



HAL
open science

Synthèse de nouveaux séquestrants bioinspirés de radionucléides tétravalents destinés à la mise-au-point de dispositifs analytiques de terrain pour le contrôle environnemental in situ

Osian Fonquernie

► **To cite this version:**

Osian Fonquernie. Synthèse de nouveaux séquestrants bioinspirés de radionucléides tétravalents destinés à la mise-au-point de dispositifs analytiques de terrain pour le contrôle environnemental in situ. Chimie organique. Université Bourgogne Franche-Comté, 2022. Français. NNT : 2022UBFCK073 . tel-04722412

HAL Id: tel-04722412

<https://theses.hal.science/tel-04722412v1>

Submitted on 5 Oct 2024

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

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

THÈSE DE DOCTORAT

présentée à

L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE FRANCHE COMTÉ
UFR Sciences Techniques
Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne – UMR CNRS 6302

Par

Osian FONQUERNIE

Maître ès Sciences

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE
FRANCHE-COMTÉ**

Discipline : Chimie

**Synthèse de nouveaux séquestrants bioinspirés de radionucléides
tétravalents destinés à la mise-au-point de dispositifs analytiques de terrain
pour le contrôle environnemental *in situ***

Soutenue le 26 octobre 2022 devant la commission d'examen

REGNOUF de VAINS Jean-Bernard	Professeur (UL)	Rapporteur
HECK Marie-Pierre	Directrice de Recherche (CEA Saclay)	Rapporteur
LE GENDRE Pierre	Professeur (UBFC)	Examineur
DUPONT Laurent	Professeur (URCA)	Examineur
BRANDES Stéphane	Ingénieur de Recherche (CNRS)	Co-encadrant de thèse
MEYER Michel	Chargé de Recherche (CNRS)	Directeur de thèse

Remerciements

Cette thèse a été entièrement financée par le Conseil Régional de Bourgogne Franche-Comté, sur des fonds européens FEDER, dans le cadre des financements de thèses JCE (Jeune Chercheur-Entrepreneur). Ce cursus particulier m'a permis d'obtenir un Master en Management et Administration des Entreprises (MAE) en parallèle de ma thèse. Mes sincères remerciements au Conseil Régional qui a créé ce cursus et jugé le projet et moi-même dignes de ce financement. Comme toutes les thèses JCE, cette thèse a été parrainée par une entreprise, je remercie TRISKEM International d'avoir accepté d'être mon entreprise parrain.

Ces travaux de thèse ont été englobés dans le Projet ANR Pluton (17-CE08-0053). Ce projet ANR, coordonné par le docteur Michel MEYER, est un regroupement de compétences de divers laboratoires partenaires (IC-UNISTRA, IRSN, TRISKEM International, IJCLab et ICMUB). Merci à tous les partenaires pour avoir construit ce projet et à l'Agence National de la Recherche pour l'avoir financé.

Ces travaux de thèse ont été réalisés au Département de Chimie de l'Université de Bourgogne Franche-Comté (UBFC), au sein de l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne (ICMUB), dans l'équipe P2DA (Porphyrines, Polyamines, Développement et Applications), Unité Mixte de Recherche (UMR 6302) entre l'Université de Bourgogne Franche-Comté et le CNRS. Mes sincères remerciements au professeur Franck DENAT pour m'avoir permis de rejoindre l'ICMUB et l'équipe P2DA.

Je tiens à remercier Monsieur Jean-Bernard REGNOUF DE VAINS, professeur de l'Université de Nancy, et Madame Marie-Pierre HECK, directrice de recherches au CEA Centre de Saclay, pour avoir accepté la charge de rapporteur de thèse.

Je remercie également Monsieur Laurent DUPONT, professeur à l'Université de Reims Champagne-Ardenne, et Monsieur Pierre LEGENDRE, professeur à l'ICMUB, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

J'aimerais exprimer ma plus grande gratitude envers Monsieur Michel MEYER, chargé de recherche CNRS (CRHC) à l'Université de Bourgogne, pour avoir dirigé cette thèse, pour sa disponibilité et son implication dans mes travaux, ainsi que dans l'ensemble du projet ANR Pluton. Je le remercie également de m'avoir inculqué la rigueur et la justesse que l'on attend d'un docteur. Je le remercie finalement très sincèrement pour le savoir partagé et pour les nombreuses discussions scientifiques toujours plus enrichissantes et stimulantes.

Ma gratitude va aussi à Monsieur Stéphane BRANDES, Ingénieur de recherche CNRS à l'Université de Bourgogne pour avoir co-encadré cette thèse. Il a supervisé toute la synthèse de mes travaux, ses nombreuses implications dans différents projets lui ont permis d'accumuler une expérience exceptionnelle et transversale dans tous domaines de la chimie organique. Il a

su, pendant ces années, me transmettre une partie de son savoir afin de faire de moi un chimiste organicien accompli.

Je tiens à remercier les doctorants et postdoctorants qui n'ont pas hésité à me donner de leur temps précieux pour m'enseigner les rudiments de la synthèse lorsque j'étais encore étudiant : Vivian LIORET, Valentin QUESNEAU, Mario NAITANA et Léo BUCHER.

Mes remerciements à tous les partenaires de l'ANR Pluton avec qui j'ai pu longuement échanger sur le projet. Leurs travaux d'analyses et leurs conseils ont été indispensables pour ces travaux de thèse. Je pense en particulier à Jean-Claude CHAMBRON, Josselin GORNY, Vladimir SLADKOV, Sofia GAMA et Laureline FEVRIER.

Merci à toutes les personnes avec qui j'ai pu partager du temps quotidiennement dans l'équipe P2DA et spécialement à ceux qui sont devenus des amis : Vivian, Thibaud, Flavien, Alexandre, Léo, les deux Seb et Romane. Merci à Tony, mon padawan, à qui j'ai passé le relais et qui va poursuivre ces recherches.

Rien de tout ceci n'aurait été possible sans l'implication et le soutien sans faille de ma famille. Un immense merci à mes frères, à ma sœur et spécialement à mes parents qui ont su m'inspirer dans les moments de doutes et m'inciter à avancer.

Table des matières

Notations et Abréviations	- 12 -
I. Introduction générale	- 15 -
1.1. Actinides	- 15 -
1.1.1. Généralités	- 15 -
1.1.2. Uranium	- 18 -
1.1.3. Actinides tétravalents	- 20 -
1.2. Sidérophores	- 24 -
1.2.1. Généralités	- 24 -
1.2.2. Familles de sidérophores	- 25 -
1.3. Acides hydroxamiques	- 29 -
1.3.1. Hydroxamates linéaires	- 29 -
1.3.2. Hydroxamate cyclique, PIPO	- 31 -
1.3.3. Hydroxamate cyclique, HOPO	- 37 -
1.4. Ligands tétrahydroxamates	- 38 -
1.4.1. Ligands tétrahydroxamate linéaires	- 39 -
1.4.2. Ligands tétrahydroxamate HOPO	- 42 -
1.4.3. Ligands tétrahydroxamates PIPO	- 43 -
1.5. Immobilisation de la DFO	- 45 -
1.5.1. Greffage sur anticorps	- 45 -
1.5.2. Greffage sur supports solides	- 47 -
1.6. Capteurs DGT	- 50 -
1.6.1. Présentation	- 50 -
1.6.2. Principe de fonctionnement théorique	- 52 -
1.6.3. Facteurs influençant le fonctionnement du capteur DGT	- 54 -
1.6.4. Avantages de la technique DGT	- 58 -
1.6.5. Éléments analysables par échantillonnage DGT	- 60 -
1.7. Objectifs des travaux de thèse	- 63 -
II. Synthèses de résines fonctionnalisées et capteurs DGT	- 65 -
2.1. Résine Carboxy polystyrène	- 65 -
2.1.1. Greffage	- 65 -
2.1.2. Limitations	- 66 -

2.2. Résine CM Sephadex C25	- 66 -
2.2.1. Greffage	- 66 -
2.2.2. Études physico-chimiques	- 77 -
2.2.3. Limitations	- 81 -
2.3. Résine Epoxy Methacrylate	- 82 -
2.3.1. Greffage	- 82 -
2.3.2. Études physico-chimiques	- 87 -
2.2.3. Études complémentaires	- 89 -
2.3.4. Limitations	- 94 -
2.4. Capteurs DGT incorporant une résine fonctionnalisée par de la DFO	- 95 -
2.4.1. Introduction	- 95 -
2.4.2. Méthodes et résultats	- 96 -
2.5. Conclusion	- 102 -
III. Synthèse de nouveaux ligands hydroxamiques	- 103 -
3.1. Synthèse de nouveaux ligands hydroxamiques cycliques	- 103 -
3.1.1 PIPO(Bn)CO ₂ Et	- 103 -
3.1.2 PIPO(Bn)CO ₂ H et PIPO(Bn)COCl	- 106 -
3.1.3 PIPO amides modèles	- 112 -
3.2. Séparation et étude énantiomérique	- 113 -
3.2.1 Problématique	- 113 -
3.2.2. Synthèses énantiosélectives	- 114 -
3.2.3 Séparation chirale	- 116 -
3.3. Propriétés physico-chimiques	- 120 -
3.3.1 Propriétés optiques	- 120 -
3.3.2 Propriétés structurales	- 123 -
3.3.3 Propriétés acido-basique	- 127 -
IV. Synthèse de nouveaux ligands tétrahydroxamiques	- 129 -
4.1 Ligand DFO-PIPO	- 130 -
4.1.1. Synthèse	- 130 -
4.1.2. Propriétés physico-chimiques	- 134 -
4.2. Synthèse et caractérisation des ligands tétra-PIPO	- 142 -
4.3. 3,4,3 LI-PIPO	- 143 -
4.3.1. Introduction	- 143 -
4.3.2. Synthèse	- 143 -

4.4. HA-2,2-PIPO et HA-2,3-PIPO	- 144 -
4.4.1. Introduction	- 144 -
4.4.2. Tête de pont Hexaamine	- 146 -
4.4.3. HA-2,2-PIPO	- 152 -
4.4.3 HA-2,3-PIPO	- 160 -
4.5 Ligand tétrahydroxamique greffable : HA-2,3B-PIPO	- 163 -
4.5.1. Cible envisagée	- 163 -
4.5.2. Synthèse de HA-2,3B	- 164 -
4.5.3 HA-2,3B-PIPO	- 171 -
Conclusion générale	- 177 -
Bibliographie	- 181 -
Experimental part	- 191 -
Equipment	- 191 -
Synthetic procedures	- 195 -
Annex	- 243 -
Crystal data	- 243 -
RMN	- 255 -

Notations et Abréviations

Par ordre alphabétique :

acac	Acétylacétonate
AE	Analyse Élémentaire
ANR	Agence Nationale de la Recherche
Az	Azeridine
AZEPO	1-hydroxyazepan-2-one
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyle
Bn	Benzyle
Cbz	Carboxybenzyle
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CD	Dichroïsme Circulaire
CLD	Couche Limite de Diffusion
COSY	2D NMR COrrélation SpectroscopY
DCM	Dichlorométhane
DFO	Desferrioxamine B
DFE	Desferrioxamine E
DGT	Diffusives Gradients in Thin Films
DIPEA	<i>N,N'</i> -Diisopropyléthylamine
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EDC	3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
EDTA	Acide éthylènediaminetétraacétique
EWG	Electron withdrawing group
HA	Hexamine
HMBC	2D NMR Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy
HMDS	Hexamethyldisilazane
HOBt	Hydroxybenzotriazole
HOPO	1-hydroxy-2-pyridone
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
HSAB	Hard and Soft Acids and Bases
HSQC	2D NMR Heteronuclear Single-Quantum Correlation spectroscopy
ICP-AES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy
IR	InfraRouge

IRM	Imagerie par Résonance Nucléaire
LCMS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry
mCPBA	Acide meta-chloroperoxybenzoïque
MEB (SEM)	Microscopie Electronique à Balayage
MeCN	Acétonitrile
MeOH	Méthanol
Mp	Melting point
Ms	Mésyl (méthanesulfonyl)
n-BuLi	<i>n</i> -ButylLithium
NEt ₃	Triéthylamine
NMHA	Acide <i>N</i> -méthylacetohydroxamique
ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot
PEG	Polyéthylène glycol
PIPO	1-hydroxypiperidine-2-one
EMCX	Lot n°X de résine EpoxyMétaCrylate-DFO
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SephX	Lot n°X de résine Sephadex-DFO
TBDMS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
TEP	Tomographie par Émission de Positrons
Tf	Triflate
TFA	Acide Trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
Ts	Tosyl (<i>para</i> -toluènesulfonyl)
UV-Vis	UltraViolet-Visible

I. Introduction générale

L'étude des actinides est un sujet scientifique majeur, ayant un impact économique, politique, militaire et écologique colossal. En effet, depuis la découverte de la fission nucléaire au milieu du 20^{ème} siècle, cette famille d'éléments radioactifs n'a eu de cesse d'être étudiée, en particulier l'uranium et le plutonium. Ces deux éléments radioactifs sont utilisés pour la production d'énergie électrique et pour la fabrication de l'arme atomique. Par le passé, l'utilisation d'armes nucléaires (Hiroshima et Nagasaki puis les essais atmosphériques et sous-marins) et des accidents industriels (Mayak, Tchernobyl, Fukushima) ont engendré des pollutions importantes à long terme en rejetant des actinides dans l'environnement. Il est capitale d'avoir les outils d'analyse nécessaires afin d'étudier l'évolution de ces contaminants radioactifs. Le but de ces travaux a été de concevoir et de synthétiser de nouveaux chélateurs bio-inspirés spécifiques aux actinides tétravalents, dans l'idée de mettre au point un capteur passif (DGT) permettant de suivre l'évolution et la migration du plutonium dans les sols et cours d'eaux contaminés.

1.1. Actinides

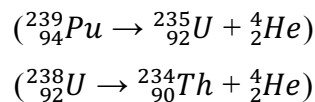
1.1.1. Généralités

La série chimique des actinides comprend 15 éléments chimiques dont les propriétés sont attribuées à la présence de l'orbitale 5f. Elle commence avec l'actinium, 89^{ème} élément de la classification de Mendeleïev, et se termine avec le lawrencium, 103^{ème} élément. Pour l'actinium et le thorium, la sous-couche 6d est plus basse en énergie que la 5f, d'où leurs configurations électroniques $[Rn]7s^26d^1$ et $[Rn]7s^26d^2$. Plus on avance dans la famille, plus il y a de protons dans les noyaux, et plus les orbitales 5f se contractent. Par conséquent les orbitales 5f deviennent plus stables que les orbitales 6d. Les éléments du protactinium au neptunium présentent donc les configurations $[Rn]7s^26d^15f^n$ (avec $n = 2$ à 4) puis les orbitales 6d sont complètement dépeuplées pour le plutonium et l'américium, qui présentent respectivement les configurations $[Rn]7s^25f^6$ et $[Rn]7s^25f^7$. Après l'américium, la forte stabilité associée au demi-remplissage de la sous-couche 5f est telle que l'électron suivant est ajouté dans l'orbitale 6d. Ainsi, le curium présente la configuration $[Rn]7s^26d^15f^7$. À partir du berkélium, les orbitales 6d

sont de nouveau vides, et les configurations $[Rn]7s^25f^n$ (avec $n = 9$ à 14) apparaissent jusqu'au nobélium. Enfin, pour le lawrencium, la couche $5f$ est remplie, sa configuration électronique est donc $[Rn]7s^26d^15f^{14}$.

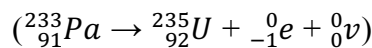
Tous les éléments de la famille des actinides sont des radioéléments. Ils possèdent un noyau atomique instable qui par une cascade de désintégrations spontanées, se transforme en un noyau atomique de plus grande stabilité. Le processus libère une grande quantité d'énergie qui, lors de ces désintégrations successives, peut prendre quatre formes : les rayonnements α , β^- , β^+ ou γ .

Le rayonnement α correspond à la libération d'un atome d'hélium par le noyau, il est très énergétique (> 4 MeV) mais peu pénétrant et concerne principalement les gros noyaux :

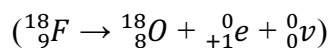


Deux types de rayonnement β se distinguent :

Une particule β^- est émise lorsqu'un neutron se transforme en proton avec l'émission d'un électron et d'un anti-neutrino, résultant à l'augmentation du numéro atomique du noyau d'une unité.



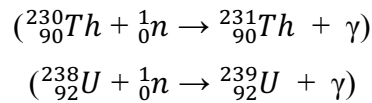
Une particule β^+ est émise lorsqu'un proton se transforme en neutron avec l'émission d'un positron et d'un neutrino, résultant à la diminution du numéro atomique du noyau d'une unité.



Le rayonnement β est moins énergétique mais plus pénétrant que le rayonnement α .

Enfin, les rayons γ résultant d'une désintégration peuvent parcourir une centaine de mètres dans l'air ou traverser plusieurs centimètres de plomb ou de béton. Ils sont beaucoup plus pénétrants que les rayonnements α et β , mais moins ionisants. Ils sont émis lorsqu'un noyau

libère un excès d'énergie sous forme de photon, après une excitation par un rayonnement α ou β du milieu.



Tous les types de radiation sont dangereux pour les organismes vivants. L'exposition à une dose importante de radiations provoque des brûlures et maladies mais aussi des dommages à longue durée comme des cancers dans les parties du corps où s'accumulent les actinides. Par exemple la contamination du plutonium sur les mammifères est un sujet bien développé dans la littérature. ^[1,2]

Le thorium-232 et l'uranium-238 ayant des périodes radioactives de plusieurs milliards d'années, ainsi que l'uranium-235, qui a un temps de demi-vie d'environ 700 millions d'années, sont les seuls représentants de la série des actinides encore présents dans la nature. Ils sont principalement présents sous forme de minerais dans la croûte terrestre ou dans l'eau de mer pour l'uranium. Les autres actinides sont anthropogéniques et sont issus des familles de désintégration du thorium-232 ou de l'uranium-238. La chimie des actinides est intimement liée au développement de la filière nucléaire. Très tôt, le développement de techniques physico-chimiques de séparation a été essentiel pour extraire, purifier puis recycler les actinides majeurs (uranium et plutonium). La chimie des actinides représente un défi, à cause de leur radioactivité et de la variété de degrés d'oxydation qu'ils peuvent atteindre (Tableau 1). Cette abondance de degrés d'oxydation qui touche les éléments du début de la famille est due à des orbitales 5f et 6d très proches en énergie. Cela a pour effet, de mettre plus d'électrons à disposition pour former des liaisons et de faire apparaître une plus grande variété de degrés d'oxydation. Néanmoins, à partir du curium, le degré d'oxydation III tend à se généraliser puisque les orbitales 5f deviennent plus internes à cause de la contraction actinidique.

Tableau 1 : Degrés d'oxydation des actinides (en gras : les plus stables dans l'eau).

Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr
						II			II	II	II	II	II	II
III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III
	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV					
		V	V	V	V	V								
			VI	VI	VI	VI								
				VII	VII	VII								

Dans ce tableau, les degrés d'oxydation les plus stables en milieux aqueux sont indiqués en gras. Lorsque l'on s'intéresse à la pollution de milieux naturels par les actinides, ce sont les seules espèces à prendre en compte. En effet, au contact de l'air et de l'eau, les autres espèces sont rapidement, à l'échelle d'une contamination, oxydées ou réduites sous leur forme la plus stable. Le but principal de cette étude étant de développer un capteur pour le Pu^{4+} , il est important de décrire plus en précision cet ion, l'autre actinide tétravalent : le Th^{4+} ainsi que le polluant actinidique majoritaire l'uranyle.

1.1.2. Uranium

L'uranium, 92^{ème} élément de la classification périodique, est un élément chimique naturel radioactif de symbole U appartenant à la famille des actinides, que l'on trouve en abondance sur Terre (environ 3 g.t^{-1} dans les sols granitiques ou sédimentaires et 3 mg.m^{-3} dans l'eau de mer). En 1789, le chimiste prussien Martin Heinrich Klaproth fut le premier à isoler de l'uranium à partir de la pechblende sous sa forme d'oxyde. Puis, en 1841, Eugène-Melchior Péligot réussit à le réduire pour obtenir la forme métallique, c'est lui qui créa le terme « uranyle » pour désigner l'ion di-oxouranium(VI) UO_2^{2+} , il est aujourd'hui considéré comme le père de la chimie de l'uranium. Le « rayonnement pénétrant » de l'uranium a été mis en évidence par H. Becquerel en 1896 et confirmé par les travaux sur la radioactivité de P. et M. Curie.

Tableau 2 : Les principaux isotopes de l'uranium

Isotope	Temps de demi-vie (années)	Abondance
U-238	$4,46.10^9$	99,274 %
U-235	$7,03.10^8$	0,720 %
U-234	$2,45.10^5$	0,006 %

L'uranium naturel est composé de trois isotopes radioactifs, mais en laboratoire, 24 isotopes de l'uranium ont été produits, du U-217 au U-242. L'U-238 et l'U-235 sont les ascendants des familles de désintégration $4n+2$ et $4n+3$. Avant la découverte de la fission de l'U-235 par l'équipe d'Enrico Fermi en décembre 1942, l'intérêt pour l'uranium était limité. Après il devient rapidement une ressources militaire et énergétique stratégique. La première utilisation de l'énergie dégagée lors de la fission complète de l'U-235 (proche de 2×10^7 kWh.kg⁻¹) fut, malheureusement, l'arme atomique (Hiroshima), depuis l'U-235 sert principalement à la production d'énergie, à la synthèse d'autres actinides et à la production de neutrons.

Aujourd'hui, l'uranium est une ressource fossile exploitée industriellement pour satisfaire les besoins énergétiques de nos sociétés. L'uranium se décline en cinq catégories de composition isotopique : l'uranium appauvri (UA) (< 0,71 % de U-235), l'uranium naturel (UN) (0,71 % de U-235), l'uranium peu enrichi (de 0,71 à 20 % de U-235), l'uranium très enrichi (de 20 à 90 % de U-235) et l'uranium militaire (> 90 % de U-235). L'UA est le produit secondaire de l'enrichissement de l'uranium en U-235 et est utilisé dans l'industrie de l'armement pour faire des blindages et des munitions. L'uranium peu enrichi et très enrichi sont utilisés dans les réacteurs de production d'énergie civile et militaire ainsi que dans les réacteurs scientifiques (pour produire des radionucléides) et enfin l'uranium militaire sert pour l'arme nucléaire.

L'uranium, comme tous les actinides, possède plusieurs degrés d'oxydation stables ou instables selon les conditions : +III (U³⁺), +IV (U⁴⁺), +V (UO₂²⁺), +VI (UO₂²⁺) et 0 (U). En milieu aqueux, l'uranyle (UO₂²⁺) va prédominer, étant donné que les formes +III, +IV, +V, et 0 vont s'oxyder en UO₂²⁺.

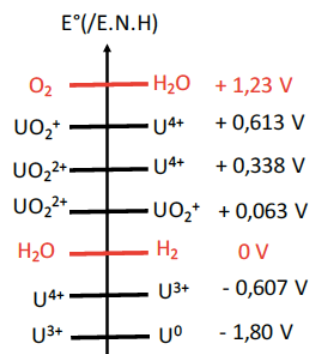


Figure 1 : Potentiels standards des couples redox de l'uranium en solution.

L'uranyle, est un système linéaire $[O=U=O]^{2+}$ très stable. Comme Denning et al. l'ont montré,^[3] des recouvrements symétriques ont lieu entre les orbitales atomiques (OA) 6d de l'uranium et les OA 2p de l'oxygène pour former les orbitales moléculaires (OM) liantes $3\sigma_g$ et $2\pi_g$. Le plutonium, le neptunium, et l'américium, en conditions oxydantes, peuvent aussi être trouvés sous leur forme actinyle $\{AnO_2^{+,2+}\}$. Cette forme trans di-oxo est propre aux actinides à cause de la présence des orbitales 5f³. Comme tous les autres cations actinides, l'uranyle est un acide dur, d'où sa forte affinité pour les bases dures oxygénées telles que les ions carboxylate ou phosphonate. L'encombrement stérique provoqué par les groupements oxo, entraîne un recouvrement orbitalaire métal/ligand dans le plan équatorial et les transferts électroniques se feront préférentiellement du ligand vers les OAs d ou f du métal. L'effet d'un ligand donneur sur l'uranyle se traduit par l'affaiblissement de la liaison O=U=O et donc par une diminution formelle de l'ordre de liaison. Ainsi, cet affaiblissement de la liaison O=U=O est observable en spectroscopie infrarouge. En effet, la bande de vibration antisymétrique de la liaison U-O va se décaler de 960 cm^{-1} pour un complexe pentaquo à environ 920 cm^{-1} dans le cas d'une coordination par des fonctions phosphates.^[4] Dans le milieu biologique, l'uranyle est le plus souvent complexé aux métabolites ou aux protéines ayant des groupements carbonate ou phosphate. La toxicité de l'uranium pour l'homme et l'animal va donc dépendre de sa forme isotopique. L'UA ou l'UN, sous leur forme bio-disponible (uranyle), sont chimiotoxiques et peuvent causer des dommages aux reins, alors que les formes isotopiques les plus riches en U-235 sont radiotoxiques et causent divers types de cancers (leucémie, cancers des os).

1.1.3. Actinides tétravalents

- Thorium

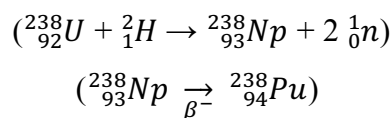
Le thorium, 90e élément du tableau périodique, est un actinides de symbole Th. Il a été découvert en 1828 par Jöns Jacob Berzelius, un chimiste suédois. Le thorium est un élément abondant sur terre, principalement contenu dans les roches, où il est lié à l'uranium (thorianite, uranothorianite) ou aux terres rares (Ce, La, Y). Sa production provient de l'extraction des lanthanides du sable de monazite. L'attractivité commerciale du thorium est bien moindre que celle de l'uranium. En effet, même s'il a été utilisé dans certains domaines comme en médecine avec le Thorotrast® (agent de contraste pour la radiographie), pour la catalyse (oxydation de l'ammoniac) ou dans la fabrication de tubes pour lampes à incandescence, les quantités utilisées

restent encore faibles. De plus, sa (faible) radioactivité l'a conduit à être supplanté dans la plupart de ces applications. Aujourd'hui, le thorium pourrait être un élément d'avenir pour l'industrie de l'énergie nucléaire avec le développement de réacteurs basés sur le cycle du thorium. En effet, comme les réserves d'uranium exploitable sont limitées, le thorium-232 (Th-232) pourrait être une alternative au Pu-239 et à l'U-235. Dans la nature, le principal isotope du thorium est le Th-232, bien que des traces de Th-228, Th-230, Th-231 et Th-234 puissent être observées. Artificiellement, 32 isotopes du thorium ont été identifiés et synthétisés (Th-207 à Th-238)

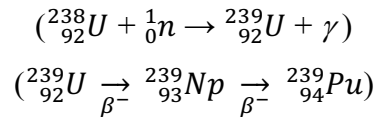
Le thorium ne peut atteindre que deux états d'oxydation, +III et +IV, mais seul le degré +IV est stable en solution. Il a pour configuration électronique [Rn] 6d⁰ 7s⁰ et son hypervalence l'oblige à s'entourer d'un grand nombre de ligands (jusqu'à 12 pour sa sphère d'hydratation). En temps qu'acide fort, le Th(IV) a une grande affinité pour les bases dures (hydroxyde, carboxylate, phosphonate) et va facilement s'hydrolyser en solution aqueuse pour former des complexes Th_m(OH)_n^{(4m-n)+} tout comme l'élément auquel il est souvent comparé, le Pu(IV). Les constantes rapportées (log β_n) pour la formation de l'hydroxyde de Th(IV) sont égales à 11,8 ; 22,0 ; 31,0 et 39,0 pour n = 1, 2, 3 et 4^[5]. De façon analogue au Pu(IV), le Th(IV) s'hydrolyse facilement pour ensuite former des phases colloïdales par condensation. Dans ce projet, l'intérêt porté au Th(IV), vient de la possibilité de pouvoir l'utiliser comme mime de notre cible, le Pu⁴⁺. La seule différence majeure entre ces ions étant leur rayon ionique (Th(IV) : 1,048 Å et Pu(IV) : 0,962 Å). Le Pu-239, à cause de sa radioactivité et de sa toxicité, présente des difficultés de manipulation. En comparaison, la faible radioactivité est un atout du thorium et c'est ce qui lui permet d'être utilisé en laboratoire sans un équipement spécifique complet.

Plutonium

Le plutonium, 94^{ème} élément du tableau périodique, est un actinide de symbole Pu. Cet élément possède 20 isotopes (de Pu-228 à Pu-247). Le plutonium a été généré pour la première fois par l'équipe de G. T. Seaborg par transmutation de l'uranium en neptunium, suivi de la désintégration β⁻ :^[6]



C'est l'isotope 239 du plutonium ($T_{1/2} = 24000$ ans) qui se révèle le plus intéressant de par l'immense quantité d'énergie ($2,3 \times 10^7$ kWh.kg⁻¹) produite par sa fission ce qui lui a valu d'être utilisé pour faire des armes atomiques. Le Pu-239 est généré par absorption neutronique de l'U-238 suivie par une double désintégration β^- .



Le plutonium dans l'environnement est principalement d'origine anthropogénique. Il est issu des essais nucléaires atmosphériques et sous-marins, des accidents nucléaires (Mayak, Tchernobyl), des fuites et rejets industriels. Le plutonium, comme le neptunium et l'américium, possède un grand nombre de degrés d'oxydation (de +III à +VII) qui rend sa chimie unique et particulièrement complexe. En solution, bien que le degré +IV soit le plus stable, des complexes stables de Pu(III) et de Pu(V) avec des ligands organiques ont été observés sur des plages de pH bien précises. En solution aqueuse, le Pu(IV) qui est hypervalent, va se stabiliser en se constituant une sphère de coordination incluant 8 ou 9 atomes donneurs. En tant que l'un des éléments les plus acides et durs selon la théorie HSAB, le Pu(IV) présente de fortes affinités pour les ions hydroxyde, carboxylate ou phosphonate. Malgré tout, de par sa dangerosité et sa tendance à se désintégrer en s'irradiant lui-même, le plutonium est l'un des derniers éléments dont les connaissances actuelles sur sa chimie de coordination sont, encore à ce jour, incomplètes.

Similarités avec l'ion ferrique

Comme le montre K. N. Raymond et son équipe dans une revue traitant des séquestrants du plutonium^[7], les ions Pu⁴⁺ et Fe³⁺ partagent de nombreuses similarités :

Tableau 3 : Similarités entre les ions Pu (IV) et Fe (III).

	Pu (IV)	Fe (III)
Charge/rayon ionique (Z/r)	$4/0,93 = 4,3$	$3/0,65 = 4,6$
Constantes d'hydrolyse	$\text{Pu}(\text{OH})_4 \rightarrow \text{Pu}^{4+} + 4\text{OH}^-$ $K = 10^{-55}$ (10^{-14} par OH^-)	$\text{Fe}(\text{OH})_3 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + 3\text{OH}^-$ $K = 10^{-38}$ (10^{-13} par OH^-)
	$\text{Pu}^{4+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Pu}(\text{OH})^{3+} + \text{H}^+$ $K = 0,031$ (dans HClO_4)	$\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})^{2+} + \text{H}^+$ $K = 0,0009$
	Chez les mammifères le Pu^{4+} est transporté dans le plasma sanguin sous la forme d'un complexe de transferrine, l'agent de transport habituel du Fe^{3+} . Le Pu^{4+} se lie aux mêmes sites que le Fe^{3+} . Dans le foie, Pu^{4+} forme des complexes de ferritine, la protéine de stockage du fer.	

Entre les deux ions, des similarités physiques sont observables, telle que la valeur du rapport charge/rayon ionique proche, mais aussi des similarités chimiques. Ce sont deux acides forts de Lewis avec une grande affinité avec les donneurs durs comme les atomes d'oxygène, formant des complexes extrêmement stables avec l'ion hydroxyde. La comparaison ne s'arrête pas là. En effet, en milieu biologique, le plutonium utilise les mêmes canaux de transport que le fer (Tableau 3). Pour concevoir de nouveaux séquestrants pour les actinides tétravalents, il est capital de s'appuyer sur la famille de molécules qui transportent naturellement le fer : les sidérophores.

1.2. Sidérophores

1.2.1. Généralités

Le fer est un élément essentiel pour presque tous les organismes vivants. En effet, sa capacité à facilement échanger des électrons en fait un cofacteur de choix dans diverses réactions biochimiques vitales. Peu soluble en conditions aérobiques et en milieux neutres et alcalins, le fer est peu biodisponible. Pour contourner cette faible disponibilité, une grande partie des microorganismes ont développé la capacité de sécréter des chélateurs hydrosolubles spécifiques au fer. Toutes ces molécules, aussi variées et nombreuses soient-elles, sont regroupées en une famille : les sidérophores, terme venant du grec, littéralement « porteur de fer ». Environ 600 sidérophores différents ont été isolés, provenant des sols mais aussi d'eaux salées ou non. Après avoir absorbé le complexe fer-sidérophore, le microorganisme va réduire le Fe(III) en Fe(II), rendant le complexe considérablement moins stable et permettant la libération du fer dans l'organisme.

Les sidérophores sont habituellement classés en quatre familles selon leurs groupements chélateurs.

1.2.2. Familles de sidérophores

- *Sidérophores catécholates*

La première des quatre familles de sidérophores est constituée de ligands dont les groupements chélateurs sont des fonctions catécholate. Comme nous pouvons le voir parmi les exemples (Figure 3), le nombre de groupements chélateurs est variable de un à trois. Trois catécholates suffisent pour compléter totalement la sphère de coordination de l'ion ferrique.

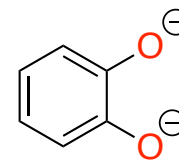


Figure 2 :
Groupement catécholate.

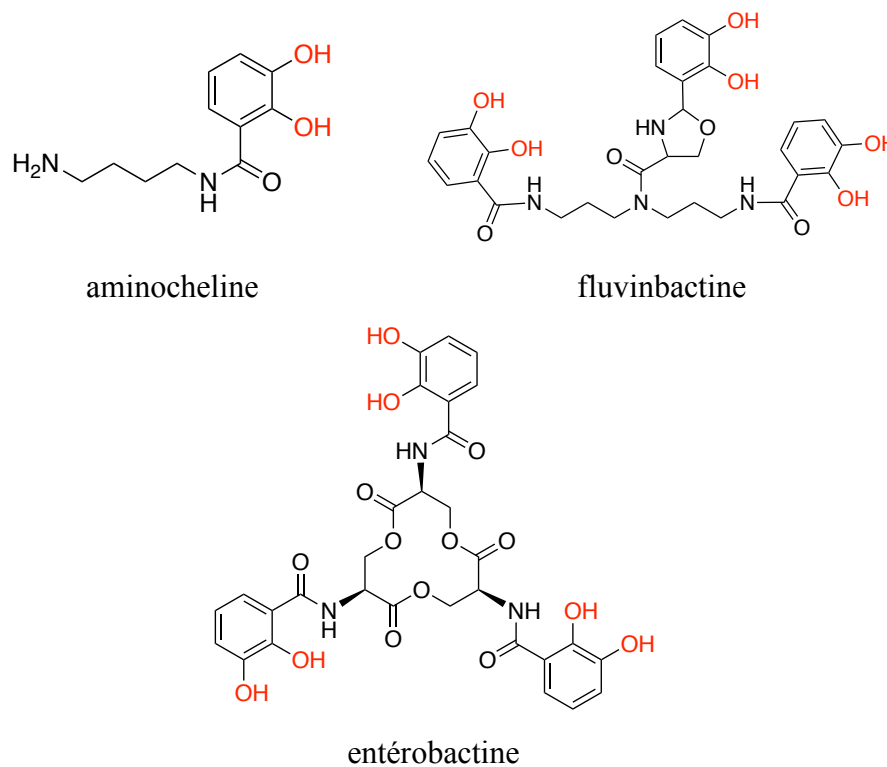


Figure 3 : Exemples de sidérophores catécholates.

- *Siderophores hydroxamates*

La deuxième famille de siderophores est constituée de ligands dont les groupements chélateurs sont des acides hydroxamiques.

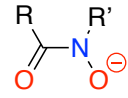
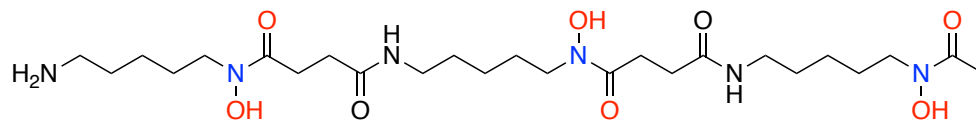
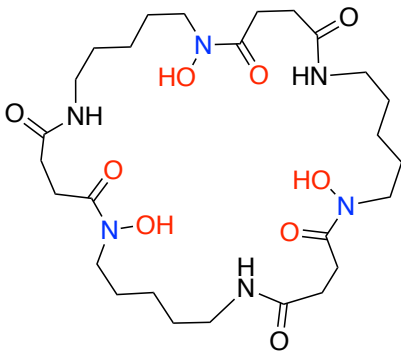


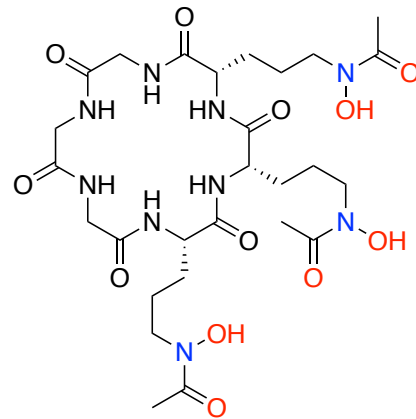
Figure 4 :
Groupement
hydroxamate.



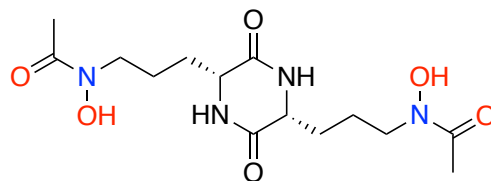
Desferrioxamine B (DFO)



Desferrioxamine E (DFE)



Ferrichrome

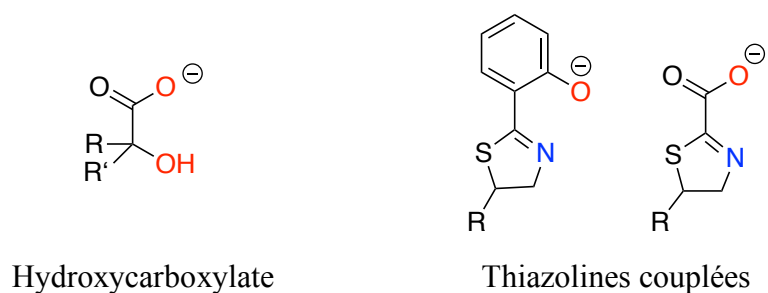


Acide rhodotorulique

Figure 5 : Exemples de siderophores hydroxamiques.

- *autres groupements chélateurs*

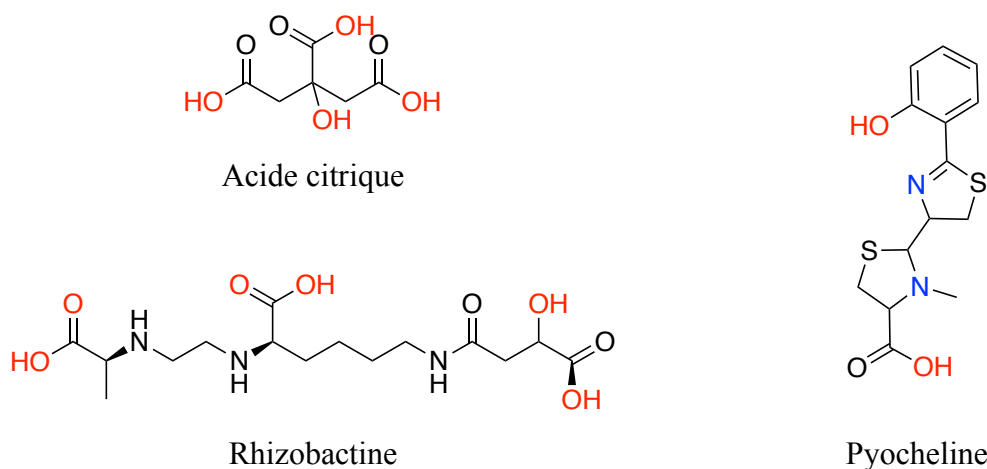
Hormis les catéchols et acides hydroxamiques, il existe deux autres groupements chélateurs pouvant être portés par les siderophores : les hydroxycarboxylate et une thiazoline couplé à un phénolate ou un carboxylate.



