comprendre l'intérêt d'une approche bimodale combinant ces deux méthodes, il est intéressant de les présenter plus en détails dans la suite de cette introduction.

1. Imagerie par Résonance Magnétique

La méthode d'imagerie par résonance magnétique s'est révélée être une approche très utilisée en imagerie biomédicale particulièrement pour la réalisation de diagnostic *via* une technologie non invasive dans laquelle les patients ne sont pas exposés à des rayonnements ionisants, en comparaison avec d'autres méthodes exposées précédemment. Elle présente une très bonne résolution mais une faible sensibilité, ce qui nécessite l'injection d'agents de contraste.

a. Principe général

L'IRM se base sur le phénomène de Résonance Magnétique Nucléaire, découvert en 1946 par Bloch et Purcell, récompensés par un Prix Nobel de Physique en 1952. Suite à cela la technologie a été largement développée pour amener aux premières utilisations cliniques en 1980. En présence d'un champ magnétique externe, le spin nucléaire des noyaux atomiques subit une levée de dégénérescence par effet Zeeman (Figure 15).

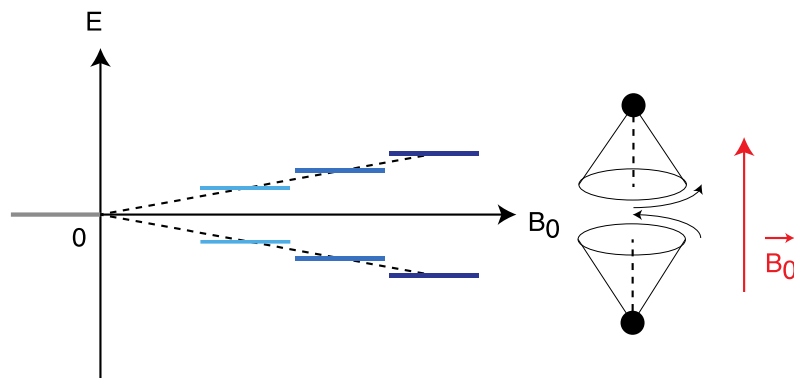


Figure 15 : mouvement de précession d'un noyau autour d'un champ magnétique B_0

Deux niveaux d'énergies seront alors accessibles, un de basse énergie et un de haute énergie. Les moments magnétiques nucléaires vont alors être en précession autour du champ magnétique B_0 et générer un moment angulaire. La vitesse de rotation, proportionnelle à l'intensité de B_0 , est définie par la fréquence de Larmor de chaque noyau. L'application d'un deuxième champ magnétique, perpendiculaire à B_0 , le plus souvent sous forme de courtes impulsions, conduit à l'excitation des noyaux et une bascule de l'aimantation. Des transitions seront ainsi observées entre les deux niveaux lors des processus de relaxation et de retour à l'équilibre. Ces transitions pourront être détectées et amplifiées pour conduire à l'obtention d'un FID (« *Free Induction Decay* ») qui sera ensuite retraité mathématiquement par

transformée de Fourier pour donner lieu soit à une image (IRM), soit un spectre de fréquence (RMN), fournissant ainsi diverses informations sur le système étudié.

En IRM, l'étude porte sur la détection de la résonance des protons des molécules d'eau présentes dans les tissus. La réalisation d'une IRM est faite avec des aimants supraconducteurs avec des champs magnétiques permanents, entre 0.5 et 3 Tesla. L'utilisation d'un champ élevé permet certaines améliorations des images avec de meilleures résolutions spatiales et temporelles. Un gradient de champ magnétique est appliqué en trois dimensions, permettant l'excitation des protons des molécules d'eau à différentes fréquences de résonance, ce qui permet la reconstitution d'une image en 2 ou même en 3 dimensions. Un contraste sera observé en fonction des proportions localisées de molécules d'eau, et de leur vitesse de relaxation, qui lui dépend des propriétés magnétiques des différents tissus présent dans l'organisme. Cependant, la limitation rencontrée par l'IRM concerne sa sensibilité qui est assez faible, et nécessite d'être améliorée par l'utilisation d'agents de contraste.

b. Les agents de contraste

Les agents de contraste sont des molécules permettant l'amélioration de l'image obtenue par IRM.⁴⁹ Cette amélioration provient de l'augmentation de la vitesse de relaxation des protons de molécules d'eau en interaction avec l'agent de contraste. La vitesse de relaxation globale des protons de l'eau se définit comme étant la somme de deux composantes, à savoir une composante diamagnétique qui correspond à la vitesse de relaxation des protons en absence d'agents de contraste, et une composante paramagnétique qui correspond à l'effet apporté sur la vitesse de relaxation par l'ajout d'un agent de contraste paramagnétique. Ainsi, cette deuxième composante sera dépendante de la concentration en agent de contraste, et plus précisément la concentration du cation utilisé (Équation 1).

$$\frac{1}{T_i} = \frac{1}{T_{i,d}} + \frac{1}{T_{i,p}} \quad (i = 1 ; 2)$$

$$\text{avec } \frac{1}{T_{i,p}} = r_i[M] \quad (i = 1 ; 2)$$

Équation 1 : vitesse de relaxation globale d'un proton

Ces agents peuvent être paramagnétiques, superparamagnétiques, ou bien ferromagnétiques et seront caractérisés par leur capacité à modifier la relaxivité molaire r_i qui est inversement proportionnelle au temps de relaxation T_i (Équation 2).

$$R_i = \frac{1}{T_i} \quad (i = 1 ; 2)$$

Équation 2 : relaxivité r_i d'un proton

La relaxivité molaire caractérise ainsi la capacité d'un composé paramagnétique à augmenter, ou diminuer dans le cas de contraste négatif, la vitesse de relaxation des protons de l'eau, et donc l'efficacité de l'agent de contraste. Tous ces agents vont avoir un effet sur le temps de relaxation longitudinal (T_1) mais aussi transversal (T_2), cependant l'influence sur chaque composante varie en fonction du type d'agent de contraste utilisé. On peut distinguer les agents de type T_1 (à contraste positif) et ceux de type T_2 (à contraste négatif) suivant leur influence principale sur la relaxation.

Les agents de type T_2 génèrent un contraste négatif par diminution du temps de relaxation transversal, et correspondent par exemple à des nanoparticules d'oxydes de fer combinés à des oligomères tels que des PEG, siloxane ou encore oligosaccharides.⁵⁰

Les agents de type T_1 sont des complexes paramagnétiques comme par exemple le Gadolinium (III) ou le Manganèse (II), avec des spins respectifs de 7/2 et 5/2, qui augmentent la relaxivité r_1 et produisent ainsi des images plus brillantes. Les protons des molécules d'eau qui vont interagir avec l'agent de contraste auront ainsi une vitesse de relaxation modifiée.⁵¹ En fonction de la nature de ces interactions, la variation sera différente. La vitesse de relaxation paramagnétique peut donc à son tour être décomposée en deux composantes : sphère interne et sphère externe (Équation 3).

$$\left(\frac{1}{T_{i,p}}\right) = \left(\frac{1}{T_{i,p}}\right)^{IS} + \left(\frac{1}{T_{i,p}}\right)^{OS} \quad (i = 1 ; 2)$$

IS : "Inner sphere" pour sphère interne

OS : "Outer sphere" pour sphère externe

Équation 3 : vitesse de relaxation paramagnétique en fonction des sphères internes et externes

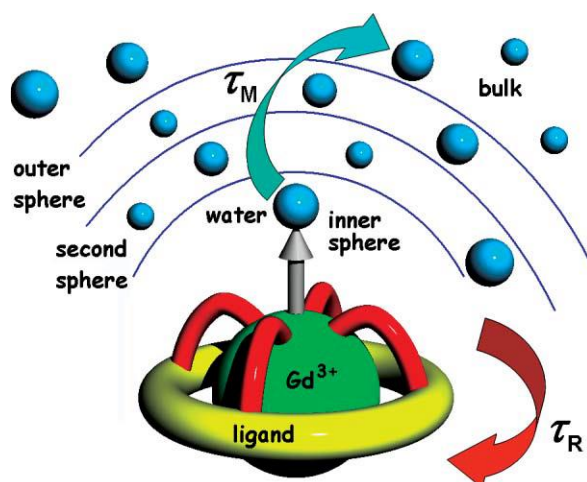


Figure 16 : représentation des interactions de la sphère interne et externe d'un complexe de Gadolinium dans l'eau⁵¹

La première contribution provient des interactions ayant lieu dans la sphère de coordination du centre métallique et correspond donc aux interactions dipôles-dipôles entre le spin nucléaire des protons et le spin électronique du métal, transmises ensuite au milieu par échange chimique des protons présents dans la sphère interne vers la seconde sphère de solvation (Figure 16). Ces molécules d'eau autour du complexe vont également interagir avec l'agent de contraste et vont en subir l'effet paramagnétique, et sont définies comme faisant partie de la sphère externe. Finalement, d'autres molécules d'eau peuvent interagir par liaisons hydrogènes avec le ligand du complexe métallique, par exemple avec des groupements carboxylates ou phosphonates, et vont impacter la relaxivité globale observée en étant intégrées à la relaxivité de la sphère externe. La contribution de chaque sphère dépend de la structure de l'agent de contraste, et peut ainsi être équivalente dans le cas de complexe de Gadolinium (III) monomérique. Dans le cas d'agents macromoléculaires la relaxivité liée à la sphère interne est beaucoup plus importante et peut représenter jusqu'à 90 % de la relaxivité paramagnétique. Cependant le développement d'agent IRM avec haute relaxivité implique l'augmentation de la contribution de la sphère interne dont les paramètres sont plus facilement influençables que ceux de la sphère externe.

$$r_1^{IS} = \frac{q \cdot P_m}{(T_{1m} + \tau_m)}$$

P_m : fraction molaire de molécules d'eau liées au Gadolinium (III)

q : nombre de molécules coordonnées simultanément au Gadolinium (III)

T_{1m} : temps de relaxation longitudinale des molécules d'eau liées à l'agent de contraste

τ_m : temps de résidence moyen des molécules d'eau dans la sphère interne

Équation 4 : expression de la relaxivité r_1 de la sphère interne d'un l'agent de contraste

La relaxivité longitudinale r_1 est proportionnelle au nombre de molécules coordonnées au métal q , paramètre qui va dépendre de la structure de l'agent de contraste (Équation 4).

La très forte complexation du cation métallique, par exemple du Gadolinium (III), par un ligand est nécessaire pour éviter la circulation dans l'organisme de ces ions métalliques libres toxiques (Figure 17).

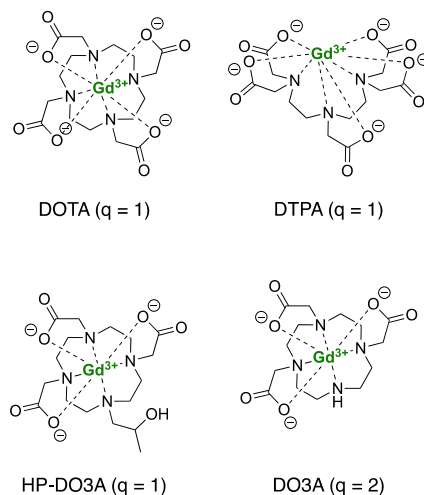


Figure 17 : structures de plusieurs ligands classiquement utilisés pour former des complexes de Gadolinium pour l'imagerie

Si des complexes de Gadolinium (III) avec des ligands tels que le DOTA, le HP-DO3A ou encore le DTPA sont couramment utilisés, ils posent une limitation pour influencer le paramètre q . En effet, avec une coordinance de 9 pour le Gadolinium (III), ces ligands ne permettent la coordination que d'une seule molécule d'eau. Augmenter le nombre de molécules d'eau coordonnées au métal permet d'augmenter la relaxivité r_1 , mais tend également à diminuer la stabilité thermodynamique du complexe métallique et augmenter la labilité du Gadolinium (III). Il est tout de même possible de trouver un compromis avec des ligands tels que le DO3A, qui forme un complexe de Gadolinium (III) stable avec une valeur de q égale à 2 et permet ainsi une augmentation significative de la relaxivité. D'après l'équation 4, si la relaxivité r_1 augmente avec q , elle est également inversement proportionnelle à la somme de T_{1m} et τ_m .

τ_m décrit le temps de résidence moyen des molécules d'eau dans la sphère de coordination du métal. Avec un temps réduit, un nombre plus grand de molécules d'eau seront affectés par l'agent de contraste.

T_{1m} représente le temps de relaxation longitudinal des molécules d'eau liées à l'agent de contraste, et dépend de l'interaction dipôle-dipôle issue de la réorientation du vecteur spin nucléaire-spin électronique, et des mécanismes de couplage scalaire dont l'effet est bien moins important, et peut donc être négligé dans l'équation décrivant T_{1m} (Équation 5).

$$\frac{1}{T_{1m}} = \frac{1}{T_i^{DD}} + \frac{1}{T_i^{SC}} \quad (i = 1 ; 2)$$

T_i^{DD} : temps de relaxation dépendant d'interactions dipôle-dipôle

T_i^{SC} : temps de relaxation dépendant de mécanisme de couplage scalaire

$$\text{avec } \frac{1}{T_i^{DD}} = \frac{2}{15} \cdot \frac{\gamma_H^2 g^2 \mu_B^2 S(S+1)}{(r_{Gd-H})^6} \cdot \left[3 \frac{\tau_{c1}}{(1 + \omega_H^2 \tau_{c1}^2)} + 7 \frac{\tau_{c2}}{(1 + \omega_S^2 \tau_{c2}^2)} \right]$$

γ_H : rapport gyromagnétique nucléaire du proton (42,57 MHz. T⁻¹)

g : facteur de Landé de l'électron libre

μ_B : magnéton de Bohr

S : spin électronique de l'agent de contraste ($S = 7/2$ pour Gd (III))

r_{Gd-H} : distance entre le spin électronique du Gd et le proton

ω_H : fréquence de Larmor du proton

ω_S : fréquence de Larmor de l'électron

τ_{ci} ($i = 1 ; 2$) temps de corrélation du procédé de relaxation

$$\text{avec } \frac{1}{\tau_{ci}} = \frac{1}{\tau_m} + \frac{1}{\tau_R} + \frac{1}{T_{ie}} \quad (i = 1 ; 2)$$

τ_R : temps de corrélation rotationnelle

T_{ie} : temps de relaxation électronique de l'ion métallique

Équation 5 : expressions du temps de relaxation longitudinale

Ce temps de relaxation est dépendant de paramètres tels que les fréquences de Larmor du proton ω_H et de l'électron ω_S (avec $\omega_S = 658 \cdot \omega_H$), la distance Gd-H r_{GdH} , ainsi que les temps de corrélation τ_{c1} et τ_{c2} . Ces temps de corrélation sont contrôlés par le terme le plus petit entre le temps de relaxation rotationnelle, électronique, et d'échange chimique. Pour des champs vers 1.5 Tesla, les plus couramment employés en imagerie clinique, le temps de corrélation rotationnelle τ_R est souvent prédominant. Ce paramètre est difficile à mesurer par relaxométrie, car de nombreux autres paramètres entrent en jeu dans la mesure de la relaxivité, il est donc préférable de l'estimer *via* l'équation de Debye-Stokes qui s'applique à des molécules sphériques (*Équation 6*).

$$\tau_R = \frac{4\pi\eta r_{eff}^3}{3k_B T}$$

η : viscosité microscopique du milieu (Pa. s)

r_{eff} : rayon hydrodynamique (m)

k_B : constante de Boltzmann (= 1,38.10⁻²³ J.K⁻¹)

T : température (K)

Équation 6 : équation de Debye-Stokes pour des molécules sphériques

La relaxivité associée à un agent de contraste dépend donc en partie de la taille de celui-ci. De cette manière, des agents de contraste de faibles et grandes masses moléculaires ont été

développés et étudiés. Pour étudier la relaxivité de ces agents, il est commun de réaliser un profil de relaxométrie, c'est-à-dire la mesure de relaxivité dans l'eau, en fonction de la fréquence de Larmor du proton avec une échelle logarithmique. Ce profil est également appelé profil NMRD pour « *Nuclear Magnetic Resonance Dispersion* ».

Si les mesures de relaxivité de routine sont réalisées à hauts champs (>1 MHz), il est souvent constaté des effets sur la relaxivité pour des valeurs plus faibles (Figure 18).

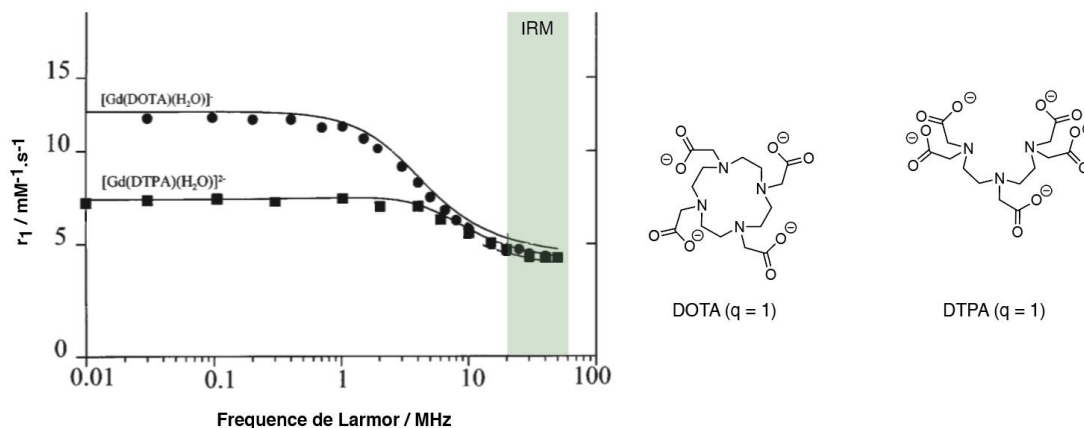


Figure 18 : Profil NMRD de différents complexes de Gadolinium (III)⁴⁹

Nous avons vu que la relaxivité globale dépend d'un grand nombre de paramètres physico-chimiques dont la détermination précise n'est pas toujours évidente. L'étude de profils NMRD peut permettre d'identifier les influences majeures, par la modification de la fréquence de Larmor. À titre d'exemple, la relaxation électronique gouverne la relaxivité de la sphère interne pour de faibles champs, alors qu'à hauts champs, la composante issue de la rotation est plus prédominante. La réalisation de profils NMRD à des températures variables est une approche complémentaire pour déterminer les différents paramètres du système, surtout pour de hauts champs magnétiques. Le temps de corrélation rotationnelle et la vitesse d'échange avec l'eau sont deux paramètres dépendant de la température, où τ_R va diminuer avec une augmentation de la température, tandis que la vitesse d'échange va augmenter avec la température. Cette différence servira donc à déterminer, de ces deux paramètres, lequel porte une plus grande influence sur la relaxivité globale.

La majeure partie des agents d'IRM sont de faibles masses atomiques (500-1000 g.mol⁻¹) et a donc une rapide distribution intravasculaire, de quelques minutes, et une élimination avec un temps de demi-vie de l'ordre de 90 minutes. Ce faible temps de résidence peut résulter en des images peu intenses et ne permet pas un suivi long. Le développement d'agents IRM de plus grande taille est intéressant par leur temps de circulation nettement supérieur. De plus, la NMRD met en évidence des profils différents en fonction de la taille des agents de contraste (Figure 19).

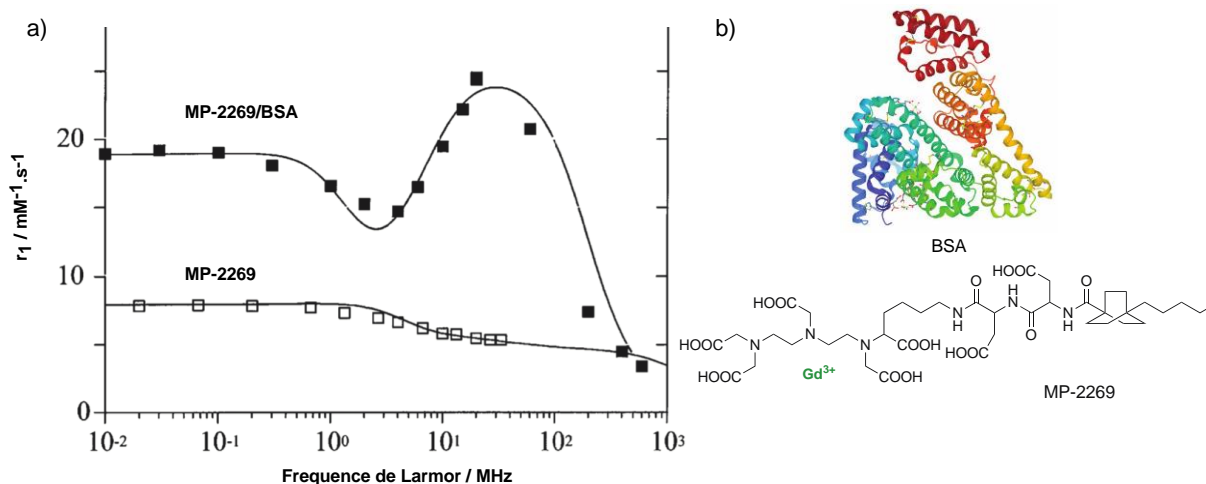


Figure 19 : a) Profil NMRD de l'agent de contraste MP-2269 seul (carrés blancs) ; b) MP-2269 complexé à la BSA (carrés noirs)

Avec des agents de petites masses atomiques, le phénomène de rotation rapide va être limitant, surtout pour des fréquences au-dessus de 10 MHz, tandis que pour des agents de contraste macromoléculaires avec des rotations suffisamment lentes, un maximum apparaît entre 20 et 60 MHz dans le profil NMRD. Dans l'exemple présenté, la protéine BSA est liée de manière non covalente au complexe de Gadolinium (III), augmentant la relaxivité r_1 à plus de $20 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ entre 10 et 100 MHz.⁵² La liaison entre l'agent et la macromolécule peut également être covalente avec des macromolécules telles que des polymères, dendrimères ou encore des protéines. La conjugaison avec des espèces chimiques de tailles plus modérées comme la β -cyclodextrine comportant plusieurs complexes de Gadolinium (III)⁵³ représentée schéma 10 présente également un intérêt.

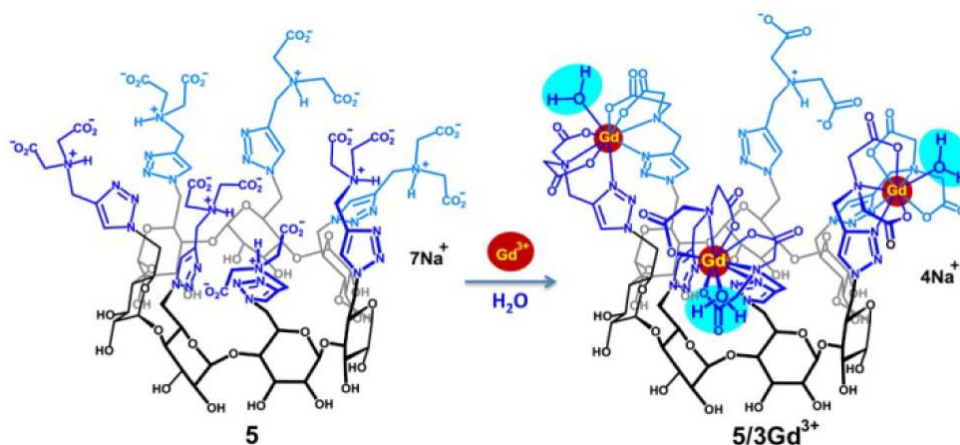

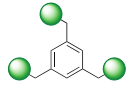
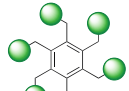
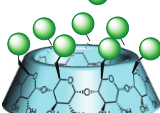


Schéma 10 : synthèse d'une β -cyclodextrine fonctionnalisée par plusieurs complexes de Gadolinium pour l'IRM⁵³

Les auteurs utilisent une cyclodextrine fonctionnalisée comme ligand du Gadolinium (III) et ont comparé la relaxivité du complexe obtenu avec des complexes commerciaux. Dans cet exemple, la fonctionnalisation par des groupements iminodiacétates liés au col primaire *via* des triazoles apporte une possible interaction de grand intérêt. Le triazole apporte une coordination de plus sur le métal, laissant ainsi une coordination possible avec une seule molécule d'eau, tout en augmentant l'affinité et la stabilité globale du complexe formé. Ce complexe est étudié à la fois par spectrométrie de masse et par RMN *via* un complexe équivalent d'Yttrium (III), et montre la complexation de trois Gadolinium sur la cyclodextrine, laissant ainsi un bras fonctionnalisé non utilisé. La relaxométrie effectuée à un champ de 20 MHz (0.47 Tesla) à 37°C, indique pour les complexes de β -CD:Gd 1:1/1:2/1:3 des valeurs de relaxivité r_1 respectives de 12.67/27.69 et 42.14 $\text{mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. En comparaison, les complexes standards comme le Gd-DOTA et Gd-DTPA possèdent des valeurs entre 3.5 et 4.3 $\text{mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. Même si la stabilité du complexe 1:3 est moins élevée que celle du (DOTA : Gd) 1:1, ces résultats de relaxométrie sont attractifs et tendent à montrer l'intérêt de ce type d'architecture par rapport aux complexes de Gadolinium plus petits.

Parmi les exemples d'agents de contraste à base de cyclodextrine, nous pouvons également citer les travaux de Meade⁵⁴ qui a fonctionnalisé tout le col primaire par des complexes de Gadolinium *via* une réaction de chimie « click ». Avec la β -CD une architecture avec 7 Gadolinium (III) présentant une augmentation significative de la relaxivité r_1 (85.4 $\text{mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ pour un champ de 60 MHz à 37°C) est ainsi obtenue (Figure 20).

Composés	Masse molaire (g/mol)	r_1 Gd ionique ($\text{mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)	Nombre de Gd	r_1 Gd moléculaire ($\text{mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)
	595.70	3.21	1	3.21
	2030.34	5.90	3	17.7
	3982.57	10.97	6	65.8
	5480.01	12.20	7	85.4

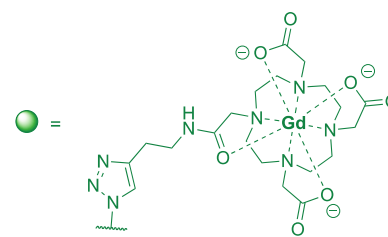


Figure 20 : relaxivités r_1 mesurées pour un champ de 60 MHz à 37°C⁵⁴

Dans cette étude, l'effet de la cyclodextrine est d'autant plus mis en valeur par la comparaison des relaxivités moléculaires, mais également les relaxivités rapportées par atome

de Gadolinium. Il est alors constaté une augmentation constante de la relaxivité ionique (relaxivité associée à un Gadolinium) et moléculaire (relaxivité globale de l'agent de contraste) avec l'augmentation de la masse moléculaire de l'agent de contraste, due à la diminution du temps de corrélation rotationnel avec la taille.

Avec ces quelques exemples nous avons pu introduire l'imagerie de résonance magnétique et le fonctionnement des agents de contraste. Avant de nous intéresser plus en détails aux agents de contraste développés avec des polyrotaxanes, nous allons introduire la deuxième méthode d'imagerie qui intervient dans le cadre de ce projet, à savoir l'imagerie de fluorescence.

2. Imagerie de fluorescence

L'imagerie de fluorescence est une méthode très utilisée en médecine et en biologie. Différents fluorophores ont été développés pour absorber la lumière à certaines longueurs d'ondes et émettre de la lumière en retour à une longueur d'onde plus grande. Cette méthode d'imagerie se base sur le phénomène de fluorescence, correspondant à une émission de photons à la suite d'une excitation, lors du retour à un état fondamental à partir d'un état excité singulet. La Fluorescence est un des phénomènes décrits dans le diagramme de Perrin-Jablonski (Figure 21).

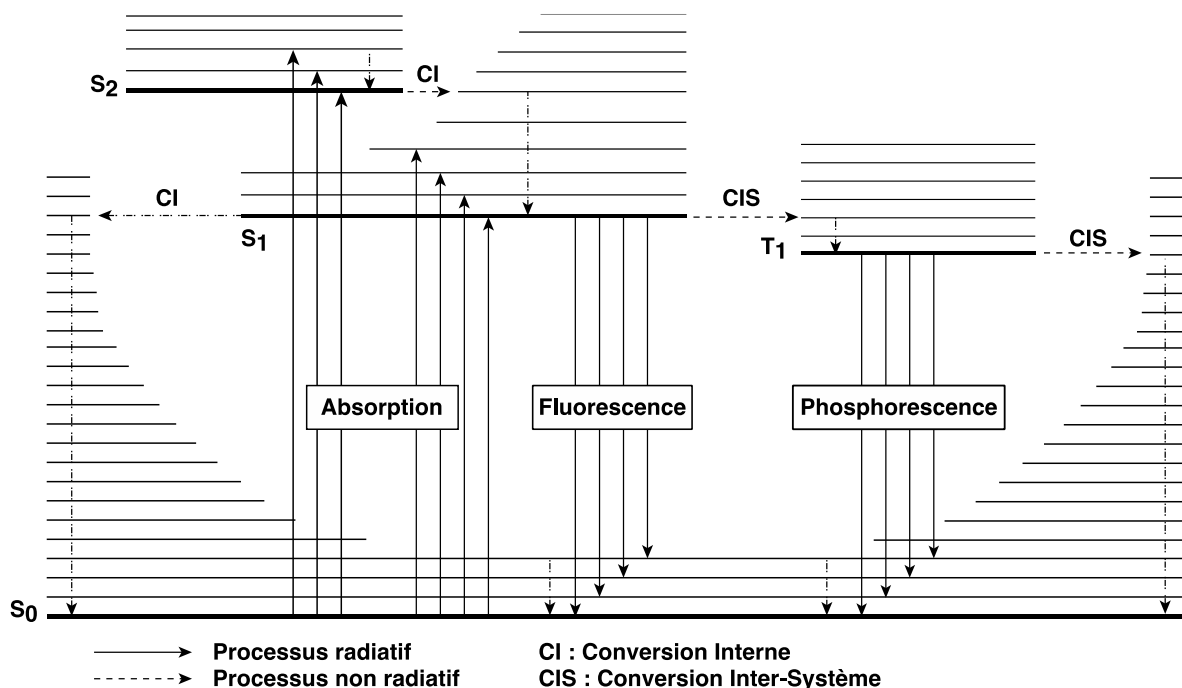


Figure 21 : Diagramme de Perrin-Jablonski décrivant le principe d'émission de fluorescence

Lors de l'absorption d'un photon, l'espèce passe de son état fondamental S_0 à un état excité S_n (S_1 , S_2) et va relaxer de manière non radiative vers le premier état excité S_1 . Lors de la fluorescence, il y a ensuite un retour rapide à l'état fondamental (10^{-9} s) qui s'accompagne de l'émission d'un photon à une longueur d'ondes plus élevée que celle d'absorption. La différence des deux longueurs d'ondes est appelée le déplacement de Stokes, et fait partie des caractéristiques d'un fluorophore. L'émission du photon peut également être précédée d'une conversion inter-système passant par un état triplet T_1 par couplage spin-orbite. Il s'agit alors d'un phénomène de phosphorescence, dont le temps de retour à l'état fondamental (10^{-6} - 10^{-3} s) est plus long que pour un phénomène de fluorescence. Ces deux phénomènes de luminescence sont toujours en compétition avec une désexcitation non radiative par vibration interne.

En fluorescence, les composés classiquement utilisés comme sondes peuvent correspondre à plusieurs types de structures, protéines, molécules inorganiques ou organiques. L'intérêt sera porté ici principalement sur les fluorophores organiques dont quelques exemples sont présentés en Schéma 11.⁵⁵ Si les premières utilisations de la fluorescence dans le secteur médical apparaissent entre 1920 et 1940,⁴⁸ une molécule historiquement importante est la fluorescéine qui a fait sa première apparition en 1948 pour la détection de tumeurs cérébrales par émission de lumière dans le vert.⁵⁶

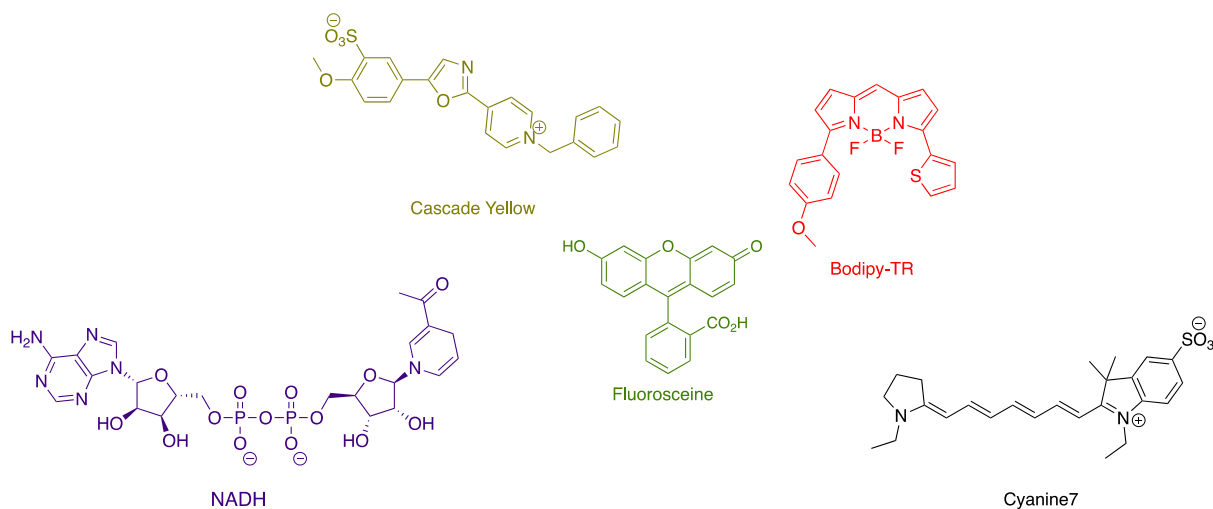


Schéma 11 : structure de différents fluorophores organiques communs

Pour être utile, une sonde fluorescente doit répondre à un certain nombre de critères aussi bien en termes d'imagerie que de biomédical. Pour fournir des images exploitables, le fluorophore se doit d'avoir des longueurs d'ondes d'excitation et surtout d'émission adaptées (Figure 22).

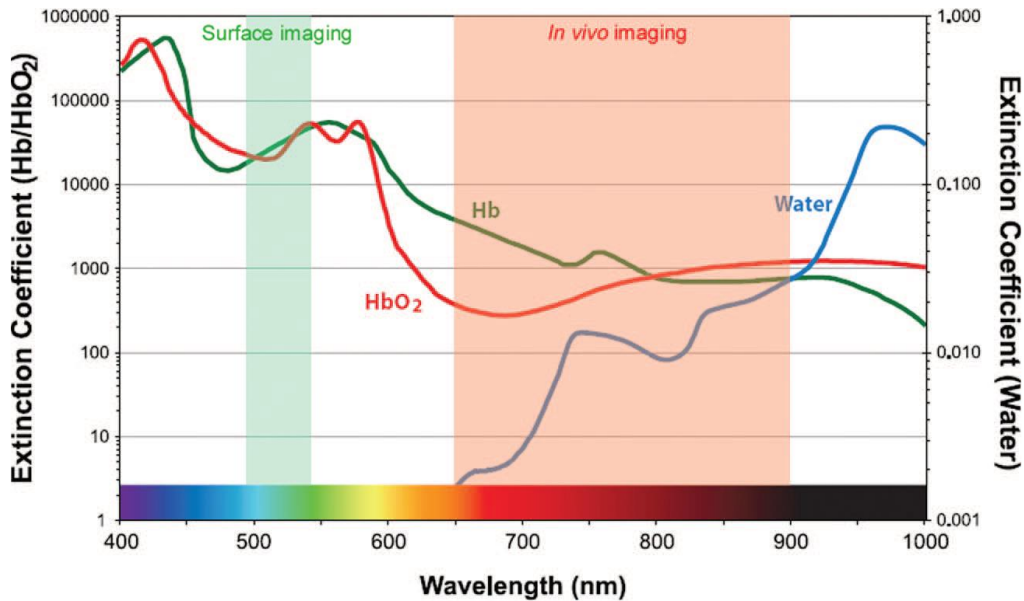


Figure 22 : fenêtre thérapeutique exploitable en imagerie par fluorescence⁵⁷

Une excitation entre 200 et 400 nm correspond à des longueurs d'ondes qui ne montreront qu'une faible pénétration tissulaire. Entre 400 et 600 nm, beaucoup d'auto-fluorescence est observée à cause notamment de fluorophores endogènes, tels que l'hémoglobine et ses dérivés. Il en résulte une zone, entre 600 et 900 nm, appelée la fenêtre thérapeutique,⁵⁸ particulièrement intéressante par sa bonne pénétration dans les tissus et une faible auto-fluorescence. Idéalement, les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission doivent se trouver dans cette fenêtre.

Un deuxième aspect important sera lié à l'intensité lumineuse du fluorophore, puisqu'il sera observé une meilleure réponse des tissus avec un besoin d'excitation lumineuse moins intense et donc une exposition amoindrie.

D'un point de vue biomédical, les sondes se doivent de posséder une bonne stabilité *in vivo* surtout pour une utilisation longue durée sur une échelle de plusieurs jours, voire plusieurs semaines. Des phénomènes comme le « *Photobleaching* », correspondant à la perte de fluorescence d'une molécule à cause de l'altération de sa structure sous irradiation, peuvent effectivement avoir lieu dans l'organisme selon le fluorophore employé. De manière générale, il sera donc important de réaliser un choix judicieux de sonde, en fonction de l'utilisation envisagée.

Les systèmes ont évolué au cours des décennies et des technologies ont ainsi émergé et ont fait l'objet de multiples développements.⁵⁷ Les systèmes de fluorescence multi-couleurs, les sondes activables ou encore les sondes associées à des agents de ciblage sont quelques exemples de ces innovations dans le domaine de l'imagerie de fluorescence.

3. Agents d'imagerie multimodaux

Avec les deux exemples de méthodes d'imagerie présentées, l'imagerie bimodale peut en partie se résumer à avoir une approche alliant résolution et sensibilité pour obtenir des images exploitables efficacement. Si l'IRM par exemple possède une bonne résolution, sa sensibilité se révèle plus limitée, et nettement inférieure à l'imagerie de fluorescence. Il apparaît donc que l'association de plusieurs méthodes d'imagerie serait intéressante, et le développement de technologies d'imagerie multimodale a ainsi fait l'objet de nombreuses études.⁵⁹

a. Agents d'imagerie bimodaux moléculaires

Si différentes combinaisons sont ainsi envisageables, l'association d'IRM et de fluorescence, au vu de leurs avantages et limitations, est de grand intérêt. Une fois les technologies choisies, vient le choix de construction de la sonde d'imagerie multimodale. Dans un cas IRM/Fluorescence, il faut associer un fluorophore avec un complexe utilisé en IRM, de type T₁ ou T₂ comme vu précédemment.⁶⁰

Ceci peut tout d'abord être réalisé avec de petites molécules assemblées avec les deux composantes, comme par exemple l'association Rhodamine-DO3A conjugués⁶¹ (Schéma 12).

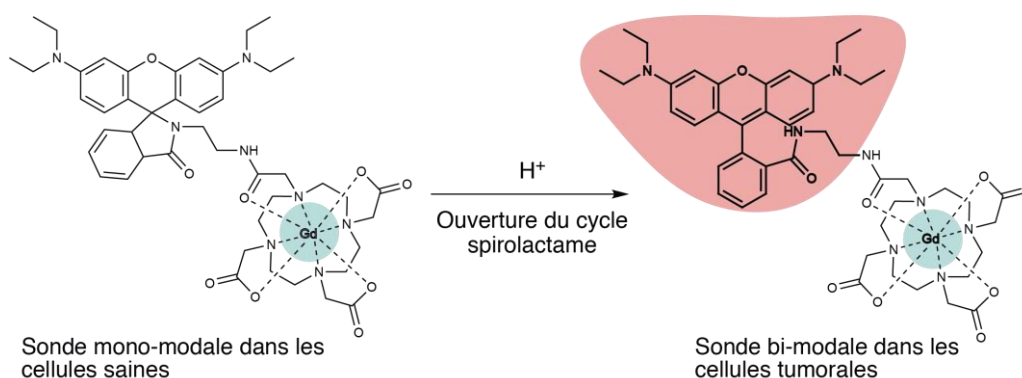


Schéma 12 : processus d'activation de la sonde Rhodamine-DO3A⁶¹

Dans cet exemple, un agent d'IRM classique est associé à la Rhodamine *via* une synthèse en quatre étapes pour donner un agent bimodal sensible au pH. En effet, la Rhodamine peut en milieu acide effectuer un réarrangement, qui va augmenter son intensité lumineuse. Ce mécanisme est ensuite utilisé pour distinguer l'agent lorsqu'il est présent dans des cellules saines ou dans des tumeurs, l'environnement plus acide de ces dernières étant ici exploité pour observer une différence dans les images obtenues.

b. Agents d'imagerie bimodaux macromoléculaires

Le développement de sondes multimodales peut également se faire *via* l'utilisation de nanoparticules métalliques, ou encore de divers liposomes. L'utilisation soit de la surface hydrophile soit de domaines internes hydrophobes permet l'étude de divers environnements, en fonction de la nature de ceux-ci. Pour un milieu hydrophile, il s'agit de réaliser l'encapsulation d'une multitude d'agents de contraste. L'objectif est de former par auto-assemblage de lipides ces structures sphériques, présentant un centre hydrophile pouvant encapsuler des agents solubles dans l'eau, comme par exemple les iohexol et gadoteridol utilisés respectivement comme agent de tomodensitométrie et d'IRM (Schéma 13).

D'une taille particulière d'environ 75 nm, ces liposomes permettent l'exploitation de ces deux méthodes d'imagerie et ont été utilisés notamment chez la souris pour la caractérisation de leurs paramètres pharmacocinétiques,⁶² et chez le lapin pour mesurer leurs efficacité en milieu *in vivo*.⁶³

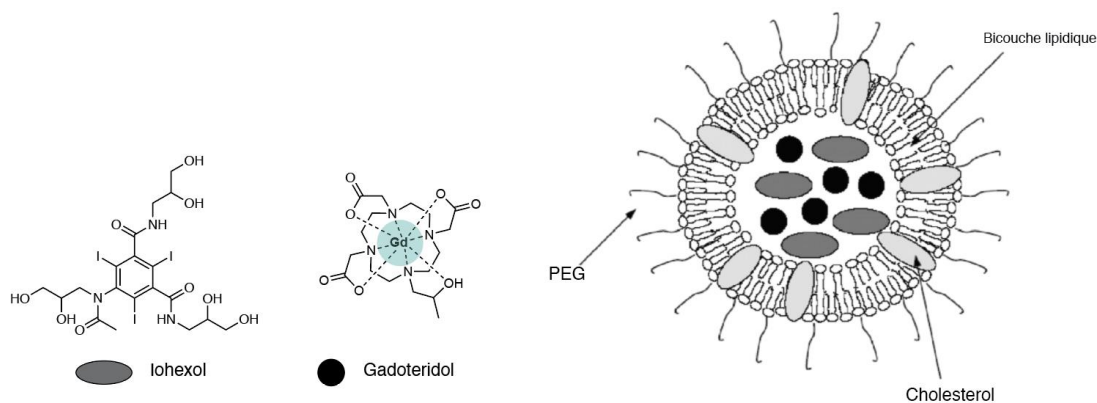


Schéma 13 : structure de l'iohexol et du gadoteridol encapsulés dans un liposome⁶²

Parmi les intérêts de cette approche, il est constaté une augmentation du temps de résidence des agents dans le plasma, passant d'un temps de demi-vie de l'ordre de la dizaine de minutes à la dizaine d'heures pour les deux agents encapsulés. De cette manière est donc formé un agent d'imagerie viable pour des applications intravasculaires, et qui par ailleurs sera moins intéressant pour effectuer de la pénétration tissulaire. Cette action pourra être accomplie par modification de la composition des lipides, pour générer de meilleures interactions avec les membranes cellulaires. Des liposomes cationiques peuvent par exemple interagir avec la surface des cellules ou encore avec de l'ADN, trouvant ainsi des applications comme vecteurs pour l'apport de gène,⁶⁴ ou encore comme transport de séquences ARN silencieuses contre l'enzyme COX-2,⁶⁵ impliquée dans certains systèmes inflammatoires et certains cancers.

L'utilisation de liposomes en imagerie peut donc se faire par encapsulation d'agents d'imagerie, mais également par fonctionnalisation de lipides,^{66,67} ou par les deux approches combinées.^{68,69} Si ces différentes approches se révèlent intéressantes, ces agents multimodaux présentent certaines limites. Les nanomatériaux peuvent avoir des tailles de particules trop variables, des taux d'agents associés non précis ou encore de possibles formes de toxicité dans l'organisme.

D'autres technologies d'imagerie ont recours à des assemblages supramoléculaires, approche pouvant répondre à des problématiques non résolues en imagerie biomédicale.

III. Applications biomédicales avec des polyrotaxanes de cyclodextrines

Les polyrotaxanes de cyclodextrines ont de nombreuses applications en tant que matériaux fonctionnels.^{70,71} En effet, leur aspect polyfonctionnel permet à ces assemblages de trouver diverses applications (biomédical, matériaux élastiques, matériaux conducteurs) et de pouvoir proposer de multiples approches pour chacune d'entre elles.⁷²

1. Polyrotaxanes de cyclodextrines pour le transport de principe actif

Dans cette partie, nous nous focaliserons cependant sur l'utilisation de ces assemblages dans le domaine biomédical, avec notamment les systèmes pour le transport et relargage de principe actif, et les systèmes dédiés à l'imagerie biomédicale.

a. Hydrogels de polyrotaxanes de cyclodextrines

Des systèmes ont par exemple été mis au point pour faire du transport de principe actif dans l'organisme.⁷³ Une première catégorie de systèmes est basée sur l'utilisation d'hydrogel de polyrotaxanes de cyclodextrines⁷⁴ (Figure 23). Les hydrogels supramoléculaires à base de *polypseudorotaxanes* de cyclodextrines constituent une catégorie d'hydrogel avec des caractéristiques uniques. En effet, ils sont généralement thixotropiques, c'est-à-dire que leur viscosité peut varier par modification de paramètres extérieurs tels que l'application d'une pression, et thermoréversibles.

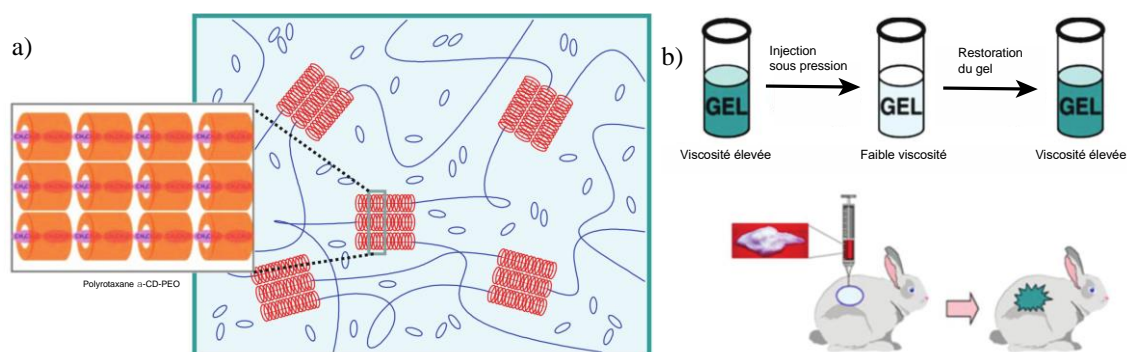


Figure 23 : a) représentation d'hydrogel de polyrotaxanes de cyclodextrines ; b) principe de fonctionnement d'hydrogels thixotropiques injectables⁷²

Ils sont ainsi très attractifs en tant que système injectable pour le transport de principe actif.⁷⁵ Un des premiers exemples pour illustrer cela est donné avec l'utilisation de PEG à masses moléculaires élevées et d' α -CD,⁷⁶ formant des gels par auto-assemblage à différentes concentrations dans l'eau (Figure 24). La formulation particulière de ces gels permet l'incorporation d'agents bioactifs ou encore de protéines, et de réaliser une injection *via* seringue sous pression avec l'effet thixotropique et d'observer la reformation du gel pour assurer un relargage contrôlé de l'agent bioactif.

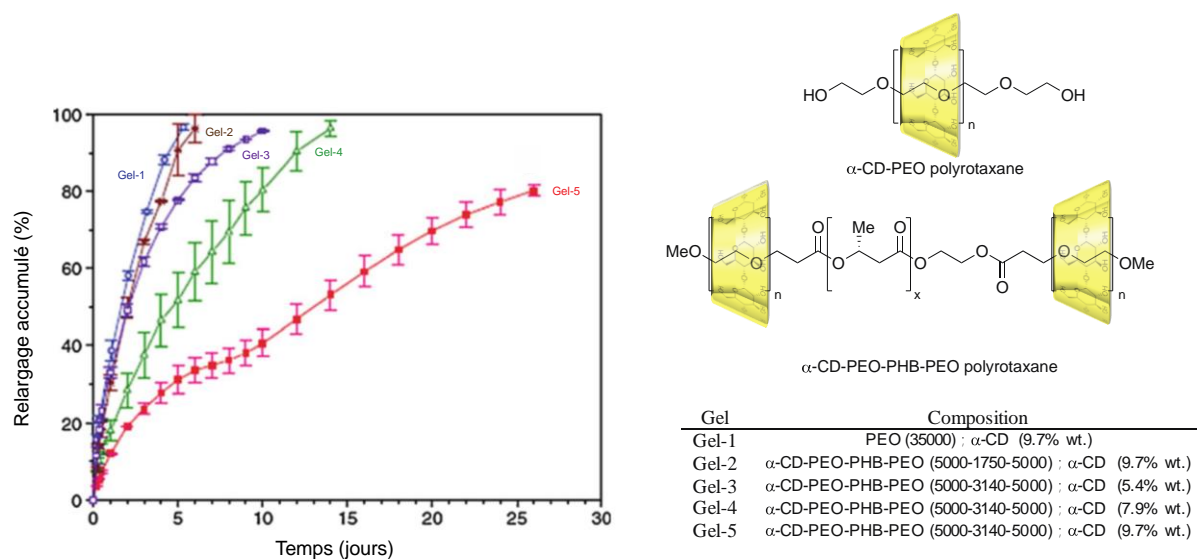


Figure 24 : vitesse de relargage de dextran pour différentes compositions d'hydrogel de polyrotaxanes⁷⁶

L'inconvénient rencontré avec l'utilisation de PEG de grandes masses moléculaires est la difficulté d'élimination par l'organisme, qui peut être rectifiée en changeant la nature du polymère, en utilisant par exemple un système basé sur un copolymère à bloc.^{77,78} Un polymère PEO-PPO-PEO permet un relargage contrôlé sur plus d'une semaine avec un modèle BSA-FITC (fluorescéine isothiocyanate). Cette approche peut être développée avec un système

biodégradable, facilitant l'élimination par décomposition en composés de plus faibles masses moléculaires.

Un polymère PEO-PHB-PEO a ainsi été mis au point où le PHB (poly(3-hydroxybutyrate)) est un polymère biodégradable. Étudié avec un modèle *in vitro* Dextran-FITC et comparé au relargage observé avec l'hydrogel α CD-PEO, un très bon contrôle est observé avec un relargage jusqu'à un mois post-injection.

Au cours de ces dernières années de nombreux systèmes ont été développés,⁷⁹ parmi lesquels des hydrogels comprenant des composants sensibles à des stimulus, dit « intelligents », avec des déclencheurs tels que le changement de pH,⁸⁰ la température⁸¹ ou encore la lumière.⁸²

Globalement, les hydrogels basés sur les polypseudorotaxanes de cyclodextrines ont fait l'objet d'importants développements ces dernières années, et sont définis comme de bons candidats pour des applications biomédicales. Pour ces systèmes, les futures améliorations s'orientent vers le développement d'hydrogels dont le design permettrait notamment un meilleur équilibre entre les performances cliniques, la facilité d'utilisation et une faible toxicité en milieu biologique.

b. Polyrotaxanes conjugués biodégradables

Une autre approche est possible avec des polyrotaxanes formés avec des cyclodextrines conjuguées au principe actif, intégrées à un système biodégradable. Le principe est la formation de l'assemblage supramoléculaire avec des cyclodextrines fonctionnalisées par des agents bioactifs (Figure 25).

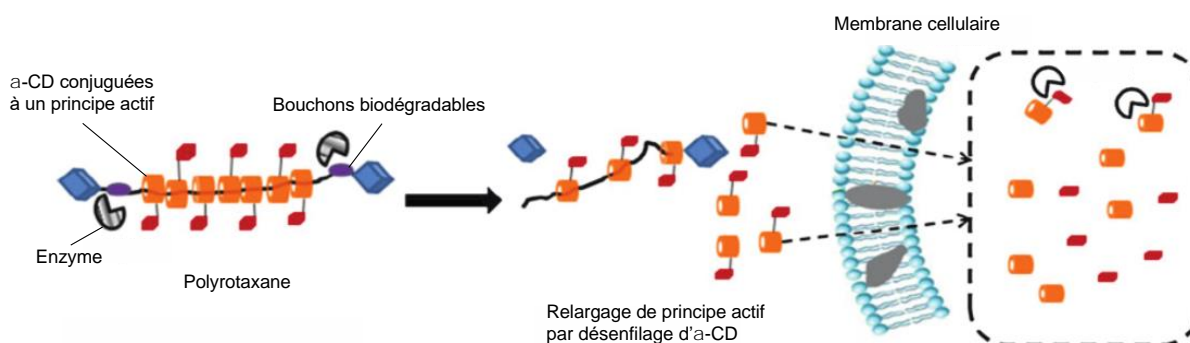


Figure 25 : Principe d'action d'un polyrotaxane biodégradable avec des cyclodextrines fonctionnalisées par un principe actif⁷²

Pour cela, les polyrotaxanes constituent une plateforme valorisable au travers de plusieurs de leurs caractéristiques que nous pouvons expliciter plus en détails. Il y a tout d'abord

la possibilité de fonctionnalisation de la cyclodextrine *via* ses groupements hydroxyles, permettant la conjugaison du macrocycle avec toutes sortes de groupements.

Un autre aspect important est la biodégradabilité du système. Cela permet en effet de garantir à la fois un relargage à haute concentration du principe actif, et l'élimination des autres composants du système sous la forme de petites briques élémentaires. Dans le cas de polyrotaxanes, ceci peut s'opérer par désenfilage de macrocycles, par exemple par emploi de bouchons qui pourront être clivés et qui vont induire la dégradation de l'assemblage. Ce clivage peut être réalisé par diverses voies telles que des stimulus chimiques ou encore par voie enzymatique. Le groupe de Yui fait partie des premiers à avoir exploré cette approche avec un polyrotaxane muni de bouchons peptidiques (Figure 26).⁸³

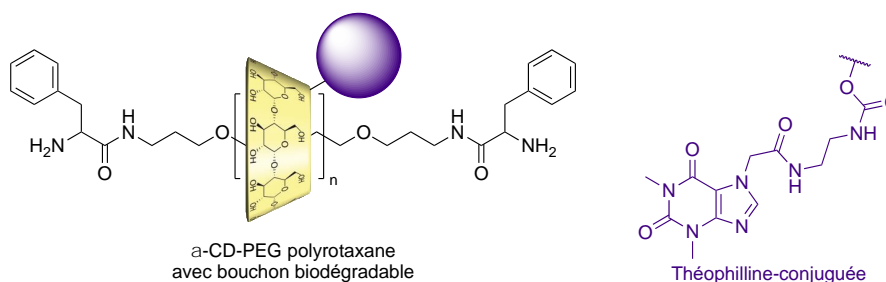


Figure 26 : structure de polyrotaxane avec bouchon biodégradable par voie enzymatique ; structure de la Théophylline conjuguée à la cyclodextrine⁸³

Dans un premier exemple publié en 1995, l'assemblage supramoléculaire était composé d' α -CD et d'une chaîne PEG, bouchée avec de la L-Phénylalanine (L-Phe) *via* un espaceur peptidique. La dégradation de l'assemblage supramoléculaire en présence de papaïne (protéase) en PEG, cyclodextrines libres et L-Phénylalanine est observée en quelques heures et permet de valider cette approche. Des études similaires ont été réalisées avec des cyclodextrines hydroxypropyles (HP- α -CD) et ont mené à la formation d'un polyrotaxane transporteur de Theophylline, agent anti-asthme, qui après clivage enzymatique montre un relargage total et progressif des cyclodextrines, et donc de Theophylline sur des périodes comprises entre 50 et 250 heures.

Un exemple plus récent a été décrit avec la Doxorubicine, agent anti-cancéreux, conjuguée par une liaison ester à la cyclodextrine et des Tyrosines comme bouchons.⁸⁴ Lors d'études *in vitro*, le relargage de Doxorubicine est observé sur des périodes étendues jusqu'à quatre jours et est majoritairement contrôlé par la vitesse d'hydrolyse de la liaison entre l'agent et la cyclodextrine, avec notamment des relargages plus long observés pour des amides par rapport à des esters. L'intérêt de cette approche réside également dans la sélectivité du système pour la pénétration dans les cellules cancéreuses par rapport à la Doxorubicine libre. Des études de cytotoxicité *in vitro* montrent en effet des valeurs de LD₅₀ bien supérieures pour les différents polyrotaxanes testés, dû notamment à l'effet macromoléculaire limitant la pénétration de

Doxorubicine libre dans des cellules saines. Pour conclure, l'utilisation de polyrotaxanes de cyclodextrines a été largement étudiée et décrite, jusqu'à très récemment avec des systèmes toujours plus complexes et diversifiés.^{85,86} Hydrogels, polyrotaxanes biodégradables fonctionnalisés, nanoparticules ou encore complexes polyélectrolytes de matériaux génétiques sont quelques autres domaines d'application que nous pouvons citer (Figure 27).

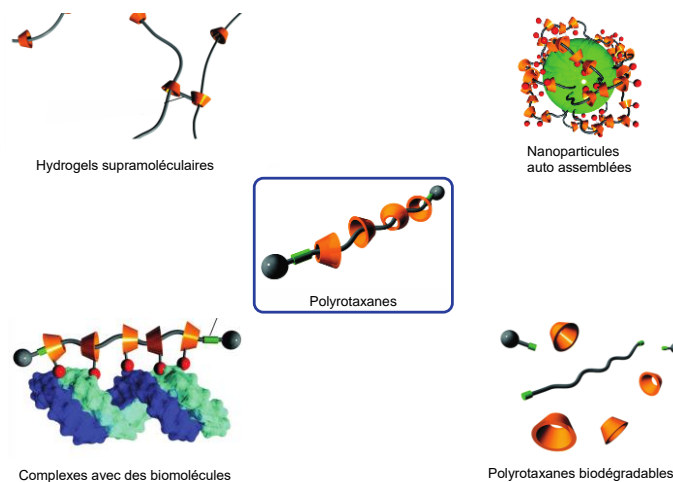


Figure 27 : applications des polyrotaxanes de cyclodextrines pour le transport de principe actif et de biomolécules

2. Imagerie avec des polyrotaxanes de cyclodextrines

Comme expliqué précédemment, les agents d'imagerie macromoléculaires font l'objet d'un intérêt grandissant depuis plusieurs années grâce à certains avantages qu'ils possèdent par rapport aux agents basés sur l'utilisation de petites molécules. Lorsqu'il s'agit d'IRM, ces agents auront par exemple des relaxivités aux alentours de $5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ pour des champs magnétiques entre 0.3 et 7 Tesla. En outre, la clairance de ces molécules est souvent rapide, ce qui peut constituer un point négatif pour la réalisation d'images lors des scans. L'utilisation d'agents d'imagerie macromoléculaires devient ainsi intéressante. Les polyrotaxanes apparaissent comme des candidats de choix pour faire de l'imagerie biomédical, avec les qualités que possèdent ces assemblages. Les principaux intérêts de ces agents seront donc une haute valeur de relaxivité, un temps de résidence dans le système sanguin long et un design permettant de limiter la toxicité de l'agent injecté.

Pour illustrer cela, deux exemples pourront être présentés, représentant respectivement un système pour l'imagerie de fluorescence, et un système pour l'IRM. Si des exemples d'assemblages supramoléculaires fluorescents existent avec des polyrotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées par des fluorophores, avec des exemples de Yui, en 2014 avec l' α -CD-AF-545 obtenue par « chimie click »,⁸⁷ ou encore en 2018 avec des HP- β -CD pour le

traitement de la maladie de Niemann-Pick C,⁸⁸ une autre stratégie pour l'introduction de fluorophore sur une architecture supramoléculaire est la fonctionnalisation des bouchons (Figure 28).⁸⁹

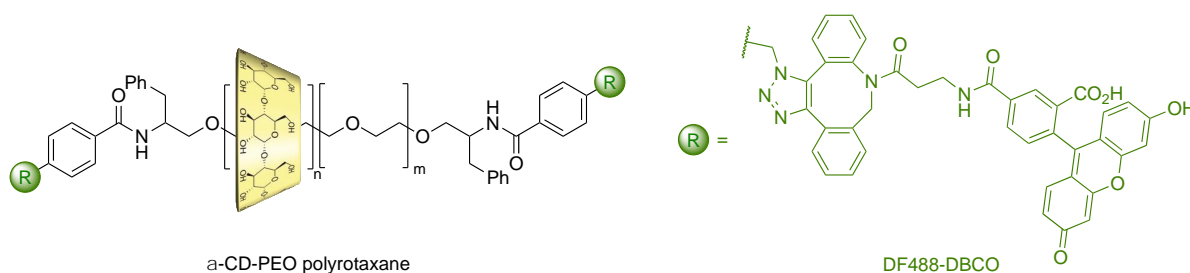


Figure 28 : polyrotaxanes avec extrémités fonctionnalisées par sondes fluorescente⁸⁹

Yui décrit ici la synthèse d'un polyrotaxane avec un axe PEG possédant à ses extrémités des azotures permettant par chimie « click » une fonctionnalisation aisée du polyrotaxane. L'exemple est donné avec le fluorophore DF-488 conjugué à un groupement DBCO. Le polyrotaxane ainsi modifié montre une unique longueur d'ondes d'absorption et d'émission respectivement à 488 nm et 515 nm, indiquant un couplage avec le fluorophore pratiquement total. Par la suite, la pénétration intracellulaire du polyrotaxane est suivie et indique une internalisation par endocytose, avec une localisation dans des lysosomes et des endosomes. Cette approche permet de faire le suivi intracellulaire des polyrotaxanes, simplement par ajout de deux sondes fluorescentes aux extrémités de l'assemblage, laissant par exemple la possibilité de fonctionnaliser les cyclodextrines avec d'autres agents d'imagerie pour convertir ce système en plateforme multimodale.

Récemment, Thompson⁹⁰ a mis au point des polyrotaxanes de β-cyclodextrines portant des complexes de Gadolinium (III), pour obtenir des agents d'imagerie à haute relaxivité et long temps de résidence (Figure 29). L'axe de ce polyrotaxane est un bloc copolymère, composé de poly(éthylène glycol) et du polypropylène, dans des ratios variables selon les assemblages préparés. Deux types de cyclodextrines fonctionnalisées sont utilisés, avec soit des groupements 2-hydroxypropyle, soit des 4-sulfobutyléther, permettant une amélioration de la solubilité dans l'eau. Pour chaque cyclodextrine, un alcool du col primaire est fonctionnalisé par un bras possédant un dérivé du DOTA pouvant complexer un Gadolinium (III) lors de son ajout à l'édifice. Les caractéristiques d'imagerie de ces polyrotaxanes ont ensuite été étudiées, en conditions *in vitro* et *in vivo*.