Hydroxycarboxylate

Thiazolines couplées

Figure 6 : Autres groupements chélateurs des sidérophores.



Acide citrique

Rhizobactine

Pyocheline

Figure 7 : Exemples de sidérophores avec des groupements hydroxycarboxylates et thiazolines.

En dehors de ces exemples, très peu de sidérophores utilisant seulement un type de ces groupement chélateurs ont été décrits. C'est la raison pour laquelle ces groupements chélateurs ne forme pas une famille de sidérophore. Pourtant, ces groupements vont pouvoir être observés dans la dernière famille, celles des sidérophores mixtes.

- Sidérophores mixtes

Cette dernière famille est composée par tous les sidérophores incorporant différents groupements chélateurs.

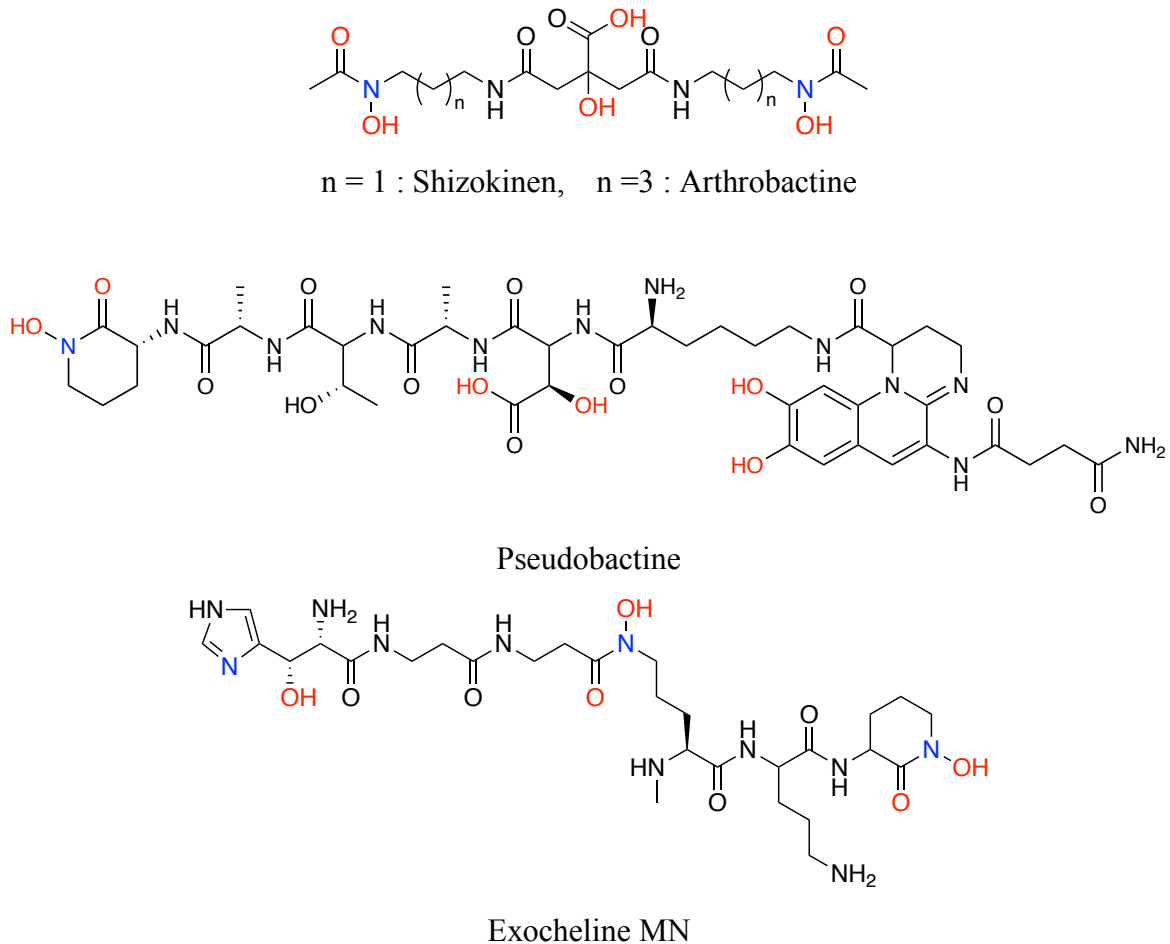


Figure 8 : Exemples de sidérophores mixtes.

Certains sidérophores sont extrêmement rares et il y en a sûrement encore à découvrir. D'autres sont communs et peuvent être observés dans tous types de sols. Une étude d'un sol calcaire par l'équipe de Boiteau ^[8] montre qu'il est possible, par séparation chromatographique de haute précision, d'identifier les différents sidérophores d'un milieu. Dans leur étude, les sidérophores les plus abondants sont l'enterobactine (Figure 3), les ferrioxamines (DFO, DFE) (Figure 5), les citrates di-hydroxamates (shizokinen, arthrobactine) ainsi que la pseudobactine (Figure 8). La quantité de sidérophores est directement liée à l'abondance des microorganismes qui les produisent. Les quatre types de sidérophores évoqués dans l'étude sont respectivement produits par les entérobactéries, les streptomyces, les cyanobactéries et les pseudomonas, des bactéries communes du microbiote du sol.

1.3. Acides hydroxamiques

Pour cette étude et pour la synthèse de nouveaux ligands spécifiques aux actinides tétravalents nous avons décidé de nous focaliser vers le groupement acide hydroxamique.

1.3.1. Hydroxamates linéaires

- Complexes monohydroxamate

De par ses deux atomes d'oxygène donneurs durs, le groupement hydroxamate est un excellent chélateur de métaux « acides de Lewis », tels que l'ion ferrique. Avec le catéchol, c'est le groupement le plus répandu chez les sidérophores. Mais à partir des années 1970, les acides hydroxamiques ont été étudiés et utilisés afin de chélater d'autres métaux acides de Lewis d'intérêt comme les actinides.

Dès 1979, l'équipe de Raymond décrit dans la littérature l'oxydation aérobie de U(IV) en U(VI) stabilisé par la formation d'un complexe de PhBAH. [9]

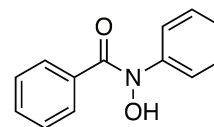


Figure 9 : PhBAH.

Trois ans plus tard, cette même équipe développe le premier concept de séquestrants spécifiques d'actinides tétravalents en utilisant quatre monohydroxamates. [10]

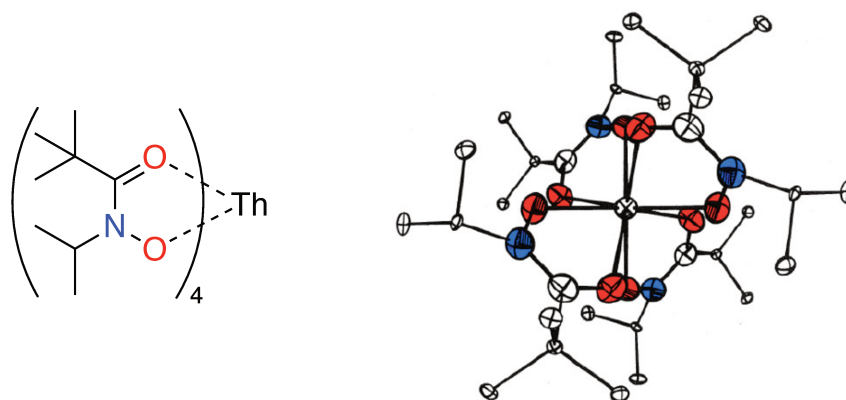


Figure 10 : Structure et figure ORTEP de $\text{Th}[i\text{-PrN(O)C(O)-}t\text{-Bu}]_4$.

Le ligand utilisé était le N-isopropyl-2,2-diméthylpropanehydroxamate. Une purification par sublimation du complexe et une recristallisation dans l'heptane ont permis aux auteurs d'obtenir des cristaux de qualité suffisante pour effectuer une étude radiocristallographique.

- Desferrioxamine B (DFO)

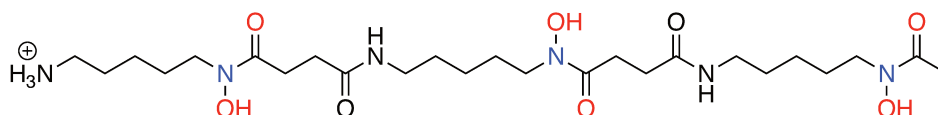


Figure 11 : Formule chimique de la desferrioxamine B ((DFO)H₄⁺) sous sa forme tétraprotonée.

La desferrioxamine B (DFO) est l'un des sidérophores les plus répandus dans l'environnement. Cet acide trihydroxamique est commercialisé en tant que médicament, sous le nom Desferal[®], pour traiter la surcharge de fer dans le corps. Sa relative facilité d'obtention (culture microbienne) et l'excellente stabilité du complexe ferrique en ont fait un sujet d'étude privilégié. Depuis les années 60, la stabilité des complexes de DFO avec un large spectre de cation métallique a été mesurée. [11-14]. Kiss et son équipe ont regroupé ses résultats sous la forme d'une relation d'énergie libre (Figure 12) [13] qui n'a cessé d'être enrichie au fil des années.

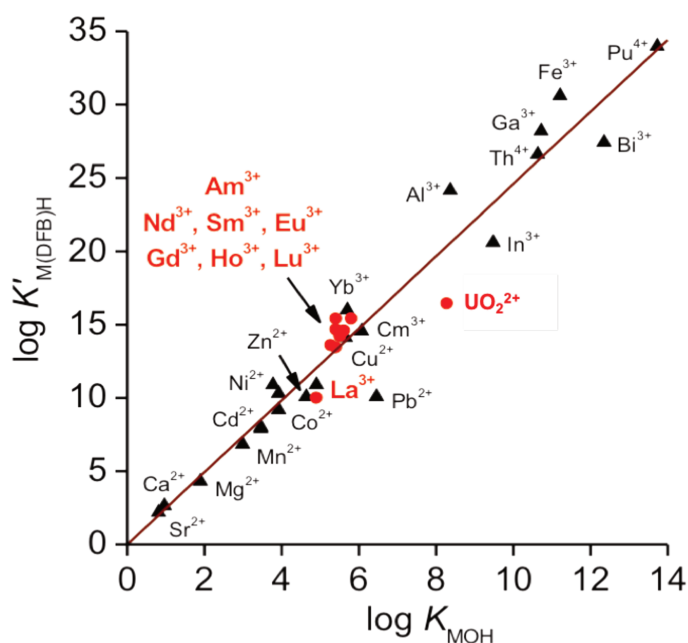


Figure 12 : Diagramme d'énergie libre représentant la variation de la constante de complexation de différents cations par la DFO en fonction de la constante de première hydroxylation.

Les cations métalliques sont placés sur ce graphique en fonction de leur constante de complexation avec la DFO (ordonnée) et de leur constante de première hydroxylation (abscisse). En d'autres termes, ce graphique montre la corrélation entre la stabilité des complexes de DFO et l'acidité des cations métalliques. Comme attendu, la DFO forme avec le Fe^{3+} un complexe extrêmement stable seulement surclassé par le complexe DFO-Pu. Tous les points sont proches d'une droite de fonction $f(x) = 2,46 x$, ce qui nous permet de proposer la loi empirique :

$$\log K'_{M(\text{DFO})\text{H}} = 2,46 \log K_{\text{MOH}}$$

Cette loi, bien qu'approximative, nous permet d'avoir un ordre de grandeur de la constante de complexation de la DFO avec tous les autres cations métalliques. Par exemple, pour Zr^{4+} : $\log K_{\text{ZrOH}} = 13,46$ alors on peut estimer $\log K'_{\text{Zr}(\text{DFO})\text{H}} \approx 33,1$. Cette excellente constante est le point de départ de l'utilisation de la DFO pour la séquestration du ^{89}Zr [15,16] en imagerie par tomographie à émission de positron (TEP), technique qui connaît à l'heure actuelle un fort essor à l'échelle clinique.

Des recherches sur l'impact de la DFO sur la mobilité des radioéléments polluants dans les sols, en particulier du plutonium, ont été publiées. [17-19] Les microorganismes ne pouvant pas faire la différence entre les complexes Fe-DFO et Pu-DFO, ce dernier est assimilé par les bactéries Gram négatif et pénètre le cytoplasme en se substituant au fer dans toutes les protéines impliquées dans le transport de ce dernier sans altérer leur biochimie.

1.3.2. Hydroxamate cyclique, PIPO

- Présentation

À l'instar de la pseudochéline ou l'exochéline MN (Figure 8), certains sidérophores portent un groupement hydroxamate cyclique. D'après la littérature, l'exochéline MN [20] forme un complexe avec le Fe^{3+} largement plus stable que le complexe Fe-DFO ($\log_{\text{FeExMN}} = 38 > \log_{\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}} = 31$), outre la différence de structure des deux siderophores, une raison principale

de cette meilleure stabilité est la présence de cet hydroxamate cyclique. Une étude approfondie sur les groupements acides hydroxamiques linéaire et cyclique a été réalisée au laboratoire.^[21,22]

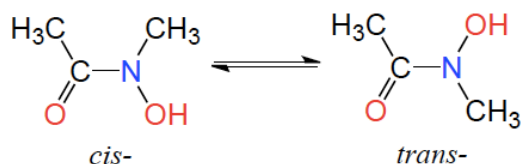


Figure 13 : Échange de conformation *cis-trans* du groupement acide hydroxamique.

Les résultats montrent qu'en solution aqueuse, les acides hydroxamiques adoptent en grande majorité la conformation *trans*, avec un rapport *trans/cis* de 3/1 à 25 °C dans le cas de l'acide *N*-méthyl acétohydroxamique (NMA). Les formes les plus simples d'acide hydroxamique linéaire, le NMA, et cyclique le 1-hydroxypiperidine-2-one (PIPO) sont complexés sur uranyle. L'étude comparative de coordination permet de mesurer les avantages de la forme cyclique.

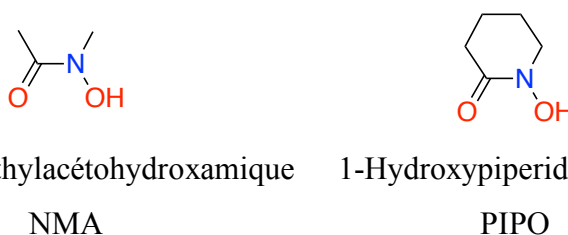


Figure 14 : Structure du NMA et du PIPO.

Seule la conformation *cis* est capable de chélater un centre métallique, le NMA, majoritairement *trans*, doit donc changer de conformation. Pour le PIPO, la structure cyclique de la molécule bloque le groupement chélateur hydroxamate en forme *cis*. L'avantage du PIPO sur le NMA s'explique par le surcoût en énergie nécessaire pour réaliser le changement de conformation. Les résultats de l'étude révèlent que le PIPO est à la fois une base plus forte que NMA mais aussi qu'il va former des complexes plus stables (dans ce cas avec UO_2^{2+} : $\log K_{\text{PIPOM}}$ est plus grand de près d'un ordre de grandeur que K_{NMAM}).

Les motifs hydroxamiques cycliques PIPO mais aussi AZEPO (Figure 15) présentent un réel avantage par rapport à leurs analogues linéaires. Nous allons ici développer les

différentes méthodes de synthèse décrites dans la littérature en nous focalisant sur le motif PIPO, depuis la première, décrite en 1961, à celle que nous avons utilisé dans nos travaux.

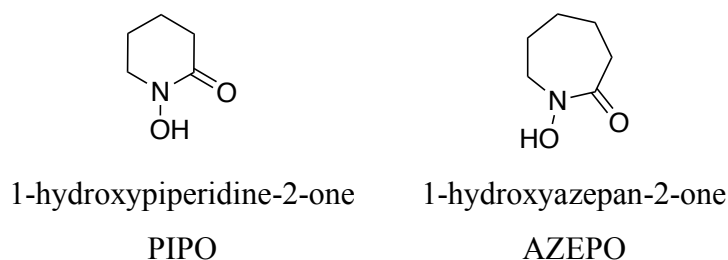


Figure 15 : Structures des acides hydroxamiques cycliques PIPO et AZEPO.

- Synthèse d'acides hydroxamiques cycliques non substitués

Nos travaux de recherche se sont focalisés sur le PIPO et ses dérivés. Comparé au ligand AZEPO, Le PIPO forme un cycle à 6 chaînons au lieu de 7, ce qui lui confère une plus grande rigidité et de ce fait favorise la formation de complexes homoleptiques. De plus, le PIPO a été d'avantage décrit dans la littérature ce qui nous permet d'avoir accès à des données structurales par diffraction des rayons X,^[23] des études de coordinations^[22,24] ainsi que de plus nombreuses voies de synthèse. Ces synthèses, bien que certaines soient applicables pour la formation de l'AZEPO, présentent le plus souvent de bien meilleur rendement pour la formation du PIPO.

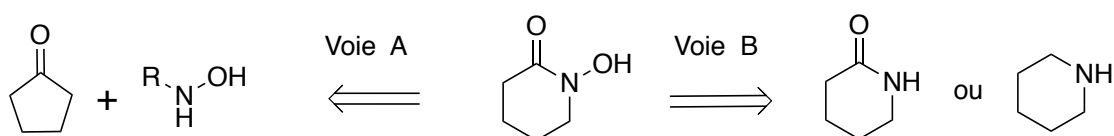


Schéma 1 : Voies de rétrosynthèse du PIPO non substitué.

Il existe plusieurs approches pour former l'acide hydroxamique cyclique PIPO. Historiquement, Panizzi *et al.* (1961) ont développé une réaction d'extension de cycle^[25] (Voie A du Schéma 1). Cette réaction repose sur l'action de l'acide de Piloty qui va réagir avec une cétone cyclique en milieu fortement basique (Schéma 2).

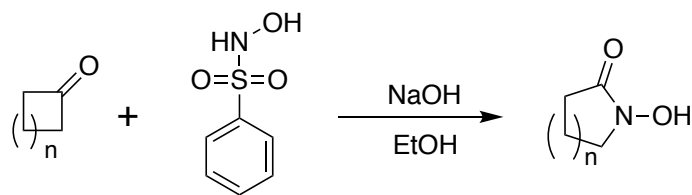


Schéma 2 : Synthèse d'acides hydroxamiques cycliques par extension de cycle.

Par la suite, King et Banerjee^[23] ont optimisé cette réaction pour obtenir un rendement de 69 % pour le PIPO. Les rendements de synthèse d'autres acides hydroxamiques cycliques à 5 et 7 atomes sont bien plus faibles, respectivement 39 % et 5 %.

L'oxydation d'une amine cyclique peut conduire à un acide hydroxamique (Voie B du Schéma 1). Il existe peu d'exemples d'une telle réaction dans la littérature. Black *et al.* ont réussi l'oxydation d'un lactime, par le m-CPBA, pour former l'AZEPO.^[26] Le rendement global de la réaction est cependant très faible, de l'ordre de 3 %.

Plus tard, d'autres groupes ont tenté cette approche avec davantage de succès, tel que Murahashi *et al.* qui ont réussi l'oxydation de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine en l'acide hydroxamique correspondant avec un rendement de 82 % (Schéma 3).^[27]

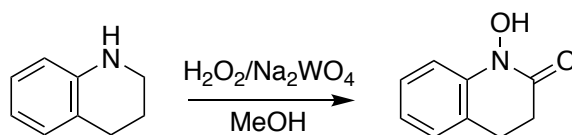


Schéma 3 : Oxydation de la 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine en acide hydroxamique.

Cette oxydation « one pot » est catalysée par du tungstate de sodium. Cependant, bien qu'efficace, cette méthode de synthèse ne fonctionne que sur des bicycles et ne donne aucun résultat concluant avec la pipéridine pour former le PIPO.

Les résultats les plus concluants ont été décrits par Neset *et al.* qui a réussi à oxyder de nombreuses amines secondaires cycliques en leur acide hydroxamique correspondant en utilisant le diméthylidioxirane comme oxydant (Schéma 4).^[28]

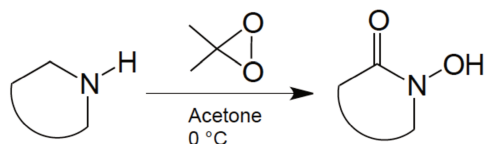


Schéma 4 : Oxydation d'une amine cyclique par le diméthylldioxirane.

Les auteurs ont ainsi isolé le PIPO avec un rendement de 71 %. À notre connaissance, cette méthode n'a pas été explorée pour synthétiser l'AZEPO.

- *Synthèse d'acides hydroxamiques cycliques substitués*

Afin de synthétiser des ligands porteurs de plusieurs fonctions hydroxamique de type PIPO, ce dernier doit posséder dans sa structure une fonction d'encrage, afin de le greffer sur une plateforme « tête de pont » linéaire ou branchée. Trois voies de synthèse de PIPO substitués ont été décrites dans la littérature (Schéma 5).

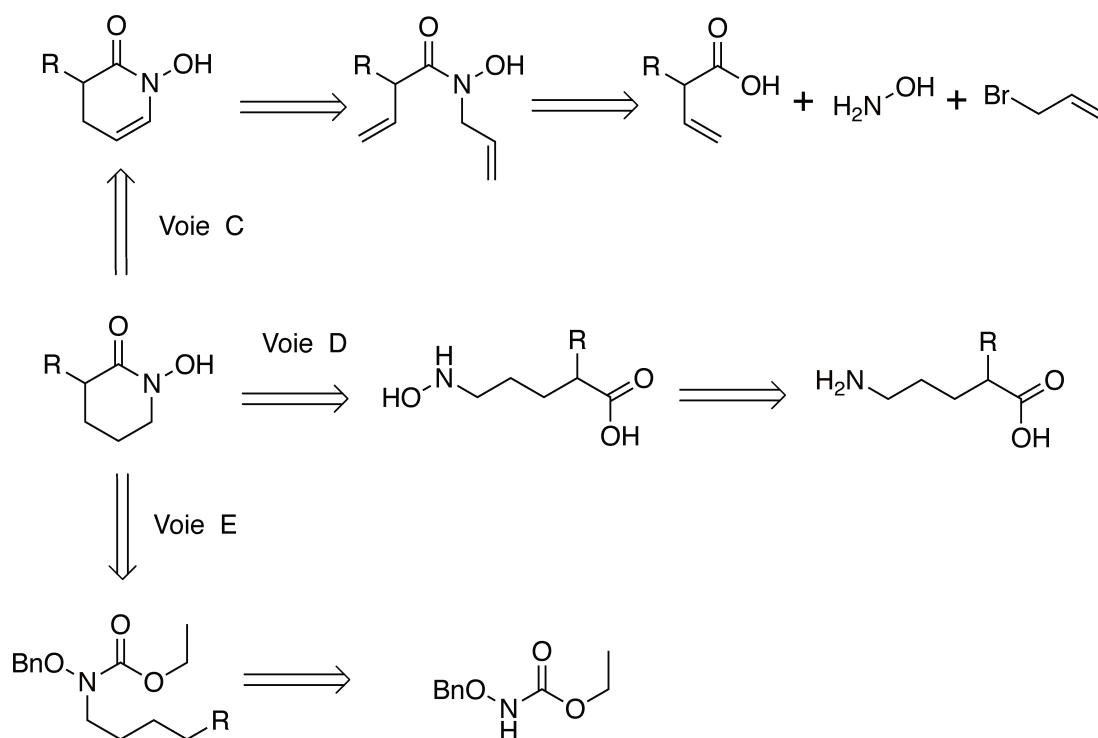


Schéma 5 : Voies de rétrosynthèse de dérivés substitués du PIPO.

Une de ces voies de synthèse consiste à utiliser une réaction de métathèse, catalysé par un réactif de Grubbs de deuxième génération, pour cycliser l'hydroxamate sur lui-même (voie

C, Schéma 5). Nous n'avons pas privilégié cette méthode, car bien que plusieurs groupes aient utilisé cette approche avec succès pour synthétiser des acides hydroxamiques cycliques à 7 atomes^[24,29,30], il existe un unique exemple décrivant la synthèse du PIPO substitués.^[31]

Dans les travaux de synthèse totale du sidérophore exochelin MN, Miller *et al.*^[32] ont synthétisé le cycle PIPO en faisant réagir une nitronne sur un acide carboxylique (Voie D, Schéma 5 et Schéma 6). Dans ce cas, le groupe fonctionnel d'ancrage R est une amine primaire.

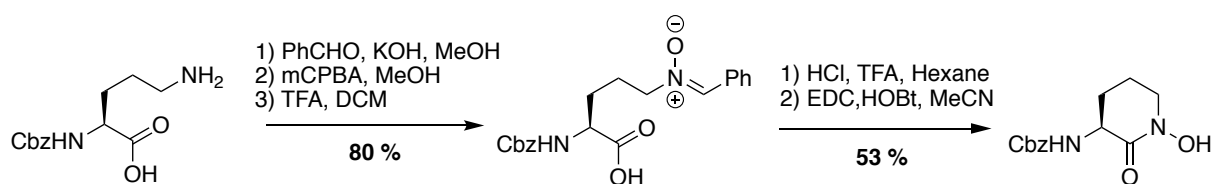
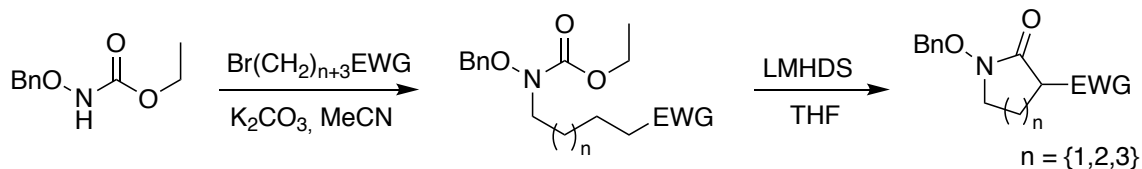


Schéma 6 : Synthèse du PIPO substitué selon la méthode de Miller.^[32]

La nitronne est synthétisée à partir de l'ornithine, dont l'atome d'azote est protégé par un Cbz, de benzaldéhyde et de m-CPBA. Après déprotection de la fonction hydroxylamine en milieu acide, la cyclisation est réalisée avec un bon rendement. Ces auteurs ont utilisé cette approche pour la synthèse du groupement AZEPO lors de la synthèse totale du sidérophore Mycobactine S.^[33]

Les méthodes de synthèse proposées par Miller sont attrayantes en raison de leurs bons rendements et de la mise en jeu de réactifs commerciaux, notamment d'acides aminés qui permettent de contrôler la chiralité du carbone porteur de la fonction amine. La déprotection du groupement Cbz permet d'utiliser l'amine comme fonction d'ancrage du groupement PIPO. En revanche, si l'on cherche à utiliser une autre fonction d'ancrage que l'amine, cette voie de synthèse est trop limitante. Cette méthode ne permettant pas d'ancrer les chélateurs PIPO sur des polyamines linéaires ou branchés, nous avons donc décidé de nous tourner vers l'approche de Gopalan *et al.* (Voie E Schéma 5) qui offre une plus grande liberté sur la diversité des substituants du cycle PIPO.^[34]

Schéma 7 : Synthèse du PIPO substitué selon la méthode de Gopalan.^[34]

Le benzyloxycarbamate d'éthyle, est mis à réagir avec une grande variété de dérivés bromés, de tailles variables ($n = 1, 2, 3$) porteurs de différents groupes électro-attracteurs en bout de chaîne (EWG = SO_2Ph ; CO_2Et ; CN ; $\text{PO}(\text{OEt})_2$; SOPh). La cyclisation est réalisée en milieu basique et la température a été optimisée pour chaque précurseur (de -78 à 25 °C). Par cette approche, le groupe de Gopalan a synthétisé une palette d'acides hydroxamiques cycliques de taille variable et porteurs de différentes fonctions d'ancrage en position α du groupe carbonyle. Les rendements sont excellents, avoisinant les 80 % pour la grande majorité d'entre eux.

1.3.3. Hydroxamate cyclique, HOPO

Une dernière forme d'acide hydroxamique aromatique a pu être isolée par culture bactérienne de *Pseudomonas alcaligenes*.^[35] Cette forme quasiment unique d'hydroxamate dans les sidérophore est appelé HOPO. Bien qu'extrêmement rare dans la nature, le HOPO a suscité un grand intérêt quant à la production de nouveaux chélateurs. La molécule est le centre des recherches de l'équipe de Raymond depuis les années 1980.^[36,37]

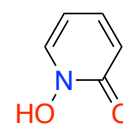
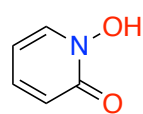
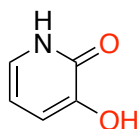


Figure 16 :
1-Hydroxy-2(1H)pyridinone
1,2-HOPO.

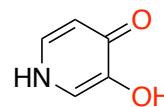
Il est important de préciser qu'à partir de ce point le terme HOPO fera toujours référence au 1,2-HOPO.



1,2-HOPO



3,2-HOPO



3,4-HOPO

Figure 17 : Structures des différents isomères du HOPO.

Bien qu'intéressants pour la chélation, étant des analogues de catéchols, les isomères 3,2-HOPO et 3,4-HOPO ne sont pas des acides hydroxamiques et de ce fait, ne seront pas discutés dans la suite de ces travaux.

La synthèse du HOPO est assez simple et maîtrisée depuis plusieurs décennies,^[36] mais ce groupement chélateur présente plusieurs désavantages vis-à-vis du PIPO.

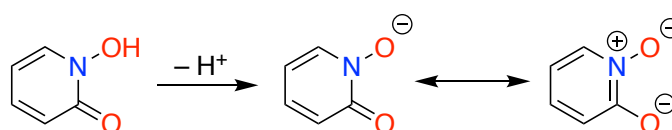


Schéma 8 : Mésonérie du HOPO déprotoné.

L'aromaticité du cycle favorise les échanges tautomériques au sein de la molécule déprotonée, ce qui a pour effet d'augmenter l'acidité de celle-ci et donc de diminuer son affinité vis-à-vis des cations métalliques « acide de Lewis ». De plus, le cycle aromatique confère une certaine hydrophobie.

Pour toutes les raisons évoquées, des trois formes d'acide hydroxamique présentées, c'est le groupement PIPO qui présente les plus grands avantages pour la synthèse de nouveaux ligands hydroxamates. De plus, c'est la voie qui a le moins été explorée dans la littérature.

1.4. Ligands tétrahydroxamates

La grande majorité des sidérophores possèdent trois sites de chélation, leurs permettant de compléter la sphère de coordination de l'ion ferrique hexacoordiné. Bien qu'ils soient capables de chélater des cations métalliques tétravalents (Zr^{4+} , Th^{4+} , Pu^{4+}), ils ont besoin de co-chélateurs, le plus souvent de deux molécules d'eau.

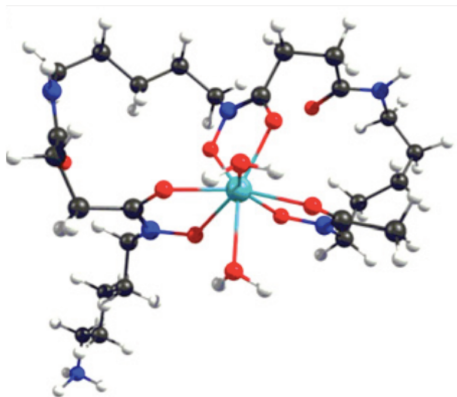


Figure 18 : Structure DFT optimisée du complexe $[\text{}^{89}\text{Zr HDFO})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$.^[16]

Afin d'accroître la stabilité des complexes de métaux tétravalents, nous avons choisi de synthétiser de nouveaux ligands portant quatre groupements hydroxamate. Ce chapitre présente un état de l'art des différents acides tétrahydroxamiques existants.

1.4.1. Ligands tétrahydroxamate linéaires

Les premières à proposer un ligand linéaire possédant quatre groupements acides hydroxamiques furent Santos et son équipe,^[38] dans un but de chélation du plutonium. Le H₄CDTMAHA n'a malheureusement jamais montré de résultats probants.

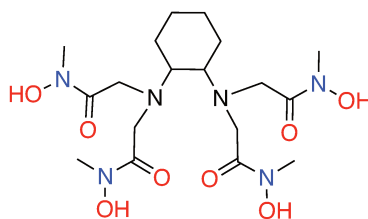


Figure 19 : Structure du H₄CDTMAHA.^[38]

Ces dix dernières années, la DFO fut le chélateur le plus utilisé pour le marquage d'anticorps avec le ^{89}Zr pour l'imagerie TEP. Pourtant, des études ont montré que la stabilité du complexe ^{89}Zr -DFO *in vivo* est limitée, provoquant une accumulation de ^{89}Zr dans la moelle osseuse.^[16,39] Le zirconium demande une octacoordination afin de former un complexe stable. Cette dernière décennie, de nombreuses équipes ont proposé de nouveaux ligands tétrahydroxamates afin de répondre à la demande.^[40]

En 2014, l'équipe de Mindt a publié la synthèse d'une version étendue de la DFO en lui ajoutant un groupement acide hydroxamique, appelé DFO*.^[41] Trois ans plus tard, ce même groupe a revu complètement la synthèse de leur ligand, incorporant des fonctions éther au milieu des chaînes carbonées pour une meilleur hydrosolubilité : cette version fut appelé oxoDFO*.^[42]

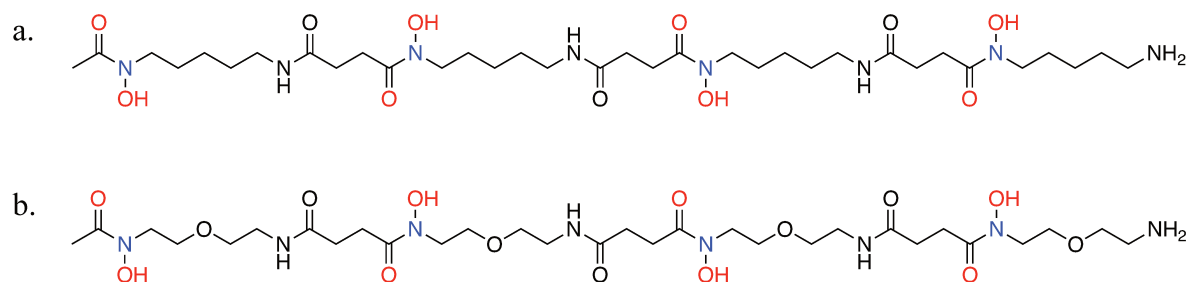


Figure 20 : a) Structure de DFO* ;^[41] b) Structure de oxo-DFO*.^[42]

Dans la même période, en s'inspirant de la DFE (Figure 5), l'équipe de Brechbiel mit au point une méthode de synthèse de tétrahydroxamates couronnes de différentes tailles, notés C5, C6 et C7.^[43] Trois ans plus tard, Wängler et son équipe ont synthétisé le CTH36,^[44] un analogue tétrahydroxamates de la DFE, imitant la même structure.

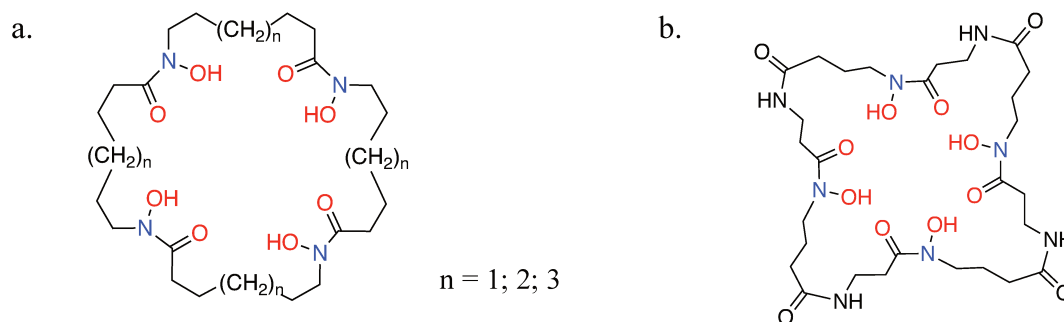
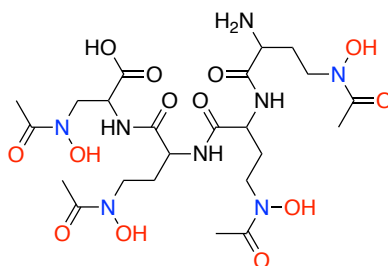
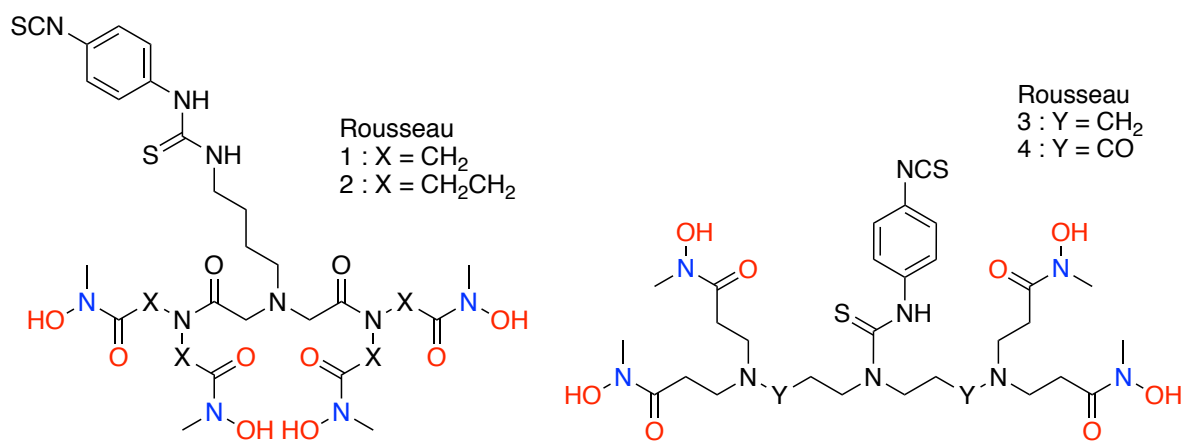


Figure 21 : a) Structure des tétrahydroxamates couronnes C5-C7 ;^[43] b) Structure de CTH36.^[44]

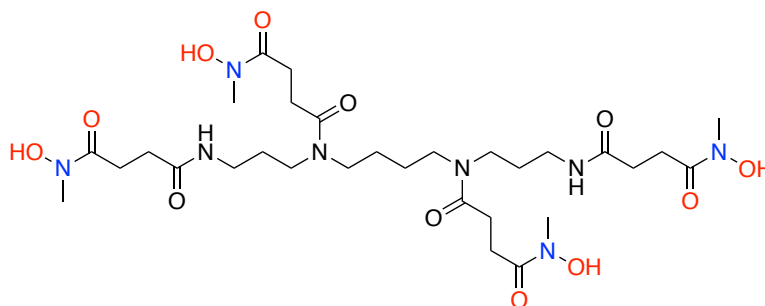
Boros et son équipe se sont inspirés du ferrichrome (Figure 5) afin d'en synthétiser un analogue tétrahydroxamate nommé Orn4-hx.^[45]

Figure 22 : Structure du ligand Orn4-hx.^[45]

En quittant les ligands inspirés de sidérophore, Bénard et son équipe ont proposé un ligand tétrahydroxamique bifonctionnel, décliné sous quatre formes en faisant varier le squelette carboné.^[46,47] Ces ligands sont appelés Rousseau 1, 2, 3, 4.