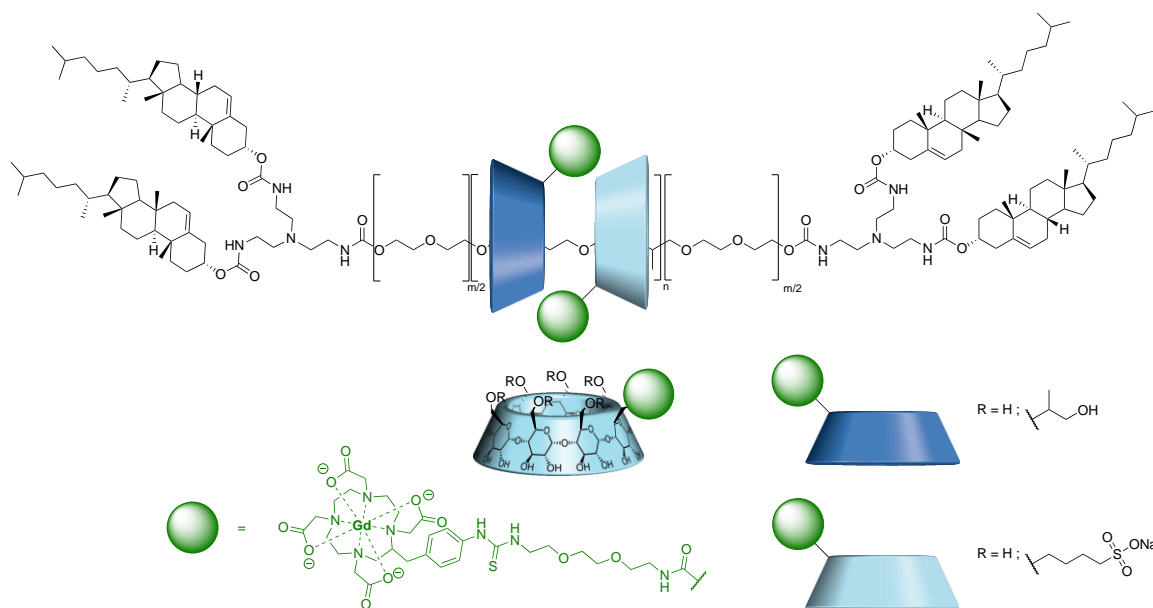


Figure 29 : représentation du polyrotaxane de cyclodextrine de Thompson pour l'imagerie⁹⁰

Le profil NMRD (Figure 30) montre des r_1 entre 7 et 12 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ pour des champs entre 0.01 et 1 Tesla qui sont nettement plus élevés que le DOTAREM. Les écarts de relaxivité entre les différents polyrotaxanes peuvent s'expliquer par des possibles différences de vitesse de rotation et translation de cyclodextrines fonctionnalisées sur le polymère, pouvant augmenter le temps de résidence des molécules d'eau liées au métal, ce qui diminue la relaxivité globale de l'agent.

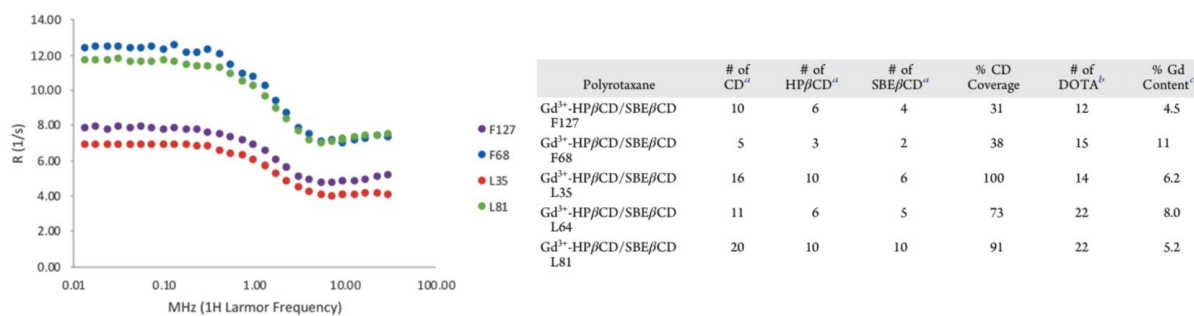


Figure 30 : NMRD de plusieurs polyrotaxanes de Thompson avec des concentrations en Gd (III) différentes⁹⁰

Cette étude a été complétée par des mesures *in vivo* chez la souris, par injection dans la veine de la queue. En comparaison avec le DOTAREM qui circule pendant une vingtaine de minutes à travers les différents organes, les polyrotaxanes sont encore présents pour certains après 60 minutes, montrant ainsi un des aspects attrayants de ces agents proposés.

Ces systèmes constituent deux exemples utilisant une approche supramoléculaire pour concevoir de nouveaux agents d'imagerie aux propriétés innovantes et attractives pour un suivi

biomédical. Dans la littérature se trouvent également des exemples possédant une approche théranostique avec des polyrotaxanes. Nous pouvons citer les travaux de Jiang avec un polyrotaxane de β -cyclodextrines conjuguées au Paclitaxel,⁹¹ ayant une activité anti-tumorale aux propriétés intéressantes par rapport au Taxol, et dont le suivi a été fait avec une sonde fluorescente dans le proche infra-rouge.

La validité et l'intérêt de cette approche supramoléculaire étant démontrés, la proposition de système et le contexte du projet de thèse vont maintenant être présentés.

IV. Contexte du projet

Ce projet propose la mise au point d'une nouvelle plateforme supramoléculaire pour des applications en imagerie biomédicale, et plus précisément le diagnostic et traitement de l'arthrite rhumatoïde. Par son aspect fortement modulaire, cette plateforme pourrait même trouver des applications pour d'autres formes de pathologies.

1. Design d'une nouvelle plateforme d'imagerie multimodale

L'objectif est de former par auto-assemblage entre des briques élémentaires, un polyrotaxane qui répond à un certain nombre de critères. Les briques élémentaires seront des cyclodextrines fonctionnalisées à souhait par des agents d'imagerie, IRM ou marqueur fluorescent, voire avec un potentiel agent de ciblage pour ajouter un aspect de vectorisation à l'objet final (Figure 31).

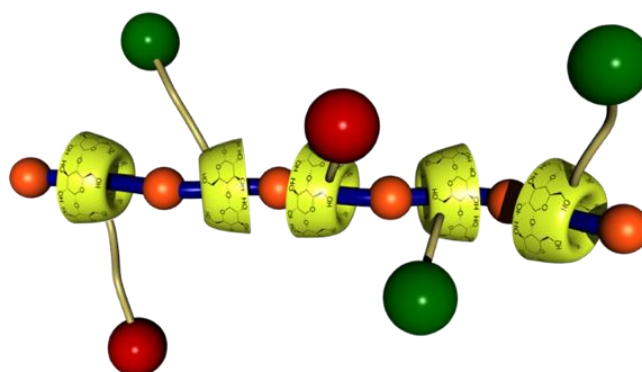


Figure 31 : représentation de polyrotaxane de cyclodextrines fonctionnalisées pour l'imagerie bimodale

Cette approche présente plusieurs intérêts, avec tout d'abord l'aspect modulaire de l'objet qui permet la modification de composantes du système pour l'adapter à diverses

applications. La flexibilité de la synthèse permet, avec un assemblage en dernière étape, d'optimiser facilement la synthèse et les propriétés des briques désirées étant donné qu'elles sont indépendantes les unes des autres. Enfin, l'utilisation d'un objet macromoléculaire pour des applications biomédicales a fait ses preuves dans plusieurs domaines, dont celui de l'imagerie, et permet ainsi de justifier par cet aspect également la proposition de projet faite ici.

2. Résultats précédents

Ce projet, démarré en 2010 avec la thèse de Jean Wilfried Fredy et le post-doc d'Aurélien Guénet, s'est poursuivi avec la thèse de Jérémy Scelle, soutenue en novembre 2016.^{92,93} L'objectif final a toujours été le même, mais diverses approches ont été proposées et testées lors de ces périodes, avec des changements principalement au niveau de la nature des constituants utilisés pour créer les assemblages finaux.

Les premières générations de polyrotaxanes avaient pour axe une chaîne poly(éthylène glycol), polymère ayant été décrit régulièrement pour la formation de polyrotaxanes de cyclodextrines. La voie de synthèse choisie proposait la fonctionnalisation des cyclodextrines, puis l'enfilage de celles-ci sur un axe polymère. L'attention a été portée au début de ce projet sur l'optimisation de ces synthèses et sur l'étude des propriétés d'enfilage de ces cyclodextrines.

a. Cyclodextrines fonctionnalisées

En partant de la cyclodextrine native et en suivant une voie de synthèse maîtrisée et reproductible,⁹⁴ il est possible d'accéder à toute une bibliothèque de cyclodextrines fonctionnalisées, par des groupements fonctionnels utiles soit en IRM, soit en imagerie de fluorescence (Schéma 14).

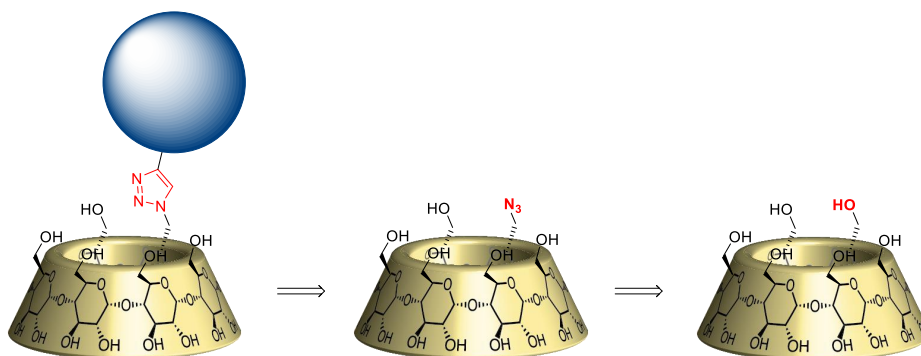


Schéma 14 : rétrosynthèse de cyclodextrines mono-fonctionnalisées à partir de cyclodextrines natives

Cette voie de synthèse fait intervenir un intermédiaire commun sous la forme de mono ou di-azoture. Ces intermédiaires sont en effet très intéressants car, par une stratégie de chimie « click » catalysée au Cuivre (I), il est possible d'apporter la fonction désirée en dernière étape. De cette manière, des cyclodextrines fonctionnalisées pour l'IRM ont été synthétisées, présentant un ou deux complexes de Gadolinium (III) dérivé du DO3A. L'IRM étant peu sensible, une cyclodextrine disubstituée permet d'obtenir une meilleure relaxivité.

Pour ajouter un marqueur fluorescent, diverses fonctionnalisations ont été étudiées, avec notamment des Bodipys et des Cyanines, afin d'analyser l'effet obtenu sur l'assemblage final en variant la nature du fluorophore (Schéma 15).

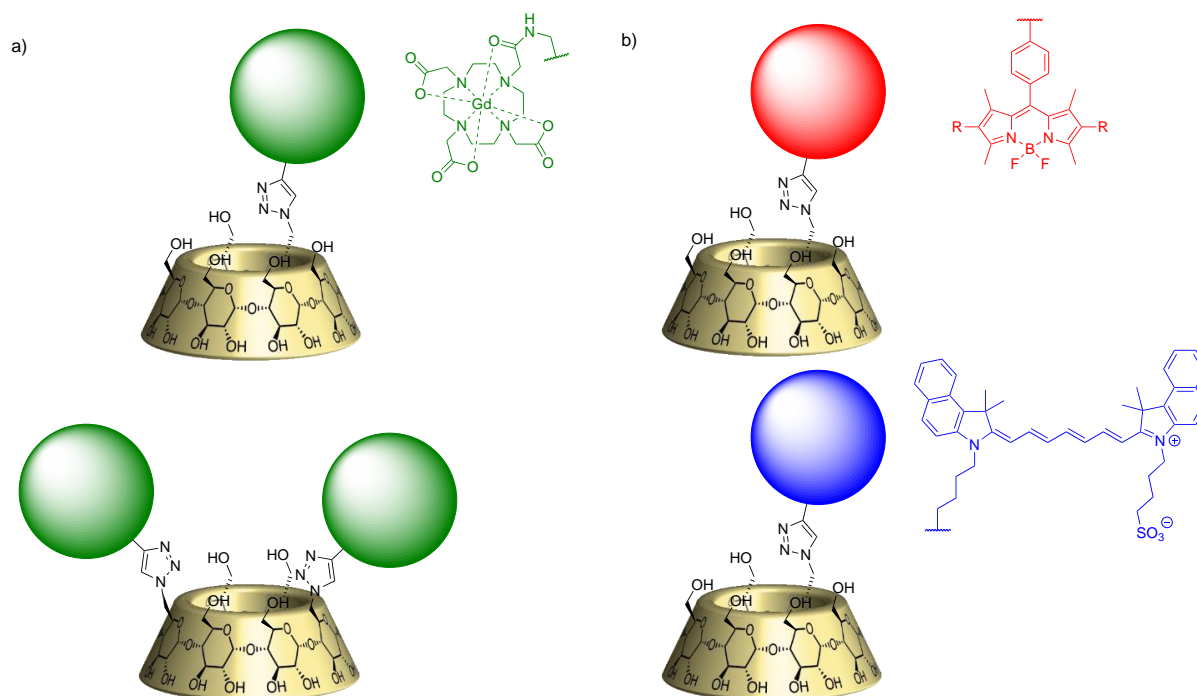


Schéma 15 : a) cyclodextrines fonctionnalisées pour l'IRM ; b) cyclodextrines fonctionnalisées avec des marqueurs fluorescents (Bodipy et Cyanine7)

Si les cyanines 5 ou 7 semblent plus adaptées au projet par la correspondance de leurs propriétés photophysiques avec la fenêtre thérapeutique en imagerie optique (600-900 nm), leur synthèse s'est révélée bien plus complexe que celle des Bodipys. Il peut ainsi être judicieux d'adapter la nature du marqueur fluorescent en fonction de l'utilisation du polyrotaxane. Un polyrotaxane montrant un grand intérêt avec des résultats prometteurs pourra par exemple être fonctionnalisé préférentiellement par des Cyanines pour la composante d'imagerie optique. Pour de la mise au point de synthèse et les premiers tests en biologie et imagerie, une fonctionnalisation par une Bodipy sera dans un premier temps plutôt envisagée.

b. Rotaxanes de cyclodextrines pour l'IRM

L'utilisation des cyclodextrines fonctionnalisées pour l'IRM a été étudiée sous la forme d'un [3]rotaxane afin de comprendre et d'explorer l'apport de l'assemblage supramoléculaire vis-à-vis de son utilisation en imagerie biomédicale.⁹⁵ Ce rotaxane a été obtenu *via* une stratégie d'enfilage et bouchonnage « one pot » avec une réaction de chimie « click » catalysée au cuivre (Figure 32).

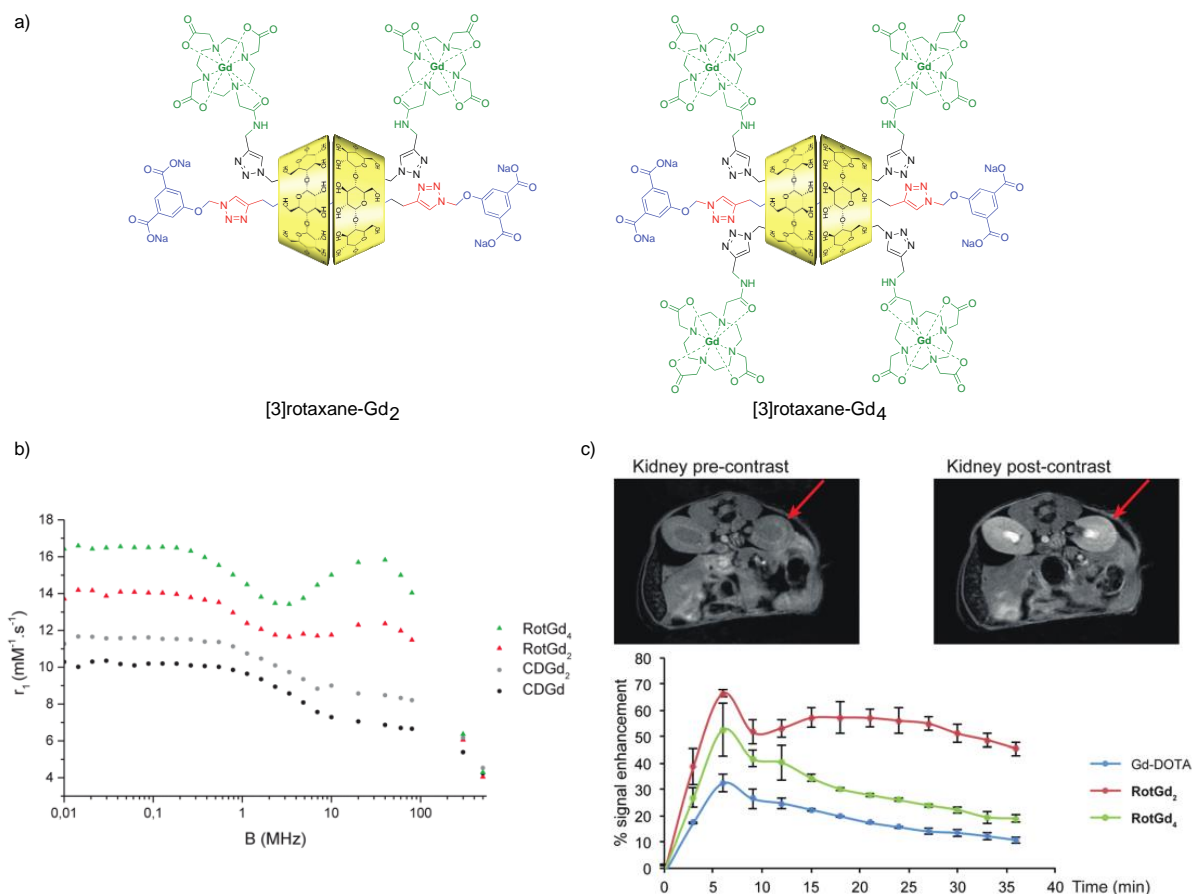


Figure 32 : b) profil NMRD des cyclodextrines CD-Gd, CD-Gd₂, et des rotaxanes RotGd₂ et RotGd₄ à 25°C ; c) biodistribution chez la souris des rotaxanes RotGd₂ et RotGd₄

Cette synthèse a été réalisée avec les cyclodextrines fonctionnalisées par un ou deux complexes de Gadolinium, dont la caractérisation par RMN avec des équivalents Lanthane (III) a permis de vérifier la formation de l'assemblage, et de confirmer l'obtention d'un unique mécanoisomère avec une conformation tête-tête. Par la suite ces [3]rotaxanes ont été étudiés par relaxométrie, avec un profil NMRD montrant des valeurs de relaxivité r_1 plus élevées par rapport aux cyclodextrines seules correspondantes, ainsi qu'une augmentation significative pour des champs entre 10 et 100 MHz. La biodistribution a également été réalisée et comparée

avec le complexe Gd-DOTA commercial, dans des régions telles que le foie et les reins, pour montrer une intensité de signal plus élevée et une rémanence plus longue dans les reins.

Ces résultats indiquent donc un intérêt certain de l'approche supramoléculaire avec des molécules entrelacées.

c. Polyrotaxanes polycationiques pour l'imagerie bimodale

Après avoir obtenu les cyclodextrines fonctionnalisées, le deuxième élément composant les polyrotaxanes est l'axe polymère, et au cours de ce projet, sa nature chimique a vu plusieurs changements. Initialement de type PEG, le faible taux d'enfilage et les problèmes de précipitation dans l'eau de certains polyrotaxanes ont montré les limites de cette architecture, et c'est ainsi qu'une approche inspirée des travaux de Wenz à base de polymères polychargés tels que des poly(ammonium)s a été proposée. Ce polymère polycationique obtenu par post-fonctionnalisation de nylon 11 commercial permet, après un enfilage des cyclodextrines à chaud, d'accéder à des *pseudopolyrotaxanes* stables à température ambiante (Schéma 16).

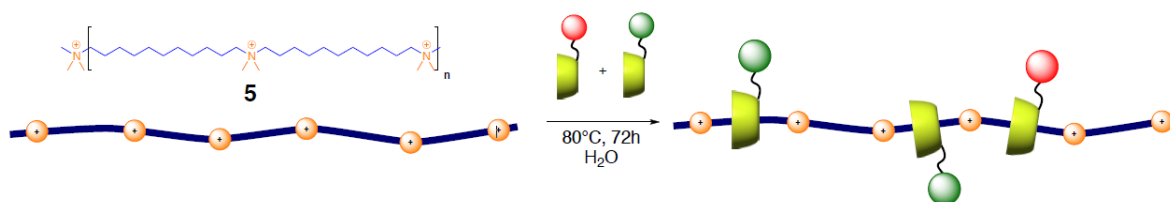


Schéma 16 : formation de polyrotaxanes polycationiques par enfilage sur l'axe polymère

L'enfilage effectué à 80°C pendant plusieurs jours permet d'obtenir des taux de couverture variables en fonction de la nature des cyclodextrines employées. Pour des cyclodextrines natives et fonctionnalisées mono ou di-azido, un taux de couverture entre 50 et 75 % est observé, et constitue un très bon résultat pour ce type d'enfilage. Lorsque les cyclodextrines portent les groupements pour l'IRM et la fluorescence, le taux de couverture diminue de manière significative vers 25 %, pouvant s'expliquer par une diminution de l'affinité entre l'axe et les cyclodextrines fonctionnalisées. Il est possible également de former le polyrotaxane avec deux types de macrocycles en solution, dans ce cas, un taux d'enfilage statistique pour chaque cyclodextrine est observé sur le produit final.

Une fois obtenu, les polyrotaxanes ainsi formés ont été soumis à diverses caractérisations, selon la fonctionnalisation portée. Les propriétés optiques mesurées lorsqu'un fluorophore Bodipy est présent, ne montrant pas de différence par rapport à la Bodipy seule, et un rendement quantique valorisable de près de 50% dans l'eau (Figure 33).

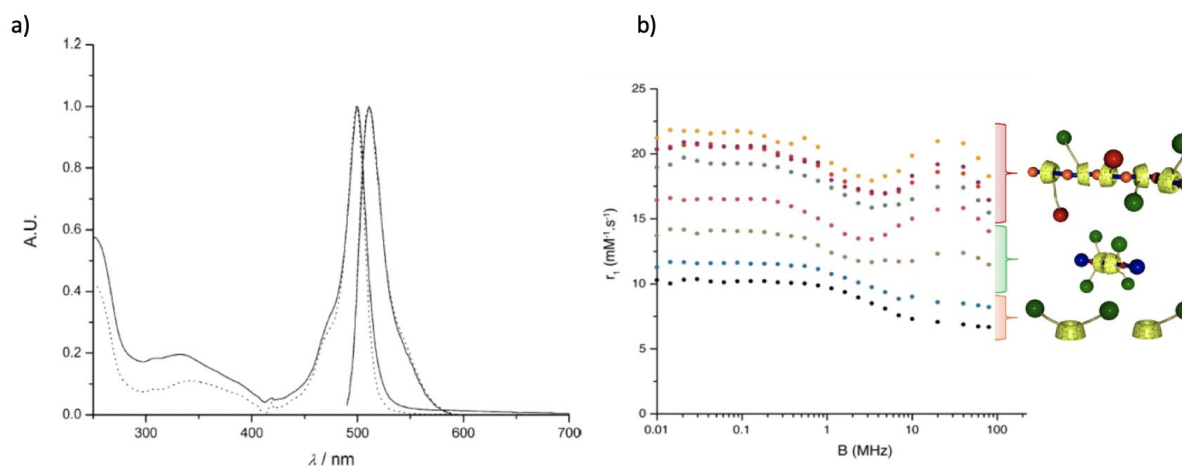


Figure 33 : a) spectres d'émission et d'absorption du polyrotaxane bimodal b) profil ^1H NMRD pour différents polyrotaxanes, rotaxanes et cyclodextrines fonctionnalisées à 37°C

Les propriétés d'agent de contraste IRM ont été évaluées par la mesure des profils NMRD. Le profil en Figure 33 représente les valeurs mesurées pour les polyrotaxanes mais également celles des [3]rotaxanes précédents et les cyclodextrines fonctionnalisées. La relaxivité pour les polyrotaxanes est bien plus élevée à 20 MHz que celles mesurées pour les CD-Gd et CD-GD₂, elles-mêmes supérieures à la valeur du DOTAREM. De plus, un maximum de relaxivité est observé pour des champs entre 20 et 80 MHz, caractéristique des agents de contraste macromoléculaires.⁹⁶

Les valeurs observées pour les plus hauts champs se montrent donc particulièrement intéressantes pour maximiser la sensibilité de la technique. De plus, il a été observé une meilleure relaxivité pour les polyrotaxanes à 37°C qu'à température ambiante, ce qui constitue un autre avantage pour ces systèmes, là où des composés comme le DOTAREM ont tendance à voir leur relaxivité diminuer à 37°C . Si la valeur ajoutée en imagerie par les polyrotaxanes est une première perspective importante, la possible utilisation de ces composés dans le domaine biomédical nécessite des produits non toxiques pour l'organisme. La toxicité des produits a donc été mesurée en deux temps, d'abord en conditions *in vitro* avec des tests MTT (« bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium ») sur des macrocytes et des hépatocytes. Les valeurs d'IC₅₀ aux alentours de 3 μM semblaient acceptables, cependant les études d'imagerie *in vivo* qui ont suivi n'ont pas montré de résultats satisfaisants. Une expérience sur souris a été conduite pour tester les polyrotaxanes à des concentrations de 10 mM en Gadolinium dans les solutions injectées.

Après quelques minutes une accumulation a été constatée au niveau du foie, et aucun contraste n'a été relevé dans les reins ou encore la vessie, montrant que l'assemblage ne semble pas libérer de petites molécules, avec le désenfilage des cyclodextrines au cours du temps. Cependant, un décès de la souris a été observé 15 minutes après injection, causé par une embolie

pulmonaire. Une agrégation des polyrotaxanes polycationiques avec des protéines du sang chargées négativement, menant à la formation de caillots et au décès par embolie pulmonaire a été soupçonné. Ce processus d'agrégation a été confirmé par DLS où des globules d'une taille bien supérieure au polyrotaxane ont été observés en présence d'albumine.

3. Objectifs de la thèse

Avec des polyrotaxanes polycationiques possédant de bonnes propriétés d'imagerie *in vitro* mais ayant montré des limites pour des applications *in vivo*, l'objectif principal de la suite de ce projet est l'amélioration de ces assemblages vis-à-vis de leur biocompatibilité. Pour cela, la proposition a été faite de changer la nature de l'axe polymère très certainement responsable de la toxicité des polyrotaxanes. Le passage d'un axe polycationique à un axe polyanionique de type polyphosphate a ainsi été envisagé (Figure 34). En effet, des polymères tels que des polyphosphates sont décrits pour être non toxiques, et ainsi peuvent servir de base pour le développement des assemblages qui seront présentés dans la suite du manuscrit.

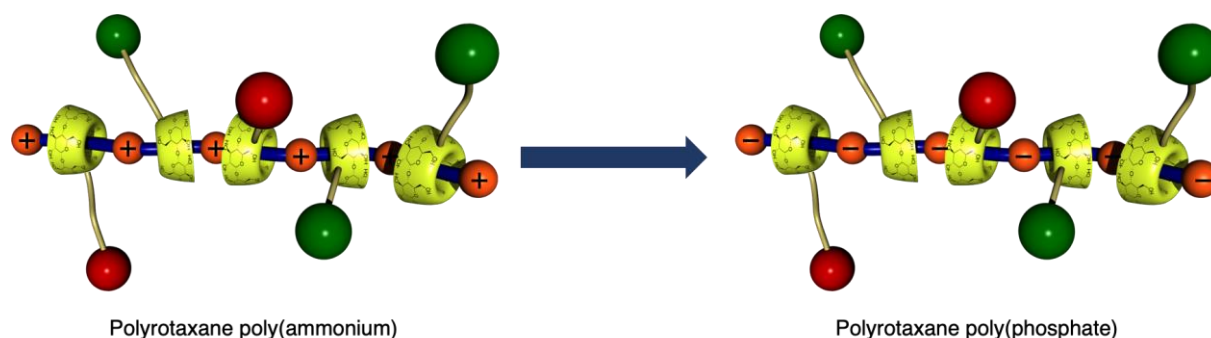


Figure 34 : passage d'un axe polycationique à polyanionique pour la formation de polyrotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées

Pour utiliser des motifs phosphoesters comme base pour les polyrotaxanes, leur synthèse doit être au préalable réalisée. Si des voies de synthèses classiques de polymérisation existent pour accéder à ces composés, une voie par couplage de phosphates pourrait se révéler intéressante par rapport aux objectifs fixés (Figure 35).

Une première approche (voie **A**) consiste à synthétiser dans un premier temps le polymère, puis d'enfiler des cyclodextrines fonctionnalisées pour obtenir un polyrotaxane bimodal avec une proportion variable et contrôlée entre les différentes cyclodextrines. La seconde approche (voie **B**) réside en l'enfilage de cyclodextrines sur des monomères alkyldiphosphoesters pour former des *pseudorotaxanes*, qui pourraient ensuite être polymérisés par réaction entre *pseudobouchons*.

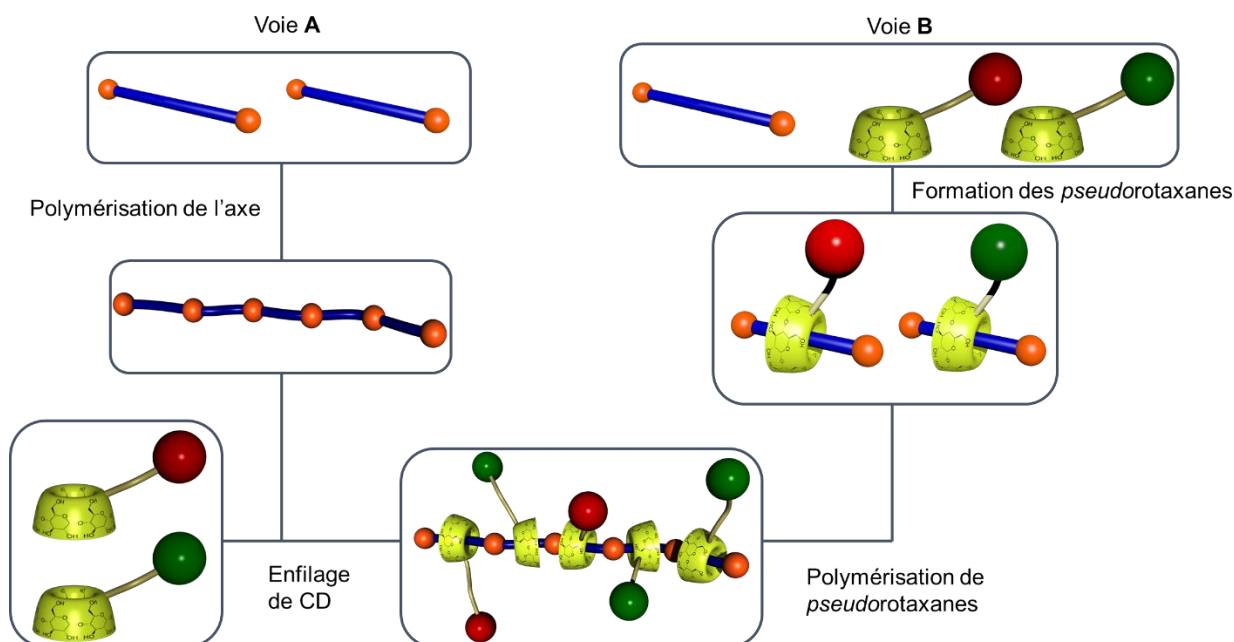


Figure 35 : stratégies d'obtention de polyrotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées

Cette deuxième voie a comme intérêt de pouvoir idéalement conduire à la formation d'un polyrotaxane avec un haut taux de couverture, contrairement à la voie **A**, pour laquelle l'enfilage de macrocycles sur un polymère déjà formé est limité par la diffusion des cyclodextrines sur l'axe. La concentration en Gadolinium étant un paramètre important en prendre en compte en IRM, il serait préférable de pouvoir maximiser la quantité de cyclodextrines fonctionnalisées par des complexes de Gadolinium sur l'assemblage final. Nous avons ainsi choisi d'explorer ces deux voies pour mettre au point ces nouveaux agents d'imagerie.

Le premier chapitre sera centré sur les études d'optimisation d'axes modèles alcanes diphosphates et les propriétés des *pseudorotaxanes* de cyclodextrines correspondants. Le deuxième chapitre portera sur les différentes stratégies de synthèses envisagées pour accéder à des polyrotaxanes par polymérisation de rotaxanes. Finalement, le troisième chapitre sera consacré au développement de polyrotaxanes basés sur des polyalkylphosphates obtenus par enfilage de cyclodextrines, sur un axe polymère préalablement synthétisé par métathèse. La synthèse, les études des composés et des assemblages, ainsi que les caractérisations des assemblages finaux en imagerie seront détaillées.

Chapitre I : Études
Conformationnelles de
Pseudorotaxanes

Au cours du développement de cette plateforme d'imagerie, les résultats obtenus avec les polyrotaxanes à base de poly(ammonium)s nous ont conduit à envisager l'utilisation d'un axe polyanionique à base de poly(phosphoester)s pour résoudre les problèmes de toxicité rencontrés. L'étude des propriétés d'inclusion de ces polymères et de leur monomère correspondant avait été amorcée et a donc été poursuivie dans le cadre de cette thèse. Dans ce premier chapitre, nous aborderons la synthèse et la caractérisation de ces composés, ainsi que les différentes études réalisées pour comprendre davantage la formation de ces assemblages avec la cyclodextrine.

I. Synthèses et études de *pseudorotaxanes* diphosphates

Pour développer une voie de synthèse de polyrotaxanes comprenant des fonctions phosphates le long de la chaîne polymère, notre attention s'est dirigée vers une stratégie de polymérisation impliquant le couplage entre deux fonctions phosphates. Pour cela, il est envisagé l'activation d'un phosphate puis l'addition d'un second pour donner lieu à la formation d'une fonction pyrophosphate (Figure 1.1).

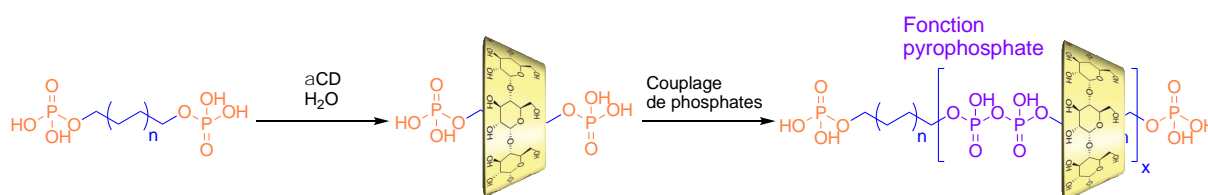


Figure 1.1 : représentation schématique de la synthèse envisagée par couplage de phosphates

Les méthodes de synthèse les plus décrites consistent à réaliser l'activation d'un phosphate par l'ajout d'un agent d'activation, puis addition d'un deuxième phosphate pour former le pyrophosphate.⁹⁷ Il pourrait être envisagé de faire dans un premier temps le *pseudorotaxane*, et ensuite utiliser cette stratégie de couplage entre des phosphates pour obtenir un polyrotaxane de type poly(pyrophosphate). À noter que l'appellation polyrotaxane est ici employée puisqu'il a été démontré, au cours de la thèse de Jérémy Scelle, qu'une fois l'assemblage formé les cyclodextrines enfilées sur le polymère sont bloquées par les unités pyrophosphates, qui jouent alors le rôle de bouchons. Pour cela, l'axe des *pseudorotaxanes* utilisés pourrait correspondre à des alcanediphosphates, dont un début d'étude a été réalisé dans le projet, et dont la structure semble avoir les caractéristiques requises pour mettre au point cette stratégie.

C'est à travers cette approche que nous avons repris la synthèse et l'étude de ces *pseudorotaxanes* à base de diphosphates (Figure 1.2).

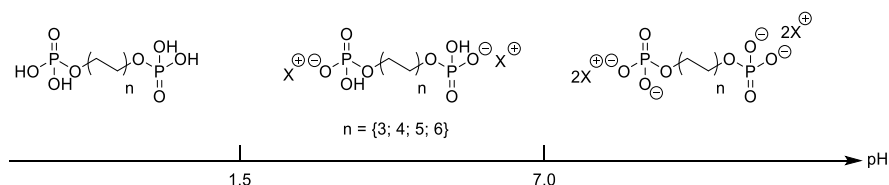


Figure 1.2 : Structures et états de protonation des axes alkyldiphosphates en fonction du pH

D'après leur structure, deux paramètres principaux devraient avoir une influence sur l'enfilage du macrocycle dans l'eau. Tout d'abord, la longueur de l'axe, qui a varié entre 6 et 12 carbones. Ces longueurs sont choisies afin d'avoir d'une part une longueur suffisante pour pouvoir observer l'enfilage d'au moins une cyclodextrine sur l'axe tout en permettant une solubilité de l'assemblage dans l'eau. Si la chaîne carbonée est trop longue, des problèmes de solubilité peuvent être rencontrés, la longueur maximale a donc été établie à 12 carbones.

Le deuxième aspect à prendre en compte est lié à l'état de protonation des groupements phosphates présents à chaque extrémité de l'axe, et donc au pH. En effet, la présence ou non de charges négatives devrait influencer l'enfilage de la cyclodextrine, dont le passage pourrait être ralenti voire empêché par effet électrostatique ou encore stérique, dû à la présence de contre ions. Les pK_a de ces axes ont été étudiés précédemment et montrent d'une part une indépendance entre les deux phosphates, toutes longueurs d'axe confondues, et également des valeurs de pK_{a_1} et pK_{a_2} de l'ordre de 1.5 et de 7.0.

1. Synthèses des axes diphosphates

La chimie impliquée dans ces synthèses correspond à celle du phosphore (V). Pour accéder à des alcanediphosphates, une première approche consiste à faire réagir un alcanediol de longueur choisie avec le trichlorure de phosphoryle dans le toluène.⁹⁸ Cette réaction est illustrée avec l'axe C₁₀, axe avec lequel la réaction a été optimisée (Schéma 1.1).

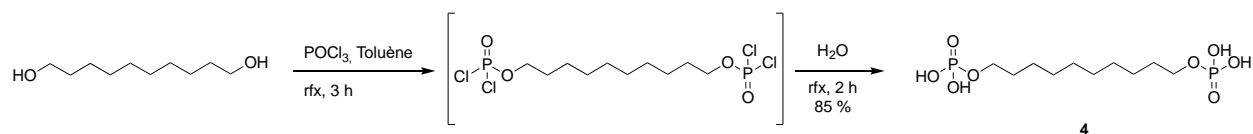


Schéma 1.1 : Première voie de synthèse proposée des axes diphosphates

La première étape consiste en une addition-élimination sur le POCl_3 , en excès (3 équivalents) par rapport au diol, pour former sélectivement un intermédiaire chloré non isolé. Après évaporation du POCl_3 restant, une seconde étape d'hydrolyse conduit à la formation du composé **4** avec un rendement de 85 %. La caractérisation des composés obtenus a montré par une combinaison de RMN ^1H et $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ la présence d'impuretés de structure similaire. Il s'agit

du produit de dialkylation d'un phosphate, présentant un signal caractéristique en $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dans le D_2O , pour un pH basique (tampon K_2CO_3) à 0.95 ppm, différent du monoalkylphosphate, présent à 4 ppm (Figure 1.3).

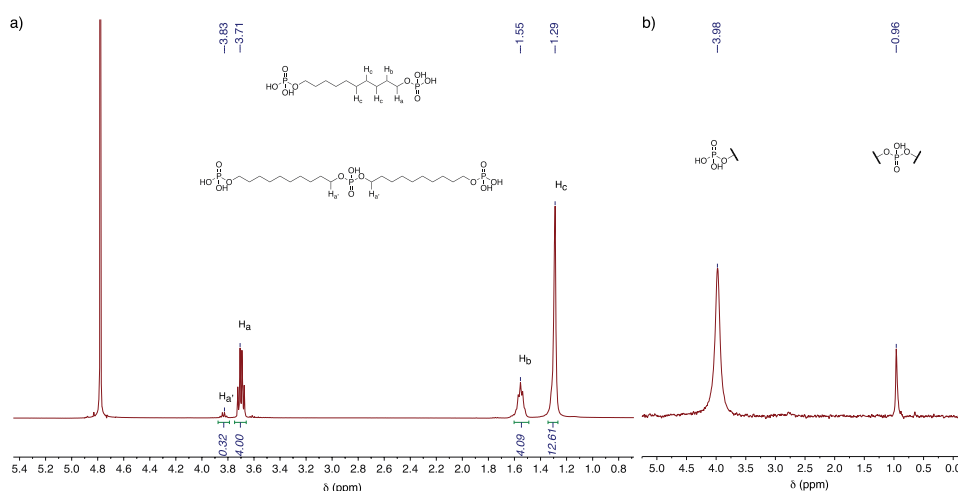


Figure 1.3 : a) spectre RMN ^1H (D_2O , 400 MHz, 300 K) et b) spectre $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (D_2O , 162 MHz, 300 K) de l'axe 4 en présence de l'impureté de synthèse

Cette impureté, également identifiable sur le spectre ^1H avec le signal à 3.80 ppm, est estimée à 25 % par rapport au produit désiré 4. Pour éviter la formation de ce produit secondaire, qui pourrait fausser les observations faites ultérieurement sur la formation de *pseudorotaxanes* avec ces axes, une voie de synthèse⁹⁹ avec des conditions différentes a été testée (Schéma 1.2).

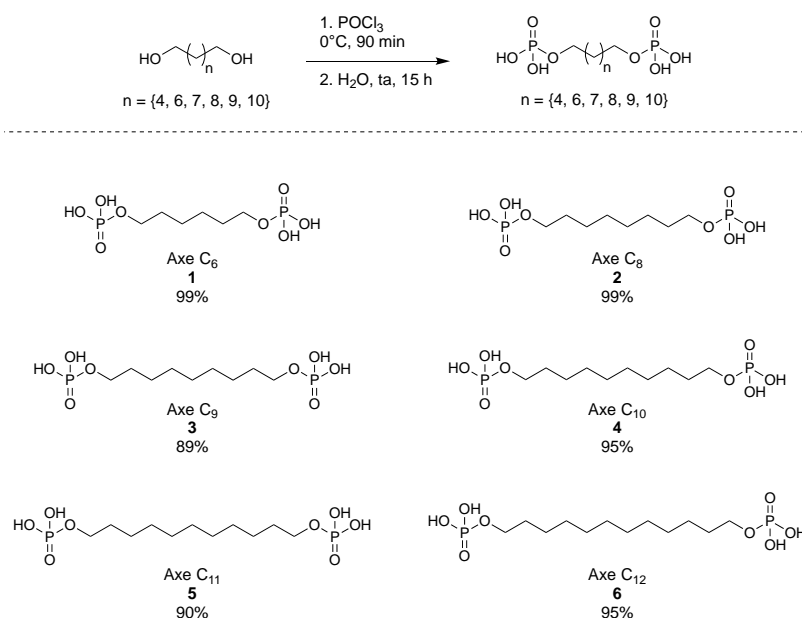


Schéma 1.2 : Deuxième voie de synthèse proposée des axes diphosphates

Après formation de l'intermédiaire chloré à 0°C dans le POCl_3 pur, puis évaporation de ce dernier et hydrolyse, le composé alkylidiphosphate est cette fois isolé avec seulement des traces de l'impureté précédemment rencontrée, avec de très bons rendements pour les différents

axes synthétisés. Ce meilleur résultat peut s'expliquer principalement par le nombre d'équivalents de POCl_3 qui est en plus large excès (5 équivalents) que précédemment, ainsi que l'ordre d'ajout des réactifs. L'ajout du diol à la solution de POCl_3 favorise la réaction conduisant à l'intermédiaire disubstitué, la réaction étant rapide et le diol ainsi toujours en défaut par rapport au POCl_3 .¹⁰⁰ La diminution de la température permet également de contrôler davantage la réaction en diminuant la réactivité. Une fois formé, l'intermédiaire est hydrolysé en conditions plus douces pour éviter une éventuelle dégradation.

Nous avons par cette méthode développé une gamme d'axes variant par leurs nombres de carbones, pouvant ensuite être étudiés pour leur capacité à former des *pseudorotaxanes* avec l' α -cyclodextrine native.^{101,102}

2. Formation en solution de *pseudorotaxanes* de cyclodextrines

Diverses méthodes d'analyses existent pour étudier la formation de complexes d'inclusion tels que des *pseudorotaxanes*. Les études de dosages constituent une des techniques les plus utilisées pour caractériser ces assemblages supramoléculaires.

a. Méthodes d'études

Parmi les méthodes analytiques existantes, nous avons décidé de nous concentrer sur la RMN et l'ITC (*Isothermal Titration Calorimetry*) afin de conduire ces études. Après avoir effectué les mesures expérimentales, les données rassemblées sont corrélées à un modèle d'assemblage pour ensuite accéder à des informations comme par exemple les constantes d'associations, les grandeurs thermodynamiques ou encore la stœchiométrie du système.¹⁰³

L'ITC permet l'étude d'un système donné par la mesure de quantité de chaleur échangée.¹⁰⁴ La quantité de chaleur Q est reliée à la variation d'enthalpie ΔH de la réaction de complexation. L'intérêt de cette approche est d'avoir accès, en plus de la constante d'association de l'assemblage attendu, aux valeurs d'enthalpie ΔH et d'entropie ΔS correspondantes. Expérimentalement parlant, le microcalorimètre se compose de deux cellules, avec une cellule de référence, et une cellule avec l'échantillon où des variations de températures vont survenir au cours du dosage. Il y aura alors une réaction de l'appareil en conséquence pour contrebalancer cette variation et ramener les deux cellules à une même température (Figure 1.4).

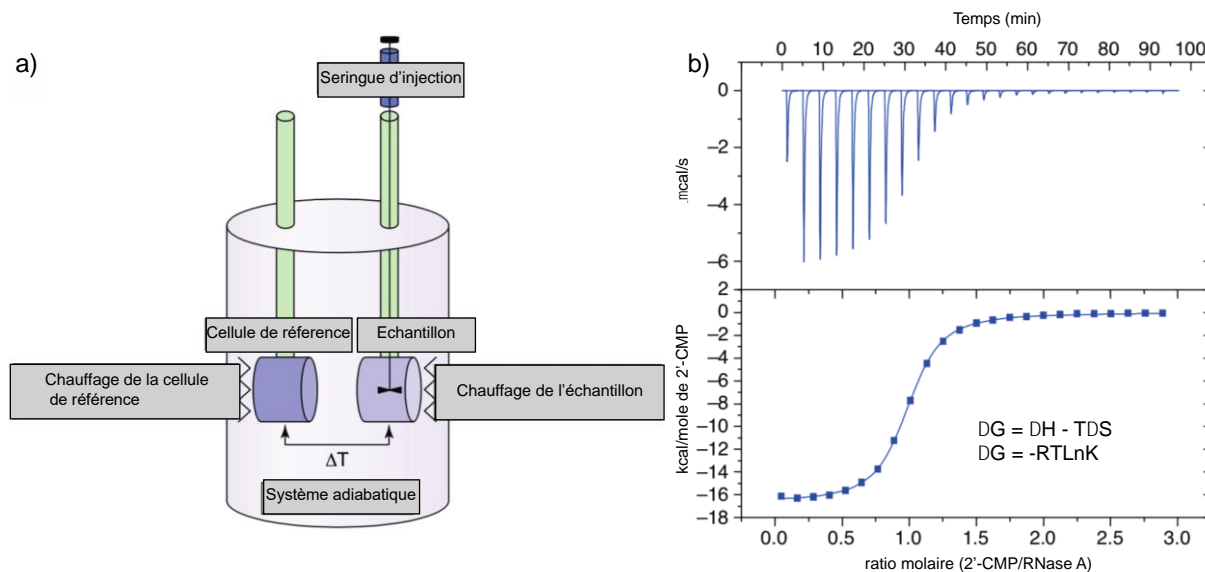


Figure 1.4 : a) cellule d'analyse ITC b) mesure de la température et « fit » obtenu en fonction du ratio molaire¹⁰⁴

L'exemple donné dans la figure 1.4.b correspond à une réaction exothermique, avec dégagement de chaleur et donc des pics négatifs. Lorsque la température est réajustée, le signal revient à sa valeur initiale et indique un retour à l'équilibre thermodynamique. Au fur et à mesure de l'ajout du ligand, la variation de chaleur est de plus en plus faible, et permet après traitement de tracer cette variation en fonction du rapport molaire (figure 1.4.b). À partir de ces données pourront être extraites les constantes d'association et la stœchiométrie, et par calcul la variation d'enthalpie libre ΔG et la variation d'entropie ΔS .

L'étude d'enfilage par RMN d'un complexe hôte-invité consiste à suivre l'ajout de quantités précises, par exemple d'un hôte à un invité en solution dans un solvant adapté. Lors d'un dosage de ce type par RMN, deux cas sont possibles concernant la formation du complexe d'inclusion (Figure 1.5). Lorsque le mélange est fait entre l'hôte **H** et l'invité **G**, un équilibre a lieu entre les espèces libres et les espèces enfilées **HG**. Si cet échange entre les deux espèces est plus rapide que le temps d'acquisition de la RMN, il s'agira d'un échange rapide (Équation 7.2). Le signal observé sera alors un signal moyenné dont le déplacement chimique va tendre vers l'espèce en formation, **HG** selon l'équation 7.2. Dans le cas d'un échange lent par rapport au temps d'acquisition, les deux espèces en équilibre sont observables à un instant donné, ainsi il sera distingué deux signaux dont les intensités vont évoluer à la faveur de **HG**, en cours de formation par ajout de l'invité. Dans ce cas, il est possible de remonter directement aux proportions de chaque espèce à partir des intégrations des signaux caractéristiques (Équation 7.1).

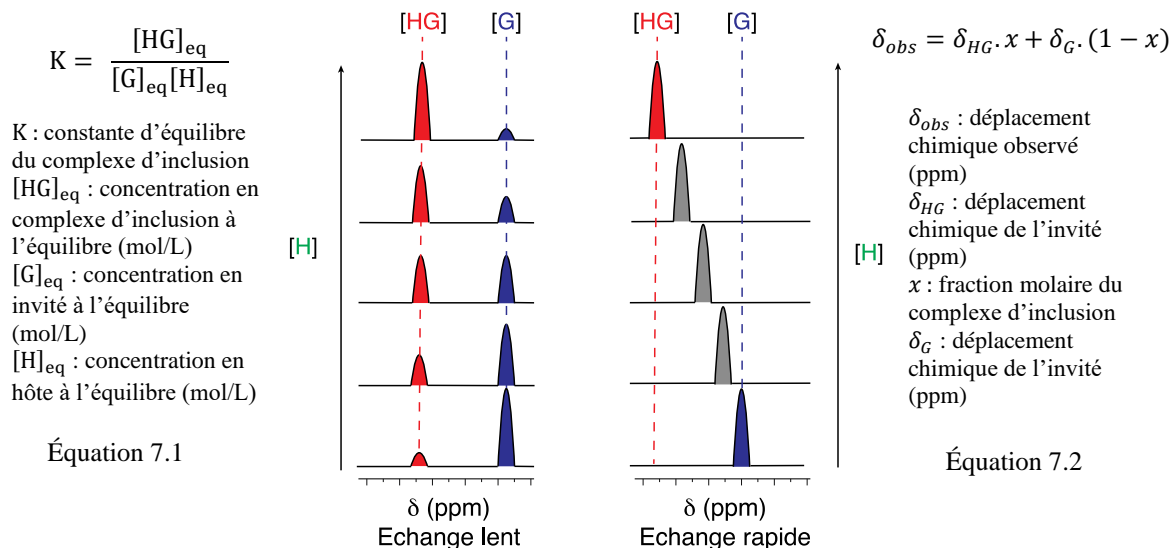


Figure 1.5 : Représentation d'un échange lent et d'un échange rapide par RMN de la formation d'un complexe d'inclusion

Des études préliminaires à des pH entre les valeurs de pK_a déterminées pour ces axes afin d'évaluer l'effet de la protonation des phosphates sur l'enfilage ont été réalisées. À pH 1 et à pH 6 un enfilage rapide a été observé avec des constantes d'associations similaires aux deux pH. Lors du passage à pH 10, l'axe totalement déprotoné devient alors majoritaire, et l'enfilage devient beaucoup plus lent, permettant d'avoir accès à sa cinétique par un suivi RMN.

Afin de confirmer ces résultats, nous avons réalisé des dosages par la méthode des ajouts dosés, suivis par RMN ^1H . De petits volumes d'une solution d' α -cyclodextrine dans le D_2O à une concentration de 56 mM sont ainsi ajoutés à une solution d'axe dans le D_2O à une concentration de 2.8 mM. Les concentrations ont été choisies et adaptées pour pouvoir faire des ajouts suffisamment précis, tout en limitant l'effet de dilution. Des ajouts de 5 μL , mesurables expérimentalement de façon précise, correspondent à 0.2 équivalent de cyclodextrine pour un volume initial d'axe de 0.5 mL. Par cette approche l'erreur apportée par les prises de volumes répétées et par la dilution sont ainsi limitées. Le comportement dans un tampon à pH 5 de ces différents *pseudorotaxanes* va être illustré avec les différents axes synthétisés.

b. Étude de l'axe C_6

Pour les alcanediphosphates étudiés ici, un échange lent par RMN est observé entre l'axe libre et le [2]*pseudorotaxane*, comme le montre l'observation des spectres protons obtenus lors du dosage effectué à pH 5 de l'axe C_6 (Figure 1.6).

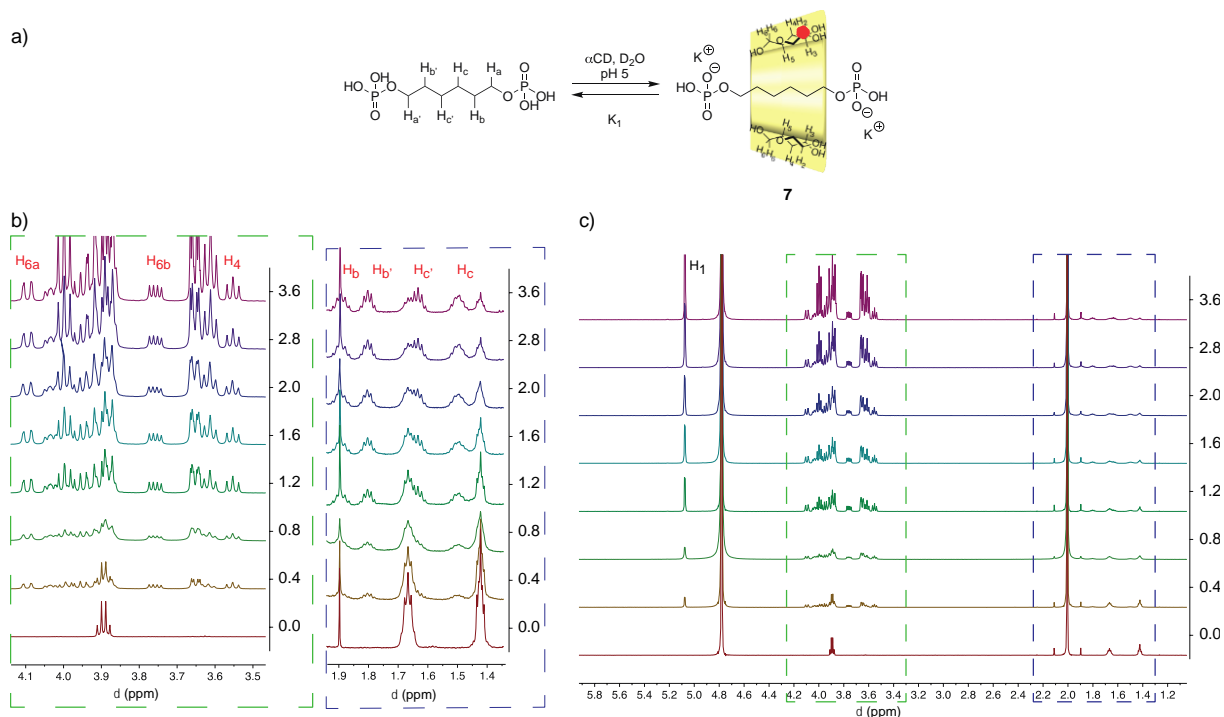


Figure 1.6 : a) Équilibre de formation du [2]pseudorotaxane **7** avec l'axe C_6 ; b) zoom sur les signaux des protons de la cyclodextrine (à gauche), zoom sur les protons de l'axe (à droite) ; c) Évolution du spectre RMN 1H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D_2O , 600 MHz, 300 K)

À pH 5, l'espèce partiellement protonée est prédominante et constitue une forme favorable au passage de la cyclodextrine sur l'axe. Au cours de l'ajout de cyclodextrine, plusieurs régions du spectre montrent des évolutions caractéristiques. La formation du complexe d'inclusion est visible au niveau des protons de la chaîne aliphatique de l'axe. La forme conique de la cyclodextrine génère notamment une désymétrisation des signaux H_b et H_c qui ne sont plus équivalents dans le [2]pseudorotaxane. Une autre indication de l'enfilage apparaît habituellement vers 5.02 ppm, correspondant à la zone des protons anomériques des unités glycosidiques de la cyclodextrine. Le signal de la cyclodextrine libre étant connu et décrit à 5.01 ppm, l'apparition d'un second signal d'intensité croissante correspond donc à celui de la cyclodextrine enfilée dans le [2]pseudorotaxane **7**. Dans le cas ici présenté, les deux signaux des anomériques sont superposés mais la formation du complexe d'inclusion est clairement visible pour les autres protons de la cyclodextrine H_{6a} , H_{6b} et H_4 . Étant donné qu'il s'agit d'un échange lent, il est possible de déterminer les pourcentages en espèces à partir de l'intégration des zones d'intérêts et ainsi d'accéder à la constante d'association du [2]pseudorotaxane (Figure 1.7). Pour cela, nous pouvons utiliser d'autres protons du [2]pseudorotaxane **7**, avec par exemple celui à 3.68 ppm correspondant aux protons H_{6b} de la cyclodextrine. Pour l'axe libre, les protons H_b de l'axe ont été intégrés.

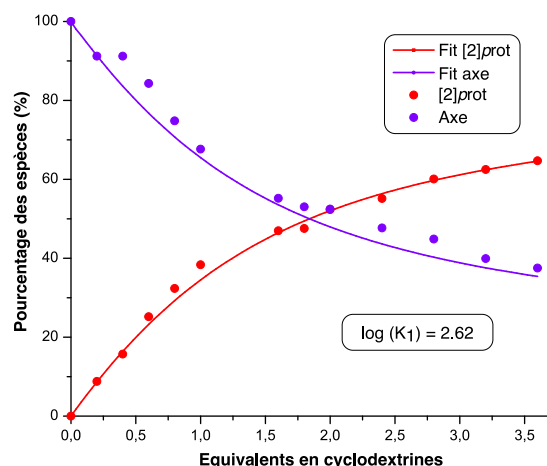


Figure 1.7 : Évolution du pourcentage de chaque espèce en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines pour le dosage de l'axe C_6 à pH 5

La constante d'association est calculée à partir d'un modèle d'équilibre 1:1 entre l'hôte et l'invité d'après les méthodes de calcul développées par le Pr. Pall Thordarson.¹⁰³ Nous obtenons ici une constante d'association $\log(K_1)$ de 2.6, en accord avec les constantes décrites pour ce type de complexe d'inclusion.^{101,105} La valeur obtenue peut alors servir de référence pour les dosages avec des axes plus longs, avec lesquels la formation de [3]*pseudorotaxanes* est attendue.

c. Études des axes de C_8 à C_{12} par RMN

À partir d'une chaîne à 8 carbones, deux complexes d'inclusions sont formés et correspondent aux [2] et [3]*pseudorotaxanes*, caractérisés par l'apparition de deux séries de nouveaux signaux. Ce type de dosage est illustré avec l'axe C_{11} (Figure 1.8) où un signal au niveau des anomériques à 5.10 ppm est d'abord observé jusqu'à 1.2 équivalents de cyclodextrines, puis commence à diminuer à la faveur d'un second signal à 5.05 ppm. L'évolution de ces signaux nous permet de dire que pour cet axe, les [2] et [3]*pseudorotaxanes* se forment successivement pour atteindre, après 4 équivalents de cyclodextrines ajoutés, une solution contenant uniquement le [3]*pseudorotaxane* et l'excès de cyclodextrine libre. D'autre part, nous observons pour les protons de la chaîne aliphatique une désymétrisation, similaire à celle observée lors du dosage de l'axe C_6 et correspondant à la formation du [2]*pseudorotaxane*, présentant une structure asymétrique par l'effet conique de la cyclodextrine. Au fur et à mesure des ajouts de cyclodextrines, cette désymétrisation disparaît, correspondant à la formation du [3]*pseudorotaxane 11* présentant une conformation symétrique dont nous détaillerons les analyses RMN dans la suite.

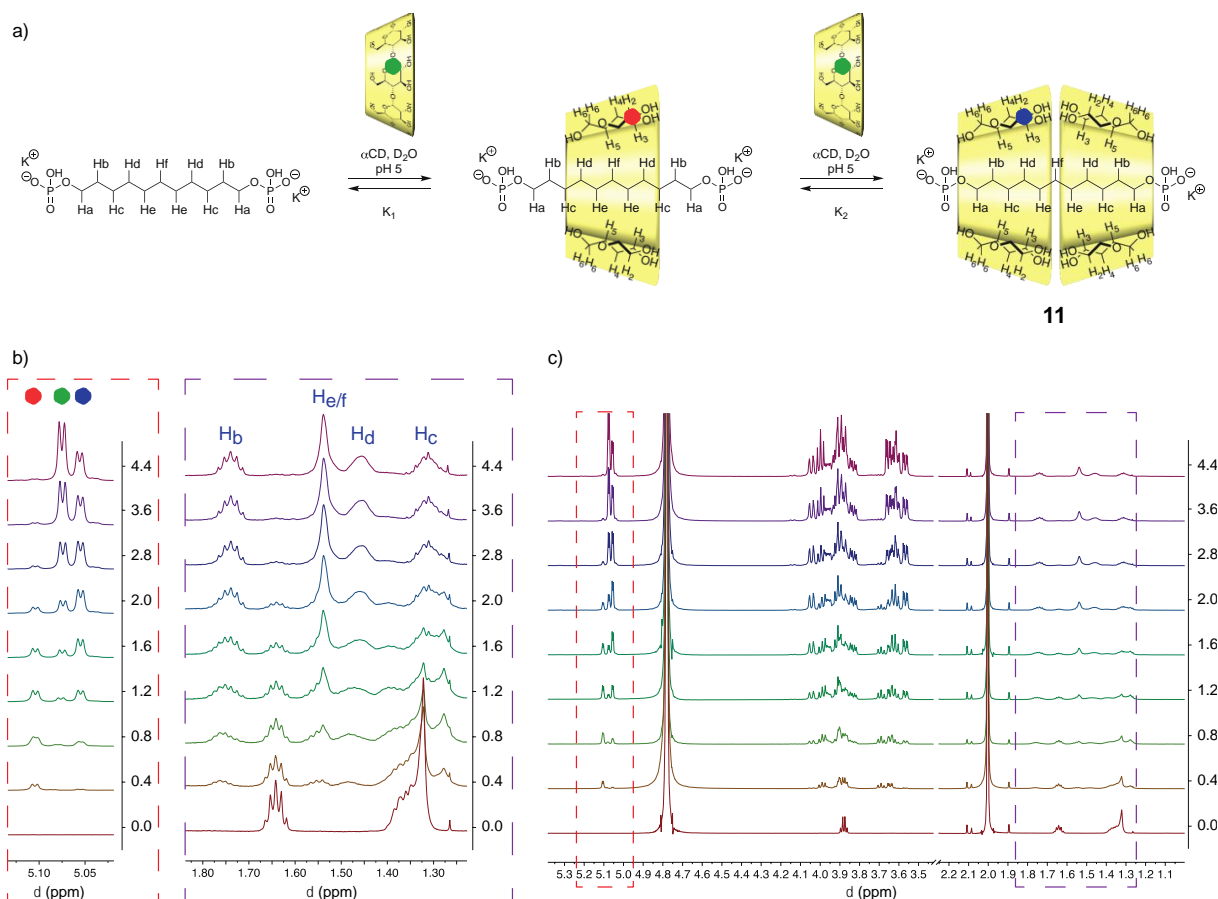


Figure 1.8 : a) Équilibre de formation du [3]pseudorotaxane **11** avec l'axe C_{11} ; b) zoom sur les signaux des protons de la cyclodextrine (à gauche), zoom sur les protons de l'axe (à droite) ; c) Évolution du spectre RMN ^1H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D_2O , 600 MHz, 300 K)

Pour tous les axes de C_8 à C_{12} un comportement similaire avec la formation de [2] et [3]pseudorotaxanes a été observée pour un pH de 5. L'intégration des protons des carbones anomériques permet de suivre l'évolution du système, et d'accéder aux pourcentages des différentes espèces ainsi qu'aux constantes d'associations pour toute la série (Figure 1.9). Les valeurs déterminées pour K_1 et K_2 sont rassemblées dans le *Tableau 1.1*.

	Axe C_8	Axe C_9	Axe C_{10}	Axe C_{11}	Axe C_{12}
K_1	1620 ± 290	2570 ± 180	5260 ± 320	4790 ± 380	5250 ± 830
K_2	1510 ± 110	930 ± 23	590 ± 11	1230 ± 35	3470 ± 280
$\log(K_1)$	3.21 ± 0.08	3.41 ± 0.03	3.72 ± 0.03	3.68 ± 0.03	3.72 ± 0.06
$\log(K_2)$	3.18 ± 0.03	2.97 ± 0.01	2.77 ± 0.01	3.09 ± 0.01	3.54 ± 0.03

Tableau 1.1 : Bilan des constantes d'associations mesurées avec les dosages RMN à pH 5

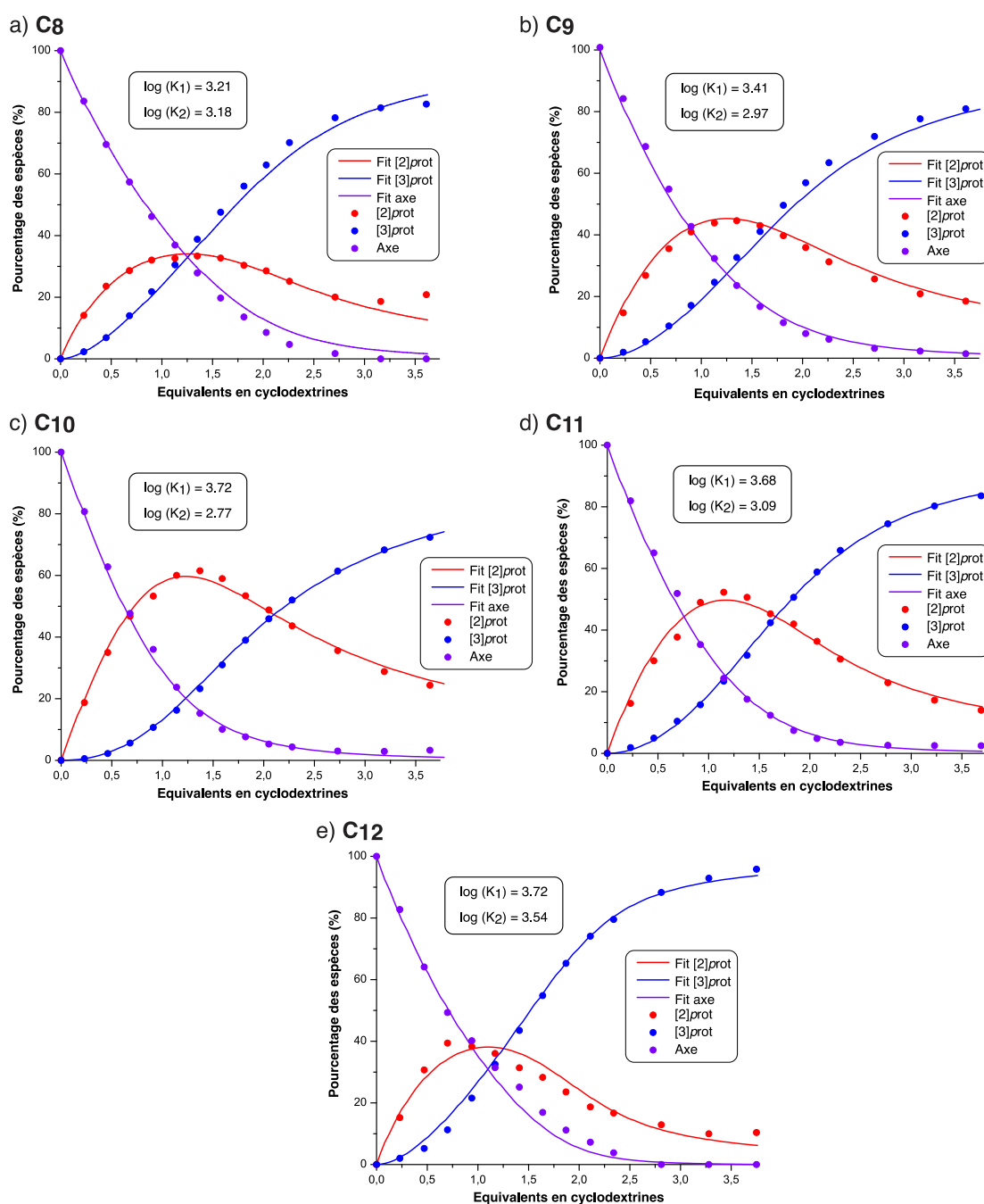
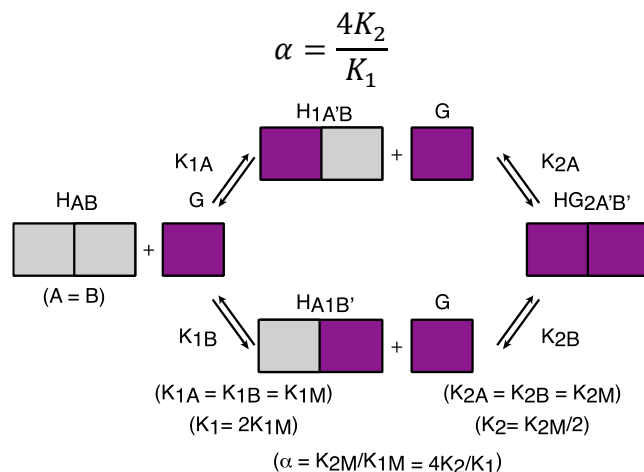


Figure 1.9 : Évolution du pourcentage des espèces en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines à pH 5 pour les axes a) C₈ b) C₉ c) C₁₀ d) C₁₁ e) C₁₂

La constante d'association K_1 associée à la formation de [2]*pseudorotaxanes* montre une augmentation relativement progressive avec l'augmentation du nombre de carbones de la chaîne, comme il est possible de le concevoir étant donnée l'augmentation de l'hydrophobicité de l'axe qui favorise l'enfilage de la première cyclodextrine. Les constantes K_2 , caractéristiques de la formation des [3]*pseudorotaxanes*, montrent une évolution différente puisqu'un minimum est observé pour l'axe C₁₀, indiquant un possible effet coopératif entre le dimère de cyclodextrines et les groupements phosphates pour les axes courts. Nous pouvons définir un

facteur de coopérativité¹⁰⁶ α en fonction du rapport entre K_2 et K_1 , qui permet d'indiquer si la formation du [3]*pseudorotaxane* est favorisée ou non par rapport à celle du [2]*pseudorotaxane*. Ici, nous nous trouvons dans le cas d'un système avec deux sites de reconnaissance identiques, et la coopérativité α s'exprime avec l'équation suivante (Tableau 1.2). Le facteur statistique de 4 reflète la dégénérescence de l'intermédiaire partiellement lié.



Équation 8 : coopérativité α pour un complexe d'inclusion 1:2 avec deux sites de reconnaissances identiques

	Axe C ₈	Axe C ₉	Axe C ₁₀	Axe C ₁₁	Axe C ₁₂
Coopérativité α	3.73 ± 0.94	1.45 ± 0.14	0.45 ± 0.04	1.03 ± 0.11	2.64 ± 0.63

Tableau 1.2 : coopérativités α calculées pour les différents axes à partir des constantes d'associations mesurées avec les dosages RMN à pH 5

Une valeur supérieure à 1 est relevée pour les axes C₈, C₉ et C₁₂ indiquant un effet favorable pour la formation du [3]*pseudorotaxane*, tandis qu'une inhibition est observée pour l'axe C₁₀ avec la seule valeur inférieure à 1 observée. Pour l'axe C₁₁, une valeur proche de 1 indique que pour cette longueur d'axe, il n'y a pas d'effet coopératif lors de l'enfilage de la deuxième cyclodextrine.

d. Études des axes C₆ à C₁₂ par ITC

De manière complémentaire aux dosages RMN, des études par ITC ont été réalisées pour confirmer les valeurs des constantes d'association, et obtenir des informations sur les paramètres thermodynamiques de la complexation. Afin de comparer avec les études réalisées par RMN, les dosages par ITC ont également été réalisés dans un tampon acétate à pH 5 (Figure 1.10).

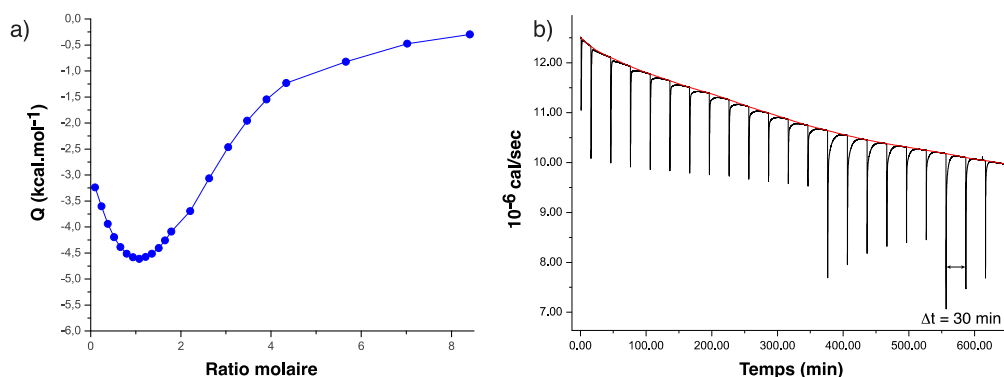


Figure 1.10 : a) exemple de courbe ITC obtenue avec l'axe C₈ ; b) puissance délivrée par l'appareil en fonction des ajouts de cyclodextrines avec l'axe C₈

Le deuxième paramètre à régler après la valeur de pH est la concentration des différents constituants. En RMN, le choix a été fait d'ajouter la cyclodextrine à une solution d'axe. Cette approche a également été choisie pour réaliser les dosages ITC, en faisant des ajouts de cyclodextrines en solution dans l'eau à 40 mM à une solution d'axe présent dans la cellule à 1 mM. Finalement, le temps entre chaque ajout a été optimisé, pour atteindre un Δt de trente minutes entre chaque injection de cyclodextrines, afin de laisser le système revenir à l'équilibre thermodynamique (Figure 1.10.b). L'ITC permet de mesurer les valeurs d'enthalpie de complexation ΔH_1 et ΔH_2 , et de remonter après calcul aux entropies de réaction ΔS_1 et ΔS_2 . Il est ainsi possible de d'évaluer la contribution enthalpique et la contribution entropique du processus global de formation des *pseudorotaxanes* (Tableau 1.3).

$$\Delta rG = \Delta rH - T\Delta rS$$

Équation 9

Axe	ΔH_1 ; ΔH_2 (kcal/mol)	ΔS_1 ; ΔS_2 (cal/mol K)	$T\Delta S_1$; $T\Delta S_2$ (kcal/mol)	ΔG_1 ; ΔG_2 (kcal/mol)
C ₆	-7,30 ; -	-15 ; -	-4.3 ; -	-3 ; -
C ₈	-4,20 ; -13,7	1.8 ; -32	0.54 ; -9.6	-4.74 ; -4.10
C ₉	-4,60 ; -11,7	0.6 ; -26	0.18 ; -7.8	-4.78 ; -3.90
C ₁₀	-5,50 ; -9,70	-2.6 ; -20	-0.78 ; -6.0	-4.72 ; -3.70
C ₁₁	-5,00 ; -14,1	-0.43 ; -33	-0.13 ; -9.9	-4.87 ; -4.20
C ₁₂	-4,70 ; -11,0	1.3 ; -21	0.39 ; -6.3	-5.09 ; -4.70

Tableau 1.3 : constantes d'équilibres et paramètres thermodynamiques déterminés par ITC

Pour la formation des [2]*pseudorotaxanes* C₈ à C₁₂, nous constatons que la contribution enthalpique est bien plus importante que la contribution entropique. Théoriquement, la formation d'un complexe d'inclusion sera favorisée par une variation d'enthalpie négative et une variation d'entropie positive. Les valeurs de $T\Delta S_1$ sont globalement faibles, à l'exception

de l'axe C₆. Pour la formation des [3]*pseudorotaxanes*, la contribution TΔS₂ n'est plus négligeable et la variation d'entropie défavorise la formation de l'assemblage. Cela traduit une diminution des degrés de liberté du système associée à des restrictions conformationnelles,¹⁰⁷ qui n'est pas compensée par la libération des molécules d'eau à l'intérieur de la cavité de la cyclodextrine. Cependant les valeurs d'enthalpie ΔH₂ sont également nettement plus négatives, montrant une compensation enthalpie/entropie qui résulte en des valeurs du même ordre de grandeur entre ΔG₁ et ΔG₂. La formation d'un réseau de liaisons hydrogènes entre les cols secondaires, ainsi que l'éventuelle interaction des cols primaires avec les phosphates terminaux peuvent justifier cette forte stabilisation enthalpique des [3]*pseudorotaxanes*. Les valeurs que nous avons déterminées tendent donc à indiquer que la formation de ces *pseudorotaxanes* est un processus favorable d'origine majoritairement enthalpique, et défavorable du point de vue entropique, surtout pour les [3]*pseudorotaxanes*. L'enfilage de cyclodextrines a été décrit sur divers axes aliphatiques dans la littérature, et montre des influences similaires avec une contribution enthalpique majoritaire pour la formation des complexes d'inclusion.^{108,109}

En plus des grandeurs thermodynamiques, les constantes d'association ont pu être déterminées, et comparées à celles obtenues avec les dosages RMN (Tableau 1.4).

Axe	(K ₁) ITC	(K ₁) RMN	(K ₂) ITC	(K ₂) RMN	α ITC	α RMN
C ₆	250 ± 10	420 ± 79	-	-	-	-
C ₈	2810 ± 170	1620 ± 290	1090 ± 50	1510 ± 110	1.55 ± 0.17	3.73 ± 0.94
C ₉	3240 ± 140	2570 ± 180	990 ± 30	930 ± 23	1.22 ± 0.09	1.45 ± 0.14
C ₁₀	3150 ± 160	5250 ± 320	620 ± 30	590 ± 11	0.79 ± 0.08	0.45 ± 0.04
C ₁₁	3630 ± 310	4790 ± 380	1130 ± 80	1230 ± 35	1.25 ± 0.19	1.03 ± 0.11
C ₁₂	5290 ± 300	5250 ± 830	3190 ± 170	3470 ± 280	2.41 ± 0.27	2.64 ± 0.63

Tableau 1.4 : Bilan des constantes d'associations mesurées par dosages ITC et RMN à pH 5

Ces dosages mettent en évidence une augmentation de la constante d'association K₁ des [2]*pseudorotaxanes* avec l'augmentation de la longueur de chaîne de l'axe, avec des valeurs qui tendent vers une valeur commune aux deux techniques pour l'axe C₁₂, mais avec une évolution sur la série globale différente par rapport à celle observée lors des dosages RMN. Les constantes K₂ sont en accord avec la RMN, et montrent un minimum pour l'axe C₁₀ avec une valeur moyenne pour K₂ de 600, et un maximum par les deux méthodes avec l'axe C₁₂ pour K₁ et K₂. Finalement, les valeurs de coopérativité présentent quelques différences, avec l'axe C₈, où α demeure tout de même positive dans les deux cas mais nettement moins marquée en ITC, et avec l'axe C₁₁, présentant une coopérativité proche de 1 en ITC et en RMN, pouvant indiquer qu'il n'y a pas d'effet coopératif spécifique pour cet axe. Pour les axes C₉, C₁₀ et C₁₂, les

coopérativités obtenues sont relativement proches, et traduisent les mêmes effets par les deux méthodes de dosage. Pour conclure sur la comparaison entre ces deux techniques, les valeurs moyennes pour les K_1 et K_2 de tous ces axes sont calculées, et rassemblées dans le Tableau 1.5.

Axe	K_1	K_2	α
C ₆	330 ± 89	-	-
C ₈	2210 ± 460	1300 ± 160	2.64 ± 1.10
C ₉	2900 ± 320	960 ± 53	1.33 ± 0.23
C ₁₀	4200 ± 480	600 ± 41	0.62 ± 0.11
C ₁₁	4210 ± 690	1180 ± 115	1.14 ± 0.31
C ₁₂	5270 ± 1130	3330 ± 450	2.53 ± 0.90

Tableau 1.5 : valeurs moyennes pour K_1 et K_2 des différents axes de la série, déterminées à partir des dosages RMN et ITC à pH 5

Sur ces moyennes calculées, nous pouvons tirer plusieurs conclusions. L'augmentation de K_1 avec la longueur de la chaîne est toujours présente, avec une incertitude sur les valeurs plus importantes que pour les valeurs de K_2 , provenant principalement de l'incertitude observée lors des dosages par RMN. Pour les constantes K_2 , les incertitudes sont plus restreintes et un minimum est bien constaté avec l'axe C₁₀. Cela est en accord avec une coopérativité inférieure à 1 pour cet axe, tandis que des valeurs proches de 1 sont déterminées pour C₉ et C₁₁, et des valeurs supérieures à 1 pour C₈ et C₁₂.

3. Caractérisation et étude cinétique à pH 10

Lorsque le pH devient basique, nous avons observé une différence importante dans la formation et la stabilité des [3]*pseudorotaxanes*. À pH 10, les phosphates sont totalement déprotonés et la formation d'un complexe d'inclusion entre l'axe et la cyclodextrine devient beaucoup plus long.

a. Étude cinétique à pH 10

Nous nous sommes intéressés à pH 10 à la cinétique d'enfilage des cyclodextrines sur les différents axes à température ambiante. Des études similaires avaient été réalisées dans ce projet⁹³ avec l'axe C₆ formant le [2]*pseudorotaxane* **7**, et les axes C₈, C₁₀ et C₁₂ formant les [3]*pseudorotaxanes* **8**, **10** et **12**. Pour compléter ces études, nous avons donc réalisé ces suivis cinétiques avec les axes C₉ et C₁₁, et déterminé les constantes cinétiques et d'équilibres associées (Figure 1.11).

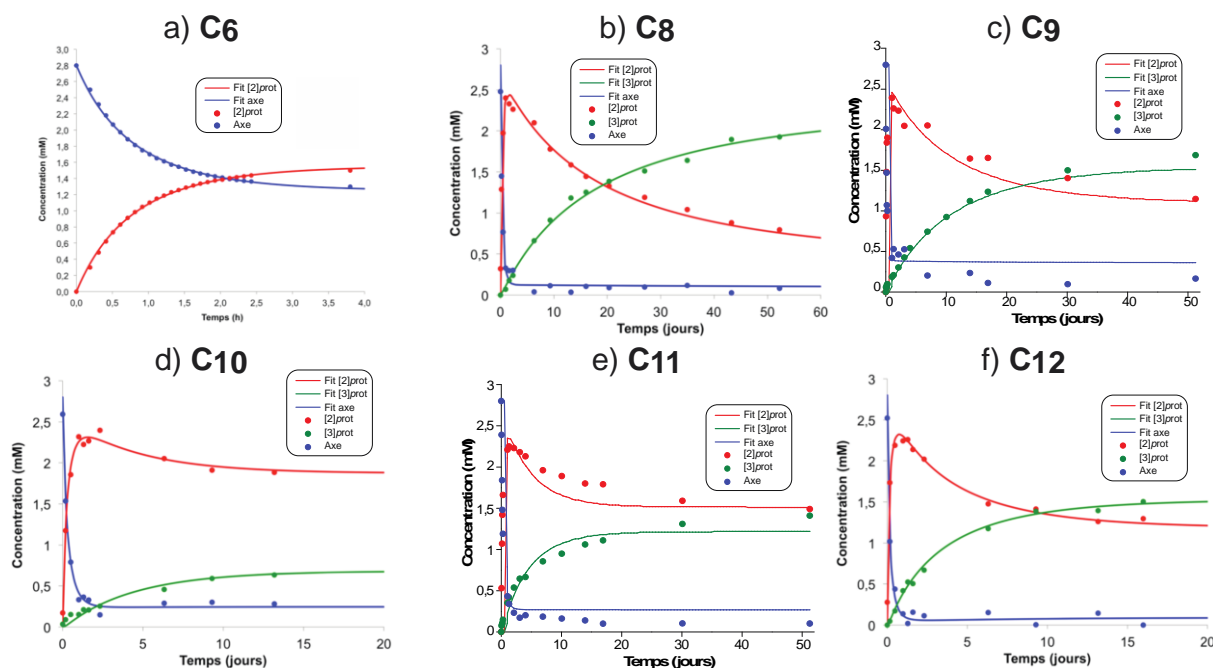


Figure 1.11 : suivis cinétiques d'enfilage de cyclodextrines à 25°C avec les axes a) C₆ b) C₈ c) C₉ d) C₁₀ e) C₁₁ f) C₁₂. Les suivis cinétiques des axes C₆, C₈, C₁₀ et C₁₂ ont été effectués par Jérémy Scelle

Avec une approche similaire aux dosages effectués à d'autres valeurs de pH, l'intégration des protons anomériques des différentes espèces présentes permet de remonter aux constantes d'équilibre, et ici cinétiques. Ces suivis cinétiques sont réalisés en respectant la stœchiométrie attendue pour chaque assemblage, c'est-à-dire avec 1 équivalent de cyclodextrine pour l'axe **1**, et 2 équivalents pour les axes **2** à **6**.

Pour l'axe C₆, l'étude cinétique avait été réalisée avec une stœchiométrie de 1:1 entre l'axe et la cyclodextrine, pour finalement observer que seulement quelques heures sont nécessaires pour atteindre un équilibre thermodynamique, et mesurer une constante d'association de l'ordre de 1000, légèrement supérieure à celle à pH acide. Si la série est analysée dans son ensemble, nous constatons que le [2]*pseudorotaxane* est toujours formé rapidement, en quelques jours, et que la formation du [3]*pseudorotaxane* est bien plus lente et se fait quant à elle en plusieurs semaines avant d'atteindre l'équilibre. Le suivi cinétique à pH 10 permet d'accéder à des grandeurs telles que les constantes de vitesse de formation et de dissociation, respectivement notées k_i et k_{-i} ($i = 1, 2$). À partir de ces grandeurs, les constantes d'équilibre (Équation 10) sont accessibles et permettent de caractériser les assemblages obtenus à pH 10 (Tableau 1.6).

$$K_i = \frac{k_i}{k_{-i}} \quad (i = 1 ; 2)$$

Équation 10

Axes	$10^4 k_1 (\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	$10^7 k_{-1} (\text{s}^{-1})$	$10^4 k_2 (\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	$10^7 k_{-2} (\text{s}^{-1})$	$\log (K_1) ;$ $\log (K_2)$	α
C ₆	761 ± 5.5	767 ± 16	-	-	3.0 ; -	-
C ₈	78.1 ± 3.9	10.6 ± 2.2	2.07 ± 0.094	0.25 ± 0.12	3.9 ; 3.9	4.5
C ₉	153 ± 14	32 ± 12	2.3 ± 0.25	2.34 ± 0.63	3.7 ; 3.0	0.79
C ₁₀	88.2 ± 4.4	18.7 ± 2.8	3.17 ± 0.47	14 ± 3.2	3.7 ; 2.4	0.19
C ₁₁	89.4 ± 6.2	6.8 ± 5.4	4.4 ± 0.44	9.1 ± 1.4	4.1 ; 2.7	0.15
C ₁₂	185 ± 12	6.4 ± 2.9	10.71 ± 0.8	3.84 ± 0.86	4.5 ; 3.4	0.39

Tableau 1.6 : récapitulatif des constantes cinétiques et d'équilibres pour les [2] et [3]pseudorotaxanes des axes C₆ et C₈ à C₁₂. Les valeurs grisées ont été déterminées par Jérémy Scelle

Ces données mettent tout d'abord en évidence une constante de vitesse de formation supérieure pour le [2]pseudorotaxane C₆ k_1 par rapport aux autres axes. Pour les axes C₈ à C₁₂, les valeurs de k_1 et k_2 sont globalement constantes sur la série, à l'exception de l'axe C₉ pour la formation du [2]pseudorotaxane, ce qui tend à montrer que la barrière cinétique que constituent les phosphates déprotonés est indépendante de la longueur de la chaîne alkyle. Cette augmentation reste en accord avec toutes les études décrites jusqu'ici, justifiée par l'augmentation de l'hydrophobicité de la chaîne aliphatique des axes. En revanche, k_1 est toujours supérieure à k_2 sur toute la série, indiquant bien que l'enfilage du premier invité sur l'axe se fait plus facilement que pour le second. La barrière d'activation pour l'enfilage de la deuxième cyclodextrine est alors plus importante, et vient justifier les valeurs observées.

Concernant les constantes de vitesse de dissociation, un maximum est observé pour la série avec l'axe C₁₀, à la fois pour k_{-1} et k_{-2} . Cela peut traduire que l'enfilage de la deuxième cyclodextrine est le plus difficile pour cette longueur, ce qui rejoint les conclusions faites avec les dosages RMN et ITC. Une anomalie ressort dans ce tableau avec les valeurs de k_1 et k_{-1} de l'axe C₉, d'un ordre de grandeur supérieur par rapport à la tendance de la série. Ceci peut s'expliquer par l'observation d'une superposition des signaux anomériques de la cyclodextrine libre et du [2]pseudorotaxane, à pH 10, et qui génère ainsi une erreur dans la mesure des intégrations. Ce phénomène est le plus présent avec l'axe C₉, et engendre une surestimation des valeurs obtenues pour les constantes de vitesse de ce [2]pseudorotaxane.

Ceci a également un effet sur la détermination des constantes K_1 et K_2 , et sur la coopérativité α de cet axe. Les valeurs observées pour ces trois grandeurs restent cependant plutôt cohérentes avec le reste de la série, qui affiche des minimums pour K_1 et K_2 avec l'axe C₁₀, et des coopérativités inférieures à 1, à l'exception de l'axe C₈.

b. Caractérisation des [3]*pseudorotaxanes*

Si l'enfilage des cyclodextrines devient plus lent à pH 10, le désenfilage est aussi nettement ralenti. Une méthode de purification a pu être mise au point afin d'isoler les [3]*pseudorotaxanes* et pouvoir ainsi faire la caractérisation totale de ces assemblages. La préparation du [3]*pseudorotaxane* en milieu acide avec excès de cyclodextrines, suivi d'un passage à pH 10 par ajout de carbonate de potassium, puis précipitation dans le DMF permet après filtration de récupérer l'assemblage en proportion très majoritaire par rapport à l'axe libre, la cyclodextrine libre ou le [2]*pseudorotaxane*.

La caractérisation des *pseudorotaxanes* a ainsi été rendue possible, et réalisée par Jérémy Scelle avec les axes **8**, **10** et **12**, puis complétée avec les axes **9** et **11**, qui vont être présentés à titre d'exemples (Figure 1.12).

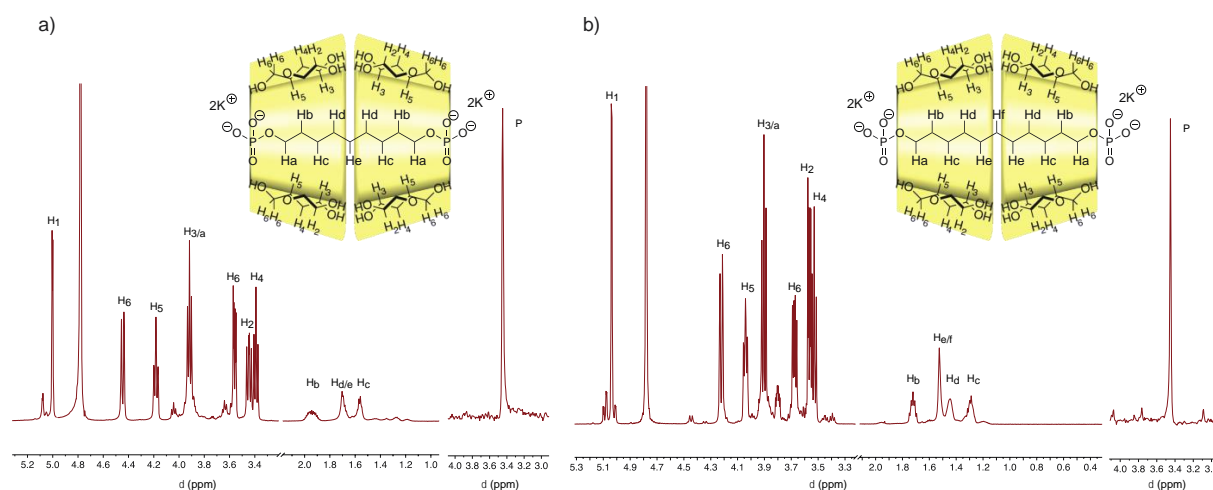


Figure 1.12 : a) spectres ^1H et $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ pour le [3]*pseudorotaxane* C₉ **9** (pH 10, D₂O, 600 MHz, 300 K) ; b) spectres ^1H et $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ pour le [3]*pseudorotaxane* C₁₁ **11** (pH 10, D₂O, 600 MHz, 300 K)

La caractérisation de ces *pseudorotaxanes* commence avec les spectres ^1H et $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Le spectre $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ ne révèle qu'un seul signal associé au [3]*pseudorotaxane* à 4.39 ppm, ce qui tend à indiquer la formation d'un dimère de cyclodextrine symétrique soit tête-à-tête, soit queue-à-queue. Pour élucider cette question, l'analyse des RMN 2D permet d'avoir de nombreuses informations (Figure 1.13). L'expérience 2D HOESY entre le ^{31}P et le ^1H pour l'axe C₉, mais également C₈ et C₁₀, montre des corrélations entre les phosphores de l'axe et les protons H_{5/6} des cyclodextrines et ceux H_a de l'axe, indiquant que la couronne primaire est orientée vers les groupements phosphates, ainsi le dimère correspondant est celui avec la conformation tête-à-tête.

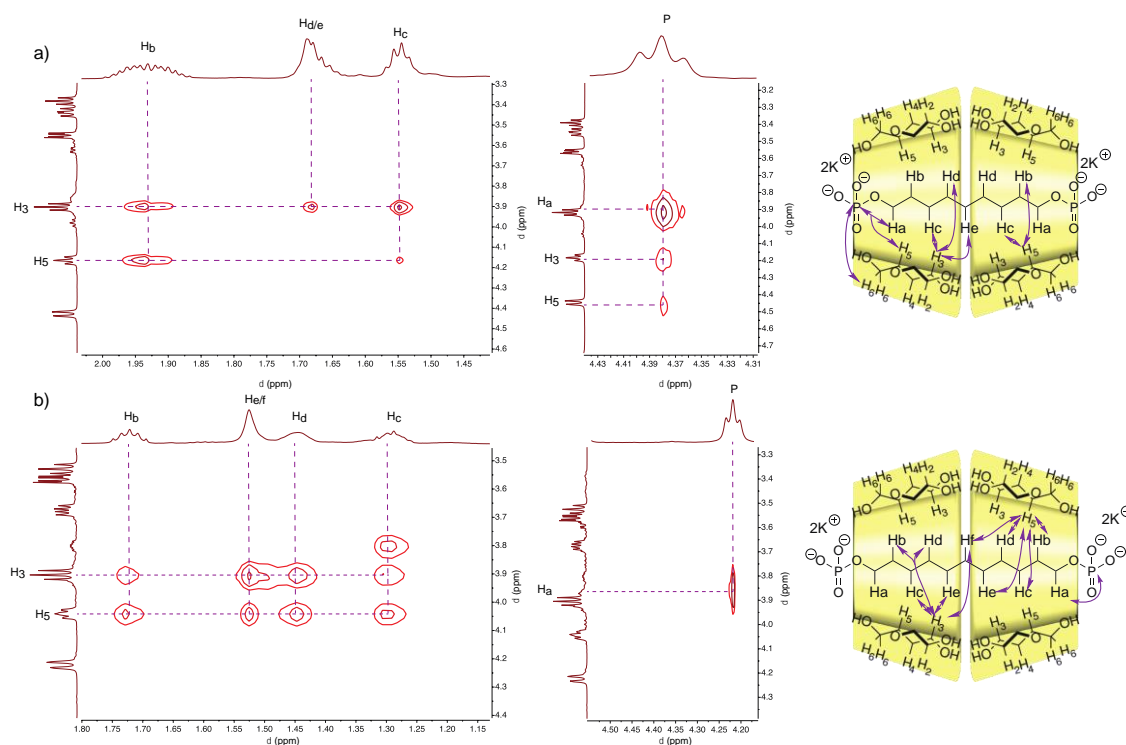


Figure 1.13 : a) zoom des spectres NOESY et HOESY ^{31}P - ^1H pour le [3]pseudorotaxane C_9 (pH 10, D_2O , 600 MHz, 300 K) ; b) zoom des spectres NOESY et HOESY ^{31}P - ^1H pour le [3]pseudorotaxane C_{11} (pH 10, D_2O , 600 MHz, 300 K)

De cette manière, il y a donc un réseau de liaisons hydrogènes favorable entre les deux cols secondaires, comme observé avec d'autres types de rotaxanes de cyclodextrines avec des groupements amines ou encore acides carboxyliques.¹¹⁰ Pour l'axe C_{11} , une corrélation est observée avec seulement les protons H_a de la chaîne de l'axe, correspondant également au résultat observé avec l'axe C_{12} . L'obtention des *pseudorotaxanes* peut également être démontrée par analyses des spectres 2D NOESY, en mettant en évidence des corrélations spatiales entre les protons de la chaîne aliphatique de l'axe et les protons orientés vers l'intérieur de la cavité de la cyclodextrine, à savoir les protons H_3 et H_5 . Dans le cas de l'axe C_9 , une corrélation spatiale apparaît entre les protons H_3 et l'ensemble de la chaîne de l'axe. Les protons H_5 ne corrélaient qu'avec les protons H_b et H_c situés vers les extrémités de la chaîne, confirmant la conformation tête-à-tête des cyclodextrines. Pour l'axe C_{11} , une corrélation avec tous les protons de l'axe de H_b à H_f est observée à la fois pour H_3 et pour H_5 .

Finalement, un spectre RMN DOSY (*Diffusion Ordered Spectroscopy*)¹¹¹ permet de caractériser les composés présents dans un échantillon par leur coefficient de diffusion, et ainsi de justifier ou non l'obtention d'une molécule entrelacée. Le coefficient de diffusion d'une molécule est définie par l'équation de Stokes-Einstein, inversement proportionnel au rayon hydrodynamique de l'échantillon. La DOSY permet d'apporter une caractérisation supplémentaire des *pseudorotaxanes*, en vérifiant l'obtention d'un même coefficient de

diffusion pour les protons de l'axe et des cyclodextrines enfilées, illustrée par la carte 2D (Figure 1.14).

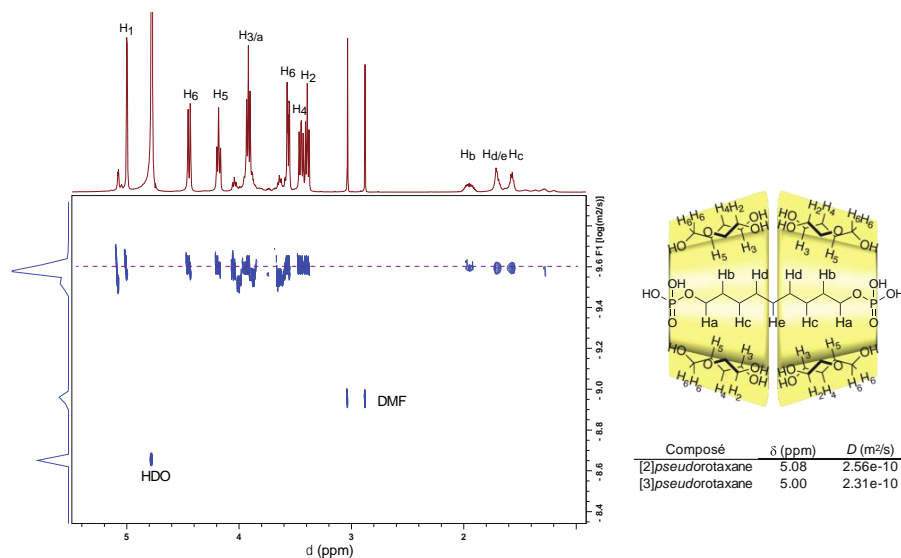


Figure 1.14 : spectre 2D DOSY obtenu après purification du [3]pseudorotaxane **9** (pH 5, D_2O , 600 MHz, 300 K)

Avec cet exemple fait avec l'axe C_9 (axe C_{11} en Annexes), nous observons bien un alignement de tous les signaux décrits pour le [3]pseudorotaxane **9**, présentant entre autres des traces de [2]pseudorotaxane possédant bien un coefficient de diffusion plus élevé ($D = 2.56 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), correspondant à une taille plus petite.

II. Études conformationnelles des *pseudorotaxanes*

Si les *pseudorotaxanes* avec axes diphosphates ont dans un premier temps été étudiés en solution par RMN et par ITC, d'autres techniques d'analyses peuvent être utilisées pour apporter des informations structurales, avec notamment la détermination de structure par diffraction rayons X qui permet de comprendre la conformation adoptée par les différents *pseudorotaxanes* à l'état solide.

1. Études à l'état solide par DRX

Pour caractériser les structures à l'état solide des *pseudorotaxanes*, leur cristallisation a été effectuée. Elle a été réalisée par diffusion liquide-liquide de DMF à une solution de [3]pseudorotaxanes dans l'eau tamponné à pH 10 par ajout de K_2CO_3 . Dans un premier temps, les longueurs C_8 , C_{10} et C_{12} ont été étudiées lors de la thèse de Jeremy Scelle (Figure 1.15).

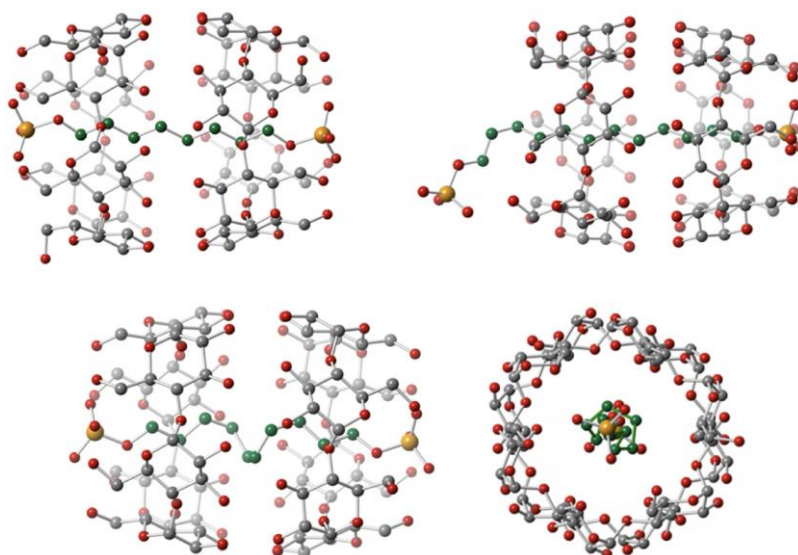


Figure 1.15 : structure cristallographique des [3]pseudorotaxanes C_8 (en haut à gauche) et C_{12} (en haut à droite) ; structure cristallographique du [3]pseudorotaxane C_{10} (en bas au centre)

Une maille de type tétragonale P_{42212} a été observée pour le [3]pseudorotaxane C_8 , avec une conformation tête-à-tête du dimère de cyclodextrines, qui correspond à celle déterminée en solution par RMN 2D. La chaîne carbonée adopte une conformation totalement étendue en ‘anti’ et présente une distance de 14.2 Å entre les deux phosphores terminaux. Une distance moyenne de 2.82 Å est observée entre les oxygènes du col secondaire des deux cyclodextrines, valeur en accord avec les structures de [3]rotaxanes de cyclodextrines.¹¹² Cette distance valide la présence de liaisons hydrogènes entre les cols secondaires des deux cyclodextrines. Des distances similaires sont déterminées, entre 2.59 et 2.70 Å, entre les hydroxyles des cols primaires et l’oxygène terminal du phosphate, indiquant également une possible formation de liaison hydrogène contribuant à la stabilisation de l’assemblage. Pour une chaîne à 12 carbones, sa longueur est trop grande pour observer cette double interaction entre phosphate et col primaire de cyclodextrine. Cette interaction a seulement lieu pour un phosphate, tandis que le deuxième montre une interaction intermoléculaire avec des hydroxyles du col secondaire provenant d’un autre dimère de cyclodextrines de la maille cristalline. La chaîne carbonée est quant à elle en conformation étendue.

Pour l’axe de 10 carbones, le dimère de cyclodextrines tête-à-tête est toujours présent, avec une distance moyenne de 2.82 Å entre les oxygènes, et une distance de 2.65 Å entre les oxygènes des phosphates et les oxygènes des cols primaires. En plus de cela, la distance Phosphore-Phosphore (14.2 Å) est identique à celle observée dans le cas du *pseudorotaxane* C_8 . Avec des dimensions relativement identiques mais deux carbones supplémentaires, il apparaît donc qu’une compression de la chaîne alkyle a lieu dans cet assemblage avec des conformations

‘gauches’ et une hélicité induite de la chaîne. Cette compression peut s’expliquer notamment par la présence du dimère de cyclodextrines et d’une interaction supramoléculaire stabilisante entre celui-ci et les phosphates terminaux, compensant ainsi l’énergie nécessaire à la torsion de la chaîne.

Pour compléter ces études par DRX, nous avons cherché à cristalliser également les [3]*pseudorotaxanes* des axes C₉ et C₁₁. Ces cristallisations ont été réalisées dans des conditions similaires aux autres axes, et ont permis d’observer la formation de deux polymorphes, avec des aiguilles et des prismes pour l’axe C₉, et la formation de fines aiguilles pour l’axe C₁₁ (Figure 1.16).

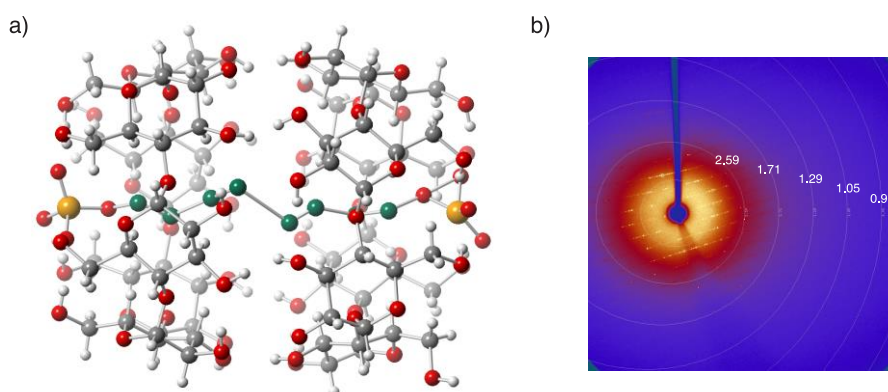


Figure 1.16 : a) structure cristallographique partielle du [3]*pseudorotaxane* C₉ ; b) cliché de diffraction obtenu pour le [3]*pseudorotaxane* C₁₁

Avec l’axe C₉, une structure partielle a ainsi pu être déterminée à partir des cristaux prismatiques, montrant à nouveau un dimère de cyclodextrine complexant l’axe. La chaîne carbonée de l’axe est désordonnée, en particulier dans sa partie centrale et n’a pu être totalement résolue. Puisque la distance Phosphore-Phosphore reste d’environ 14.3 Å, et étant donné la longueur de cet axe (15.3 Å en conformation étendue), nous pouvons estimer qu’une compression de la chaîne a bien lieu dans ce cas. En revanche, la détermination de structure pour le [3]*pseudorotaxane* **11** s’est montrée plus complexe, malgré les mesures réalisées sur différents échantillons cristallisés sur le diffractomètre du laboratoire. Les clichés de diffraction présentent des taches isolées et des trainées, indiquant un désordre dans une des dimensions du cristal. Lors de mesures effectuées au Synchrotron Soleil, la résolution des clichés était inférieure à 1.7 Å, alors qu’une résolution minimale pour ce type de molécule est estimée à environ 0.8 Å. Ces données ont ainsi été insuffisantes pour permettre la résolution de la structure.

Si nous dressons un bilan de ces études par DRX, l’axe C₈ possède la distance optimale pour maximiser les interactions entre les cols primaires et les deux phosphates terminaux. Cela pourrait ainsi justifier la très forte coopérativité positive observée lors de la formation du

[3]*pseudorotaxane*. L'étude des structures à l'état solide montre une compression inattendue de la chaîne dans le cas des axes C₉ et C₁₀. Devant cette observation imprévue à l'état solide, nous avons souhaité vérifier si ce même phénomène avait également lieu en solution. La compression de la chaîne aliphatique par le dimère de cyclodextrines pourrait expliquer les coopérativités négatives obtenues lors du dosage de l'axe C₁₀.

2. Études en solution par RMN

Afin de déterminer la conformation de la chaîne carbonée dans les [3]*pseudorotaxanes* en solution, des études complémentaires par RMN ont été effectuées. L'exploitation des spectres RMN 2D COSY et NOESY permet d'apporter des informations concernant la conformation adoptée par des chaînes alkyles impliquées dans la construction d'assemblages supramoléculaires.

a. Exemple de compression de chaîne alkyle

Ces effets de compression de chaîne alkyle ont été décrits dans la littérature,^{113–115} et notamment par le Professeur Julius Rebek¹¹⁶ pour des invités alcanes dans des capsules moléculaires auto-assemblées composées de dérivés imides de resorcinarène¹¹⁷ (Figure 1.17).

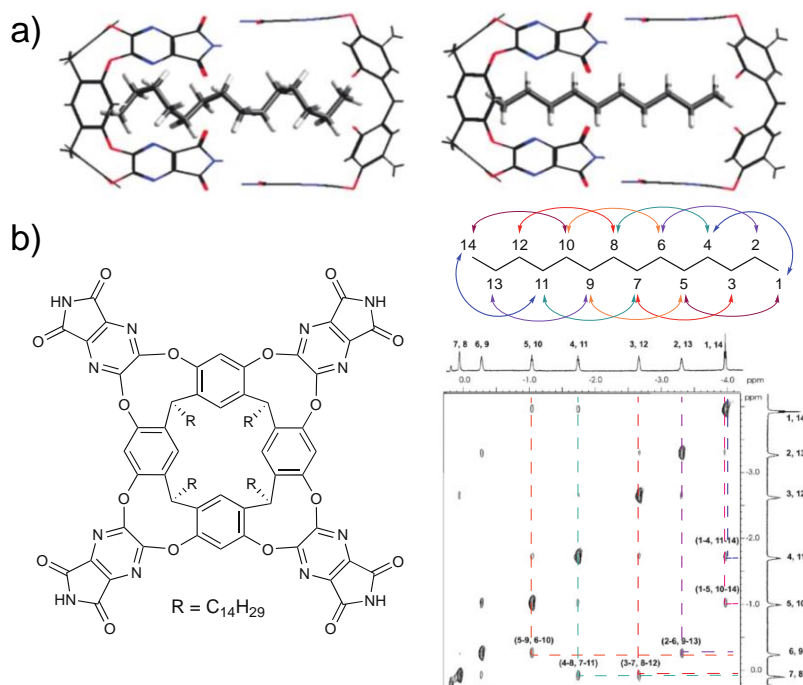


Figure 1.17 : a) Représentation simplifiée de complexes 1:1 avec chaînes alcanes *n*-C₁₄ avec une conformation hélicoïdale et chaîne alkane *n*-C₁₀ avec une conformation anti b) structure de la capsule avec des chaînes alcanes *n*-C₁₄ et spectre d'analyse NOESY de la capsule¹¹⁷

La compression de chaîne alkyle est un type de stress moléculaire induit par ces capsules moléculaires. La capsule est un tétraïmide de résorcinarène, qui tend à former des liaisons hydrogènes pour former un complexe 1:1 dans le mésitylène- d_{12} et peut ainsi accueillir dans un espace d'environ 425 \AA^3 des molécules remplissant jusqu'à 55 % de l'espace disponible, défini comme le coefficient de remplissage en solution. Pour des petites chaînes carbonées comme le *n*-pentane ou le *n*-hexane, l'encapsulation de deux molécules simultanément est possible. Avec l'augmentation de la longueur, il ne devient possible d'encapsuler qu'une seule molécule jusqu'à des chaînes de 14 carbones. L'exemple donné dans la Figure 17.b montre la différence de conformation entre un complexe 1:1 formé avec une chaîne alkyle de 10 carbones et une autre de 14 carbones. Il est observé pour la chaîne à 10 carbones une conformation *anti*, totalement étendue dans la capsule. En revanche, la chaîne à 14 carbones adopte une conformation hélicoïdale pour pouvoir être encapsulée, avec des interactions gauches dont le coût en énergie est compensé par la formation d'interactions CH- π avec les parois aromatiques de la cage.

Cette déformation peut être caractérisée par RMN, et notamment par la réalisation de spectres NOESY, avec lesquels il est possible de mettre en évidence des corrélations spatiales longues distances au sein de la chaîne *n*- C_{14} . Si les chaînes *n*- C_8 et *n*- C_{10} montrent une conformation étendue, des corrélations entre hydrogènes séparés de 3 ou 4 carbones sont observées (C_{i+3} et C_{i+4}) pour la chaîne *n*- C_{14} , et justifient la présence d'interactions gauches et d'une compression de la chaîne encapsulée.

b. Application aux [3]*pseudorotaxanes*

Après avoir constaté à l'état solide une compression de chaîne alkyle avec les [3]*pseudorotaxanes* pour les axes C_{10} et potentiellement C_9 et C_{11} , la mise en évidence de ce phénomène en solution pourrait être intéressante, et justifier les valeurs de coopérativité et les constantes thermodynamiques observées lors des dosages RMN et ITC.

Pour cela, les spectres RMN COSY et NOESY pour chaque *pseudorotaxane* ont été réalisés (Figure 1.18). Avec l'axe C_8 , des corrélations NOE sont observées entre les hydrogènes H_b et H_d (C_{i+2}) comme attendue pour une conformation de chaîne *anti*. Ces mêmes corrélations seront également retrouvées avec l'axe C_{12} , avec les protons H_b - H_d / H_c - H_e et H_d - H_f (C_{i+2}). Pour rappel, les structures cristallographiques de ces deux axes n'indiquent aucune compression de la chaîne aliphatique dans le dimère de cyclodextrines, ces corrélations NOE sont donc en accord avec les constatations faites à l'état solide.

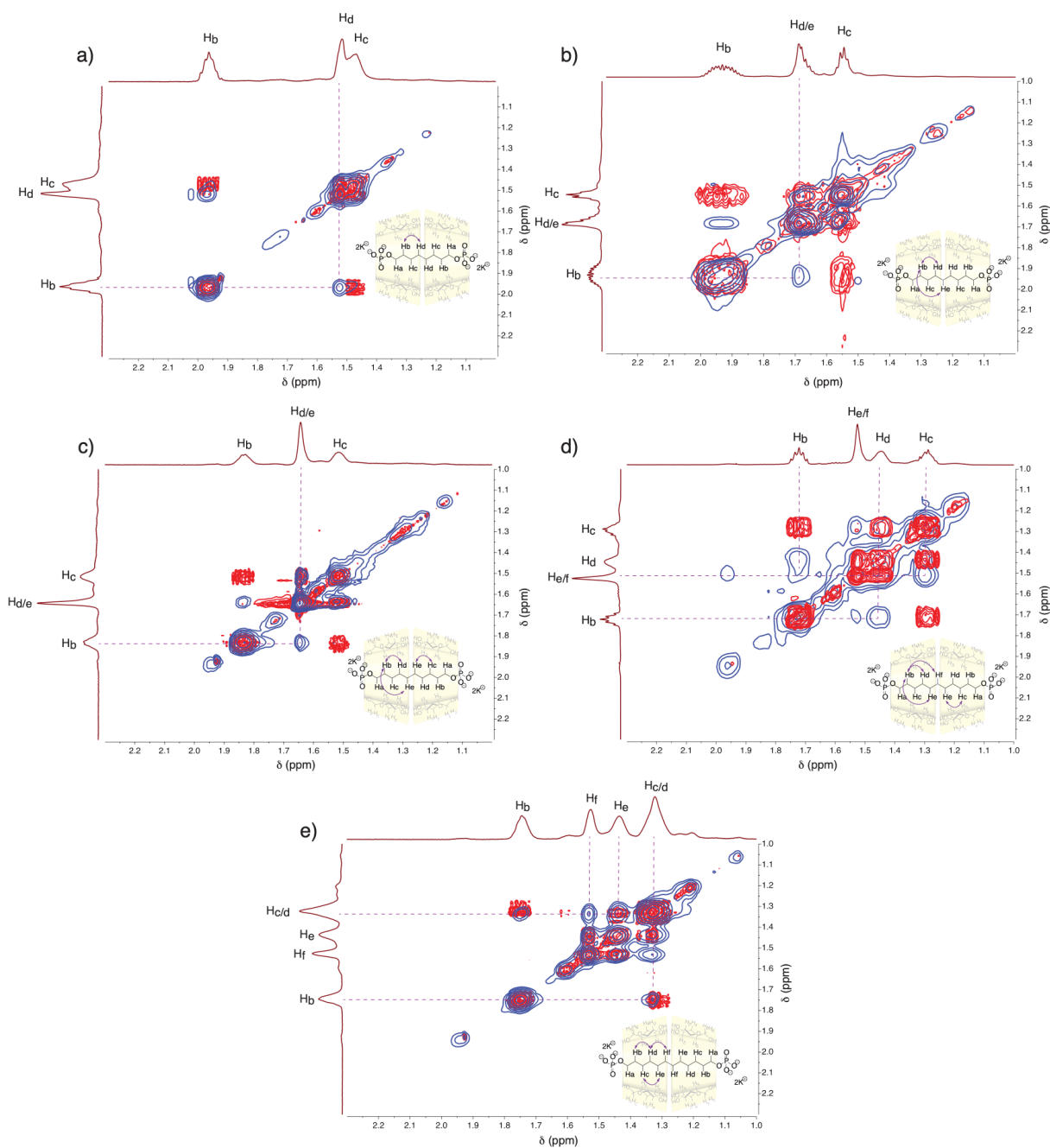


Figure 1.18 : superposition des spectres COSY (rouge) et NOESY (bleu) pour les [3]pseudorotaxanes (pH 10, 600 MHz, D₂O, 300 K) a) axe C₈ ; b) axe C₉ ; c) axe C₁₀ ; d) axe C₁₁ ; e) axe C₁₂

Concernant l'axe C₁₀, nous remarquons la superposition des protons H_d/H_e sous un même signal. Les corrélations spatiales que nous pouvons relever sont H_c-H_e (C_{i+2}), et H_b-H_{d/e} (C_{i+2/+3}). Si une corrélation entre H_b et H_d correspond à une chaîne en conformation *anti*, la corrélation entre H_b et H_e pourrait indiquer une torsion dans la chaîne aliphatique. Par conséquent, la superposition constatée ne permet pas de conclure avec certitude sur ce phénomène en solution. Il est alors intéressant de regarder les résultats pour les chaînes impaires C₉ et C₁₁, pour lesquelles le phénomène de contorsion semble possible. Pour C₉, nous trouvons

des corrélations entre les protons $H_b-H_{d/e}$ ($C_{i+2/+3}$). Nous nous retrouvons donc dans le même cas que l'axe C_{10} avec une superposition des protons H_d et H_e et une possible corrélation à 3 carbones ou superposée avec une autre à 2 carbones. Enfin, la NOESY de l'axe C_{11} révèle des corrélations entre H_b-H_d et H_c-H_e (C_{i+2}), et également entre $H_b-H_{e/f}$ ($C_{i+3/+4}$). Cette dernière corrélation est très intéressante, puisque malgré la superposition entre H_e et H_f , ces deux possibilités correspondent à des corrélations à au moins 3 carbones, ce qui va dans le sens d'une contorsion avec une conformation gauche au milieu de la chaîne pour l'axe C_{11} en solution.

III. Conclusion sur les études de *pseudorotaxanes* diphosphates

L'ensemble de ces études nous ont permis de démontrer l'intérêt des axes alcanediphosphates pour la formation de [2] et [3]*pseudorotaxanes* de cyclodextrines. L'état de protonation de l'axe joue un rôle important sur la cinétique d'enfilage, qui est fortement ralentie en milieu basique. Ce piégeage cinétique des [3]*pseudorotaxanes* en milieu basique a permis leurs isolation et l'observation d'un phénomène original de compression de chaînes alcanes par le dimère de cyclodextrines à l'état solide mais aussi en solution. D'après les résultats observés par DRX pour les axes C_9 et C_{10} , et en solution par RMN pour l'axe C_{11} , la conjugaison de l'effet hydrophobe, et d'un réseau de liaisons hydrogènes entre les oxygènes des phosphates et les hydroxyles des cols primaires des cyclodextrines stabilise la compression de la chaîne. Ce phénomène, déjà démontré dans le cadre d'études sur des capsules moléculaires, n'a pas été décrit en solution avec des molécules entrelacées telles que les rotaxanes, et constitue un résultat remarquable. Le dimère de cyclodextrines génère avec ces axes un phénomène de compression sans être une capsule totalement fermée. Il en résulte une forme d'équilibre entre la stabilisation par les interactions cols primaires/phosphates, qui apporte un gain d'énergie, et la compression de la chaîne, nécessitant un coût d'énergie, qui apparaît notamment dans les valeurs d'enthalpies relevées lors des dosages réalisés par ITC.

**Chapitre II : Vers des Polyrotaxanes
par Polymérisation de
*Pseudorotaxanes***

Pour rappel, ce projet a pour objectif le développement de plateforme d'imagerie multimodale, et pour y parvenir, une des stratégies énoncées en introduction générale est la formation de polyrotaxanes par polymérisation de rotaxanes monomériques. Sachant que nous voulons développer ces assemblages avec un axe polyanionique, nos recherches se sont donc orientées vers la chimie des poly(phosphoester)s.

I. Polymérisation de *pseudorotaxanes* diphosphates par couplage de phosphates

L'étude approfondie de la formation de *pseudorotaxanes* avec les axes diphosphates a permis d'acquérir un certain nombre de connaissances sur ces assemblages. Au-delà de cette étude structurale, nous avons souhaité exploiter ces *pseudorotaxanes* comme monomères, pour former des polyrotaxanes.

1. Principe de formation du polyrotaxane

Cette approche implique le couplage entre phosphates conduisant à la formation d'un polymère possédant des fonctions pyrophosphates.¹¹⁸ Cette réaction, réalisée principalement dans des solvants aprotiques polaires ou par voie enzymatique, a également été décrite en milieu aqueux par le groupe de Tanaka¹¹⁹ (Schéma 2.1).

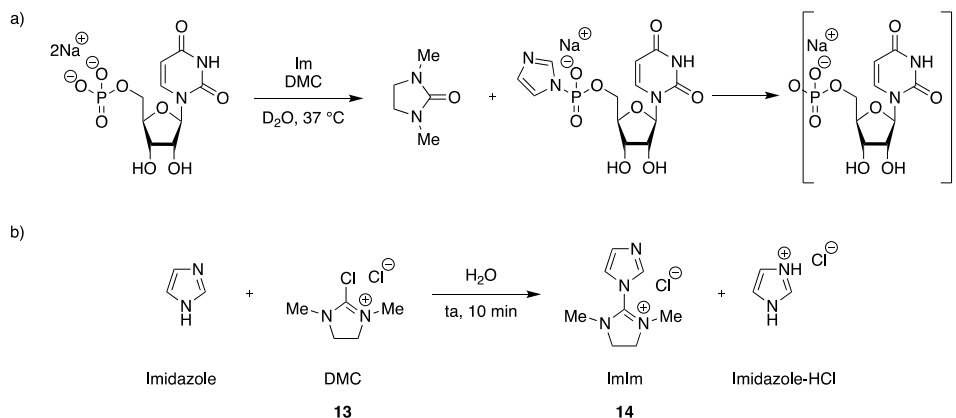


Schéma 2.1 : a) schéma de synthèse du dimère d'uridine monophosphate ; b) formation de l'agent d'activation ImIm **14** par réaction entre l'imidazole et le DMC

L'exemple décrit dans le schéma 2.1.a consiste en un couplage entre deux unités glycosidiques, avec l'objectif de faire la synthèse de nucléosides diphosphates. Les nucléosides diphosphates peuvent être obtenus par l'utilisation d'enzymes, mais leur synthèse par voie chimique est possible et a fait l'objet d'un certain intérêt plus récemment,¹²⁰ se proposant comme une alternative à l'utilisation d'enzymes.

La principale méthode chimique consiste à activer une fonction phosphate par un catalyseur, le plus souvent un hétérocycle azoté, et la faire réagir avec un deuxième phosphate. Habituellement réalisée sur des sucres O-acétylés et des phosphates, sous la forme de sels de tetraalkylammonium pour assurer une bonne solubilité dans des solvants aprotiques polaires, cette réaction a été réalisée en milieu aqueux. Ainsi, du chlorure de 2-imidazolyl-1,3-diméthylimidazolidimidazole (ImIm) **14** est formé *in situ* par un mélange d'imidazole et de 2-chloro-1,3-diméthylimidazolidinium **13** (DMC)¹²¹ pour réaliser la réaction de couplage.

2. Essais de polymérisation par couplage de phosphates

Cette méthodologie fonctionnant en milieu aqueux a donc été testée pour tenter de l'appliquer au couplage des *pseudorotaxanes* diphosphates selon la séquence réactionnelle suivante (Schéma 2.2).

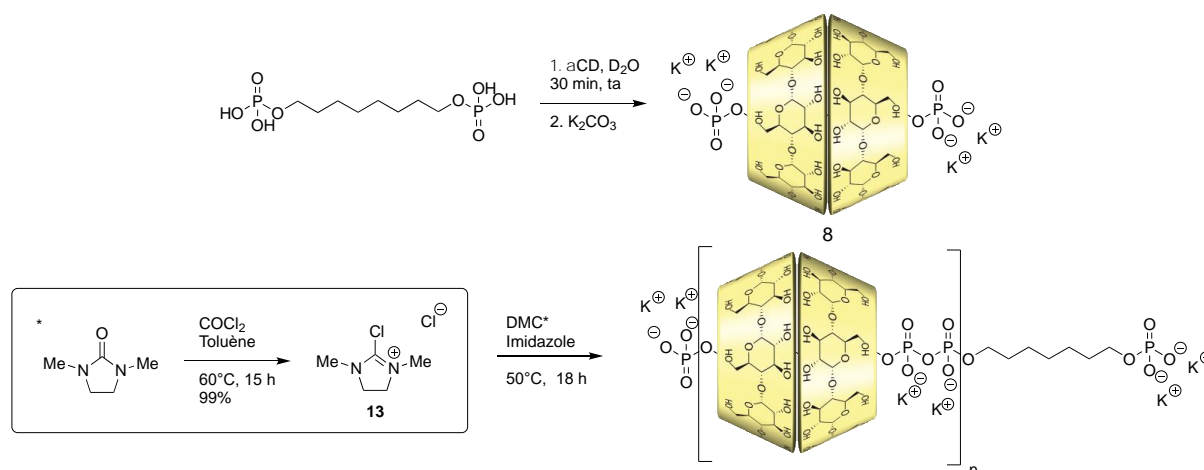


Schéma 2.2 : synthèse de polyrotaxanes poly(pyrophosphates) par polymérisation de [3]pseudorotaxane C₈

Dans un premier temps, un [3]pseudorotaxane est formé à pH acide pour favoriser la formation rapide du complexe d'inclusion, puis du carbonate de potassium est ajouté pour passer en pH basique et piéger cinétiquement le [3]pseudorotaxane. Dans ces conditions un excès de cyclodextrine est employé pour assurer la formation majoritaire du [3]pseudorotaxane. Avec son obtention vérifiée par RMN ¹H, il est possible ensuite d'utiliser soit directement le mélange pour faire la réaction de couplage, soit de purifier le [3]pseudorotaxane par précipitation. Dans un premier temps, nous avons préparé un [3]pseudorotaxane avec l'axe C₈, puis ajouté à la solution 4 équivalents d'imidazole et 8 équivalents de DMC. Le même protocole a également été appliqué à l'axe seul pour évaluer sa polymérisation en absence de cyclodextrine. La réaction est ensuite amorcée à 50°C et suivie par RMN ¹H et ³¹P{¹H}. Sur les spectres protons, il est difficile de déduire des informations concernant la formation du

polymère, la seule modification chimique attendue étant au niveau de la fonction phosphate. Il est ainsi plus intéressant d'analyser les spectres $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ sur lesquels la formation de la fonction pyrophosphate peut directement être observée par le signal à -10.5 ppm (Figure 2.1).