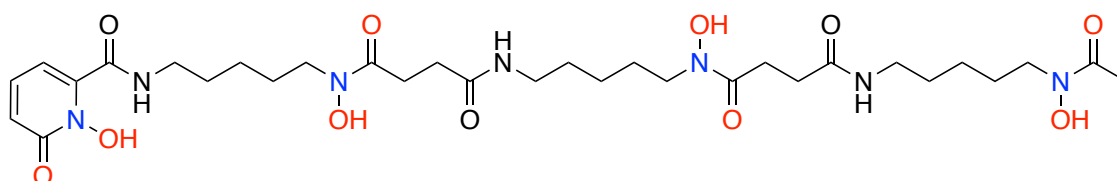
Figure 23 : Structure des ligands Rousseau 1, 2, 3, 4.^[46,47]

Le dernier ligand de cette liste est le 4HMS, synthétisé par Guérin et son équipe.^[48] Comme le précédent, ce ligand plus n'est pas directement inspiré d'un sidérophore mais reprend une technique de synthèse développée par Raymond et son équipe, utilisant la tétraamine linéaire, spermine, afin d'y greffer quatre groupements chélateurs.

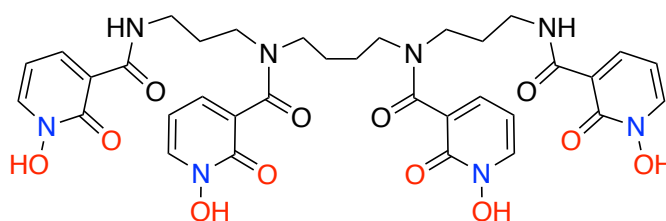
Figure 24 : Structure du ligand 4HMS.^[48]

1.4.2. Ligands tétrahydroxamate HOPO

Le groupement HOPO (Figure 16) est au cœur des recherches de l'équipe de Raymond. Ce groupement est utilisé afin de synthétiser des ligands tétrahydroxamate spécifiques aux actinides tétravalents. Dès 1988, l'équipe propose la synthèse de la DFO-HOPO et du 3,4,3-LIHOPO.^[37,49]



DFO-HOPO



3,4,3-LIHOPO

Figure 25 : Structure de la DFO-HOPO et du 3,4,3-LIHOPO.^[37,49]

Le ligand 3,4,3-LIHOPO est devenu le cheval de bataille de l'équipe de Raymond. Ses propriétés de coordination ont d'abord été comparées à toute la gamme de ligands tétracathécolate synthétisés par l'équipe.^[7,50,51] Puis il est proposé pour l'imagerie TEP du ^{89}Zr , couplé à un antigène.^[52,53] L'équipe a par la suite publié des résultats d'études de coordination approfondies du ligand avec des lanthanides,^[54] des métaux lourds,^[55] des nanoparticules d'or,^[56] et surtout avec les actinides.^[57-60] Les bons résultats de ce ligand et les abondantes analyses publiées à son sujet ont contribué à faire du 3,4,3-LIHOPO une molécule majeure et incontournable de ce champ d'étude.

L'équipe a proposé d'autres structures de tétra-HOPO, telle que les gammes de ligands flexibles H(m,2)-1,2-HOPO et H(xOn,2)-1,2-HOPO.^[61] Quel que fût leur potentiel, aucun ligand n'a été le sujet d'études de coordination aussi poussées que le 3,4,3-LIHOPO.

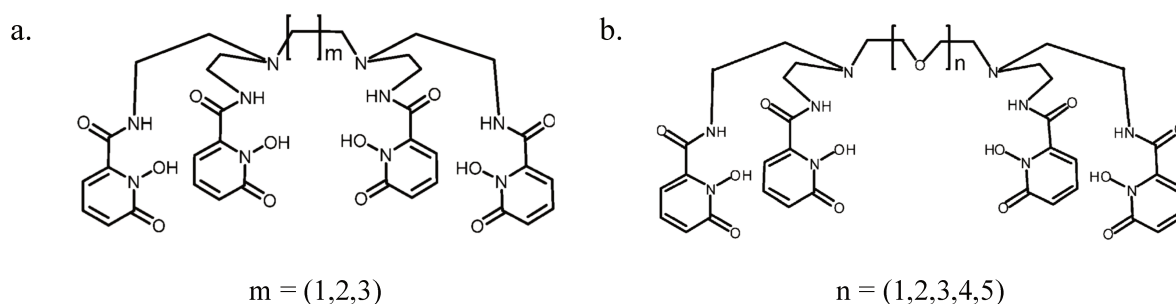


Figure 26 : a) Structure des ligands H(m,2)-1,2-HOPO ; b) Structure des ligands H(xOn,2)-1,2-HOPO.^[61]

1.4.3. Ligands tétrahydroxamates PIPO

Malgré ses avantages sur les autres formes hydroxamates, la synthèse du PIPO étant complexe, seul Chambron et ses collaborateurs ont entrepris la synthèse de ligands tétrahydroxamates incorporant quatre fonctions cycliques de type PIPO. Le premier fut le Calix[4]arène-PIPO.^[62]

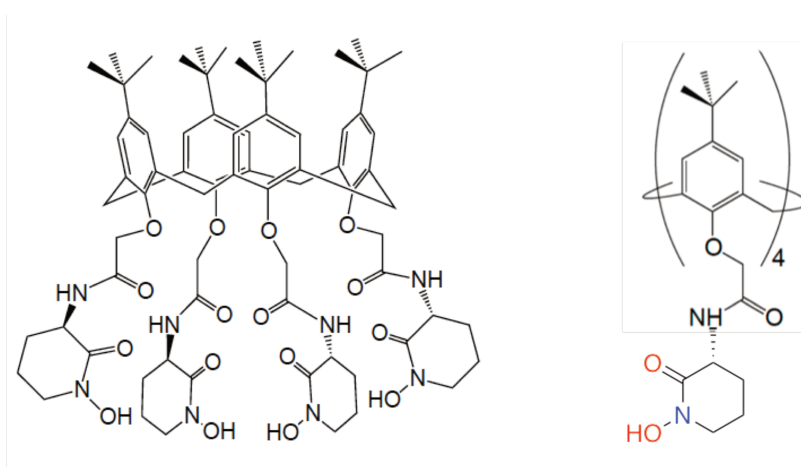
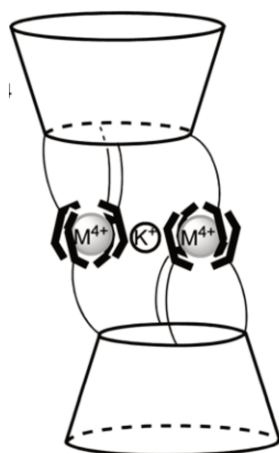
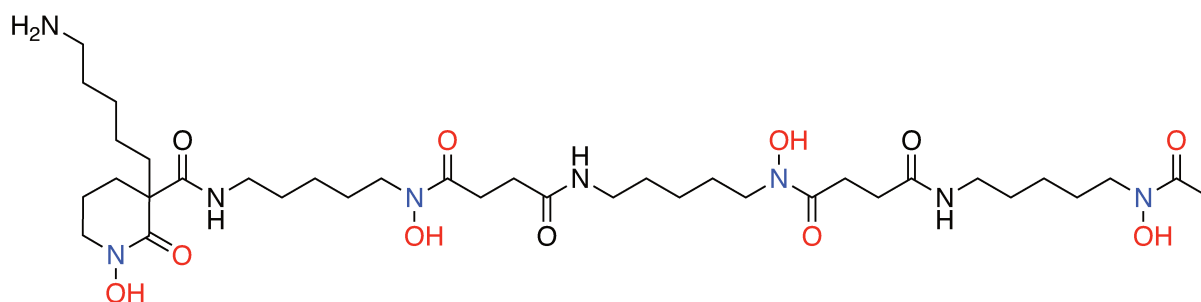


Figure 27 : Structure du ligand Calix[4]arène-PIPO.^[62]

Après une étude de coordination avec le zirconium et le hafnium, il apparut que la molécule est trop rigide pour compléter sans tension la sphère de coordination des métaux. Lors de la complexation c'est un dimère $[M_2KL_2]$ qui a été isolé, c'est-à-dire un système composé de deux centres métalliques et de deux ligands piégeant un ion potassium.

Figure 28 : Représentation du système $[M_2KL_2]$.^[62]

Le deuxième tétrahydroxamate PIPO proposé par l'équipe de Meyer fut la DFO-PIPO,^[63] reprenant l'idée de prolongement de la DFO, utilisée pour la synthèse de la DFO-HOPO (Figure 25) et DFO* (Figure 20).

Figure 29 : Structure de la DFO-PIPO.^[63]

L'étude décrit le couplage du ligand à un anticorps et la chélation de ^{89}Zr en vue de développer une sonde TEP. Des tests de stabilités comparatifs avec la DFO et la DFO* ont été réalisés *in vitro*. Les complexes $[^{89}\text{Zr}(\text{DFO-PIPO})]$ et $[^{89}\text{Zr}(\text{DFO}^*)]$ possèdent des stabilités équivalentes nettement supérieures à celles de $[^{89}\text{Zr}(\text{DFO})]$. Le complexe de DFO-PIPO est même supérieur à celui de DFO* dans le cas de la sonde TEP complète (DFOPIPO-Trastuzumab).

1.5. Immobilisation de la DFO

Dans l'optique de mettre au point un capteur spécifique pour les actinides, le greffage de molécules chélatantes de taille importante sur un support doit être maîtrisée. En raison de sa grande affinité vis-à-vis des actinides tétravalent fortement « acide de Lewis » comme Pu^{4+} et Th^{4+} [14,19] ou de leurs succédanés comme Zr^{4+} ou Fe^{3+} , mais aussi de sa disponibilité commerciale, nous avons choisi d'étudier le greffer la DFO. L'ancrage covalent doit être chimiquement stable et la réaction de couplage avec le support polymère doit être efficace afin de greffer une quantité importante de ligand.

L'un des principaux avantages de la DFO réside dans l'existence d'une fonction amine terminale qui n'est pas impliquée dans la chélation des métaux. De ce fait, elle peut être utilisée comme fonction d'ancrage sur différents supports sans *a priori* affecter les propriétés de complexation de la DFO.

1.5.1. Greffage sur anticorps

Comme précisé précédemment, la DFO est un excellent chélateur du zirconium. Cette propriété en a fait une molécule de choix pour le diagnostic de cancers par imagerie TEP au zirconium-89. Avant d'être injecté dans le corps, le complexe $[\text{}^{89}\text{Zr}(\text{DFO})]$ est fonctionnalisé par le biais d'un connecteur à un anticorps qui va cibler un antigène surexprimé en surface des cellules tumorales (Figure 30).

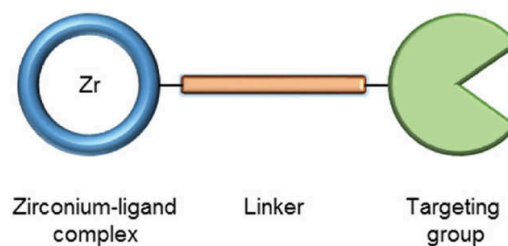


Figure 30 : Diagramme schématique d'une sonde d'imagerie TEP.

Une des cibles biologiques qui a été le plus étudiée pour vectoriser la DFO est sans doute l'anticorps monoclonal Trastuzumab (mAb) qui cible la protéine HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2) surexprimée par de nombreuses cellules tumorales, notamment celles responsables du cancer du sein.^[64,65]

La première approche de sonde bifonctionnelle de DFO fut proposée par le groupe de van Dongen.^[15] Elle est constituée de la DFO et de l'anticorps, tous deux liés par liaison peptidique à un espaceur acide succinique. Ce dernier est mis à réagir avec l'amine terminale de la DFO. Pour augmenter la réactivité de l'acide carboxylique disponible du N-succinyl formé vis-à-vis d'une amine pendante de l'anticorps, un ester intermédiaire est formé grâce au 2,3,5,6-Tetrafluorophenol (TFP). Pour éviter que le TFP ne réagisse sur les acides hydroxamiques, la DFO a préalablement été complexée par du fer (III). Une fois la sonde bifonctionnelle assemblée, le complexe ferrique a été dissocié en présence d'un excès d'EDTA. Finalement, la sonde bifonctionnelle est mise au contact de $^{89}\text{Zr}^{4+}$, produit par bombardement de protons (14 MeV) sur une cible d'yttrium 89 dans un cyclotron.

Pour éviter l'utilisation du complexe de fer qui requiert une étape de démétallation, une alternative a été proposée qui met en jeu une fonction thioisocyanate terminale capable réagir de manière aléatoire avec les groupes $-\text{NH}_2$ des résidus lysines de l'anticorps (Figure 31).^[66]

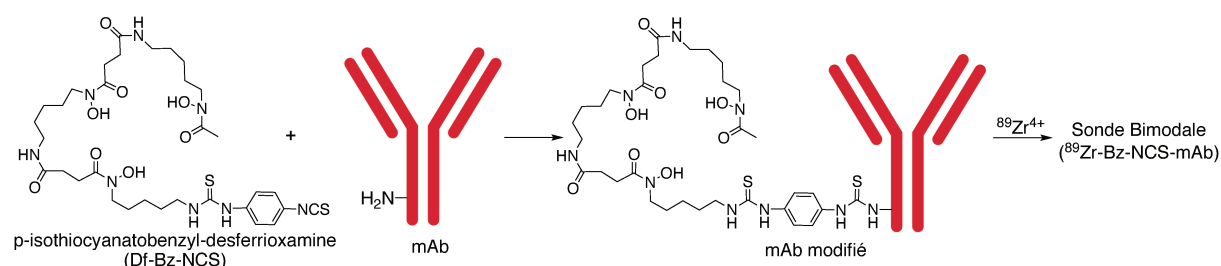


Figure 31 : Synthèse de la sonde bifonctionnelle ^{89}Zr -DFO-Bz-NCS-mAb.^[66]

En effet, le groupement isothiocyanate étant inerte vis-à-vis des acides hydroxamiques, le 1,4-bis(isothiocyanato)benzène réagit uniquement sur l'amine terminale de la DFO. L'adduit ainsi formé, porteur d'une fonction isothiocyanate, réagit alors avec les fonctions amine des lysines présentes dans l'anticorps. La dernière étape consiste à complexer cet agent d'imagerie par le zirconium-89. La limite de cette technique est le faible rendement de la réaction ($\sim 10\%$) et l'impossibilité de contrôler la localisation de la DFO au niveau de l'anticorps. Ceci peut entraîner une diminution de son affinité avec l'antigène et ainsi réduire son efficacité.

Pour tenter de remédier à ce problème, une approche reposant sur la chimie click a été récemment proposée.^[67] Une région de l'anticorps éloignée du site de fixation de l'antigène mais

riche en glycanes, a été identifiée et modifiée par un dérivé azido du galactose (GalNAz) par un procédé enzymatique impliquant la galactose transférase. La DFO a été fonctionnalisée par un alcyne cyclique contraint et l'assemblage a été réalisé par chimie click sans catalyseur pour former la sonde bifonctionnelle TEP. Cette méthode présente l'avantage de contrôler précisément la nature des sites d'ancrage, leur localisation et leur distribution sur l'anticorps (Figure 32).

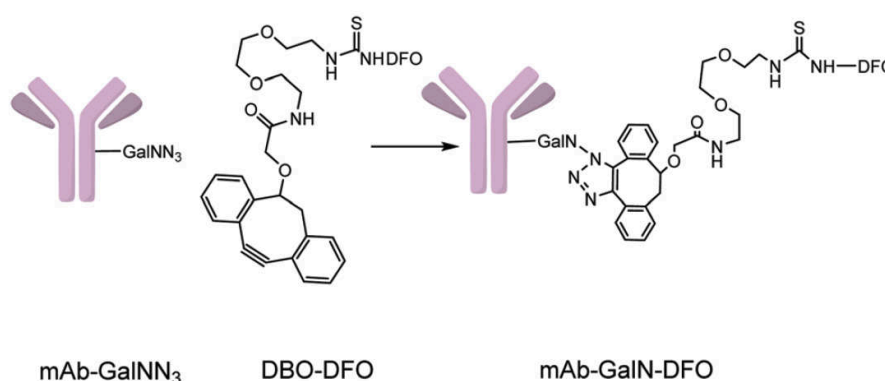


Figure 32 : Couplage par chimie click de la DFO sur un anticorps monoclonal (mAb) modifié par voie enzymatique par un motif azidogalactose (GalNN₃).^[67]

1.5.2. Greffage sur supports solides

De nombreux supports solides ont été fonctionnalisés par la DFO. Nous pouvons citer des solides nanométriques tels que des nanotubes de carbones^[68] pour développer des sondes de fer ou des objets moléculaires par assemblage de cyclodextrines^[69] pour traiter les surcharges de fer dans l'organisme humain. Des matériaux inorganiques comme des silices mésostructurées ont également été fonctionnalisées par la DFO. Le but étant de développer des capteurs d'ion ferrique dans l'eau de mer,^[70] dans les urines,^[71,72] ou encore un capteur bimodale en couplant la DFO à une fluorescéine.^[73] Parmi ces exemples, les deux méthodes principales de greffage de la DFO sur un support solide sont décrites ci-dessous.

Pour l'immobilisation de la DFO sur les nanotubes de carbone l'équipe de He a généré une liaison peptidique entre un acide carboxylique pendant et l'amine terminale de la DFO.

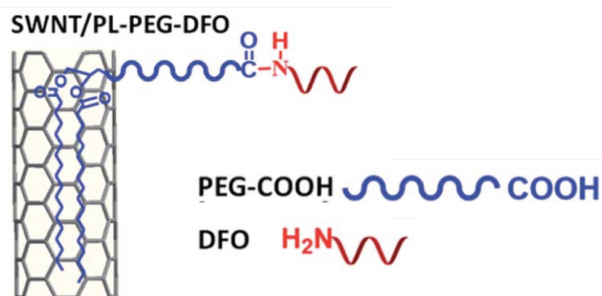


Figure 33 : Représentation schématique de DFO greffées sur nanotubes de carbone.^[68]

La deuxième méthode est celle utilisée par l'équipe de Biesuz.^[72] La silice mésoporeuse est modifiée en surface afin de lui faire porter des cycles époxy pendants. Au contact de l'amine terminale de la DFO, ces groupes époxy s'ouvrent créant une liaison covalente carbone-azote (Figure 34).

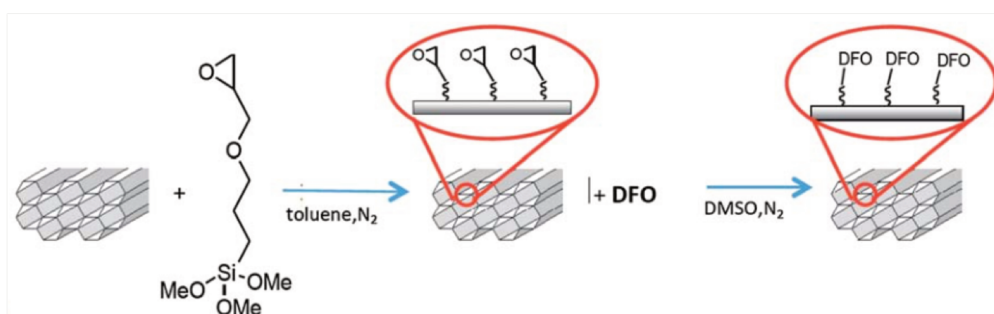


Figure 34 : Synthèse de silice mésoporeuse fonctionnalisée par la DFO.^[72]

Cette même méthode a déjà été utilisée par le groupe de Ruangviriyachai pour greffer la pyoverdine I sur de la silice.^[74] La pyoverdine I est un sidérophore mixte constitué de deux sites hydroxamiques et une fonction catéchol.

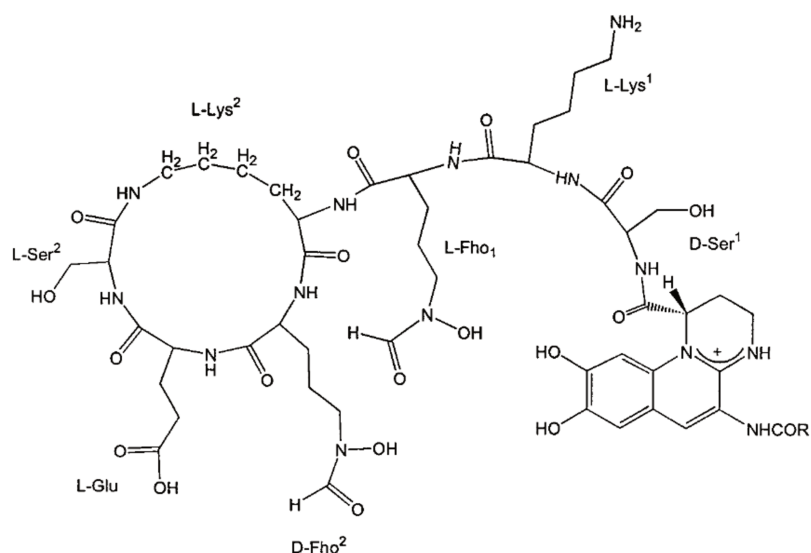


Figure 35 : Structure de la Pyoverdine I.

La dernière catégorie de supports solides, sur laquelle la DFO a été greffée, est la famille des polymères organiques. C'est aussi la plus importante de par la diversité des supports.

La cellulose, par son abondance et sa facilité d'accès, a intéressé plusieurs groupes de recherche. Le premier est celui de Takagai, qui, dès 2007, propose le greffage de la DFO sur cellulose,^[75] en vue de faire des bandelettes indicatrice pour détecter le vanadium (V).

Figure 36 : Calibration de la concentration de la solution de vanadium ; a = 0 mg/L -> f = 50 mg/L.^[75]

Le greffage n'a pas été réalisé selon l'une des deux méthodes évoquées précédemment. Ici, une partie des fonctions hydroxyle pendantes de la cellulose a été substituée par des atomes de chlore sous l'action de chlorure de thionyle. Après une transallogénéation par du NaI, le papier est mis au contact de la DFO afin qu'une seconde substitution nucléophile a lieu avec l'amine terminale de la DFO, la fixant de ce fait au papier. Le groupe de Biesuz a repris ces travaux en faisant une étude cinétique complète des indicateurs colorés en papiers et en étendant leurs champs d'action au fer.^[76]

Tyagi et coll. ont mentionné une autre méthode de greffage de la DFO sur de la cellulose par l'ouverture de cycles glucose et la formation d'une liaison imine entre l'amine primaire du sidérophore et la fonction aldéhyde ainsi libérée.^[77]

Une propriété particulièrement intéressante d'une résine organique couplée à un ligand comme la DFO, est le fait d'avoir un matériau chélatant réutilisable. Une fois les chélateurs saturés, le matériau peut être lavé par une solution concentrée d'un ligand de faible coup et ainsi retrouver son état initial. Plusieurs de ces matériaux incorporant de la DFO sont décrits dans la littérature et sont basés sur différents polymères organiques. L'équipe de Chen propose la sépharose,^[78] celle de Takagai le nylon 6,6^[79] et celle de Kizhakkedathu une gamme de copolymères acryliques.^[80] Plus récemment, l'équipe de Takagai a synthétisé un nouveau matériau à base d'esters acryliques réticulés (EG80)^[81] en vue de faire de la captation d'uranium.

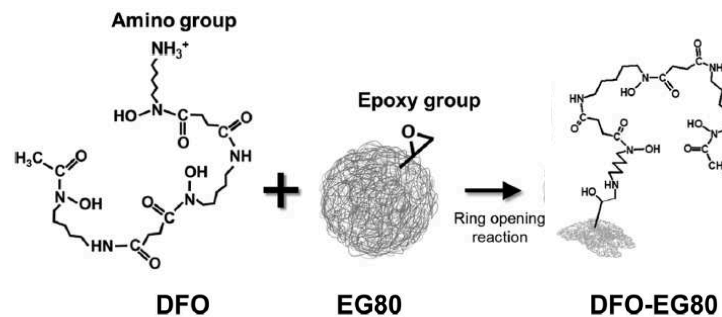


Figure 37 : Greffage de la DFO sur la résine d'ester acrylique EG80.^[81]

1.6. Capteurs DGT

1.6.1. Présentation

L'analyse DGT (Diffusive Gradients in Thin Films) est une technique d'échantillonnage passif d'un analyte (trace métallique ou métalloïde) en milieu naturel. Le principe repose sur sa diffusion au travers d'un gel diffusif jusqu'à un gel chélateur, sur lequel il va s'accumuler. Cette technique a été mise au point par Davison et Zhang en 1994.^[82] Tout d'abord pensée pour l'échantillonnage dans l'eau (douce et salée),^[82,83] les années suivantes ont vu cette technique se répandre à l'utilisation dans les sols^[84,85] et dans des stations d'épuration d'eaux usées.^[86]



Figure 38 : Capteur DGT.

Les capteurs DGT sont assemblés en laboratoire avant d'être déployés dans le milieu d'étude. Pendant une durée définie, typiquement de 1 à 5 jours, le dispositif va accumuler l'élément cible, avant d'être récupéré puis démonté. Les analytes accumulés sur le gel chélateur sont ensuite extraits et l'analyse permet alors d'obtenir une concentration moyenne des éléments cibles à un endroit précis sur la durée d'exposition des échantillonneurs. Avec un échantillonnage important d'une même zone, une cartographie de la concentration peut même être établie.

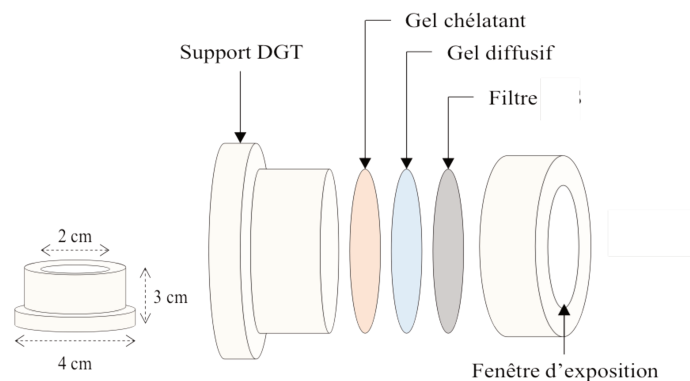


Figure 39 : Dimension et vue éclatée d'un capteur DGT.

Le dispositif est composé d'un support et une bague en acrylonitrile butadiène styrène servant à encapsuler les trois couches circulaires d'intérêt :

- Le filtre maintient la fraction colloïdale hors du système DGT et protège le cœur du capteur de potentielles abrasions et altérations.
- Le gel diffusif est un hydrogel permettant de contrôler le transport des analytes au sein du dispositif.

- Le gel chélatant (ou récepteur) encapsule une matrice chélatrice adaptée aux substances à échantillonner. Après leur migration au travers du filtre et du gel diffusif, les analytes se fixent et s'accumulent ainsi sur le gel chélatant.

1.6.2. Principe de fonctionnement théorique

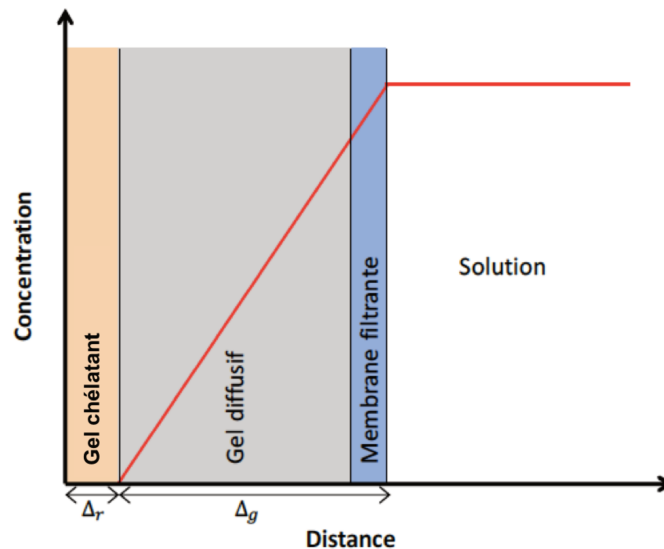


Figure 40 : Représentation graphique du gradient de concentration dans un dispositif DGT.

Il existe un gradient de concentration de l'analyte au travers du DGT. La couche de diffusion, composée du filtre et du gel diffusif, a une épaisseur connue (Δg). Grâce aux lois de la diffusion, nous pouvons établir ce gradient au travers de la couche de diffusion en état stationnaire. Selon la première loi de Fick, la densité de flux (φ) d'analyte s'exprime selon l'équation 1 :

$$\varphi = \frac{D(C - Cr)}{\Delta g}$$

D : coefficient de diffusion dans la couche de diffusion ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

Δg : épaisseur de la couche de diffusion (cm)

C : concentration en analyte dans la solution (ng mL^{-1})

Cr : concentration en analyte à la surface du gel chélatant (ng mL^{-1})

Équation 1

Le gel chélatant étant composé de ligands spécifiquement choisies pour l'analyte, celui-ci va donc être chélaté de façon stable et instantanée dès qu'il entre au contact du gel chélatant. Tant que la totalité des chélateurs n'est pas saturée, il est légitime d'affirmer que la concentration en analyte en surface du gel chélatant (C_r) est nulle. L'équation 1 peut donc être simplifiée :

$$\varphi = \frac{D \cdot C}{\Delta g}$$

Équation 2

La densité de flux peut également être définie par la masse d'analyte accumulée dans le gel chélateur (m) en fonction de l'aire de la fenêtre d'exposition (A) (Figure 39) et de la durée d'exposition (t). φ peut donc être aussi défini comme :

$$\varphi = \frac{m}{A \cdot t}$$

m : masse d'analyte accumulée dans le gel chélateur (ng) A : aire de la fenêtre d'exposition (cm ²) t : durée d'exposition (s)
--

Équation 3

En combinant les équations 2 et 3, la concentration de l'analyte en solution peut être exprimé par la relation 4.

$$C = \frac{m \cdot \Delta g}{D \cdot A \cdot t}$$

Équation 4

L'aire de la fenêtre d'exposition (A), l'épaisseur de la couche de diffusion (Δg) et la durée d'exposition (t) sont des paramètres connus et contrôlables. Le coefficient de diffusion (D) se détermine expérimentalement en laboratoire. L'élution ou la minéralisation du gel chélateur suivie de l'analyse de l'éluat permettent d'obtenir la masse d'analyte accumulée (m). Le principe théorique du fonctionnement des capteurs DGT repose sur l'équation 4, permettant

de connaître la concentration de l'analyte observé. Cependant en milieu naturel, plusieurs paramètres vont impacter le fonctionnement du DGT.

1.6.3. Facteurs influençant le fonctionnement du capteur DGT

- La température

La température du milieu échantillonné a un impact sur la mesure. En effet, le coefficient de diffusion dans la couche de diffusion (D) est directement dépendant de la température : il est donné par la loi de Stokes-Einstein (Équation 5)

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

k_B : Constante de Boltzman
T : Température
η : Viscosité
r : Rayon de la particule sphérique

Équation 5

La température du milieu doit donc être suivie au cours de l'échantillonnage et le coefficient de diffusion dans la couche de diffusion doit donc être corrigé en fonction.

- couche limite de diffusion

Devant la fenêtre d'exposition du capteur se forme une fine couche de solution dans laquelle l'analyte diffuse vers le filtre. La concentration en analyte n'est donc pas constante et un gradient de concentration se met en place dans cet espace, appelé couche limite de diffusion (CLD).^[83]

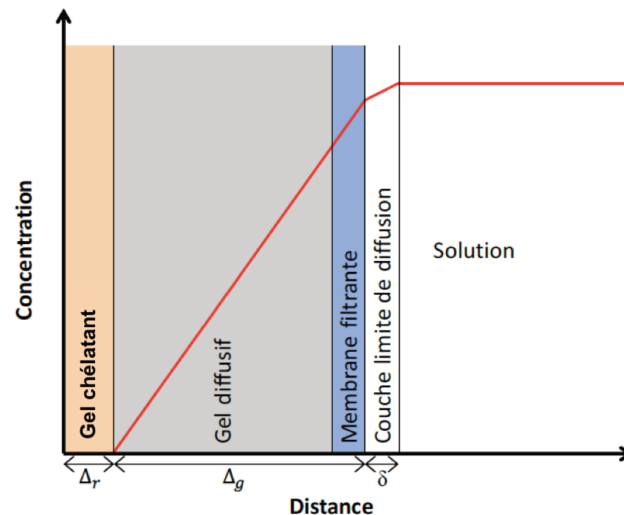


Figure 41 : Représentation graphique du gradient de concentration dans un dispositif DGT et la CLD.

L'épaisseur (δ) de cette couche limite dépend de la vitesse d'agitation de la solution. Au laboratoire, dans une solution agitée mécaniquement ou dans un cours d'eau naturellement agité, l'impact de la CLD est négligeable ($\delta \leq 0,2$ mm).^[82,87] Dans tous autres cas, la CLD doit être prise en compte. Son épaisseur peut être estimée en déployant plusieurs dispositifs DGT avec des épaisseurs de gel diffusif différentes, puis en adaptant l'équation 4 pour prendre en compte δ .^[88]

$$\frac{1}{m} = \frac{1}{t \cdot C \cdot A} \left(\frac{\Delta g}{D_g} + \frac{\delta}{D_{eau}} \right)$$

D_g : coefficient de diffusion dans la couche de diffusion

Δg : épaisseur de la couche de diffusion

D_{eau} : coefficient de diffusion dans la CLD

δ : épaisseur de la CLD

Équation 6

Le coefficient de diffusion est le même pour toute la couche de diffusion (gel diffusif et filtre) mais au dehors du DGT, dans la CLD, il faut utiliser le coefficient de diffusion de l'eau.^[89,90]

- Diffusion latérale

Jusqu'à présent, dans les équations 4 et 6, il a été considéré que les analytes diffusaient dans le dispositif DGT uniquement perpendiculairement au gel chélateur. En réalité, l'existence

d'une diffusion latérale au niveau des bords de la fenêtre d'exposition a été démontré par Warnken et coll.^[90]

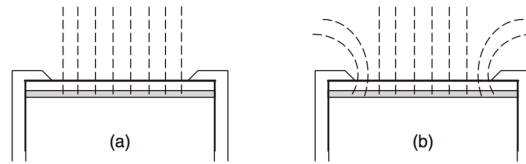


Figure 42 : Représentation de la diffusion d'un analyte au travers d'un DGT, a) dans un modèle théorique idéal ; b) en prenant compte de la diffusion latérale.^[87]

Cette simple représentation graphique montre que l'équation de la densité de flux en fonction de la masse d'analyte accumulé sur le gel chélateur Équation 3 est erronée. En effet, l'air sur laquelle s'accumule l'analyte est différente de l'aire de la fenêtre d'exposition. L'équipe de Warnken utilise donc une aire effective (A_{eff}) afin de proposer l'équation corrigée 7 qui tient compte de la CLD et de la diffusion latérale.

$$C = \frac{m(D_{eau} \cdot \Delta g + D_g \cdot \delta)}{t \cdot D_{eau} \cdot D_g \cdot A_{eff}}$$

Équation 7

Néanmoins, Warnken et coll. ont aussi montré que dans une eau naturelle bien agitée l'utilisation de l'équation 4 non corrigée reste totalement valide. En effet, l'impact de la diffusion latérale tend à contrebalancer celui de la CLD : les deux équations 4 et 7 donnent donc des résultats très proches.^[90] Dans des effluents peu agités, l'équipe de Uher a démontré que l'utilisation de l'équation simplifiée 4 engendre une erreur inférieure à celle provenant de l'analyse et peut donc être négligée.^[91] Bien que théoriquement l'équation 7 soit plus juste, elle n'est dans les faits que rarement utilisée. Sa mise en place est lourde car elle demande de déterminer l'épaisseur de la CLD (δ), ce qui nécessite le déploiement de plusieurs échantillonneurs DGT avec des gels diffusifs d'au moins 4 épaisseurs différentes.^[92]

- Biofouling et encrassement minéral du dispositif DGT

Le « biofouling » est le développement d'une couche de micro-organismes (bactéries, algues, champignons), appelée biofilm, à la surface du capteur DGT. Ce biofilm est

généralement accompagné d'un dépôt minéral provenant des matières en suspension dans l'eau.^[93] Le dépôt (biofilm et encrassement minéral) impact directement l'efficacité du DGT, par obstruction au filtre mais aussi en formant une couche qui peut adsorber une partie de l'analyte.^[94] La formation d'un biofilm est particulièrement rapide dans certains milieux propices, tel que les eaux usées ou les eaux riches en phosphores.^[95] Le dépôt met plusieurs jours à se développer une fois le dispositif DGT immergé. Une étude de l'équipe de Uher^[96] montre que même dans un milieu optimal pour le développement d'un biofilm, son impact peut être complètement négligé durant les sept premiers jours d'immersion.

- Hydrochimie du milieu

Les hydrogels et les filtres utilisés dans les applications DGT peuvent porter des charges fixes dans leurs structures et des sites réactionnels vis-à-vis de certains ions. Une compétition entre ces sites et la résine chélatrice peut avoir lieu. Afin de limiter cet effet, l'équipe de Warnken a démontré l'importance de l'étape de rinçage des gels après leur préparation.^[97] Les chercheurs rapportent que cette étape permet d'éliminer les résidus réactionnels chargés. Les gels d'agarose présentent des charges fixes négatives à l'origine d'un effet électrostatique qui perturbe la diffusion des analytes dans le capteur DGT en accélérant la migration d'espèces de charges opposées et en repoussant des espèces de même charge en solution.^[98,99] Cet effet de charge est inversement proportionnel à la force ionique de la solution. Dans des solutions de forces ioniques inférieures à 1 mmol.L⁻¹, ces effets électrostatiques ne peuvent plus être négligés et ce, même avec des gels correctement rincés.^[97,100] Ainsi, il faut s'assurer que le milieu échantillonné ait une force ionique suffisante pour pouvoir interpréter les résultats de DGT de manière fiable.