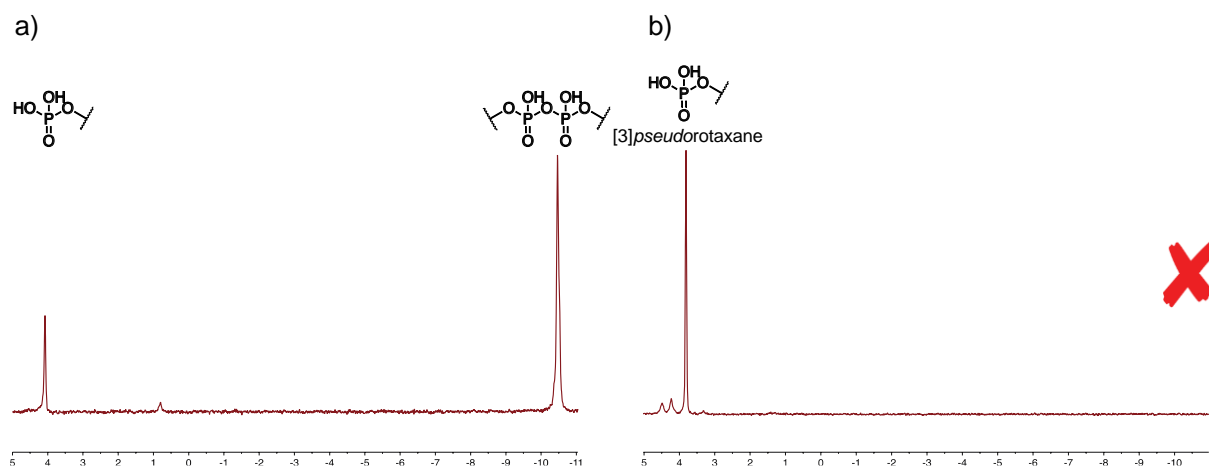


Figure 2.1 : a) spectre $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ pour la polymérisation d'axe C_8 sans αCD (D_2O , 162 MHz, 300 K) ; b) spectre $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ pour la polymérisation d'axe C_8 avec αCD (D_2O , 162 MHz, 300 K)

Pour ce premier exemple, le pyrophosphate est observé en absence de cyclodextrines dans le milieu, avec un nombre de motifs de répétition estimé à 4, contrairement à l'essai réalisé avec le [3]*pseudorotaxane* pour lequel aucune réaction n'a lieu. Afin d'améliorer cette réaction, il est possible de modifier les conditions expérimentales pour favoriser le couplage entre phosphates. Les composantes majeures sont le choix de l'axe, la formation du composé ImIm, la température ou encore la concentration. En présence de cyclodextrines, la concentration est un facteur limitant, la réaction étant décrite à 0.5 M et 1 M en unité phosphate. Le mélange réactionnel est hétérogène à 1 M pour certains axes, C_{10} à C_{12} notamment, la concentration en axe a donc été imposée à 0.5 M.

L'axe C_8 avait été choisi initialement à cause de la forte constante de formation du [3]*pseudorotaxane* mesurée lors des dosages. Au vue de la faible réactivité observée, il est probable que la proximité des cols primaires du dimère de cyclodextrines avec les phosphates de l'axe induise une gêne stérique qui défavorise la formation du pyrophosphate. Pour vérifier cette hypothèse, la réaction a été conduite dans les mêmes conditions pour les axes C_8 à C_{12} . Néanmoins les spectres $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de ces essais, ne montrent pas la formation de l'unité pyrophosphate de manière significative. La limite de solubilité dans l'eau est atteinte avec l'axe C_{12} où la réaction conduit à ces concentrations à un milieu hétérogène, avec ou sans cyclodextrines dans le milieu. Nous nous sommes alors tournés vers l'axe C_6 , plus court et soluble, et ne permettant que la formation d'un [2]*pseudorotaxane* qui devrait laisser les fonctions phosphates plus accessibles. Ainsi, lorsque l'axe C_6 est utilisé, et après formation du

[2]*pseudorotaxane*, la fonction pyrophosphate a été observée en RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Pour confirmer l'obtention d'un polymère, une combinaison d'études RMN 2D et DOSY a été réalisée (Figure 2.2).

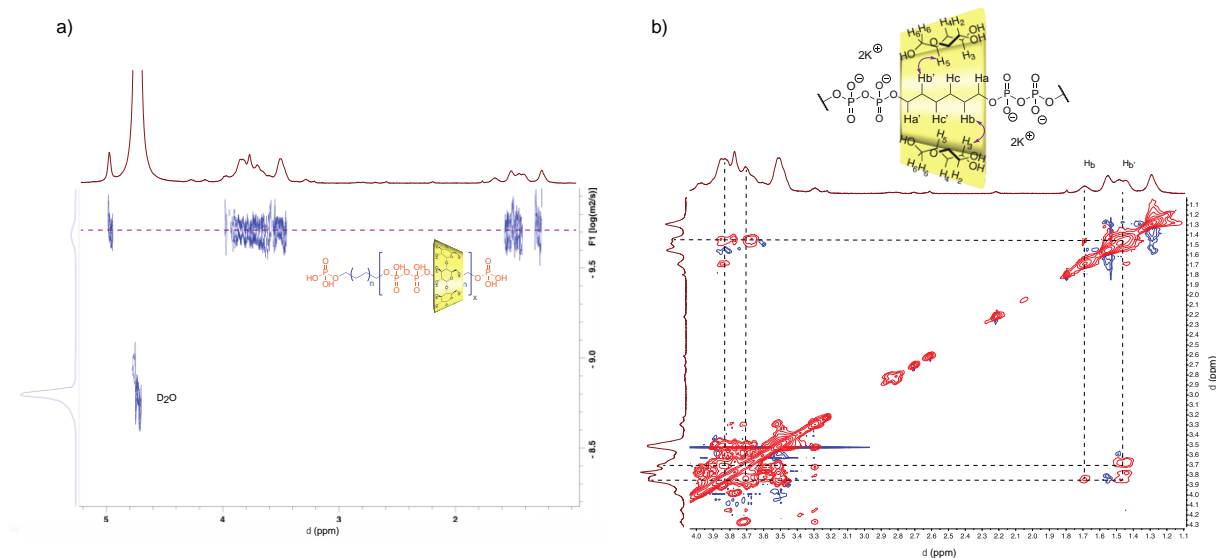


Figure 2.2 : a) carte 2D DOSY du produit isolé **15** après purification par sephadex ; b) partie du spectre TROESY correspondant au couplage CD/axe (D_2O , 600 MHz, 300 K)

Sur la représentation DOSY 2D les signaux de l'axe et de la cyclodextrine se situent à une même valeur de coefficient de diffusion. Ceci peut donc indiquer la présence d'oligomères obtenus par couplage de phosphates. Le spectre TROESY met en évidence une corrélation entre les protons H_3 et H_5 de la cyclodextrine avec les protons H_b/H_b' de l'axe, ce qui avec la DOSY permet de valider l'obtention d'une structure entrelacée de type polyrotaxane.

La taille des polyrotaxanes obtenus peut être définie plus précisément à l'aide des spectres ^1H et $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. La comparaison des signaux entre les fonctions monoalkylphosphates terminales et les fonctions dialkylpyrophosphates permet d'estimer le nombre de motifs moyens du polymère. Le nombre de cyclodextrines présentes sur l'assemblage final peut, quant à lui, être déterminé par intégration entre les signaux de l'axe et ceux des protons anomériques de la cyclodextrine. La formation de ces polyrotaxanes a été réalisée deux fois dans les mêmes conditions, et a amené à l'obtention de systèmes avec un taux de couverture et un degré de polymérisation relativement similaires (Tableau 2.1).

Essai N°	Nombre moyen de motifs	Nombre moyen d' αCD par motif	Nombre moyen d' αCD
1	4	0.43	1.7
2	5	0.68	3.4

Tableau 2.1 : Caractéristiques des deux polyrotaxanes (axe C_6) obtenus par couplage de phosphates

Avec les nombres de motifs obtenus au cours de ces deux essais, il semble plus adapté de parler d'oligomères. Si le taux de couverture en cyclodextrines est relativement élevé et prometteur pour l'obtention de polyrotaxane avec un haut taux de couverture (près de 70 % dans le meilleur cas), la longueur de la chaîne reste très modeste. En passant aux assemblages comportant des cyclodextrines fonctionnalisées pour l'imagerie, la quantité de cyclodextrines enfilées risque d'être insuffisante par rapport aux objectifs fixés.

3. Tentatives d'optimisation du couplage de phosphates

Nous nous sommes donc intéressés à l'optimisation de la réaction de couplage. L'élément clé de cette réaction est la formation du dérivé ImIm et sa réaction avec un phosphate pour former une espèce réactive. L'obtention de ces intermédiaires a donc été étudiée plus en détail par RMN ^1H , afin de fournir quelques informations supplémentaires sur leur stabilité et réactivité respectives. Le dérivé ImIm est formé dans le D_2O par réaction entre l'imidazole et le DMC, puis l'évolution du spectre ^1H a été suivie au cours du temps (Figure 2.3).

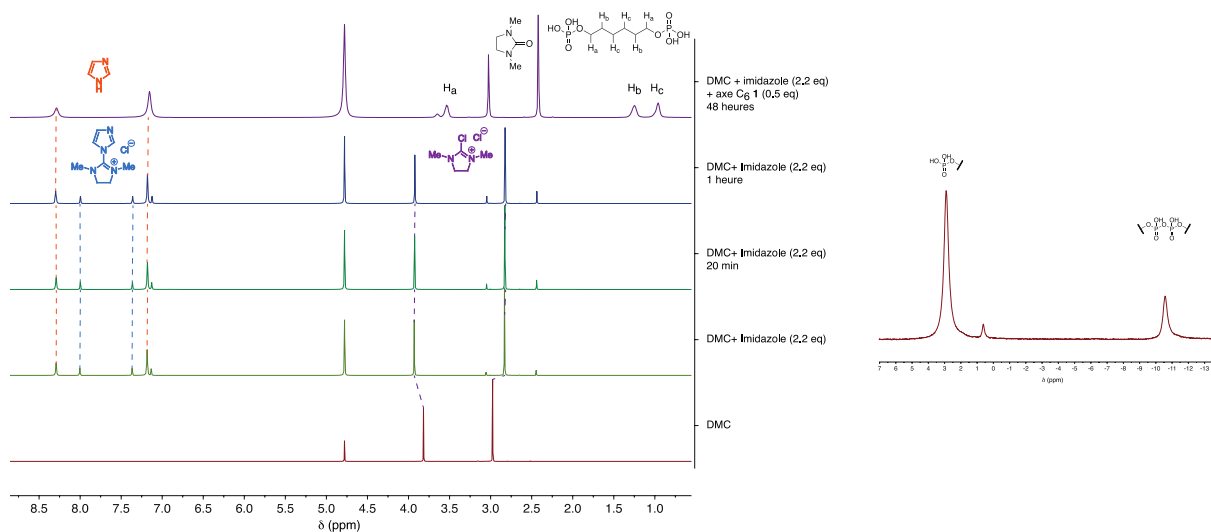


Figure 2.3 : suivi par RMN ^1H de la formation du dérivé ImIm **14** puis du couplage de phosphates avec l'axe C_6 **1** (D_2O , 400 MHz, 300 K) ; spectre RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ 48h après ajout d'axe C_6 **1** (D_2O , 162 MHz, 300 K)

Nous constatons que la formation du dérivé ImIm est très rapide, avec une conversion de l'ordre de quelques minutes. Suite à l'ajout d'axe C_6 au mélange, et après agitation pendant 48 heures, nous observons les signaux de l'urée formée par couplage de phosphates, ainsi que les signaux de l'imidazole. En revanche, les protons caractéristiques du DMC et de ImIm ne sont plus visibles. Avec le spectre $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, nous observons que la réaction de couplage n'est pas complète, avec un signal du phosphate de départ plus intense que celui du pyrophosphate.

Suite à ce test en tube RMN, nous avons de nouveau mis en place la réaction, afin de réaliser un suivi RMN plus détaillé dans le but de comprendre davantage comment procède la réaction (Figure 2.4).

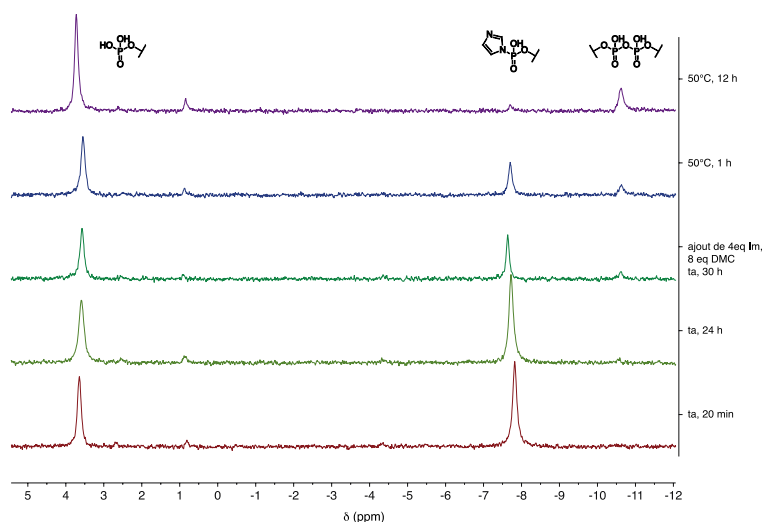


Figure 2.4 : suivi par RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de la formation de la fonction pyrophosphate avec l'axe C_{10} (D_2O , 162 MHz, 300 K)

Ce suivi par RMN permet de mettre en évidence certains éléments concernant le mécanisme de la réaction. Lors de l'ajout d'imidazole et de DMC, la formation de l'espèce phosphoramidate est observée avec l'apparition d'un pic caractéristique à -7.8 ppm en $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. À ce stade, il semble y avoir un équilibre entre les formes phosphates et phosphoramidates dans le milieu. Lorsque la réaction est laissée à température ambiante, les deux espèces sont toujours présentes après 30 heures et l'ajout d'un excès d'imidazole et de DMC. À -11 ppm, un pic de très faible intensité correspondant au pyrophosphate commence à apparaître. La montée en température jusqu'à 50°C permet d'observer une évolution de la réaction, puisque l'intermédiaire phosphoramidate est consommé pour conduire à la formation de pyrophosphate. Cependant, le phosphate de départ est majoritairement régénéré dans ces conditions, ce qui tend à démontrer que les conditions de réaction ne sont pas favorables à la formation d'un poly(pyrophosphate) étendu.

En conclusion, avec la stratégie de couplage de phosphates, malgré un taux de couverture prometteur, nous ne sommes pas parvenus à obtenir des assemblages suffisamment étendus pour pouvoir être utilisés comme plateforme d'imagerie multimodale. Il a donc été nécessaire de réviser le type de réaction utilisée pour la polymérisation de *pseudorotaxanes* de cyclodextrines.

II. Polymérisation de *pseudorotaxanes* phosphates par réaction sur la chaîne

Les groupements phosphates ayant montré une trop faible réactivité dans l'eau et n'apparaissant donc pas comme le site réactionnel de choix pour atteindre notre objectif. Une alternative est de faire la polymérisation par homocouplage entre des fonctions terminales réactives, ou encore par ouverture de cycle.¹²² Les synthèses de poly(phosphoesters) se font principalement *via* des réactions de polycondensation, des ouvertures de cycles ou encore certains types de métathèses (Figure 2.5).

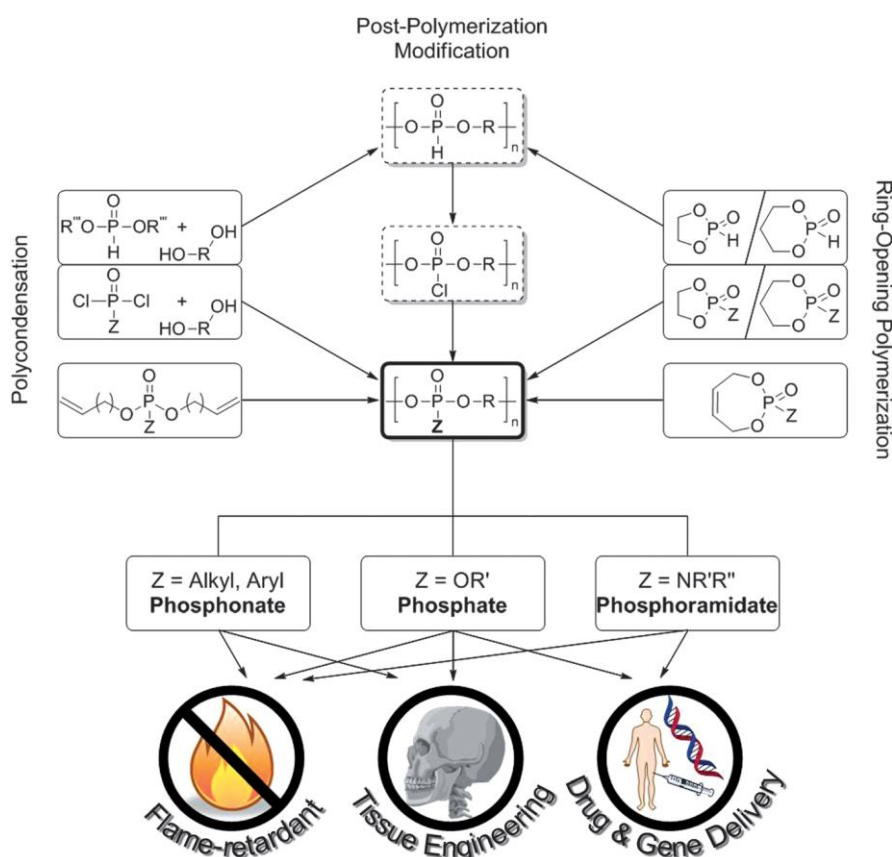


Figure 2.5 : Principales méthodes de synthèse de poly(phosphoesters) associés à leurs applications¹²³

1. Les poly(phosphoester)s dans le domaine biomédical

Les poly(phosphoesters) ont beaucoup été utilisés dans le cadre d'applications biomédicales, du fait de leur biodégradabilité et leur biocompatibilité souvent rencontrées.¹²³ Le premier développement de ces composés date de 1970, par l'équipe de Penczek,¹²⁴ pour une utilisation en tant que transporteurs de cations Ca^{2+} et Mg^{2+} dans les processus membranaires,

et également dans le contrôle de la cristallisation du carbonate de calcium. Deux voies de synthèse différentes sont proposées, à savoir par polycondensation de diol, et par polymérisation par ouverture de cycles (Schéma 2.3). La méthode par ouverture de cycles donne lieu à la formation de polymères dont la taille est de l'ordre de 10^4 Da. La méthode par transestérification de diols est une méthode plus générale, qui permet l'utilisation de monomères avec des longueurs de chaînes alkyles plus variées que pour des composés cycliques, et offre l'accès à des polymères d'environ 10^3 Da.

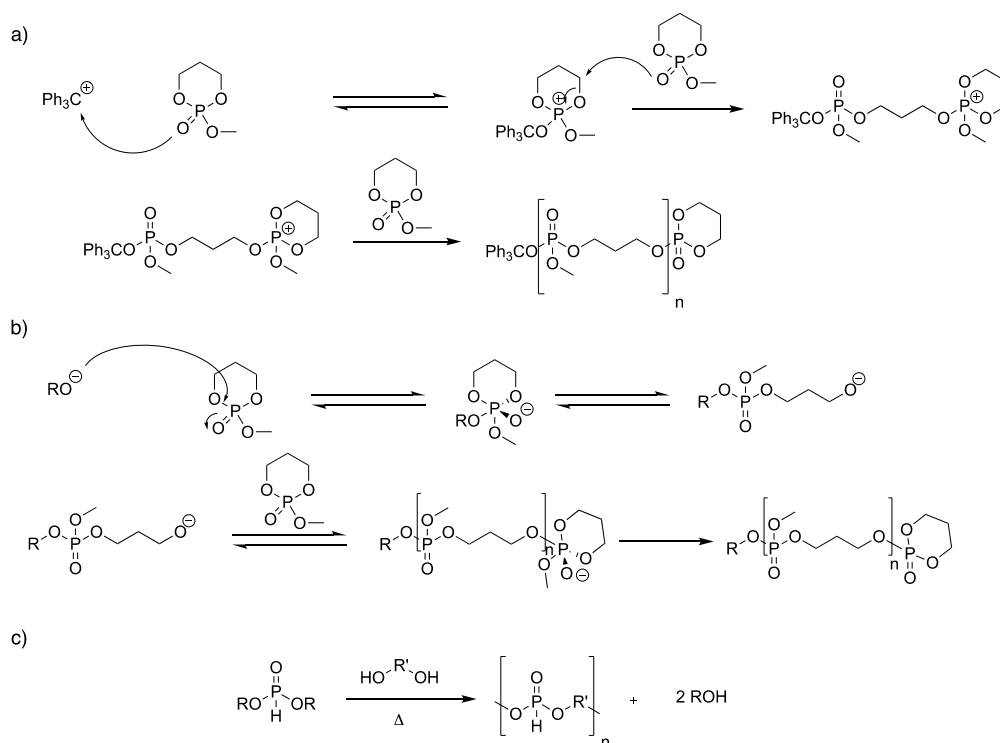


Schéma 2.3 : a) synthèse par ouverture de cycle cationique ; b) synthèse par ouverture de cycle anionique ; c) synthèse par polycondensation

Cependant ces synthèses ne permettent pas toujours d'assurer un bon contrôle sur certains paramètres, tels que la taille ou encore la dispersité du polymère, qu'il est crucial de pouvoir contrôler pour utiliser ces produits dans des applications biomédicales. Des polymères avec des tailles trop variables pourraient montrer des comportements très différents dans l'organisme, comme par exemple une clairance plus ou moins longue ou des biodistributions variables.

Ces synthèses ont par la suite évolué, et permettent un accès à ce type de polymères et leurs diverses applications, en particulier biomédicales.¹²⁵ Par exemple, ils ont été utilisés en tant que vecteur d'agents anti-cancéreux, par fixation d'un principe actif sur le polymère.¹²⁶ Le Paclitaxel, un anti-cancéreux reconnu, a été conjugué sur un copolymère à blocs poly(éthylène

glycol)-poly(phosphoester) *via* une synthèse en deux étapes menant à la formation de nanoparticules amphiphiles (Schéma 2.4).

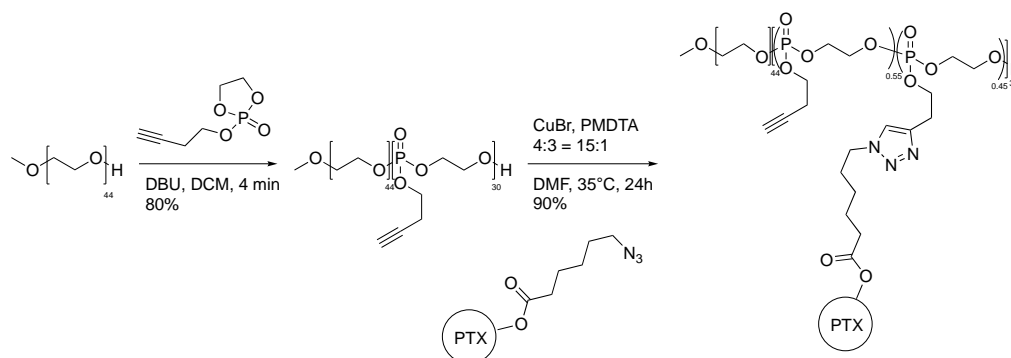


Schéma 2.4 : synthèse d'un polymère transporteur de Paclitaxel (PTX) *via* une réaction de chimie « click »¹²⁶

Une première étape de polymérisation par ouverture de cycle a lieu, suivie du couplage par chimie « click » du bras portant le Paclitaxel, lui-même préalablement synthétisé. Cette synthèse rapide et efficace permet donc un accès à la molécule finale, qui a ensuite été testée pour l'application désirée en tant qu'agent anti-cancéreux. Avec ce design, il est possible par variation des stœchiométries polymère/Paclitaxel de modifier des propriétés comme l'hydrosolubilité, ou encore la conjugaison du principe actif. Les inconvénients majeurs associés à l'utilisation du Paclitaxel sont la solubilité et la toxicité induite par celui-ci. Pour améliorer la solubilité et augmenter la concentration en solution de ce principe actif, diverses stratégies ont été mises au moins, comme par exemple l'utilisation de surfactants, comme avec le Taxol,¹²⁷ l'Abraxane,¹²⁸ ou encore la conjugaison à des polymères hydrosolubles.¹²⁹

Bénéficiant d'un temps de circulation dans le sang accrue et d'une accumulation dans les tissus tumoraux favorisée par effet « EPR »,¹³⁰ l'activité anti-cancéreuse a été démontrée avec un polymère présentant 65 % de conjugaison de Paclitaxel. Malgré une activité amoindrie comparée à celle du Paclitaxel commercial qui peut s'expliquer par un relargage moins rapide qu'avec des vecteurs employant des surfactants, ce polymère a pour avantages une concentration et conjugaison élevées en Paclitaxel, une faible cytotoxicité, et un aspect modulaire permettant d'adapter le système pour incorporer des groupements d'imagerie ou encore de ciblage.^{131,132}

Une stratégie de synthèse similaire permet de former un polymère qui peut par la suite former des vésicules, capable d'encapsuler des molécules actives telles que la Doxorubicine,¹³³ ayant une activité contre les cellules cancéreuses, et possédant des caractéristiques supplémentaires par rapport à la Doxorubicine libre (Figure 2.6).

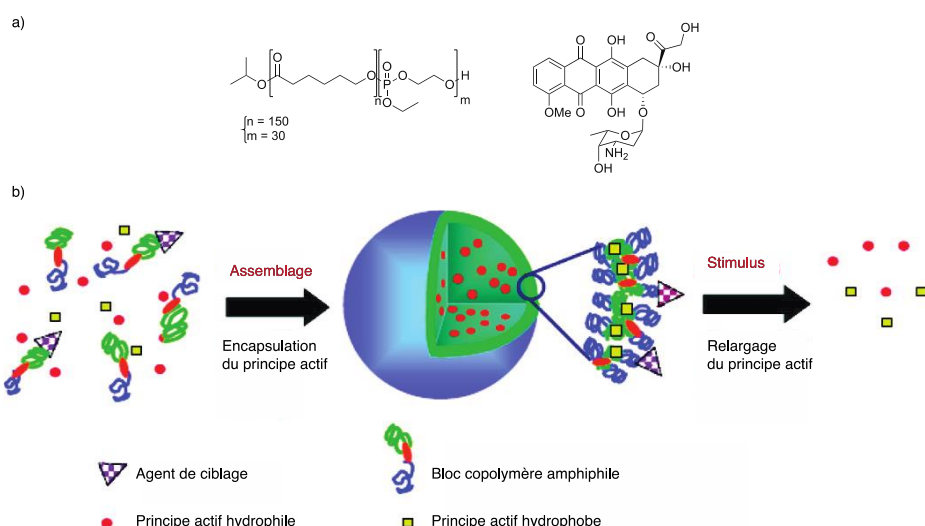


Figure 2.6 : a) structure chimique du poly(phosphoester) (à gauche) et de la Doxorubicine (à droite) ; b) représentation de vésicules pour l'encapsulation et relargage de principe actif¹³³

En effet, la structure sous forme de vésicules permet d'une part de limiter la prolifération de tumeurs cancéreuses avec une faible concentration en produit actif par rapport à la Doxorubicine seule, diminuant ainsi la toxicité de la méthode. Enfin, de telles nanoparticules peuvent s'accumuler dans les tissus tumoraux, augmentant donc la sélectivité et l'efficacité globale de l'agent. Au-delà du transport de molécules actives, ces polymères polyanioniques sont exploités dans d'autres domaines, comme par exemple pour l'ingénierie tissulaire, ou encore pour des applications dentaires.¹³⁴ Leur biocompatibilité, biodégradabilité, et faible toxicité constituent les grands avantages des poly(phosphoester)s,¹³⁵ ce qui en fait des polymères de choix pour constituer l'axe des polyrotaxanes de cyclodextrines visés.

2. Méthodes de polymérisation de poly(phosphoester)s par les chaînes latérales

Parmi les méthodes de synthèse développées pour former des poly(phosphoester)s, les travaux de l'équipe de Wurm se basent sur l'utilisation d'une réaction de métathèse, à savoir l'ADMET pour « Acyclic Diene METathesis ». ¹³⁶

a. Polymérisation par ADMET

Cette méthode est décrite comme efficace pour accéder à une gamme de polymères avec des poids moléculaires entre 7000 et 50 000 Da, et des dispersités comprises entre 2.30 et 1.45. L'ADMET est une méthode de polymérisation quantitative menant uniquement à la formation du polymère linéaire désiré et de l'éthylène comme produit secondaire de réaction. Elle

nécessite l'utilisation de catalyseurs à base de Ruthénium, tels que les catalyseurs de Grubbs ou encore de Hoveyda-Grubbs (Schéma 2.5).

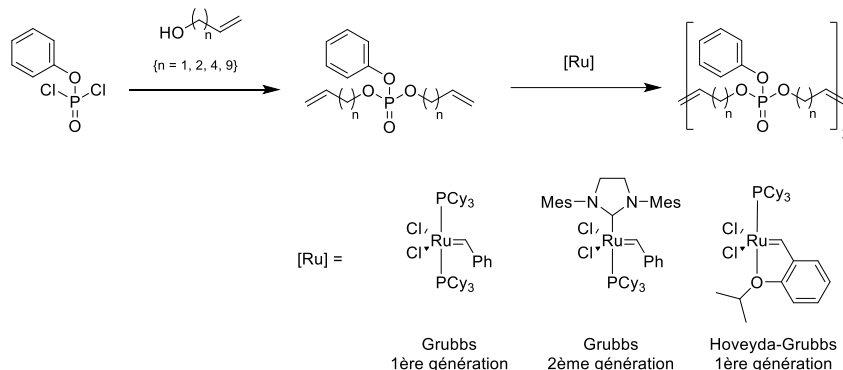


Schéma 2.5 : synthèse de poly(phosphoesters) de Wurm par ADMET¹³⁶

L'intérêt de la synthèse de polyrotaxanes par métathèse est également démontré par les travaux réalisés par Grubbs et la formation « one pot » de polyrotaxanes d'éther couronne, obtenus par ADMET¹³⁷ (Schéma 2.6).

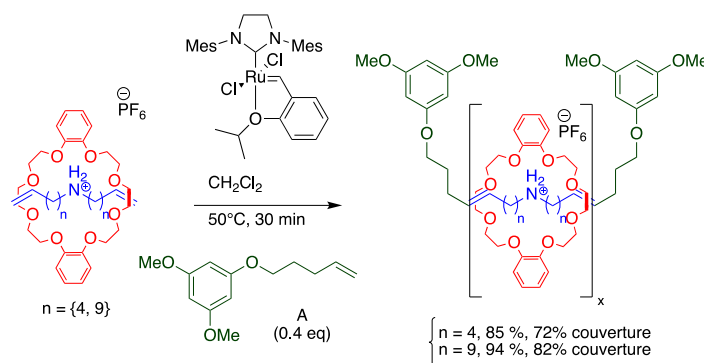


Schéma 2.6 : synthèse de polyrotaxanes d'éther couronne par ADMET de Grubbs¹³⁷

Le macrocycle est préalablement enfilé sur son axe par reconnaissance entre l'éther couronne et la fonction ammonium *via* liaisons hydrogènes, puis l'assemblage est placé en présence du catalyseur pour réaliser la polymérisation, suivi du bouchonnage *in situ* en présence de 0.4 équivalent du composé **A**, pour obtenir un polyrotaxane avec des rendements élevés entre 85 et 94 %, et des taux de couverture en macrocycles tout aussi satisfaisant entre 72 et 82 %.

Avec des poids moléculaires vers 15 kDa et des dispersités entre 1.18 et 1.58, cette méthode donne des résultats tout à fait satisfaisants et s'adapte très bien à un système supramoléculaire comme les polyrotaxanes. En se basant sur les travaux de Wurm sur les poly(phosphoesters) et en adaptant la méthode aux cyclodextrines, obtenir des polyrotaxanes par ADMET semble envisageable. Cette voie comporte des intérêts en termes de caractéristiques du polymère, que ce soit dans les tailles et dispersités décrites, mais également dans le fait que, par cette méthode, les extrémités du polymère sont connues, et potentiellement

fonctionnalisables, pour ajouter des bouchons et passer alors d'une structure *polypseudorotaxane* à *polyrotaxane*.

b. Polymérisation par couplage de Glaser

Si l'obtention de tels polymères est décrite avec des doubles liaisons terminales, la même approche peut être conceptualisée avec des triples liaisons, qui vont alors employer des réactivités différentes (Schéma 2.7).¹³⁸

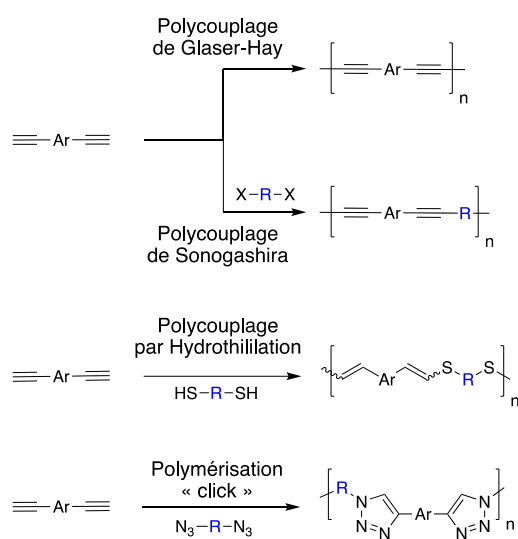


Schéma 2.7 : exemples de réaction de polymérisation impliquant des alcynes

Des exemples existent avec le couplage de Glaser,^{139,140,141} permettant l'obtention de polymères avec des chaînes alkyles très rigides, pouvant constituer un intérêt par rapport au design d'un agent d'imagerie supramoléculaire. En effet, la rigidité d'une molécule va influencer de manière intéressante le contraste généré par celle-ci. Le couplage de Glaser-Hay a lieu entre deux alcynes terminaux et conduit à l'obtention d'une molécule avec deux triples liaisons consécutives. Terao¹⁴² a employé cette méthode de polymérisation pour un système utilisant des cyclodextrines perméthylées (PM- α -CD), liées de façon covalente à leur axe, formant ensuite en présence d'acétate de Cuivre (II) un polyrotaxane défini comme étant un fil conducteur isolé (Figure 2.7).¹⁴³ La polymérisation est ici faite avec un [1]rotaxane, soluble en milieu organique, où la cyclodextrine perméthylée forme une liaison covalente avec son axe. L'auto-assemblage intramoléculaire est réalisé dans un mélange eau/méthanol suivi du bouchonnage de l'axe, et polymérisation par couplage de Glaser en présence d'acétate de Cuivre (II) dans la pyridine.

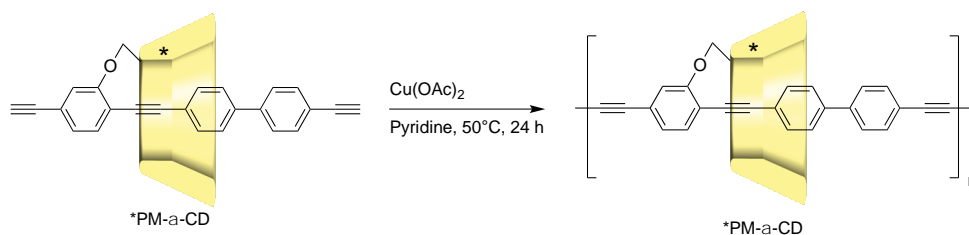


Figure 2.7 : formation du polyrotaxane de Terao par couplage de Glaser¹⁴²

Le polyrotaxane ainsi obtenu affiche un taux de couverture en PM- α -CD de 60 %, et des paramètres de polymérisation tels que la masse molaire moyenne en poids (M_w) ou la dispersité avec des valeurs respectives de 40 kDa et 2.01. Afin d'améliorer le taux de couverture et la régularité de la structure de l'assemblage, la polymérisation a été également appliquée avec un [3]*pseudorotaxane* lié, comprenant deux cyclodextrines par unité monomérique. Pour cette version un taux de couverture final remarquable de 95 % a été obtenu.

Cette voie constitue la deuxième possibilité d'accès à notre système supramoléculaire, et pourra être testée et comparée à la première voie envisagée par métathèse.

3. Synthèses et études de monomères dialkylphosphates fonctionnalisés

Avant de s'intéresser aux réactions de polymérisation envisagées, nous nous sommes penchés sur le développement de nouveaux monomères permettant d'associer des propriétés d'enfilage avec la cyclodextrine avec des doubles ou triples liaisons terminales, pouvant réagir pour former un polymère. À partir de ces réflexions, deux structures possibles ont été sélectionnées (Figure 2.8).

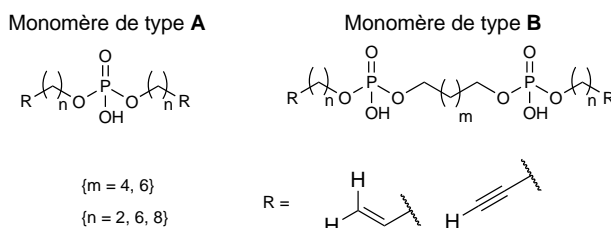


Figure 2.8 : structure des nouveaux monomères proposés pour la synthèse de polyrotaxanes de cyclodextrines

Le monomère **A** (dialkylmonophosphate) reprend la structure principale des composés utilisés dans la majeure partie des travaux de l'équipe de Wurm, avec deux chaînes alkyles de longueurs modulables. Le troisième hydroxyle du phosphate est conservé, afin d'envisager le passage de la cyclodextrine. Le monomère **B** (dialkyldiphosphates) a une structure inspirée des

alkyles diphosphates avec lesquels ont été faits des *pseudorotaxanes*, présentant cette fois-ci des chaînes supplémentaires. Nous parlons pour ces monomères d'un système à trois sites de reconnaissance possibles, avec deux sites externes et un site interne.

Les synthèses de ces deux monomères ont donc été réalisées afin de pouvoir étudier leurs propriétés d'invité dans un assemblage supramoléculaire avec la cyclodextrine, et de monomère dans une réaction de polymérisation.

a. Monomères dialkylmonophosphates

La synthèse de ces monomères a été faite selon la méthodologie de Wurm¹³⁶ par alkylation directe du POCl_3 (Schéma 2.8).

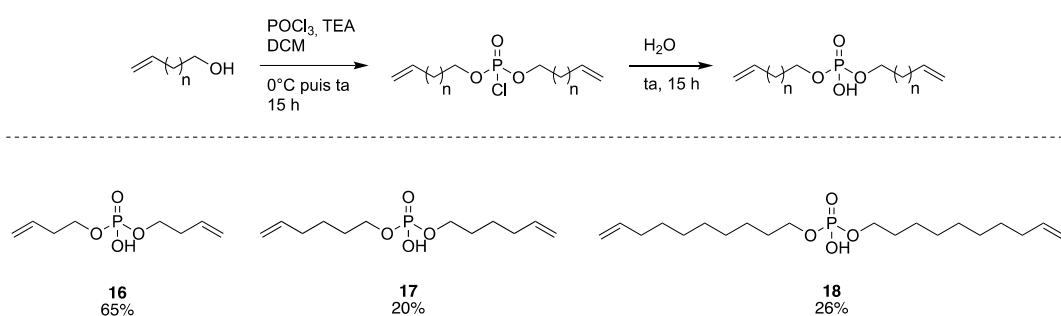


Schéma 2.8 : synthèse des axes dialkylidene phosphates

En présence de 2 équivalents 3-Buten-1-ol et de triéthylamine, l'espèce chlorodialkylphosphate intermédiaire est d'abord purifiée par colonne chromatographique sur gel de silice dans le dichlorométhane pur, puis hydrolysé pour obtenir le produit final avec un rendement de 65 %. Cette stratégie de synthèse a également été utilisée pour obtenir des monomères avec des chaînes à 6 carbones (composé **17**) et 10 carbones (composé **18**) avec des rendements respectifs plus faibles de 20 % et 26 %, dû principalement à des problèmes rencontrés lors de la purification sur gel de silice.

La caractérisation est ensuite réalisée par RMN permettant de valider la structure des produits obtenus, avec notamment un unique signal à 0.32 ppm en RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (Figure 2.9).

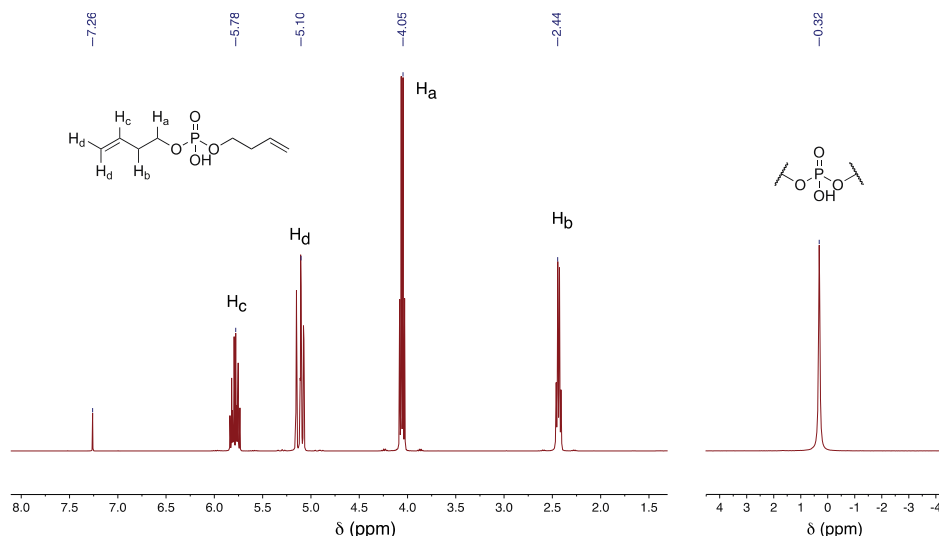


Figure 2.9 : (à gauche) spectre ^1H du monomère **16** (CDCl_3 , 600 MHz, 300 K) ; (à droite) spectre $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ du monomère **16** (CDCl_3 , 242 MHz, 300 K)

Ayant une structure nouvelle par rapport aux axes précédemment étudiés au Chapitre I, nous avons évalué leurs comportements en présence de cyclodextrines dans l'eau en réalisant un dosage suivi par RMN (Figure 2.10).

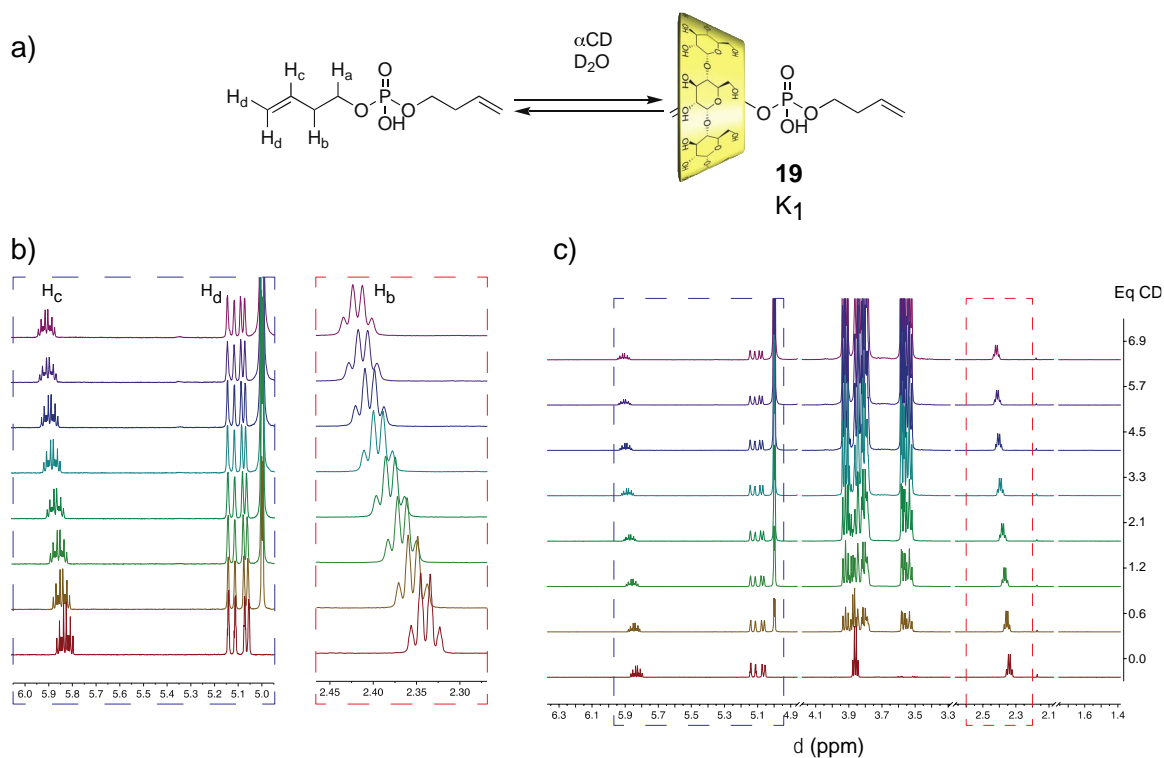


Figure 2.10 : a) Équilibre de formation du [2]pseudorotaxane **19** avec l'axe **16** ; b) zoom sur les signaux des protons éthyléniques (à gauche), zoom sur les protons H_b de l'axe (à droite) ; c) Évolution du spectre RMN ^1H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D_2O , 600 MHz, 300 K)

Le dosage de l'axe **16** est réalisé dans des conditions similaires à ceux décrits dans le chapitre I, à pH 5 dans le D₂O dans une solution tampon d'acétate de sodium. Au cours de ce dosage, nous avons constaté une modification des déplacements chimiques des protons H_b et H_c avec les ajouts de cyclodextrine, correspondant cette fois-ci à un échange rapide par rapport au temps d'acquisition RMN. D'après l'équation 7.2 énoncée précédemment (Chapitre I), il est possible de remonter à une constante d'association pour ce système. De cette manière, nous avons déterminé une constante d'association de 100, caractérisant ainsi un enfilage moins favorable avec cet hôte relativement court par rapport aux structures diphosphates. Si les dosages de ce type n'ont pas été réalisés avec des chaînes carbonées plus longues, nous nous attendons à observer une augmentation de l'hydrophobicité de la chaîne, et donc une augmentation de la constante d'association K₁.

b. Monomères dialkyldiphosphates

Dans le chapitre I, les axes des *pseudorotaxanes* avaient été synthétisés par fonctionnalisation contrôlée du POCl₃ pour former des alkyldiphosphates. Cette même réactivité a été reprise pour les monomères dialkyldiphosphates, avec des conditions réactionnelles différentes (Schéma 2.9). Pour synthétiser ces axes, une séquence réactionnelle de deux étapes est nécessaire, avec comme réaction finale l'hydrolyse de la dernière position chlorée sur le phosphore.

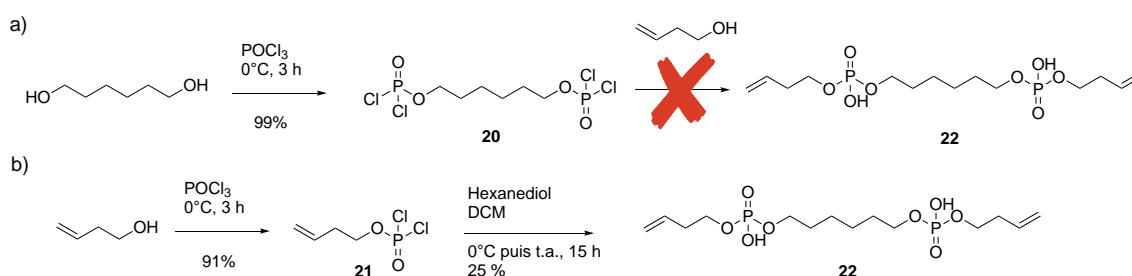


Schéma 2.9 : voies de synthèse de l'axe dialkyldiphosphate **22** avec chaînes externes à 4 carbones et chaîne interne à 6 carbones

Les deux étapes peuvent quant à elle être inversées, mais l'ordre d'ajout des chaînes alkyles joue un rôle déterminant dans cette synthèse. En effet, la formation du composé **20** correspondant à l'intermédiaire chloré des synthèses précédentes est possible, et sans étape d'hydrolyse, celui-ci peut être isolé simplement par évaporation de l'excès de POCl₃. Ce composé tétrachlordiphosphate a été caractérisé par RMN, montrant notamment un signal à 6.73 ppm en ³¹P{¹H} caractéristique de ce type de phosphore, et par spectrométrie de masse avec une injection dans le méthanol et une détection par ESI d'un composé avec un m/z de 335 correspondant à l'adduit [M+H]⁺ après addition de quatre méthanols sur l'axe, justifiant ainsi

la structure. Par cette voie, la deuxième alkylation se révèle cependant plus difficile à contrôler, conduisant le plus souvent au composé avec toutes ses positions alkylées.¹⁴⁴ Nous avons ainsi opté pour l'autre voie de synthèse, avec la formation dans un premier temps du dichloromonalkylphosphate **21**, isolé après purification sur colonne chromatographique dans le dichlorométhane. Puis celui-ci est utilisé en excès avec l'hexanediol pour mener à la formation du composé **22** avec un rendement de 25 %. Cette même approche a été reconduite avec l'octanediol, pour obtenir l'axe **23** avec un rendement de 20 %, afin de pouvoir comparer par la suite des axes susceptibles de former respectivement des [2] et [3]*pseudorotaxanes* avec les sites de reconnaissances internes.

Pour caractériser ces axes, nous avons employé une combinaison de RMN et de spectrométrie de masse afin de valider la structure obtenue. Le spectre $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ permet de voir un unique signal à 0.58 ppm, indiquant qu'il n'y a pas d'autres fonctions phosphates formées. Dans le spectre proton, les signaux caractéristiques des stations internes et externes avec des intégrations correctes sont observés, et combinés à un spectre de masse qui met en évidence un composé à 387 m/z correspondant à $[\text{M}-\text{H}]^-$, permettent d'affirmer l'obtention de **22** sans aucune trace de produits secondaires. Les axes ainsi obtenus ont pu être étudiés par RMN ^1H à travers un dosage réalisé à pH 5 (Figure 2.11).

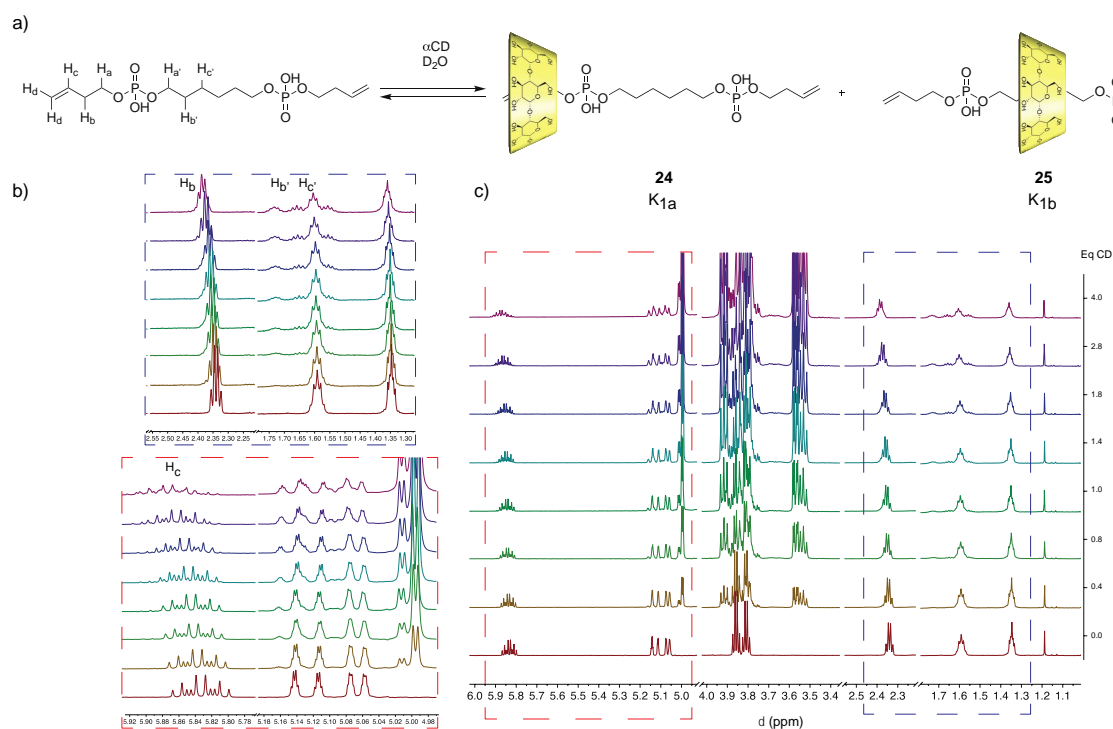


Figure 2.11 : a) Équilibre de formation des [2]*pseudorotaxanes* **24** et **25** avec l'axe **22** ; b) zoom sur les signaux des protons de l'axe (en haut), zoom sur les protons éthyléniques (en bas) ; c) Évolution du spectre RMN ^1H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D_2O , 600 MHz, 300 K)

Avec ce dosage, nous avons observé pour les deux axes formés un comportement similaire avec un mélange de deux isomères de complexes d'inclusion avec la cyclodextrine. Il est ici constaté la formation d'un [2]*pseudorotaxane* en échange rapide avec les sites externes, caractérisée par un changement du déplacement chimique des protons H_b et H_c , permettant de déterminer une constante d'association K_{1a} de 100. Le site interne montre quant à lui un équilibre lent semblable à celui observé pour les monoalkyldiphosphates dans le chapitre I, qui par intégration permet de déterminer une constante K_{1b} de 210, qui tend vers la valeur observée pour l'axe C_6 en version diphosphate qui est de 420 par RMN au même pH (250 par ITC).

Nous avons également fait ce type de dosage avec l'axe **23** possédant un total de 8 carbones dans son site interne, et mis en évidence la formation d'un [3]*pseudorotaxane* (Figure 2.12).

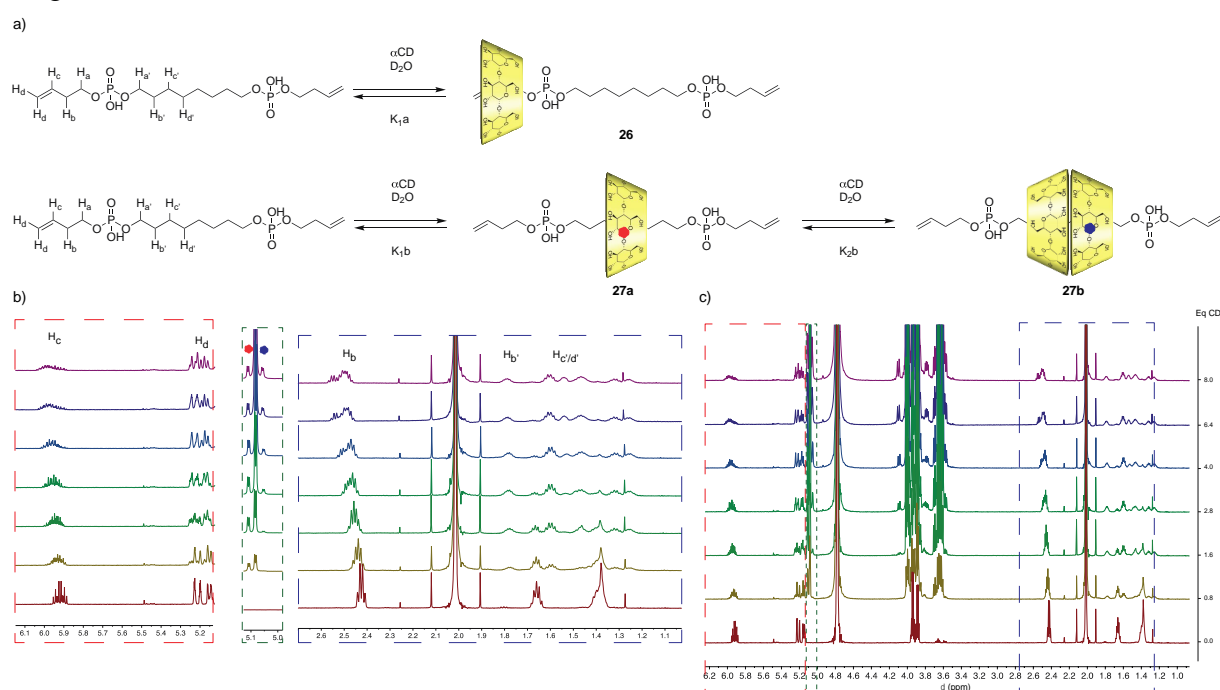


Figure 2.12 : a) Équilibre de formation des [2] et [3]*pseudorotaxane* **26**, **27a** et **27b** avec l'axe **23** ; b), zoom sur les protons éthyléniques (à gauche), zoom sur les signaux des protons anomériques (au milieu), zoom sur les signaux des protons de l'axe (à droite) ; c) Évolution du spectre RMN 1H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D_2O , 600 MHz, 300 K)

Un équilibre rapide est toujours observé avec le site externe de l'axe avec une constante de 100, similaire au *pseudorotaxane* **24**. En revanche, en augmentant de deux carbones la chaîne interne, la formation du [3]*pseudorotaxane* devient possible, constatée notamment par l'apparition d'un troisième signal au niveau des protons anomériques de la cyclodextrines à 5 ppm. La constante K_{1b} est plus élevée que pour l'assemblage **25** avec une valeur à 560 se rapprochant davantage des valeurs observées avec les *pseudorotaxanes*

monoalkyldiphosphates. La constante d'association K_{2b} est cependant très faible, de l'ordre de 100, nous permettant de supposer que l'enfilage de la deuxième cyclodextrine sur ce site est limité par le design de cet axe.

4. Essais de polymérisation de monomères dialkylphosphates en polyrotaxanes

Après avoir caractérisé et étudié plus en détails ces monomères présentant des alcènes terminaux, des essais de polymérisation ont été conduits. Pour cela, nous avons testé la réactivité des monomères synthétisés dans différentes conditions expérimentales, afin d'explorer cette nouvelle voie de synthèse.

a. Polymérisation par métathèse de diènes acycliques

Dans un premier temps nous avons cherché à réaliser cette polymérisation dans des conditions semblables à celles décrites par Wurm, et en absence de cyclodextrines afin de simplifier le système étudié (Schéma 2.10).

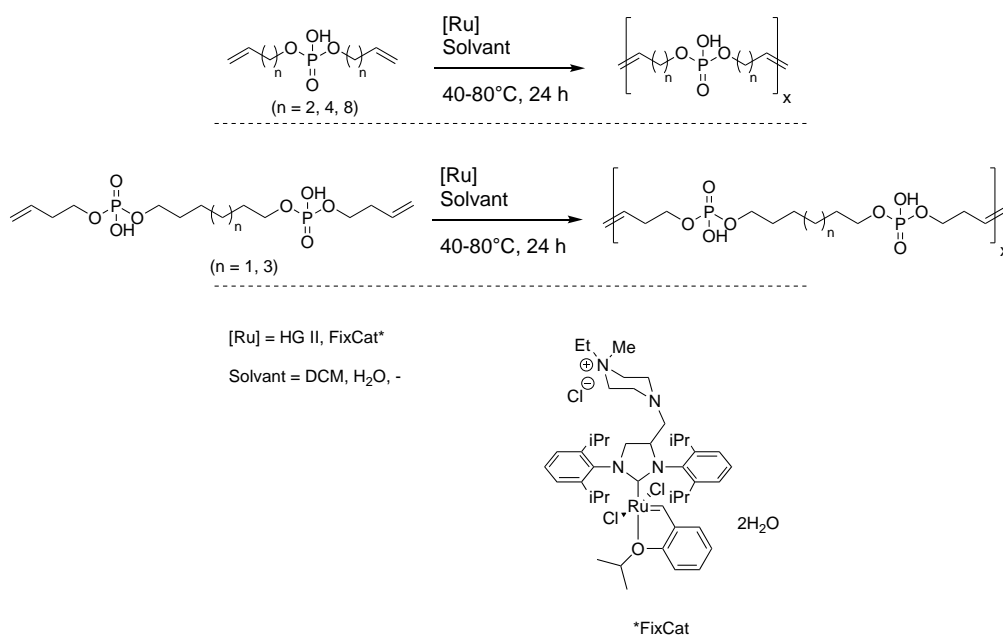


Schéma 2.10 : Polymérisation par ADMET de monomère de type A et type B

La réaction a donc été réalisée dans le dichlorométhane à 40°C et suivi par RMN ¹H. Sur le spectre est attendu en cas de polymérisation la formation d'un signal vers 5.4 ppm correspondant aux protons des alcènes présents dans la chaîne polymérisée. Le signal doit être d'autant plus intense par rapport à ceux des protons des alcènes terminaux que le degré de

polymérisation est élevé. Lors de ces premiers essais, ce signal est bien observé mais avec une intensité relativement faible par rapport aux protons des alcènes terminaux, correspondant par exemple avec le monomère **16** à un degré de polymérisation de 2 (Figure 2.13).

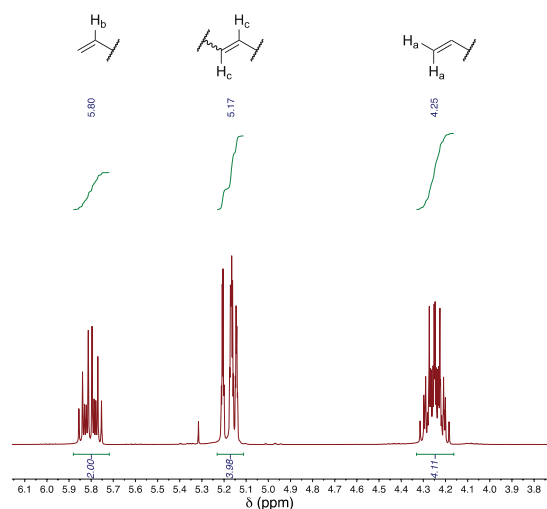


Figure 2.13 : extrait du spectre ^1H de la zone des protons éthyléniques après polymérisation avec le monomère **16** (CDCl_3 , 400 MHz, 300 K)

Ce résultat insuffisant peut s'expliquer à travers plusieurs aspects : nature du catalyseur, solvant, température... (Tableau 2.2). Pour commencer, le catalyseur a été choisi pour correspondre à celui de Hoveyda-Grubbs de deuxième génération, défini comme étant plus stable, notamment lorsque le milieu réactionnel est chauffé, que le Grubbs de première génération.¹⁴⁵

Entrée	Cat. (%mol)	Solvant	T°C	Monomères	DP*
1	HG II (2%)	DCM	40	16	2
2	HG II (5%)	DCM	40	17	1
3	HG II (5%)	DCM	40	18	2
4	HG II (5%)	-	80	16/17	1/2
5	FixCat (1%)	H ₂ O	80	22	-
6	FixCat (1%)	H ₂ O	80	23+CD	-

*DP déterminé par rapport d'intégration des protons éthyléniques centraux/extrémités

Tableau 2.2 : Tableau récapitulatif d'essais de polymérisation par ADMET dans différentes conditions

Nous nous sommes intéressés au choix du monomère et à l'influence que peut avoir le groupement hydroxyle sur la polymérisation. La distance entre le site réactionnel et le groupement hydroxyle du monomère pouvant avoir une influence sur la réaction.¹⁴⁶ Pour étudier cela, nous avons comparé dans des conditions similaires les polymérisations des

monomères **16**, **17** et **18**. Dans les trois cas, nous observons le couplage entre alcènes, mais sans constater ni d'amélioration du degré de polymérisation, ni de différences importantes entre les trois axes. Pour ces monomères phosphates, il est possible que le groupement hydroxyle soit une des raisons expliquant un faible degré de polymérisation en se coordonnant au ruthénium et empoisonnant le catalyseur.

Le deuxième facteur exploré concerne le solvant et les conditions réactionnelles. Le passage à un système sans solvant ne permet pas de constater avec les monomères **16** et **17** une augmentation de la réactivité du milieu. Finalement, l'utilisation des monomères **22**, et **23** sous la forme de *pseudorotaxanes* obtenus en présence de cyclodextrines dans l'eau, avec un catalyseur hydrosoluble (FixCat), pour réaliser la métathèse dans l'eau,¹⁴⁷ n'ont pas offert de résultats satisfaisants pour réaliser une polymérisation directe de *pseudorotaxanes*.

b. Polymérisation de monomères alcynes par couplage de Glaser

Une alternative envisageable à partir des monomères présentés serait de passer d'une fonction alcène à alcyne, et de développer une voie de polymérisation par une réaction de couplage d'alcyne, telle que le couplage de Glaser. Pour adapter les monomères à cette approche de synthèse, des dialcynes phosphates ont été synthétisés par une méthode identique à celle employée pour les alcènes (Schéma 2.11).

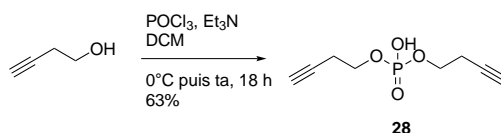
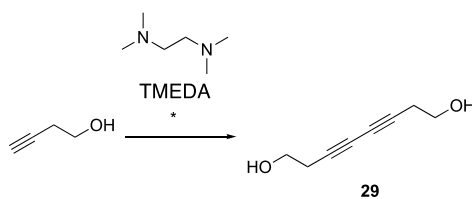


Schéma 2.11 : Synthèse du monomère dialcyne monophosphate **28**

Le monomère **28** est obtenu avec un rendement de 63 % et possède des chaînes à 4 carbones. Afin de valider les conditions choisies, nous avons réalisé une réaction test avec le butyn-1-ol, en changeant notamment le solvant (Schéma 2.12).^{139,148}

Des solvants organiques comme l'acétone ou le THF ont d'abord été employés, avec pour résultats de n'observer qu'une conversion partielle de réactif de départ. En revanche, la conversion se révèle être totale dans l'eau, en présence d'iodure de Cuivre et de TMEDA. La conversion est estimée par RMN ¹H en constatant la disparition du signal à 2.02 ppm caractéristique de l'alcyne vrai de départ.



* CuI, Et₃N, THF, ta, 18 h, aucune conversion

* CuI, TMEDA, Acetone, ta, 18 h, 60% conversion

* CuI, TMEDA, H₂O, ta, 18 h, 100% conversion

Schéma 2.12 : Test du couplage de Glaser avec le butyn-1-ol

Ainsi, à partir de cette réaction modèle, la polymérisation de Glaser avec le monomère phosphate **28** a pu être mise en place. Cependant, au cours des différents essais réalisés, la disparition du signal de l'alcyne vrai n'a jamais été observée, ne permettant que de supposer dans le meilleur des cas à une polymérisation partielle du monomère (Figure 2.14).

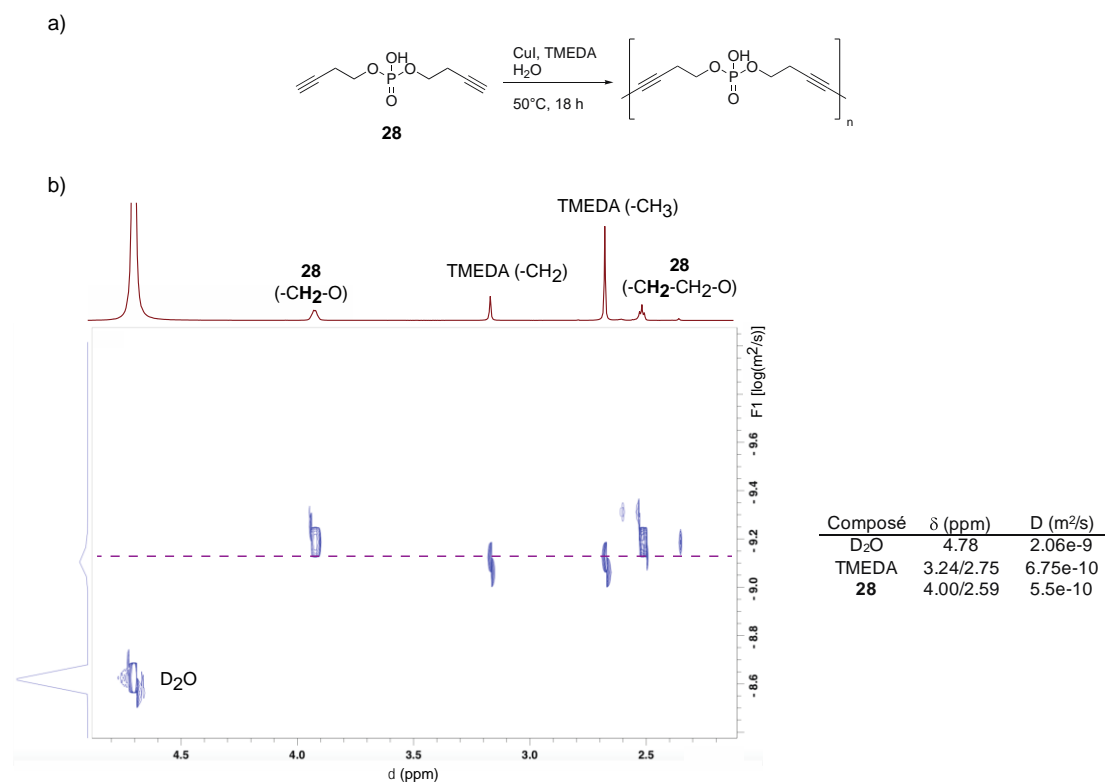


Figure 2.14 : a) polymérisation du monomère **28** ; b) DOSY réalisée après purification par sephadex dans l'eau (D₂O, 600 MHz, 300 K)

Pour analyser les produits obtenus, nous avons testé des méthodes de purification, à savoir la chromatographie par exclusion stérique dans l'eau (séphadex G-25), et ultrafiltration sur membrane 1 kDa. L'analyse par RMN des différentes fractions récupérées ont fourni le même résultat, à savoir un possible couplage entre quelques unités formant ainsi des oligomères avec entre 2 et 4 motifs de répétition. Ceci a été confirmé par DOSY, où la carte 2D permet d'observer un alignement de tous les signaux présents, notamment ceux du composé de départ.

5. Bilan des essais de polymérisation

Si nous cherchons à dresser un bilan de tous ces essais de polymérisation par ADMET, nous constatons que les monomères phosphates avec un -OH libre sur le phosphore ne sont pas adaptés à cette approche. L'empoisonnement du catalyseur par coordination du phosphate est supposé dans ce cas, ce qui nuit grandement à l'efficacité de la réaction. Un essai qualitatif avec le composé **30** synthétisé à partir du Phényl dichlorophosphate tend à le confirmer. Avec celui-ci la réaction de polymérisation a bien lieu ($DP > 30$) et les signaux du polymère sont clairement observés par RMN (Figure 2.15).

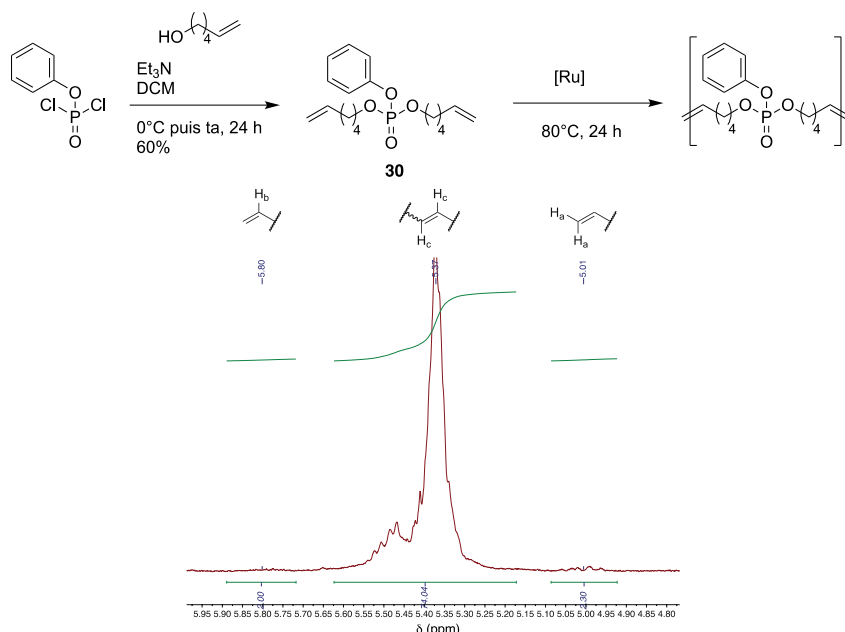


Figure 2.15 : essai de polymérisation par ADMET avec le monomère **30**

Étant donné le faible enfilage constaté sur ces dérivés avec la cyclodextrine, il serait plus approprié de faire la polymérisation dans un premier temps, et de faire une post-fonctionnalisation permettant le passage de la cyclodextrine sur l'axe polymérisé.

Cette approche correspondra à la mise en place d'un groupement protecteur latéral, visant à masquer le -OH libre lors de la polymérisation, suivi d'une déprotection puis enfilage de la cyclodextrine. Pour les monomères de type **B**, adapter cette nouvelle stratégie semble plus complexe. L'intérêt de ces monomères est d'offrir une station centrale avec une bonne affinité avec la cyclodextrine, avec l'objectif de former un rotaxane stable qui pourrait ensuite être polymérisé. Cette voie suppose la protection des -OH libres des phosphates dans l'eau, or nous avons vu précédemment que dans ces conditions, la fonctionnalisation peut être difficile à réaliser.

À la vue de ces résultats, nous avons entrepris de nous focaliser davantage sur les monomères **A** et d'envisager une stratégie d'enfilage de cyclodextrines sur un axe polymère, avec pour objectif l'obtention de l'assemblage final, sa caractérisation, et son utilisation comme agent d'imagerie, passant notamment par les études *in vivo* visant à montrer la viabilité de ce système. Une fois validé, il sera alors intéressant de chercher à optimiser l'assemblage, l'optimisation pouvant passer par de nouveaux développements avec les monomères **B**.

III. Conclusions sur la stratégie de polymérisation de *pseudorotaxanes*

Après avoir envisagé la polymérisation de *pseudorotaxanes* à travers plusieurs stratégies, il est judicieux de dresser un bilan de tous ces résultats et de conclure sur la faisabilité de cette approche.

Le couplage de phosphates pour former des polyalkylpyrophosphates n'a fonctionné que pour un seul axe, mais a permis d'obtenir de petits oligomères avec cependant des taux de couverture en cyclodextrines élevés. Dû à la taille de ces objets, cette approche offre un résultat tout de même assez éloigné de l'objectif initial.

La polymérisation par métathèse de différents monomères, en présence ou non de cyclodextrines n'a pas permis la formation de polymères, la cause principale étant sûrement la nature des monomères, présentant notamment des fonctions hydroxyles libres non compatibles avec la métathèse.

Si d'autres stratégies sont certainement envisageables, l'objectif préliminaire du projet est de vérifier la validité des polyrotaxanes polyanioniques pour des utilisations en imagerie *in vivo*, et donc leur biocompatibilité chez la souris. Nous n'avons donc pas plus poursuivi cette stratégie mais opté pour la voie de synthèse par enfilage sur un polymère déjà formé qui avait réussi pour les premiers polyrotaxanes cationiques. Si l'intérêt de ces assemblages supramoléculaires polyanioniques est démontré, il sera alors toujours possible de revenir sur le développement de nouvelles stratégies de synthèse par polymérisation de *pseudorotaxanes*.

**Chapitre III : Polypseudorotaxanes
Anioniques pour l'Imagerie
Multimodale**

Pour accéder à des polyrotaxanes de cyclodextrines possédant un axe anionique avec des fonctions phosphates, la voie de synthèse impliquant la polymérisation de divers *pseudorotaxanes* a été difficile à mettre en œuvre et n'a pas fourni les résultats désirés. Si cette approche de synthèse reste à développer, il est également nécessaire de pouvoir amener un de ces composés à des tests *in vivo*, afin de pouvoir évaluer la non-toxicité de ces produits. L'optimisation de la synthèse de ces auto-assemblages pourrait alors être envisagée. C'est avec cette approche qu'une stratégie alternative par polymérisation de l'axe, puis enfilage de cyclodextrines a été développée.

I. Formation de poly(phosphoester)s par métathèse de diènes acycliques

En envisageant cette approche, il faut donc réaliser dans un premier temps la synthèse d'un poly(phosphoester) avec des caractéristiques adaptées, que ce soit en termes de taille ou encore de dispersité. La méthode de polymérisation par métathèse de diènes acycliques développée par Frederic Wurm a été choisie.¹⁴⁹

Dans le chapitre précédent, nous avons constaté que cette polymérisation nécessite l'utilisation d'un monomère phosphotriester, et non phosphodiester pour éviter ainsi la présence d'un groupement hydroxyle libre, poison pour les catalyseurs de Ruthenium. Pour former ensuite l'assemblage supramoléculaire par enfilage de la cyclodextrine, il sera nécessaire d'effectuer une déprotection sélective de cette troisième fonction phosphoester, ce qui implique de bien choisir le groupement utilisé.

1. Développement de la synthèse et utilisation du groupement protecteur nitrophénol

Nous avons opté pour l'utilisation d'un groupement protecteur 4-Nitrophénol, dont la synthèse et l'utilisation sera relativement similaire au groupement phényle déjà utilisé et donc compatible avec la réaction de polymérisation.¹⁵⁰

a. Synthèse du polymère protégé

La synthèse de ce monomère est réalisée à partir du 4-Nitrophényl dichlorophosphate commercial et de deux équivalents d'hexèn-1-ol dans le THF pour obtenir le monomère **31** avec 50 % de rendement (Schéma 3.1). La polymérisation a ensuite été réalisée en duplicate dans

des conditions avec et sans solvant en présence du catalyseur d'Hoveyda-Grubbs II. La formation du polymère a été suivie par RMN ^1H (Figure 3.1).

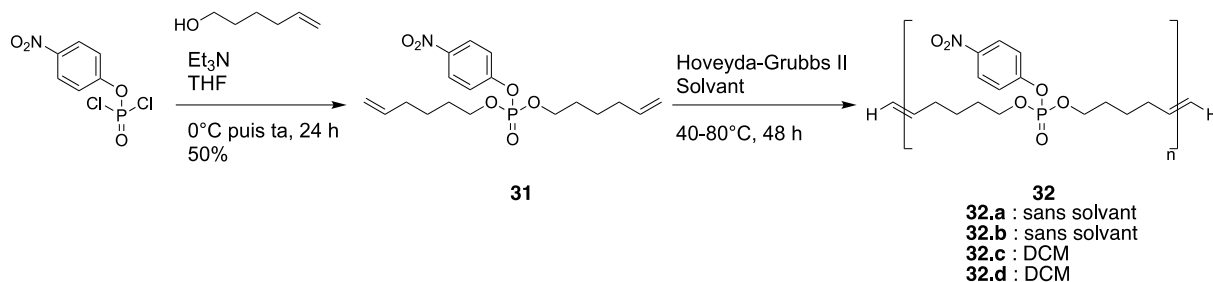


Schéma 3.1 : synthèse du polymère **32** à partir du 4-Nitrophényl dichlorophosphate commercial

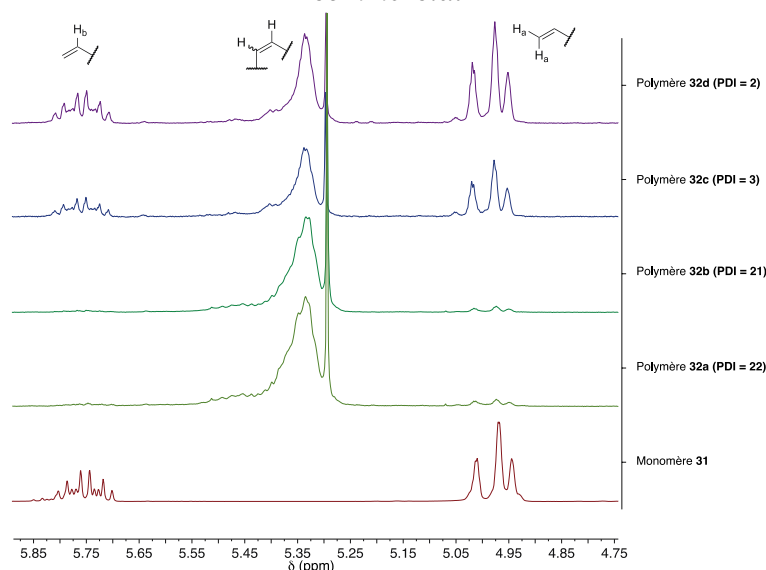


Figure 3.1 : partie éthylénique des spectres RMN ^1H après polymérisation du monomère **31** dans plusieurs conditions (CDCl_3 , 400 MHz, 300 K)

Avec ce monomère et en conditions sans solvant, une polymérisation importante est observée. Par intégration des signaux éthyléniques terminaux par rapport aux centraux, un degré de polymérisation de 21 a été déterminé, ce qui équivaut à un polymère d'environ 7000 Da. Dans le dichlorométhane, le rapport d'intégration est moins important et correspond donc à un oligomère de petite taille (700-1000 Da). Au cours de cette réaction de polymérisation, l'évaluation de la proportion des doubles liaisons *cis/trans* semble difficile à estimer, à la vue de la résolution des signaux éthyléniques obtenus après polymérisation. D'après la littérature, nous nous attendons à la formation majoritaire de doubles liaisons en configuration *trans*¹⁵¹, plus stables thermodynamiquement et qui seront plus favorables pour l'enfilage ultérieur des cyclodextrines sur la chaîne. Ces premières analyses sont confirmées par Chromatographie par Perméation de Gel (« GPC »), où les chromatogrammes des échantillons sont présentés figure 3.2 avec une détection d'indice de réfraction (RI).

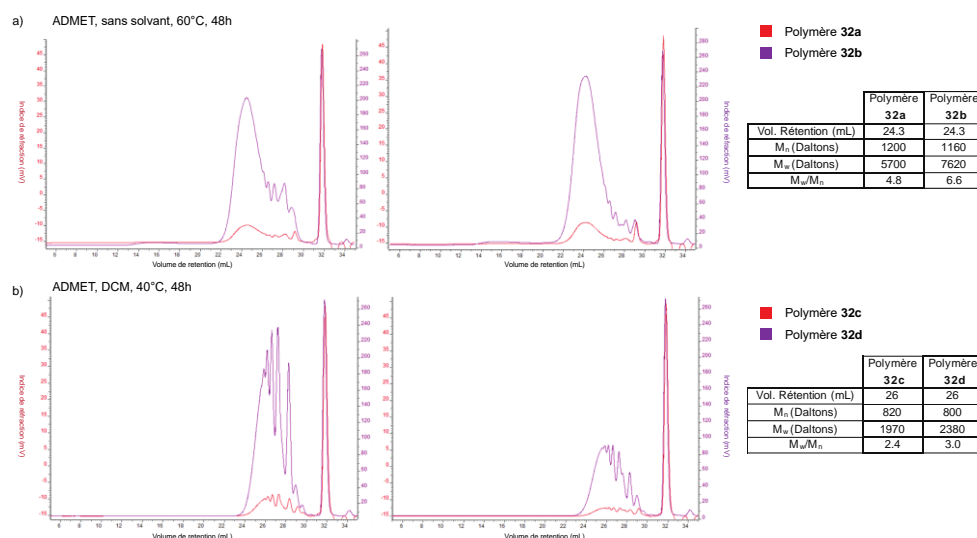


Figure 3.2 : Chromatogrammes obtenus pour des polymérisations réalisées sans solvant (a) et dans le dichlorométhane (b)

En conditions sans solvant, nous constatons la présence d'une population majoritaire pour un volume de rétention à 24.3 mL, avec une masse molaire moyenne en nombre estimée dans les deux essais plus faible que celle déterminée par RMN. Les dispersités sont cependant très élevées, et traduisent en effet la présence de plusieurs populations de polymères de tailles différentes, et potentiellement des traces de monomères. Dans le cas des polymérisations en solution dans le dichlorométhane, des dispersités plus faibles sont mesurées mais pour des tailles de polymères nettement inférieures à celles mesurées dans les essais sans solvant, avec des degrés de polymérisation se trouvant entre 5 et 6. À partir de ces analyses, nous pouvons tirer comme conclusions que dans les deux cas, la polymérisation est reproductible, mais les tailles obtenues dans le dichlorométhane sont moins intéressantes que celles obtenues par polymérisation en masse.

b. Optimisations de l'étape de polymérisation

Nous avons donc cherché à optimiser ces dernières conditions afin d'augmenter la taille des polymères, et surtout diminuer la dispersité qui était trop élevée jusqu'ici. Cela implique d'assurer un meilleur contrôle de la réaction de polymérisation, qui peut être influencée au travers de la concentration, du catalyseur, de la pression ou de la température de réaction. Comme nous l'avons vu, un degré de polymérisation plus élevé est observé lorsque la réaction est réalisée sans solvant, le catalyseur de Ruthénium étant additionné directement au monomère qui est un liquide. En plus d'influer sur la concentration, l'absence de solvant permet d'augmenter la température de réaction, qui contribue notamment à favoriser l'agitation. En

effet, la viscosité du milieu augmente rapidement avec l'avancement de la réaction et l'échelle de réaction ne permet pas l'utilisation d'une agitation mécanique. Il a ainsi été intéressant d'augmenter la température de 60°C à 80°C. Le pourcentage de catalyseur ajouté a été optimisé pour être suffisant sans utiliser de quantités trop importantes. Cette valeur a donc été ajustée à 2 % en masse par rapport au monomère. Finalement, nous avons modifié l'étape de purification mise en place avant déprotection du polymère dans le but de récupérer préférentiellement les polymères de plus grandes tailles et avec une dispersité réduite. Alors qu'une filtration sur célite était réalisée pour éliminer les traces de catalyseur lors des premières polymérisations, nous avons opté pour une purification supplémentaire sur colonne d'exclusion stérique dans un mélange DCM/MeOH 3:1. En se basant sur les chromatogrammes obtenus, présentant globalement des profils similaires, l'objectif est de conserver uniquement les premières fractions de l'échantillon global de polymère correspondant aux chaînes les plus grandes. L'intérêt de cette purification a été validé par GPC dans le THF (Figure 3.3).

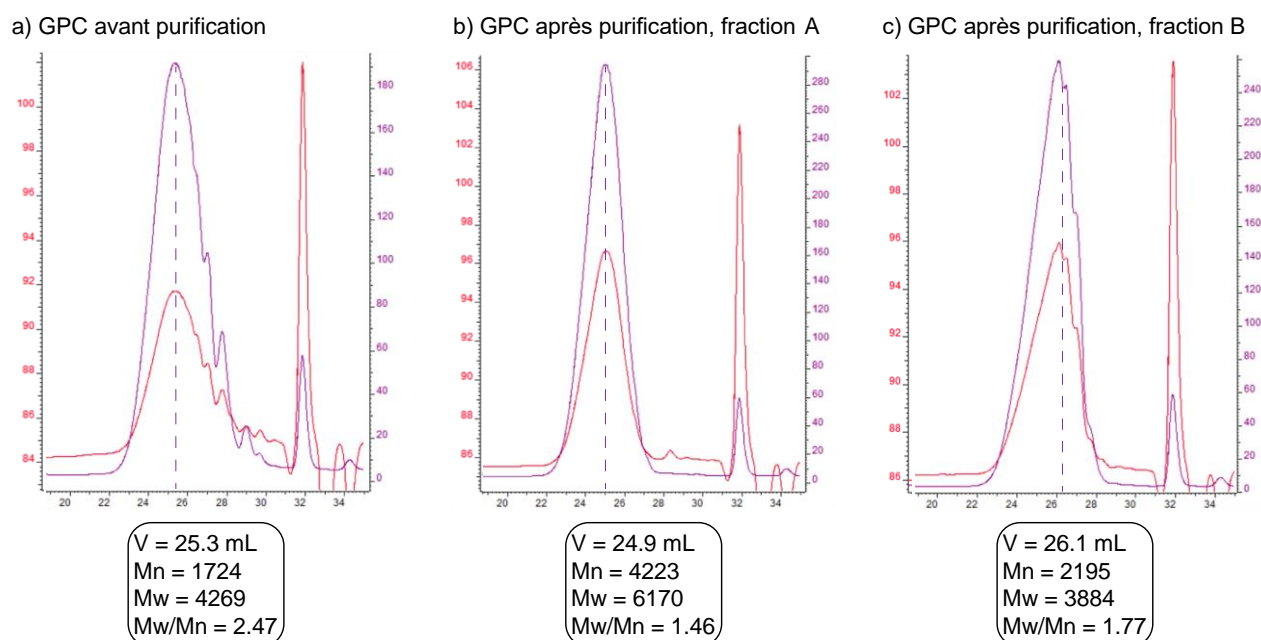


Figure 3.3 : Comparaison des chromatogrammes GPC obtenus avant et après purification par sephadex LH20 (DCM/MeOH 3:1)

En divisant l'échantillon global de polymères en plusieurs fractions et en analysant celles-ci par GPC, nous avons constaté une séparation des diverses populations jusqu'alors observées (Figure 3.3.a). Il est ainsi possible d'obtenir un polymère avec un volume de rétention plus faible, et surtout un dispersité de 1.46 satisfaisante, pour un rendement en masse de 33 % et une taille de polymère correspondant à 20 motifs de répétition ($M_n = 5000 \text{ Da}$).

2. Déprotection sélective du groupement nitrophénol

Après purification, l'hydrolyse sélective des groupements nitrophénol par LiOH est effectuée dans un mélange THF/H₂O pour maintenir la solubilité des polymères protégés et déprotégés, et suivie par RMN ³¹P{¹H} (Schéma 3.2).

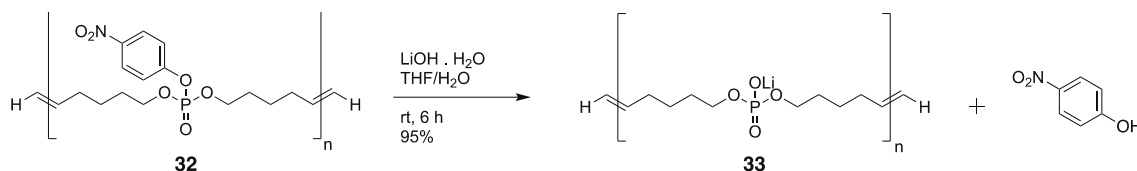


Schéma 3.2 : étape de déprotection du groupement 4-Nitrophénol

Après 6 heures à température ambiante, l'analyse par RMN ³¹P{¹H} permet de constater la présence d'un unique signal à 0.65 ppm, conforme à la gamme de déplacements chimiques attendue pour des dérivés phosphodiesters, ainsi que la disparition totale du signal du monomère phosphotriester initialement présent à -6.92 ppm. Le produit obtenu est ensuite purifié par chromatographie d'exclusion stérique dans l'eau, au cours de laquelle nous avons pu suivre la séparation d'un composé jaune (4-Nitrophénol), avec une élution lente par rapport à celle d'un premier composé, correspondant au poly(phosphodiester) déprotégé **33** obtenu avec un rendement de 95 %.

Ce polymère a ensuite pu être caractérisé, principalement par études RMN n'ayant pas au laboratoire de colonnes de GPC adaptées à des composés polyanioniques. L'interprétation des spectres ¹H et ³¹P{¹H} permettent une attribution des signaux de l'axe polymère, avec un unique signal large en phosphore vers 0.75 ppm (Figure 3.4).

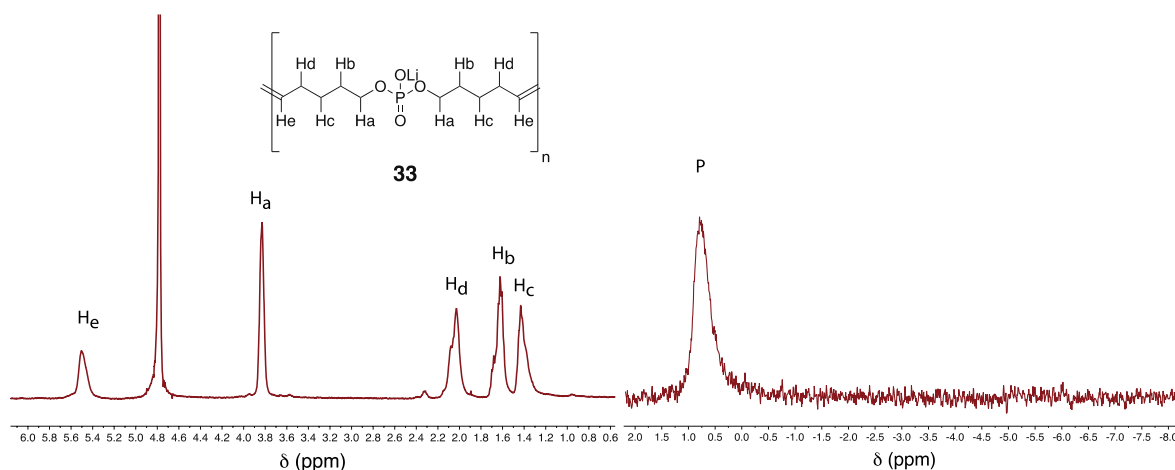


Figure 3.4 : RMN ¹H et ³¹P{¹H} du polymère **33** (D₂O, 600 MHz, 300 K)

Le spectre proton permet de vérifier l'absence d'impuretés ou de restes de groupement protecteur. On retrouve les signaux caractéristiques de l'axe, avec les protons éthyléniques de la chaîne à 5.55 ppm, et les extrémités à 6.30 et 5.10 ppm avec une intensité de signal très faible, indiquant la stabilité du polymère lors de l'étape de déprotection par l'hydroxyde de lithium. Le reste de la chaîne aliphatique est observée à des déplacements chimiques de 3.90, 2.10, 1.70, et 1.45 ppm correspondant respectivement aux protons H_a, H_d, H_b, et H_c. L'acquisition du spectre DOSY (voir en annexes) permet de déterminer un coefficient de diffusion dans le D₂O, à pH acide, pour ces polymères de $1.35 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, qui pourra être comparé par la suite avec les assemblages formés entre le polymère et les cyclodextrines.

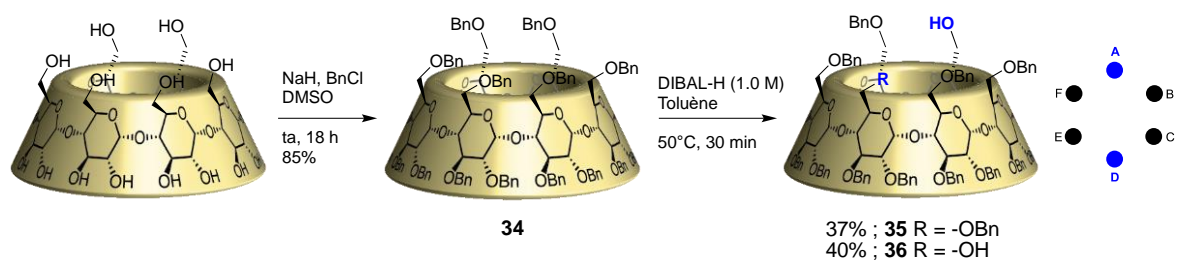
Malgré des rendements modérés, cette synthèse permet un accès rapide et efficace à une quantité de polymères de l'ordre de la centaine de milligrammes à partir de 2 g de monomère de départ **31**, suffisante pour effectuer des caractérisations et études des assemblages supramoléculaires avec des cyclodextrines, et également produire les quantités nécessaires pour les études *in vitro* et *in vivo* à venir. La présence de fonctions alcènes terminales est également intéressante pour assurer la stabilité du polyrotaxane par l'éventuel ajout de bouchons après l'étape d'enfilage.

II. Synthèses de cyclodextrines fonctionnalisées

En parallèle du développement de l'axe polymère, des cyclodextrines fonctionnalisées ont été synthétisées selon une voie optimisée au sein du laboratoire. L'obtention de cyclodextrines mono et bis-fonctionnalisées en version native passe par une étape de fonctionnalisation sélective d'une ou deux positions sur le col primaire du macrocycle.

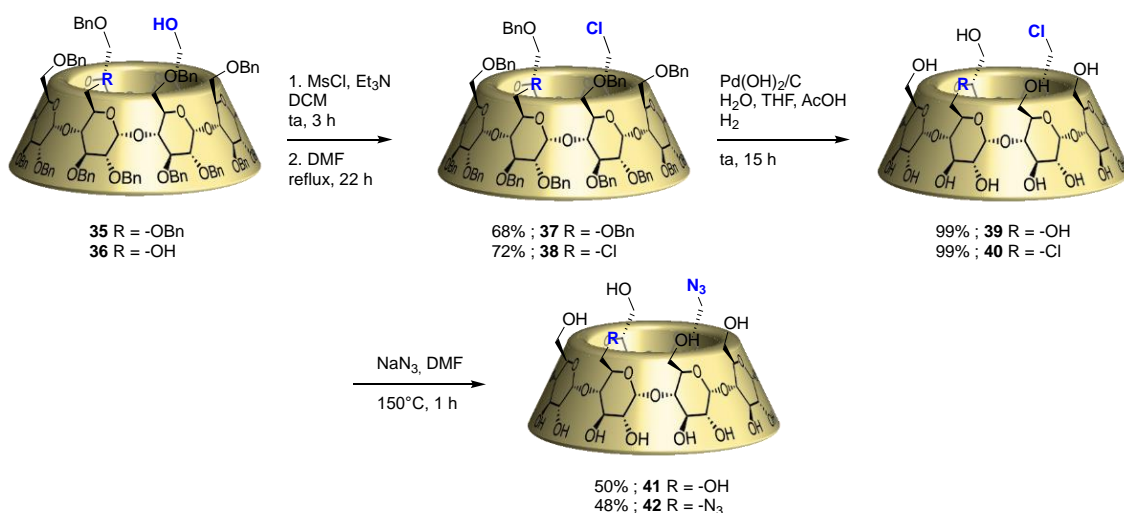
1. Synthèses des CD-azotures

Si, par exemple, la Tosylation sélective d'une seule fonction hydroxyle du col primaire est bien décrite avec des β -cyclodextrines, cette réaction est moins adaptée en ce qui concerne l' α -cyclodextrine. Nous avons appliqué la stratégie développée dans l'équipe nécessitant, dans un premier temps, la perbenzylation¹⁵² de la cyclodextrine pour ensuite utiliser une réaction de débenzylation régiosélective au DIBAL-H (Schéma 3.3).

Schéma 3.3 : séquence réactionnelle pour la formation des cyclodextrines **35** et **36**

La perbenzylation est réalisée dans le DMSO par ajout de NaH pour former l'alcoolate, auquel est progressivement ajouté le chlorure de benzyle. Après purification la cyclodextrine **34** est obtenue avec un rendement de 85 %. L'élément important de cette étape est de veiller à mener la réaction à complétion pour ne pas avoir des intermédiaires partiellement benzylés. Cette étape permet une montée en échelle efficace, donnant accès facilement à plusieurs dizaines de grammes d' α -cyclodextrines perbenzylées pouvant être utilisées pour les étapes suivantes.

La cyclodextrine **34** est ensuite mise en réaction avec le DIBAL-H dans le toluène pour effectuer une déprotection sélective et séquentielle des hydroxyles du col primaire.¹⁵³ Cette déprotection a lieu *via* un mécanisme faisant intervenir deux molécules de DIBAL-H, et permet l'accès au dérivé monol **35**, ainsi qu'au diol **36** avec une régiosélectivité **AD**. Ces deux composés sont généralement obtenus en mélange dont les proportions varient en fonction du temps de réaction, mais peuvent être isolés par purification sur colonne chromatographique. Dans ces conditions, les rendements standards obtenus en monol **35** et en diol **36** sont respectivement de 35 et 40 %. Une fois séparés, ces deux cyclodextrines suivent une même séquence réactionnelle qui permet d'obtenir les cyclodextrines mono et di-azoture sous la forme native, qui pourront ensuite par réaction de chimie « click » être fonctionnalisées (Schéma 3.4).

Schéma 3.4 : synthèse des cyclodextrines mono et di-azoture **41** et **42**

La première étape de cette séquence est une chloration réalisée en deux étapes *one pot*, avec dans un premier temps la métylation du/des alcool(s) primaire(s) des cyclodextrines **39** et **40**.¹⁵⁴ Le mélange des cyclodextrines **35** ou **36** avec le chlorure de métyle en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane permet de former un métylate, qui est ensuite placé à reflux dans le DMF sans purification intermédiaire pour donner les dérivés chlorés **37** et **38**, avec des rendements respectifs sur les deux étapes de 68 % et 56 %.

L'étape suivante consiste à faire repasser la cyclodextrine sous sa forme « native » par déprotection des groupements benzyles restants. Elle est réalisée par hydrogénolyse avec du Palladium sur charbon sous atmosphère d'hydrogène, dans un mélange de solvants constitué d'eau, de THF et d'acide acétique.¹⁵⁵ Ce mélange est utilisé pour garantir la solubilité à la fois du composé de départ (THF pour les cyclodextrines perbenzylées) et du produit formé (H₂O en milieu acide pour les cyclodextrines natives). Dans ces conditions, les cyclodextrines **39** et **40** sont isolées quasi quantitativement. À cet avancement de la synthèse ce très bon rendement est important, puisqu'après déprotection les masses molaires des cyclodextrines formées sont grandement diminuées. Il est ainsi récupéré une quantité raisonnable de produit après déprotection, à partir d'une grande quantité des composés **37** et **38**.

La séquence se termine finalement par la substitution nucléophile des dérivés chlorés par l'azoture de sodium dans le DMF à reflux.¹⁵⁶ Après purification, les cyclodextrines **41** et **42** sont obtenues avec des rendements modestes de 50 % et 48 %, due à une purification difficile sur silice avec un système acétonitrile/Eau.

2. Synthèses des CD fonctionnalisées pour l'IRM et la fluorescence

À partir des cyclodextrines azotures, leur fonctionnalisation par des agents de contraste IRM ou des fluorophores portant un groupement alcyne vrai est réalisée par une réaction de chimie « click » CuAAC (« *copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition* »). Ainsi, le complexe de Gadolinium (III) utilisé pour l'IRM correspond à un dérivé du DO3A obtenu *via* une synthèse en 4 étapes à partir du cyclen commercial (Schéma 3.5). La première étape consiste à former le dérivé triester par réaction entre le cyclen et trois équivalents de bromoacetate de *tert*-butyle. Le produit trialkylé **43** précipite sélectivement et est isolé avec un rendement de 65 %.¹⁵⁷ La quatrième alkylation est réalisée avec le 2-bromo-*N*-(prop-2-ynyl)acétamide **44**, synthétisé à partir d'acide bromoacétique et de propargylamine.^{158,159} Le composé **45** est ainsi obtenu avec un rendement de 94 %, puis engagé dans une séquence de deux étapes avec tout d'abord l'hydrolyse des trois esters tertiobutyliques avec l'acide trifluoroacétique, suivi de la complexation avec l'ion lanthanide désiré.

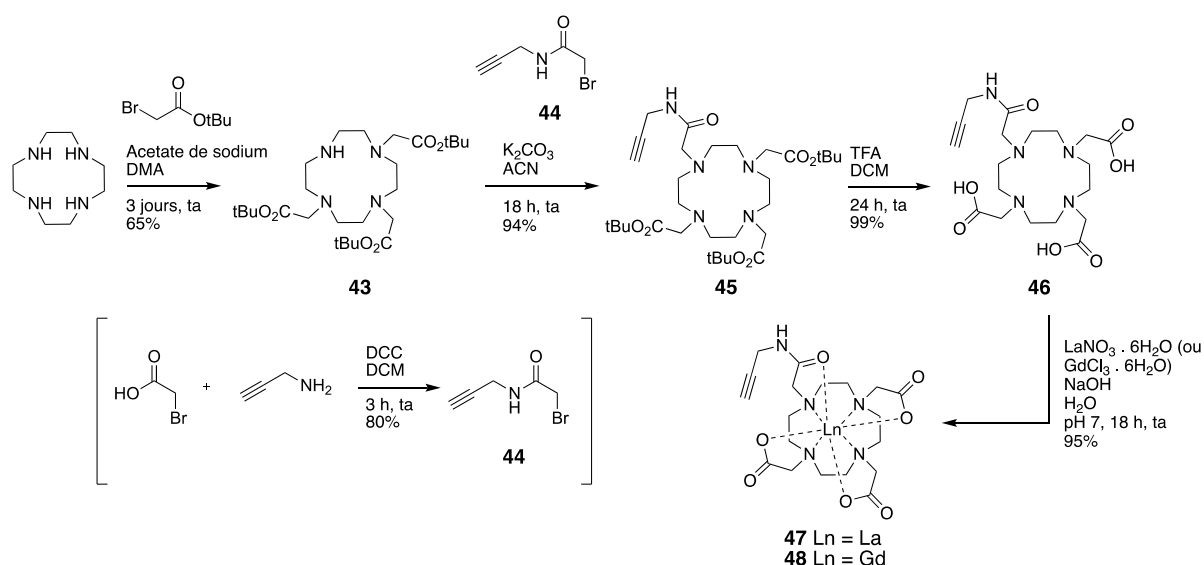


Schéma 3.5 : synthèse du complexe de Lanthanide **47** et **48** à partir du cyclen commercial

Le complexe de Gadolinium (III) ainsi que son analogue diamagnétique de Lanthane (III) sont obtenus respectivement à partir de chlorure de Gadolinium (III) et de nitrate de Lanthane (III).¹⁵⁸ Dans les deux cas, de très bons rendements de près de 95 % sont obtenus.

Pour intégrer une sonde fluorescente, un dérivé de type bodipy ayant une longueur d'onde d'émission autour de 500 nm a été choisi. Pour cela, celui-ci doit être synthétisé avec un alcyne vrai, synthèse réalisée en trois étapes et faisant intervenir notamment un couplage de Sonogashira (Schéma 3.6).

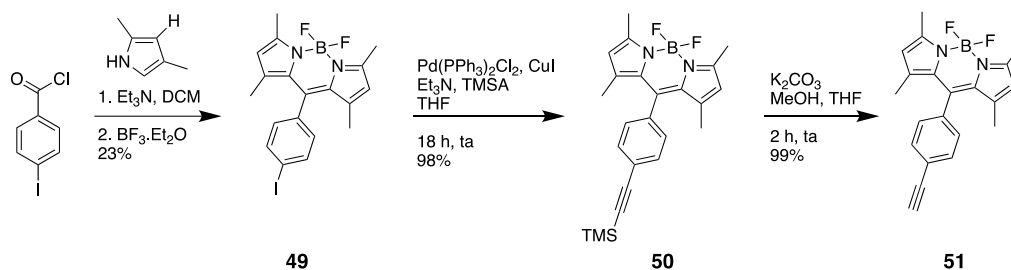


Schéma 3.6 : synthèse de la bodipy-H **51** à partir de 4-iodobenzoyl commercial

La première étape consiste en la formation de la structure bodipy. À partir du chlorure de 4-iodobenzoyl commercial, mis en réaction avec le 2,4-diméthylpyrrole dans le dichlorométhane en présence de triéthylamine, un intermédiaire dipyrrométhane est formé. Il est ensuite coordonné *in situ* au bore par ajout de trifluorure de bore étherate. La bodipy **49** est ainsi obtenue avec un rendement de 23 % et peut ensuite être engagée dans un couplage de Sonogashira avec le triméthylsilylacétylène pour introduire la fonction alcyne. Le couplage est réalisé en présence de chlorure de *bis*(triphenylphosphine) Palladium (II) et d'iodure de Cuivre (I),¹⁶⁰ et la bodipy **50** est isolée avec 98 % de rendement. Finalement, une déprotection du groupement TMS par le carbonate de potassium dans un mélange THF/MeOH permet

d'isoler l'alcyne vrai **51** avec un rendement quantitatif.¹⁶¹ De par la tendance à la dégradation de ce composé, cette étape doit être suivie immédiatement de la réaction de chimie « click » pour former la cyclodextrine fonctionnalisée.¹⁶² Pour conserver ce composé, il sera préférable de le stocker sous sa forme silylée **50**.

Une fois obtenus, ces composés vont pouvoir être conjugués à la cyclodextrine lors de la dernière étape par réaction de chimie « click », ayant lieu entre l'alcyne vrai et l'azoture porté par le macrocycle (Schéma 3.7).¹⁶³

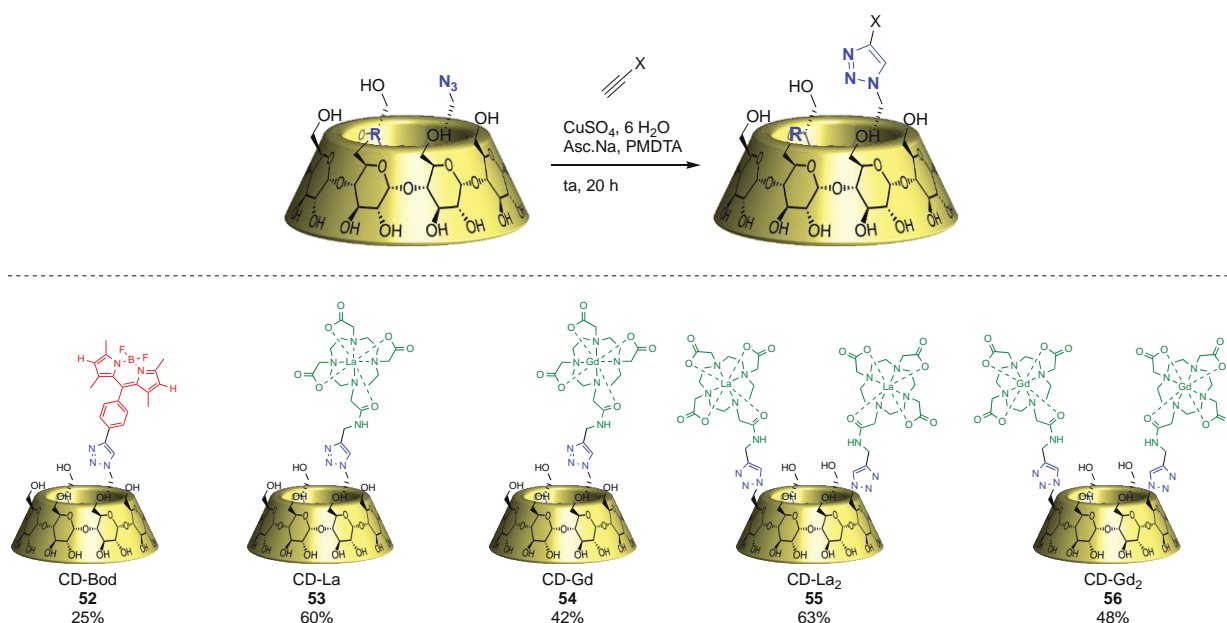


Schéma 3.7 : fonctionnalisation des cyclodextrines mono et diazoture **41** et **42** par réaction de chimie « click »

Cette réaction est réalisée dans un mélange d'eau et de DMF et en présence de sulfate de cuivre(II), de PMDTA (N,N,N',N'',N''-pentaméthyl-diéthylène-triamine) comme ligand et d'ascorbate de sodium pour former un triazole, liant ainsi la cyclodextrine aux groupements fonctionnels. Après purification sur gel de silice avec un gradient eau/acétonitrile, les diverses cyclodextrines fonctionnalisées sont isolées et caractérisées. Nous avons ainsi préparé une bibliothèque de cyclodextrines mono, di-Gadolinium et leurs équivalents diamagnétiques Lanthane comme agents de contraste IRM, ainsi qu'une cyclodextrine mono-Bodipy comme marqueur fluorescent.

III. Formations et caractérisations des assemblages

Les différentes briques élémentaires étant toutes obtenues et caractérisées, il a été possible de passer à la dernière étape de synthèse, c'est-à-dire la formation du polypseudorotaxane par enfilage sur l'axe polymère poly(phosphoester). Cette réaction d'auto-

assemblage a été étudiée dans un premier temps avec des cyclodextrines natives pour optimiser les conditions et avoir un système modèle sur lequel se baser.

1. Études par RMN d'assemblages de cyclodextrines natives

Un polyrotaxane de cyclodextrines avec un axe poly(phosphoester) a été décrit très récemment par Wenz dans le cadre d'une application pour le traitement de la maladie de Niemann Pick de type C.¹⁶⁴ Le polyrotaxane a été obtenu par un enfilage réalisé à 60°C sur plus de 20 jours, et donne un maximum de 48 % de couverture du polymère en cyclodextrines (Figure 3.5). Le taux de couverture au cours du temps a été mesuré en comparant les intégrations des signaux des protons anomériques correspondant aux cyclodextrines libres et enfilées. La courbe observée suit une loi exponentielle étirée souvent associée au phénomène de diffusion dans une seule dimension.¹⁶⁵

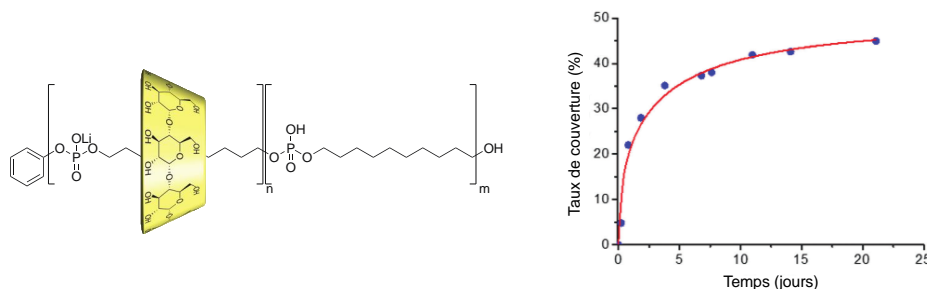


Figure 3.5 : taux de couverture en α -cyclodextrine du polypseudorotaxane de Wenz en fonction du temps¹⁶⁴

Le plafond de 48 % de taux d'enfilage observé peut s'expliquer par l'affinité de la cyclodextrine avec cet axe, associé à une distribution statistique du macrocycle le long du polymère. La vitesse de l'enfilage peut s'expliquer par la présence des groupements phosphates chargés générant une gêne stérique lors du passage de la cyclodextrine. Ce phénomène génère cependant une stabilité cinétique intéressante pour ce polypseudorotaxane. Ceci est notamment vérifié avec un système constitué d'un mélange de β -cyclodextrines hydroxypropyles (HP- β -CD) et d' α -cyclodextrines. Si un désenfilage de l'HP- β -CD est constaté dû au diamètre supérieur du macrocycle par rapport à l' α -CD, l'ajout d' α -CDs au système permet d'avoir un bouchon supramoléculaire et d'obtenir l'assemblage sous une forme stable.

Ces conditions d'enfilage ont été appliquées avec notre polymère **33**. La formation du polypseudorotaxane a ainsi été étudié par RMN ^1H , en mélangeant dans le D_2O le polymère **33** avec 1.3 équivalent par unité de répétition d' α -cyclodextrine native (Figure 3.6).

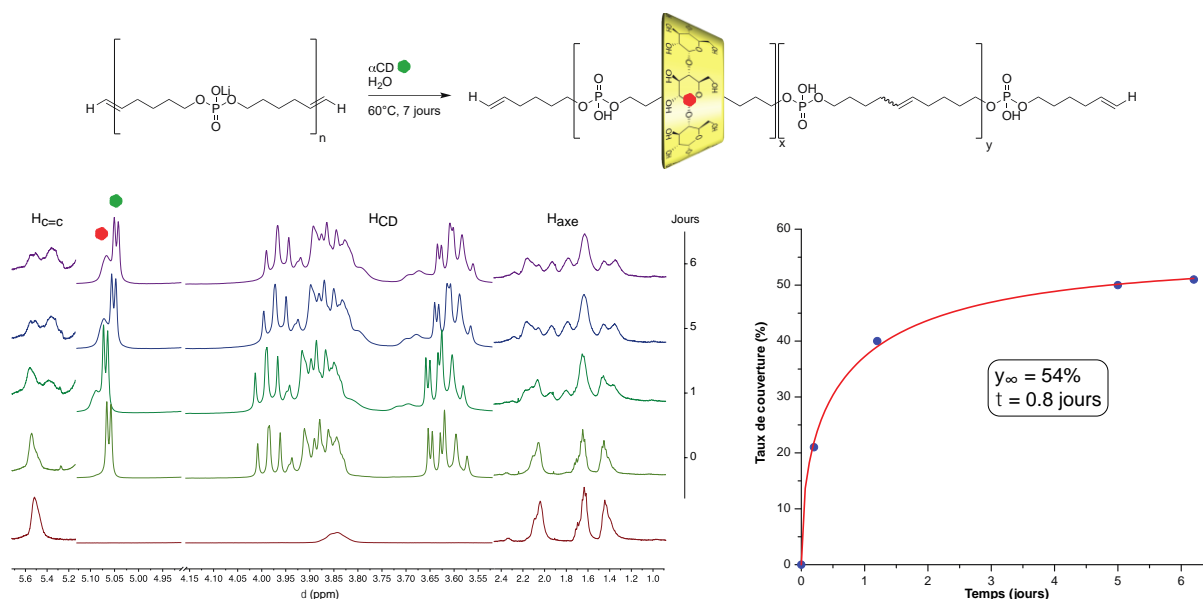


Figure 3.6 : Suivi par RMN ^1H de l'enfilage d' α -cyclodextrine native sur le polymère **33** (D_2O , 400 MHz, 300 K) ; zoom des signaux éthyléniques, CD, et axe ; taux de couverture estimé en CDs en fonction du temps à 60°C

Nous avons constaté par suivi RMN un enfilage sur le polymère lorsque le milieu est chauffé, ici à 60°C . Plusieurs modifications sur le spectre sont observables, avec le signal à 5.1 ppm correspondant aux protons anomériques de la cyclodextrine, observé lors des enfilages de CDs sur les monomères modèles diphosphates. Il est également observé une désymétrisation des protons de l'axe, correspondant ici à une chaîne C_{10} , avec l'apparition de signaux à 2.2 ppm et 1.3 ppm également observés dans le cas des [2]pseudorotaxanes modèles. Une modification caractéristique de ce polymère intervient pour les protons des doubles liaisons formées par métathèse à 5.57 ppm, qui permet par intégration d'estimer l'enfilage de la cyclodextrine sur le polymère. Avec des cyclodextrines natives, le taux est estimé à 50 % de couverture, avec une valeur qui tend vers 54 %, ce qui correspond à un site occupé sur deux, et τ estimé à 0.8 jour. Pour un polymère de 20 motifs de répétition ou plus, cela correspond donc à un polyrotaxane avec au moins 10 cyclodextrines.

Après avoir étudié ce système à l'échelle d'un tube RMN, une méthode préparative et de purification ont été développées pour isoler ces assemblages. L'auto-assemblage a été mis en place dans l'eau à une concentration de 8 mM. Après une semaine d'agitation à 60°C , le mélange est purifié par ultrafiltration sur membrane 1KDa, ce qui permet par centrifugation de récupérer dans le filtrat l'excès de cyclodextrines libres, et dans la membrane le polypseudorotaxane qui est repris dans l'eau et lyophilisé pour être obtenu avec un rendement de 80 %. Cette opération, dont l'efficacité a été vérifiée par RMN (Figure 3.7) en comparant les spectres obtenus pour les deux échantillons, permet une purification efficace, en éliminant

l'excès de cyclodextrines libres que l'on retrouve sur le spectre RMN du filtrat, tandis que la fraction issue de la membrane montre des signaux de l'axe et de cyclodextrines enfilées.

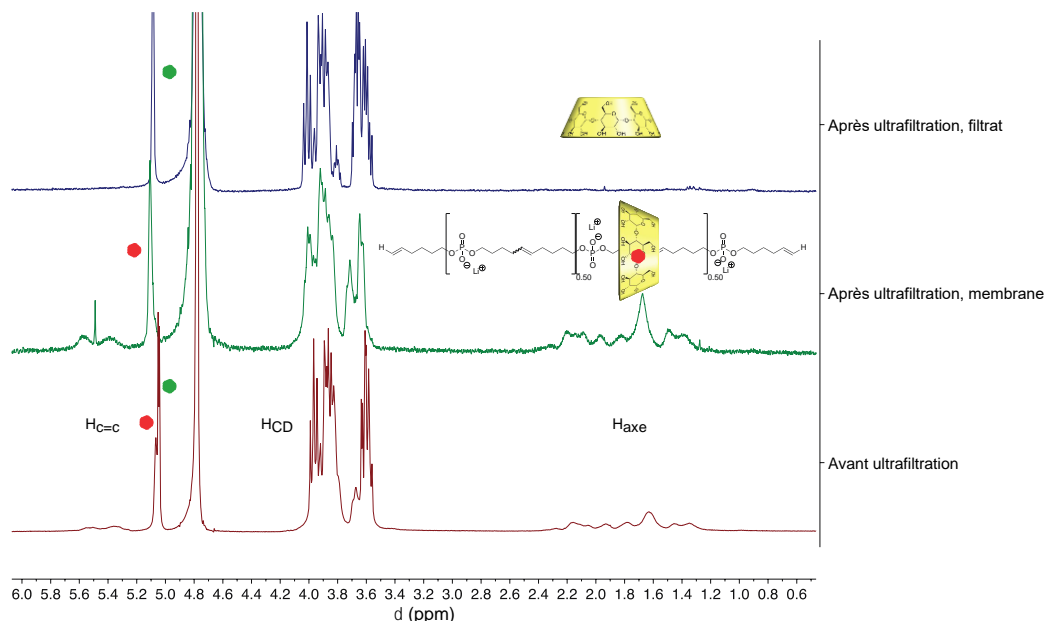


Figure 3.7 : Caractérisation par RMN ^1H de la purification des polypseudorotaxanes de cyclodextrines natives (D_2O , 400 MHz, 300 K)

En outre, il est possible de récupérer ces cyclodextrines non enfilées, ce qui sera notamment intéressant avec les versions fonctionnalisées, plus coûteuses, et qui pourront ainsi être recyclées. L'analyse par RMN 2D/DOSY du produit final isolé a ainsi pu être réalisée et mettre en évidence l'obtention du polypseudorotaxane pur (Figure 3.8).

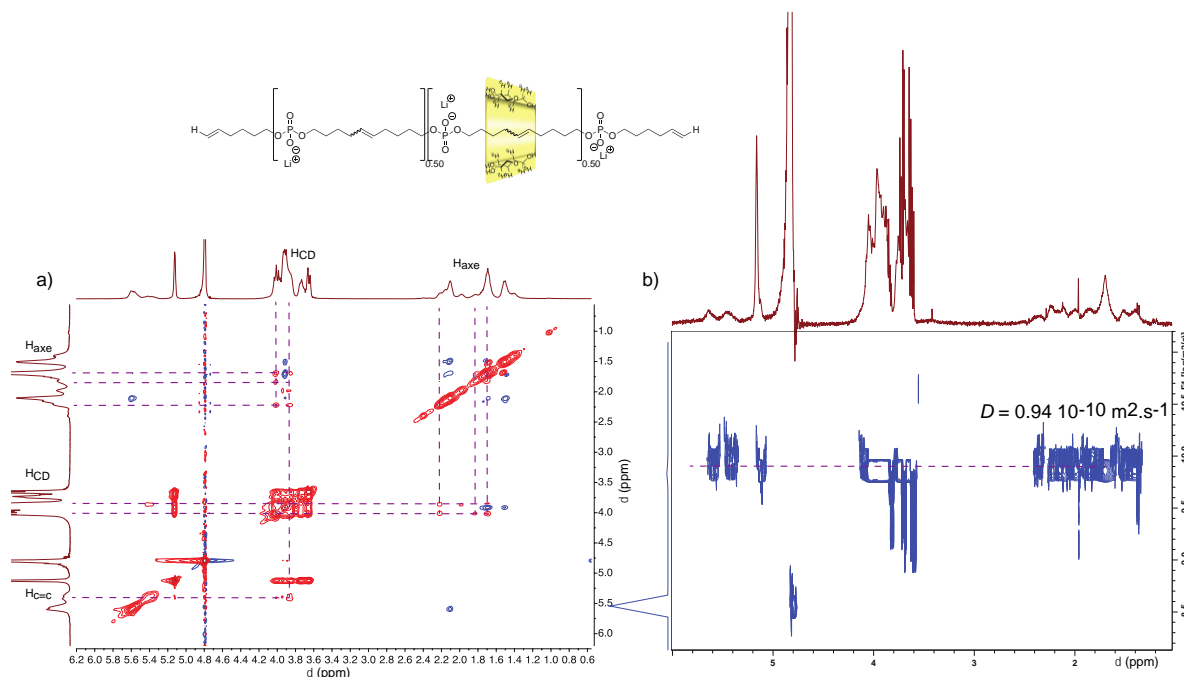


Figure 3.8 : Caractérisation du PPR 57 par a) NOESY et b) DOSY (D_2O , 600 MHz, 300 K)

Sur le spectre NOESY, des corrélations spatiales entre les protons de la chaîne aliphatique et les protons de la cyclodextrine pointant vers l'intérieur de la cavité (H₃ et/ou H₅) apparaissent de manière similaire aux *pseudorotaxanes* modèles. Une deuxième corrélation caractéristique de ce polymère est également constatée entre ces mêmes protons de la cyclodextrine et les protons éthyléniques, confirmant l'enfilage du macrocycle sur le polymère. La carte DOSY 2D permet de compléter cette caractérisation, en observant un même coefficient de diffusion pour les protons des cyclodextrines et ceux de l'axe polymère. De plus la valeur du coefficient de diffusion du polypseudorotaxane **57** (de $0.94 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) est légèrement plus faible que celle du polymère seul ($1.35 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), ce qui confirme l'obtention d'une espèce de taille plus importante et donc l'enfilage.

En complément de la RMN, nous avons cherché à caractériser davantage ces assemblages en effectuant des mesures de DLS (« *Dynamic Light Scattering* ») dans l'eau en présence de tampon PBS à pH 7.2 (après filtration sur membrane 0.2 µm), permettant d'accéder aux diamètres des particules formées par un polymère (Tableau 3.1).

Composés	Concentration (mg/mL)	Diamètre moyen (nm)	Écart-type (nm)
Polymère 33	2.5	199	87
PPR-CD _{nat} 57	2.5	229	95

Tableau 3.1 : Mesures effectuées par DLS sur le polymère **33** et le polypseudorotaxane **57**, à 25°C dans l'eau, tampon PBS, à 2.5 mg/mL

Pour nos composés, nous constatons une augmentation du diamètre estimé entre le polymère initial, et le polypseudorotaxane formé avec la cyclodextrine native, conforme à l'ajout de cyclodextrines sur l'axe polymère. Des tailles très importantes apparaissent par rapport à celles estimées à la fois par RMN, mais aussi par rapport à celles estimées par GPC sur le polymère protégé **32**, indiquant probablement des phénomènes d'agrégation dans l'eau de ces espèces amphiphiles.

2. Études par RMN d'assemblages de cyclodextrines fonctionnalisées

Le développement d'une méthode de purification et de caractérisation ayant été faite avec les assemblages de cyclodextrines natives, nous avons exploité cette même méthode avec les cyclodextrines fonctionnalisées, afin de produire deux types de polypseudorotaxanes.

a. Polypseudorotaxanes monomodaux

Afin de caractériser les polypseudorotaxanes pour l'IRM, ces objets ont été synthétisés dans un premier temps avec leur équivalent Lanthane. Les auto-assemblages ont été réalisés avec les CD-La **53**, CD-La₂ **54** et CD-Bod **52** dans les conditions mises au point avec les cyclodextrines natives en tubes RMN. Par RMN ¹H, nous avons suivi l'enfilage pour ces trois cyclodextrines et constaté des taux de couverture différents (Figure 3.9).

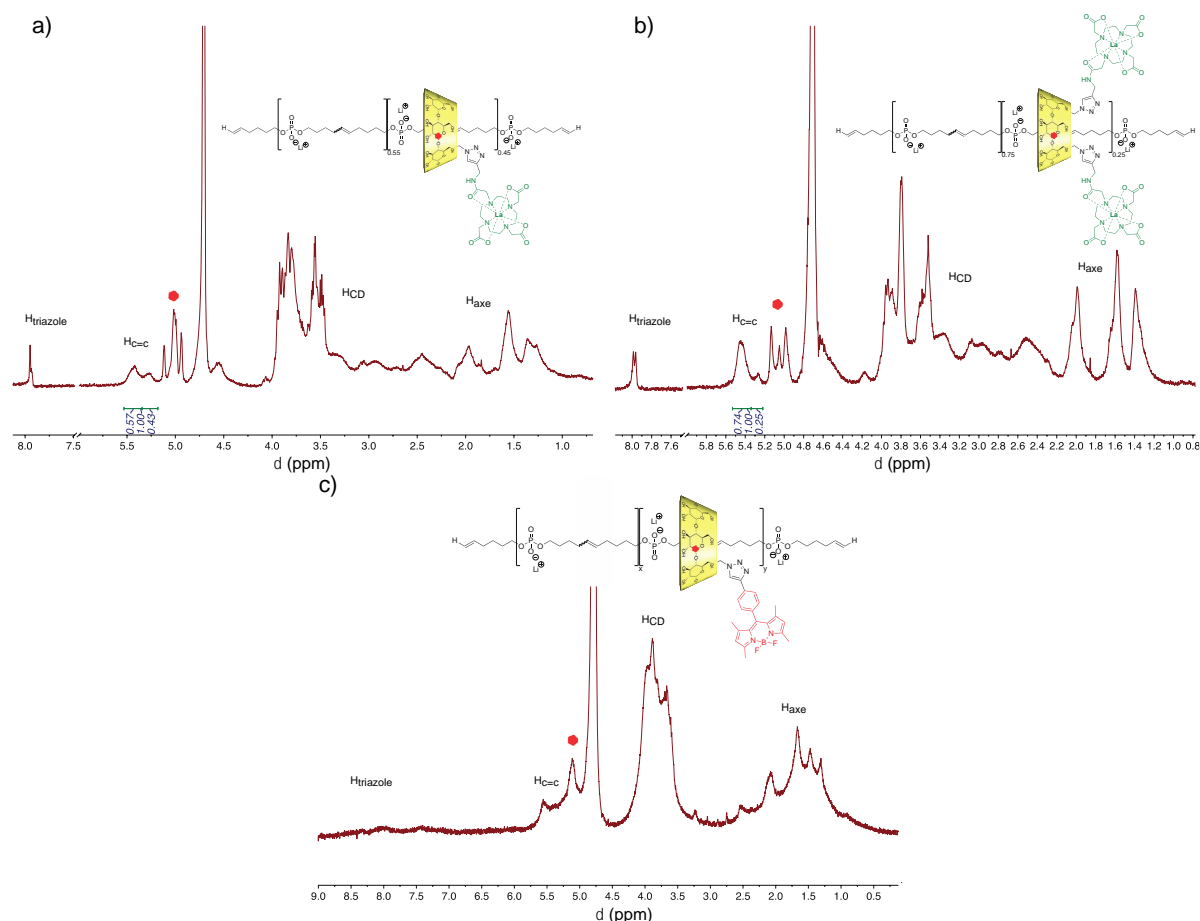


Figure 3.9 : RMN ¹H de l'enfilage à 60°C pendant 7 jours de cyclodextrines a) CD-La **53**, b) CD-La₂ **54**, c) CD-Bod **52** (D₂O, 400 MHz, 300 K)

Dans le cas de la CD-La **53**, l'intégration des protons à 5.55 ppm et 5.40 ppm, correspondant respectivement aux protons éthyléniques libres et enfilés, permet de remonter à un taux de couverture de 45 %, relativement proche de celui obtenu avec des cyclodextrines natives après 7 jours. En revanche dans les mêmes conditions, la CD-La₂ **54** affiche un taux de couverture environs deux fois plus faible d'environ 25 %. Ceci peut être expliqué par un effet stérique, où dans le cas d'une double fonctionnalisation, l'encombrement plus important des deux complexes de Lanthanide défavorise l'entrée de la cyclodextrine sur l'axe. Dans les deux cas la concentration en Gadolinium sur l'assemblage final est relativement similaire, mais une

différence de relaxivité molaire pourrait tout de même être constatée à cause de temps de corrélation rotationnels potentiellement différents. Avec la CD-Bod **52**, l'enfilage paraît beaucoup moins efficace et il devient complexe de déterminer le taux d'enfilage, due à la superposition de signaux sur le spectre RMN dans les régions éthyléniques et anomériques.