Le pH du milieu est également un paramètre déterminant de la technique DGT. Les ligands de la phase chélatrice ont tous une fenêtre de pH hors de laquelle leur efficacité est diminuée. Par exemple, la résine Chelex, largement utilisé pour les cations métalliques, nécessite que le pH de milieu soit supérieur à 5. (Figure 43)

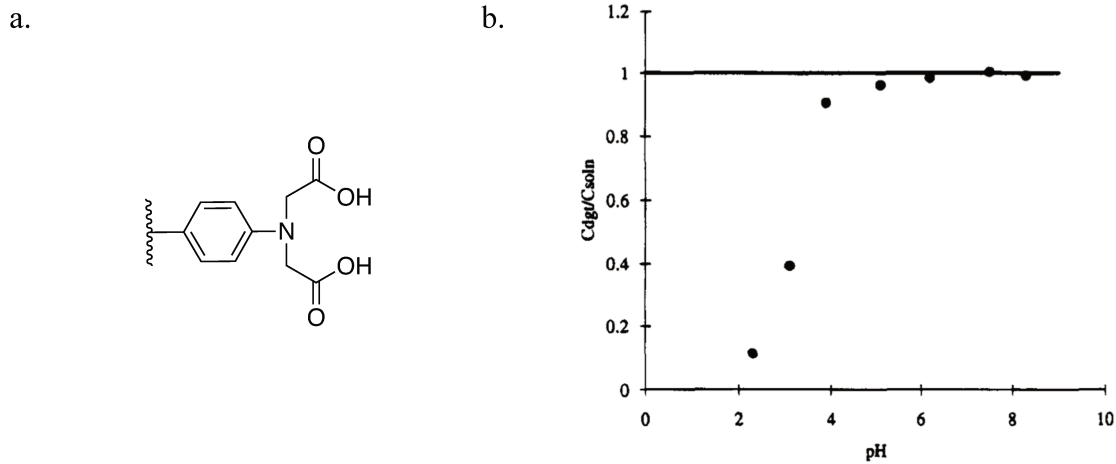


Figure 43 : a) Représentation d'une résine Chelex ; b) Effet du pH sur un DGT Chelex, ratio de concentration de Cd^{2+} mesuré par DGT (C_{dgt}) sur la concentration mesurée par spectroscopie (C_{soln}).^[83]

La résine Chelex doit son efficacité aux groupements acide iminodiacétique. En deçà de pH 5, le capteur DGT Chelex va sous-estimer la concentration en analyte du milieu du fait de la compétition des protons.^[83]

En utilisant une résine de faible sélectivité vis-à-vis de l'analyte, un phénomène de compétition peut être observé entre l'élément d'intérêt et d'autres ions présents en solution. Si la présence de l'ion interférant est importante dans le milieu de déploiement, il en résulte une saturation des sites de la résine et sa capacité d'accumulation se retrouve fortement diminuée. L'ampleur de ce phénomène dépend des paramètres cinétiques de l'ion compétiteur, de sa constante de stabilité, ainsi que des paramètres physico-chimiques tels que le pH et la force ionique (FI) du milieu.^[101]

1.6.4. Avantages de la technique DGT

Par opposition à un échantillonnage conventionnel ponctuel, la technique DGT est qualifiée d'échantillonnage passif. Les éléments cibles sont accumulés dans le dispositif pendant toute la période d'exposition avant d'être analysés en laboratoire. Bien que les deux méthodes peuvent se révéler complémentaires, la technique DGT présente des avantages majeurs :

- Suivre des variations de concentration

Dans un milieu où la concentration en analyte peut subir d'importantes variations (eaux courantes), les prélèvements ponctuels donnent une image de la concentration à un instant donné. Ces mesures ne seront pas représentatives de la concentration réelle sur une période. L'échantillonnage passif permet d'obtenir une concentration moyenne sur toute la durée d'exposition. Il permet alors d'avoir une meilleure représentation temporelle qu'un échantillonnage ponctuel peu rapproché.^[102,103]

- Analyse de la fraction labile de l'analyte

En solution, l'élément étudié peut être sous forme labile : ions libres ou complexes inorganiques. Cette fraction n'a aucune difficulté à être accumulée par le dispositif DGT, contrairement à la phase non labile composée de colloïdes. Les complexes organiques se situent entre les deux : certains complexes peuvent migrer vers le gel chélateur et d'autre non, en fonction de leur cinétique de dissociation. Ici, la notion de labilité est directement liée à la technique DGT, et l'ensemble des éléments capables de migrer au travers du dispositif est qualifiée d'espèces DGT-labiles.

La technique DGT est particulièrement intéressante pour l'analyse d'élément toxique. En effet, la fraction DGT-labile d'un élément a tendance à coïncider avec sa fraction biodisponible.^[104,105] En d'autres termes, la technique DGT peut donner une indication sur la contamination des organismes vivants.^[106-109]

- Échantillonnage in situ

Avant analyse, l'échantillon ponctuel est transporté et stocké et pendant cette période il peut subir des modifications entraînées par des variations de lumière, d'agitation ou de température. Ces modifications peuvent profondément perturber les analyses, en particulier des transferts entre les fractions dissoute et adsorbée ou des changements de spéciation rédox. La technique DGT est une méthode d'échantillonnage in situ. L'analyte est prélevé au sein même de la matrice environnementale et est chélaté à l'intérieur du capteur, limitant ainsi les changements pouvant se produire au sein de l'échantillon lors de son transport ou de son stockage.

- Limite de détection abaissée

La technique DGT permet de concentrer les éléments traces dans le gel chélateur et les analytes sont ensuite élués dans un volume relativement faible. Ainsi, cette technique permet de détecter et quantifier des concentrations plus faibles que par la méthode d'échantillonnage ponctuel. L'équipe de Buzier a réalisé une étude comparative sur la détection de cadmium par échantillonnage direct et par dispositif DGT-Chelex.^[110] Pour des prélèvements ponctuels suivis d'analyses par ICP-MS sans accumulation, la concentration minimale observable, autrement dit, la limite de quantification de la technique, est de 30 ng.L⁻¹. Les dispositifs DGT-Chelex mis en œuvre lors de cette étude, après 14 jours d'immersion, ont été capables de détecter et quantifier une concentration de Cd²⁺ de 0,5 ng.L⁻¹. Grâce à sa limite de quantification extrêmement basse, la technique DGT est particulièrement intéressante pour quantifier des éléments potentiellement dangereux pour l'Homme et l'environnement, même à l'échelle de trace (radionucléides, métaux lourds).

1.6.5. Éléments analysables par échantillonnage DGT

- Les différents dispositifs DGT

Les dispositifs DGT les plus fréquemment utilisés possèdent des gels chélateurs non spécifiques, ce qui permet d'analyser toute une gamme de traces métalliques et métalloïdes. Dans le tableau ci-dessous sont rassemblés les quatre gels les plus courants, les analytes ciblés et les conditions d'utilisations en termes de pH et de force ionique.

Tableau 4 : Gel chélateur les plus courant utilisé dans les dispositifs DGT.

Gel chélateur	Analytes cibles	Conditions d'utilisation
Chelex-100	Zn, Cd, Co, Ni, Cu, Al, Pb, Cr, Mn, Fe, As, Hg, U ^[111-114]	pH : 5,0 – 8,5 I : 0,01–750 mM NaNO ₃
Metsorb (TiO ₂)	As, V, Sb, Mo, W, Se, P, U ^[115-118]	pH : 4,0 – 8,3 I : 1 – 700 mM NaNO ₃
Zr-oxide	P, As, Cr, Mo, Sb, Se, V, W ^[119-122]	pH : 3 – 10 I : 0,01–750 mM NaNO ₃
Ferrihydrite	As, Mo, Sb, V, W, Se, P ^[88,118,123]	

Afin de couvrir un panel d'analytes encore plus large avec un seul dispositif DGT, des gels chélateurs hybrides ont vu le jour. Il s'agit de phases réceptrices composées de deux agents chélateurs. Certaines combinaisons sont impossibles car les agents chélateurs interfèrent entre eux, mais malgré tous, de nombreux DGT hybrides ont été développés, tel que le DGT Metsorb-Chelex capable de mesurer en même temps la quantité de six cations (Mn, Co, Ni, Cu, Cd, Pb) et de six oxyanions (V, As, Mo, Sb, W, P) avec la même efficacité que deux DGT Chelex et Metsorb séparés.^[124,125]

Hormis ces dispositifs à large spectre d'utilisation, d'autres sont spécifiques à un seul analyte. Par exemple, le gel chélateur d'iodure d'argent permet d'analyser uniquement le soufre^[126] et le gel Spheron-Thiol uniquement le mercure.^[127]

- Analyse d'actinides par échantillonnage DGT

De par sa limite de détection extrêmement basse, la technique DGT est particulièrement adaptée pour l'analyse d'éléments toxiques, même à l'échelle de traces comme les actinides. Dans le cas de l'uranium, plusieurs résines chélatrices ont été étudiées, telle que la Chelex, la Metsorb, la Diphonix ^[128] et le dioxyde de manganèse ^[129]. Ces dispositifs DGT ont été testés dans différents milieux : eaux douces, eaux salées et sites miniers uranifères. Bien qu'ils soient en mesure d'analyser l'uranium labile, ces capteurs rencontrent rapidement des problèmes de

compétition entre les analytes. En effet, ces résines chélatrices génériques manquent de sélectivité pour l'uranium.

À ce jour, l'échantillonnage DGT du plutonium a seulement été étudié par l'équipe de Froidevaux. Ces chercheurs ont commencé par utiliser un dispositif DGT-Chelex^[130] et comme pour l'uranium ils ont rencontré des problèmes de compétitions. Récemment, cette même équipe s'est efforcée à développer une résine chélatrice de meilleur sélectivité.^[131]

1.7. Objectifs des travaux de thèse

Le but ultime de ce sujet d'étude est de développer un dispositif DGT spécifique aux actinides tétravalents (Th^{4+} et Pu^{4+}). La partie essentielle du capteur DGT est sa phase réceptrice, composée d'un gel emprisonnant une résine chélatrice spécifique pour le ou les éléments souhaités. En laissant à nos partenaires (IRSN, IJCLab, Triskem) la fabrication des gels, le montage du dispositif DGT et les analyses physico-chimiques, nous nous sommes focalisés sur la synthèse de la résine chélatrice. Pour y parvenir, nous avons séparé les travaux en deux axes majeurs, que nous avons exploré parallèlement.

Le premier axe porta sur les résines chélatrice d'actinides destinées à manufacturer des capteurs DGT, en d'autres termes, développer une méthode fiable de greffage de ligand sur une résine. Pour ce faire, il a fallu en premier lieu choisir une résine adaptée et « gelifiable ». Le ligand DFO a été sélectionné pour mettre au point cette méthode de greffage efficace car, comme vu précédemment, ce ligand possède une grande affinité avec les actinides tétra- et hexavalent, ainsi qu'une amine terminale qui sera la clé d'ancrage pour ce greffage sur résine. De plus, la DFO est accessible commercialement ce qui permet une production de résine à échelle de plusieurs dizaines de grammes nécessaires pour la confection et la qualification de dispositifs DGT.

Le deuxième axe concernera la synthèse de ligands adaptés pour la complexation d'actinides tétravalents. En s'inspirant des sidérophores et en constatant la supériorité du groupement PIPO sur les autres formes d'acides hydroxamiques, la première étape consista à synthétiser des motifs PIPO substitués. Une étude approfondie du protocole de synthèse, des propriétés de coordination et de la stéréochimie des différents motifs PIPO, permet leur utilisation dans la synthèse de tétrahydroxamates octadentes adaptés à la sphère de coordination des actinides tétravalents. Les quatre motifs PIPO ont été greffés sur différents squelettes carbonés de longueur et de flexibilité variables, générant ainsi plusieurs ligands. Leur analyses et les tests de coordination avec le thorium et le zirconium permirent l'identification du ligand optimal. La synthèse de ce tétraPIPO a été finalement revue afin d'ajouter au squelette un bras de greffage amine, pouvant servir de fonction d'ancrage pour la fonctionnalisation de résines grâce à la méthode développée avec la DFO.

II. Synthèses de résines fonctionnalisées et capteurs DGT

Malgré la grande variété de supports solides utilisés pour le greffage de la DFO, il ressort de l'analyse bibliographique présentée dans le chapitre précédent que la fonctionnalisation des polymères par ce sidérophore est réalisée essentiellement par deux voies de synthèse différentes : le couplage peptidique entre l'amine terminale de la DFO avec des fonctions acide carboxylique ou par l'ouverture de cycle époxyde du polymère. Ces deux voies apparaissent donc comme des méthodes efficaces pour fonctionnaliser les résines polymères. C'est pourquoi nous nous sommes focalisés sur ces deux méthodes pour greffer la DFO sur les polymères que nous allons mettre en jeu dans l'élaboration de capteurs DGT.

2.1. Résine Carboxy polystyrène

2.1.1. Greffage

- Choix de la résine

L'ancrage de la DFO est assuré par une réaction de couplage peptidique entre l'amine terminale de la DFO et une fonction acide carboxylique portée par la résine. Il est à noter que le cahier des charges imposé par la technique de préparation des capteurs par gélification de la résine chélatrice avec un liant hydrophile (agarose) requiert une taille des particules de résine d'environ 100 – 200 mesh (75 – 150 μm). Une résine carboxy-polystyrène de granulométrie adaptée (140 μm) et fonctionnalisée par des fonctions acides carboxylique a donc été sélectionnée dans un premier temps.

- Greffage de la DFO

La réaction de couplage peptidique entre la DFO et la résine a été effectuée dans des conditions usuelles en mettant en jeu un agent de couplage de type carbodiimide comme le *N*-(3-diméthylaminopropyl)-*N'*-éthylcarbodiimide (EDC) (Figure 44).

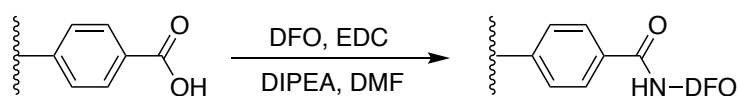


Figure 44 : Fonctionnalisation de la résine Carboxy polystyrène.

Tous les réactifs nécessaires au greffage ont été introduits dans une seringue en plastique équipée d'un filtre au travers duquel est introduit le solvant, puis placée sur un agitateur rotatif. Cette technique, empruntée aux biochimistes, présente l'avantage d'être simple à mettre en œuvre et facilite le lavage des résines en fin de réaction. Le greffage de la DFO peut être quantifié par analyse élémentaire de la résine fonctionnalisée. La quantité d'azote permet en effet de déterminer le taux de greffage car seule la DFO contient cet élément.

2.1.2. Limitations

Afin de mettre qualitativement en évidence la présence de la DFO sur la résine modifiée, cette dernière a été mise en suspension en présence d'une solution de nitrate ferrique ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$) afin d'observer un changement de couleur. La coloration instantanée rouge vif de la résine modifiée, caractéristique du complexe trishydroxamato de fer(III) ($\lambda_{\text{max}} = 425 \text{ nm}$ pour $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ en solution aqueuse), a été observée dans le THF, ce qui témoigne du greffage du chélateur sur le polymère. En revanche, la résine reste incolore lorsqu'elle est mise en contact d'une solution aqueuse d'ions Fe^{3+} , probablement en raison de son fort caractère hydrophobe de la matrice polystyrène. Cette absence totale de réactivité de la résine est rédhibitoire pour notre application, car la sonde DGT que nous souhaitons développer doit piéger les cations métalliques dans des milieux aquatiques (rivière, eau de mer) ou dans l'eau poreuse de sols contaminés. Des résines plus hydrophiles sont donc requises pour mener à bien notre projet d'élaboration de capteurs passifs de type DGT pour la détection de métaux toxiques.

2.2. Résine CM Sephadex C25

2.2.1. Greffage

- Choix de la résine

Afin de satisfaire les critères physico-chimiques précédemment exposés, notre choix s'est ensuite porté sur une résine de type CM Sephadex C25 (Figure 45). C'est un polysaccharide carboxyméthylé et la forte concentration en groupements alcool lui confère un caractère fortement hydrophile. À ce jour, la résine Sephadex a été utilisée comme support de greffage uniquement dans le milieu biomédical. Le greffage de chaînes PEG (poly(éthylène glycol)), de par sa biocompatibilité et sa non toxicité, a été largement utilisée par les

biochimistes. Greffer des chaînes PEG sur un support solide comme la Sephadex^[132,133] permet d'obtenir une matrice PEG pouvant être utilisée dans la synthèse de peptides, les réactions enzymatiques ou comme micro-porteurs in vitro.

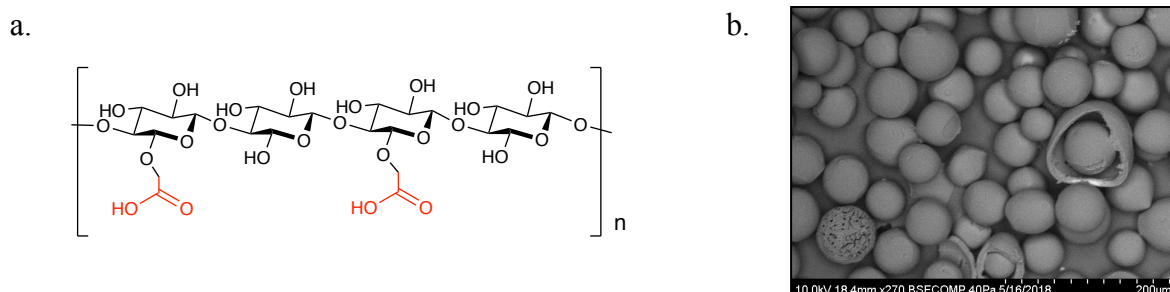


Figure 45 : a) Représentation schématique de la résine CM Sephadex C25, b) Cliché MEB de la résine.

Notre choix fut également guidé par la granulométrie de cette résine qui présente des tailles de particules de 100 μm d'après le fournisseur (Sigma-Aldrich). Après analyse par microscopie électronique MEB (Figure 45), il s'avère que la taille des particules est dispersée entre 40 et 125 μm . La densité des fonctions acide carboxylique est de 4–5 mmol/g d'après le fournisseur. Le titrage potentiométrique du polymère a permis de quantifier plus précisément la teneur en fonction acide carboxylique et une valeur de 4,27 mmol/g a été déterminée (Figure 46).

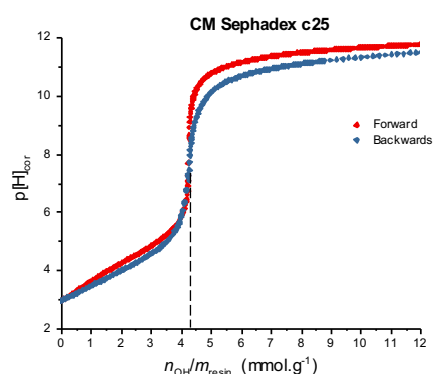


Figure 46 : Titrage potentiométrique de la résine Sephadex par une solution de NaOH 0,1 M.

- Greffage de la DFO

Après des premiers essais de greffage de la DFO en seringue, le premier lot de résine modifié (**Seph 1**) a été synthétisé (Figure 47).

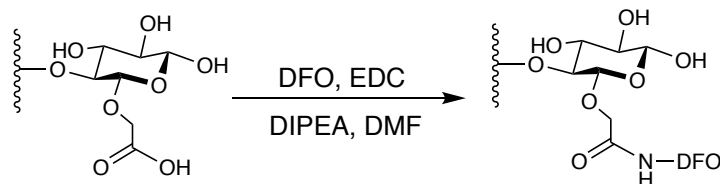


Figure 47 : Fonctionnalisation de la résine Sephadex.

Un gramme de résine fut mis à réagir avec la DFO (0,5 équiv.) et l'EDC (1,5 équiv.) dans le DMF, en présence de DIPEA, pendant 2 jours à 40 °C. La résine commerciale et celle après greffage ont été analysées par analyse élémentaire et l'hypothèse selon laquelle tout l'azote présent sur la résine modifiée provient de la DFO est admise.

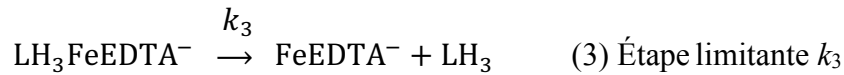
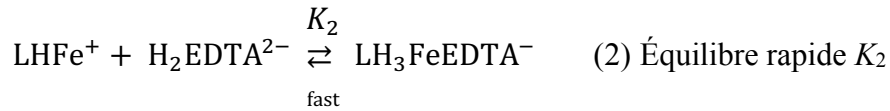
Tableau 5 : Analyses élémentaires avant et après greffage de la DFO.

	% N	% C	% H	<i>n</i> (DFO) (mmol/g de résine)
Sephadex C25	0,00	42,69	5,97	0
Seph1	7,69	49,00	7,90	0,915

1 g de résine Sephadex, DMF, 40 °C, 48 h.

Des essais de complexation de l'ion Fe^{3+} ont été réalisés sur ces deux résines grâce à une solution aqueuse de nitrate ferrique concentrée. Au contact de cette solution, la résine non greffée se colore légèrement en orange indiquant que du fer est complexé par les groupements acide carboxylique de la résine. Dans les mêmes conditions, la résine modifiée se colore en rouge vif lorsqu'elle est fonctionnalisée par la DFO.

La quantité de fer chélatée par la DFO est une donnée importante pour valider nos matériaux. Elle a été déterminée par analyses ICP-AES. A ce stade, nous devons établir si la totalité du fer se trouve chélatée par la DFO ou si une proportion non négligeable est complexée par les acides carboxyliques libres de la résine. A cette fin, il nous est apparu intéressant de réaliser une réaction de démétallation sélective de la résine par un ligand suffisamment fort pour déplacer les cations Fe^{3+} liés aux groupements carboxylate de la résine tout en conservant le complexe $\text{Fe}(\text{DFO})$ intact. Pour cela, nous nous sommes appuyés sur les travaux de cinétiques de complexation de Albrecht-Gary et coll.^[134] relatifs à l'échange des ions Fe^{3+} entre la DFO et l'EDTA disodique. Les auteurs ont proposé le mécanisme de transchélation suivant :



De ce mécanisme les auteurs ont exprimé la constante de pseudo-premier ordre k_{obs} ainsi que la loi de vitesse de transchélation :

$$k_{obs} = \frac{K_1 K_2 k_3 [\text{H}]_0 [\text{EDTA}]_0}{1 + K_1 [\text{H}]_0 + K_1 K_2 [\text{H}]_0 [\text{EDTA}]_0}$$

$$[\text{Fe}(\text{DFO})]_t = [\text{Fe}(\text{DFO})]_0 e^{(-k_{obs} t)}$$

La loi de vitesse nous a permis d'estimer le temps de contact maximal de la résine avec la solution d'EDTA, défini comme la durée nécessaire pour décomplexer 1 % de $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ par l'EDTA :

$$1\% \text{ de } [\text{DFO-Fe}] \text{ consommé} \iff \frac{[\text{DFO-Fe}]}{[\text{DFO-Fe}]_0} = 0,99 \implies t = \frac{-\ln 0,99}{k_{obs}}$$

Pour ce faire, la concentration en EDTA a été fixée à 0,01 M avec un pH mesuré de 7,2. Dans ces conditions, une durée de 13,3 h a été calculée. Il est important de noter que cette loi de vitesse est vérifiée sur la gamme de pH pour laquelle $(\text{EDTAH}_2)^{2-}$ est majoritaire (pH 3,6 à 5,2). De plus, la loi de vitesse a été établie pour des conditions de pseudo-premier ordre, c'est-à-dire que le pH est fixé par un tampon et la concentration en EDTA est considérée comme constante car largement supérieure à celle du complexe ferrique. Notre solution de lavage ayant un pH plus élevé, nous avons choisi de raccourcir considérablement le temps de contact. Ainsi, la résine **Seph1-Fe** a été lavée pendant 1 h dans ces conditions afin de ne conserver que le fer lié au chélateur greffé. En parallèle, un échantillon de résine Sephadex non modifiée,

préalablement saturée en fer a été lavé dans les mêmes conditions. Après 1 h l'échantillon a retrouvé sa couleur blanche initiale.

Après minéralisation, un échantillon de **Seph1-Fe** a été analysé par ICP-AES, donnant une concentration en fer de 1,81 %. Si l'on considère que le lavage élimine exclusivement et totalement le fer complexé par les carboxylates, alors la totalité de cet élément analysé par ICP-AES est imputable au complexe [Fe(DFO)].

Tableau 6 : ICP-AES de **Seph1-Fe**.

	% Fe (ICP)	$n(\text{DFO})$ (mmol/g de résine)	$m(\text{DFO})$ (mg/g de résine)
Seph1-Fe	1,81	0,324	181,8

1 g de résine Sephadex, DMF, 40 °C, 48 h.

La valeur de la quantité de DFO greffée (0,324 mmol/g de résine), déterminée par ICP-AES, est rapprochée de celle déterminée par analyse élémentaire de l'azote (0,915 mmol/g de résine) (Tableau 5). Les deux approches conduisent donc à des résultats très différents. Afin d'expliquer cette incohérence, nous avons remis en cause l'hypothèse selon laquelle l'azote ne proviendrait que de la seule DFO, car d'autres molécules azotées non complexantes sont susceptibles de se fixer sur la résine.

La réaction de couplage peptidique met en œuvre du 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC) qui forme un ester activé avec l'acide carboxylique de la résine. Cet ester est plus réactif que l'acide de départ, ce qui favorise la réaction de couplage avec l'amine de la DFO (Figure 48).

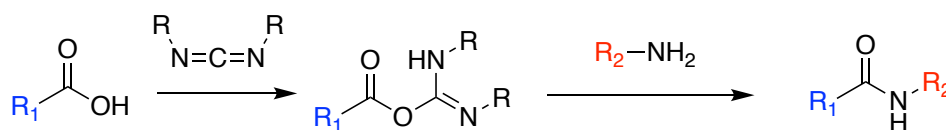


Figure 48 : Mécanisme réactionnel de formation d'une liaison peptidique en présence d'EDC.

Cependant, si l'espèce activée ne rencontre pas d'amine, l'adduit O-acylé formé est capable de se réarranger lentement et former une *N*-acylurée (Figure 49). Cette molécule est stable, ce qui explique que, malgré nos lavages, l'analyse de la résine **Seph1** présente un taux d'azote surestimé qui ne reflète donc pas la seule teneur en DFO du matériau. Afin de limiter cette réaction parasite, un deuxième agent de couplage comme l'hydroxybenzotriazole (HOBt) peut être introduit au milieu réactionnel afin de réagir avec l'adduit carbodiimide et former une espèce activée plus stable. Cet ester reste toutefois réactif avec une amine primaire et ne conduit

pas à des réactions parasites susceptibles de désactiver cet ester en sous-produits stables. Après réaction, les fonctions acides carboxyliques de départ pourront être régénérées par un lavage acide afin d'éliminer les adduits avec le HOBT qui n'ont pas réagi.

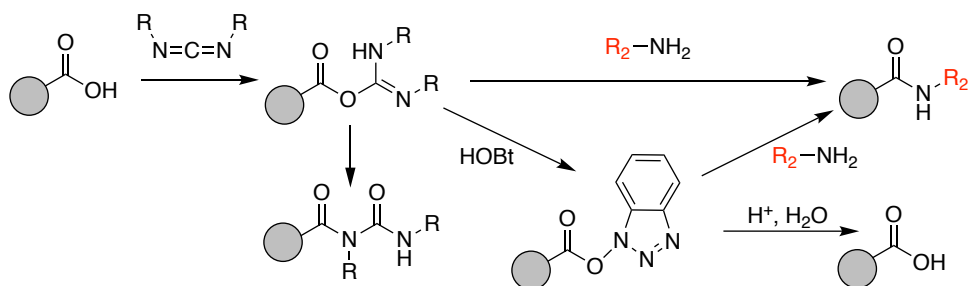


Figure 49 : Mécanisme réactionnel de formation d'une liaison peptidique en présence d'EDC et de HOBT.

Dans la suite de nos travaux, tous les essais de couplage sur Sephadex ont donc été réalisés en présence de HOBT.

- Greffage du complexe DFO-Fe

Une seconde voie de synthèse a été envisagée afin de mieux quantifier la concentration en DFO dans la résine, et éviter la complexation du fer par les fonctions carboxylate de la résine. Le principe de cette méthode consiste à greffer sur la résine non pas du ligand libre, mais le complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ préformé (Figure 50). Ainsi, la totalité du fer présent dans le matériau proviendra exclusivement de $[\text{Fe}(\text{DFO})]$, car nous pouvons raisonnablement exclure une réaction de transmétallation de surface compte tenue de la différence d'affinité entre la DFO^{3-} et un groupe RCO_2^- pour le cation Fe^{3+} . La comparaison du taux de fer déterminé par ICP-AES et de celui de l'azote par analyse centésimale CNH nous permettra de connaître précisément le taux de greffage et de mettre en évidence la présence ou non d'agent de couplage résiduel.

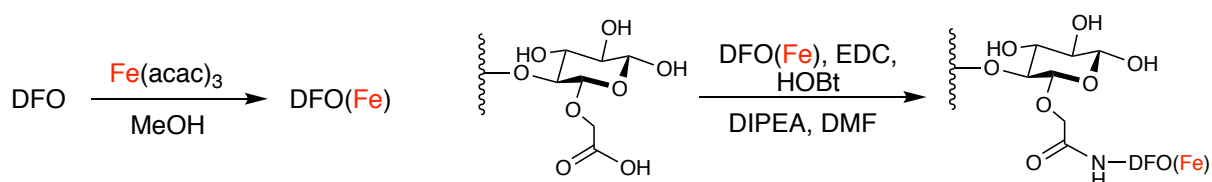


Figure 50 : Fonctionnalisation de la résine par le complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})]$.

Le matériau **Seph2(Fe)** a été préparé selon le schéma réactionnel illustré à la Figure 50 en mettant en jeu 0,1 g de résine, le complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ (0,5 équiv.), l'EDC (1,5 équiv.) et l'HOBT (1,5 équiv.) dans le DMF, en présence de DIPEA, pendant 2 jours à 40 °C, sous

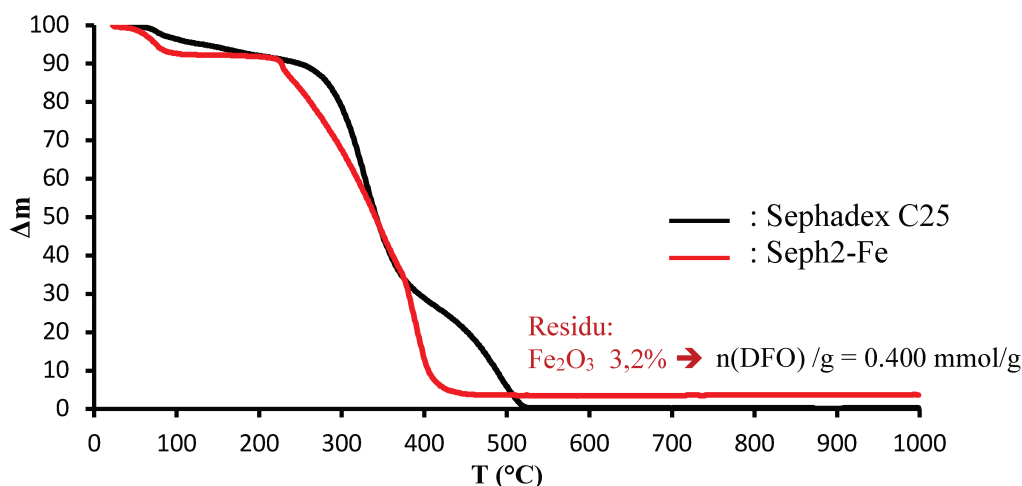
agitation magnétique. Après réaction, le résine a été lavée abondamment à l'eau, à l'acide acétique dilué (1 M) et au méthanol, puis séchée sous vide. Différentes techniques analytiques ont été mises en œuvre pour déterminer le taux de greffage du complexe [Fe(DFO)] : l'analyse élémentaire CHN, l'ICP-AES, la spectrophotométrie UV-visible et la thermogravimétrie.

Tableau 7 : Résultats des analyses élémentaires et ICP-AES de la résine **Seph2(Fe)**.

	% N	% C	% H	ICP Fe
Seph2(Fe)	3,08	46,19	6,35	1,86

0,1 g de résine Sephadex, DMF, 40 °C, 48 h.

Ces analyses nous ont permis d'accéder à la quantité de DFO greffée sur la résine dans un premier temps par analyse ICP du fer et par détermination du pourcentage d'azote évalué par analyse élémentaire, comme décrit précédemment. Nous avons également mesuré la concentration en fer dans le surnageant de la réaction afin d'évaluer la quantité de complexe [Fe(DFO)] greffé, par comparaison avec la quantité totale de complexe mise en jeu. La concentration de [Fe(DFO)H]⁺ dans le surnageant a été déterminée par analyse ICP et par spectrophotométrie d'absorption visible en suivant l'évolution de l'intensité de la bande d'absorption à 425 nm ($\epsilon = 2460(30) \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [135]). Finalement, une analyse thermogravimétrique (ATG) du matériau a été effectuée afin de corroborer les résultats obtenus par les autres techniques analytiques. Cette analyse consiste à calciner l'échantillon et à mesurer la perte de masse en appliquant un gradient de température (5 °C/min) de 25 à 1000 °C. Au delà de 400–500 °C, tous les composés organiques ont été brûlés. Ainsi, dans le cas de **Seph2(Fe)**, le résidu après calcination est uniquement constitués d'oxydes métalliques. Compte tenu des conditions oxydantes du mélange gazeux dans lequel l'échantillon est exposé (N₂/O₂ 30/10 mL/min), l'oxyde résiduel est Fe₂O₃ et la quantification de ce résidu permet d'évaluer la teneur en fer de l'échantillon.

Figure 51 : Thermogramme de la résine commerciale et de **Seph2(Fe)**.

Les résultats de ces différentes analyses de **Seph2(Fe)** sont rassemblés dans le Tableau 8 et sont exprimés en unités molaire et massique de DFO par gramme de résine greffée.

Tableau 8 : Résultats des analyses de greffage de $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ sur la résine CM Sephadex C25.

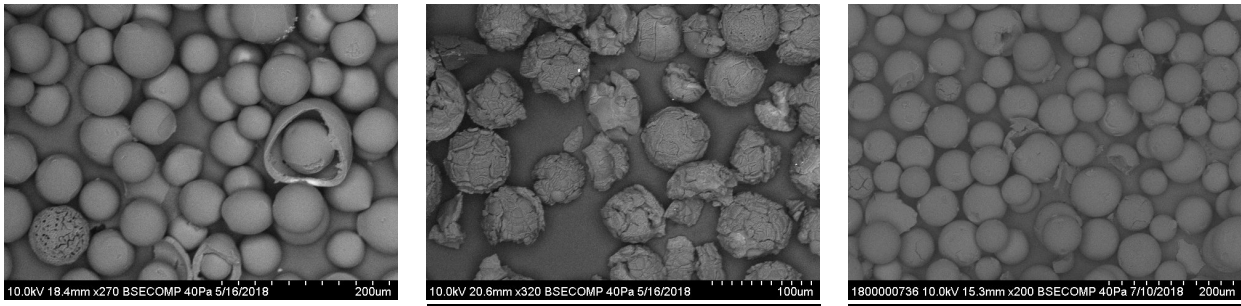
Méthode d'analyse	Résultats	$n(\text{DFO})$ (mmol/g de résine)	$m(\text{DFO})$ (mg/g de résine)
ICP-AES ^a	$m_{\text{Fe}} = 18,6 \text{ mg/g}$	0,333	186
AE ^a	$m_{\text{N}} = 30,8 \text{ mg/g}$	0,366	205
ATG ^a	3,2 % (Fe_2O_3)	0,400	224
Spectrophotométrie ^b	$A_{425} = 1,683$	0,399	224
ICP-AES ^b	$[\text{Fe}] = 0,69 \text{ mmol/L}$	0,346	194

^a Analyse de la résine. ^b Analyse du surnageant de réaction ($\epsilon_{425} = 2460 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Les différentes analyses effectuées sont cohérentes entre elles et la quantité de $[\text{Fe}(\text{DFO})]$ greffée peut être évaluée à environ 0,35 mmol/g. Cette étude nous a permis, d'une part, de valider notre méthode de synthèse mettant en jeu le complexe de fer de la DFO plutôt que le ligand libre, et d'autre part, de mettre au point une approche multi-analytique de détermination du taux de greffage.

- Morphologie des résines et optimisation du greffage

Les images obtenues par microscopie électronique à balayage (MEB) des résines sont présentées sur la Figure 52.



Sphadex C25

Seph2(Fe)

Seph3(Fe)

Figure 52 : Clichés MEB de la résine Sphadex et de résines Sphadex modifiées.

L'image par microscopie électronique à balayage (MEB) de la résine modifiée **Seph2(Fe)** révèle une forte dégradation des billes avec de nombreuses craquelures et la présence en nombre de fragments. Nous avons cherché à savoir si l'altération de la morphologie des billes était attribuée au mode d'agitation ou à la réaction de greffage elle-même. Afin de répondre à cette question, la résine **Seph3(Fe)** a été préparée dans les mêmes conditions que **Seph2(Fe)** mais avec un mode d'agitation plus respectueux de l'intégrité des billes. Ainsi, un banc chauffant muni d'une agitation orbitale a été utilisé. Ce mode d'agitation permet de limiter les contraintes mécaniques subies par les billes de résine, contrairement à une agitation magnétique. Comme on peut l'observer sur le cliché MEB de l'échantillon **Seph3(Fe)**, la morphologie de la résine est beaucoup mieux conservée que pour **Seph2(Fe)**, et ce, avec des quantités de DFO greffée similaires. De ce fait, tous les essais décrits ci-après ont été réalisés avec une agitation mécanique (pale en verre) plutôt que magnétique.

Notre but étant de fonctionnaliser la résine à l'échelle de quelques dizaines de grammes en vue de les mettre en jeu pour élaborer des capteurs DGT, nous avons multiplié les essais afin d'optimiser les conditions de réactions. Lors des tests de greffage précédents, 0,5 équivalent de complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ avait été introduit par rapport aux groupements acide carboxylique. Cependant, les analyses ont révélé que seul 10 à 15 % de ces groupements ont été fonctionnalisés. Le taux de greffage obtenus de l'ordre de 0,35 mmol/g étant satisfaisant pour l'application visée, des essais de greffage ont été entrepris en mettant en jeu un plus faible ratio de complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ par rapport aux fonctions acide de la résine. Compte tenu du prix élevé du Desferal® (~20 €/g), l'objectif de cette approche était de réduire le coût de cette synthèse.

Tableau 9 : Impact du nombre d'équivalents de complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ sur le taux de greffage.

Résine	$[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ (équiv.)	% Fe (ICP)	$n(\text{DFO})$ (mmol/g de résine)
Seph2(Fe)	0,5	1,86	0,333
Seph4(Fe)	0,2	1,21	0,217

0,1 g de résine Sephadex, DMF, 40 °C, 48 h.

Nous pouvons observer une diminution significative du taux de greffage (Tableau 9) lorsque le nombre d'équivalent mis en jeu passe de 0,5 à 0,2. Pour remédier à ce problème, nous avons décidé d'étudier l'impact de la durée de la réaction de greffage (Tableau 10). Deux réactions ont été effectuées en parallèle sur 0,1 g de résine à 40 °C dans le DMF avec 0,5 équiv. de $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$.

Tableau 10 : Impact de la durée de réaction de complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ sur le taux de greffage.

Résine	$[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ (équiv.)	Durée de réaction (h)	% Fe (ICP)	$n(\text{DFO})$ (mmol/g de résine)
Seph5(Fe)	0,5	48 h	2,45	0,428
Seph6(Fe)	0,5	130 h	3,06	0,531

0,1 g de résine Sephadex, DMF, 40 °C, 48 h et 130 h.

Les analyses des deux résines **Seph5(Fe)** et **Seph6(Fe)** montrent clairement que le temps de réaction est un paramètre majeur à considérer pour optimiser le taux de greffage. Ceci est vraisemblablement dû au fait que la réaction a lieu en milieu hétérogène. Ainsi des problèmes d'accessibilité et de diffusion des réactifs dans le polymère doivent exister. Il ressort de ces études qu'un taux de greffage satisfaisant ($> 0,30$ mmol/g) devrait être atteint en introduisant seulement 0,2 au lieu de 0,5 équivalents de complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ mais à condition d'augmenter de manière significative la durée de réaction (5 jours).

Fort de ces tests d'optimisations en termes d'agitation, d'équivalent de réactif et de temps de réaction, les conditions de réaction des greffages à large échelle ont été choisies. La résine a été mise à réagir avec le $[\text{Fe}(\text{DFO})]$ (0,25 eq.), l'EDC (1 eq.), le HOBt (1 eq.) dans le DMF en présence de DIPEA. La température est fixée à 40° C et la résine est constamment agitée par une pale en verre pendant 130 heures. Trois greffages à l'échelle de 6, 15 et 20 g ont été ainsi effectués (Tableau 11).

Tableau 11 : Résultats d'analyse de lots de résine Sephadex modifiée.

Résine	Masse engagée (g)	[Fe(DFO)H] ⁺ (équiv.)	Durée de réaction (h)	% Fe (ICP)	n(DFO) (mmol/g de résine)
Seph2(Fe)	0,1	0,5	48	1,86	0,333
Seph7(Fe)	6	0,25	130	1,84	0,329
Seph8(Fe)	15	0,25	130	1,63	0,292
Seph9(Fe)	20	0,25	130	3,13	0,560

DMF, 40 °C.