En plus de ces caractérisations, la stabilité dans l'eau en milieu physiologique a été étudiée sur plusieurs jours en solution dans un tampon PBS. L'évolution des signaux en ^1H a montré une bonne stabilité des polypseudorotaxanes à 37°C dans un milieu simulant le milieu biologique, avec aucun désenfilage constaté pour des cyclodextrines natives, et un très faible désenfilage (moins de 5 % de désenfilage) pour les cyclodextrines fonctionnalisées **53**. Nous pouvons en déduire qu'il ne sera pas nécessaire de former des polyrotaxanes munis de véritables bouchons aux extrémités, et que ces polypseudorotaxanes seront suffisamment stables pour être utilisés sur plusieurs jours, notamment sur modèle animal.

b. Polypseudorotaxanes bimodaux

Finalement, ces études ont été conduites sur les assemblages bimodaux. L'assemblage est ici réalisé en deux étapes, pour caractériser et vérifier dans un premier temps l'enfilage de la CD-La/CD-La₂, puis après 5 jours la CD-Bod est ajoutée avec 10 % de méthanol pour maintenir une bonne solubilité.

Le premier enfilage est vérifié par RMN ^1H après 5 jours, et permet de constater l'enfilage de la CD-La/La₂, comme vu précédemment. Puis le même suivi est réalisé après ajout de la CD-Bod pour vérifier l'enfilage de la deuxième catégorie de cyclodextrines ajoutées à ce système (Figure 3.10). Comme nous l'avons constaté avec l'enfilage de CD-Bod seule sur l'axe polymère, l'analyse du spectre RMN devient complexe pour pouvoir attribuer des valeurs de taux de couverture exactes pour chaque cyclodextrine présente sur le polymère. Nous pouvons cependant affirmer que nous avons vérifié l'enfilage des cyclodextrines pour l'IRM dans un premier temps, et qu'après purification nous retrouvons des signaux caractéristiques des deux cyclodextrines dans le système. En version Gadolinium (III), les mesures des relaxivités et intensités de fluorescence sur ces systèmes permettra de caractériser plus précisément ces polypseudorotaxanes bimodaux.

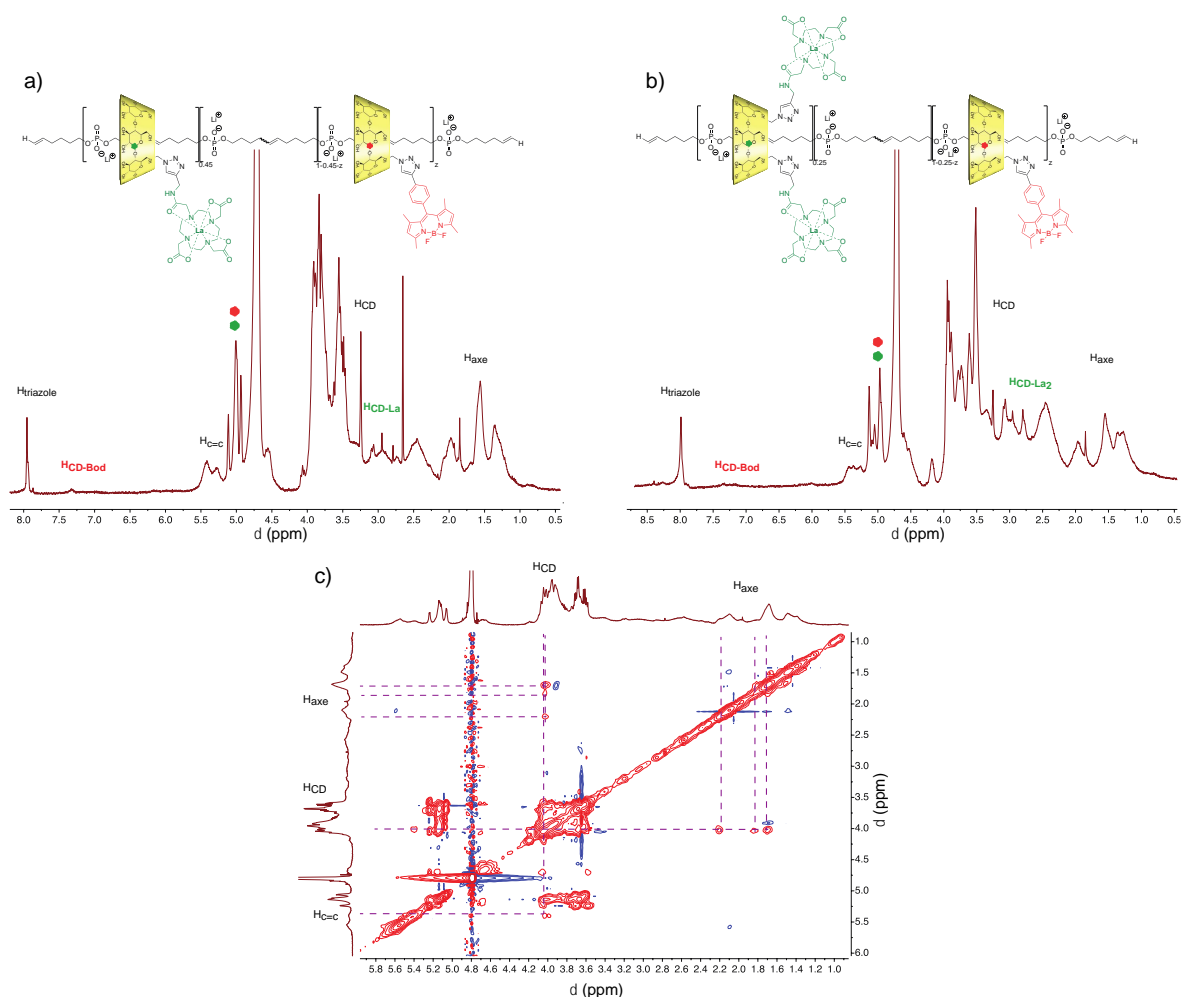


Figure 3.10 : RMN ¹H de l'enfilage à 60°C de cyclodextrines a) PPR-CDLa/Bod **61**, b) PPR-CDLa₂/Bod **62** ; c) NOESY du PPR-CDLa/Bod **61** (D₂O, 400 MHz, 300 K)

Après avoir obtenu les assemblages visés avec les complexes modèles de Lanthane, les synthèses de plusieurs polypseudorotaxanes, monomodaux et bimodaux ont pu être faites avec les complexes de Gadolinium (III) et bodipy. Quatre assemblages ont ainsi été préparés, pour être utilisés ensuite dans des études *in vitro* et *in vivo* pour leurs propriétés comme agents d'imagerie (Figure 3.11).

Si la concentration en Gadolinium peut être estimée en utilisant les taux d'enfilage déterminés par RMN avec les dérivés Lanthanes, la concentration réelle doit être déterminée plus précisément par analyse des échantillons par ICP-OES (« *Inductive Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy* »).

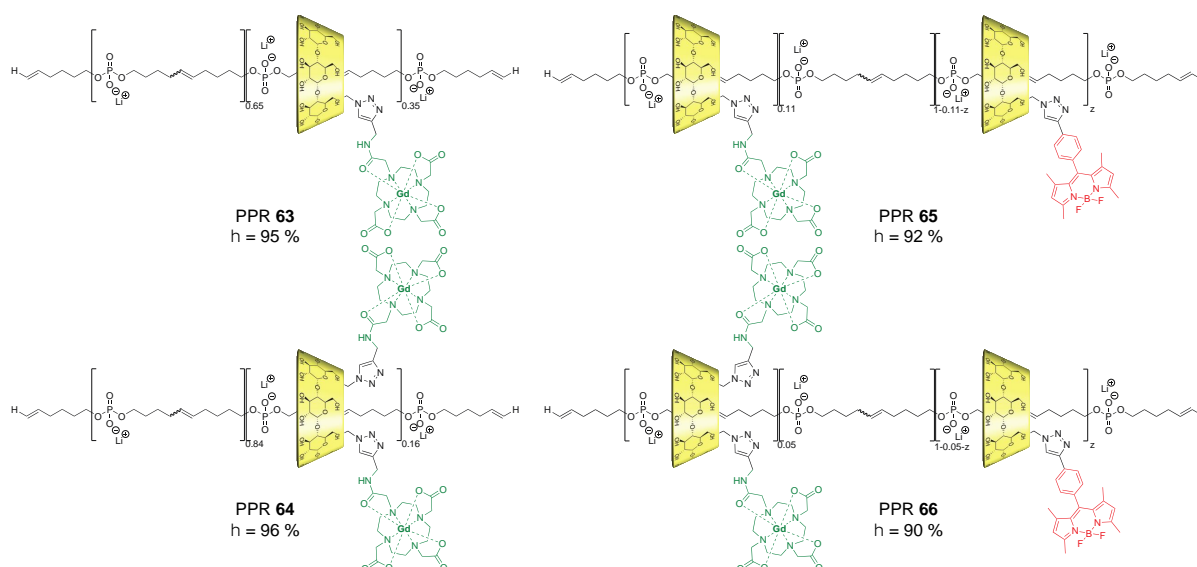


Figure 3.11 : Polypseudorotaxanes pour l'imagerie mono et bimodale isolés

Ces mesures ont été effectuées sur la première génération de PPRs obtenus, sur des échantillons dilués à environ 1 ppm dans une solution aqueuse de HNO₃ Suprapur® à 2%. Les analyses permettent d'estimer en ppb la quantité de Gadolinium détectée et par calcul de remonter à la concentration dans l'échantillon (Tableau 3.2).

	PPR 63	PPR 64	PPR 65	PPR 66
Cyclodextrine	Gd	Gd ₂	Gd/bod	Gd ₂ /Bod
[Gd] _{Estimée} (mM)	1.01	1.07	1.08	1.06
[Gd] _{ICP} (mM)	0.69	0.65	0.21	0.19
%CD _{Gd} Estimé	0.45	0.25	0.45	0.25
%CD _{Gd} ICP	0.34	0.16	0.11	0.05

Tableau 3.2 : Récapitulatif des analyses réalisées par ICP-OES sur les différents polypseudorotaxanes isolés

Nous observons des variations entre la concentration théorique et mesurée par ICP-OES pour l'ensemble de ces échantillons, avec des écarts différents selon les assemblages. Les écarts observés avec les systèmes monomodaux sont acceptables, tandis que les écarts observés avec les composés bimodaux **65** et **66** sont plus importants, avec des taux de couverture en cyclodextrines fonctionnalisées au Gadolinium (III) estimés entre 5 et 11 %. Pour ces assemblages, les écarts mesurés impliquent d'augmenter la quantité de produits à engager pour

atteindre les concentrations requises pour les études *in vivo*, se trouvant potentiellement au-delà de la limite de solubilité des polypseudorotaxanes. Ce problème est probablement survenu au cours de la purification par ultrafiltration sur membrane, où avec une solubilité dans l'eau de la CD-Bod 42 moins élevée, il est nécessaire d'ajouter 10 % de méthanol lors de l'auto-assemblage puis lors de la purification. En fonction des conditions de purification (quantités de solvants, temps de centrifugation, température), un désenfilage partiel est envisageable. Afin de pouvoir exploiter au mieux les assemblages bimodaux, cet aspect de la synthèse devra être amélioré afin de garantir un taux de couverture suffisant avec les deux cyclodextrines, et principalement celles fonctionnalisées par des groupements pour l'IRM.

IV. Études des polypseudorotaxanes mono et bimodaux

Une première génération de polypseudorotaxanes ayant été obtenue, isolée et caractérisée, la mise en place des études pour l'imagerie biomédicale a été possible. Pour démontrer la viabilité du système proposé, ces composés doivent être étudiés selon plusieurs approches.¹⁶⁶

Le protocole prévu pour ces composés est un protocole classique pour l'imagerie biomédicale, avec dans un premier temps des études *in vitro* pour mesurer la relaxivité des composés et comparer ces valeurs, obtenues pour un champ magnétique donné, à celles de produits désignés comme standards, par exemple le Dotarem. La deuxième mesure *in vitro* effectuée concerne la toxicité, et la réalisation de cultures cellulaires en présence des composés à tester afin de mesurer leur IC₅₀, dont la valeur devra être acceptable afin de pouvoir passer par la suite à un modèle *in vivo* sur animal, qui constituera l'étape suivante avec des mesures de relaxométrie *in vivo* et des études de biodistribution.

1. Études de relaxométrie

L'étude de relaxivité des polypseudorotaxanes permet d'avoir des premières informations concernant les paramètres d'imagerie des assemblages obtenus. Ces mesures ont été effectuées avec ces assemblages, en collaboration avec le laboratoire SEISAD (*Synthesis, Electrochemistry, Imaging and Analytical Systems for Diagnosis Team*) de Chimie ParisTech, à un champ magnétique de 7 Tesla dans une solution de sérum physiologique (Figure 3.12). Avec les concentrations en Gadolinium (III) déterminées par ICP pour chaque assemblage, les

relaxivités r_1 et r_2 ont pu être déterminées et comparées à une solution de référence contenant du DOTAREM (Tableau 3.3).

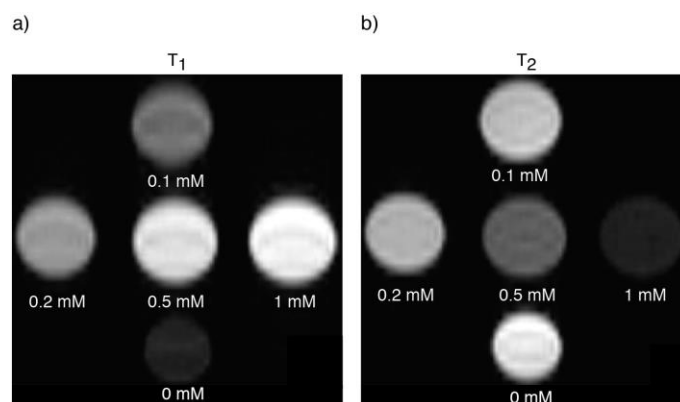


Figure 3.12 : a) image IRM en vue de dessus pondérée T_1 (PPR-Gd₂ **64**, 7 Tesla, 300 K) ; b) image IRM en vue de dessus pondérée T_2 (PPR-Gd₂ **64**, 7 Tesla, 300 K). Les concentrations sont données en Gd (III)

Composés	r_1 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	r_2 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	r_2/r_1
PPR 63	7.18	12.86	1.79
PPR 64	7.52	16.49	2.19
PPR 65	7.27	17.37	2.38
PPR 66	7.48	25.93	3.46
Dotarem	4.48	5.20	1.16

Tableau 3.3 : Récapitulatif des valeurs obtenues de r_1 et r_2 pour la série de PPR et le Dotarem (300 K, 7 Tesla, H₂O, sérum physiologique)

Pour cette première série d'assemblages, des valeurs de r_1 entre 7.18 et 7.52 mM⁻¹.s⁻¹ sont observées, et entre 12.86 et 25.93 mM⁻¹.s⁻¹ pour les valeurs de r_2 . Le rapport r_2/r_1 est toujours supérieur à 1 sur toute la série montrant bien que ces assemblages adoptent le comportement d'agent de contraste de type T₁. Par rapport au DOTAREM, les r_1 sont supérieures pour toute la série, ce qui est plutôt encourageant pour ces assemblages, ces mesures ayant été faites pour un champ magnétique où l'effet macromoléculaire sur la relaxivité n'est pas le plus important. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles observées dans le projet, avec certains poly(ammonium)s bimodaux, ou encore les polyrotaxanes de Thompson cités dans l'introduction, pour des champs magnétiques supérieurs à 100 MHz.

Pour caractériser davantage les propriétés en IRM de nos assemblages, la réalisation de mesures NMRD, avec un balayage en champ sera nécessaire, et constitue une des perspectives à très court terme dans le projet.

2. Mesures de fluorescence

En complément des mesures de relaxométrie effectuées à un champ magnétique de 7 Tesla, les propriétés optiques portées par les cyclodextrines fonctionnalisées par la Bodipy ont été évaluées en mesurant les spectres d'absorption et d'émission pour les deux polypseudorotaxanes bimodaux **65** et **66** (Figure 3.13).^{167,168}

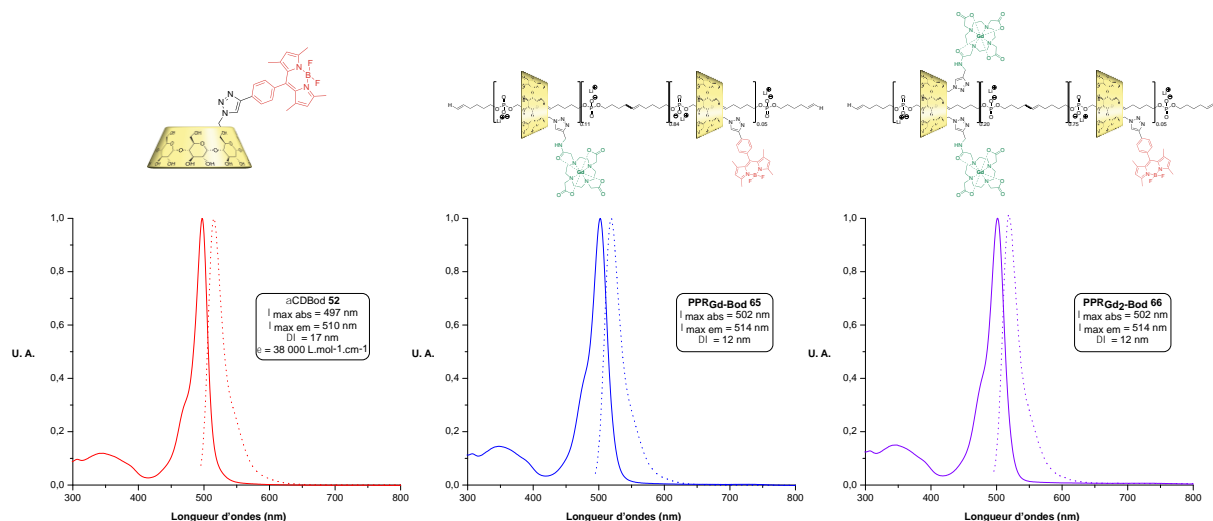


Figure 3.13 : Spectres d'absorption et d'émission normalisés des composés CDBod **52**, PPR(Gd-Bod) **65** et PPR(Gd₂-Bod) **66** à 25°C dans l'eau ($\lambda_{ex} = 480$ nm)

Nous avons au préalable vérifié les propriétés de la CDBod **52** synthétisée, et constaté des valeurs standards avec une longueur d'ondes d'absorption maximale à 497 nm, et une longueur d'ondes d'émission maximale de 510 nm, pour une excitation à 480 nm et une concentration de 10^{-5} M. Lorsque nous passons aux polypseudorotaxanes bimodaux, un léger décalage bathochrome est observé pour les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission maximale. Effectuées à une concentration d'environ 0.1 mg/mL, ces mesures nous permettent de vérifier les bonnes propriétés optiques de nos assemblages.

3. Mesures de cytotoxicité *in vitro*

La toxicité des polypseudorotaxanes a été évaluée dans un premier temps en milieu *in vitro*, via la réalisation du test à la résazurine avec des cellules de type TIB-75 (souris). Il s'agit d'un test colorimétrique, basé sur la réduction par les cellules vivantes de la résazurine bleue, convertie en résorufine, composé fluorescent de couleur rose caractéristique (Figure 3.14).

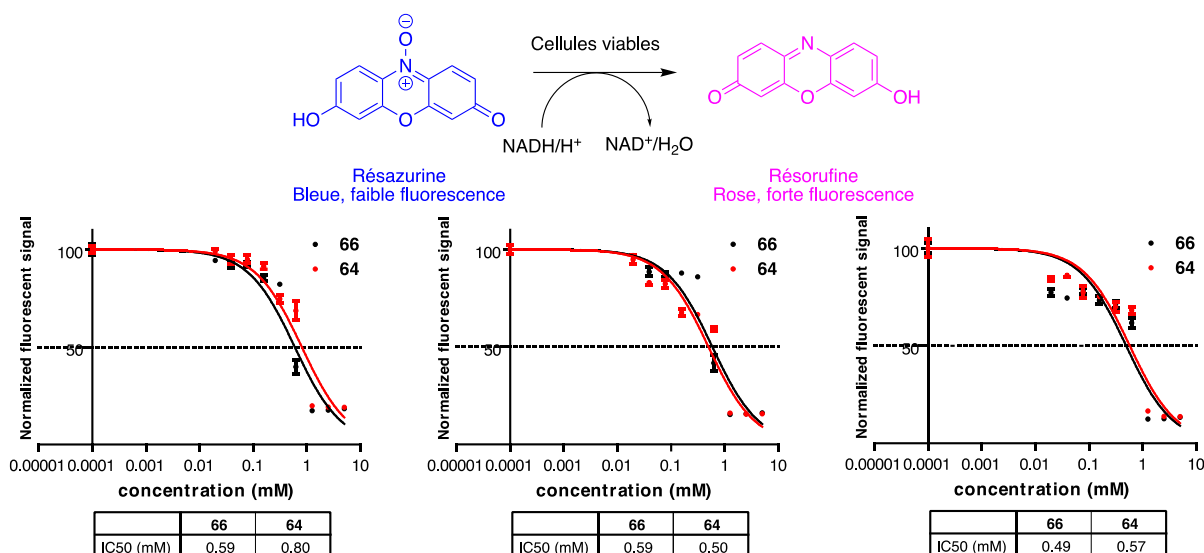


Figure 3.14 : détermination des IC_{50} pour les polypseudorotaxanes **64** (PPR-Gd₂) et **66** (PPR-Gd₂/Bod)

L'évaluation de la toxicité cellulaire a été réalisée avec les polyrotaxanes **64** et **66**, permettant la comparaison entre les systèmes mono et bimodaux. Sur l'ensemble des tests, une cytotoxicité assez faible est observée, avec des valeurs d' IC_{50} estimées pour les deux systèmes entre 0.5 et 0.8 mM, pour des concentrations en Gadolinium (III) comprises entre $1 \cdot 10^{-4}$ et 5 mM. Nous pouvons rappeler que dans le projet, les mesures effectuées *via* des tests MTT avaient montrées pour les polyrotaxanes poly(ammonium)s des valeurs de l'ordre du μ M. Cette première évaluation est donc plutôt positive, permettant d'amorcer les études de viabilité et d'imagerie sur le modèle animal.

Pour ces études *in vivo*, notre intérêt se portera sur les PPRs uniquement fonctionnalisés par les complexes de Gadolinium (III), car présentant de meilleures caractéristiques et disponibles en plus grandes quantités. De plus, les premières études sur souris étant suivies exclusivement par IRM, un système monomodal est suffisant pour tester cette première série.

Pour les études *in vivo*, il est prévu d'effectuer dans un premier temps des expérimentations sur souris saines, avec d'une part un test de référence avec une solution de Dotarem, et d'autre part les polypseudorotaxanes **63** et **64**. Tous ces composés seront injectés via la veine de la queue et à une concentration en Gadolinium (III) de 10 mM. Il sera ainsi réalisé dans un premier temps un suivi sur plusieurs jours afin de déterminer des paramètres pharmacocinétiques tels que la biodistribution, ou encore la clairance des composés.

Si ces premières études se révèlent satisfaisantes, nous pourrons alors passer à des études sur souris avec inflammation induite, pour commencer à nous intéresser au diagnostic, et à plus long terme, au potentiel traitement de l'arthrite rhumatoïde.

Pour dresser un premier bilan sur le développement de ces nouveaux polyrotaxanes pour l'imagerie, nous sommes parvenus à mettre au point la synthèse, par polymérisation de monomères adaptés puis déprotection de groupements latéraux, d'un axe de type poly(phosphoester) avec une dispersité et une taille satisfaisantes et adaptées à nos objectifs futurs. Avec cet axe polymère, l'enfilage de différentes cyclodextrines a pu être vérifié par RMN, et a montré des taux de couverture allant jusqu'à près de 50 % pour des cyclodextrines mono-fonctionnalisées. Cette valeur diminue avec les cyclodextrines porteuses de deux groupements pour l'IRM, et encore plus pour celles fonctionnalisées par une bodipy pour la fluorescence. Nous avons ensuite évalué les propriétés en imagerie de ces assemblages et constaté des valeurs intéressantes pour ces systèmes. L'étape de purification de l'enfilage sur l'axe polymère peut encore être améliorée pour garantir des taux de couverture les plus élevés possibles, et potentiellement jouer sur les propriétés d'imagerie des assemblages, surtout en IRM. Finalement, la toxicité cellulaire a été estimée vers 1 mM, ce qui constitue une amélioration par rapport aux poly(ammonium)s développés précédemment dans le projet.

L'étude de ces nouveaux assemblages semble donc prometteuse, et sera poursuivie très prochainement avec la réalisation d'études de biodistribution chez la souris, qui en cas de succès, pourra alors nous permettre de faire évoluer ce système vers une plateforme d'imagerie complétée par l'ajout d'agents de ciblage spécifique à l'arthrite rhumatoïde.

Conclusions et Perspectives

Cette thèse s'est intéressée au développement de polyrotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées pour l'imagerie bimodale. À la suite des travaux précédents sur des polyrotaxanes cationiques qui ont montré des problèmes de toxicité *in vivo*, nous nous sommes orientés vers des polyrotaxanes ayant un axe polyanionique de type poly(phosphoester), avec pour objectif d'obtenir un système montrant une faible toxicité tout en conservant les propriétés d'imagerie.

Dans un premier temps, nous nous sommes penchés sur l'étude de monomères modèles diphosphates pour caractériser l'enfilage de cyclodextrines sur un axe présentant des groupements chargés négativement à ces extrémités. En fonction de la longueur de la chaîne alkyle, des [2] ou [3]*pseudorotaxanes* ont été observés. Par dosages RMN et ITC, nous sommes parvenus à déterminer des constantes d'association pour des axes diphosphates avec un nombre de carbones dans la chaîne entre 6 et 12. Cette série a montré des constantes d'associations pour la formation du [2]*pseudorotaxane* qui augmentent globalement avec la longueur de la chaîne due à l'augmentation de l'effet hydrophobe. Des [3]*pseudorotaxanes* sont formés avec une forte coopérativité positive pour l'axe C₈, et négative avec l'axe C₁₀ pour lequel l'enfilage d'une deuxième cyclodextrine sur l'axe est moins favorisée. Cette différence peut être rationalisée par une compression de la chaîne aliphatique observée pour l'axe C₁₀ à l'état solide. Ce phénomène de compression précédemment observé dans des capsules moléculaires a également été mis en évidence en solution, notamment avec l'axe C₁₁. Ces résultats inattendus générés par le dimère de cyclodextrines sont, à notre connaissance, une première dans une architecture de type rotaxane.

Dans une deuxième partie nous avons exploré la mise au point d'une synthèse de polyrotaxanes par polymérisation de *pseudorotaxanes*. Cette approche constitue une innovation potentiellement très intéressante pour la synthèse de ces assemblages, mais également pour l'application visée, puisque le taux de couverture en cyclodextrines pourrait être maximisé et permettrait d'obtenir de meilleures propriétés d'imagerie. La caractérisation approfondie des *pseudorotaxanes* diphosphates complétée, nous avons cherché à les utiliser comme monomères dans une réaction de polymérisation impliquant le couplage entre des groupements phosphates dans l'eau. Cette voie a été testée pour différents monomères, mais l'obtention d'un polymère n'a été possible qu'avec le [2]*pseudorotaxane* de l'axe C₆. Ce polyrotaxane poly(pyrophosphate) a montré un taux de polymérisation relativement faible, mais un taux d'enfilage élevé assez prometteur. En parallèle, la formation de polyrotaxanes a été explorée avec d'autres réactivités compatibles avec un milieu aqueux, à partir d'autres monomères dialkylphosphates. La métathèse de diènes acycliques et le couplage de Glaser entre des alcynes ont ainsi été évalués, sans parvenir à former les polymères désirés. Ces essais montrent les difficultés inhérentes aux rotaxanes de cyclodextrines qui sont formés par un effet hydrophobe

et limitent grandement les conditions et types de réactions de polymérisation utilisables. Ainsi, l'obtention de polyrotaxanes par polymérisation de rotaxanes de cyclodextrines natives, et surtout fonctionnalisées paraît complexe.

Afin d'obtenir ces assemblages, la stratégie d'enfilage des cyclodextrines sur un axe polymère polyanionique déjà formé a été envisagée. Ainsi l'approche de polymérisation par métathèse a été reprise et adaptée dans le but de former l'axe polymère. Par polymérisation d'un monomère dialkylmonophosphate protégé avec un groupement nitrophénol, puis déprotection de ce dernier, un poly(phosphoester) a été obtenu avec une dispersité et une taille optimisées. L'enfilage des cyclodextrines, d'abord natives puis fonctionnalisées, a été étudié par RMN et montre un taux d'enfilage correct allant jusqu'à 50 %. Un ensemble de polyrotaxanes monomodaux avec des cyclodextrines portant un ou deux complexes de Gadolinium (III), et bimodaux incorporant une sonde fluorescente bodipy a été obtenu. Les propriétés de relaxivité en IRM ont été déterminées. Les assemblages monomodaux montrent des relaxivités, du même ordre de grandeur que les polyrotaxanes poly(ammonium)s étudiés précédemment. Les systèmes bimodaux montrent des propriétés d'émission intéressantes apportées par les cyclodextrines bodipy. Finalement, nous avons amorcé l'étude en milieu biologique de ces *polypseudorotaxanes*. Les mesures de cytotoxicité *in vitro* montrent des résultats prometteurs avec une cytotoxicité faible et compatible avec une utilisation en tant qu'agent de contraste. Des études précliniques de biodistribution *in vivo* sur un modèle animal de souris saines et arthritiques sont encore cours.

Au cours de cette thèse, nous sommes parvenus à compléter des études débutées sur les monomères diphosphates, et à discuter leur conformation, à l'état solide, mais également en solution. Par la suite, si la polymérisation de rotaxanes n'a pas encore fourni de résultats suffisamment attractifs, certaines pistes restent encore à explorer et la mise au point de polyrotaxanes polyanioniques par cette voie de synthèse reste envisageable. La réactivité dans l'eau de fonctions comme les isocyanates, associée à une stratégie de polymérisation par bouchons de rotaxanes,¹⁶⁹ constitue un exemple de piste à développer. La synthèse par polymérisation de l'axe puis enfilage a permis en parallèle de caractériser ces assemblages, et d'amener leur étude jusqu'à la mesure de la toxicité *in vitro*, avec des résultats encourageants pour la suite du projet. Si ce système s'avère non toxique également chez l'animal, il sera intéressant de chercher à l'optimiser. Pour cela, des modifications pourront être apportées, par exemple au niveau des sites de reconnaissance de l'axe polymère, par hydrogénation des doubles liaisons,¹⁴⁹ afin de comparer l'affinité observée avec les cyclodextrines avec et sans doubles liaisons le long du polymère. Les extrémités du polymère pourront également être modifiées en ajoutant en fin de polymérisation un composé ethylénique,¹⁷⁰ permettant par la

suite de faire le bouchonnage, par exemple avec une stratégie « click » entre un azoture et un alcyne, pour passer à un véritable polyrotaxane. La modification des propriétés optiques pourra être faite par changement de fluorophore sur les cyclodextrines correspondantes, en passant par exemple à des bodipy hydrosolubles,¹⁷¹ ou encore à des cyanines. Enfin, nous pourrions faire évoluer cette plateforme d'imagerie par ajout d'agents de ciblage spécifique à l'arthrite rhumatoïde. Des pistes, comme par exemple avec la fonctionnalisation de notre système avec des dérivés d'Indométacine, un anti-inflammatoire connu, sont en cours de réflexions.^{172,173} Une plateforme théranostique spécifique de maladies inflammatoires comme l'arthrite rhumatoïde serait alors obtenue.

Experimental Part

General experimental conditions

Solvents such as dichloromethane, tetrahydrofuran, acetonitrile and toluene used can be commercial or purified before utilisation by distillation or filtration on alumina.

Purifications of products were done with manual prepared column or by flash chromatography using a Flash Spot VWR/Armen[®] with GRACE[®] pre-packed Silica gel column. Solvents for elution are indicated with volume ratio. The obtained Polyrotaxanes were purified on G-25 SEPHADEX[®] column in distilled water. Reactions under microwaves conditions were done with a BIOTAGE[®] Initiator Microwaves Synthesizer in vials from 0.5 to 20 mL.

NMR spectra were recorded on a Avance BRUKER[®] (300, 400 or 600 MHz) and analyzed with MestReNova[®] software. Chemical shift δ are given in ppm from internal reference, coupling constants J in Hertz, and integration in number of protons. Abbreviations for the multiplicity of signals are: s (singulet), broad s (broad singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet), broad m (broad multiplet).

Mass spectrometry were done by ESI with a BRUKER[®] microTOF spectrometer.

Size exclusion chromatography (SEC) measurements were carried out on three PL Gel Mixte C 5 μ m columns (7,5 ξ 300 mm; separation limits: 0,2 to 2000 kg.mol⁻¹) maintained at 40°C coupled with a solvent and sample delivery module Viscotek GPCmax and 2 modular detectors: a differential refractive index (RI) detector Viscotek 3580 and a Diode Array UV Detector Shimadzu SPD20-AV. THF was used as the mobile phase at a flow rate of 1 mL.min⁻¹ and toluene was used as a flow rate marker. All polymers were injected (100 μ L) at a concentration of 5mg.mL⁻¹ after filtration through a 0.45 μ m pore-size membrane. The OmniSEC 5.12 software was used for data acquisition and data analysis. Molar masses (M_n , the number-average molar mass, M_w , the weight-average molar mass) and polydispersity indexes (M_w/M_n) were derived from a calibration curve based on polystyrene (PS) or poly(methyl methacrylate) (PMMA) standards from Polymer Standards Service.

ICP-OES measurements of *polypseudorotaxanes* were performed on an iCAP6200 ThermoScientific spectrometer. Standard solutions of Gd³⁺ and samples were prepared in 2% HNO₃ ^{suprapur} and 335.047 and 336.223 nm bands for Gd³⁺ were used.

Crystallography studies

For [3]*pseudorotaxane* **9**, a single crystal of the compound was selected, mounted onto a cryoloop, and transferred in the cold nitrogen gas stream of an Oxford Cryostream. Intensity data were collected with a BRUKER Kappa-APEXII diffractometer with micro-focused Cu-K α radiation at 200K. APEX 3 suite and SAINT program (BRUKER) were used to carry out data collection, unit-cell parameters refinement, integration and data reduction. SADABS (BRUKER) was used for scaling and multi-scan absorption corrections. In the Olex2 suite,¹⁷⁴ the structure was solved with SHELXT-14 program¹⁷⁵ and refined by full-matrix least-squares methods using SHELXL-14.¹⁷⁶ A large number of solvent molecules are present in the structure. We used a SQUEEZE procedure because the remaining electronic density was too diffuse. Several restraints and constraints were introduced for the axis.

For [3]*pseudorotaxane* **11**, Several single crystals were tested in the lab and also during a session on CRISTAL beamline of synchrotron SOLEIL.

MRI and Fluorescence properties of prepared polypseudorotaxanes

Relaxivities were measured in physiological solution with concentration between 0.01 and 1 mM with a micro imaging spectrometer (7 Tesla), equipped with a ¹H radiofrequency linear coil of 4 cm inner diameter.

Absorption spectra and fluorescence emission spectra were recorded on a JASCO V-670 spectrophotometer and on a JASCO J-815 CD instrument, respectively.

Concentrations of 0.5 mg/ml for bimodal polypseudorotaxanes, and 1.10⁻⁵ M for Bodipy functionalized cyclodextrins were used.

Cytotoxicity assay of prepared polypseudorotaxanes

Cytotoxicity of polypseudorotaxanes was estimated by resazurin assay using TIB-75 cells over 3 days. The solution was initially prepared with DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), FBS (Fetal Bovine Serum) and Pen Strep Glutamine 100x (Penicillin, Streptavidin and Glutamine).

NMR titration procedure for the studies of α CD with diphosphate axis

In an NMR tube, diphosphate axle was dissolved in 0.5 mL of D₂O (with 50 mM acetate buffer at pH = 5) with a concentration of 2.8 mM. Then α -CD was added portionwise (5 μ L 0.2 eq per

portion) from a 56 mM solution in D₂O (with 50 mM acetate buffer) and then the NMR tube was shaken to have a homogeneous solution. The acquisition of the ¹H NMR spectra were performed on an Avance BRUKER® 600 MHz and data fitting was made with DYNAFIT® software.

ITC titration procedure for the studies of α CD with diphosphate axis

Isothermal titration calorimetry (ITC) measurements were performed at 25 °C using an ITC200 microcalorimeter. The sample cell was filled with distilled water, then an aqueous solution of α -CD placed in a continuously stirred (750 rpm) syringe (39 μ L) was injected by aliquots (2 μ L) every 1800 s until the syringe was empty. The subsequent heat flow resulting from each injection was simultaneously measured.

For ITC studies of [2]*pseudorotaxanes*, an aqueous solution (50 mM acetate buffer) of α -CD (40 mM) was added portionwise to an aqueous solution (50 mM acetate buffer) of diphosphate axle (2 mM). A one binding site model was used for fitting study.

For ITC studies of [3]*pseudorotaxanes*, an aqueous solution (50 mM acetate buffer) of α -CD (40 mM) was added portionwise to an aqueous solution (50 mM acetate buffer) of diphosphate axle (1 mM). A sequential binding sites model was used for fitting study.

General procedure for kinetic studies of CD with diphosphate axis

In an NMR tube, diphosphate axle was dissolved in 0.5 mL of D₂O with a concentration of 2.8 mM and pH was adjusted to 10 by addition of 30 mg of K₂CO₃. Then α -CD was added (2 eq) and the mixture was stirred at room temperature for 50 days with regular acquisition of ¹H NMR spectrum on an Avance BRUKER® 600 MHz and data processing were made with DYNAFIT® software.

Crystallization procedure for CD [3]rotaxane with diphosphate axis

In a vial tube, diphosphate axle (1 eq.) and α -CD (3 eq.) were dissolved in a small amount of water. The resulting mixture was stirred for 1 hour before adding potassium carbonate (pH 10). Then DMF was added slowly and a biphasic solution was obtained and kept at 5°C for crystals growth over 7 to 21 days.

DOSY experiments

For [3]*pseudorotaxanes*, DOSY experiments were performed using LED pulse program with gradient amplitudes from 5 to 95% with 16 points, 0.05 s for d20 and 2000 μ s for P30.

For poly(pyrophosphate) polyrotaxanes, DOSY experiments were performed using LED pulse program with gradient amplitudes from 5 to 95% with 16 points, 0.05 s for d20 and 2000 μ s for P30.

For Glaser polymerisation studies, DOSY experiments were performed using LED pulse program with gradient amplitudes from 5 to 95% with 16 points, 0.05 s for d20 and 2000 μ s for P30.

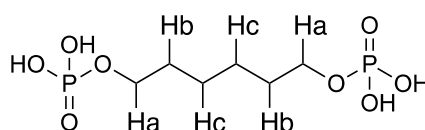
For poly(phosphoester) poly*pseudorotaxanes*, DOSY experiments were performed using LED pulse program with gradient amplitudes from 5 to 95% with 16 points, 0.05 s for d20 and 2500 μ s for P30.

Synthesis procedures

General procedure for the synthesis of alkanediphosphate⁹⁹

Alkanediol (3.0 mmol, 1 eq.) was added portionwise to POCl₃ (15.0 mmol, 5 eq.) under argon atmosphere at 0°C. The mixture was then stirred at room temperature for 2 hours. Then, excess of POCl₃ was removed under reduce pressure. Distilled water (20 mL) was added to the residue and the resulting mixture stirred at room temperature overnight. Water was removed to give a white powder corresponding to the desired alkanediphosphate.

1,6-Hexanediphosphate 1



$\eta = 99\%$

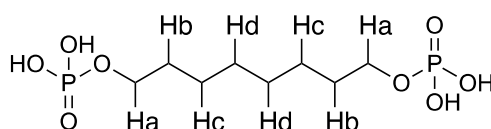
¹H NMR (300 MHz, MeOD) : δ 3.98 (td, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 4H, H_a), 1.76 – 1.62 (m, 4H, H_b), 1.46 (m, 4H, H_c).

¹³C NMR (75 MHz, MeOD) : δ 67.71, 67.63, 31.37, 31.27, 30.32, 26.17.

³¹P{¹H} NMR (122 MHz, MeOD) : δ 0.12.

$pK_{a1} \approx 1.7$; $pK_{a2} \approx 7.1$

1,8-Octanediphosphate 2



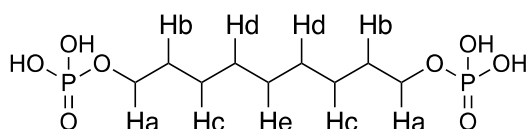
$\eta = 99\%$

¹H NMR (400 MHz, MeOD) : δ 3.97 (td, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 4H, H_a), 1.73 – 1.63 (m, 4H, H_b), 1.48 – 1.33 (m, 8H, H_{c-d}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) : δ 67.80, 67.74, 31.45, 31.38, 30.14, 26.53.

³¹P{¹H} NMR (162 MHz, MeOD) : δ 0.67.

$pK_{a1} \approx 1.1$; $pK_{a2} \approx 7.1$

1,9-Nonanediphosphate 3

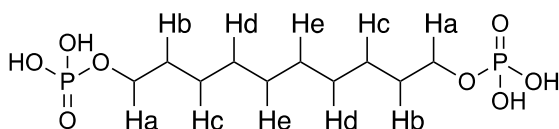
$\eta = 89\%$

^1H NMR (400 MHz, MeOD) : δ 3.97 (td, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 4H, H_a), 1.72 – 1.62 (m, 4H, H_b), 1.46 – 1.31 (m, 10H, H_{c-e}).

^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) : δ 66.40, 66.34, 30.08, 30.01, 29.11, 28.76, 25.18.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, MeOD) : δ 0.14.

$\text{pK}_{a1} \approx 1.6$; $\text{pK}_{a2} \approx 7.1$

1,10-Decanediphosphate 4

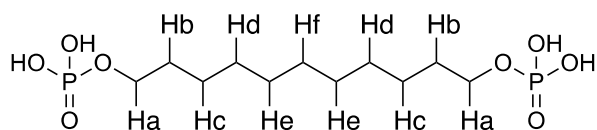
$\eta = 99\%$

^1H NMR (400 MHz, MeOD) : δ 3.96 (td, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 4H, H_a), 1.71 – 1.62 (m, 4H, H_b), 1.47 – 1.31 (m, 12H, H_{c-e}).

^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) : δ 67.81, 67.75, 31.50, 31.43, 30.55, 30.24, 26.62.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, MeOD) : δ 0.69.

$\text{pK}_{a1} \approx 1.6$; $\text{pK}_{a2} \approx 7.1$

1,11-Undecanediphosphate 5

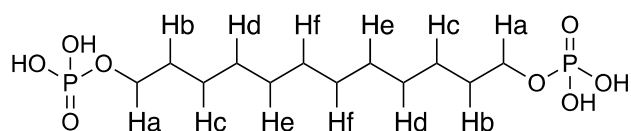
$\eta = 90\%$

^1H NMR (400 MHz, MeOD) : δ 3.98 (td, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 4H, H_a), 1.73 – 1.64 (m, 4H, H_b), 1.47-1.31 (m, 14H, H_{c-f}).

^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) : δ 67.81, 67.75, 31.50, 31.43, 30.61, 30.57, 30.27, 26.62.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, MeOD) : δ 0.14.

$\text{pK}_{a1} \approx 1.8$; $\text{pK}_{a2} \approx 7.1$

1,12-Dodecanediphosphate 6

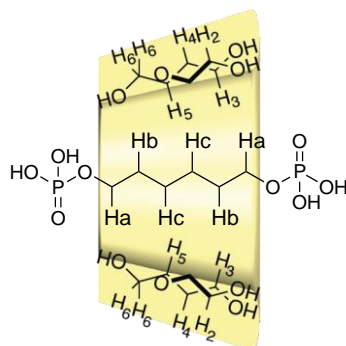
$\eta = 95\%$

^1H NMR (400 MHz, MeOD) : δ 3.96 (td, $J = 6.6$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 4H, H_a), 1.72 – 1.60 (m, 4H, H_b), 1.45 – 1.25 (m, 16H, H_{c-f}).

^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) : δ 67.81, 67.75, 31.51, 31.43, 30.64, 30.28, 26.63.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (122 MHz, MeOD) : δ 0.68.

$\text{pK}_{a1} \approx 2.3$; $\text{pK}_{a2} \approx 7.3$

[2]rotaxane with 1,6-Hexanediphosphate 7

α -CD (1 eq.) was added to a solution of C_6 axle 1 in D_2O (15 mM) and the resulting mixture stirred for 1 hour. Then K_2CO_3 was added until pH 10 and the solution was stirred at room temperature for 18 hours.

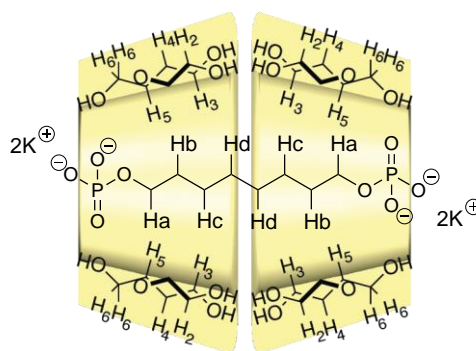
^1H NMR (600 MHz, D_2O , pH 5) : δ 4.95 (d, $J = 3.4$ Hz, 6H, H_1), 4.20 (d, $J = 12.5$ Hz, 6H, H_{6a}), 3.97 (td, $J = 9.2$ Hz, 6H, H_5), 3.91 – 3.66 (m, 10H, H_a , H_3), 3.54 – 3.46 (m, 6H, H_{6b}), 3.45 – 3.36 (m, 6H, H_2), 3.29 (t, $J = 9.3$ Hz, 6H, H_4), 1.74 (s, 2H, H_b), 1.65 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{H}_{b'}$), 1.49 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, H_c), 1.35 (s, 2H, $\text{H}_{c'}$).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O , pH 5) : δ 3.61, 3.42.

General procedure for the synthesis of [3]pseudorotaxanes

In a 25 mL round bottom flask, axle (1 eq.) was dissolved in water (10 mL) and α -CD (4 eq.) was added and the resulting mixture stirred at room temperature for 1 hour. K_2CO_3 was added, and the product precipitated in DMF. After filtration the desired product was isolated and dry under vacuum.

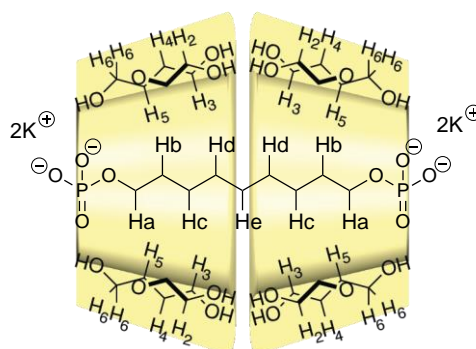
1,8-Octanediphosphate 8



^1H NMR (600 MHz, D_2O , pH 10) : δ 5.00 (d, $J = 3.3$ Hz, 12H, H_1), 4.44 (d, $J = 12.5$ Hz, 12H, H_{6a}), 4.15 (t, $J = 9.8$ Hz, 12H, H_5), 3.87 (t, $J = 9.3$ Hz, 16H, H_a , H_3), 3.55 (dd, $J = 9.8$, 3.2 Hz, 12H, H_2), 3.44 (dd, $J = 12.7$, 9.4 Hz, 12H, H_{6b}), 3.38 (t, $J = 9.5$ Hz, 12H, H_4), 1.97 (d, $J = 9.1$ Hz, 4H, H_b), 1.49 (m, 8H, H_c , H_d).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O , pH 10) : δ 3.26.

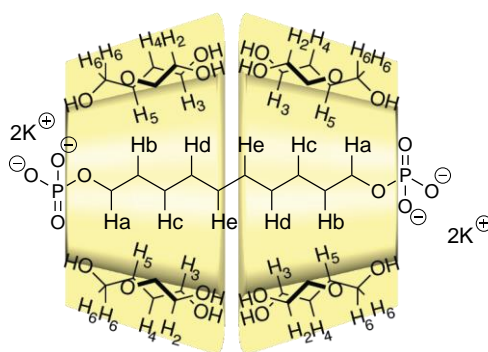
1,9-Nonanediphosphate 9



^1H NMR (600 MHz, D_2O , pH 10) : δ 5.00 (d, $J = 3.4$ Hz, 12H, H_1), 4.45 (dd, $J = 12.7$, 2.0 Hz, 12H, H_{6a}), 4.18 (td, $J = 9.8$, 2.0 Hz, 12H, H_5), 3.92 (t, $J = 9.3$ Hz, 16H, H_a , H_3), 3.56 (dd, $J = 9.8$, 3.4 Hz, 12H, H_2), 3.45 (dd, $J = 12.8$, 9.3 Hz, 12H, H_{6b}), 3.39 (t, $J = 9.4$ Hz, 12H, H_4), 1.94 (ddp, $J = 26.3$, 19.8, 7.0, 6.5 Hz, 4H, H_b), 1.77 – 1.56 (m, 10H, H_{c-e}).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O , pH 10) : δ 3.44.

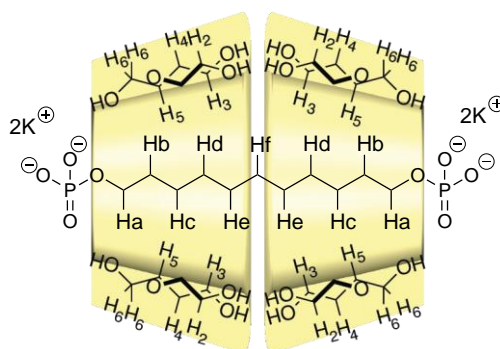
1,10-Decanediphosphate 10



^1H NMR (600 MHz, D_2O , pH 10) : δ 5.01 (d, $J = 3.4$ Hz, 12H, H_1), 4.33 (d, $J = 12.6$ Hz, 12H, H_{6a}), 4.09 (t, $J = 9.4$ Hz, 12H, H_5), 3.93 – 3.79 (m, 16H, H_a , H_3), 3.56 (d, $J = 10.8$ Hz, 24H, H_2 , H_{6b}), 3.45 (t, $J = 9.6$ Hz, 12H, H_4), 1.83 (d, $J = 10.9$ Hz, 4H, H_b), 1.64 (s, 8H, H_d , H_e), 1.52 (s, 4H, H_c).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O , pH 10) : δ 3.69.

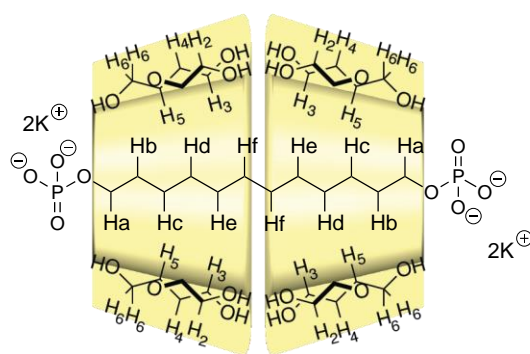
1,11-Undecanediphosphate 11



^1H NMR (600 MHz, D_2O , pH 10) : δ 5.04 (d, $J = 3.4$ Hz, 12H, H_1), 4.30 – 4.14 (m, 12H, H_{6a}), 4.04 (ddd, $J = 9.4, 6.7, 2.1$ Hz, 12H, H_5), 3.97 – 3.85 (m, 16H, H_a , H_3), 3.67 (dd, $J = 12.5, 6.7$ Hz, 12H, H_{6b}), 3.57 (dd, $J = 9.8, 3.3$ Hz, 12H, H_2), 3.55 – 3.50 (m, 12H, H_4), 1.72 (p, $J = 8.3$ Hz, 4H, H_b), 1.53 (s, 6H, H_e , H_f), 1.45 (s, 4H, H_d), 1.30 (t, $J = 8.5$ Hz, 4H, H_c).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O , pH 10) : δ 3.45.

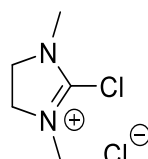
1,12-Dodecanediphosphate 12



^1H NMR (600 MHz, D_2O , pH 10) : δ 5.03 (d, $J = 3.6$ Hz, 12H, H_1), 4.19 (d, $J = 12.3$ Hz, 12H, H_{6a}), 4.02 (d, $J = 8.3$ Hz, 12H, H_5), 3.98 – 3.75 (m, 16H, H_a , H_3), 3.68 (q, $J = 5.9$ Hz, 12H, H_{6b}), 3.61 – 3.31 (m, 24H, H_2 , H_4), 1.74 (broad s, 4H, H_b), 1.53 (broad s, 4H, H_f), 1.44 (broad s, 4H, H_e), 1.32 (broad s, 8H, H_c , H_d).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O , pH 10) : δ 3.33.

Synthesis of DMC 13¹²¹

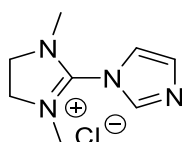


In a 250 mL round bottom flask under argon atmosphere, 1,3-Dimethyl-2-imidazolidinone (5g, 0.04 mol, 1 eq.) was added in dry toluene (60 mL) with oxalyl chloride (8 mL, 0.10 mol, 2.2 eq.) and heated at 60°C for 15 hours. The resulting solid was filtered, washed with toluene and dry. The isolated compound was stored under inert atmosphere (9.6 g, 99%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 4.30 (s, 4H), 3.29 (s, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) : δ 156.24, 77.38, 77.06, 76.74, 50.52, 35.27.

NMR study of the ImIm derivative 14¹¹⁹



In an NMR tube, DMC 13 (100 mg, 0.6 mmol, 1 eq.) and Imidazole (81 mg, 1.2 mmol, 2 eq.) were mix together in D_2O (0.5 mL, $C = 1.2$ M) and analyzed by NMR ^1H first at room temperature and then after heating at 50°C.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 8.30 (s, 2H), 7.36 (s, 1H), 3.94 (s, 4H), 2.83 (s, 6H).

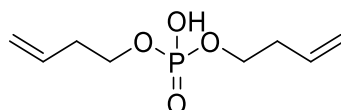
Procedure for polypyrophosphate polyrotaxane formation with α -CD 15

1,6-Hexanediphosphate **1** (92 mg, 0.33 mmol, 1 eq.) was dissolved in D_2O (1 mL) and α -CD (350 mg, 0.359 mmol, 1.1 eq.) was added portionwise. Then the solution was basified with potassium carbonate and added to a mixture of Imidazole (190 mg, 2.64 mmol, 8 eq.) and DMC **13** (260 mg, 1.32 mmol, 4 eq.) in a 10 mL vial. The resulting mixture was stirred at 50°C for 38 hours. Then it was poured into methanol and filtered. Purification by sephadex in distilled water gave the isolated polymer (50 mg, 50% mass yield).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) : δ 5.03 (s, 3.79H), 4.10-3.46 (m, 26H), 1.89-1.22 (m, 8H)

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, D_2O) : δ 4.00 (-P(=O)(OH) $_2$), -10.43 ($\text{P}_{\text{pyrophosphate}}$).

Synthesis of C_4 monomer **16**¹³⁶



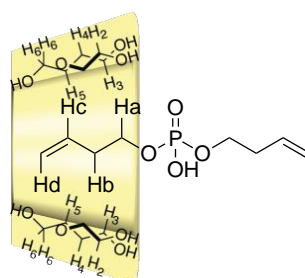
In a round bottom flask, POCl_3 (2.71 mL, 0.029 mol, 0.5 eq.) was diluted with dry DCM (15 mL) under argon atmosphere. To this solution, a mixture of 3-buten-1-ol (5 mL, 0.058 mol, 1 eq.) and Et_3N (8.1 mL, 0.058 mol, 1 eq.) in dry DCM (8 mL) was added portionwise at 0°C , then the resulting mixture was stirred at room temperature for 18 h. After evaporation the crude compound was dissolved in Et_2O , filtered and evaporated under vacuum. After purification by column chromatography (SiO_2 using DCM/ethyl acetate) and hydrolysis in pure water, lyophilization gave the isolated product as a yellow oil (3.65 g, 65%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 5.79 (ddt, $J = 17.0, 10.2, 6.8$ Hz, 2H), 5.28 – 4.78 (m, 4H), 4.06 (td, $J = 6.8$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 4H), 2.44 (qq, $J = 6.8, 1.2$ Hz, 4H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) : δ 133.27, 117.63, 66.67, 34.44.

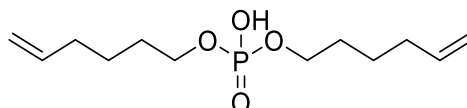
$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) : δ 0.32.

Threading studies of pseudorotaxane **19**



In an NMR tube, dialkylmonophosphate axle **16** was dissolved in 0.5 mL of D₂O (with 50 mM acetate buffer) with a concentration of 2.8 mM. Then α -CD was added portionwise (0.2 eq. per portion) from a 56 mM solution in D₂O (with 50 mM acetate buffer) and then the NMR tube was shaken to have a homogeneous solution. The acquisition of the ¹H NMR spectra were done on an Avance BRUKER® 600 MHz and data processing were made with DYNAFIT® software.

Synthesis of C₆ Monomer **17**¹³⁶



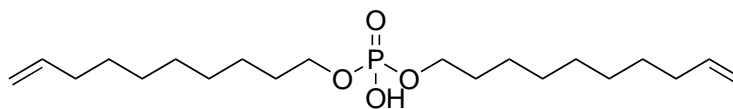
In a round bottom flask, POCl₃ (1.95 mL, 0.021 mol, 0.5 eq.) was diluted with dry DCM (7 mL) under argon atmosphere. To this solution, a mixture of 5-hexen-1-ol (4.6 mL, 0.041 mol, 1 eq.) and Et₃N (5.8 mL, 0.041 mol, 1 eq.) in dry DCM (10 mL) was added dropwise at 0°C, then the resulting mixture was stirred at room temperature for 18 h. After evaporation the crude compound was dissolved in Et₂O, filtered and evaporated under vacuum. After purification by column chromatography (SiO₂ using DCM/ethyl acetate) and hydrolysis in pure water, lyophilization gave the isolated product as a yellow oil (1.2 g, 20%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 5.78 (ddt, $J = 16.9, 10.2, 6.8$ Hz, 2H), 5.15 – 4.84 (m, 4H), 4.02 (td, $J = 6.8$ Hz, $J = 6.8$ Hz, 4H), 2.19 – 1.99 (m, 4H), 1.80 – 1.59 (m, 4H), 1.59 – 1.38 (m, 4H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) : δ 138.22, 114.85, 67.50, 33.12, 29.52, 24.67.

³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) : δ 0.91.

Synthesis of C₁₀ monomer **18**

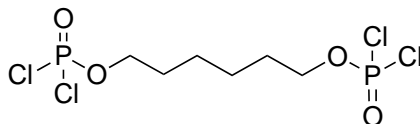


In a round bottom flask, POCl₃ (1.19 mL, 0.0128 mol, 0.5 eq.) was diluted with dry DCM (7 mL) under argon atmosphere. To this solution, a mixture of 9-decen-1-ol (4 g, 0.025 mol, 1 eq.) and Et₃N (3.49 mL, 0.025 mol, 1 eq.) in dry DCM (10 mL) was added dropwise at 0°C, then the resulting mixture was stirred at room temperature for 18 h. After evaporation the crude compound was dissolved in Et₂O, filtered and evaporated under vacuum. After purification by column chromatography (SiO₂ using Cyclohexane/DCM) and hydrolysis in pure water, lyophilization gave the isolated product as a yellow oil (2.5 g, 26%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 5.94 – 5.63 (m, 2H), 5.19 – 4.79 (m, 4H), 4.28 – 3.72 (m, 4H), 2.08 (dtt, $J = 7.7, 6.6, 1.4$ Hz, 4H), 1.79 – 1.61 (m, 4H), 1.60 – 1.36 (m, 4H).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) : δ 1.33.

Synthesis of 20



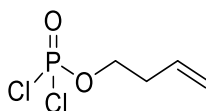
In a round bottom flask, hexanediol (2 g, 0.017 mol, 1 eq.) and POCl_3 (6 mL, 0.06, 4 eq.) were mixed under argon atmosphere at 0°C for 2 h. POCl_3 was evaporated under vacuum to yield the desired product (7 g, 100%).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) : δ 4.29 (dt, $J = 9.9, 6.3$ Hz, 1H), 1.77 (q, $J = 6.5, 6.0$ Hz, 1H), 1.49 – 1.40 (m, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) : δ 72.11, 29.27, 24.68.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, CDCl_3) : δ 6.73.

Synthesis of 21

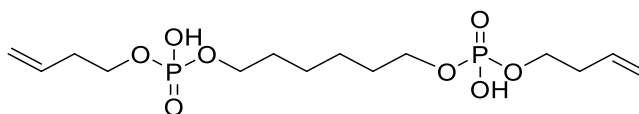


In a 25 mL round bottom flask, 3-buten-1-ol (1.79 mL, 0.021 mol, 1 eq.) was poured and placed under argon atmosphere and at 0°C . POCl_3 (12 mL, 0.125 mol, 6 eq.) was added dropwise and the resulting mixture was stirred at room temperature for 15 hours. The excess of POCl_3 was removed under vacuum with a double nitrogen trap system. Purification by column chromatography (SiO_2 using Dichloromethane/ethyl acetate) gave the isolated product as a yellow oil (2.81 g, 71%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 5.77 (dtt, $J = 17.0, 10.3, 6.6$ Hz, 1H), 5.35 – 5.01 (m, 2H), 4.34 (dt, $J = 10.1, 6.6$ Hz, 2H), 2.54 (hq, $J = 6.6, 1.3$ Hz, 2H).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (162 MHz, CDCl_3) : δ 6.94.

Synthesis of 22



In a 25 mL round bottom flask, **21** (5 g, 0.0265 mol, 3 eq.) was solubilized in distilled DCM (40 mL) under argon atmosphere. Hexanediol (1 g, 0.0087 mol, 1 eq.) was added at 0°C and the mixture stirred at 0°C for 90 min. Purification by column chromatography (SiO₂ using Dichloromethane/ethyl acetate) gave the isolated product as a yellow oil directly solubilized in water (30 mL) and stirred at room temperature for 30 hours. Lyophilization gave the desired product as a white powder (816 mg, 25%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ 6.14 – 5.57 (m, 2H), 5.34 – 5.00 (m, 4H), 3.98 (dt, *J* = 18.4, 6.6 Hz, 8H), 2.44 (q, *J* = 6.7 Hz, 4H), 1.69 (t, *J* = 6.7 Hz, 4H), 1.44 (q, *J* = 6.2, 4.8 Hz, 4H).

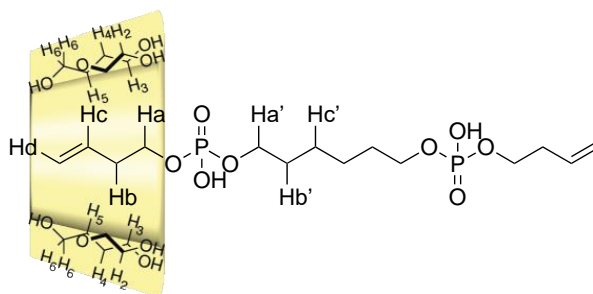
¹³C NMR (101 MHz, D₂O) : δ 134.94, 117.26, 66.96, 65.81, 34.35, 29.70, 24.65.

³¹P{¹H} NMR (162 MHz, D₂O) : δ 0.58.