Malgré l'important redimensionnement, les résultats obtenus pour les lots **Seph7(Fe)** et **Seph8(Fe)** sont similaires à ceux du lot **Seph2(Fe)**, notre greffage de référence. Le dernier lot **Seph9(Fe)** affiche, quant à lui, un taux de greffage particulièrement élevé avec une augmentation d'environ 70 %. Ceci est vraisemblablement dû au type de réacteurs utilisés. En effet, les quantités de réactif et de solvant requises pour préparer le lot **Seph9(Fe)** nous ont contraint d'abandonner la verrerie de laboratoire classique (ballon et chauffe ballon) et d'utiliser du matériel de production, dans ce cas, un réacteur à double enveloppe. La différence de résultat est donc imputable à une meilleure homogénéité du milieu, en termes de température (double enveloppe) et d'agitation (pale de grande taille).

- Démétallation

L'approche synthétique que nous avons adoptée montre donc clairement que le greffage de [Fe(DFO)H]⁺ permet un meilleur contrôle de l'ancrage du complexe et de préparer des matériaux avec une plus grande pureté et homogénéité. Cependant, la résine est inutilisable à ce stade pour réaliser un capteur DGT car les sites de complexation sont tous engagés pour chélater l'ion Fe³⁺. Le complexe greffé doit donc être dissocié afin de régénérer les fonctions acides hydroxamiques de la DFO. Comme dans le cas de la résine **Seph1(Fe)**, une solution du sel disodique d'EDTA a été utilisée mais à une concentration 10 fois supérieure (0,1 M) afin d'accélérer la réaction de démétallation. Contrairement au matériau **Seph1(Fe)**, pour lequel nous cherchions à décomplexer sélectivement les groupes carboxylate sans dissocier le complexe [Fe(DFO)], notre objectif était cette fois-ci de démétaller totalement la résine. Un premier essai de décomplexation a été réalisé sur **Seph2(Fe)** (40 mg) par une solution 0,1 M d'EDTA. Un changement de couleur a été rapidement observé. Après quatre jours dans des conditions statiques, la résine a été analysée après lavages successifs par une solution diluée d'acide acétique, de l'eau et du méthanol, puis séchage sous vide. La teneur résiduelle en fer de la résine, déterminée par ICP-AES, est inférieure à 0,001 %, tandis que l'analyse de la solution

d'EDTA après échange a montré que la libération du fer en solution était quantitative. La même procédure de démétallation a été utilisée avec succès sur des lots de résine modifiée à plus grande échelle (**Seph7(Fe)**, **Seph8(Fe)** et **Seph9(Fe)**).

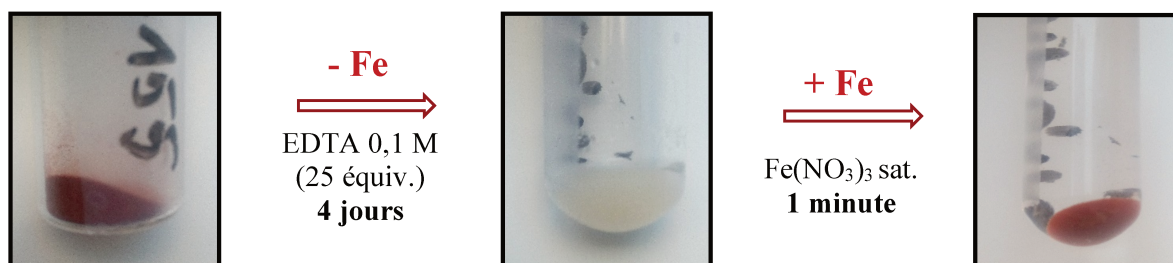


Figure 53 : Démétallation d'un échantillon de résine Sephadex-DFO.

Après une rapide remétallation par une solution concentrée de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ dans l'eau, la résine reprend sa couleur rouge-marron caractéristique du complexe $\text{Fe}(\text{DFO})$, ce qui montre qu'elle est capable de chélater à nouveau le fer. Nous pouvons donc en conclure que le processus de démétallation-métallation de la résine fonctionnalisée est réversible.

2.2.2. Études physico-chimiques

Les résines modifiées ont été caractérisées par différentes méthodes spectroscopiques et d'imagerie à l'échelle micro- et macroscopique, afin d'obtenir des informations quant à la répartition spatiale de la DFO dans les billes de polymère.

- Spectroscopie infra-rouge

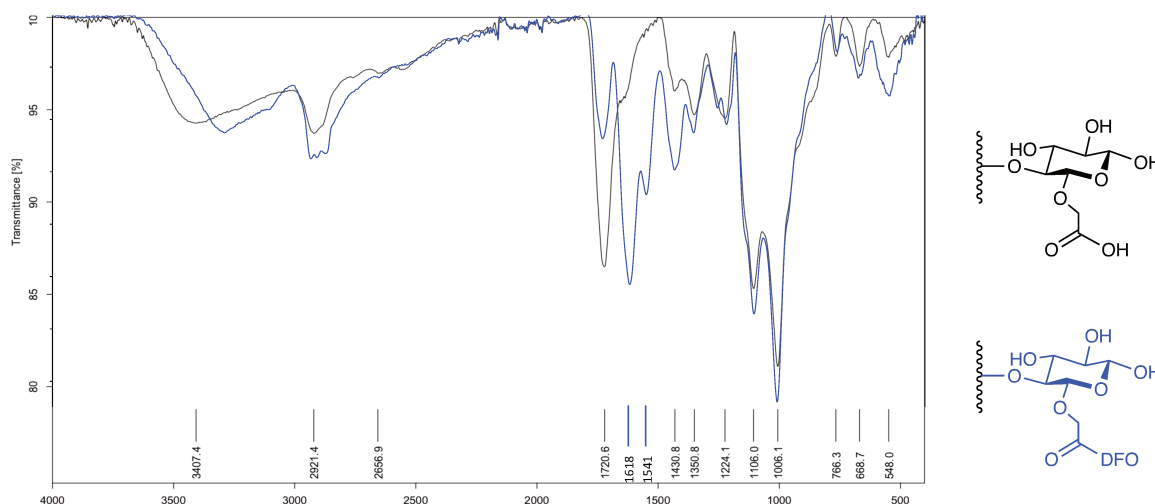


Figure 54 : Spectres IR de la résine Sephadex commerciale (noir) et **Seph2** (bleu).

Les spectres IR en mode ATR de la résine commerciale et de la résine fonctionnalisée **Seph2** par la DFO, présentent des similitudes dans la zone $500\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$, mais de fortes disparités dans la région $1500\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$, dans laquelle sont observés les modes de vibration du groupe carbonyle appartenant aux fonctions amide et acide hydroxamique. Après greffage, la vibration à 1720 cm^{-1} correspondant aux fonctions acide carboxylique est toujours observée mais son intensité a fortement diminué par rapport au spectre de la résine de départ. Cette diminution d'intensité s'accompagne de l'apparition de deux pics intenses à 1541 et 1618 cm^{-1} , correspondant respectivement à la vibration de la liaison C–N des fonctions amide de la DFO et à la liaison C=O des acides hydroxamiques.^[136]

- Microscopie électronique à balayage

Les clichés MEB permettent de visualiser la morphologie des particules de résine à l'échelle microscopique. Contrairement aux images MEB des deux résines **Seph2(Fe)** et **Seph3(Fe)** présentées précédemment (Figure 52), l'objectif n'est pas ici de mettre en évidence l'influence des conditions opératoires sur l'intégrité des particules, mais de montrer si la réaction de décomplexation de $[\text{Fe}(\text{DFO})]$ à l'état solide conduit peu ou prou à une dégradation des particules et de leur morphologie sphérique.

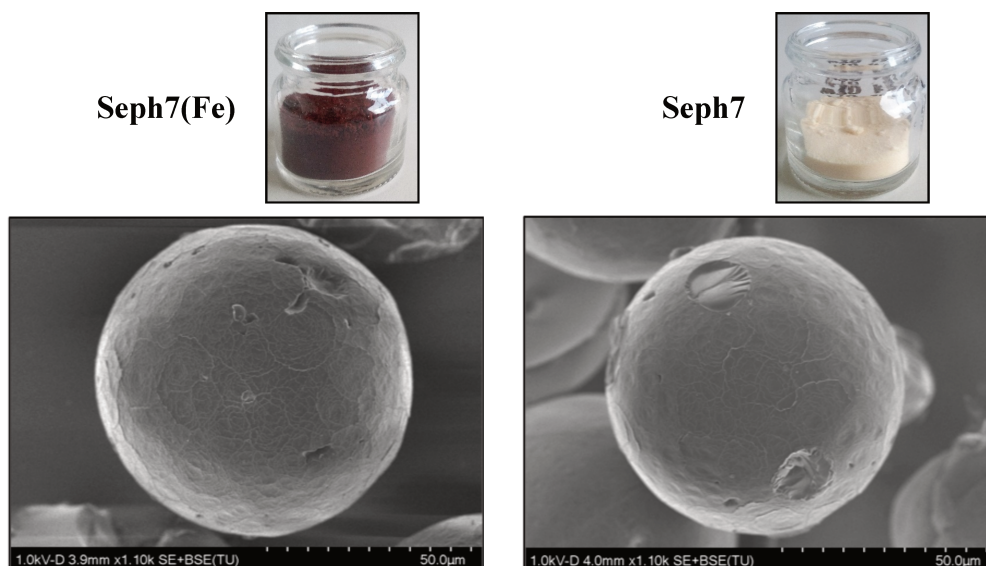


Figure 55 : Clichés MEB de la résine **Seph7(Fe)** avant (gauche) et après (droite) démétallation par l'EDTA.

Bien que les deux résines se distinguent aisément par leur différence de couleur, à l'échelle microscopique, les billes ont un aspect très similaire. Elles ne présentent aucun signe d'altération après l'étape de démétallation.

- *Microscopie par excitation à deux photons*

La microscopie biphotonique est fondée sur l'observation de la fluorescence émise par un échantillon, à l'aide d'un microscope optique. La particularité de cette technique est que l'excitation de l'échantillon est réalisée par une absorption simultanée de deux photons. Dans ce cas, la longueur d'onde de la lumière d'excitation est plus grande que celle de la lumière émise. Cette technique d'imagerie est répandue en biochimie car une excitation dans le proche infra-rouge (700–800 nm) permet de limiter l'absorption du rayonnement par les cellules des tissus et permet ainsi d'exciter des molécules fluorescentes jusqu'à un millimètre de profondeur *in vivo*.

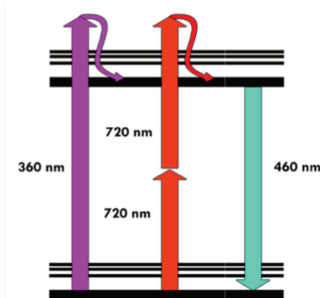


Figure 56 : Excitation à 1 et 2 photons et fluorescence.

Au contraire de la microscopie électronique, qui permet de déterminer uniquement la morphologie de micro- ou nanoparticules, la microscopie optique biphotonique est un outil de choix pour sonder la présence de composés fluorescents au sein d'une matrice, et notamment d'évaluer la répartition de ces espèces moléculaires à l'intérieur de la bille. En effet, ici, l'émission n'est observée qu'au niveau du point focal, contrairement à l'émission classique à un photon. Ceci permet de cartographier en profondeur la présence de l'émetteur simplement en modifiant la mise au point du microscope. A l'aide de cette technique, nous désirions savoir si les billes de polymère sont fonctionnalisées uniquement en surface ou au contraire en profondeur également.

La desferrioxamine B et le polysaccharide support n'étant pas fluorescents, nous avons utilisé comme marqueur un lanthanide luminescent dans le domaine visible et qui présente une bonne affinité vis-à-vis du sidérophore.^[137,138] Notre choix s'est porté sur le terbium(III) dont l'émission de lumière de couleur verte à 544 nm est bien connue. Les propriétés optiques de l'ion Tb^{3+} de configuration électronique $4f^8$ résultent exclusivement de transitions $f \rightarrow f$, les niveaux 7F_6 et 5D_4 (la levée de dégénérescence des termes 7F et 5D est due au couplage spin-orbite) correspondant respectivement à l'état fondamental et au premier état excité ($\lambda_{max} = 486$ nm pour $^7F_6 \rightarrow ^5D_4$). De ce fait, les transitions sont interdites par les règles de sélection de Laporte ce qui se traduit dans le domaine UV-vis-PIR par des raies d'absorption de très faibles intensités ($\epsilon < 1 M^{-1} cm^{-1}$). Leur étroitesse résulte de la faible influence du champ du ligand sur les électrons $4f$ en raison de l'écrantage provoqué par les orbitales externes $5s$ et $5p$. La Figure

57 reproduit les spectres d'émission ($\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$) en solution aqueuse du nitrate de terbium ($c = 0,015 \text{ M}$, $\text{pH} \sim 2 \text{ HNO}_3$) et du complexe formé en présence d'un équivalent de DFO^{3-} à $\text{pH} 9,6$. Quatre bandes structurées mais mal résolues, attribuées aux transitions ${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_J$ ($J = 3-6$), sont observées entre 470 et 670 nm. L'extinction partielle de fluorescence induite par la complexation et la nécessité d'exciter directement le terbium, justifient l'utilisation d'une source laser pour l'étude de la chélation de ce lanthanide par nos résines.

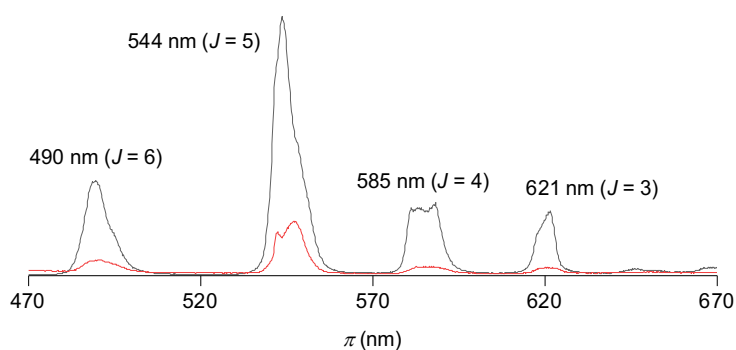


Figure 57 : Spectres d'émission d'une solution de nitrate de terbium (0,015 M) dans l'eau à $\text{pH} 2$ (HNO_3) correspondant aux transitions ${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_J$ (ligne noire) et du mélange équimolaire avec $(\text{DFO})\text{H}^{2-}$ à $\text{pH} 9,6$ (ligne rouge). $\lambda_{\text{ex}} = 355 \text{ nm}$.

Un échantillon de la résine **Seph7** a été complexé par $\text{Tb}(\text{acac})_3$ dissous dans du méthanol à température ambiante (Figure 58).

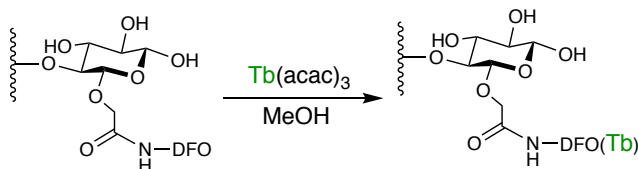
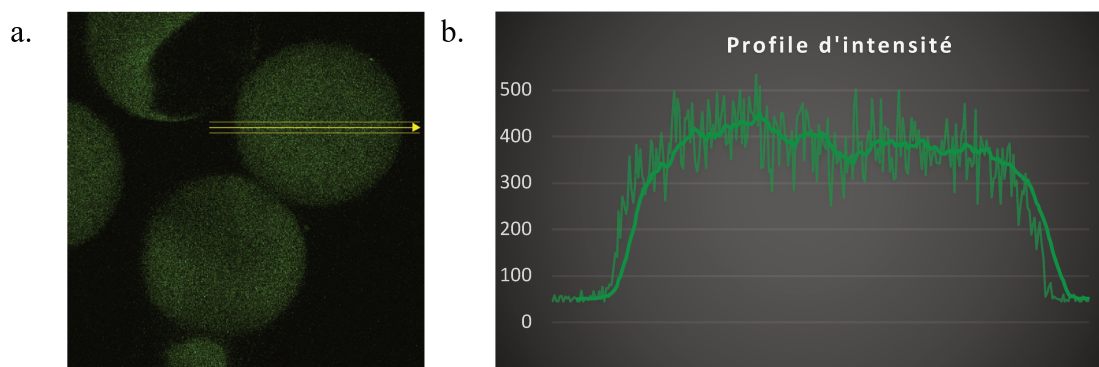


Figure 58 : Méallation de la résine Seph7 par le terbium (III).

Après lavage et séchage sous vide qui permettent d'éliminer l'acétylacétone volatil (acacH) libéré au cours de la réaction, quelques billes déposées sur une lame de verre ont été observées par un microscope bi-photonique équipé d'un laser (Chameleon Vision II, Coherent) d'excitation à 750 nm et d'un filtre de détection couvrant la plage $500-550 \text{ nm}$. En déplaçant pas à pas la platine motorisée du microscope biphotonique, le profil d'émission des billes a été enregistré le long de leur diamètre sans avoir à modifier la mise au point (point focal fixe).



Les clichés et profils ainsi enregistrés (Figure 59) révèlent que l'intensité lumineuse est sensiblement la même, aussi bien sur les bords de la bille qu'en leur centre. Nous pouvons donc conclure que la résine a été fonctionnalisée uniformément par le complexe [Fe(DFO)] lors du greffage, ce dernier pénètre par diffusion au cœur des particules et se lie aux chaînes polymériques pour former un matériau dans lequel la DFO est dispersée de manière homogène.

2.2.3. Limitations

Nous sommes parvenus à synthétiser des résines modifiées par la DFO, à l'échelle de plusieurs dizaines de grammes. Grâce aux outils analytiques mis en œuvre, la teneur en DFO, sa localisation au sein de la matrice polymère et ses propriétés de chélation ont été décrites. Ces résines présentent toutefois un inconvénient majeur puisqu'elles possèdent des sites de complexation de haute affinité (DFO^{3-}) mais aussi de faible affinité compte tenu de la présence de groupes carboxylate résiduels. La présence de ces derniers est susceptible de nuire à la sélectivité du matériau extractant. Pour tenter de résoudre ce problème, un autre support polymère a été envisagé pour le greffage de la DFO et la séquestration sélective des métaux ciblés. Ces travaux font l'objet du chapitre suivant.

2.3. Résine Epoxy Methacrylate

2.3.1. Greffage

- Choix de la résine

Pour éviter la présence de différents sites de complexation en compétition vis-à-vis de la complexation des cations métalliques, nous avons cherché une résine non fonctionnalisée qui ne possède pas de fonctions chélatrices afin que seul le ligand immobilisé (DFO dans notre cas) soit en mesure de présenter des propriétés de complexation. C'est l'approche que nous avons adoptée afin d'augmenter la sélectivité de la résine vis-à-vis des cations tétravalents. Après examen des offres proposées par les différents fournisseurs, une résine polyméthacrylate à fonctions époxy (Lifetech™ ECR8209), Commercialisé sous la marque Puro-lite® avec une granulométrie moyenne de 70 µm a été sélectionnée (Figure 60). La taille et la morphologie des billes ont été analysées par microscopie électronique à balayage, il s'avère que la taille des particules est dispersée entre 50 et 100 µm. Ce polyméthacrylate est fonctionnalisé par des groupes époxy pendants avec une densité de fonctions de 1,5 mmol/g selon les indications du fournisseur. Ces fonctions sont capables de réagir avec des agents nucléophiles comme des amines par attaque nucléophile sur l'atome de carbone en position 3, le plus électrophile. Dans la suite du mémoire, cette résine sera appelée EMC pour EpoxyMéthacrylate

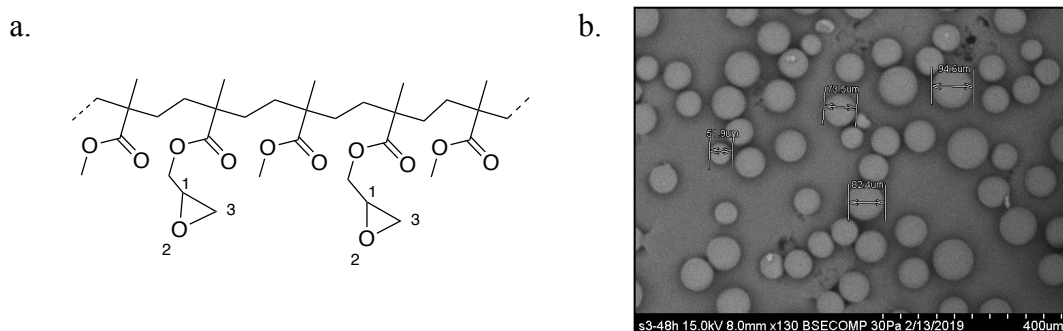


Figure 60 : a) Représentation schématique de la résine époxyméthacrylate ECR8209 de marque Puro-lite® (EMC), b) Cliché MEB de la résine EMC.

- Greffage de la DFO

Le greffage est réalisé par réaction de la fonction amine terminale de la DFO sur la résine qui conduit à l'ouverture du cycle époxy (Figure 61). Cette réaction de couplage est simple et s'effectue dans des conditions douces, mais de nombreux paramètres doivent être pris

en compte, tels que la nature du solvant, de la base, du nombre d'équivalents, la durée et la température de réaction. Nous avons réalisé de nombreux essais afin de déterminer les conditions optimales de greffage. Après réaction, les résines ont été lavées abondamment à l'eau, à l'acide acétique dilué (1 M) et au méthanol, puis séchées sous vide. Le pourcentage d'azote déterminé par l'analyse élémentaire nous a permis de calculer les taux de greffage en fonction des conditions opératoires utilisées. Dans les essais présentés ci-dessous, la quantité de DFO mise en jeu est restée constante, égale à 1 équivalent par rapport au nombre de fonctions époxy.

Tableau 12 : Optimisation du greffage de la DFO sur la résine EMC dans l'eau.

Résine	Température (°C)	Durée (j)	DIPEA (équiv.)	NEt ₃ (équiv.)	% N
EMC^{a,b}	20	3	3	0	0,00
EMC1^a	20	3	3	0	0,69
EMC2^a	20	3	0	3	0,63
EMC3^a	60	3	5	0	1,79
EMC4^a	60	5	5	0	1,78

a) 50 mg de résine EMC dans 2,5 mL d'eau ; b) témoin sans ajout de DFO.

L'ajout d'un excès de base est nécessaire car la DFO mise en jeu est commercialisée sous sa forme (DFO)H₄⁺ et la fonction amine terminale qui sert de point d'ancrage est protonée. Ces greffages ont montré que la température et le nombre d'équivalents de base jouent un rôle primordial lors du greffage. La réaction est terminée après trois jours et la DIPEA est très légèrement plus efficace que la triéthylamine. La DIPEA est tout de même préférée dans ces réactions car elle est moins nucléophile.

Des tests de stabilité ont montré que dans l'eau, en présence de 5 équivalents de DIPEA pendant 5 jours à 60 °C, la DFO subissait une dégradation par hydrolyse des fonctions hydroxamate. Cette dégradation n'est cependant pas observée dans le méthanol. C'est pourquoi nous avons par la suite réalisé les réactions de greffage dans le méthanol en présence de cinq équivalents de base.

Tableau 13 : Optimisation du greffage de la DFO sur la résine EMC dans le méthanol.

Résine	Masse de résine (g)	Température (°C)	Durée (j)	DIPEA (équiv.)	% N
EMC5	0,05	60	3	5	1,38
EMC6	2	60	3	5	1,61

Les résultats présentés dans le Tableau 13 montrent que la réaction optimisée opère dans le méthanol à 60 °C pendant trois jours sans agitation en présence d'un équivalent de DFO et de cinq équivalents de DIPEA par rapport à la quantité de fonctions époxy présente.

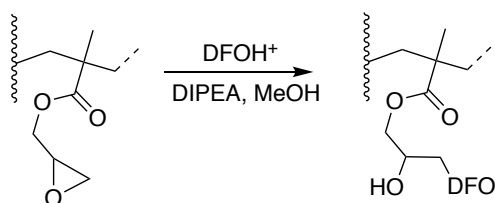


Figure 61 : Fonctionnalisation de la résine Praesto époxy.

Fort des optimisations à petite échelle (50 mg), **EMC6** est le premier lot de résine époxy modifiée à l'échelle du gramme. Les résultats des analyses conduites sur ce lot font référence pour les suivantes à l'échelle de la dizaine de grammes. Le Tableau 14 présente les résultats d'analyses élémentaires de **EMC6**.

Tableau 14 : Résultats d'analyses élémentaires de **EMC6**.

	% N	% C	% H	(DFO) /g de résine
EMC6	1,61	57,47	7,16	107,8 mg 0,192 mmol

2 g de résine EMC, 100 mL de MeOH, 60 °C, DIPEA, 72 h.

Nous avons émis l'hypothèse que la totalité de l'azote observé par analyse élémentaire centésimale CHN provenait de la DFO. Afin de vérifier cette hypothèse et de montrer que la résine époxy ne réagissait pas avec l'amine tertiaire de la DIPEA, des essais de greffage ont été réalisés dans les mêmes conditions mais en l'absence de sidérophore. L'analyse élémentaire révèle alors clairement un pourcentage d'azote nul, ce qui nous a permis de valider les conditions de greffage utilisées. L'avantage de cette résine par rapport à la Sephadex réside dans l'absence de fonction complexante en compétition avec la DFO.

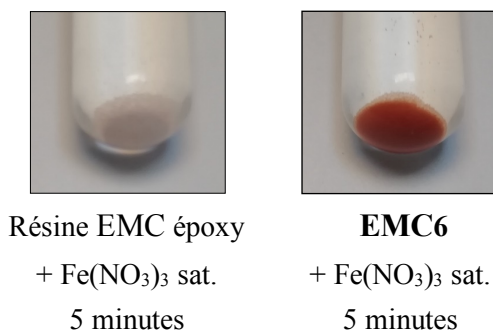


Figure 62 : Clichés d'échantillons de résines après métallation par du fer(III).

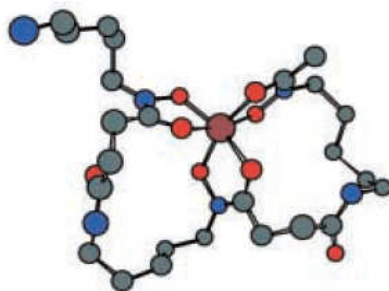
Après complexation de la résine modifiée par une solution aqueuse de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ saturée, l'analyse ICP-AES du fer a été réalisée (Tableau 15). Celle-ci révèle que le ligand est complexé à hauteur de 84 %, ce qui suggère qu'une faible fraction de chélateur n'est pas accessible au fer.

Tableau 15 : Analyse ICP du fer de **EMC6** après complexation.

Résine	% Fe (ICP)	(DFO) /g de résine	% métallation
EMC6(Fe)	0,9	90,41 mg 0,161 mmol	84

2 g de résine EMC, MeOH, 60 °C, DIPEA, 72 h.

Ce phénomène est probablement dû à la conformation étendue de la DFO libre, qui doit s'enrouler autour du cation pour le chélater. Ainsi, une fraction minoritaire de DFO greffée dans la résine n'a sans doute pas un espace suffisant entre les chaînes polymériques pour se positionner le long des trois arrêtes de l'octaèdre de l'ion Fe^{3+} et créer ainsi un arrangement hélicoïdale autour du centre métallique comme le montre la structure radiocristallographique du complexe $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ (Figure 63).^[139]

Figure 63 : Structure radiocristallographique de $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}^+]$.^[139]

En nous appuyant sur les conditions mises au point pour la préparation du lot **EMC6**, deux synthèses à plus grande échelle ont été réalisées. Pour **EMC7** et **EMC8**, 15 grammes de résine ont été mis à réagir avec la DFO (1 équiv.) en milieu basique dans le MeOH, à 60 °C pendant 3 jours. Les conditions opératoires pour les deux fonctionnalisations sont similaires, hormis la nature de la base utilisée, NEt_3 (5 équiv.) pour **EMC7** et DIPEA (5 équiv.) pour **EMC8**. Les résultats des analyses des élémentaires sont compilés dans les Tableau 16 et Tableau 17.

Tableau 16 : Résultats des analyses élémentaires des lots **EMC6 – EMC8**.

	Masse de résine (g)	Base	% N	% C	% H	$n(\text{DFO})$ (mmol/g de résine)
EMC6	2	DIPEA	1,61	57,47	7,16	0,192
EMC7	15	NEt_3	1,41	56,73	7,57	0,168
EMC8	15	DIPEA	1,69	56,10	7,75	0,201

MeOH, 60 °C, 72 h.

Des échantillons des trois résines ont été métallées par une solution méthanolique de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$. Après séchage sous vide et minéralisation, les résidus ont été analysés par ICP-AES.

Tableau 17 : Résultats des analyses du fer par ICP-AES des lots **EMC6 – EMC8**.

	% Fe (ICP)	$n(\text{DFO})$ (mmol/g de résine)	% métallation
EMC6(Fe)	0,90	0,161	84
EMC7(Fe)	0,58	0,104	62
EMC8(Fe)	1,19	0,213	105

Dans le cas du lot **EMC7** obtenu par greffage en présence de triéthylamine, le taux de métallation de la DFO est largement inférieur à celui déterminé pour le lot **EMC8**. Ce résultat

ne peut s'expliquer que par une moindre accessibilité de la DFO dans le cas de **EMC7**. Au final, plus de 30 grammes de résine époxy méthacrylate ont été fonctionnalisés par la DFO et les conditions utilisées pour préparer le lot **EMC8** semblent optimales.

2.3.2. Études physico-chimiques

- Spectrométrie infra-rouge

La spectroscopie infrarouge apporte des informations intéressantes sur la nature des fonctions présentes dans la résine.

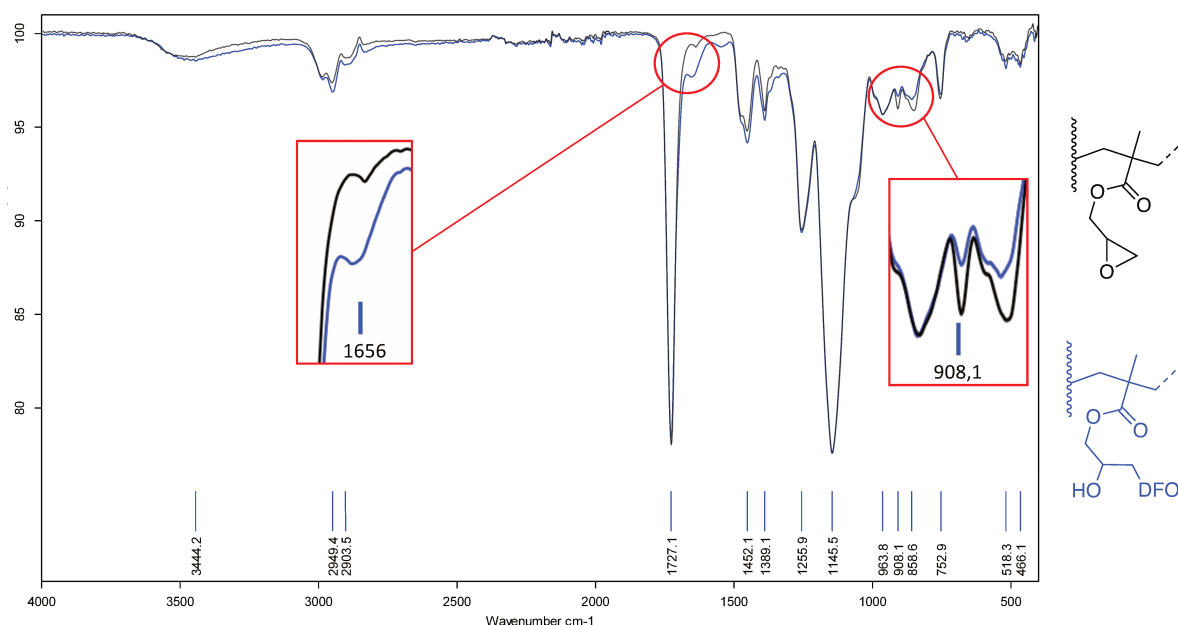


Figure 64 : Spectres IR en mode ATR de la résine commerciale EMC (noir) et de la résine EMC-DFO (bleu) (**EMC6**).

La présence de la bande de vibration à 908 cm^{-1} est un marqueur particulièrement intéressant, car elle est attribuée au cycle époxy.^[140] Après ouverture de ce dernier lors de la fonctionnalisation par la DFO, l'intensité de ce signal décroît drastiquement. Cette évolution peut donc être considérée comme la signature du greffage de la DFO sur la résine. Dans la région de vibration des groupes carbonyle, une bande caractéristique de la DFO apparaît à 1656 cm^{-1} . La réactivité des fonctions époxy avec différentes bases azotées a également été évaluée par spectroscopie infrarouge. Nous avons, en effet, clairement démontré que l'ajout d'un excès de DIPEA (5 équiv.) ne conduisait pas à l'ouverture des cycles époxy (Figure 65) puisque les spectres avant et après réaction sont identiques.

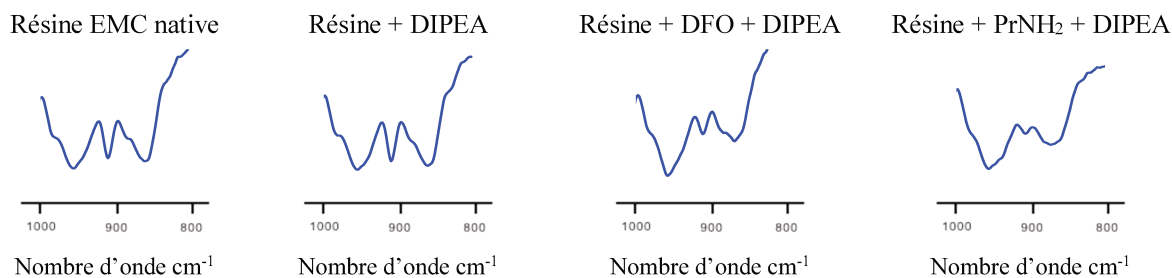


Figure 65 : Comparaison des pics signatures du cycle époxy sur les spectres IR.

L'utilisation d'une amine primaire comme la propylamine en large excès conduit à l'ouverture du cycle époxy, tout comme la DFO, puisque l'intensité de la vibration à 908 cm^{-1} diminue fortement, bien que la bande ne disparaît pas totalement. Cette étude montre donc que la résine possède des fonctions époxy réactives vis-à-vis des amines primaires, mais une partie est inaccessible pour réagir, même avec des amines de petites tailles.

- Microscopie par excitation à deux photons

Afin de connaître la répartition de la DFO dans la résine EMC modifiée, nous avons réalisé une étude par microscopie optique biphotonique analogue à celle décrite précédemment pour la résine Sephadex. La résine modifiée a été métallée par le complexe $\text{Tb}(\text{acac})_3$ afin de conférer des propriétés de luminescence au matériau par excitation directe de l'ion Tb^{3+} à 750 nm.

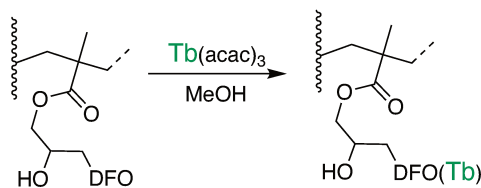


Figure 66 : Métallation de la résine **EMC6** par le terbium(III).

L'échantillon a été analysé à l'aide du même dispositif que celui décrit précédemment. Le profil d'intensité de luminescence est reproduit à la Figure 67.

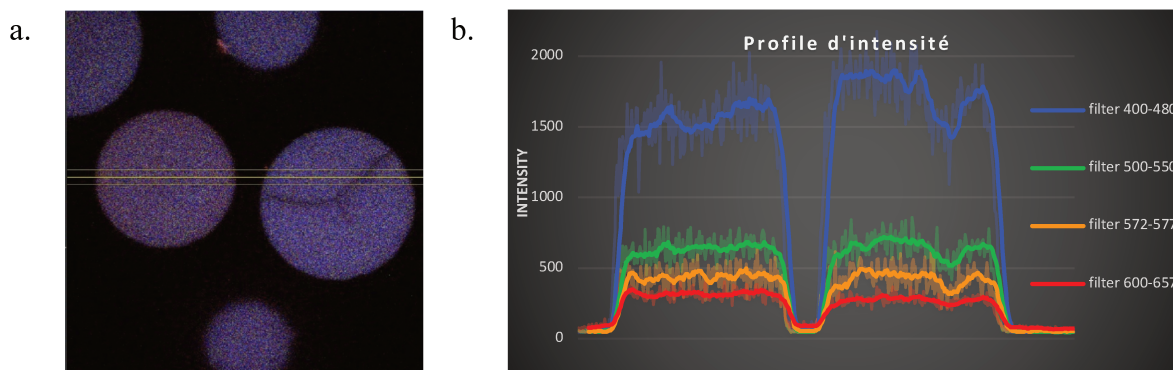


Figure 67 : a) Cliché de microscope bi-photonique, b) profil d'intensité lumineuse de la résine **EMC6(Tb)**.

Les images révèlent que l'intensité lumineuse est sensiblement la même sur les bords de la bille qu'en leur centre. Nous pouvons donc conclure que la résine a été fonctionnalisée uniformément par la DFO à la fois en surface et en profondeur.

2.2.3. Études complémentaires

Un lot de 15 grammes de résine **EMC8** a été envoyé au Pr. Raffaella Biesuz à l'Université de Pavie (Italie). R. Biesuz et son équipe ont développé, depuis les années 2010, une solide expérience sur les matériaux fonctionnalisés par la DFO pour des applications analytiques.^[71,76,141,142] Ce laboratoire a accepté d'étudier les propriétés de complexation de Zr^{4+} de cette résine EMC-DFO. Dans ce chapitre, nous allons présenter les méthodes analytiques utilisées et les résultats obtenus, c'est-à-dire la cinétique et les profils de sorption du zirconium sur la résine modifiée.

- Théorie

Pour décrire les équilibres de sorption mis en jeu dans le mécanisme d'extraction du zirconium par la résine, l'équipe s'est appuyée sur le modèle de Gibbs-Donnan qui décrit les échanges ioniques entre deux solutions séparées par une interface à travers laquelle les ions et molécules neutres peuvent diffuser. Dans le cas d'une résine complexante, celle-ci est considérée comme une solution concentrée.^[143,144] La différence de mobilité entre les ions et les groupements chélateurs de la résine crée un potentiel à l'interface de la résine, appelé potentiel de Donnan.^[145] Une fois le modèle établi et en se basant sur les échanges ioniques à l'interface de la résine, les auteurs explicitent la fraction f de métal sorbé par la résine, c'est-à-

dire la concentration de métal sorbé (\bar{M}) sur la quantité totale de métal (M_{tot}) selon l'équation 8 .

$$f = \frac{[\bar{M}]}{[M]_{tot}} = \frac{\sum[\overline{MH_pL_n}] \cdot w}{[M] \cdot V \cdot \alpha_M + \sum[\overline{MH_pL_n}] \cdot w} = \frac{1}{1 + \frac{\alpha_M \cdot V}{K^* \cdot w}} \quad \text{avec : } K^* = \frac{\sum \beta_{1npex} [\overline{H_rL}]^n}{[H]^q}$$

Équation 8

Dans cette équation, w est la masse de résine sèche, V est le volume de la solution, α_M est le coefficient de réaction secondaire^[146], ici, celui des ions métalliques dans le solvant. Finalement β_{1npex} est le coefficient d'échange diphasique :

$$\beta_{1npex} = \frac{[\overline{MH_pL_n}] \cdot [H]^q}{[M] \cdot [\overline{H_rL}]^n}$$

Équation 9

Pour ces équations et pour le reste de cette étude, les barres au-dessus des caractères indiquent que ceux-ci font référence à des espèces ou des caractéristiques de la phase solide.