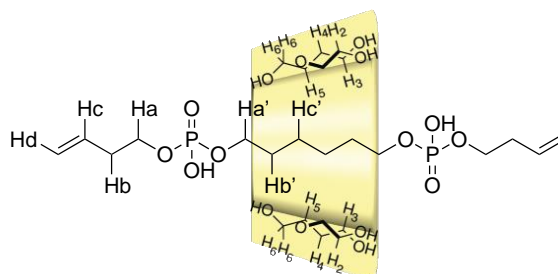
Threading studies of *pseudorotaxane 24 and 25*

In an NMR tube, dialkyldiphosphate axle **22** was dissolved in 0.5 mL of D₂O (with 50 mM acetate buffer) with a concentration of 2.8 mM. Then α-CD was added portionwise (0.2 eq per portion) from a 56 mM solution in D₂O (with 50 mM acetate buffer) and then the NMR tube was shaken to have a homogeneous solution. The acquisition of the ¹H NMR spectra were done on an Avance BRUKER® 600 MHz and data processing were made with DYNAFIT® software.

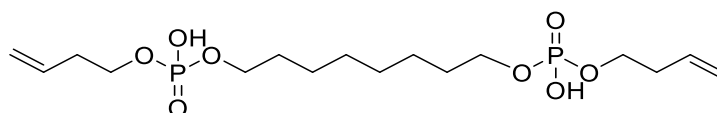
[2]*pseudorotaxane 24*



[2]*pseudorotaxane 25*



Synthesis of **23**



In a 25 mL round bottom flask, **21** (5 g, 0.026 mol, 3 eq.) was solubilized in distilled DCM (40 mL) under argon atmosphere. Octanediol (1.28 g, 0.0087 mol, 1 eq.) was added at 0°C and the mixture stirred at 0°C for 90 min. Purification by column chromatography (SiO₂ using Dichloromethane/ethyl acetate) gave the isolated product as a yellow oil directly solubilized in water (30 mL) and stirred at room temperature for 30 hours. Lyophilization gave the desired product as a white powder (700 mg, 20%).

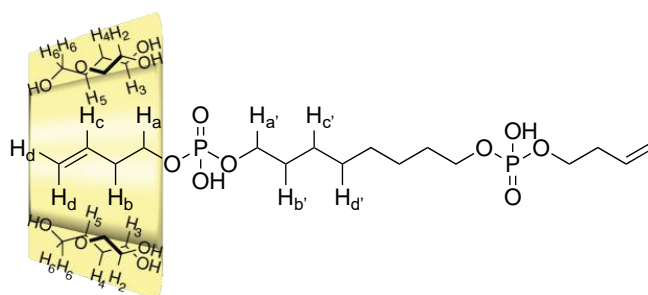
¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ 5.91 (ddt, *J* = 17.1, 10.4, 6.7 Hz, 2H), 5.36 – 5.06 (m, 4H), 4.17 – 3.78 (m, 8H), 2.52 – 2.29 (m, 4H), 1.86 – 1.59 (m, 4H), 1.38 (s, 8H).

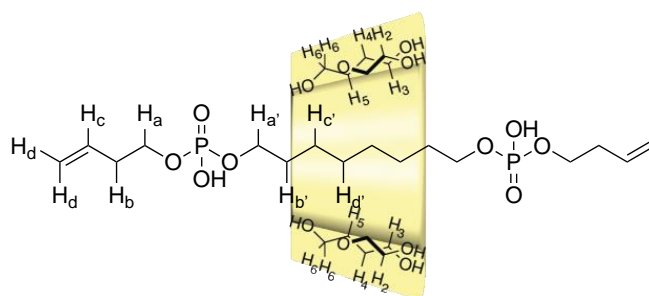
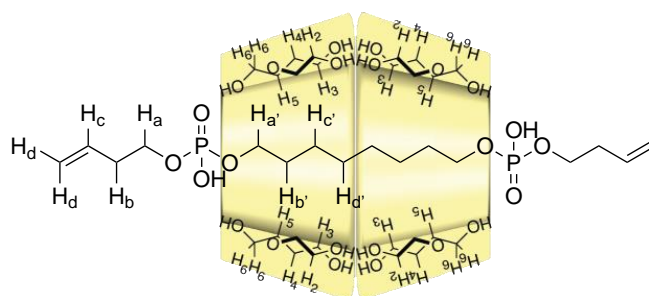
³¹P{¹H} NMR (162 MHz, D₂O) : δ 0.60.

Threading studies of *pseudorotaxane 26 and 27a/b*

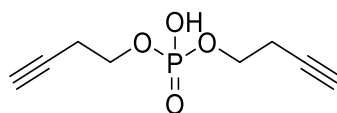
In an NMR tube, dialkyldiphosphate axle **23** was dissolved in 0.5 mL of D₂O (with 50 mM acetate buffer) with a concentration of 2.8 mM. Then α-CD was added portionwise (0.2 eq per portion) from a 56 mM solution in D₂O (with 50 mM acetate buffer) and then the NMR tube was shaken to have a homogeneous solution. The acquisition of the ¹H NMR spectra were done on an Avance BRUKER® 600 MHz and data processing were made with DYNAFIT® software.

[2]*pseudorotaxane 26*



[2]pseudorotaxane 27a**[3]pseudorotaxane 27b****General procedure for ADMET polymerisation**

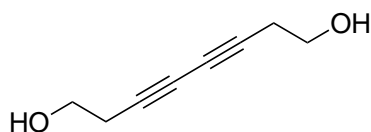
In a flamed dry Schlenk tube, acyclic diene monomer (1eq.) and Ruthenium complex catalyst (1 – 5% mol) were solubilized in adapted solvent and the mixture heated for 24 hours under argon atmosphere. The obtained polymer was then characterized by NMR in CDCl₃.

Synthesis of 28

In a round bottom flask, POCl₃ (0.7 mL, 0.0072 mol, 0.5 eq.) was diluted with dry DCM (3 mL) under argon atmosphere. To this solution, a mixture of 3-butyn-1-ol (1.1 mL, 0.014 mol, 1 eq.) and Et₃N (2 mL, 0.014 mol, 1 eq.) in dry DCM (3 mL) was added portionwise at 0°C, then the resulting mixture was stirred at room temperature for 18 h. After evaporation the crude compound was dissolved in Et₂O, filtered and evaporated under vacuum. After purification by column chromatography (SiO₂ using DCM/ethyl acetate) and hydrolysis in pure water, lyophilization gave the isolated product as a yellow oil (811 mg, 60%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ 4.04 – 3.83 (m, 4H), 2.52 (tdd, *J* = 6.4, 2.6, 0.6 Hz, 4H), 2.35 (t, *J* = 2.7 Hz, 2H).

³¹P{¹H} NMR (162 MHz, D₂O) : δ -0.11.

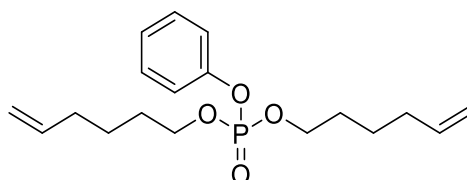
Synthesis of 29^{139,148}

In a round bottom flask, 3-butyn-1-ol (1 mL, 0.013 mol, 1 eq.), CuI (370 mg, 0.002 mol, 0.15 eq.) and TMEDA (0.3 mL, 0.002 mol, 0.15 eq.) were mixed in water (10 mL) and stirred at 30°C for 18 hours. Then the mixture was extracted with EtOAc (10 mL) three times. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and after evaporated under vacuum the desired product was recovered pure (1.8 g, 100%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 3.75 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 2.54 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 1.91 – 1.49 (m, 1H).

General procedure for Glaser coupling polymerization

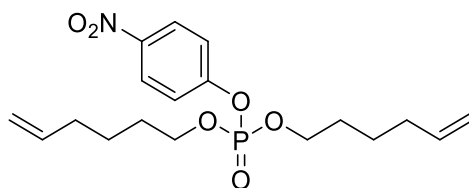
In a Schlenk tube, monomer **28** (1eq.) was mixed with CuI (0.18 eq.), and TMEDA (0.18 eq.) in H₂O. The mixture was then stirred for 20 hours and the monitoring done by NMR in D₂O.

Synthesis of monomer 30

To a solution of phenyl phosphorodichloridate (1 g, 4.74 mmol, 1 eq.) in dry DCM (10 mL) was added dropwise hexen-1-ol (1.1 mL, 9.5 mmol, 2 eq.) at 0°C under argon atmosphere. The resulting mixture was then stirred for 30 hours at room temperature under argon atmosphere, then filtered and washed with Et₂O. Purification by column chromatography (150g SiO₂ using [8:2] to [3:7] Cyclohexane/DCM as eluent) gave the isolated product as a yellow oil (520 mg, 33%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 7.38 – 7.30 (m, 2H), 7.21 (dq, J = 7.8, 1.2 Hz, 2H), 5.77 (ddt, J = 16.9, 10.2, 6.7 Hz, 2H), 5.36 – 4.70 (m, 4H), 4.14 (dtd, J = 7.3, 6.5, 2.2 Hz, 4H), 2.21 – 1.94 (m, 4H), 1.85 – 1.62 (m, 4H), 1.55 – 1.30 (m, 4H).

³¹P{¹H} NMR (162 MHz, CDCl₃) : δ -6.13.

Synthesis of monomer nitrophenol 31

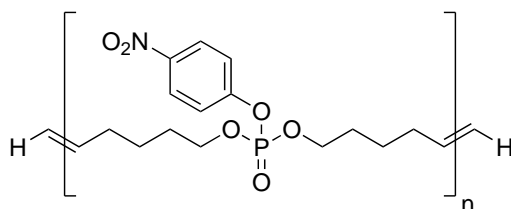
To a solution of 4-nitrophenyl phosphorodichloridate (4.5 g, 0.017 mol, 1 eq.) in dry THF (20 mL) was added dropwise a mixture of triethylamine (6 mL, 0.035 mol, 2 eq.) and hexen-1-ol (4.8 mL, 0.035 mol, 2 eq.) in dry THF (5 mL) at 0°C under argon atmosphere. The resulting mixture was then stirred for 30 hours at room temperature under argon atmosphere, then filtered and washed with Et₂O. Purification by column chromatography (150g SiO₂ using [8:2] to [3:7] Cyclohexane/DCM as eluent) gave the isolated product as a yellow oil (3.1 g, 46%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 8.33 – 8.04 (m, 2H), 7.54 – 7.30 (m, 2H), 5.75 (ddt, *J* = 16.9, 10.2, 6.6 Hz, 2H), 5.17 – 4.75 (m, 4H), 4.17 (dtd, *J* = 8.4, 6.6, 1.9 Hz, 4H), 2.27 – 1.87 (m, 4H), 1.77 – 1.60 (m, 4H), 1.46 (tt, *J* = 10.0, 6.4 Hz, 4H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) : δ 155.60, 155.54, 144.64, 137.93, 125.64, 120.53, 120.47, 115.07, 68.94, 68.88, 32.99, 29.57, 29.50, 24.56.

³¹P{¹H} NMR (242 MHz, CDCl₃) : δ -6.92 (-P(=O)OR₃).

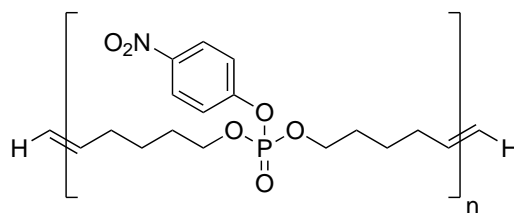
MS (ESI) : *m/z* [M+Na]⁺ calculated 378.11 ; found 378.89

Synthesis of protected polymer by bulk metathesis 32a¹³⁶

In a flamed dry Schlenk tube, monomer **31** (1.5 g, 4.22 mmol) and Hoveyda-Grubbs II catalyst (50 mg, 0.084 mmol, 2% mol) were added then stirred under vacuum at 60°C for 10 hours. The mixture was cooled to room temperature and diluted in THF and filtered through Neutral Alumina to get rid of remaining catalyst. Purification by SEC (LH20 in [75:25] DCM/MeOH as eluent) gave the desired polymer as a brown viscous solid (400 mg, 27% w/w).

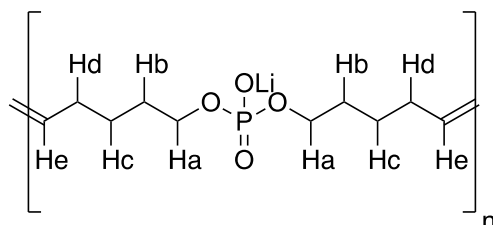
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 8.33 – 8.04 (m, 2H), 7.54 – 7.30 (m, 2H), 5.53 – 5.24 (m, 2H), 4.17 (dtd, *J* = 8.4, 6.6, 1.9 Hz, 4H), 2.27 – 1.87 (m, 4H), 1.77 – 1.60 (m, 4H), 1.46 (tt, *J* = 10.0, 6.4 Hz, 4H).

Synthesis of protected polymer by solution metathesis 32b



In a flamed dry Schlenk tube, monomer **31** (0.18 g, 0.51 mmol) and Hoveyda-Grubbs II catalyst (6 mg, 2% mol) were solubilized in dry DCM (2 mL) then stirred under vacuum at 40°C for 24 hours. The mixture was cooled to room temperature and diluted in THF and filtered through Neutral Alumina to get rid of remaining catalyst (54 mg, 30% w/w).

Synthesis of polymer 33¹⁵⁰

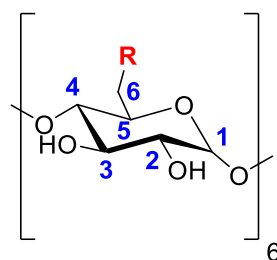


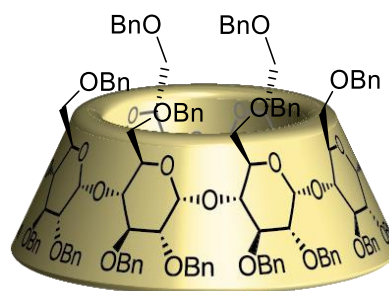
Polymer **32** (210 mg, 0.55 mmol, 1eq.) was solubilized in a water/THF mixture (10 mL, 1:1) and LiOH.H₂O (10 eq. per repeating unit) was added and the resulting mixture stirred at room temperature for 5 hours. Purification by SEC (G25 in pure water) and lyophilization gave the desire polymer as a white solid (105 mg, 50%, w/w).

¹H NMR (600 MHz, D₂O) : δ 5.50 (s, 2H, H_e), 3.85 (s, 4H, H_a), 2.06 (m, 4H, H_d), 1.67 (m, 4H, H_b), 1.42 (m, 4H, H_c).

³¹P{¹H} NMR (242 MHz, D₂O) : δ 0.72.

Synthesis of functionalized CDs

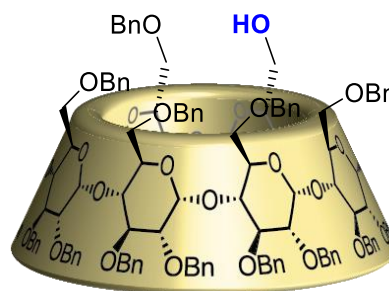


Perbenzylated α -cyclodextrin 34¹⁵²

In a 500 mL round bottom flask, NaH (60% in mineral oil) (9.01 g, 225 mmol) was added portionwise to a solution of α CD (5.02 g, 5.1 mmol) in DMSO (110 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 1 hour, then benzylchloride (23.5 mL, 205 mmol) was added dropwise. The mixture was stirred at room temperature overnight, then poured onto cold water (100 mL) and extracted with diethyl ether (2 x 100 mL). The organic layer was washed with water (100 mL), dried with $MgSO_4$, and concentrated under vacuum. After purification by column chromatography (SiO_2 using (9:1) to (8:2) cyclohexane/ethyl acetate) 34 was obtained as a white powder (11.21 g, 85%).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) : δ 7.33 – 7.07 (m, 90H, H_{arom}), 5.21 (d, $J = 11.0$ Hz, 6H, $-CH_2Ph$), 5.13 (d, $J = 3.4$ Hz, 6H, H_1), 4.90 (d, $J = 11.0$ Hz, 6H, $-CH_2Ph$), 4.50 (d, $J = 4.8$ Hz, 12H, $-CH_2Ph$), 4.47 – 4.29 (m, 12H, $-CH_2Ph$), 4.18 (t, $J = 8.9$ Hz, 6H, H_3), 4.12 – 4.00 (m, 12H, H_4 , H_6), 3.94 (d, $J = 9.2$ Hz, 6H, H_5), 3.57 – 3.41 (m, 12H, H_2 , H_6).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) : δ 128.31, 128.16, 127.99, 127.74, 127.62, 127.41, 127.31, 126.93, 98.61, 81.06, 81.06, 79.25, 79.10, 75.58, 73.43, 72.78, 71.61, 69.14.

Monol-benzylated α -cyclodextrin 35¹⁵³

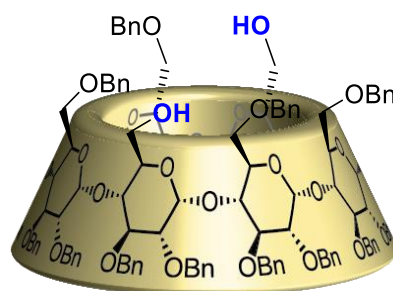
In a 500 mL round bottom flask, perbenzylated α -CD 34 (14 g, 5.4 mmol) was dissolved in dry toluene (27 mL) under argon atmosphere. DIBAL-H (25% in toluene) (54 mL, 81.1 mmol) was added dropwise, and then the solution was heated at 50°C under argon flux for 30 minutes. The resulting mixture was poured onto cold water (300 mL) in a 1 L Erlenmeyer. HCl (300 mL, 1

M) was added and then the solution was extracted with ethyl acetate (3 x 250 mL), dried with MgSO₄, and concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO₂ using cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product as a white powder (5 g, 37%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 7.29-7.01 (m, 85H, H_{arom}), 5.53-5.49 (m, 2H), 5.41-5.33 (m, 2H), 5.26-5.18 (m, 2H), 5.00-4.81 (m, 12H), 4.73-4.67 (m, 2H), 4.59-4.29 (m, 20H), 4.24-3.83 (m, 24H), 3.78-3.63 (m, 3H), 3.62-3.40 (m, 9H).

MS (ESI) : *m/z* [M+Na]⁺ Calculated 2528.12 found 2528.59

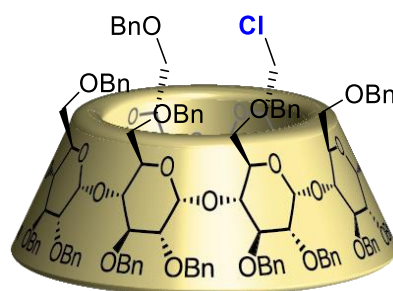
Diol-benzylated α -cyclodextrin **36**¹⁵³



In a 500 mL round bottom flask, perbenzylated α -CD **34** (6 g, 2.3 mmol) was dissolved in dry toluene (14 mL) under argon atmosphere. DIBAL-H (25% in toluene) (26 mL, 41.1 mmol) was added dropwise, and then the solution was heated at 50°C under argon flux for 30 minutes. The resulting mixture was poured onto cold water (300 mL) in a 1 L Erlenmeyer. HCl (150 mL, 1 M) was added and then the solution was extracted with ethyl acetate (3 x 125 mL), dried with MgSO₄, and concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO₂ using cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product as a white powder (3.18 g, 50%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 7.33-7.07 (m, 80H, H_{arom}), 5.70 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H), 5.42 (d, *J* = 10.3 Hz, 2H), 5.17 (d, *J* = 10.3 Hz, 2H), 4.90-4.83 (m, 4H), 4.80-4.65 (m, 8H), 4.59-4.25 (m, 18H), 4.23-4.14 (m, 3H), 4.12-3.52 (m, 32H), 3.43-3.36 (m, 6H), 3.24-3.17 (m, 4H).

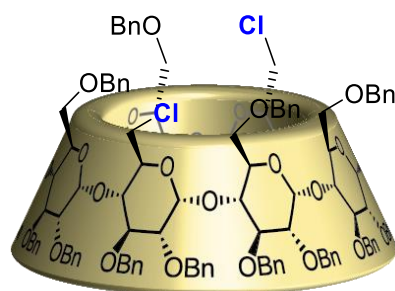
Mono-chloro-benzylated α -cyclodextrin **37**¹⁵⁴



In a round bottom flask, monol-benzylated α -CD **35** (2.00 g, 0.8 mmol, 1 eq.) was dissolved in distilled DCM (20 mL) under argon atmosphere. Triethylamine (0.21 mL, 1.59 mmol, 2 eq.) then mesyl chloride (0.12 mL, 1.59 mmol, 2 eq.) were added dropwise, and the resulting solution was stirred at room temperature under argon atmosphere for 3 hours. The solution was then concentrated under vacuum, and the resulting solid was dissolved in dry DMF (20 mL). The solution was then heated at reflux under argon atmosphere for 22 hours. The brown mixture was then concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO_2 using cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product as a white solid (1.51 g, 74%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : δ 7.25-7.05 (m, 85H, H_{arom}), 5.28-5.11 (m, 6H), 5.03-4.93 (m, 6H), 4.89-4.75 (m, 6H), 4.62-4.29 (m, 20H), 4.17-3.78 (m, 22H), 3.76-3.62 (m, 6H), 3.59-3.33 (m, 9H).

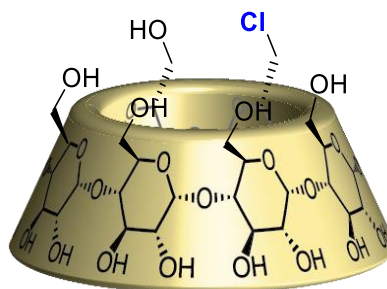
MS (ESI) : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Calculated 2546.08 found 2546.40

Di-chloro-benzylated α -cyclodextrin **38**¹⁵⁴



In a round bottom flask, diol-benzylated α -CD **36** (4.00 g, 1.65 mmol, 1 eq.) was dissolved in distilled DCM (45 mL) under argon atmosphere. Triethylamine (0.90 mL, 6.6 mmol, 4 eq.) then mesyl chloride (0.50 mL, 6.6 mmol, 4 eq.) were added dropwise, and the resulting solution was stirred at room temperature under argon atmosphere for 3 hours. The solution was then concentrated under vacuum, and the resulting solid was dissolved in dry DMF (35 mL). The solution was then heated at reflux under argon atmosphere for 22 hours. The brown mixture was then concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO_2 using cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product as a white solid (2.27 g, 56%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : δ 7.30-7.10 (m, 80H, H_{arom}), 5.26-5.10 (m, 6H), 5.05-4.91 (m, 6H), 4.90-4.71 (m, 6H), 4.63-4.55 (m, 2H), 4.53-4.30 (m, 18H), 4.18-3.63 (m, 29H), 3.60-3.32 (m, 9H).

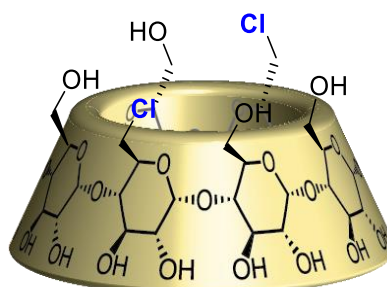
MS (ESI) : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Calculated 2473.99 found 2473.08

Mono-chloro α -cyclodextrin 39¹⁵⁵

In a 500 ml, mono-chlorobenzylated α -CD **37** (3.44 g, 1.36 mmol) and Pd(OH)₂/C (1.7 g, 12.1 mmol) were introduced. Water (34 mL), acetic acid (34 mL) and THF (140 mL) were added and the mixture stirred at room temperature under dihydrogen atmosphere for 15 hours. The resulting mixture was filtered on a pad of celite and washed with water, methanol, and water again. The filtrate was concentrated under vacuum. Lyophilization in water gave the desire product (1.5 g, quantitative yield).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ 5.05 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 5.02 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 5.00 (dd, J = 3.6, 1.7 Hz, 4H), 4.00 (m, 1H), 3.98 – 3.87 (m, 7H), 3.81 (m, 8H), 3.57 (m, 12H).

MS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ Calculated 1013.27 found 1013.26

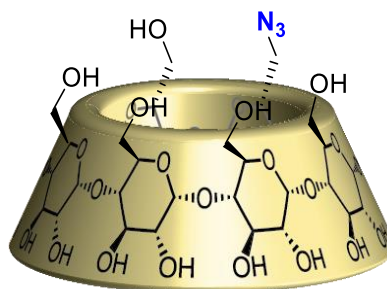
Di-chloro α -cyclodextrin 40¹⁵⁵

In a 500 ml, di-chlorobenzylated α -CD **38** (2.27 g, 0.92 mmol) and Pd(OH)₂/C (1.13 g, 8.05 mmol) were introduced. Water (23 mL), acetic acid (23 mL) and THF (10 mL) were added and the mixture stirred at room temperature under dihydrogen atmosphere for 15 hours. The resulting mixture was filtered on a pad of celite and washed with water, methanol, and water again. The filtrate was concentrated under vacuum. Lyophilization in water gave the desire product (1.15 g, quantitative yield).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ 5.14 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 5.11 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 5.08 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 4.17-4.10 (m, 3H), 4.08 (broad s, 2H), 4.06-3.95 (m, 13H), 3.93-3.80 (m, 9H), 3.74-3.53 (m, 14H).

MS (ESI) : m/z $[M+Na]^+$ Calculated 1031.24 found 1031.25

Mono-azido α -cyclodextrin 41¹⁵⁶

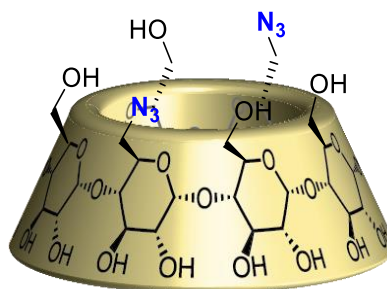


In a 20 mL biotage micro-waves tube, mono-chloro α -CD **39** (300 mg, 0.3 mmol, 1 eq.) was introduced and dry DMF (20 mL) was added under argon atmosphere. NaN_3 (194 mg, 3.0 mmol, 3 eq.) was added, and the tube was heated under micro-wave at 150°C for 1 hour. The mixture was filtered and concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO_2 using ACN/water) gave the isolated product (150 mg, 50%).

1H NMR (400 MHz, D_2O) : δ 5.08 (d, $J = 3.30$ Hz, 6H), 4.05 - 3.94 (m, 12H), 3.93 - 3.80 (m, 20H), 3.71 - 3.55 (m, 20H).

MS (ESI) : m/z $[M+Na]^+$ calculated 1020.31 found 1020.01

Di-azido α -cyclodextrin 42¹⁵⁶



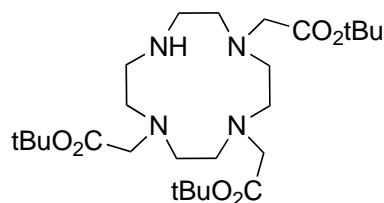
In a 20 mL biotage micro-waves tube, di-chloro α -CD **40** (300 mg, 0.3 mmol) was introduced and dry DMF (20 mL) was added under argon atmosphere. NaN_3 (194 mg, 3.0 mmol) was added, and the tube was heated under micro-wave at 150°C for 1 hour. The mixture was filtered and concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO_2 using ACN/water) gave the isolated product (150 mg, 50%).

1H NMR (400 MHz, D_2O) : δ 5.06-4.97 (m, 8H), 4.05-3.74 (m, 33H), 3.65-3.47 (m, 17H).

MS (ESI) : m/z $[M+Na]^+$ calculated 1045.32 ; found 1044.99

Synthesis of imaging probe with Ln-complex

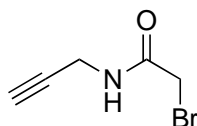
Synthesis of 43¹⁵⁷



In a round bottom flask, cyclen (1 g, 5.8 mmol, 1 eq.) and DMA (19 mL) were mixed, then sodium acetate (1.42 g, 17.4 mmol, 3 eq.) was added portionwise. After cooling at 0°C, tertbutyl bromoacetate (2.55 mL, 17.4 mmol, 3eq.) was added in solution of DMA (5 mL). The resulting mixture was stirred for 3 days. Then the white solid observed was dissolved in water, and NaHCO₃ was added until basic pH. The solid was then filtered and washed with water. The residue was dissolved in chloroform, washed with water, dry over MgSO₄, and evaporated. Recrystallization in Et₂O/CHCl₃ gave the isolated compound (1.9 g, 63%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 3.37 (s, 4H), 3.29 (s, 2H), 3.10 (d, J = 5.3 Hz, 4H), 2.93 (d, J = 5.5 Hz, 8H), 2.88 (s, 4H), 1.46 (s, 27H).

2-bromo-N-(prop-2-ynyl) acetamide 44^{158, 159}

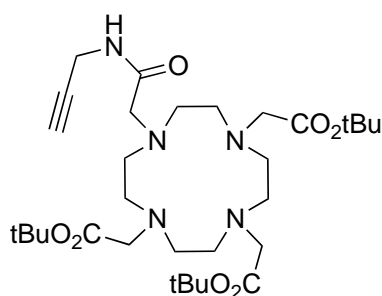


In a 50 ml round bottom flask, bromoacetic acid (1.5 g, 10.8 mmol) was dissolved in DCM (10 mL) and cooled to 0°C. Propargylamine (0.69 mL, 10.87 mmol) was added portionwise, then DCC (2.2 g, 10.66 mmol) in DCM (5 mL) was added. The mixture was stirred at room temperature for 12 hours under argon atmosphere. The solid was filtered and the filtrate was concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO₂ using (9:1) to (6:4) cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product (1.045 g, 54%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 6.05 (s large, 1H, -NH), 4.09 (dd, J = 2.7, 5.4 Hz, 2H), 3.89 (s, 2H), 2.26 (t, J = 2.7 Hz, 1H, H_{alkyne}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ 165.12, 78.52, 72.24, 29.96, 28.66.

Synthesis of 45

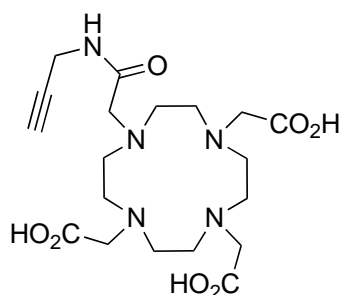


In a 250 ml round bottom flask, DOTA *tert*-butyl ester **43** (2.49 g, 4.84 mmol, 1 eq.), 2-bromo-N-(prop-2-ynyl) acetamide **44** (0.85 g, 4.8 mmol, 1 eq.) and K_2CO_3 (2.2 g, 16 mmol, 3.33 eq.) were introduced under argon atmosphere. Dry acetonitrile (50 mL) was added and the mixture was stirred at room temperature under argon atmosphere for 15 hours. The resulting mixture was concentrated under vacuum then DCM was added. The organic layer was washed with an aqueous saturated solution of Na_2CO_3 (3 x 20 mL), dried with $MgSO_4$, and concentrated under vacuum. A white powder corresponding to the desire product was obtained (2.49 g, 84%).

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : δ 9.24 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.00 (dd, $J = 2.4, 5.8$ Hz, 2H), 3.35 (s, 2H), 3.27 (s, 4H), 3.07 (s, 2H), 2.94-2.85 (m, 4H), 2.82 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H), 2.68 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H), 2.50 (dd, $J = 3.2, 5.8$ Hz, 4H), 2.14 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.43 (s, 18H).

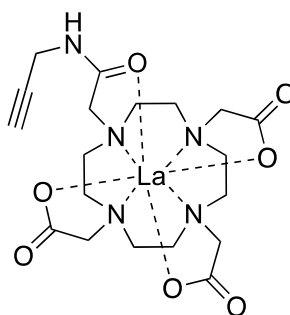
^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) : δ 172.2, 170.92, 81.28, 81.01, 80.95, 70.29, 57.88, 56.67, 56.36, 55.43, 53.88, 52.66, 52.32, 28.74, 28.39, 28.36.

Synthesis of 46



In a 25 mL round bottom flask, **42** (2 g, 3.28 mmol) was dissolved in dry DCM (26 mL) and then TFA (7.6 mL, 98 mmol) was added. The solution was stirred at room temperature for 15 hours. The solution was poured onto diethyl ether (100 mL), filtered, and the solid was dried (1.7 g, 67%).

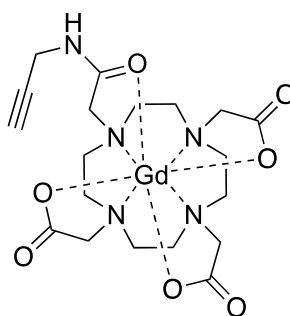
1H NMR (400 MHz, D_2O) : δ 9.24 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.00 (dd, $J = 2.4, 5.7$ Hz, 2H), 3.35 (s, 2H), 3.27 (s, 4H), 3.07 (s, 2H), 2.94-2.85 (m, 4H), 2.82 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H), 2.68 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H), 2.50 (dd, $J = 3.2, 5.9$ Hz, 4H), 2.14 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 1.44 (s, 9H).

DO3A derivative with La 47¹⁵⁸

In a 25 mL round bottom flask, **46** (500 mg, 0.64 mmol, 1 eq.) and $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (306 mg, 0.70 mmol, 1.1 eq.) were dissolved in water (5 mL). The solution was stirred at room temperature for 10 minutes, then NaOH (1M) (3 mL) was added portionwise to obtain a neutral solution (pH = 7). The solution was stirred at room temperature for 2 days. The mixture was concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO_2 using (7:3) to (6:4) cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product (130 mg, 35%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) : δ 4.04 (s, 2H), 3.97-2.16 (broad m, 26H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) : δ 179.48, 179.37, 175.29, 60.96, 60.71, 58.64, 53.55, 49.75, 29.48.

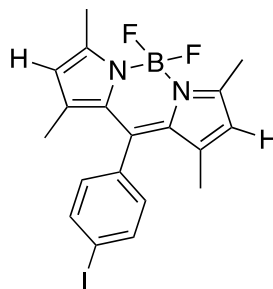
DO3A derivative with Gd 48¹⁵⁸

In a 25 mL round bottom flask, **46** (1.17 g, 0.0025 mol, 1 eq.) and $\text{GdCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (1.08 g, 0.0029 mol, 1.1 eq.) were dissolved in water (12 mL). The solution was stirred at room temperature for 10 minutes, then NaOH (1M) (9 mL) was added portionwise to obtain a neutral solution (pH = 7). The solution was stirred at room temperature for 2 days. The mixture was concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO_2 using (7:3) to (6:4) cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product (0.76 g, 50%).

MS (ESI) : m/z $[\text{M}]^-$ calculated 595.12 ; found 595.36

Synthesis of Bodipy 51

Synthesis of **49**¹⁶⁰

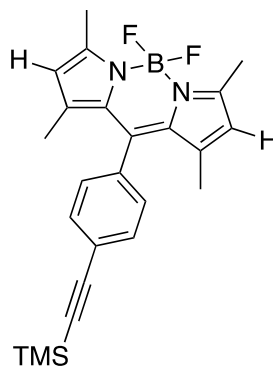


Para-iodobenzoyl chloride (2.94 g, 11.1 mmol, 1 eq.) was dissolved in 100 mL of distilled dichloromethane, then 2,4-dimethylpyrrole (2.5 mL, 17 mmol, 2.2 eq.) was added *via* a syringe and the mixture was stirred at reflux for 15 hours. After cooling to room temperature, triethylamine (5 mL) and borontrifluoride etherate (5 mL) were added dropwise. The mixture was heated at reflux for 2 hours. The solvent was removed and the residue washed with distilled water and purified on silica gel column using 98:2 cyclohexane/ethyl acetate as eluent to give **49** as an orange solid with metallic luster (1.55 g, 31%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 7.63 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 5.99 (s, 1H), 2.56 (s, 3H), 1.40 (s, 4H).

MS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ calculated 473.05 found 472.79

Synthesis of **50**¹⁶⁰

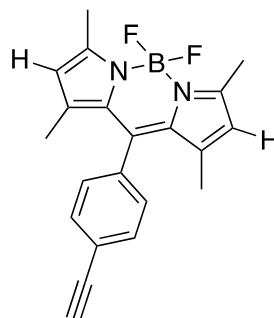


In a Schlenk tube, **49** (0.5 g, 1 mmol, 1 eq.), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (78 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq.) and CuI (42 mg, 0.2 mmol, 0.2 eq.) were loaded and placed under argon atmosphere. Then a solution of triethylamine (7.5 mL) in dry THF (15 mL) and finally TMSA (0.3 mL, 1.3 mmol, 1.3 eq.) were added. The resulting mixture was stirred overnight at room temperature. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate gave the isolated compound (470 mg, 98%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ 7.60 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.98 (s, 2H), 2.55 (s, 6H), 1.40 (s, 6H), 0.28 (s, 9H).

MS (ESI) : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculated 443.19 found 443.21

Synthesis of **51**¹⁶¹

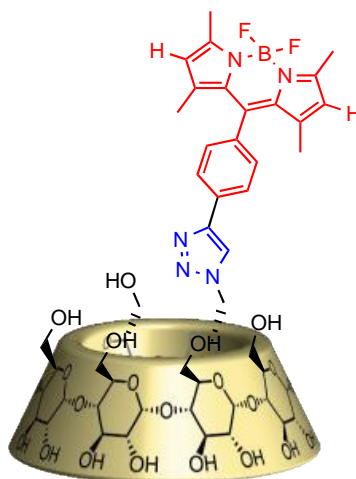


Bodipy-TMS **50** (300 mg, 0.71 mmol, 1 eq.) was solubilized in THF/MeOH (16 mL 1:1) and potassium carbonate was added (207 mg, 1.5 mmol, 2.1 eq.). The resulting mixture was stirred at room temperature for 1 hour. Evaporation and purification over pad of silica gel with cyclohexane/DCM 6/4 as eluant gave the desired isolated compound (100%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 7.62 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.98 (s, 2H), 3.18 (s, 1H), 2.55 (s, 6H), 1.40 (s, 6H).

MS (ESI) : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculated 371.15 found 371.13

Synthesis of α CD-Bod **52**^{162, 163}



In a 25 mL round bottom flask, mono-azide α -CD **41** (220 mg, 0.22 mmol) and Bodipy-H **51** (140 mg, 0.24 mmol) were introduced under argon atmosphere. Dry DMF (5.5 mL) and water (5.5 mL) were added. $\text{CuSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (33 mg, 0.132 mmol), PMDTA (28 μL , 0.134 mmol), sodium ascorbate (52.8 mg, 0.266 mmol) were added, then the mixture was stirred at room

temperature under argon atmosphere for 20 hours. The resulting mixture was concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO₂ using ACN/water) gave the isolated product (250 mg, 72%).

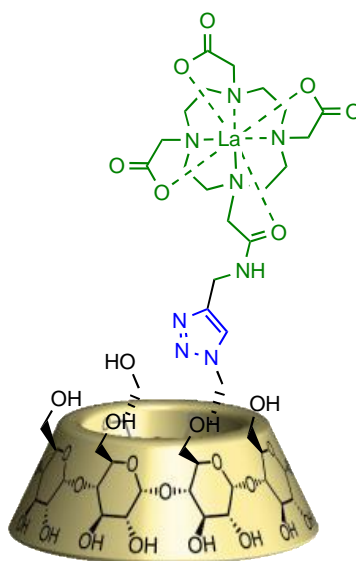
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 8.57 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.46 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.20 (s, 2H), 5.78 – 5.25 (m, 12H), 5.12 (s, 1H), 4.81 (d, $J = 10.9$ Hz, 8H), 4.63 – 4.39 (m, 6H), 4.11 (s, 1H), 4.00 – 3.73 (m, 11H), 3.64 (s, 19H), 2.50 (d, $J = 2.1$ Hz, 6H), 1.44 (s, 6H).

MS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ calculated 1368.48 found 1368.42

General procedure for mono-Lanthanide complex α -cyclodextrin α CD-Ln^{162, 163}

In a 25 mL round bottom flask, mono-azide α -CD **41** (1 eq.) and DO3A derivative with Ln (1.1 eq.) were introduced under argon atmosphere. Dry DMF (5.5 mL) and water (5.5 mL) were added. CuSO₄·6 H₂O (0.6 eq.), PMDTA (0.6 eq.), sodium ascorbate (1.2 eq.) were added, then the mixture was stirred at room temperature under argon atmosphere for 20 hours. The resulting mixture was concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO₂ using (8:2) to (1:1) cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product.

Synthesis of α CD-La **53**

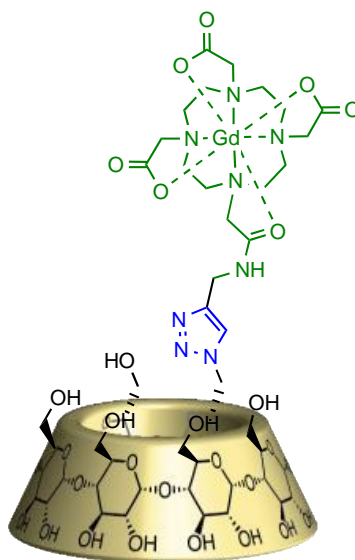


$\eta = 65\%$

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ 8.05 (s, 1H), 5.21 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 5.20-5.02 (m, 4H), 5.01 (m, 2H), 4.70-4.56 (m, 3H), 4.20-3.84 (m, 20H), 3.82-3.76 (dd, $J = 4.6, 12.3$ Hz, 2H), 3.75-3.49 (m, 16H), 3.48-2.22 (m, 22H).

MS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ Calculated 1597.41 found 1597.47

Synthesis of α CD-Gd 54



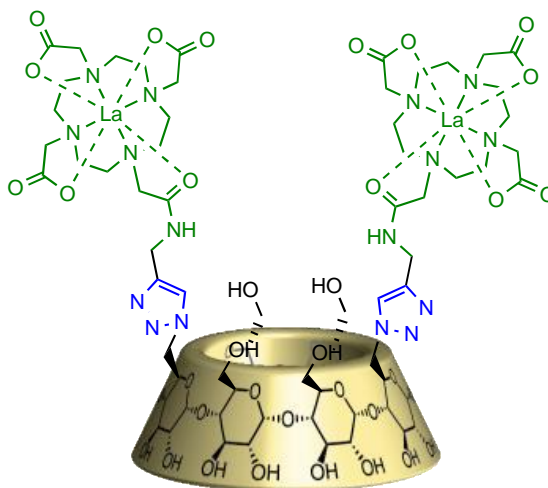
$\eta = 42\%$

MS (ESI) : m/z $[M+Na]^+$ calculated 1616.44 found 1616.41

General procedure for di-Lanthanide complex α -cyclodextrin α CD-Ln₂^{162, 163}

In a 25 mL round bottom flask, di-azide α -CD **42** (1 eq.) and DO3A derivative with Ln (2.2 eq.) were introduced under argon atmosphere. Dry DMF (5.5 mL) and water (5.5 mL) were added. CuSO₄·6 H₂O (1.2 eq.), PMDTA (1.2 eq.), sodium ascorbate (2.4 eq.) were added, then the mixture was stirred at room temperature under argon atmosphere for 20 hours. The resulting mixture was concentrated under vacuum. Purification by column chromatography (SiO₂ using (8:2) to (1:1) cyclohexane/ethyl acetate) gave the isolated product.

Synthesis of α CD-La₂ 55

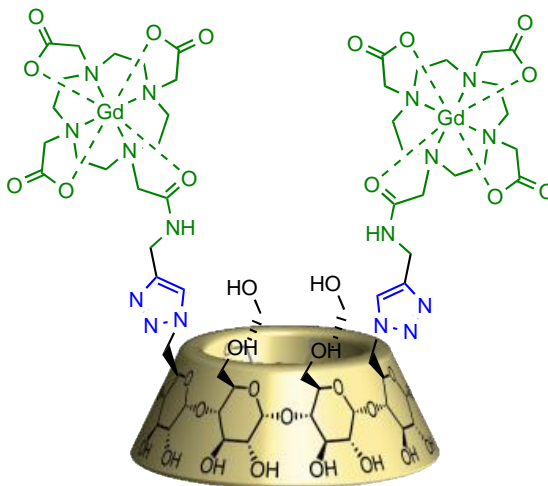


$\eta = 63\%$

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O) : δ 8.08 (s, 2H), 5.22 (d, $J = 3.0$ Hz, 2H), 5.18 (s, 2H), 5.07 (d, $J = 2.8$ Hz, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.74 – 4.64 (m, 3H), 4.61 (s, 2H), 4.32 (s, 2H), 4.06 (t, $J = 9.4$ Hz, 6H), 3.99 (d, $J = 11.9$ Hz, 6H), 3.85 – 3.75 (m, 5H), 3.71 (t, $J = 9.7$ Hz, 5H), 3.67 – 3.52 (m, 11H), 3.44 - 2.59 (broad m, 49H).

MS (ESI) : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculated 2199.52 found 2199.18

Synthesis of $\alpha\text{CD-Gd}_2$ **56**



$\eta = 48\%$

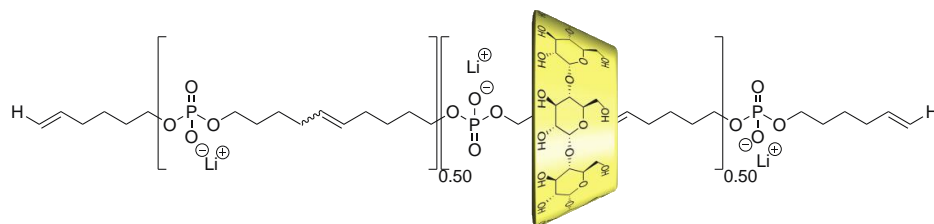
MS (ESI) : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculated 2237.56 found 2236.42

Preparation of monomodal polypseudorotaxanes^{162, 164}

Deprotected polymer **33** (1 eq.) was solubilized in distilled water ($C = 8$ mM) and αCD [native or functionalized] (1.3 eq. per repeating unit) was added. Then the solution was stirred at 50°C for 7 days. The resulting polypseudorotaxane was purified by ultrafiltration using 1kDa microsep membrane, then lyophilization provide the final compound as a white solid.

Preparation of bimodal polypseudorotaxanes^{162, 164}

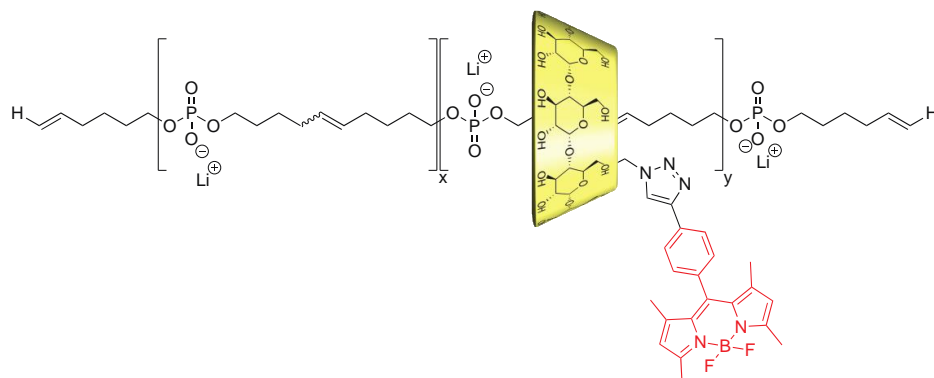
Polymer **33** (1 eq.) was solubilized in distilled water ($C = 8$ mM) and $\alpha\text{-CD}$ [La or Gd/La₂ or Gd₂] (0.9 eq. per repeating unit) was added. Then the solution was stirred at 50°C for 5 days. Then αCDBod **52** (0.2 eq. per repeating unit) and Methanol ($C = 0.8$ mM) were added, and the resulting mixture stirred at 50°C for 2 days. The resulting polypseudorotaxane was purified by ultrafiltration using 1kDa microsep membrane, then lyophilization provide the final compound as a red solid.

PPR(Nat) 57

$\eta = 80\%$

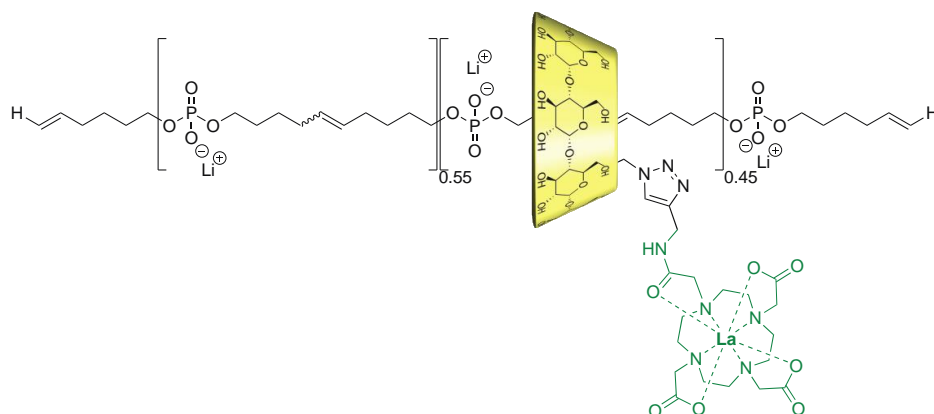
^1H NMR (600 MHz, D_2O) : δ 5.67-5.49 (m, 1H, H_e), 5.48-5.31 (m, 1H, $\text{H}_{e'}$), 5.11 (s, 6H, H_1), 4.07-3.79 (m, 28H, H_a , $\text{H}_{3/5/6}$), 3.78-3.61 (m, 12H, H_2 , H_4), 2.28-1.93 (m, 4H, H_{axe}), 1.92 (m, 4H, H_{axe}), 1.57-1.27 (m, 4H, H_{axe}).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O) : δ broad 1.28-0.27.

PPR(Bod) 58

^1H NMR (600 MHz, D_2O) : δ 8.41 (s, H_{bod}), 8.05 (s, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 7.44 (m, H_{bod}), 5.67-5.49 (m, 1H, H_e), 5.54-5.40 (m, H_{axe} , H_{bod}), 5.15 (m, H_{CD}), 4.28 – 3.77 (m, H_{axe} , H_{CD}), 3.76 – 3.34 (m, H_{CD}), 2.10-1.10 (m, H_{axe}).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O) : δ broad 1.25 - 0.25.

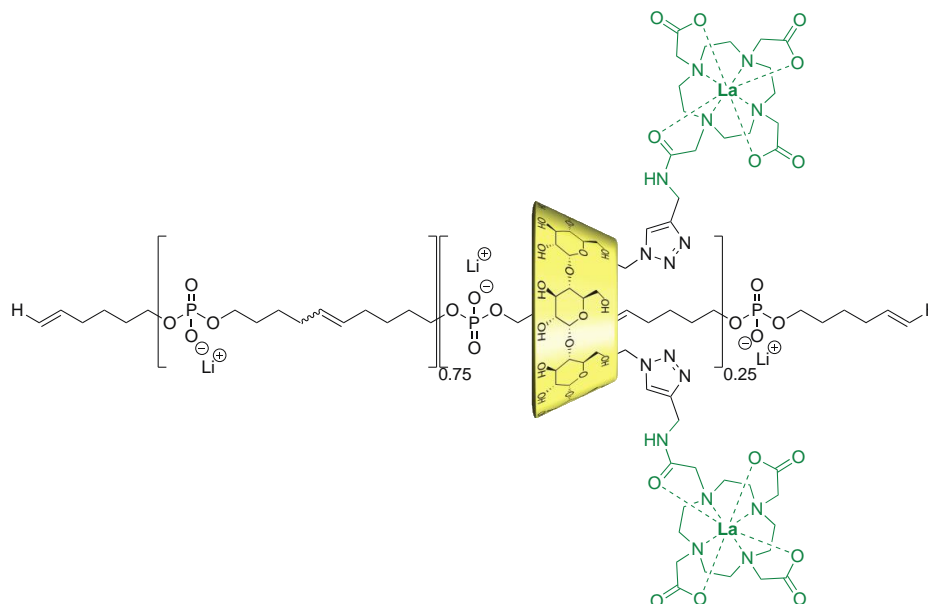
PPR(La) 59

$\eta = 100\%$

^1H NMR (600 MHz, D_2O) : δ 8.05 (s, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 5.67-5.49 (m, 1H, H_e), 5.48-5.31 (m, 1H, $\text{H}_{e'}$), 5.21-5.05 (m, H_{CD}), 4.04-3.78 (m, H_a , H_{CD}), 3.77-3.45 (m, H_{CD}), 3.44 – 2.40 (m, H_{CD}), 2.22-1.90 (m, H_{axe}), 1.89 – 1.54 (m, H_{axe}), 1.53-1.21 (m, H_{axe}).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O) : δ broad 1.25 - 0.25.

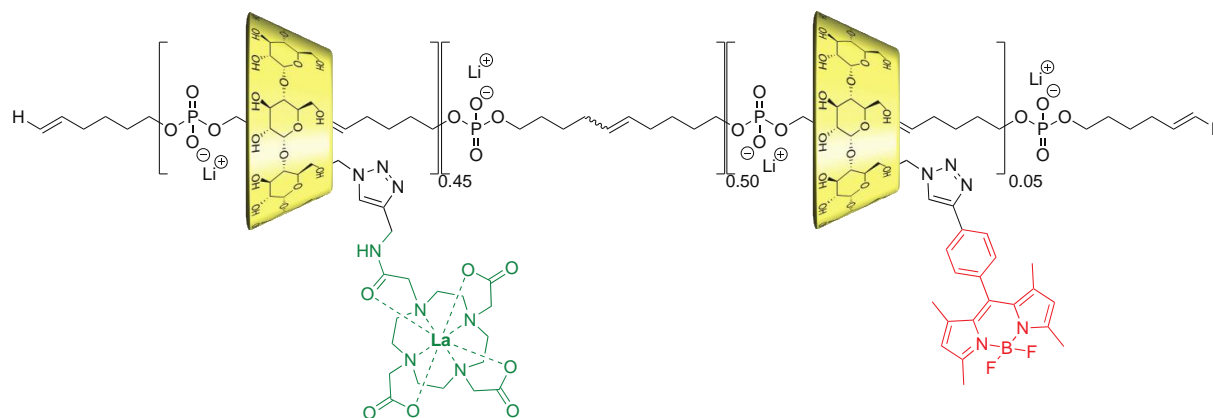
PPR(La₂) 60



^1H NMR (600 MHz, D_2O) : δ 8.05 (s, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 5.67-5.49 (m, 1H, H_e), 5.48-5.31 (m, 1H, $\text{H}_{e'}$), 5.21-5.05 (m, H_{CD}), 4.04-3.78 (m, H_a , H_{CD}), 3.77-3.45 (m, H_{CD}), 3.44 – 2.40 (m, H_{CD}), 2.22-1.90 (m, H_{axe}), 1.89 – 1.54 (m, H_{axe}), 1.53-1.21 (m, H_{axe}).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O) : δ broad 1.25 - 0.25.

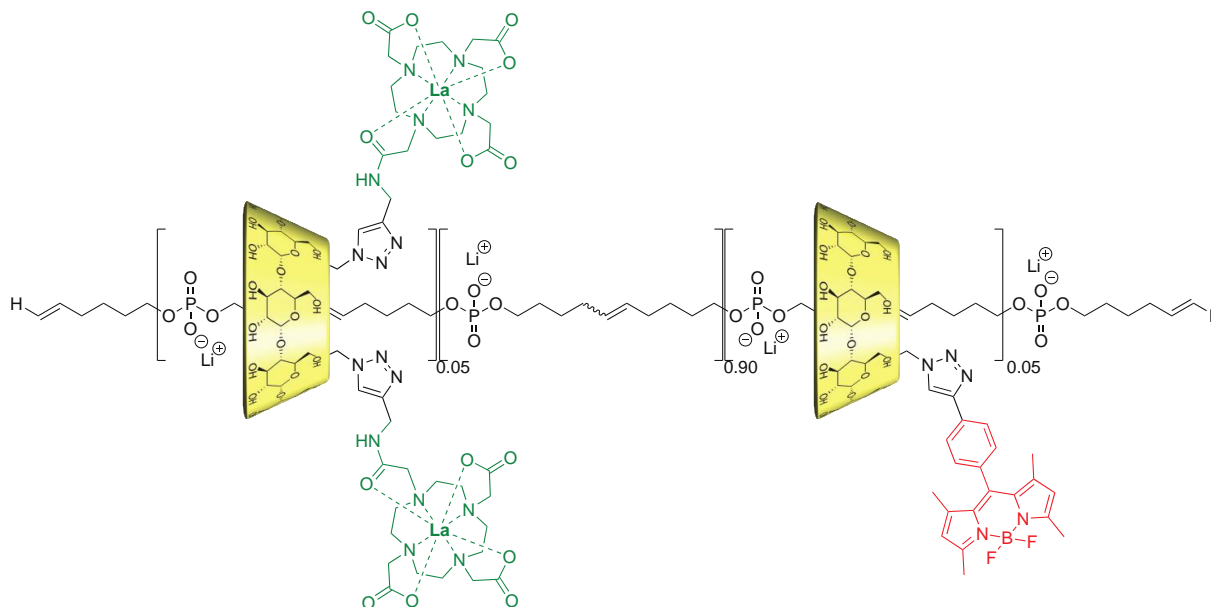
PPR(La/Bod) 61



^1H NMR (600 MHz, D_2O) : δ 8.41 (s, H_{bod}), 8.00 (s, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 7.44 (s, H_{bod}), 5.50 - 5.35 (H_{axe} , H_{CD}), 5.19 (H_1 , H_{CD}), 5.09 (H_1 , H_{CD}), 5.01 (H_1 , H_{CD}), 4.61 - 2.32 (H_{CD}), 2.16 - 1.91 (H_{axe}), 1.74 - 1.56 (H_{axe}), 1.49 - 1.26 (H_{axe}).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O) : δ broad 1.25 - 0.25.

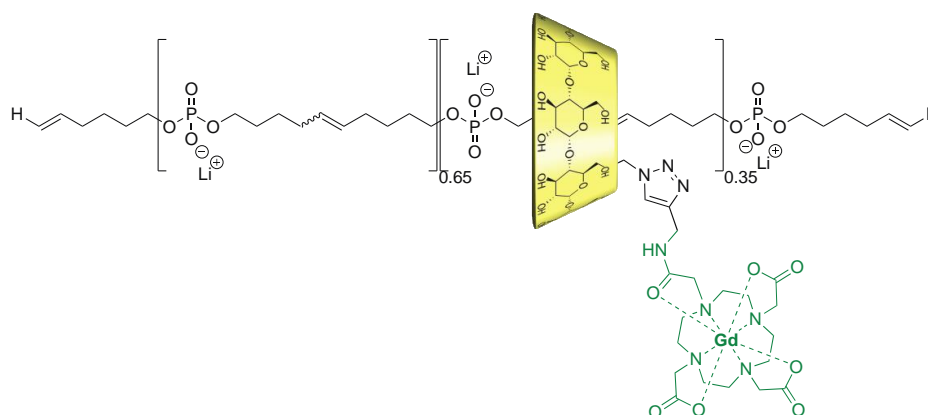
PPR(La_2/Bod) 62



^1H NMR (600 MHz, D_2O) : δ 8.41 (s, H_{bod}), 8.00 (s, $\text{H}_{\text{triazole}}$), 7.44 (s, H_{bod}), 5.51 - 5.36 (H_{axe} , H_{CD}), 5.19 (H_1 , H_{CD}), 5.09 (H_1 , H_{CD}), 5.01 (H_1 , H_{CD}), 4.61 - 2.32 (H_{CD}), 2.16 - 1.91 (H_{axe}), 1.74 - 1.56 (H_{axe}), 1.49 - 1.26 (H_{axe}).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (242 MHz, D_2O) : δ broad 1.25 - 0.25.