- Méthodes et résultats

Isotherme de sorption :

Dix tubes à essais contenant 50 mg de résine **EMC8** dans 5 mL d'une solution de NaCl (0,1 M), dont le pH est fixé à 2 par ajout de HCl, sont mis en contact avec différentes quantités de Zr(IV) allant de 5×10^{-6} à 5×10^{-3} M. Les échantillons sont agités une nuit, puis le surnageant est analysé par ICP-AES. La concentration d'ion métallique de la solution est noté $C_c(M)$ et par soustraction avec la quantité initiale, la quantité sorbée, notée q (mmol g^{-1}), est calculée. L'isotherme de sorption est alors obtenu en représentant la quantité d'ion sorbé q par rapport à la concentration de zirconium dans le surnageant C_{eq} (Figure 68).

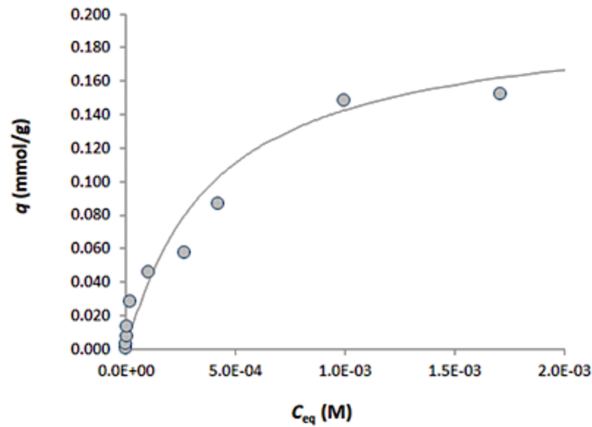


Figure 68 : Isotherme de sorption de Zr(IV) par la résine **EMC8** à pH 2 (HCl) dans une solution de NaCl 0,1 M maintenue à 25 °C.

L'isotherme de sorption représente une courbe de saturation qui peut être ajustée en appliquant un modèle de Langmuir ^[147] avec les paramètres : $K_L = 2.5(9) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ and $q_{\max} = 0.20(3) \text{ mmol g}^{-1}$.

$$q = \frac{K_L q_{\max} c_{eq}}{1 + K_L c_{eq}}$$

Équation 10

Profils cinétiques :

Trois séries de dix tubes contenant 50 mg de résine **EMC8** dans 5 mL d'une solution de NaCl (0,1 M) dont le pH est fixé à 2 par ajout de HCl ont été préparées. Chaque série est mis en contact avec une quantité connue de Zr(IV) (5,5 μM , 55 μM et 550 μM). À des temps précis, un échantillon de surnageant est prélevé et analysé par ICP-AES afin de déterminer la concentration résiduelle en ions métalliques. Les profils cinétiques des 3 séries ont été obtenus en représentant la variable $f(c/c_{\text{tot}})$, c'est-à-dire la fraction de métal sorbée, en fonction du temps (Figure 69).

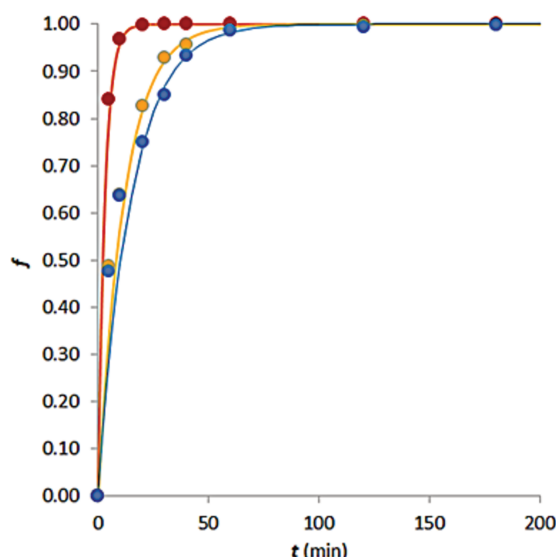


Figure 69 : Profils cinétiques de sorption du Zr(IV) sur **EMC8**. Concentrations initiales en Zr(IV): 5.5 μM (bleu) ; 55 μM (jaunes) ; 550 μM (rouge).

Les courbes de saturation représentées sur le graphique de la Figure 69 ont été ajustées en appliquant l'équation de pseudo-premier-ordre^[147] :

$$f = 1 - e^{-kt} \quad \text{avec} \quad k = \frac{3DC}{r_0\bar{C}}$$

Équation 11

Les trois séries d'échantillons atteignent l'équilibre ($f = 1$), c'est-à-dire une sorption totale du zirconium sur la résine, en moins d'une heure. Ces profils cinétiques montrent que la sorption est rapide même dans des conditions diluées de sel métallique.

Profils de sorption en fonction du pH :

Deux séries d'une quinzaine de tubes contenant 50 mg de résine **EMC8** dans une solution de Zr(IV) (50 μM , 10 mL) ont été préparées. Les solutions des tubes de la première série sont composées d'un mélange de HCl, NaOH et NaCl 1 M afin de couvrir une gamme de pH allant de 1 à 11, tout en gardant une force ionique totale de 0,1 M. Les solutions des tubes de la deuxième série sont préparées suivant le même protocole mais avec une force ionique totale égale à 1 M. Ces séries d'échantillons ont été reproduites plusieurs fois en ajoutant un ligand compétiteur vis-à-vis de **EMC8**, soit de la DFO libre soit de l'EDTA. Après une nuit, le surnageant de chaque tube a été analysé par ICP-AES pour déterminer la concentration en ion Zr(IV). Le profil de sorption de chaque série est alors obtenu en représentant la variable $f(c/c_{\text{tot}})$, c'est-à-dire la fraction de métal sorbée, en fonction du pH (Figure 70).

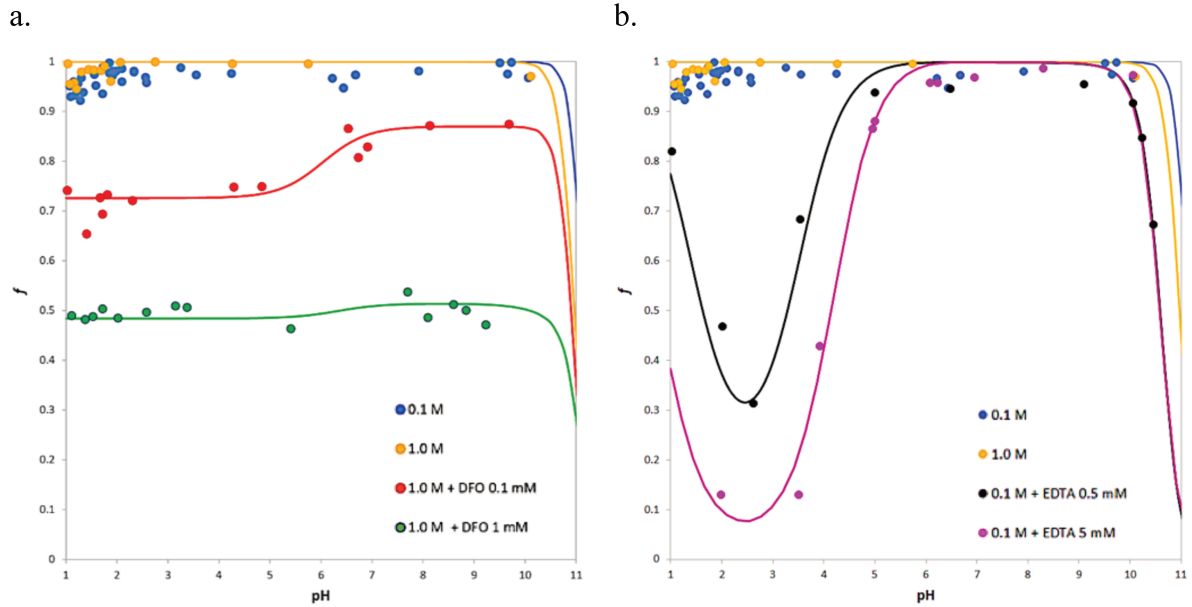


Figure 70 : Profils de sorption de Zr(IV) par la résine **EMC8** en fonction du pH en l'absence et en présence d'un ligand compétiteur : a) DFO libre (0,1 mM et 1 mM) ; b) EDTA (0,5 mM et 5 mM)

Les courbes représentées sur les graphiques, pour les séries d'échantillon avec ligands compétiteurs, ont été calculées en appliquant l'Équation 8. L'ajustement des données de ce modèle a permis de déterminer les constantes de complexation du système Zr(IV)/**EMC8**. En premier lieu, les différentes réactions de sorption observables ont été définies (Figure 71).

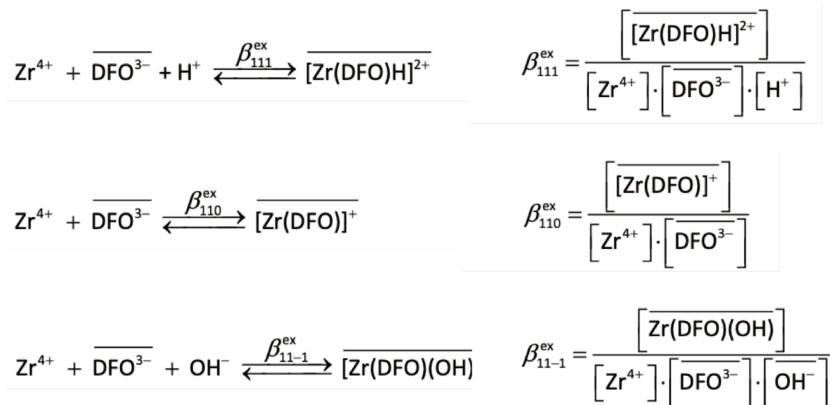


Figure 71 : Équilibre de sorption de Zr(IV) sur **EMC8**.

Pour chaque série d'échantillon, les constantes de complexation du zirconium sur la résine modifiée ont été calculées. Elles sont regroupées dans le Tableau 18 et comparées aux valeurs de constantes de complexation de Zr(IV)/DFO de Y. Toporivska et son équipe.^[148]

Tableau 18 : Constantes de complexation du système Zr(IV)/EMC8.

Milieux	$\log \beta_{111i}$	$\log \beta_{110i}$	$\log \beta_{11-1i}$
I = 0,1 M	47,8	41,5	31,0
I = 1 M	47,8	41,7	31,0
I = 1 M + DFO 0,1 mM	47,3	41,7	30,8
I = 1 M + DFO 1 mM	47,8	41,9	30,8
I = 0,1 M + EDTA 0,5 mM	47,8	41,9	31,0
I = 0,1 M + EDTA 5 mM	48,1	41,9	31,0
<i>Moyenne des six milieux</i>	<i>47,77</i>	<i>41,77</i>	<i>30,93</i>
<i>Données de la littérature ^[148]</i>	<i>47,83</i>	<i>41,88</i>	<i>30,99</i>

Les valeurs obtenues pour les six séries d'échantillons sont très cohérentes entre elles. De plus, pour chaque constante, la moyenne des six valeurs est extrêmement proche des données de la littérature. Il est important de préciser que les données de Y. Toporivska et E. Gumienna-Kontecka se réfèrent à la complexation de Zr^{4+} par la DFO libre en solution. Ces résultats montrent donc clairement que la DFO greffée sur résine possède les mêmes propriétés de chélation que la DFO en solution. L'immobilisation du chélateur sur un support physique semble donc avoir peu d'impact sur ses propriétés de complexation.

2.3.4. Limitations

Nous sommes parvenus à synthétiser une résine modifiée par la DFO en une étape à l'échelle de quelques grammes (< 20 g). Les différentes analyses ont permis de déterminer la teneur en DFO et leur localisation au sein de la résine EMC-DFO. Ce matériau présente l'avantage, par rapport à son analogue Sephadex-DFO, d'être exempt de sites de complexation susceptibles d'entrer en compétition avec les acides hydroxamiques de la DFO. Cette résine possède toutefois un taux de fonctionnalisation moindre que celui de la Sephadex, en raison de la plus faible densité de fonctions époxy dans la résine Praesto époxy (1,5 mmol/g) par rapport à celle des groupes carboxylate de la Sephadex (4,27 mmol/g). L'assemblage de dispositifs DGT à partir de ces polymères nous renseignera sur la pertinence de ces deux résines pour la détection de métaux toxiques et de radioéléments.

2.4. Capteurs DGT incorporant une résine fonctionnalisée par de la DFO

2.4.1. Introduction

Des lots de résines modifiées (Sephadex et EMC) ont été envoyés à notre partenaire du Projet ANR Pluton localisé au centre de l'IRSN à Fontenay-aux-Roses. L'équipe de chercheurs a une solide expérience en assemblage de dispositifs DGT, ainsi qu'en leur déploiement en laboratoire ou en milieux naturels.

La première étape du montage d'un capteur DGT consiste à incorporer la résine chélatrice dans un gel hydrophile comme l'agarose pour former le gel chélateur. Les différents tests de gélification ont montré de bien meilleurs résultats avec la résine Sephadex qu'avec la résine EMC, vraisemblablement dus au caractère plus hydrophile de la résine Sephadex. Les premiers dispositifs DGT, fonctionnalisés par la DFO, ont donc été élaborés en utilisant la résine Sephadex-DFO. Tous les résultats présentés dans ce chapitre ont été obtenus avec ces dispositifs DGT.

Néanmoins, les travaux préliminaires ont rapidement montré que les solutions faiblement acides de Zr(IV) et Th(IV), utilisées comme succédané du Pu(IV), étaient instables dans le temps, donnant lieu à des phénomènes de sorption des cations ou plus vraisemblablement des hydroxydes colloïdaux sur les différents éléments du DGT et les parois des récipients utilisés. L'ajout d'un agent complexant pour stabiliser les solutions a été envisagé mais sans succès, car le chélateur était soit trop faible pour entraver la sorption, soit car il était trop fort à pH 6 et entravait la diffusion du métal dans le gel diffusif et sa complexation par le gel chélatant. Devant la difficulté et le coût d'obtention d'une quantité suffisante de plutonium pour réaliser les premiers essais avec ces nouveaux dispositifs DGT, nos partenaires ont réorienté les recherches vers l'uranium(VI). L'ion a moins tendance à s'hydrolyser en milieu acide et est stabilisé dans les eaux dures ou moyennement dures sous la forme de carbonates calciques ou magnésiques solubles de forme $[\text{CaUO}_2(\text{CO}_3)_3]^{2-}$, $[\text{Ca}_2\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3]$ et $[\text{MgUO}_2(\text{CO}_3)_3]^{2-}$. Par ailleurs, des dispositifs DGT existent déjà pour l'uranium(VI), ce qui permet de comparer les performances de DGT préparés avec la résine Sephadex-DFO à celles d'autres dispositifs contenant des résines commerciales (Chelex-100[®], Metsorb[™] et Diphonix[®]).

2.4.2. Méthodes et résultats

Études en laboratoire

Les résines commerciales recommandées pour assembler des dispositifs DGT pour détecter l'uranium(VI) sont la Chelex-100[®], la Metsorb[™] et la Diphonix[®].^[128] Le manque de sélectivité des chélateurs présents dans la Chelex-100[®] (acide iminodiacétique) et l'agent de sorption de la résine Metsorb[™] (TiO₂) pour UO₂²⁺ limite grandement leur champ d'application. Les dispositifs DGT Diphonix[®] semblent être les plus efficaces, mais leur mise en œuvre reste problématique en raison de l'utilisation d'acide étidronique comme agent d'élution (produit très coûteux qui nécessite de diluer la solution d'élution en amont, incompatibilité avec les mesures par ICP-MS). La résine Sephadex-DFO semble être une bonne alternative à ces différents matériaux.

Des dispositifs DGT utilisant la résine Sephadex-DFO, ainsi que les 3 résines commerciales sus-citées, ont été assemblés. Les performances des quatre méthodes DGT ont été évaluées, pendant 96 heures, dans deux eaux continentales commerciales (Volvic[®] et Vittel[®]) et dans une eau de mer synthétique, dopées par l'ajout de 20 µg.L⁻¹ d'uranium(VI). L'évolution de la masse d'uranium accumulée par les capteurs DGT au cours du temps pour les différentes matrices est représentée sous formes de graphiques (Figure 72, Figure 73 et Figure 74). Pour qu'une méthode DGT soit validée en laboratoire, elle doit donner une réponse en masse (mg) linéaire en fonction du temps et celle-ci doit être proche de la valeur théorique, calculée à partir du coefficient de diffusion des espèces uranifères dans le gel et de la loi de Fick. Le niveau de tolérance par rapport à la valeur théorique est de ± 15 %, ^[149] représentée par les droites pointillées sur les graphiques. De surcroît, la labilité des complexes carbonato uranium(VI) diffusant à travers le gel d'agarose est un paramètre crucial pour obtenir une réponse linéaire de l'échantillonneur DGT en fonction du temps. En effet, ces derniers doivent subir une réaction rapide de transmétallation de l'ion UO₂²⁺ par le chélateur immobilisé sur la résine du gel chélateur afin de créer le gradient de concentration au sein du gel diffusif.

Volvic :

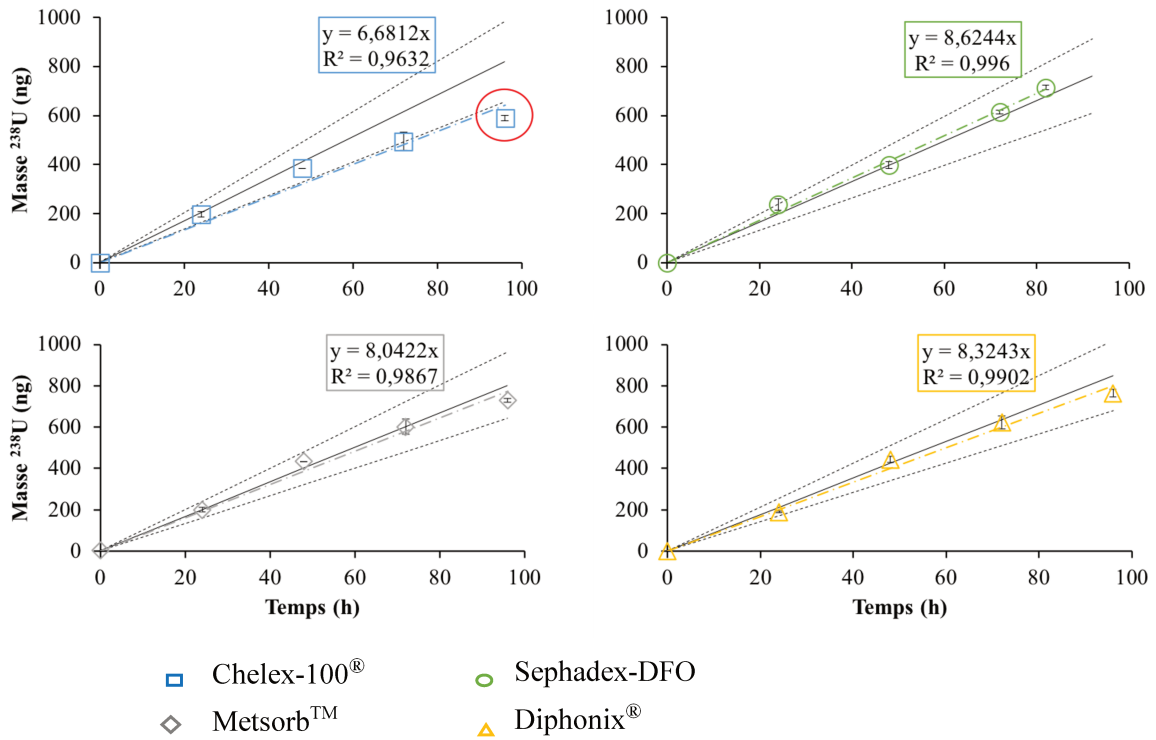


Figure 72 : Masse d'uranium accumulée dans les dispositifs DGT en fonction du temps dans l'eau de Volvic dopée par $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'uranium(VI).

L'eau de Volvic est une eau minérale basaltique douce. L'accumulation de l'uranium est linéaire ($R^2 > 0,96$) pour les quatre méthodes. Dans le cas de la méthode Chelex-100[®], le point à 96 h est en-dessous de la limite basse de tolérance par rapport à la masse théorique, ce qui indique un début de phénomène de saturation.

Vittel :

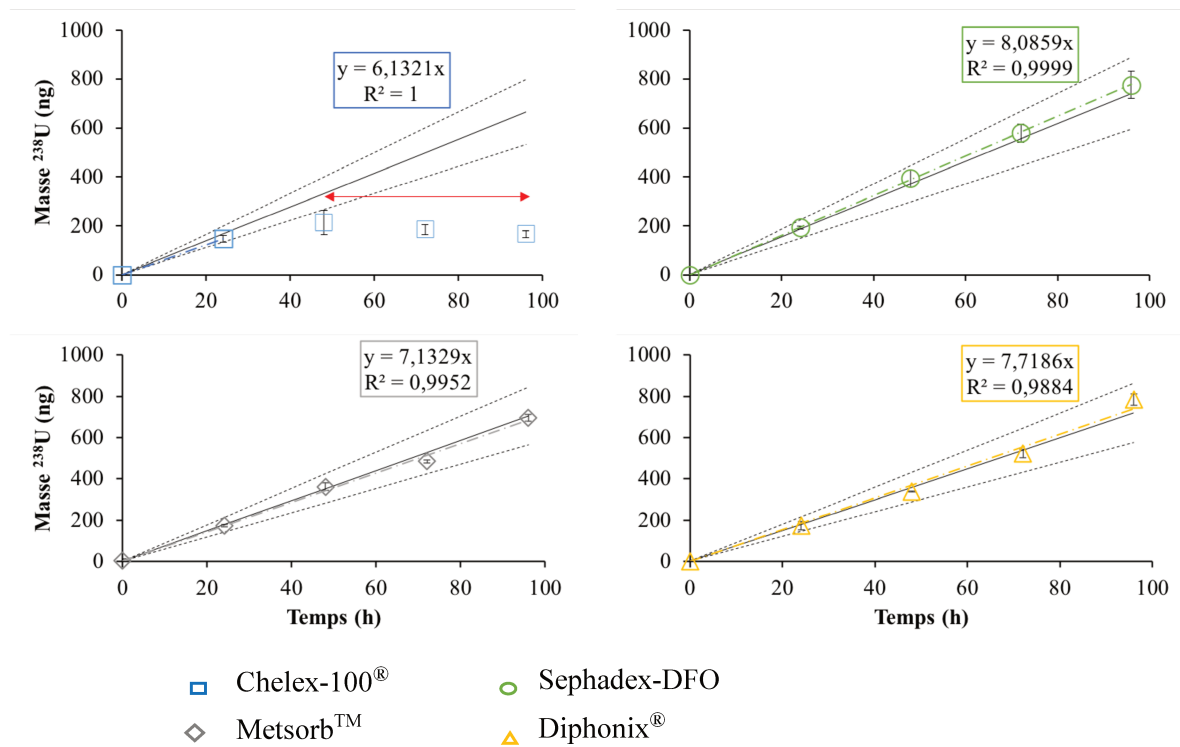


Figure 73 : Masse d'uranium accumulée dans les dispositifs DGT en fonction du temps dans l'eau de Vittel dopée par $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'uranium(VI).

L'eau de Vittel est une eau minérale calcaire, plus dure que l'eau de Volvic. Bien que cela n'affecte pas les résultats toujours cohérents des dispositifs Metsorb[™], Sephadex-DFO et Diphonix[®], qui donnent toujours une réponse linéaire et proche de la valeur théorique, le DGT Chelex-100[®] lui atteint la saturation après seulement 24 heures.

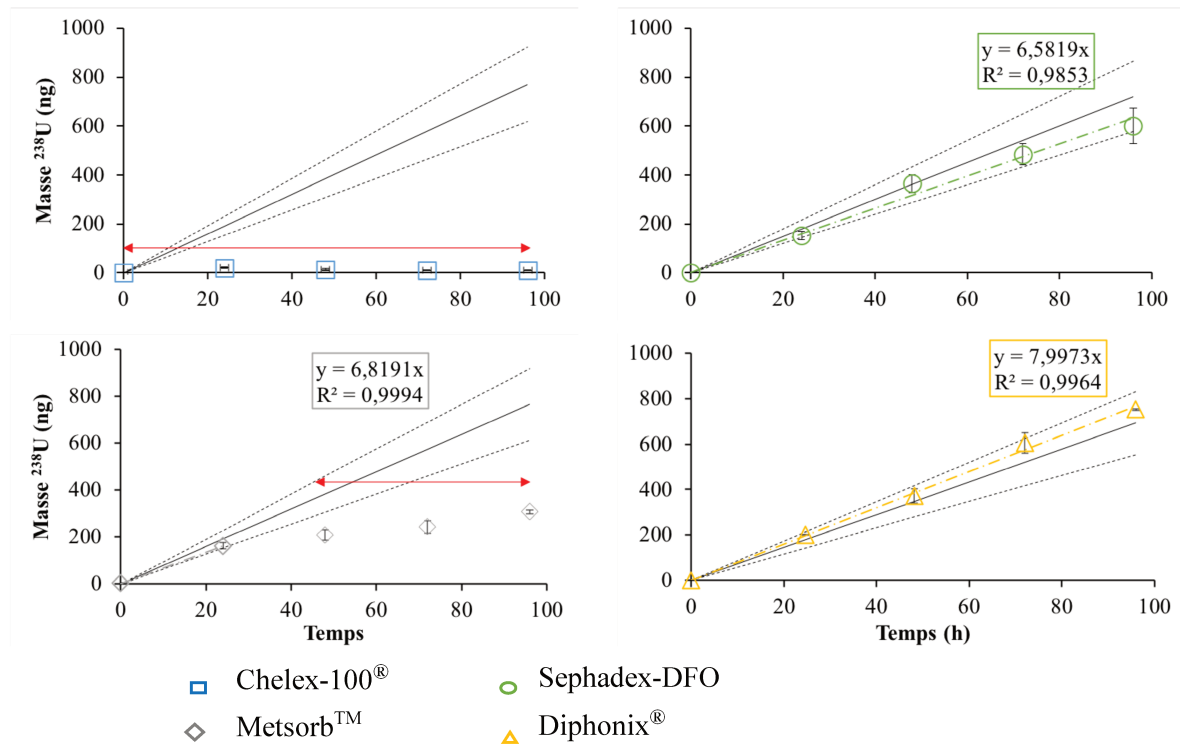
Eau de mer synthétique :

Figure 74 : Masse d'uranium accumulée dans les dispositifs DGT en fonction du temps dans de l'eau de mer synthétique dopée par $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'uranium(VI).

Dans de l'eau de mer synthétique, seules les méthodes DGT Sephadex-DFO et Diphonix[®] donnent des résultats satisfaisants avec un $R^2 > 0,98$ et des valeurs comprises dans le seuil d'acceptabilité de $\pm 15 \%$ par rapport à la valeur théorique. La résine Chelex-100[®] est instantanément saturée et la résine Metsorb[™] atteint la saturation après 24 heures.

En conclusion, cette étude comparative montre que sur les trois résines commerciales préconisées pour fabriquer des capteurs DGT d'uranyle, la Chelex-100[®] et la Metsorb[™] ne sont pas du tout performantes dans des milieux aqueux chargés en sels. En effet, le manque de sélectivité de ces résines entraîne une saturation rapide des sites actifs par des ions calcium, sodium et magnésium, spécialement dans les eaux marines. Dans les eaux dures et marines, la quasi-totalité de l'uranium est complexée par les ions carbonate sous la forme de deux espèces majoritaires, $[\text{CaUO}_2(\text{CO}_3)_3]^{2-}$ et $[\text{Ca}_2\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3]$. Ils s'avèrent qu'une fois incorporée dans des capteurs DGT, la résine à base de DFO accumule l'ion UO_2^{2+} tout aussi efficacement que la résine Diphonix[®] et ce, quel que soit le type d'eau. La mesure fiable du taux d'uranium(VI) présent aussi bien dans les eaux continentales que dans l'eau de mer s'explique par la très forte sélectivité pour l'uranyle vis-à-vis des ions alcalins (Na^+ , K^+) et alcalino-terreux (Mg^{2+} , Ca^{2+}) omniprésents dans ces milieux et par la haute affinité de la DFO pour UO_2^{2+} qui favorise la

dissociation au contact de la résine des complexes ternaires carbonatés labiles ayant diffusé au travers de la couche de gel diffusif. La résine Sephadex-DFO présente l'avantage par rapport à la résine Diphonix[®] d'être analysée plus aisément par ICP-MS puisque l'élution quantitative de l'uranium ne nécessite pas l'utilisation problématique d'acide étidronique, un simple lavage par l'acide nitrique 1 M étant suffisant. Après ces résultats très encourageants en laboratoires, nos partenaires de l'IRSN ont vérifié l'efficacité de ces nouveaux dispositifs DGT Sephadex-DFO *in situ*.

Études *in situ*

Les dispositifs DGT ont été déployés dans l'Œuf, un affluent de l'Essonne. Afin de déterminer les trois sites de déploiement, un tronçon de 30 km de la rivière a été analysé en 16 points différents afin de connaître à chaque fois la concentration totale en uranium, le pH, la température, la conductivité, et le courant. Ces prélèvements ont permis de dresser un profil de concentration en uranium de la rivière ($4 - 18 \mu\text{g.L}^{-1}$) (Figure 75).

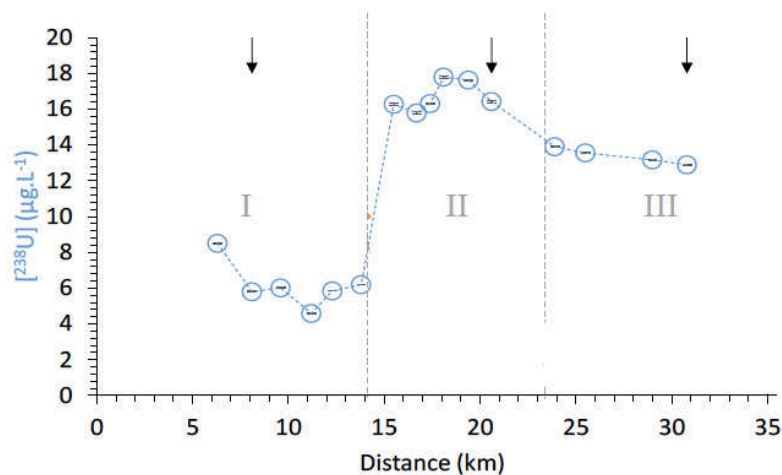


Figure 75 : Profil de concentration totale en uranium de la rivière Œuf.

Selon la Figure 75, trois zones de variation de la concentration en U se distinguent (I, II et III). Le but était de déployer les capteurs DGT dans chaque zone de concentration. Le point précis a été choisi en considérant le courant le plus important dans chaque tronçon afin de limiter l'impact de la couche limite de diffusion (CLD) ($8,1 \text{ km} : 0,167 \text{ m s}^{-1}$; $20,6 : 0,863 \text{ m s}^{-1}$ et $30,8 : 0,274 \text{ m s}^{-1}$ (flèches noires)).

Après avoir identifié les sites de déploiement, les performances des quatre méthodes DGT (Chelex-100[®], Metsorb[™], Sephadex-DFO et Diphonix[®]) ont été testées *in situ*. Chaque type de capteurs ont été déployée en triplicat sur les trois sites. Les dispositifs DGT ont été

immergés dans le lit de la rivière pendant 72 heures. Après récupération et analyses des différents capteurs, les valeurs de concentration obtenues ont été comparées à celles obtenues par analyse ICP-MS de prélèvements directs ($C_{DGT}/C_{solution}$). Les résultats sont présentés sur la Figure 76.

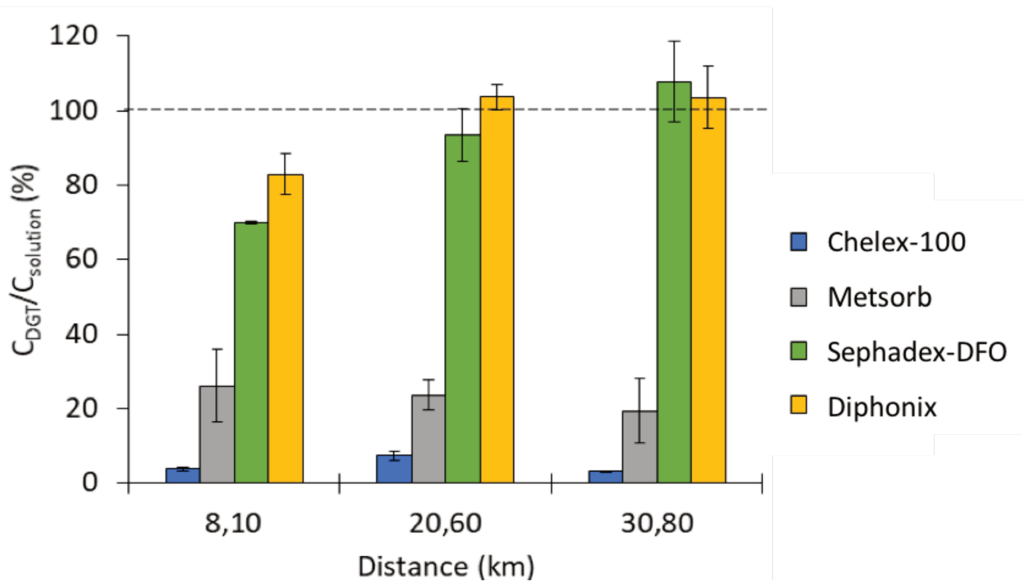


Figure 76 : C_{DGT}/C_{sol} en fonction du point de déploiement pour les quatre méthodes DGT déployées dans la rivière de l'Œuf.

L'eau de l'Œuf provenant d'un sol calcaire, ses propriétés physico-chimique se rapprochent de l'eau de Vittel étudiée en laboratoire. Toutes deux possèdent une concentration en ion Ca^{2+} similaire (3,2 et 3,5 $mmol.L^{-1}$) et donc une spéciation de l'uranium proche : $[Ca_2UO_2(CO_3)_3]$ (~ 80 %) et $[CaUO_2(CO_3)_3]^{2-}$ (~ 20 %). Pourtant, les résultats de la méthode Chelex-100[®] sont encore plus décevants qu'en laboratoire, et ceux de la méthode Metsorb[™], satisfaisants avec la Vittel, ne le sont plus *in situ*. Ces résultats sont sans doute imputables à la présence d'ions tels que HCO_3^- dans la rivière de l'Œuf, présents à des valeurs 4 à 5 fois supérieures à celles observées dans l'eau de Vittel[®][128], ainsi que la présence de matière organique dissoute pouvant être porteuse de métaux chélatés tel que du cuivre^[150]. Le manque de sélectivité des résines chélatrice Chelex-100[®] et Metsorb[™] est donc encore plus évident dans un milieu naturel complexe.

Dans l'Œuf, les méthodes Diphonix[®] et Sephadex-DFO donnent des résultats similaires et satisfaisants, avec un $C_{DGT}/C_{solution}$ compris entre 90 et 110 % pour les sites de déploiement à 20,6 km et à 30,8 km. Des résultats moins fiables ont été obtenus pour le site à 8,1 km, probablement en raison de la faible vitesse de courant (0,167 $m s^{-1}$), entraînant la formation d'une CLD plus importante qui fausse en partie les résultats.

Après avoir assemblé de nouveaux dispositifs DGT avec la résine chélatrice Sephadex-DFO, nos partenaires de l'IRSN ont réalisé des études comparatives, ciblant l'uranyle. Les autres résines choisies pour ces études sont les résines commerciales recommandées pour l'analyse de l'uranium (Chelex-100[®], Metsorb[™], Diphonix[®]). Deux résultats principaux peuvent être déduits de ces études :

- La trop faible sélectivité des résines Chelex-100 et Metsorb les rend inefficaces dès que l'ion à analyser se trouve en présence de cations compétiteurs comme les ions alcalins et alcalino-terreux. De ce fait, ces résines sont inutilisables en milieu naturel.
- Le DGT Sephadex-DFO a montré des résultats très prometteurs et semble être, à ce jour, la seule alternative viable à la résine Diphonix. Nous estimons désormais que la technologie développée a atteint le niveau de maturité TRL 7–8 (« Technology Readiness Level »).

2.5. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons décrit les travaux de synthèse de nouveaux supports polymères chélatants par le développement de méthodes de greffage fiable et efficace de la DFO sur deux résines différentes, utilisant des fonctions d'ancrages différentes. Les nombreuses analyses réalisées sur ces résines modifiées nous ont permis de déterminer leur composition chimique et leurs propriétés de complexation de cations métalliques. Grâce aux collaborations développées par le laboratoire, les propriétés d'extraction de Zr^{4+} par la résine EMC-DFO ont été déterminées et de nouveaux capteurs DGT avec la résine Sephadex-DFO ont été mis au point pour la détection de l'uranyle.

De par sa grande affinité avec les actinides tétravalents et sa disponibilité commerciale, le ligand DFO a été choisi pour mettre au point ces deux nouveaux matériaux chélatants. Mais ne possédant que trois groupements chélateurs, la DFO n'atteint pas les caractéristiques requises en terme du nombre d'atomes coordonnant (huit au minimum) pour la chélation du Th^{4+} et du Pu^{4+} . Les chapitres suivants retracent nos travaux sur la conception et la synthèse de ligands tétrahydroxamiques plus appropriés à la chélation de ces radioéléments.

III. Synthèse de nouveaux ligands hydroxamiques

Comme nous l'avons mentionné dans l'introduction, les motifs hydroxamiques cycliques PIPO et AZEPO (Figure 77) présentent un réel avantage par rapport à leurs analogues linéaires en raison de la formation exclusive de la forme *Z* qui confère une stabilité accrue des complexes formés ainsi qu'une basicité plus élevée. Dans ce chapitre, nous allons décrire les synthèses des dérivés du PIPO réalisés au cours de ces travaux, puis nous explorerons leurs propriétés physico-chimiques.

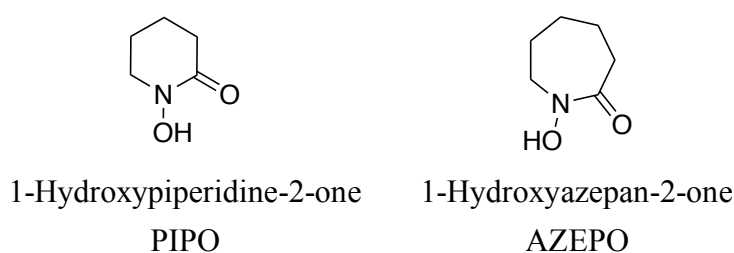


Figure 77 : Structures des acides hydroxamiques cycliques PIPO et AZEPO.

3.1. Synthèse de nouveaux ligands hydroxamiques cycliques

3.1.1 PIPO(Bn)CO₂Et

- Présentation

Le motif hydroxamique cyclique que nous avons ciblé pour la synthèse de nouveaux ligands hydroxamiques est le PIPO(Bn)CO₂Et (**4**). Ce composé est constitué d'une fonction hydroxamique protégée par un benzyle et d'un ester, précurseur d'une fonction acide carboxylique qui servira de fonction d'ancrage. La protection de la fonction hydroxamique inhibe complètement le pouvoir de ligand de la molécule et va nous permettre de réaliser de nombreuses transformations chimiques sans craindre la chélation parasite de traces de métaux.

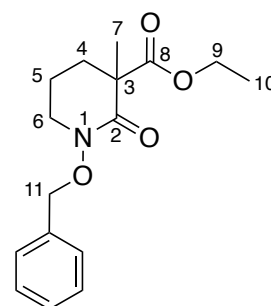


Figure 78 : Structure du PIPO(Bn)CO₂Et (**4**)

- Synthèse

En faisant réagir le chloroformiate d'éthyle sur l'hydrochlorure de la *O*-benzylhydroxylamine commerciale dans la pyridine nous avons formé le benzyloxycarbamate d'éthyle (1).

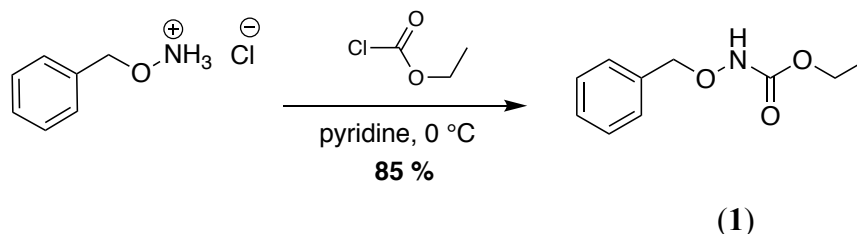


Schéma 9 : Synthèse du benzyloxycarbamate d'éthyle (1).

Le carbamate (1) en présence du 5-bromovalérate d'éthyle et de K₂CO₃ dans l'acétonitrile porté à reflux conduit au composé (2) par réaction de substitution nucléophile de l'atome de brome par l'azote.

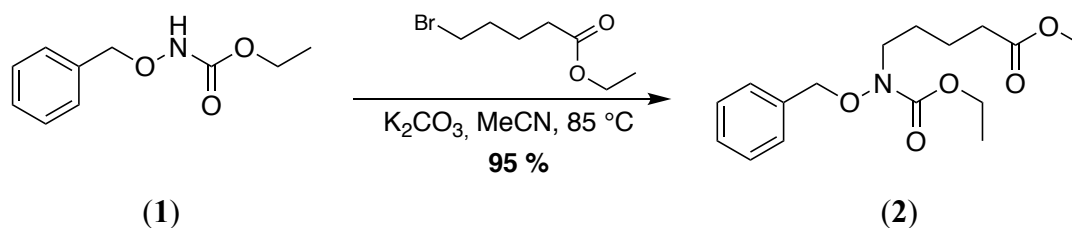


Schéma 10 : Synthèse du composé (2).

Le composé (2) est alors cyclisé en milieu basique et anhydre pour former l'hydroxamate cyclique PIPO (3). La réaction est réalisée à -78 °C par génération *in situ* de la base bis(triméthylsilyl) amidure de lithium formé par l'ajout de *n*-BuLi sur l'héxaméthylidisilazane.^[34,151]

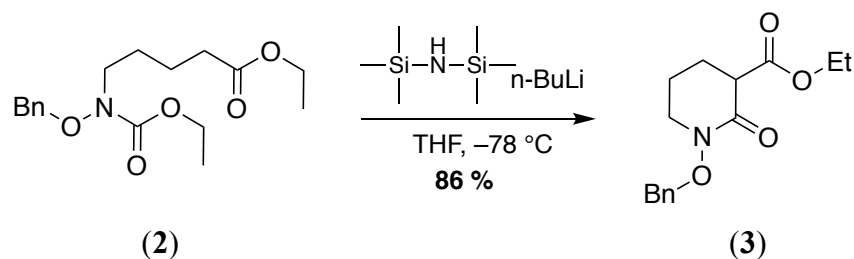


Schéma 11 : Synthèse du composé (3).

- Méthylation

Le proton porté par le carbone C3 (Figure 78) du cycle est labile en raison de l'équilibre céto-énolique de la molécule (Schéma 12).

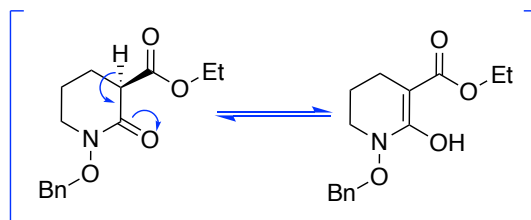


Schéma 12 : Équilibre céto-énolique de (3).

Dans la suite de notre étude, nous synthétiserons sur des analogues énantiomériquement purs de ces hydroxamates cycliques. Cependant, cet équilibre céto-énolique entraîne inéluctablement la racémisation du composé, car, d'une part le motif CO-C(3)-CO du cycle est plan sous sa forme énolique et, d'autre part, le proton porté par ce carbone est acide. Afin de bloquer la chiralité du carbone en position 3, une réaction d'alkylation de cet atome a été envisagée. Le proton porté par le carbone 3 étant acide, une base faible comme le K_2CO_3 suffit pour le substituer par un groupement méthyle apporté par le iodométhane. Ainsi le motif hydroxamique cyclique (4) a été synthétisé.

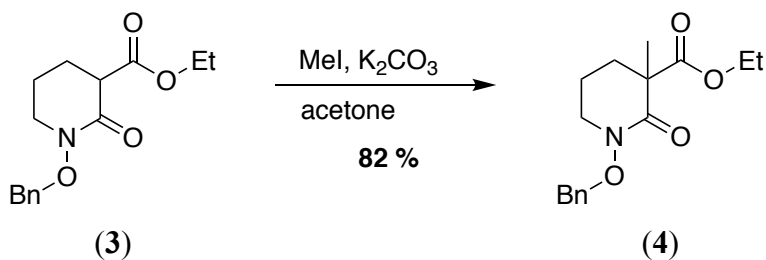


Schéma 13 : Synthèse du composé (4).

Nous avons alors envisagé d'effectuer de manière concomitante les réactions de cyclisation et de méthylation puisque ces deux réactions procèdent en milieu basique. Les deux étapes ont été réalisées en « one pot » et un rendement très satisfaisant de 70 % a été obtenu après purification.

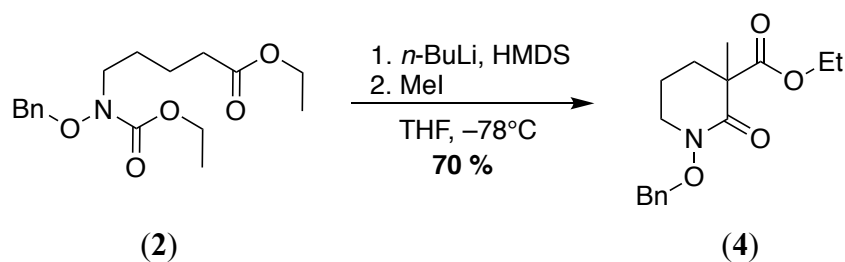
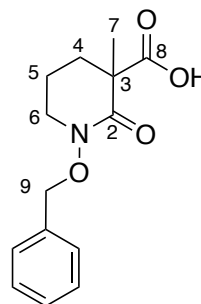


Schéma 14 : Synthèse « one pot » du composé (4).

3.1.2 PIPO(Bn)CO₂H et PIPO(Bn)COCl

- PIPO(Bn)CO₂H

Comme présenté précédemment, le but de cette étude est de préparer de nouveaux ligands polyhydroxamates en utilisant le motif cyclique PIPO. L'introduction d'une fonction acide carboxylique sur le cycle va servir de fonction d'ancrage, par couplage peptidique sur une plateforme polyamine.

Figure 79 : Structure du PIPO(Bn)CO₂H (5).

La saponification du composé (4) a été réalisée en présence de soude dans un mélange éthanol/eau (4/1). Après hydrolyse acide, l'acide carboxylique (5) est obtenu quantitativement.

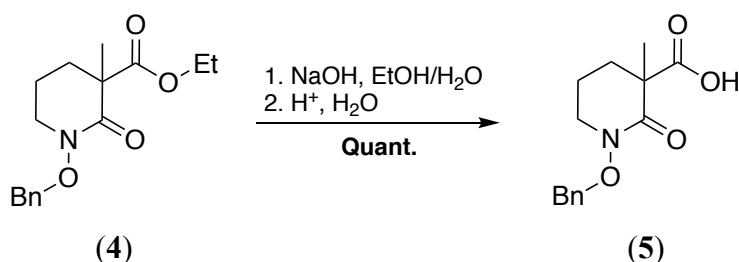


Schéma 15 : Synthèse du composé (5).

La présence de liaisons hydrogène intra-intermoléculaires favorise la cristallisation du composé 5. Nous avons ainsi obtenu des cristaux de qualité suffisante pour une analyse radiocristallographique sur monocristal du PIPO acide (5). Nous décrirons plus en détail, par la

suite, cette structure en la comparant à celles d'autres dérivés du PIPO. La structure présentée à la Figure 80 montre que la molécule a bien été obtenue sous forme racémique car les deux énantiomères coexistent dans le cristal. Sur la Figure 80 est représentée uniquement l'énantiomère *S*.

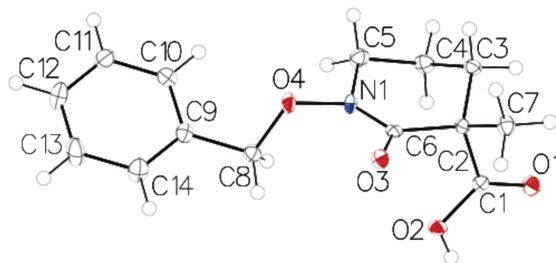


Figure 80 : Représentation radiocristallographique ORTEP de (**5**) (seuil de probabilité 50 %).

L'attribution univoque des signaux de spectres RMN ^1H et ^{13}C est indispensable, car ce motif est la brique élémentaire de nos systèmes polycycliques. Hormis les signaux attribués au benzyle, le signal le plus déblindé (2H, 3,5 ppm) correspond aux deux protons portés par l'atome de carbone 6, car ils sont au voisinage direct de l'atome d'azote de l'acide hydroxamique. De proche en proche et grâce à la carte de corrélation COSY, nous avons attribué les signaux des protons voisins. Ainsi, le signal qui résonne à 1,9 ppm (2H) est imputable aux protons portés par l'atome de carbone 5. Sur la carte COSY, nous observons que ce signal est corrélé à deux signaux (1H) à 1,7 et 2,2 ppm. Le diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HSQC (Figure 84) permet d'affirmer que, malgré la différence de déplacement chimique de 0,5 ppm entre ces signaux, ces deux protons sont portés par un seul atome de carbone du cycle, le carbone 4. La diastéréotopie des protons géminés du cycle est une conséquence directe de la chiralité de la molécule car les deux faces du cycle PIPO sont diastéréotopes du fait de la dissymétrie induite par les groupes méthyle et éthylester. Ce phénomène est particulièrement marqué pour C-4 en raison de sa proximité avec le centre de chiralité. Le dernier signal (s, 3H, 1,5 ppm) correspond au groupement méthyl 7 porté par le carbone 3 du cycle. Une fois l'attribution de chaque signal du spectre RMN ^1H terminée, nous avons effectué l'attribution des signaux du spectre RMN ^{13}C à l'aide des cartes de corrélation HSQC et HMBC. Le spectre HSQC permet d'attribuer sans ambiguïté les atomes de carbones primaires et secondaires. La tâche est plus complexe pour les atomes carbone quaternaires C-2, C-3 et C-8. Les atomes C-2 et C-8 appartiennent à des groupes carbonyles et ils résonnent entre 170 et 180 ppm. La carte de corrélation HMBC (zone encadrée) (Figure 85) permet de les identifier de manière univoque car seul le signal de l'atome C-2 corrèle avec celui des protons H-6, l'atome C-8 étant trop éloigné. Finalement, le dernier signal est attribué à l'atome carbone quaternaire C-3. L'utilisation concertée des trois diagrammes de corrélation à deux dimensions (COSY, HMBC

et HSQC) nous ont permis d'attribuer chaque signal RMN proton et carbone (Figure 81 et Figure 82).

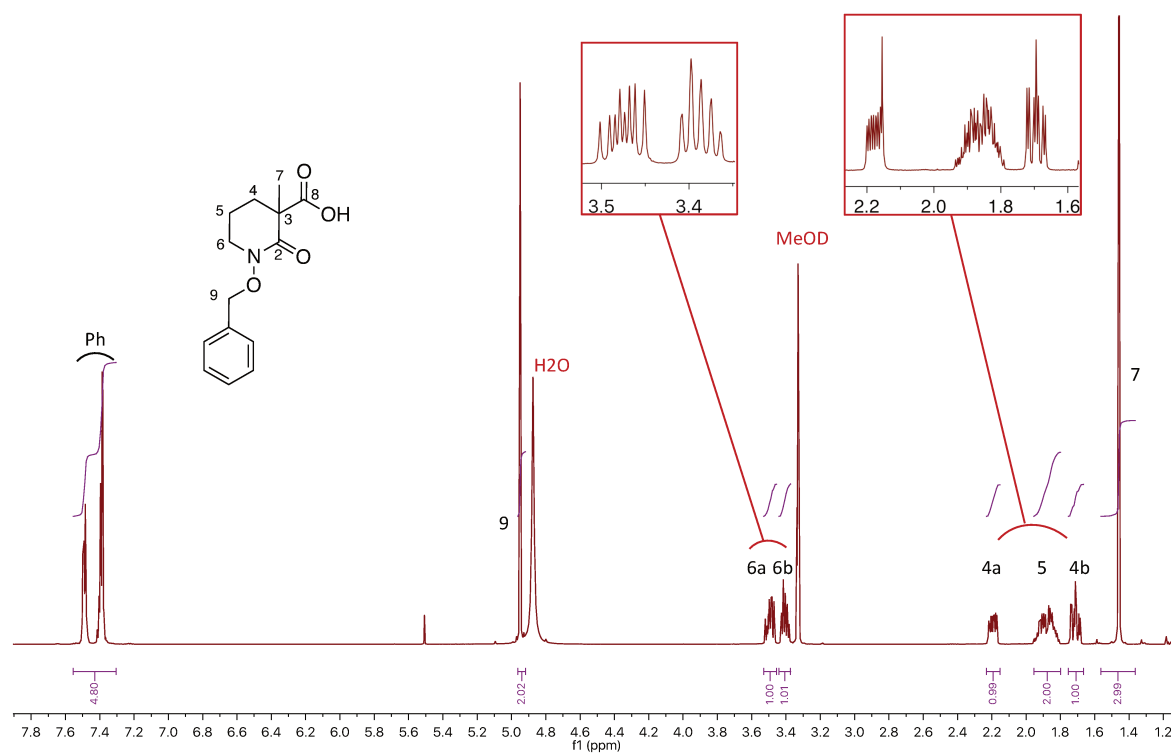
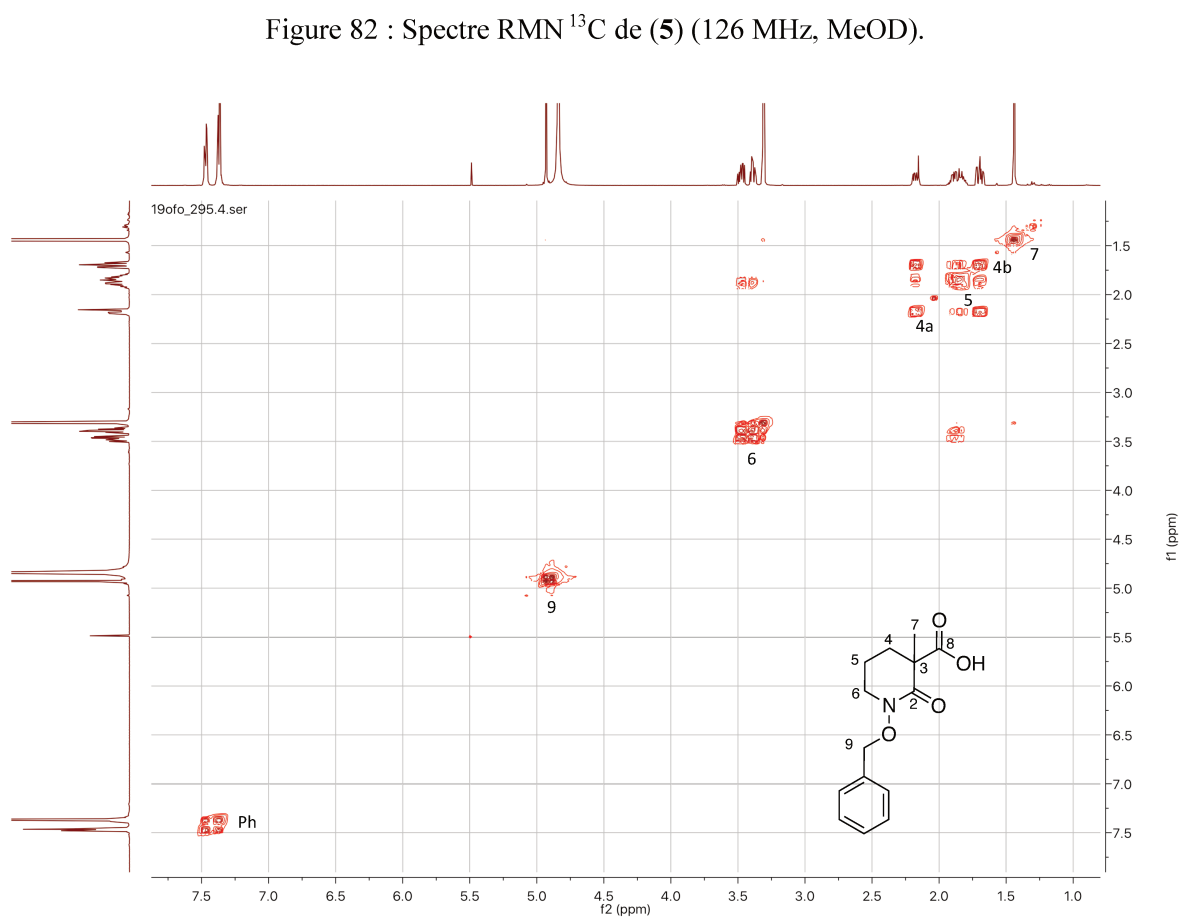
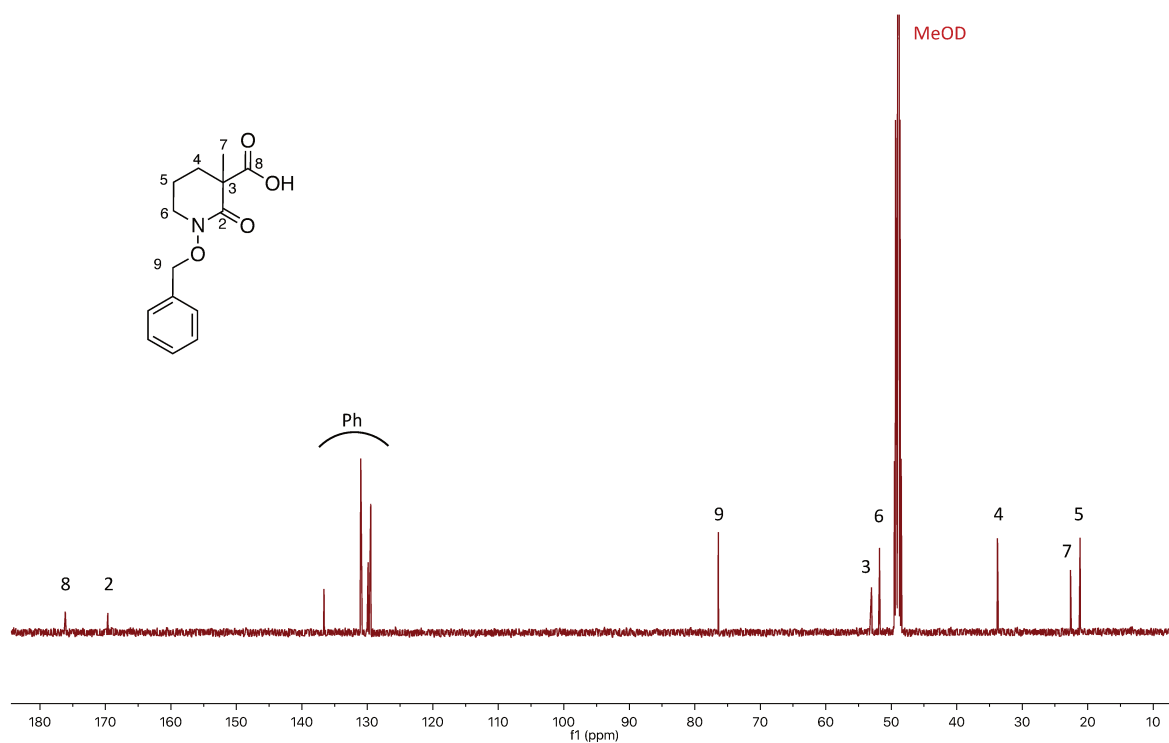


Figure 81 : Spectre ^1H RMN de (**5**) (500 MHz, MeOD).



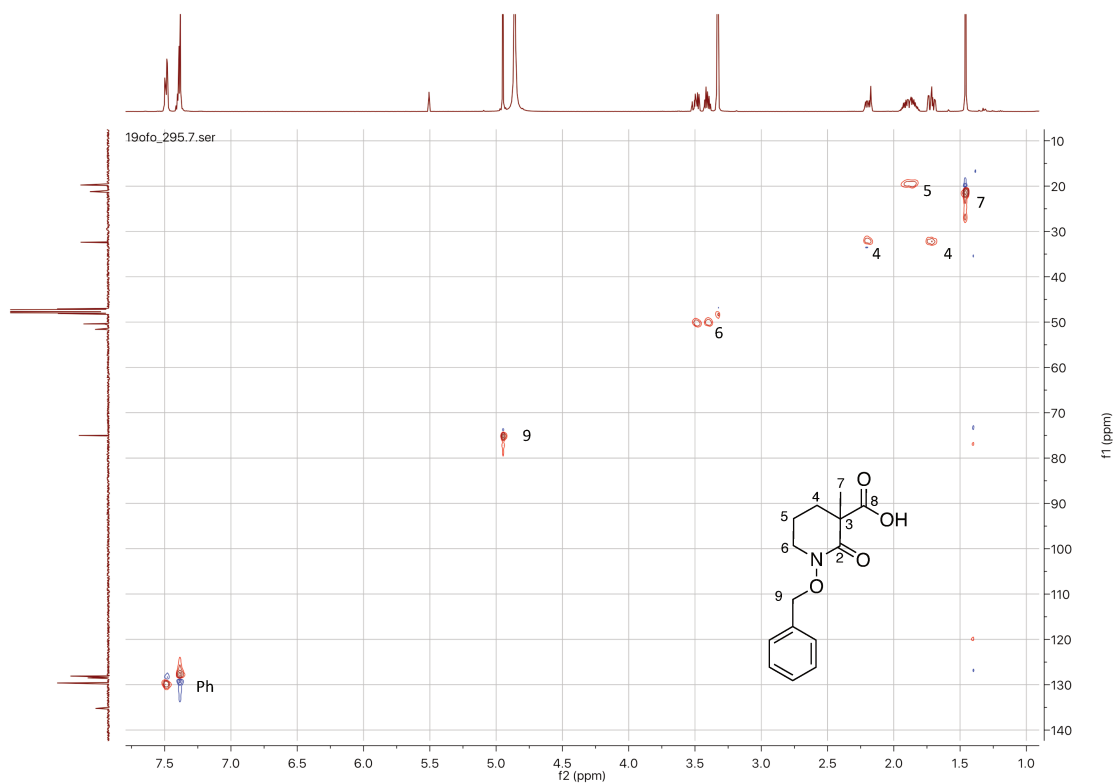


Figure 84 : Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HSQC de **(5)** (500 MHz 126 MHz, MeOD).

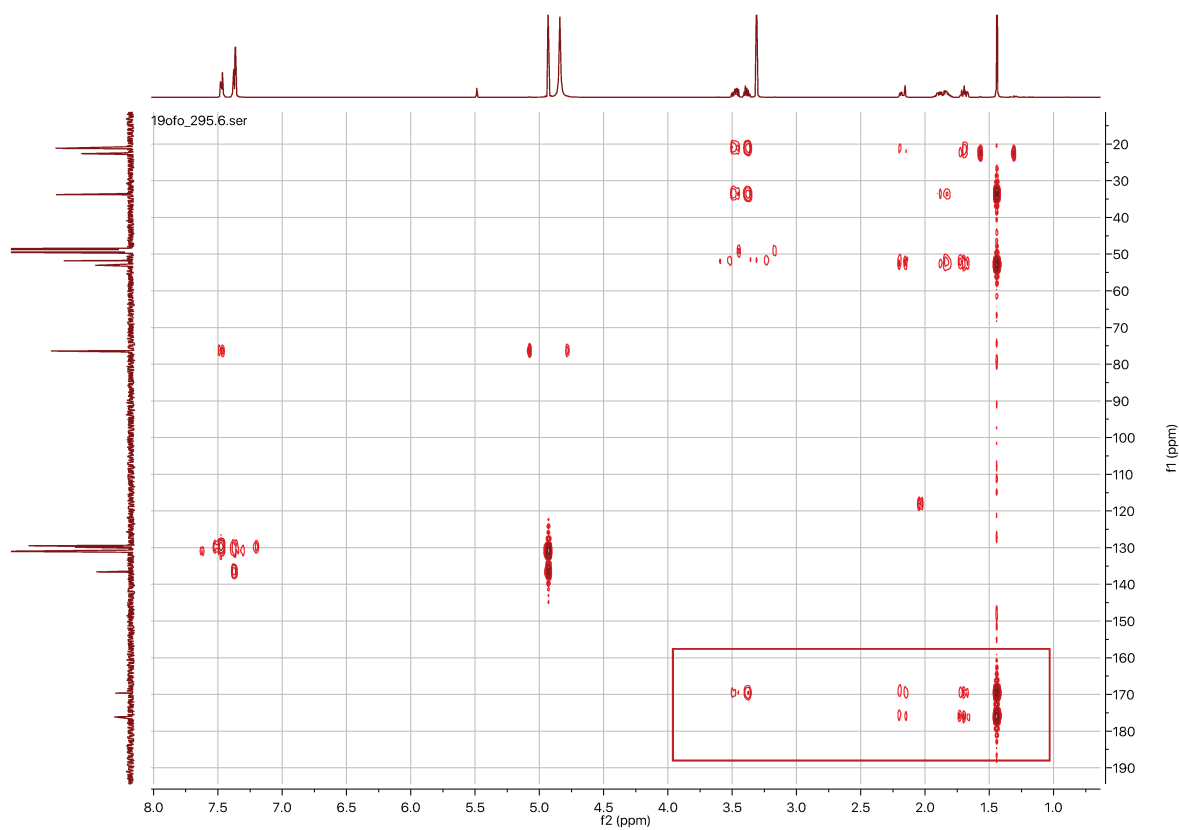
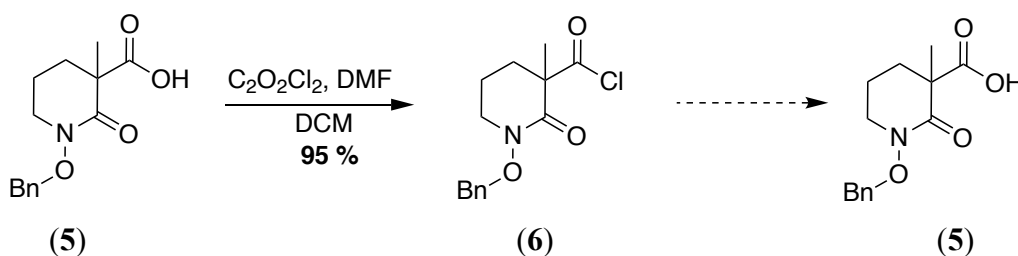


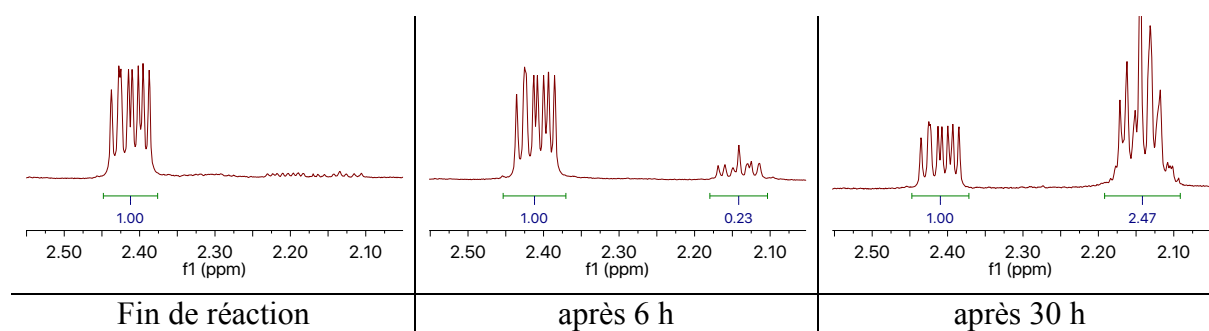
Figure 85 : Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HMBC de **(5)** (500 MHz 126 MHz, MeOD).

- *PIPO(Bn)COCl*

Le PIPO acide (**5**) permet, par liaison peptidique, d'être couplé à une plateforme polyazotée. Cependant, dans les conditions de couplage peptidique usuels (EDC, HOBT), la réaction donne lieu à un mélange d'espèces, vraisemblablement en raison de l'encombrement des amines secondaires et de leur moindre réactivité. Pour remédier à ce problème, nous avons synthétisé le chlorure d'acide correspondant (**6**). La réaction du chlorure d'oxalyle sur (**5**), catalysée par le DMF dans le DCM, permet d'isoler le chlorure d'acyle (**6**) avec un excellent rendement de 95 %.

Schéma 16 : Synthèse du composé (**6**).

Bien que la synthèse du chlorure d'acide (**6**) s'effectue avec un excellent rendement, nous avons observé que celui-ci est instable et qu'en présence de traces d'eau dans le solvant, il s'hydrolyse en quelques heures pour reformer l'acide carboxylique de départ (**5**). Nous avons suivi son évolution par spectroscopie RMN du proton (Figure 86).

Figure 86 : Étude RMN ^1H (CDCl_3) de l'hydrolyse de (**6**) en (**5**).

Pour observer cette dégradation, nous nous sommes focalisés sur le signal du proton 4a (Figure 81). Celui-ci possède un déplacement chimique nettement différent entre le chlorure d'acide (**6**) et l'acide carboxylique (**5**), ce qui permet d'observer aisément l'évolution de la réaction. A $t = 0$, nous pouvons considérer que (**6**) est pur. Après 6 heures dans le CDCl_3 la

proportion d'acide carboxylique est déjà importante (19 %) et après 30 h celui-ci est largement majoritaire (71 %). Étant donné la forte sensibilité du chlorure d'acide à l'humidité, celui-ci sera opposé à des polyamines directement après sa synthèse en utilisant des solvants préalablement séchés. Dans ces conditions et aux vues de la forte réactivité du chlorure d'acide, alors l'hydrolyse restera négligeable.

3.1.3 PIPO amides modèles

- Présentation

Pour élaborer des ligands polyhydroxamiques, le motif chélatant cyclique PIPO est ancré sur une plateforme azotée par une liaison peptidique. Nous avons, dans un premier temps, synthétisé deux ligands modèles porteurs d'une fonction amide : le PIPOMAH (**9**) et le PIPODMA (**10**). Ces deux molécules nous ont permis d'étudier les propriétés de complexation de ce chélateur, la fonction amide mimant l'environnement directe du motif PIPO dans les ligands polyhydroxamates.

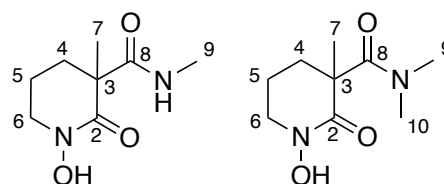


Figure 87 : Structures du PIPOMAH (**9**) et du PIPODMA (**10**).

- Synthèse

La liaison peptidique a été formée par réaction du chlorhydrate de méthylamine sur (**5**) en présence d'EDC, d'HOBt et de DIPEA dans le THF. L'intermédiaire benzylé formé (**7**) a été déprotégé pour donner le PIPOMAH (**9**).

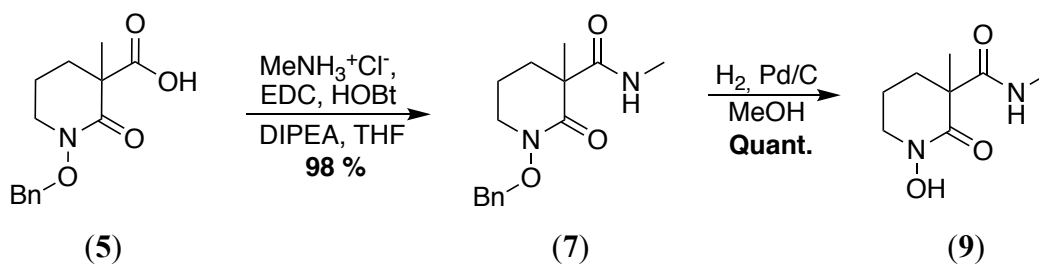


Schéma 17 : Synthèse en deux étapes du composé (**9**).

L'hydroxylamine a été déprotégée par hydrogénation catalysée au palladium sur charbon dans le méthanol.

Le PIPODMA (**10**), porteur d'une fonction amide tertiaire, a été synthétisé dans les mêmes conditions que son analogue PIPOMAH, en utilisant le chlorhydrate de diméthylamine (Schéma 18).

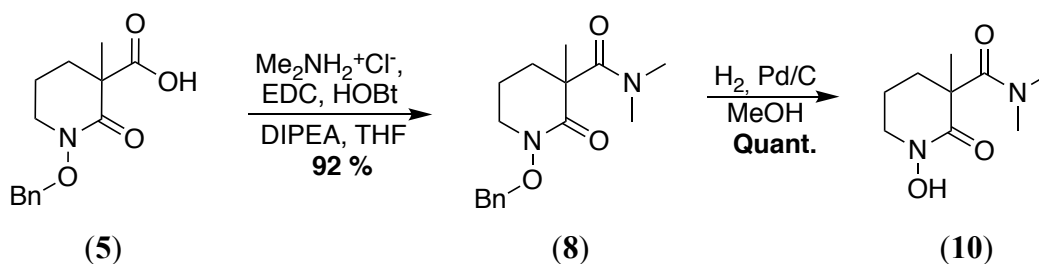


Schéma 18 : Synthèse en deux étapes du composé (**10**).

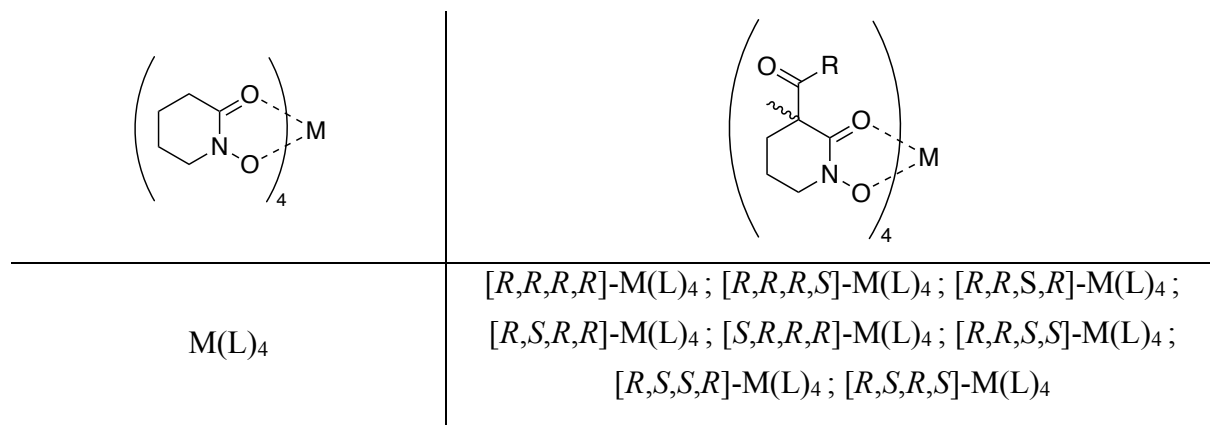
Le composé PIPOMAH (**9**) étant solide, il a été possible de le cristalliser dans l'éthanol par évaporation contrôlée. Des monocristaux de qualité suffisante pour effectuer une étude radiocristallographique ont été obtenus, les résultats ainsi qu'une étude comparative avec les autres cristaux obtenus sera présentée ultérieurement.

Contrairement à son analogue monométhyle, le PIPODMA (**10**) ne cristallise pas et reste sous forme d'huile. Cette différence est due à la présence de liaisons hydrogène intra-intermoléculaires dans le composé (**9**) entre le proton NH de l'amide et carboxyle de l'acide hydroxamique. Ces interactions ne peuvent pas exister pour le composé (**10**).

3.2. Séparation et étude énantiomérique

3.2.1 Problématique

Contrairement au cycle PIPO non fonctionnalisé, nos cycles hydroxamiques sont porteur d'une fonction acide carboxylique et d'un groupe méthyle sur l'atome de carbone 3, celui-ci est donc asymétrique. Le caractère racémique de nos molécules n'impact pas la complexation de cation métallique, mais il induit des problèmes de chiralité. En effet un mélange statistique de complexes constitués de ligands [R] et [S] sera obtenu lorsque ces ligands racémiques seront mis à réagir avec un métal tétravalent. Les différents complexes obtenus seront des diastéréoisomères.

Figure 88 : différents diastéréoisomères d'un complexe $M(L)_4$.

Le but de ces travaux étant de synthétiser des complexes à partir de ligands tétrahydroxamiques, la mise en jeu de motifs hydroxamiques racémiques, conduira donc inévitablement à un mélange de ligands et complexes diastéréoisomères. En présence d'un mélange d'espèces, nous ne serons pas en mesure d'étudier en détails les caractéristiques et les propriétés de coordination de nos ligands. Afin d'éviter la formation de mélange inextricables, nous avons donc cherché à préparer des motifs PIPO énantiomériquement purs.

3.2.2. Synthèses énantiosélectives

Afin de contrôler la chiralité de l'atome de carbone C-3, une première voie de synthèse envisagée était une méthylation énantiosélective du cycle PIPO, grâce à l'ajout d'un agent auxiliaire chirale comme la (+)-spartéine.^[152]

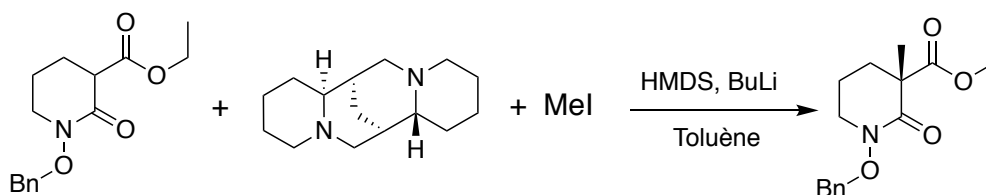


Schéma 19 : Méthylation énantiosélective de (3) en présence de la (+)-spartéine.

Après plusieurs essais, nous avons observé une légère énantiosélectivité par analyse HPLC chirale, mais l'excès énantiomérique n'a pas dépassé 12 %. En continuant sur cette voie nous aurions pu augmenter cet excès énantiomérique et nous approcher de ceux décrits dans la littérature (ee = 80%).^[152] Malheureusement cette technique ne permet pas d'obtenir un énantiomère complètement pur, nous l'avons donc écarté.

Suite à cet échec, une deuxième voie de synthèse a été envisagée. Elle consiste à revoir en intégralité la synthèse du PIPO ester (**4**) en partant de l'ester méthylique de l'acide lactique, molécule naturelle, énantiomériquement pure (Schéma 20).

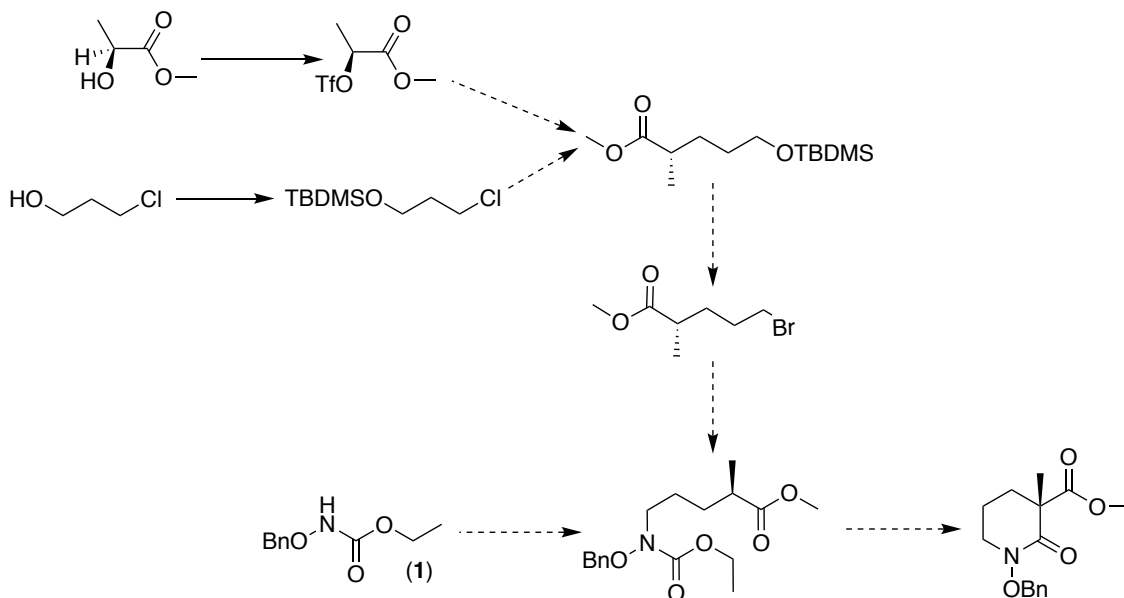


Schéma 20 : Voie de synthèse énantiosélective d'un PIPO ester.