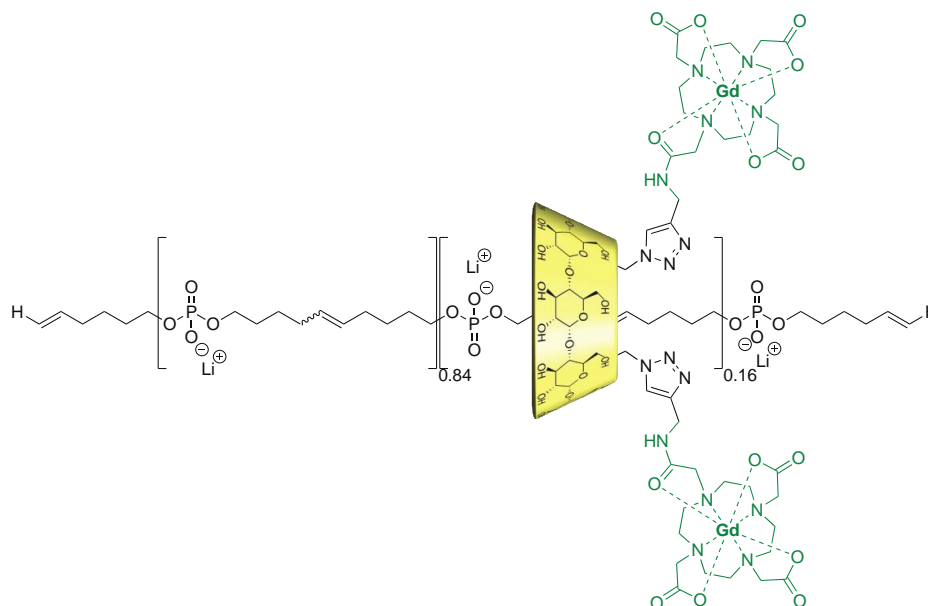
PPR(Gd) 63



$\eta = 95\%$

ICP-OES [Gd] : estimated concentration of 1.01 mM ; measured concentration of 0.69 mM

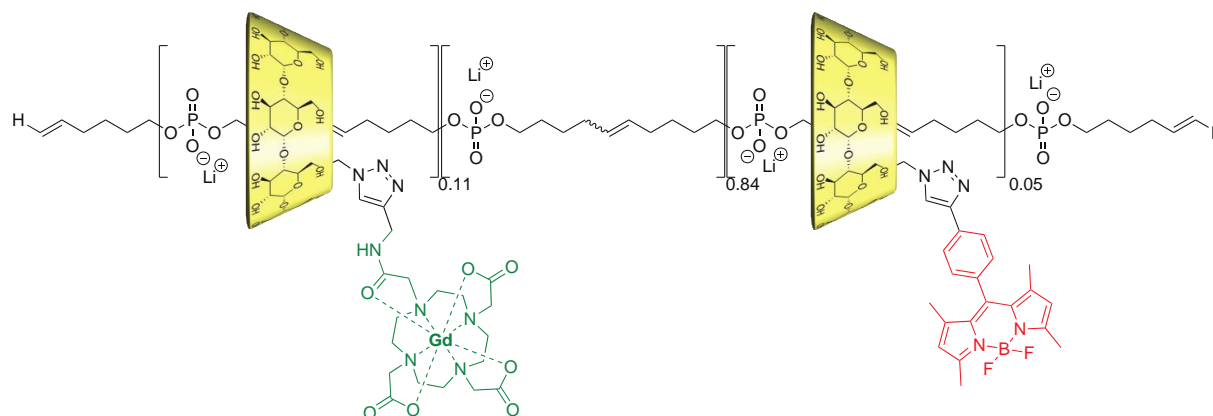
PPR(Gd₂) 64



$\eta = 96\%$

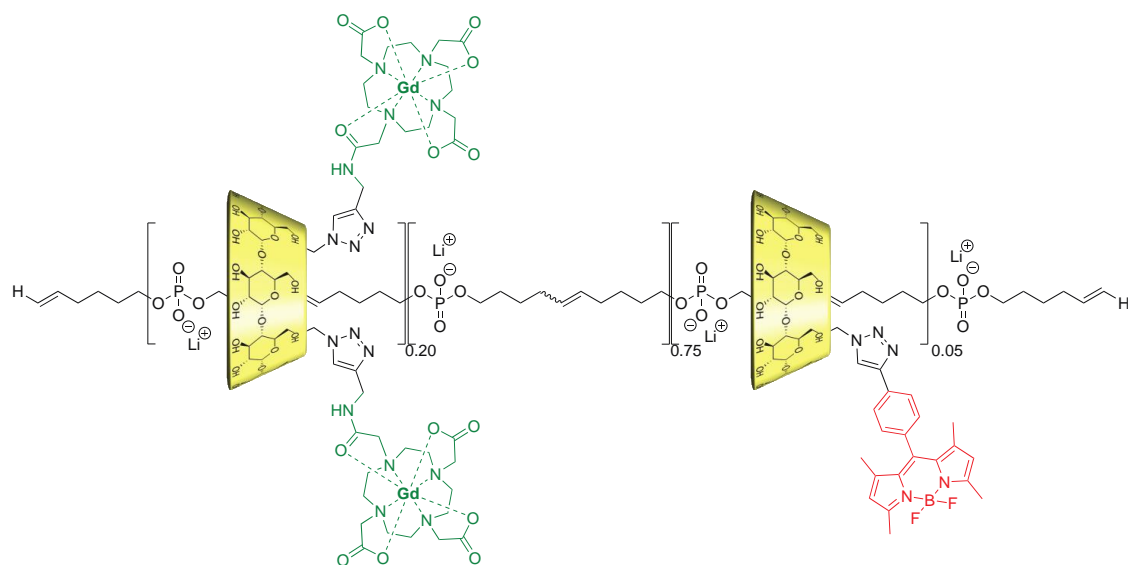
ICP-OES [Gd] : estimated concentration of 1.07 mM ; measured concentration of 0.65 mM

PPR(Gd/Bod) 65



$\eta = 92\%$

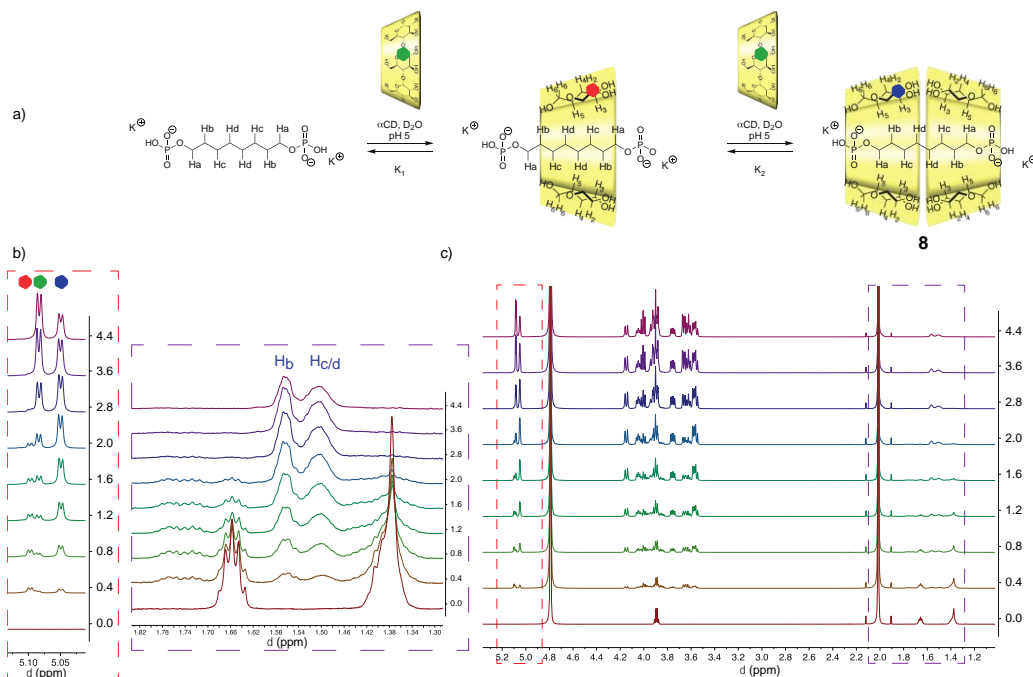
ICP-OES [Gd] : estimated concentration of 1.03 mM ; measured concentration of 0.18 mM

PPR(Gd₂/Bod) 66 $\eta = 90\%$

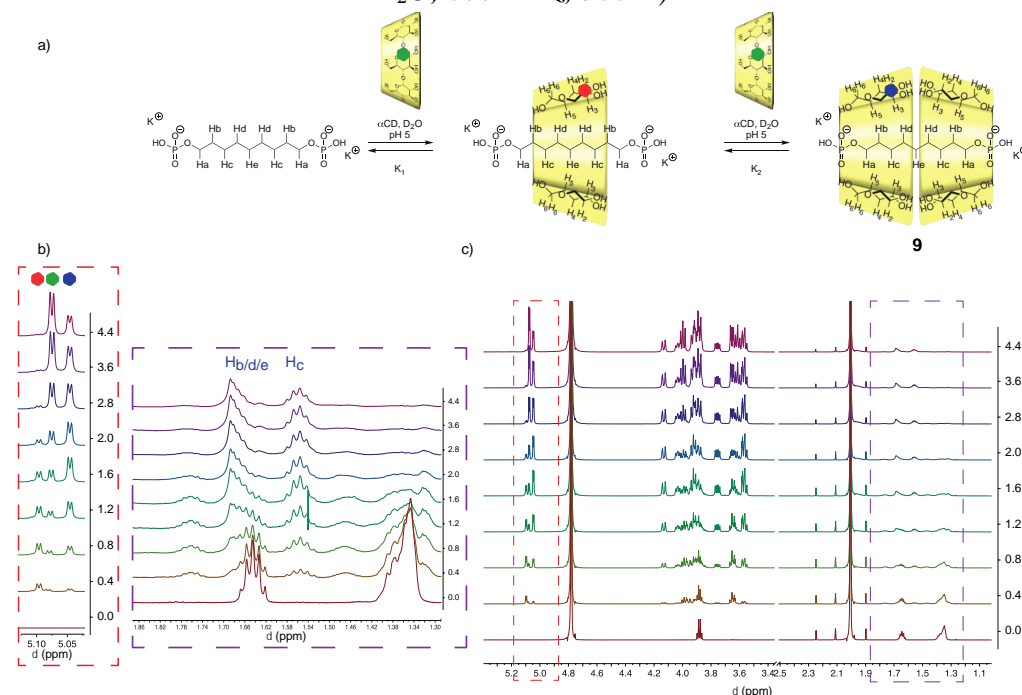
ICP-OES [Gd] : estimated concentration of 1.06 mM ; measured concentration of 0.19 mM

Annexes

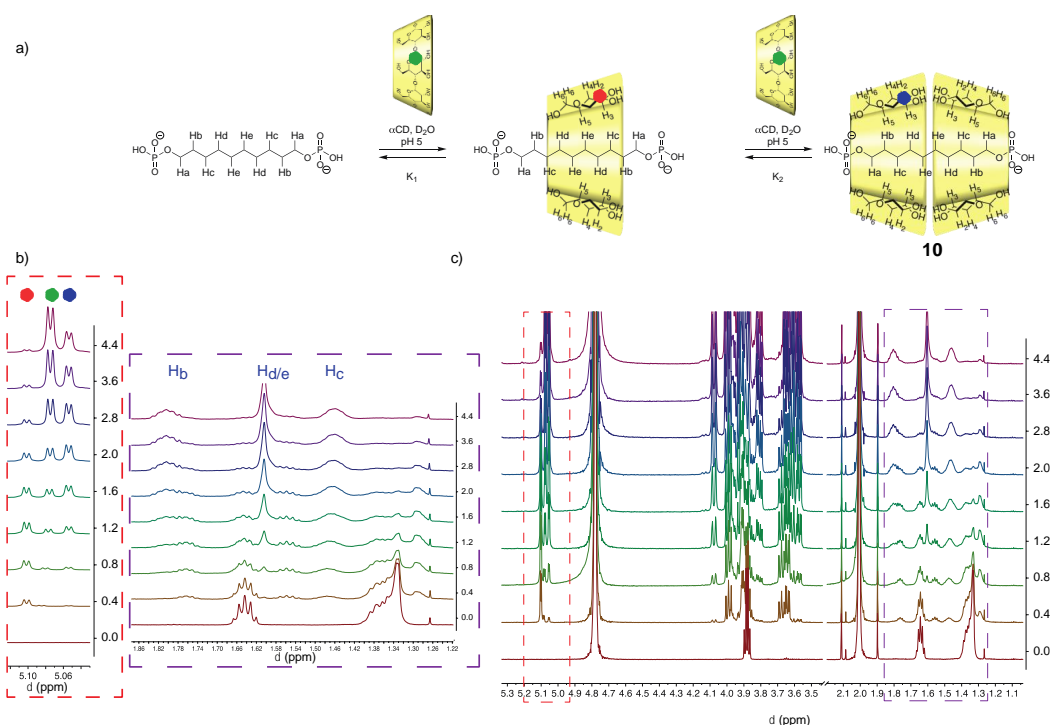
Dosage RMN des [3]pseudorotaxanes 8-10 et 12



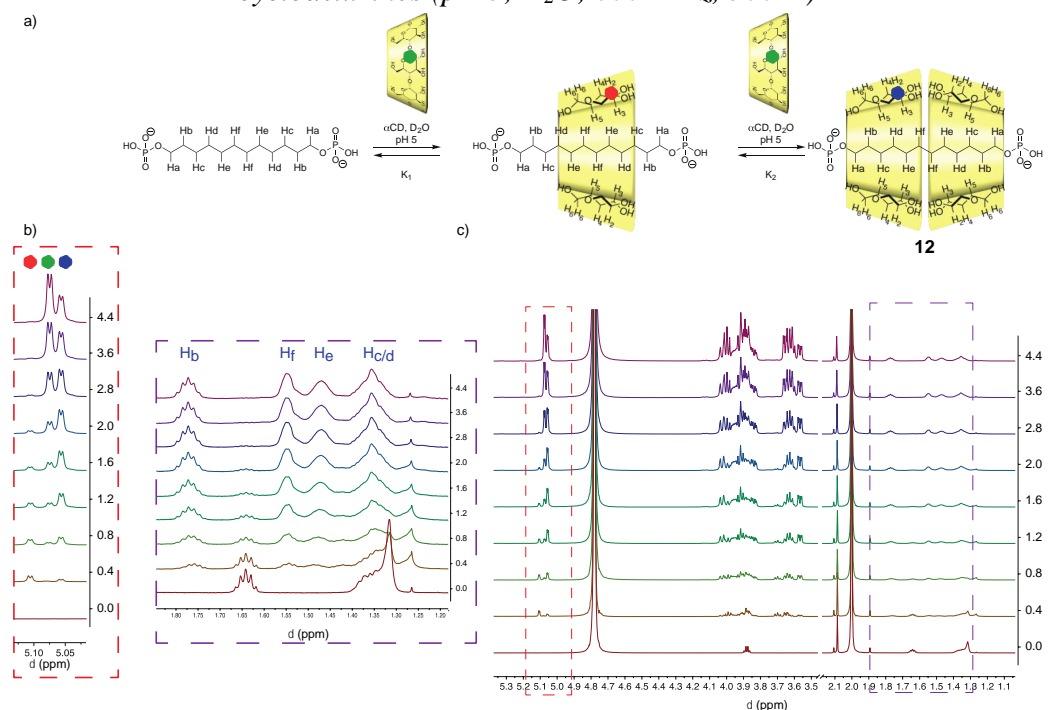
Annexe 1 : a) Équilibre de formation du [3]pseudorotaxane 8 avec l'axe C₈ ; b) zoom sur les signaux des protons de la cyclodextrine (à gauche), zoom sur les protons de l'axe (à droite) ; c) Évolution du spectre RMN ¹H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D₂O, 600 MHz, 300 K)



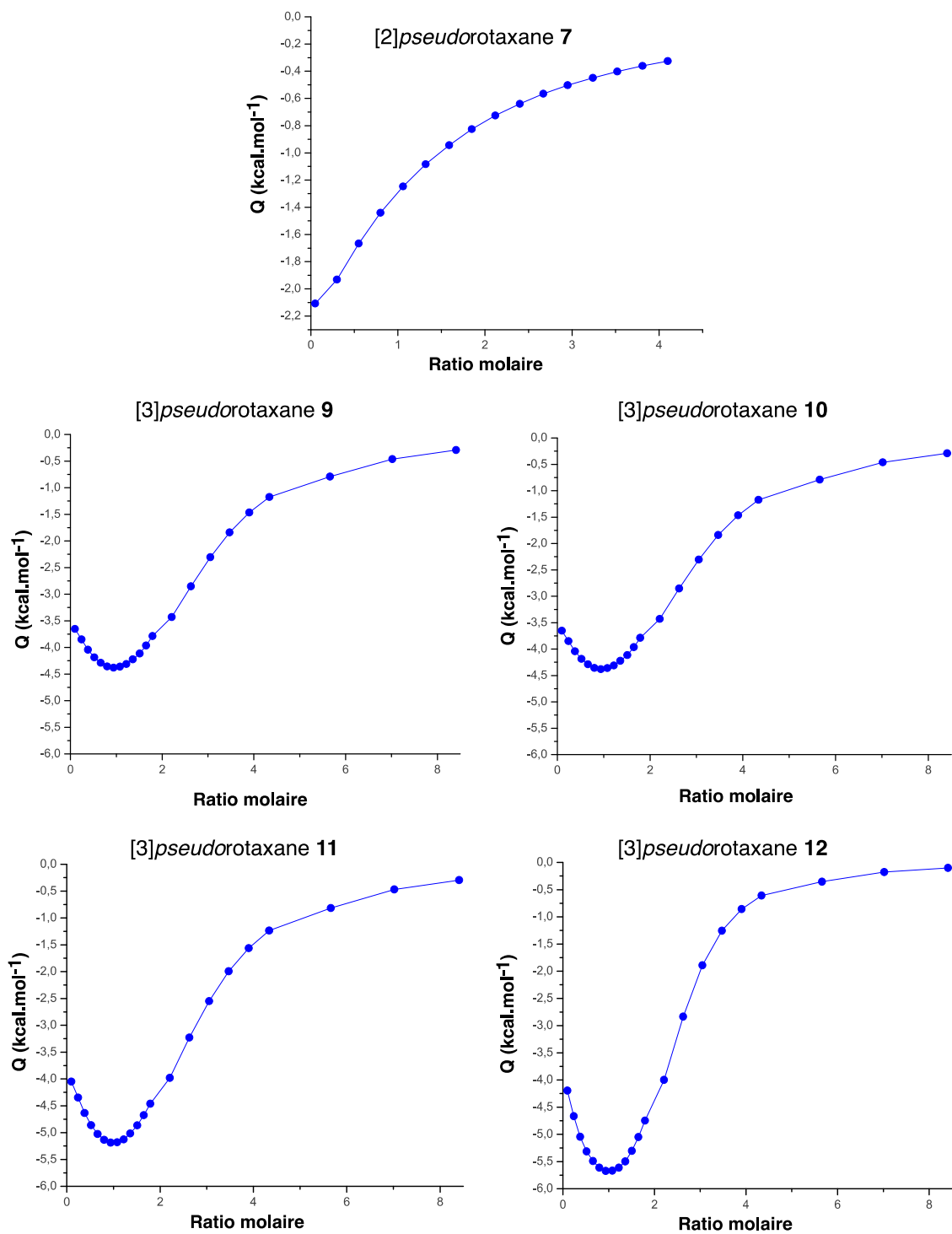
Annexe 2 : a) Équilibre de formation du [3]pseudorotaxane 9 avec l'axe C₉ ; b) zoom sur les signaux des protons de la cyclodextrine (à gauche), zoom sur les protons de l'axe (à droite) ; c) Évolution du spectre RMN ¹H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D₂O, 600 MHz, 300 K)



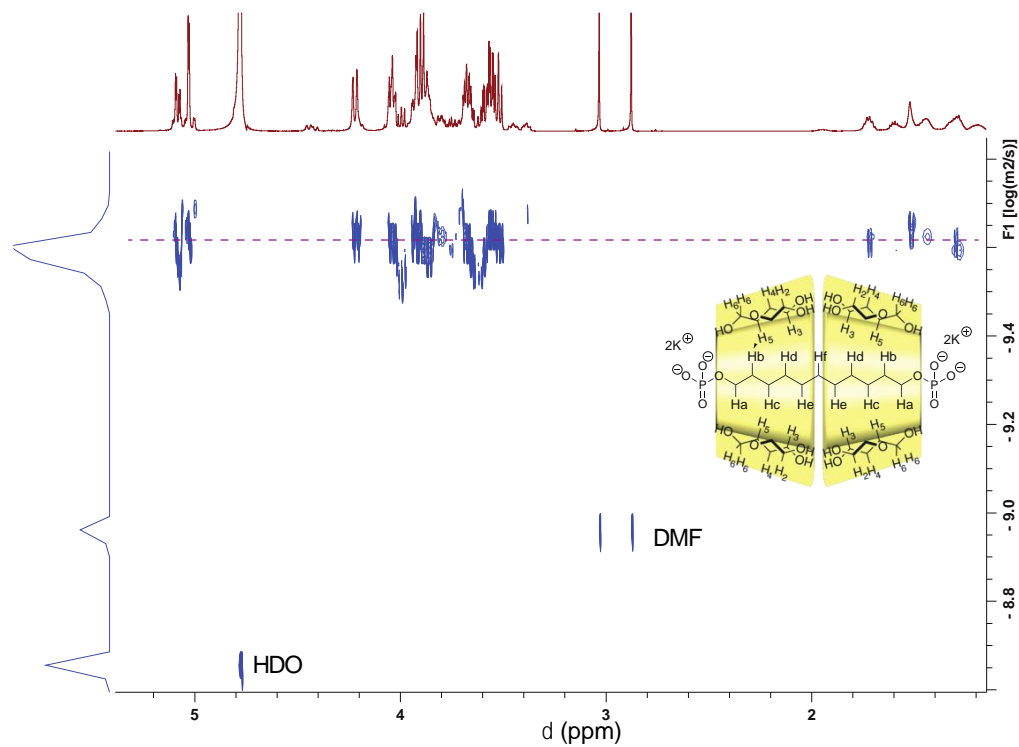
Annexe 3 : a) Équilibre de formation du [3]pseudorotaxane **10** avec l'axe C_{10} ; b) zoom sur les signaux des protons de la cyclodextrine (à gauche), zoom sur les protons de l'axe (à droite) ; c) Évolution du spectre RMN 1H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D_2O , 600 MHz, 300 K)



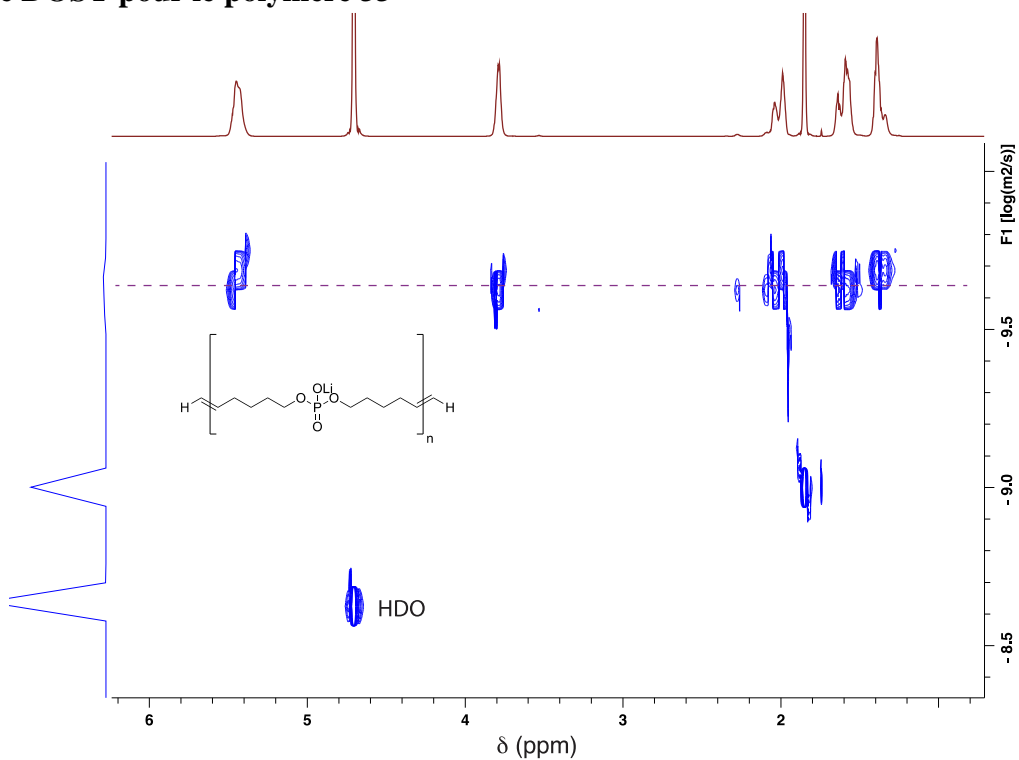
Annexe 4 : a) Équilibre de formation du [3]pseudorotaxane **12** avec l'axe C_{12} ; b) zoom sur les signaux des protons de la cyclodextrine (à gauche), zoom sur les protons de l'axe (à droite) ; c) Évolution du spectre RMN 1H en fonction du nombre d'équivalent de cyclodextrines (pH 5, D_2O , 600 MHz, 300 K)

Courbes ITC pour les [2]*pseudorotaxane* 7 et [3]*pseudorotaxanes* 9 à 12Annexe 5 : courbes ITC obtenues avec les axes C_6 ; C_9 ; C_{10} ; C_{11} ; C_{12} à pH 5

Spectre DOSY pour le [3]pseudorotaxane 11

Annexe 6 : Carte 2D DOSY obtenue avec le [3]pseudorotaxane C_{11} (pH 10, 600 MHz, 300 K)

Spectre DOSY pour le polymère 33

Annexe 7 : Carte 2D DOSY obtenue avec le [3]pseudorotaxane C_{11} (pH 10, 600 MHz, 300 K)

Liste des Abréviations

abs	absorption
Ac	Acétyle
ACN	Acétonitrile
ADMET	<i>Acyclic Diene METathesis</i>
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ar	Aromatique
ARN	Acide ribonucléique
AscNa	Ascorbate de sodium
BODIPY	Bore-dipyrométhène
BSA	<i>Bovin Serum Albumin</i>
CBPQT	cyclobis(paraquat- <i>p</i> -phenylene)
CD	Cyclodextrine
CI	Conversion Interne
CIS	Conversion Inter-Système
CuAAC	<i>Copper-catalyzed alkyne-azide cycloaddition</i>
Cy	Tricyclohexylphosphine
DBCO	dibenzocyclooctine
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
DIBAL-H	Diisobutylaluminium hydride
DLS	<i>Dynamic light scattering</i>
DMA	Diméthylacétamide
DMC	2-Chloro-1,3-diméthylimidazolium
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DOSY	<i>Diffusion ordered spectroscopy</i>
DOTA	<i>1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid</i>
DOX	Doxorubicine
DP	Degré de Polymérisation
DRX	Diffraction des rayons X
DTPA	<i>Diethylenetriaminopentaacetic acid</i>
EDC	1-Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
em	émission
éq	équivalent
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>

ex	Excitation
FITC	Isothiocyanate de fluorescéine
HOESY	<i>Heteronuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
HOPO	Hydroxypyridinonate
IC ₅₀	<i>Half maximal inhibitory concentration</i>
ICP-OES	<i>Inductive Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy</i>
Im	Imidazole
ImIm	2-Imidazolyl-1,3-diméthylimidazolium
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
ITC	<i>Isothermal Titration Calorimetry</i>
Ln	Lanthanide
MALDI	<i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation</i>
Mes	Mésityle
MTT	(3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-bromure de diphényltétrazolium)
NMRD	<i>Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion</i>
NOE	<i>Nuclear Overhauser Effect</i>
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PEG	Poly(éthylène glycol)
PHB	Poly(3-hydroxybutyrate)
PM-CD	<i>permethylated cyclodextrin</i>
PMDTA	N,N,N',N'',N''-Pentamethyldiethylenetriamine
ppm	Partie par million
PPO	Poly(<i>p</i> -phenylene oxide)
PPR	Polypseudorotaxane
PTX	Paclitaxel
RI	<i>Refraction Index</i>
rfx	reflux
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
rt	<i>room temperature</i>
S _N Ar	Substitution Nucléophile Aromatique
ta	temperature ambiante
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -butyle
TEA	Triéthylamine
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane

TMEDA	N,N,N',N'-tétraméthyléthylènediamine
TMS	Triméthylsilyle
TMSA	Triméthylsilylacétylène
TROESY	<i>Transverse Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>
TTF	Tétrathiafulvalène
UV	Ultra-Violet

Bibliographie

- (1) Philip, D. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*. By J.-M. Lehn, VCH, Weinheim 1995, Softcover, DM 58.00, ISBN 3-527-2931 1-6. *Adv. Mater.* **1996**, *8*, 866–868.
- (2) Laurence, C.; Berthelot, M. Observations on the Strength of Hydrogen Bonding. *Perspect. Drug Discov. Des.* **2000**, *18*, 39–60.
- (3) Southall, N. T.; Dill, K. A.; Haymet, A. D. J. A View of the Hydrophobic Effect. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 521–533.
- (4) Stoddart, J. F. Mechanically Interlocked Molecules (MIMs)—Molecular Shuttles, Switches, and Machines (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11094–11125.
- (5) Sauvage, J.-P. From Chemical Topology to Molecular Machines (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11080–11093.
- (6) Feringa, B. L. The Art of Building Small: From Molecular Switches to Motors (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11060–11078.
- (7) Dietrich-Buchecker, C. O.; Sauvage, J.-P. A Synthetic Molecular Trefoil Knot. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 189–192.
- (8) Wasserman, E. The preparation of interlocking rings: a catenane. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 4433–4434.
- (9) Dietrich-Buchecker, C. O.; Sauvage, J. P.; Kintzinger, J. P. Une nouvelle famille de molécules : les metallo-catenanes. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5095–5098.
- (10) Grubbs, R. H.; Miller, S. J.; Fu, G. C. Ring-Closing Metathesis and Related Processes in Organic Synthesis. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 446–452.
- (11) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
- (12) Crowley, J. D.; Goldup, S. M.; Lee, A.-L.; Leigh, D. A.; McBurney, R. T. Active Metal Template Synthesis of Rotaxanes, Catenanes and Molecular Shuttles. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1530–1541.
- (13) Romuald, C.; Coutrot, F. Combining Coordination Chemistry and Catalysis To Tie a Knot by an Active-Metal Template Strategy. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2544–2545.
- (14) Hutin, M.; Schalley, C. A.; Bernardinelli, G.; Nitschke, J. R. Helicate, Macrocycle, or Catenate: Dynamic Topological Control over Subcomponent Self-Assembly. *Chem. – Eur. J.* **2006**, *12*, 4069–4076.
- (15) Wu, C.; Lecavalier, P. R.; Shen, Y. X.; Gibson, H. W. Synthesis of a Rotaxane via the Template Method. *Chem. Mater.* **1991**, *3*, 569–572.
- (16) Sun, H.-L.; Zhang, H.-Y.; Dai, Z.; Han, X.; Liu, Y. Insights into the Difference Between Rotaxane and Pseudorotaxane. *Chem. – Asian J.* **2017**, *12*, 265–270.
- (17) Harrison, I. Thomas.; Harrison, Shuyen. Synthesis of a Stable Complex of a Macrocycle and a Threaded Chain. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5723–5724.
- (18) Kim, H.; Goddard, W. A.; Jang, S. S.; Dichtel, W. R.; Heath, J. R.; Stoddart, J. F. Free Energy Barrier for Molecular Motions in Bistable [2]Rotaxane Molecular Electronic Devices. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 2136–2143.
- (19) Milev, R.; Lopez-Pacheco, A.; Nierengarten, I.; Trinh, T. M. N.; Holler, M.; Deschenaux, R.; Nierengarten, J.-F. Preparation of Pillar[5]Arene-Based [2]Rotaxanes from Acyl Chlorides and Amines. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 479–485.

- (20) Berná, J.; Goldup, S. M.; Lee, A.-L.; Leigh, D. A.; Symes, M. D.; Teobaldi, G.; Zerbetto, F. Cadiot–Chodkiewicz Active Template Synthesis of Rotaxanes and Switchable Molecular Shuttles with Weak Intercomponent Interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4392–4396.
- (21) Busseron, E.; Romuald, C.; Coutrot, F. Bistable or Oscillating State Depending on Station and Temperature in Three-Station Glycorotaxane Molecular Machines. *Chem. – Eur. J.* **2010**, *16*, 10062–10073.
- (22) Kohsaka, Y.; Konishi, G.; Takata, T. Synthesis of A Main Chain-Type Polyrotaxane Consisting of Poly(Crown Ether) and Sec -Ammonium Salt Axle and Its Application to Polyrotaxane Network. *Polym. J.* **2007**, *39*, 861–873.
- (23) Harada, A.; Li, J.; Kamachi, M. The Molecular Necklace: A Rotaxane Containing Many Threaded α -Cyclodextrins. *Nature* **1992**, *356*, 325–327.
- (24) Cantrill, S. J.; Youn, G. J.; Stoddart, J. F.; Williams, D. J. Supramolecular Daisy Chains. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6857–6872.
- (25) Oku, T.; Furusho, Y.; Takata, T. First Poly[3]Rotaxane Synthesized through the Noncovalent Step-Growth Polymerization of a Homoditopic Dumbbell Compound and a Macrocycle with a Reversible Thiol–Disulfide Interchange Reaction. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2003**, *41*, 119–123.
- (26) Wenz, G.; Han, B.-H.; Müller, A. Cyclodextrin Rotaxanes and Polyrotaxanes. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 782–817.
- (27) Hashidzume, A.; Yamaguchi, H.; Harada, A. Cyclodextrin-Based Rotaxanes: From Rotaxanes to Polyrotaxanes and Further to Functional Materials. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 3344–3357.
- (28) Ogino, H. Relatively High-Yield Syntheses of Rotaxanes. Syntheses and Properties of Compounds Consisting of Cyclodextrins Threaded by α -, ω -Diaminoalkanes Coordinated to Cobalt(III) Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 1303–1304.
- (29) Self-assembling metal rotaxane complexes of α -cyclodextrin | Journal of the American Chemical Society.
- (30) Shukla, A. D.; Bajaj, H. C.; Das, A. β -Cyclodextrin-Assisted Intervalence Charge Transfer in Mixed-Valent [2]Rotaxane Complexes Having Metal Centers Linked by an Interrupted π -Electron System. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2001**, *40*, 446–448.
- (31) Isnin, R.; Kaifer, A. E. Novel Class of Asymmetric Zwitterionic Rotaxanes Based on α -Cyclodextrin. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8188–8190.
- (32) Harada, A.; Li, J.; Kamachi, M. Non-Ionic [2]Rotaxanes Containing Methylated α -Cyclodextrins. *Chem. Commun.* **1997**, *15*, 1413–1414.
- (33) Craig, M. R.; Claridge, T. D. W.; Anderson, H. L.; Hutchings, M. G. Synthesis of a Cyclodextrin Azo Dye [3]Rotaxane as a Single Isomer. *Chem. Commun.* **1999**, *16*, 1537–1538.
- (34) Onagi, H.; Blake, C. J.; Easton, C. J.; Lincoln, S. F. Installation of a Ratchet Tooth and Pawl To Restrict Rotation in a Cyclodextrin Rotaxane. *Chem. – Eur. J.* **2003**, *9*, 5978–5988.
- (35) Akae, Y.; Okamura, H.; Koyama, Y.; Arai, T.; Takata, T. Selective Synthesis of a [3]Rotaxane Consisting of Size-Complementary Components and Its Stepwise Deslippage. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2226–2229.
- (36) Zhao, Y.-L.; Dichtel, W. R.; Trabolsi, A.; Saha, S.; Aprahamian, I.; Stoddart, J. F. A Redox-Switchable α -Cyclodextrin-Based [2]Rotaxane. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11294–11296.

- (37) Wang, S.; Zhao, T.; Shao, X.; Chipot, C.; Cai, W. Complex Movements in Rotaxanes: Shuttling Coupled with Conformational Transition of Cyclodextrins. *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 19479–19486.
- (38) Dawson, R. E.; Lincoln, S. F.; Easton, C. J. The Foundation of a Light Driven Molecular Muscle Based on Stilbene and α -Cyclodextrin. *Chem. Commun.* **2008**, *34*, 3980–3982.
- (39) Harada, A.; Kamachi, M. Complex Formation between Poly(Ethylene Glycol) and α -Cyclodextrin. *Macromolecules* **1990**, *23*, 2821–2823.
- (40) Ooya, T.; Mori, H.; Terano, M.; Yui, N. Synthesis of a Biodegradable Polymeric Supramolecular Assembly for Drug Delivery. *Macromol. Rapid Commun.* **1995**, *16*, 259–263.
- (41) Fujita, H.; Ooya, T.; Kurisawa, M.; Mori, H.; Terano, M.; Yui, N. Thermally Switchable Polyrotaxane as a Model of Stimuli-Responsive Supramolecules for Nano-Scale Devices. *Macromol. Rapid Commun.* **1996**, *17*, 509–515.
- (42) Fujita, H.; Ooya, T.; Yui, N. Synthesis and Characterization of a Polyrotaxane Consisting of β -Cyclodextrins and a Poly(Ethylene Glycol)-Poly(Propylene Glycol) Triblock Copolymer. *Macromol. Chem. Phys.* **1999**, *200*, 706–713.
- (43) Harada, A.; Li, J.; Kamachi, M. The Molecular Necklace: A Rotaxane Containing Many Threaded α -Cyclodextrins. *Nature* **1992**, *356*, 325–327.
- (44) Arai, T.; Takata, T. One-Pot Synthesis of Main Chain-Type Polyrotaxane Containing Cyclodextrin Wheels. *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 418–419.
- (45) Wenz, G. Cyclodextrins as Building Blocks for Supramolecular Structures and Functional Units. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 803–822.
- (46) Takashima, Y.; Sakamoto, K.; Oizumi, Y.; Yamaguchi, H.; Kamitori, S.; Harada, A. Complex Formation of Cyclodextrins with Various Thiophenes and Their Polymerization in Water: Preparation of Poly-Pseudo-Rotaxanes Containing Poly(Thiophene)s. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2006**, *56*, 45–53.
- (47) Hilschmann, J.; Kali, G.; Wenz, G. Rotaxanation of Polyisoprene to Render It Soluble in Water. *Macromolecules* **2017**, *50*, 1312–1318.
- (48) Weissleder, R.; Pittet, M. J. Imaging in the Era of Molecular Oncology. *Nature* **2008**, *452*, 580–589.
- (49) Tóth, É.; Helm, L.; Merbach, A. E. Relaxivity of MRI Contrast Agents. In *Contrast Agents I: Magnetic Resonance Imaging*; Krause, W., Ed.; Topics in Current Chemistry; Springer: Berlin, Heidelberg, **2002**, 61–101.
- (50) Gupta, A. K.; Gupta, M. Synthesis and Surface Engineering of Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Biomaterials* **2005**, *26*, 3995–4021.
- (51) Hermann, P.; Kotek, J.; Kubíček, V.; Lukeš, I. Gadolinium(III) Complexes as MRI Contrast Agents: Ligand Design and Properties of the Complexes. *Dalton Trans.* **2008**, *23*, 3027–3047.
- (52) Micskei, K.; Powell, D. H.; Helm, L.; Brücher, E.; Merbach, A. E. Water Exchange on [Gd(H₂O)₈]³⁺ and [Gd(PDTA)(H₂O)₂]⁻ in Aqueous Solution: A Variable-Pressure, -Temperature and -Magnetic Field 17O NMR Study. *Magn. Reson. Chem.* **1993**, *31*, 1011–1020.
- (53) Champagne, P.-L.; Barbot, C.; Zhang, P.; Han, X.; Gaamoussi, I.; Hubert-Roux, M.; Bertolesi, G. E.; Gouhier, G.; Ling, C.-C. Synthesis and Unprecedented Complexation Properties of β -Cyclodextrin-Based Ligand for Lanthanide Ions. *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 8964–8977.

- (54) Song, Y.; Kohlmeir, E. K.; Meade, T. J. Synthesis of Multimeric MR Contrast Agents for Cellular Imaging. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6662–6663.
- (55) Lavis, L. D.; Raines, R. T. Bright Building Blocks for Chemical Biology. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 855–866.
- (56) Moore, G. E.; Peyton, W. T. The Clinical Use of Fluorescein in Neurosurgery; the Localization of Brain Tumors. *J. Neurosurg.* **1948**, *5*, 392–398.
- (57) Kobayashi, H.; Ogawa, M.; Alford, R.; Choyke, P. L.; Urano, Y. New Strategies for Fluorescent Probe Design in Medical Diagnostic Imaging. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2620–2640.
- (58) Jöbsis, F. F. Noninvasive, Infrared Monitoring of Cerebral and Myocardial Oxygen Sufficiency and Circulatory Parameters. *Science* **1977**, *198*, 1264–1267.
- (59) Louie, A. Multimodality Imaging Probes: Design and Challenges. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3146–3195.
- (60) Florès, O.; Pliquet, J.; Abad Galan, L.; Lescure, R.; Denat, F.; Maury, O.; Pallier, A.; Bellaye, P.-S.; Collin, B.; Mème, S.; Bonnet, C. S.; Bodio, E.; Goze, C. Aza-BODIPY Platform: Toward an Efficient Water-Soluble Bimodal Imaging Probe for MRI and Near-Infrared Fluorescence. *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 1306–1314.
- (61) Rivas, C.; Stasiuk, G. J.; Gallo, J.; Minuzzi, F.; Rutter, G. A.; Long, N. J. Lanthanide(III) Complexes of Rhodamine–DO3A Conjugates as Agents for Dual-Modal Imaging. *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 14284–14293.
- (62) Zheng, J.; Liu, J.; Dunne, M.; Jaffray, D. A.; Allen, C. In Vivo Performance of a Liposomal Vascular Contrast Agent for CT and MR-Based Image Guidance Applications. *Pharm. Res.* **2007**, *24*, 1193–1201.
- (63) Zheng, J.; Perkins, G.; Kirilova, A.; Allen, C.; Jaffray, D. A. Multimodal Contrast Agent for Combined Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging Applications. *Invest. Radiol.* **2006**, *41*, 339–348.
- (64) Lonez, C.; Vandenbranden, M.; Ruyschaert, J.-M. Cationic Liposomal Lipids: From Gene Carriers to Cell Signaling. *Prog. Lipid Res.* **2008**, *47*, 340–347.
- (65) Mikhaylova, M.; Stasinopoulos, I.; Kato, Y.; Artemov, D.; Bhujwalla, Z. M. Imaging of Cationic Multifunctional Liposome-Mediated Delivery of COX-2 siRNA. *Cancer Gene Ther.* **2009**, *16*, 217–226.
- (66) Vuu, K.; Xie, J.; McDonald, M. A.; Bernardo, M.; Hunter, F.; Zhang, Y.; Li, K.; Bednarski, M.; Guccione, S. Gadolinium-Rhodamine Nanoparticles for Cell Labeling and Tracking via Magnetic Resonance and Optical Imaging. *Bioconjug. Chem.* **2005**, *16*, 995–999.
- (67) Gopalakrishnan, G.; Danelon, C.; Izewska, P.; Prummer, M.; Bolinger, P.-Y.; Geissbühler, I.; Demurtas, D.; Dubochet, J.; Vogel, H. Multifunctional Lipid/Quantum Dot Hybrid Nanocontainers for Controlled Targeting of Live Cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5478–5483.
- (68) Lijowski, M.; Caruthers, S.; Hu, G.; Zhang, H.; Scott, M. J.; Williams, T.; Erpelding, T.; Schmieder, A. H.; Kiefer, G.; Gulyas, G.; Athey, P. S.; Gaffney, P. J.; Wickline, S. A.; Lanza, G. M. High-Resolution SPECT-CT/MR Molecular Imaging of Angiogenesis in the Vx2 Model. *Invest. Radiol.* **2009**, *44*, 15–22.
- (69) Mulder, W. J. M.; Strijkers, G. J.; Griffioen, A. W.; van Bloois, L.; Molema, G.; Storm, G.; Koning, G. A.; Nicolay, K. A Liposomal System for Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging of Molecular Targets. *Bioconjug. Chem.* **2004**, *15*, 799–806.

- (70) Araki, J.; Ito, K. Recent Advances in the Preparation of Cyclodextrin-Based Polyrotaxanes and Their Applications to Soft Materials. *Soft Matter* **2007**, *3*, 1456–1473.
- (71) Loethen, S.; Kim, J.-M.; Thompson, D. H. Biomedical Applications of Cyclodextrin Based Polyrotaxanes. *Polym. Rev.* **2007**, *47*, 383–418.
- (72) Li, J. J.; Zhao, F.; Li, J. Polyrotaxanes for Applications in Life Science and Biotechnology. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *90*, 427–443.
- (73) Yui, N.; Katoono, R.; Yamashita, A. Functional Cyclodextrin Polyrotaxanes for Drug Delivery. In *Inclusion Polymers*; Wenz, G., Ed.; Advances in Polymer Science; Springer: Berlin, Heidelberg, **2009**, 115–173.
- (74) Li, J.; Harada, A.; Kamachi, M. Sol–Gel Transition during Inclusion Complex Formation between α -Cyclodextrin and High Molecular Weight Poly(Ethylene Glycol)s in Aqueous Solution. *Polym. J.* **1994**, *26*, 1019–1026.
- (75) Zhang, J.; Ma, P. X. Cyclodextrin-Based Supramolecular Systems for Drug Delivery: Recent Progress and Future Perspective. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65*, 1215–1233.
- (76) Li, J.; Ni, X.; Leong, K. W. Injectable Drug-Delivery Systems Based on Supramolecular Hydrogels Formed by Poly(Ethylene Oxide)s and Alpha-Cyclodextrin. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2003**, *65*, 196–202.
- (77) Li, J.; Li, X.; Ni, X.; Wang, X.; Li, H.; Leong, K. W. Self-Assembled Supramolecular Hydrogels Formed by Biodegradable PEO–PHB–PEO Triblock Copolymers and α -Cyclodextrin for Controlled Drug Delivery. *Biomaterials* **2006**, *27*, 4132–4140.
- (78) Wang, Y.-C.; Tang, L.-Y.; Sun, T.-M.; Li, C.-H.; Xiong, M.-H.; Wang, J. Self-Assembled Micelles of Biodegradable Triblock Copolymers Based on Poly(Ethyl Ethylene Phosphate) and Poly(ϵ -Caprolactone) as Drug Carriers. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 388–395.
- (79) Domiński, A.; Konieczny, T.; Kurcok, P. α -Cyclodextrin-Based Polypseudorotaxane Hydrogels. *Materials* **2019**, *13*.
- (80) Li, F.; He, J.; Zhang, M.; Tam, K. C.; Ni, P. Injectable Supramolecular Hydrogels Fabricated from PEGylated Doxorubicin Prodrug and α -Cyclodextrin for PH-Triggered Drug Delivery. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 54658–54666.
- (81) Dai, L.; Liu, K.; Wang, L.; Liu, J.; He, J.; Liu, X.; Lei, J. Injectable and Thermosensitive Supramolecular Hydrogels by Inclusion Complexation between Binary-Drug Loaded Micelles and α -Cyclodextrin. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *76*, 966–974.
- (82) Li, L.; Scheiger, J. M.; Levkin, P. A. Design and Applications of Photoresponsive Hydrogels. *Adv. Mater.* **2019**, *31*, 1807333.
- (83) Ooya, T.; Yui, N. Synthesis of Theophylline–Polyrotaxane Conjugates and Their Drug Release via Supramolecular Dissociation. *J. Controlled Release* **1999**, *58*, 251–269.
- (84) Moon, C.; Kwon, Y. M.; Lee, W. K.; Park, Y. J.; Yang, V. C. In Vitro Assessment of a Novel Polyrotaxane-Based Drug Delivery System Integrated with a Cell-Penetrating Peptide. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* **2007**, *124*, 43–50.
- (85) Higashi, T.; Iohara, D.; Motoyama, K.; Arima, H. Supramolecular Pharmaceutical Sciences: A Novel Concept Combining Pharmaceutical Sciences and Supramolecular Chemistry with a Focus on Cyclodextrin-Based Supermolecules. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2018**, *66*, 207–216.
- (86) Higashi, T. Cyclodextrin-Based Molecular Accessories for Drug Discovery and Drug Delivery. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2019**, *67*, 289–298.

- (87) Yokoyama, N.; Seo, J.-H.; Tamura, A.; Sasaki, Y.; Yui, N. Tailoring the Supramolecular Structure of Aminated Polyrotaxanes Toward Enhanced Cellular Internalization. *Macromol. Biosci.* **2014**, *14*, 359–368.
- (88) Tamura, A.; Yui, N. Polyrotaxane-Based Systemic Delivery of β -Cyclodextrins for Potentiating Therapeutic Efficacy in a Mouse Model of Niemann-Pick Type C Disease. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* **2018**, *269*, 148–158.
- (89) Tamura, A.; Tonegawa, A.; Arisaka, Y.; Yui, N. Versatile Synthesis of End-Reactive Polyrotaxanes Applicable to Fabrication of Supramolecular Biomaterials. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 2883–2892.
- (90) Mondjinou, Y. A.; Loren, B. P.; Collins, C. J.; Hyun, S.-H.; Demoret, A.; Skulsky, J.; Chaplain, C.; Badwaik, V.; Thompson, D. H. Gd³⁺:DOTA-Modified 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin/4-Sulfobutyl Ether- β -Cyclodextrin-Based Polyrotaxanes as Long Circulating High Relaxivity MRI Contrast Agents. *Bioconjug. Chem.* **2018**, *29*, 3550–3560.
- (91) Yu, S.; Zhang, Y.; Wang, X.; Zhen, X.; Zhang, Z.; Wu, W.; Jiang, X. Synthesis of Paclitaxel-Conjugated β -Cyclodextrin Polyrotaxane and Its Antitumor Activity. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7272–7277.
- (92) Fredy, J. W. Polyrotaxanes de Cyclodextrines Pour l'imagerie Bimodale. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2013.
- (93) Scelle, J. Polyrotaxanes de Cyclodextrines Pour Des Applications Biomédicales. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016.
- (94) Fredy, J. W.; Scelle, J.; Guenet, A.; Morel, E.; Adam de Beaumais, S.; Ménand, M.; Marvaud, V.; Bonnet, C. S.; Tóth, E.; Sollogoub, M.; Vives, G.; Hasenknopf, B. Cyclodextrin Polyrotaxanes as a Highly Modular Platform for the Development of Imaging Agents. *Chem. – Eur. J.* **2014**, *20*, 10915–10920.
- (95) Fredy, J. W.; Scelle, J.; Ramniceanu, G.; Doan, B.-T.; Bonnet, C. S.; Tóth, É.; Ménand, M.; Sollogoub, M.; Vives, G.; Hasenknopf, B. Mechanostereoselective One-Pot Synthesis of Functionalized Head-to-Head Cyclodextrin [3]Rotaxanes and Their Application as Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 1136–1139.
- (96) Merbach, A. E.; Tóth, É.; Helm, L. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; Wiley: Chichester, West Sussex, 2013.
- (97) Sherstyuk, Y. V.; Abramova, T. V. How To Form a Phosphate Anhydride Linkage in Nucleotide Derivatives. *ChemBioChem* **2015**, *16*, 2562–2570.
- (98) Lu, Q.; Ubillas, R. P.; Zhou, Y.; Dubenko, L. G.; Dener, J. M.; Litvak, J.; Phuan, P.-W.; Flores, M.; Ye, Z.; Gerber, R. E.; Truong, T.; Bierer, D. E. Synthetic Analogues of Irlbacholine: A Novel Antifungal Plant Metabolite Isolated from *Irlbachia Alata*. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 824–828.
- (99) Grison, C.; Barthes, N.; Finance, C.; Duval, R. E. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel Enolphosphate Derivatives. *Bioorganic Chem.* **2010**, *38*, 218–223.
- (100) Achmatowicz, M. M.; Thiel, O. R.; Colyer, J. T.; Hu, J.; Elipe, M. V. S.; Tomaskevitch, J.; Tedrow, J. S.; Larsen, R. D. Hydrolysis of Phosphoryl Trichloride (POCl₃): Characterization, in Situ Detection, and Safe Quenching of Energetic Metastable Intermediates. *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 1490–1500.
- (101) Rekharsky, M. V.; Inoue, Y. Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1875–1918.

- (102) Nagaraju, M.; Sastry, G. N. Theoretical Studies on Inclusion Complexes of Cyclodextrins. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 9533–9542.
- (103) Thordarson, P. Determining Association Constants from Titration Experiments in Supramolecular Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1305–1323.
- (104) Holdgate, G. A.; Ward, W. H. J. Measurements of Binding Thermodynamics in Drug Discovery. *Drug Discov. Today* **2005**, *10*, 1543–1550.
- (105) Avram, L.; Cohen, Y. Complexation in Pseudorotaxanes Based on α -Cyclodextrin and Different α,ω -Diaminoalkanes by NMR Diffusion Measurements. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2639–2644.
- (106) Hunter, C. A.; Anderson, H. L. What Is Cooperativity? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7488–7499.
- (107) Ward, W. H. J.; Holdgate, G. A. 7 Isothermal Titration Calorimetry in Drug Discovery. In *Progress in Medicinal Chemistry*; King, F. D., Oxford, A. W., Eds.; Elsevier, **2001**, *38*, 309–376.
- (108) Bastos, M.; Briggner, L.-E.; Shehatta, I.; Wadsö, I. The Binding of Alkane- α,ω -Diols to α -Cyclodextrin. A Microcalorimetric Study. *J. Chem. Thermodyn.* **1990**, *22*, 1181–1190.
- (109) Buschmann, H.-J.; Mutihac, L.; Schollmeyer, E. 11-Aminoundecanoic Acid, Cyclodextrins (α , β) and Cucurbit[n]Urils ($n = 6, 7$) as Building Blocks for Supramolecular Assemblies: A Thermodynamic Study. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2006**, *56*, 363–368.
- (110) Eliadou, K.; Yannakopoulou, K.; Rontoyianni, A.; Mavridis, I. M. NMR Detection of Simultaneous Formation of [2]- and [3]Pseudorotaxanes in Aqueous Solution between α -Cyclodextrin and Linear Aliphatic α,ω -Amino Acids, an α,ω -Diamine and an α,ω -Diacid of Similar Length, and Comparison with the Solid-State Structures. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6217–6226.
- (111) Morris, K. F.; Johnson, C. S. Diffusion-Ordered Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3139–3141.
- (112) Bojinova, T.; Gornitzka, H.; Lauth-de Viguierie, N.; Rico-Lattes, I. Crystal Structure of the Dimeric β -Cyclodextrin Complex with 1,12-Dodecanediol. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 781–785.
- (113) Hollingsworth, M. D.; Werner-Zwanziger, U.; Brown, M. E.; Chaney, J. D.; Huffman, J. C.; Harris, K. D. M.; Smart, S. P. Spring-Loading at the Molecular Level: Relaxation of Guest-Induced Strain in Channel Inclusion Compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9732–9733.
- (114) Lee, R.; Mason, S. A.; Mossou, E.; Lamming, G.; Probert, M. R.; Steed, J. W. Neutron Diffraction Studies on Guest-Induced Distortions in Urea Inclusion Compounds. *Cryst. Growth Des.* **2016**, *16*, 7175–7185.
- (115) Ajami, D.; Rebek, J. Coiled Molecules in Spring Loaded Devices. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15038–15039.
- (116) Julius Rebek, J. Contortions of Encapsulated Alkyl Groups. *Chem. Commun.* **2007**, *27*, 2777–2789.
- (117) Scarso, A.; Trembleau, L.; Rebek, J. Helical Folding of Alkanes in a Self-Assembled, Cylindrical Capsule. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13512–13518.
- (118) Sherstyuk, Y. V.; Abramova, T. V. How To Form a Phosphate Anhydride Linkage in Nucleotide Derivatives. *ChemBioChem* **2015**, *16*, 2562–2570.

- (119) Tanaka, H.; Yoshimura, Y.; Jørgensen, M. R.; Cuesta-Seijo, J. A.; Hindsgaul, O. A Simple Synthesis of Sugar Nucleoside Diphosphates by Chemical Coupling in Water. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11531–11534.
- (120) Xu, Z. A Review on the Chemical Synthesis of Pyrophosphate Bonds in Bioactive Nucleoside Diphosphate Analogs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 3777–3783.
- (121) Noguchi, M.; Fujieda, T.; Huang, W. C.; Ishihara, M.; Kobayashi, A.; Shoda, S. A Practical One-Step Synthesis of 1,2-Oxazoline Derivatives from Unprotected Sugars and Its Application to Chemoenzymatic β -N-Acetylglucosaminidation of Disialo-Oligosaccharide. *Helv. Chim. Acta* **2012**, *95*, 1928–1936.
- (122) Steinbach, T.; Wurm, F. R. Poly(Phosphoester)s: A New Platform for Degradable Polymers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 6098–6108.
- (123) Bauer, K. N.; Tee, H. T.; Velencoso, M. M.; Wurm, F. R. Main-Chain Poly(Phosphoester)s: History, Syntheses, Degradation, Bio- and Flame-Retardant Applications. *Prog. Polym. Sci.* **2017**, *73*, 61–122.
- (124) Penczek, S.; Pretula, J.; Kaluzynski, K. Poly(Alkylene Phosphates): From Synthetic Models of Biomacromolecules and Biomembranes toward Polymer–Inorganic Hybrids (Mimicking Biomineralization). *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 547–551.
- (125) Wang, F.; Wang, Y.-C.; Yan, L.-F.; Wang, J. Biodegradable Vesicular Nanocarriers Based on Poly(ϵ -Caprolactone)-Block-Poly(Ethyl Ethylene Phosphate) for Drug Delivery. *Polymer* **2009**, *50*, 5048–5054.
- (126) Zhang, S.; Zou, J.; Elsabahy, M.; Karwa, A.; Li, A.; Moore, D. A.; Dorshow, R. B.; Wooley, K. L. Poly(Ethylene Oxide)-Block-Polyphosphoester-Based Paclitaxel Conjugates as a Platform for Ultra-High Paclitaxel-Loaded Multifunctional Nanoparticles. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 2122–2126.
- (127) Gelderblom, H.; Verweij, J.; Nooter, K.; Sparreboom, A. Cremophor EL: The Drawbacks and Advantages of Vehicle Selection for Drug Formulation. *Eur. J. Cancer* **2001**, *37*, 1590–1598.
- (128) Gradishar, W. J. Albumin-Bound Paclitaxel: A next-Generation Taxane. *Expert Opin. Pharmacother.* **2006**, *7*, 1041–1053.
- (129) Singer, J. W. Paclitaxel Poliglumex (XYOTAXTM, CT-2103): A Macromolecular Taxane. *J. Controlled Release* **2005**, *109*, 120–126.
- (130) Elsabahy, M.; Wooley, K. L. Design of Polymeric Nanoparticles for Biomedical Delivery Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2545–2561.
- (131) Davis, M. E.; Chen, Z. (Georgia); Shin, D. M. Nanoparticle Therapeutics: An Emerging Treatment Modality for Cancer. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2008**, *7*, 771–782.
- (132) Brannon-Peppas, L.; Blanchette, J. O. Nanoparticle and Targeted Systems for Cancer Therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2004**, *56*, 1649–1659.
- (133) Meng, F.; Zhong, Z.; Feijen, J. Stimuli-Responsive Polymersomes for Programmed Drug Delivery. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 197–209.
- (134) Monge, S.; Canniccionni, B.; Graillot, A.; Robin, J.-J. Phosphorus-Containing Polymers: A Great Opportunity for the Biomedical Field. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 1973–1982.
- (135) Steinbach, T.; Wurm, F. R. Poly(Phosphoester)s: A New Platform for Degradable Polymers. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2015**, *54*, 6098–6108.

- (136) Marsico, F.; Wagner, M.; Landfester, K.; Wurm, F. R. Unsaturated Polyphosphoesters via Acyclic Diene Metathesis Polymerization. *Macromolecules* **2012**, *45*, 8511–8518.
- (137) Momčilović, N.; Clark, P. G.; Boydston, A. J.; Grubbs, R. H. One-Pot Synthesis of Polyrotaxanes via Acyclic Diene Metathesis Polymerization of Supramolecular Monomers. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 19087–19089.
- (138) Liu, Y.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. Conjugated Polymers Developed from Alkynes. *Natl. Sci. Rev.* **2015**, *2*, 493–509.
- (139) Miyagi, Y.; Sogawa, H.; Shiotsuki, M.; Sanda, F. Synthesis of Optically Active Conjugated Polymers Bearing M-Terphenylene Moieties by Acetylenic Coupling Polymerization: Chiral Aggregation and Optical Properties of the Product Polymers. *Macromolecules* **2014**, *47*, 1594–1603.
- (140) Siemsen, P.; Livingston, R. C.; Diederich, F. Acetylenic Coupling: A Powerful Tool in Molecular Construction. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2632–2657.
- (141) Hu, R.; Ye, R.; Lam, J. W. Y.; Li, M.; Leung, C. W. T.; Zhong Tang, B. Conjugated Polyelectrolytes with Aggregation-Enhanced Emission Characteristics: Synthesis and Their Biological Applications. *Chem. – Asian J.* **2013**, *8*, 2436–2445.
- (142) Terao, J.; Tsuda, S.; Tanaka, Y.; Okoshi, K.; Fujihara, T.; Tsuji, Y.; Kambe, N. Synthesis of Organic-Soluble Conjugated Polyrotaxanes by Polymerization of Linked Rotaxanes. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16004–16005.
- (143) Frampton, M. J.; Anderson, H. L. Insulated Molecular Wires. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1028–1064.
- (144) Achmatowicz, M. M.; Thiel, O. R.; Colyer, J. T.; Hu, J.; Elipe, M. V. S.; Tomaskevitch, J.; Tedrow, J. S.; Larsen, R. D. Hydrolysis of Phosphoryl Trichloride (POCl₃): Characterization, in Situ Detection, and Safe Quenching of Energetic Metastable Intermediates. *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 1490–1500.
- (145) Guadagno, L.; Longo, P.; Raimondo, M.; Naddeo, C.; Mariconda, A.; Vittoria, V.; Iannuzzo, G.; Russo, S. Use of Hoveyda–Grubbs’ Second Generation Catalyst in Self-Healing Epoxy Mixtures. *Compos. Part B Eng.* **2011**, *42*, 296–301.
- (146) Wagener, K. B.; Brzezinska, K.; Anderson, J. D.; Younkin, T. R.; Steppe, K.; DeBoer, W. Kinetics of Acyclic Diene Metathesis (ADMET) Polymerization. Influence of the Negative Neighboring Group Effect. *Macromolecules* **1997**, *30*, 7363–7369.
- (147) Tomasek, J.; Schatz, J. Olefin Metathesis in Aqueous Media. *Green Chem.* **2013**, *15*, 2317.
- (148) Yadav, J. S.; Reddy, B. V. S.; Reddy, K. B.; Gayathri, K. U.; Prasad, A. R. Glaser Oxidative Coupling in Ionic Liquids: An Improved Synthesis of Conjugated 1,3-Diynes. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6493–6496.
- (149) Marsico, F.; Wagner, M.; Landfester, K.; Wurm, F. R. Unsaturated Polyphosphoesters via Acyclic Diene Metathesis Polymerization. *Macromolecules* **2012**, *45*, 8511–8518.
- (150) Protection for the Phosphate Group. In *Protective Groups in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Ltd, **2002**; 660–700.
- (151) Sworen, J. C.; Smith, J. A.; Wagener, K. B.; Baugh, L. S.; Rucker, S. P. Modeling Random Methyl Branching in Ethylene/ Propylene Copolymers Using Metathesis Chemistry: Synthesis and Thermal Behavior. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2228–2240.

- (152) Sato, T.; Nakamura, H.; Ohno, Y.; Endo, T. Synthesis of 1,4-Anhydro-2,3,6-Tri-O-Benzyl- α -D-Glucopyranose by Cis-Ring-Closure of a Glycosyl Chloride. *Carbohydr. Res.* **1990**, *199*, 31–35.
- (153) Lecourt, T.; Herault, A.; Pearce, A. J.; Sollogoub, M.; Sinaÿ, P. Triisobutylaluminium and Diisobutylaluminium Hydride as Molecular Scalpels: The Regioselective Stripping of Perbenzylated Sugars and Cyclodextrins. *Chem. - Eur. J.* **2004**, *10*, 2960–2971.
- (154) Guitet, M.; Marcelo, F.; de Beaumais, S. A.; Zhang, Y.; Jiménez-Barbero, J.; Tilloy, S.; Monflier, E.; Ménand, M.; Sollogoub, M. Diametrically Opposed Carbenes on an α -Cyclodextrin: Synthesis, Characterization of Organometallic Complexes and Suzuki-Miyaura Coupling in Ethanol and in Water: Diametrically Opposed Carbenes on an α -Cyclodextrin. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 3691–3699.
- (155) Melton, L. D.; Slessor, K. N. Synthesis of Monosubstituted Cyclohexaamyloses. *Carbohydr. Res.* **1971**, *18*, 29–37.
- (156) Hanessian, S.; Benalil, A.; Laferriere, C. The Synthesis of Functionalized Cyclodextrins As Scaffolds and Templates for Molecular Diversity, Catalysis, and Inclusion Phenomena. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4786–4797.
- (157) Raghunand, N.; Guntle, G. P.; Gokhale, V.; Nichol, G. S.; Mash, E. A.; Jagadish, B. Design, Synthesis, and Evaluation of 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7-Triacetic Acid Derived, Redox-Sensitive Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6747–6757.
- (158) Viguier, R. F. H.; Hulme, A. N. A Sensitized Europium Complex Generated by Micromolar Concentrations of Copper(I): Toward the Detection of Copper(I) in Biology. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11370–11371.
- (159) Antoni, P.; Malkoch, M.; Vamvounis, G.; Nyström, D.; Nyström, A.; Lindgren, M.; Hult, A. Europium Confined Cyclen Dendrimers with Photophysically Active Triazoles. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 2545.
- (160) Godoy, J.; Vives, G.; Tour, J. M. Synthesis of Highly Fluorescent BODIPY-Based Nanocars. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1464–1467.
- (161) Hu, B.; Su, Q.; Lu, P.; Wang, Y. BODIPY Modified 9-Cycloheptatrienylydene Fluorene Derivatives: Fluorescent “Turn-on” for Detecting Cu²⁺ with Acidity Independence. *Sens. Actuators B Chem.* **2012**, *168*, 310–317.
- (162) Fredy, J. W.; Scelle, J.; Guenet, A.; Morel, E.; Adam de Beaumais, S.; Ménand, M.; Marvaud, V.; Bonnet, C. S.; Tóth, E.; Sollogoub, M.; Vives, G.; Hasenknopf, B. Cyclodextrin Polyrotaxanes as a Highly Modular Platform for the Development of Imaging Agents. *Chem. - Eur. J.* **2014**, *20*, 10915–10920.
- (163) Hong, V.; Presolski, S.; Ma, C.; Finn, M.G. Analysis and Optimization of Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition for Bioconjugation. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9879–9883.
- (164) Egele, K.; Samaddar, S.; Schneider, N.; Thompson, D.; Wenz, G. Synthesis of the Anionic Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin:Poly(Decamethylenephosphate) Polyrotaxane and Evaluation of Its Cholesterol Efflux Potential in Niemann–Pick C1 Cells. *J. Mater. Chem. B* **2019**, *7*, 528–537.
- (165) Wenz, G.; Gruber, C.; Keller, B.; Schilli, C.; Albuzat, T.; Müller, A. Kinetics of Threading α -Cyclodextrin onto Cationic and Zwitterionic Poly(Bola-Amphiphiles). *Macromolecules* **2006**, *39*, 8021–8026.

- (166) Hou, Z.; Wang, Q.; Guo, Z.; Wang, T.; Wu, H.; Ma, C.; Wang, W.; Su, F.; Zhang, H.; Su, X. Gadolinium-Conjugated CB86: A Novel TSPO-Targeting MRI Contrast Agent for Imaging of Rheumatoid Arthritis. *J. Drug Target.* **2020**, *28*, 398–407.
- (167) Ulrich, G.; Ziessel, R.; Harriman, A. The Chemistry of Fluorescent Bodipy Dyes: Versatility Unsurpassed. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1184–1201.
- (168) Loudet, A.; Burgess, K. BODIPY Dyes and Their Derivatives: Syntheses and Spectroscopic Properties. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891–4932.
- (169) Akae, Y.; Sogawa, H.; Takata, T. Effective Synthesis and Modification of α -Cyclodextrin-Based [3]Rotaxanes Enabling Versatile Molecular Design. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 3605–3613.
- (170) Mangold, S. L.; Carpenter, R. T.; Kiessling, L. L. Synthesis of Fluorogenic Polymers for Visualizing Cellular Internalization. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2997–3000.
- (171) Niu, S. L.; Ulrich, G.; Ziessel, R.; Kiss, A.; Renard, P.-Y.; Romieu, A. Water-Soluble BODIPY Derivatives. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2049–2052.
- (172) N, B.; Ld, H.; Wj, van den H.; Rw, W.; R, S.; Jp, K.; T, L.; Ml, O. Indomethacin in Rheumatoid Arthritis: Clinical Effects, Pharmacokinetics, and Platelet Studies in Responders and Nonresponders. *Ann. Rheum. Dis.* **1979**, *38*, 128–136.
- (173) Maguire, A. R.; Plunkett, S. J.; Papot, S.; Clynes, M.; O'Connor, R.; Touhey, S. Synthesis of Indomethacin Analogues for Evaluation as Modulators of MRP Activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 745–762.
- (174) Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. a. K.; Puschmann, H. OLEX2: A Complete Structure Solution, Refinement and Analysis Program. *J. Appl. Crystallogr.* **2009**, *42*, 339–341.
- (175) Sheldrick, G. M. SHELXT – Integrated Space-Group and Crystal-Structure Determination. *Acta Crystallogr. Sect. Found. Adv.* **2015**, *71*, 3–8.
- (176) Sheldrick, G. M. Crystal Structure Refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, *71*, 3–8.