Après activation de la fonction alcool par un triflate, nous envisageons de synthétiser un bromovalérate similaire à celui mis en jeu dans la synthèse du PIPO, mais porteur d'un groupe méthyle en alpha de l'ester. Lors de la synthèse, la chiralité de l'atome de carbone porteur de ce méthyle devrait être conservée. La seconde partie de la synthèse envisagée est similaire à celle du PIPO (**4**). En effet, l'ajout du benzyloxycarbamate d'éthyle (**1**) devrait produire un diester cyclisable dans les mêmes conditions que (**4**).

Bien que nous ayons commencé à explorer cette voie de synthèse qui semblait prometteuse, nous avons rencontré des difficultés avec la réaction de Grignard permettant de d'assembler les deux intermédiaires de synthèse. De plus, nous étudions en parallèle des méthodes de séparation chirale du composé (**4**) racémique qui ont donné rapidement de très bons résultats. Cette synthèse énantiosélective n'a donc pas été poursuivie au-delà des deux premières étapes, et la séparation chirale a été privilégiée.

3.2.3 Séparation chirale

La première méthode envisagée pour séparer les deux énantiomères de notre cycle substitué consistait à préparer un ester à partir de l'acide PIPO(Bn)CO₂H (**5**) et d'un alcool chiral.^[153,154] Les deux esters résultants étant diastéréoisomères, il est à priori possible de les séparer par purification sur gel de silice. Après avoir séparés les deux diastéréoisomères, une réaction de saponification permet alors d'obtenir les deux acides énantiomériquement purs. L'alcool chiral choisi pour effectuer l'estérification fut le (L)-menthol.

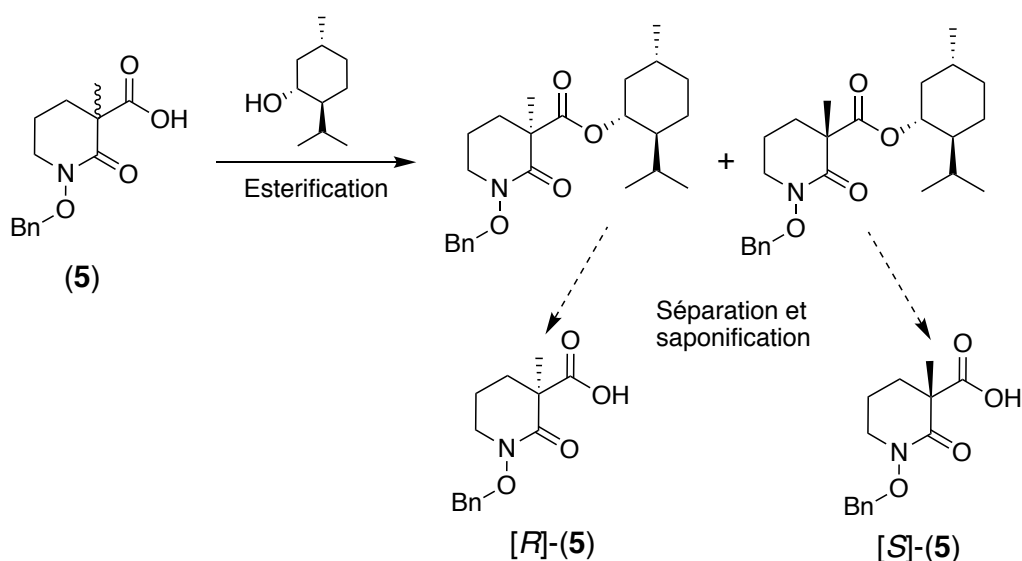


Schéma 21 : Voie de séparation des énantiomères de (**5**) par l'intermédiaire du (L)-menthol.

Bien que l'on observe deux taches distinctes en chromatographie sur couche mince (CCM) correspondant aux deux diastéréoisomères, il n'a pas été possible de les séparer sur colonne, les rapports frontaux des deux espèces étant trop proches. Une séparation par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est possible, mais cette technique ne permet de purifier que de petites quantités et une purification de plusieurs dizaines de grammes de composé est inenvisageable par cette méthode. Nous avons donc abandonné cette méthode.

La séparation chirale sur colonne a finalement été effectuée en utilisant une phase chirale et un appareil de chromatographie flash afin d'automatiser la procédure de séparation. La phase stationnaire de ces colonnes de séparation chirale, tout comme les colonnes de HPLC chirale, est composée d'un sucre chirale greffé sur silice. Parmi la variété de colonnes HPLC chirale disponible au laboratoire, ce sont les colonnes d'amylose qui présentaient les meilleurs résultats de séparation avec nos molécules. Nous avons donc réalisé nos séparations sur une

colonne garnie initialement de 24 g puis de 60 g d'amylose Chiralpak1A. Nous avons choisi d'effectuer la résolution chirale des deux énantiomères du PIPO ester (**4**) car il est facilement soluble dans un grand nombre de solvants organiques et est beaucoup moins polaire que le PIPO acide carboxylique (**5**). Les premiers tests de séparation, réalisés sur une colonne de 4 grammes de phase chirale, nous ont permis de cribler différents mélanges d'éluants (Figure 89). Des conditions optimales d'élution et de gradient ont finalement été trouvées (THF/Heptane : 15/85 → 40/60). Ces conditions ont été transportées sur les colonnes de plus gros volumes avec la même efficacité de séparation. Une des limitations de cette technique de chromatographie est la faible quantité d'échantillon pouvant être introduite en tête de colonne. Avec une colonne de 60 grammes de phase stationnaire, pour une séparation parfaite des énantiomères, nous ne pouvons pas dépasser 300 mg de mélange racémique (**4**) introduit. Dans ces conditions, nous avons purifié plus de dix grammes de (**4**) après une trentaine d'injection successives.

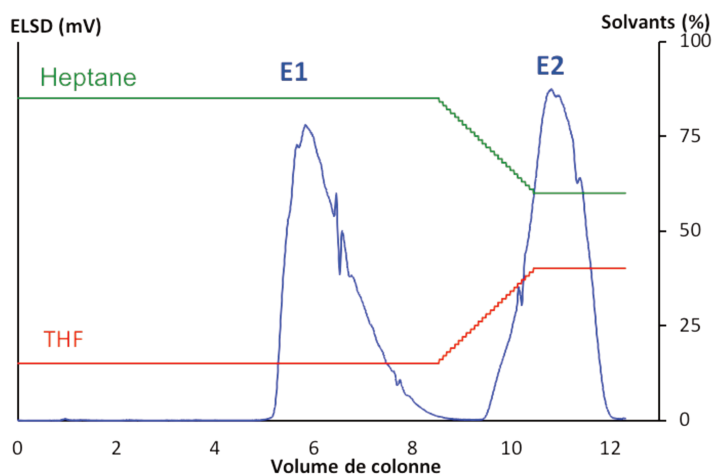


Figure 89 : Chromatogramme de la séparation énantiomérique de (**4**).

Après séparation des deux énantiomères de (**4**), il nous restait à les identifier, c'est à dire à assigner la configuration absolue de chacun. Pour ce faire, chaque énantiomère a été saponifié puis cristallisé. Comme présenté précédemment, le PIPO(Bn)COOH (**5**) cristallise facilement. Ainsi, les structures radiocristallographiques des deux énantiomères ont été résolues, ce qui nous a permis de déterminer leur configuration absolue. Nous avons ainsi montré que le premier pic d'élution (E1, Figure 89) correspond à l'énantiomère *S*. De plus nous avons mesuré leur pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ respectifs dans le méthanol à 20 °C (Figure 90).

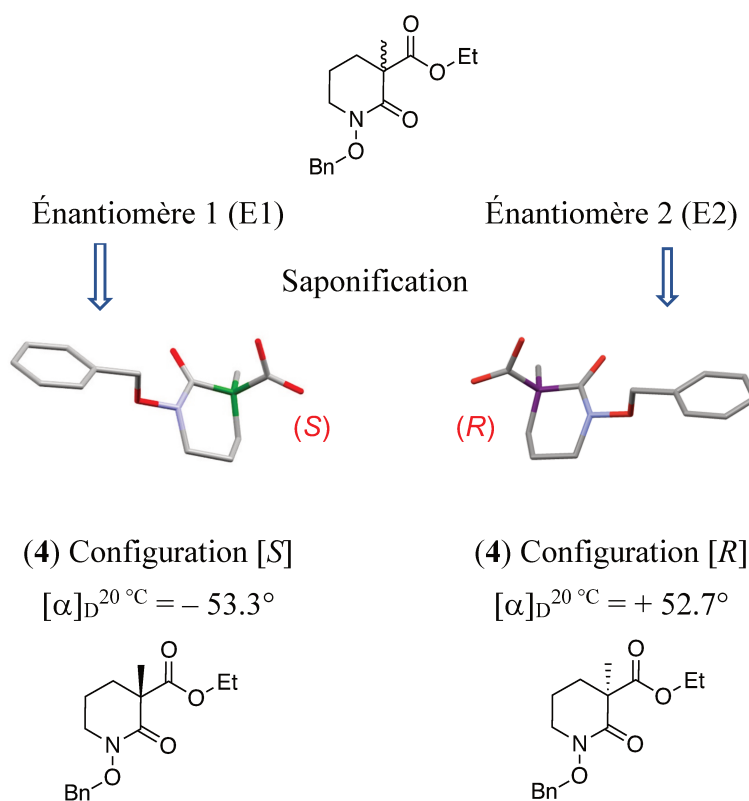


Figure 90 : Identification des deux énantiomères de (4).

À la suite de cette séparation, tous les motifs hydroxamiques **5**, **6**, **9** et **10** ont été synthétisés sous leurs formes énantiomériquement pures. Dans la suite de nos travaux, les synthèses ont été, dans un premier temps, mises au point en utilisant la version racémique des cycles PIPO, puis elles ont été reproduites avec les motifs énantiomériquement purs.

Précédemment, nous avons annoncé que l'utilisation de motifs hydroxamiques racémiques pour la complexation d'un centre métallique conduisait à un mélange de complexes diastéréoisomères. Pour vérifier la théorie, des réactions de complexation ont été réalisées à partir de PIPOMAH (**9**) racémique et énantiomériquement purs [S]. Les complexation ont été réalisées avec une quantité stœchiométrique de $Zr(acac)_4$ dans le méthanol. L'acétylacétone produit et le méthanol ont été éliminés sous vide. La comparaison des spectres RMN 1H obtenus est présentée sur la Figure 91.

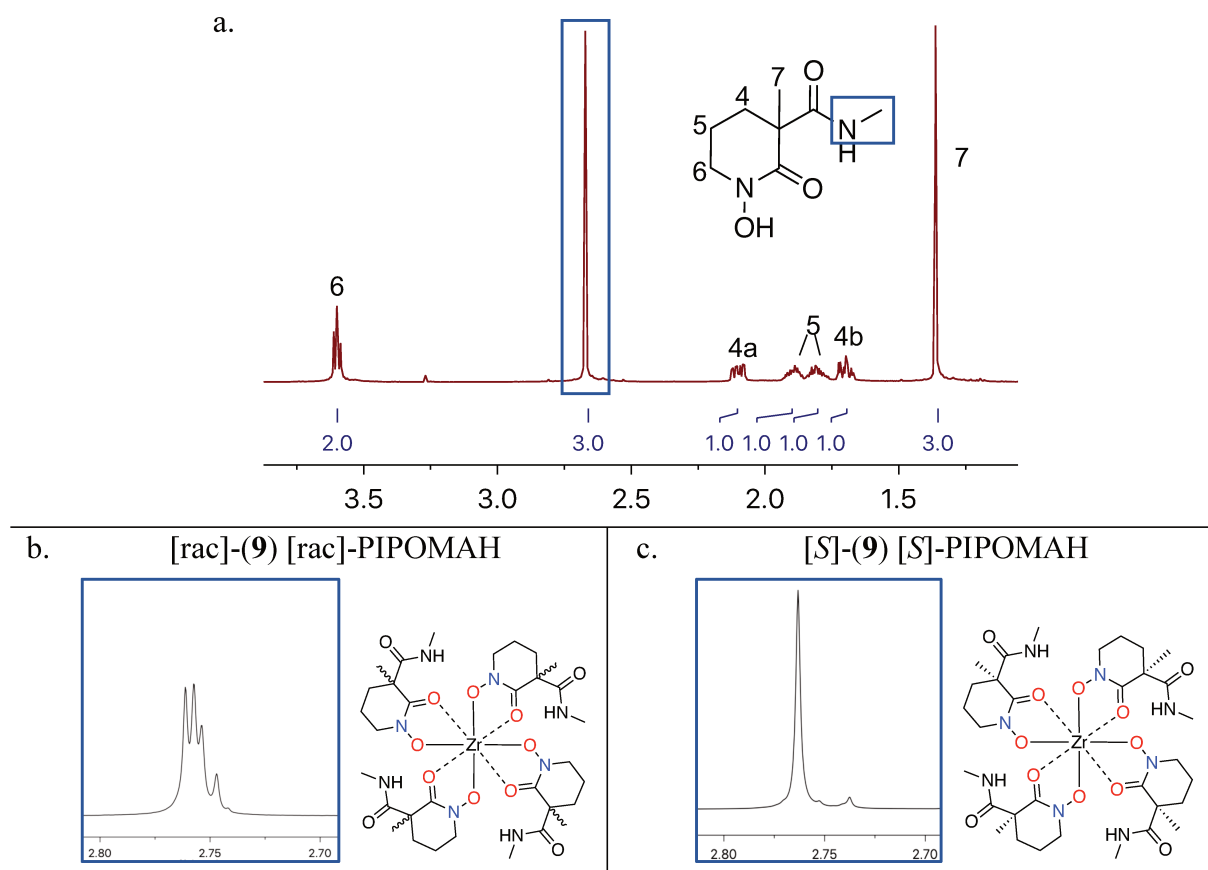


Figure 91: a) Spectre RMN ^1H de (9) (500 MHz, MeOD); b) Spectre RMN ^1H de $\text{Zr}([\text{rac}]\text{-9})_4$ dans la région du méthyle de l'amide ; c) Spectre RMN ^1H de $\text{Zr}([\text{S}]\text{-9})_4$ dans la région du méthyle de l'amide.

Nous présentons le signal singulet du méthylamide car d'une part son environnement direct est peu impacté par la complexation et d'autre part il est situé à proximité du centre de chiralité. Le complexe de zirconium formé avec le PIPOMAH racémique montre une superposition d'au minimum quatre singulet est observée, attestant de la présence d'un mélange de diastéréoisomères. Dans le cas du complexe formé à partir du *S*-PIPOMAH, le signal correspondant au méthyle de l'amide résonne sous la forme d'un singulet prouvant qu'un seul complexe est formé. Nous pouvons conclure que, bien qu'elle soit chronophage, la technique de séparation des énantiomères sur phase chirale, s'avère indispensable pour l'étude de complexes à base de PIPO. De même, la synthèse de nouveaux ligands constitués de quatre motifs hydroxamiques cycliques ancrés sur une plateforme polyazotée requiert des chélates optiquement purs.

3.3. Propriétés physico-chimiques

3.3.1 Propriétés optiques

- Pouvoir rotatoire sur la lumière polarisée

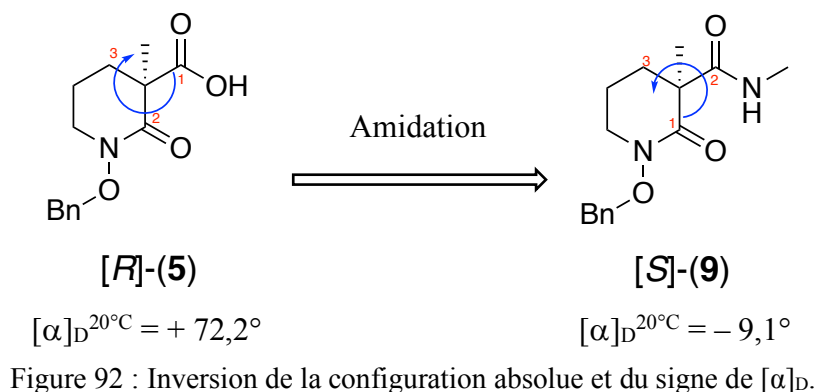
Nous avons mesuré le pouvoir rotatoire de chélateurs PIPO sur la lumière polarisée (raie D du sodium $\lambda = 589$ nm) grâce à un polarimètre. Les mesures ont été effectuées dans le méthanol à 20 °C. Le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D$ est calculé selon la loi de Biot.

$$[\alpha]_D^{20^\circ C} = \frac{\alpha_{lu}}{l \times c} \quad \left| \begin{array}{l} \text{exprimé en } ^\circ \text{ dm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ cm}^3 \\ c : \text{concentration (g cm}^{-3}\text{)} \\ l : \text{longueur de la cuve (dm)} \end{array} \right.$$

Tableau 19 : $[\alpha]_D$ des différents hydroxamates cycliques.

	Configuration Absolue	$[\alpha]_D^{20^\circ C}$
PIPO(Bn)COOEt (4)	[R]	+ 51,7
	[S]	- 52,3
PIPO(Bn)COOH (5)	[R]	+ 72,2
	[S]	- 72,1
PIPO(Bn)MAH (7)	[R]	+ 9,0
	[S]	- 9,1
PIPOMAH (9)	[R]	+ 20,8
	[S]	N.D

Lors de la réaction d'amidation du PIPO carboxylique (**5**), nous observons une inversion de la configuration absolue de la molécule. En effet, selon les règles de priorité de Cahn, Ingold et Prelog, la fonction hydroxamate devient prioritaire devant l'amide.

Figure 92 : Inversion de la configuration absolue et du signe de $[\alpha]_{\text{D}}$.

Les mesures de $[\alpha]_{\text{D}}$ montrent que l'inversion de la configuration absolue s'accompagne, ici, d'une inversion du signe de l'angle du pouvoir rotatoire.

- Spectroscopie UV-Visible et Dichroïsme circulaire

Le dichroïsme circulaire est une spectroscopie d'absorption qui consiste à mesurer la différence d'absorbance entre la lumière polarisée circulairement vers la droite et vers la gauche. Contrairement à la spectroscopie UV-Visible, pour laquelle les spectres de deux énantiomères seront identiques et superposables, les spectres de dichroïsme circulaire électronique (ECD) de deux énantiomères sont des images miroirs l'une de l'autre. Cette méthode est principalement utilisée en biologie afin de déterminer les structures de macromolécules telles que l'ADN. Dans le cadre de nos travaux, cette méthode s'est avérée utile afin de mettre en évidence les propriétés optiques des chélateurs chiraux. Le fonctionnement de l'appareil est schématisé sur la Figure 93. Une lumière blanche, généralement générée par une lampe à Xe, traverse un monochromateur et un polariseur afin de créer une lumière polarisée linéaire. Cette dernière traverse ensuite un modulateur photoélastique (PEM) qui la transforme en lumière polarisée circulaire. En passant à travers l'échantillon, la lumière polarisée circulairement à droite (RCP) et celle polarisée circulairement à gauche (LCP) seront absorbées par l'échantillon mais dans des proportions différentes suivant la chiralité de la molécule. Ainsi, les coefficients d'extinction molaire droite et gauche (respectivement ϵ_{R} et ϵ_{L}) sont différents lorsque la molécule est chirale.

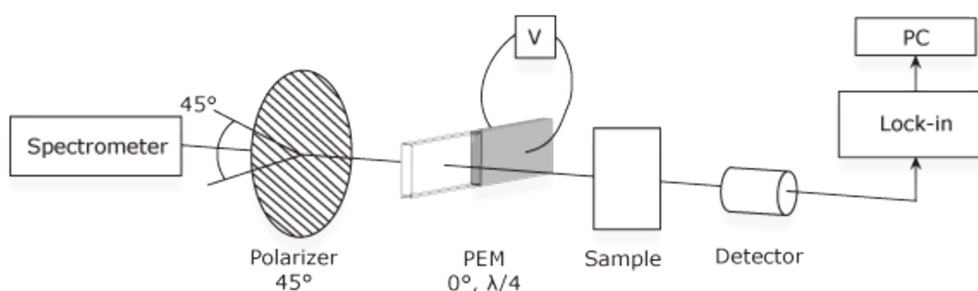


Figure 93 : fonctionnement d'un spectromètre de dichroïsme circulaire.

Tout comme les spectres UV-Vis, les spectres ECD ont été enregistrés en fonction de la longueur d'onde. L'ordonnée correspond à la différence des coefficients d'extinction molaires ($\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R$), après la conversion de l'ellipticité en $\Delta\varepsilon$ grâce à la formule ci-dessous :

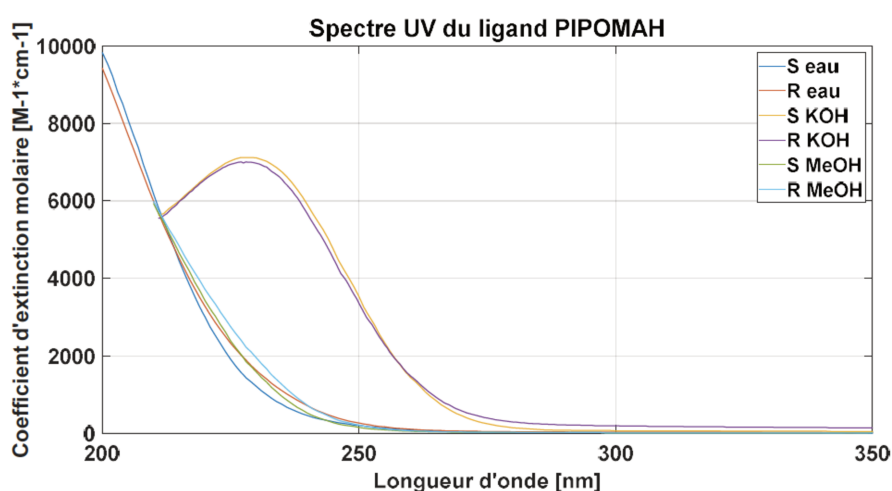
$$\Delta\varepsilon = \frac{\theta}{c \times l \times 32982}$$

θ : ellipticité (mdeg)

c : concentration (M)

l : longueur de la cuve (cm)

Les Figure 94 et Figure 95 représentent les mesures des spectres d'absorption et de dichroïsme circulaire pour le ligand PIPOMAH (**9**) dans trois milieux différents. En dessous de 200 nm, la fonction hydroxyde du KOH et du MeOH absorbe, donc les spectres ont été enregistrés jusqu'à cette longueur d'onde uniquement.

Figure 94 : Spectres d'absorption UV-Visible du ligand PIPOMAH (**9**) dans l'eau et le méthanol et de la base conjugué PIPOH^- dans une solution aqueuse de KOH 10^{-2} M.

Il est possible d'observer une légère différence entre l'espèce *R* et *S* dans les trois milieux. Ceci est dû aux erreurs expérimentales et notamment celles lors de la dilution des échantillons. Nous avons observé que les ligands déprotonés se comportent différemment. En effet, l'ajout de base conduit à un effet hypochrome et bathochrome de l'absorption. Aucun effet de solvant notable a été mise en évidence si l'on compare les spectres enregistrés dans l'eau et ceux dans le méthanol.

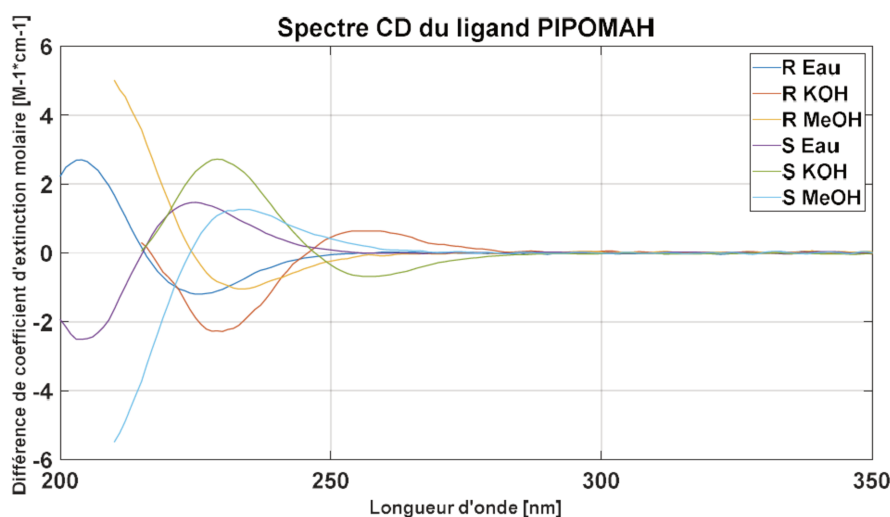


Figure 95 : Spectres de dichroïsme circulaire du ligand PIPOMAH (9)

En revanche, la nature du solvant a un impact plus important sur les spectres de dichroïsme circulaire. Lorsque les ligands sont déprotonés, la bande est plus intense et subit un déplacement bathochrome. Les absorbances observées à 230 nm sont sensibles aux effets de solvants et de pH puisqu'ils modifient à la fois leur amplitude et leur position. Il est à noter que la bande à 260 nm est uniquement observée après déprotonation de la fonction hydroxamique.

3.3.2 Propriétés structurales

Comme nous l'avons décrit précédemment, les structures radiocristallographiques du PIPO(Bn)COOH (5) et du PIPOMAH (9) sous leur forme racémique ont été résolues. Pour pouvoir analyser ces structures et les comparer, nous utiliserons une numérotation des atomes identiques pour les deux molécules.

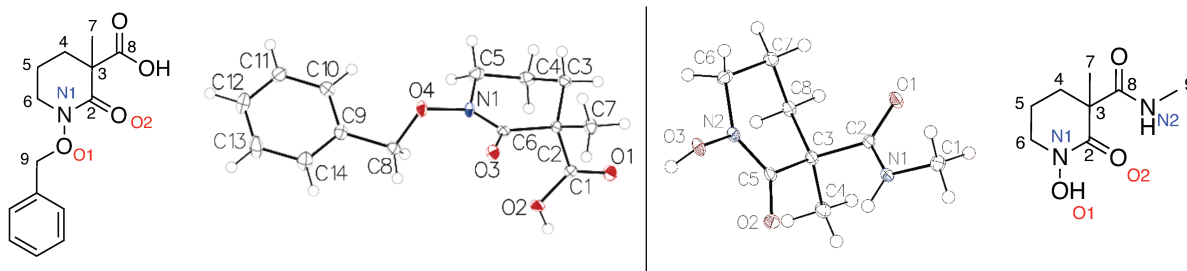


Figure 96 : Représentations cristallographiques ORTEP de (5) et (9) (seuil de probabilité de 50 %).

Le PIPO(Bn)CO₂H (5) cristallise selon le système orthorhombique, les cristaux racémiques sont du groupe d'espace *Pbca*, alors que les cristaux énantiomériquement purs (*[S]*-(5) et *[R]*-(5)) sont tous deux du groupe d'espace *P2₁2₁2₁*. Le cristal du PIPO amide [*rac*]-(9) est de système triclinique et du groupe d'espace *P1*. Les données radiocristallographiques permettent de comparer les structures de nos dérivés de PIPO (5) et (9)

Tableau 20 : longueur de liaisons de la fonction hydroxamique de (5) et (9).

Longueur de liaisons	PIPO(Bn)CO ₂ H (5)	PIPOMAH (9)
N1–C2	1.3465(15)	1.3385(16)
N1–O1	1.4045(12)	1.3965(12)
C2–O2	1.2314(14)	1.2414(15)

L'étude des longueurs de liaison des fonctions hydroxamiques de (5) et (9), nous permet de vérifier que la double liaison C2–O2 est bien la plus courte des trois.

Pour étudier la conformation du cycle des chélates, il faut définir l'angle de torsion τ_1 C6–N1–C2–C3 et donc la séquence τ_1 à τ_6 en suivant le cycle, ainsi que l'angle de torsion τ' O1–N1–C2–O2.

Tableau 21 : Angles de torsion du cycle de (5) et (9).

Angle de torsion	PIPO(Bn)CO ₂ H (5) (°)	PIPOMAH (9) (°)
τ_1 (C6–N1–C2–C3)	+ 16.12(16)	+ 1.61(18)
τ_2 (N1–C2–C3–C4)	– 27.99(13)	– 22.72(14)
τ_3 (C2–C3–C4–C5)	+ 52.33(12)	+ 51.75(12)
τ_4 (C3–C4–C5–C6)	– 62.97(13)	– 60.05(13)
τ_5 (C4–C5–C6–N1)	+ 47.35(13)	+ 37.20(13)
τ_6 (C5–C6–N1–C2)	– 26.16(16)	– 9.05(17)
τ' (O1–N1–C2–O2)	– 6.97(15)	+ 4.34(16)

L'alternance des signes des angles de torsion le long du cycle indique une conformation chaise. La conformation demi-chaise maintient cette même alternance de signe des τ , mais elle implique aussi que quatre atomes du cycle soient dans un même plan et donc une valeur de τ proche de 0.



Figure 97 : Conformation de cycle à 6 atomes.

Avec l'enchaînement d'un atome d'azote et d'un groupe carboxyle, les chélates possèdent théoriquement ce plan C6–N1–C2–C3, marqué $\tau_1 = 0$ et sont donc dans une conformation demi-chaise. PIPOMAH (**9**) est très proche de cette conformation de demi-chaise parfaite avec une valeur de l'angle τ_1 de 1,61 °. PIPO(Bn)CO₂H (**5**), bien que présentant des valeurs de longueur de liaisons et d'angles très proche de (**9**), présente une conformation demi-chaise légèrement distordue, certainement à cause de la présence du groupe benzyle, les atomes C6–N1–C2–C3 ne sont pas parfaitement plan ($\tau_1 = 16,12$ °).

Nous avons voulu comparer les structures radiocristallographique des molécules (**5**) et (**9**) avec celle du cycle PIPO non substitué décrite dans la littérature.^[23] Afin d'analyser les différences conformationnelles entre ces structures, des calculs RMSD (Root-Mean-Square Deviation) ont été effectués. Ces derniers permettent de déterminer une distance moyenne atome-à-atome lorsque l'on superpose deux structures.

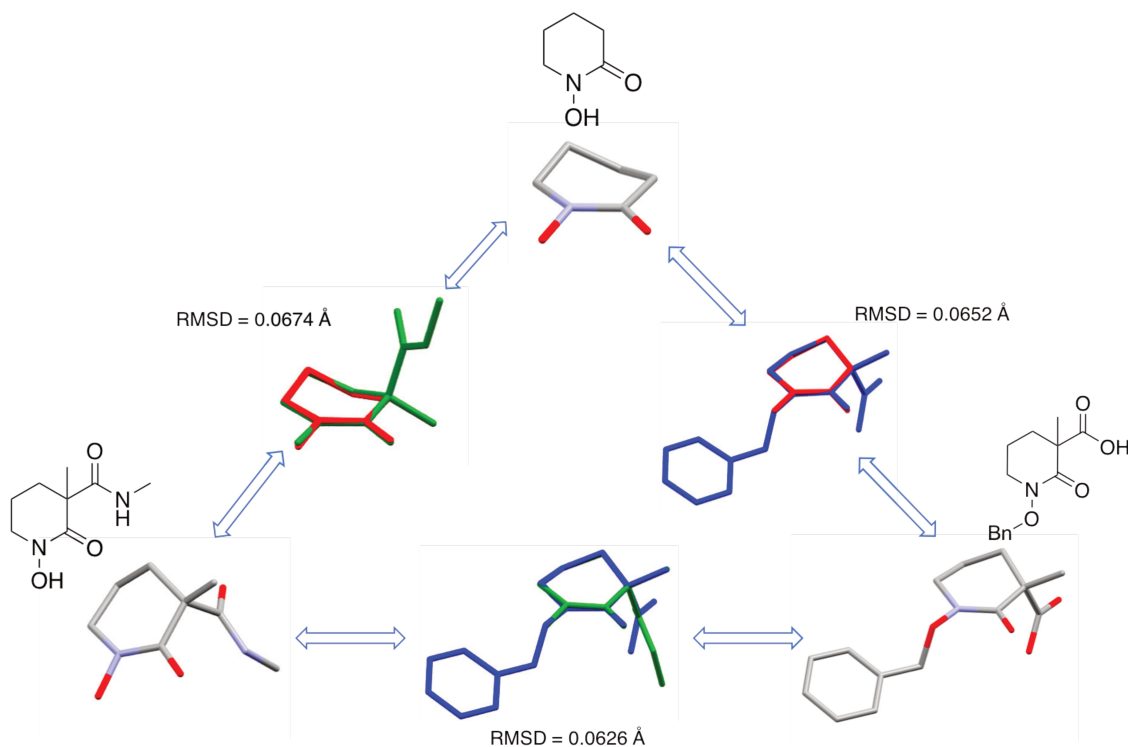


Figure 98 : Superposition deux-à-deux des structures cristallographiques du PIPO avec les composés (5) et (9) et valeurs du paramètre RMSD.

Les valeurs des RMSD ont été calculées en prenant en compte les six atomes du cycle et les deux atomes d'oxygènes de la fonction acide hydroxamique. Les faibles valeurs des RMSD ($< 0,01 \text{ \AA}$) et la superposition des structures, montrent clairement que, malgré les différentes modifications que nous avons apportées au cycle PIPO, la conformation du cycle reste identique et n'est pas affectée par l'ajout d'un groupement méthyle et des fonctions acide carboxylique ou amide.

Des monocristaux de qualité suffisante pour effectuer une étude radiocristallographique ont été obtenus avec les formes énantiomériquement purs de (5) et (9) et aucune différence structurale n'a été observée entre celle-ci et la forme racémique.

3.3.3 Propriétés acido-basique

- Constantes de protonation

Les constantes de protonation des ligands hydroxamiques cycliques modèles **(9)** et **(10)** ont été mesurées à 25 °C et les sels de fond utilisés étaient le KNO₃ (0,1 M) et le NaClO₄ (2,0 M).

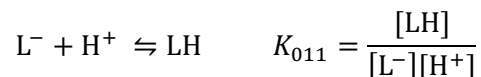

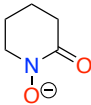
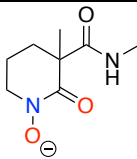
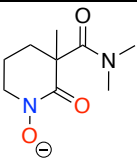


Tableau 22 : Constantes de protonation des ligands hydroxamates.

				
log K ₀₁₁	NMA ⁻	PIPO ⁻	(9) PIPOMAH ⁻	(10) PIPODMA ⁻
Milieu				
0.1 M KNO ₃	8,68(3)	8,85(2)	8,39(1)	8,35(2)
2.0 M NaClO ₄	n.d.	9,03(1)	8,62(1)	8,55(2)
Δ	--	0,18	0,23	0,20

Dans le Tableau 22 sont rassemblées nos mesures en comparaison avec celles du NMA⁻ et du cycle PIPO⁻.^[22] Même si les valeurs de constantes de protonation de **(9)** et **(10)** sont de même ordre de grandeur que celle du PIPO⁻, il est clair que la présence d'une fonction électroattractive comme un groupe amide situé à proximité du site de protonation impacte sensiblement la constante de protonation de ce dernier, les rendant plus acide d'environ 0,5 ordre de grandeur, et ce, quel que soit le sel de fond utilisé.

- Stabilité de la fonction hydroxamique en milieu acide

La cinétique de dégradation de différents acides hydroxamiques, dans des conditions acides, a été étudiée en fonction de la concentration en acide chlorhydrique. L'objectif de ces expériences étaient de déterminer la stabilité de la fonction hydroxamique en fonction du pH et de mettre en évidence des comportements singuliers en fonction de la présence de substituants électroattracteurs à proximité de la fonction hydroxamique ou de la taille du cycle. L'intérêt de cette étude était de définir les conditions optimales de pH pour complexer ces chélates par des

métaux tétravalents, qui possèdent une forte propension à s'hydrolyser même en acide (≥ 1). La loi de vitesse utilisée pour tracer le graphique est la suivante :

$$K'(k_{obs}) = \frac{k K [\text{HCl}]}{1 + K [\text{HCl}]}$$

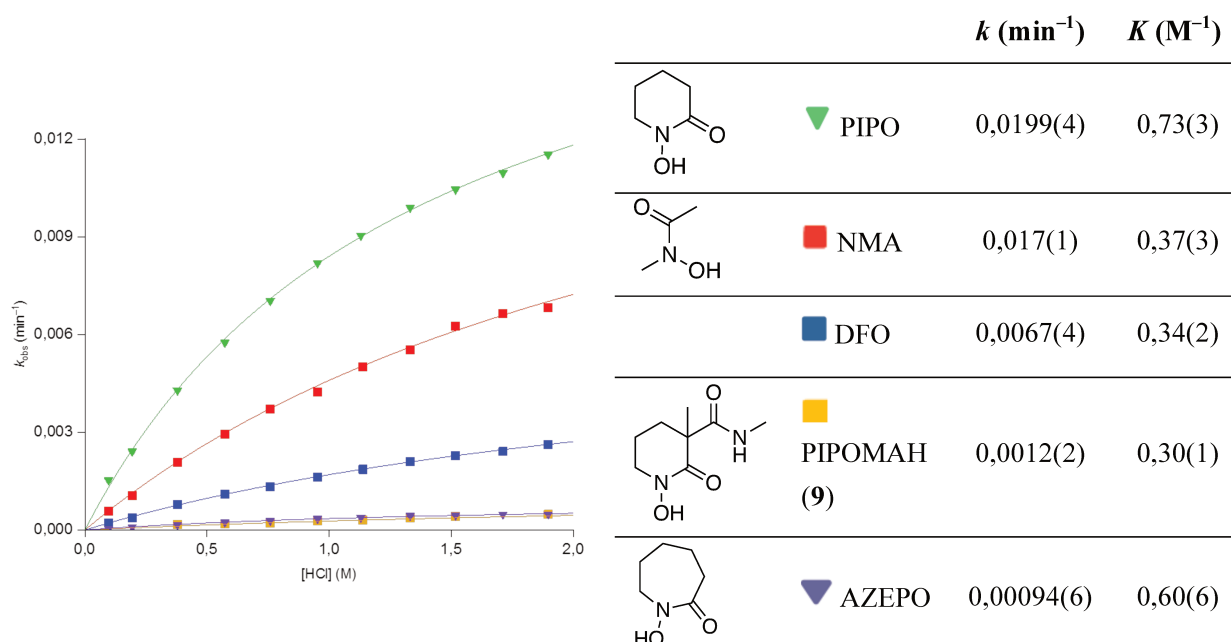


Figure 99 : Stabilité en milieu acide des acides hydroxamiques.

Il est important de noter que le PIPO non fonctionnalisé est la molécule la moins stable en milieu acide des cinq étudiées. Si l'on compare sa vitesse à celle d'un analogue acyclique comme le NMA ou trihydroxamique comme la DFO, la plus faible stabilité du PIPO peut s'expliquer par de plus forte tension du cycle à 6 atomes du PIPO. Ceci est clairement démontré si on compare la stabilité bien supérieure de l'AZEPO par rapport au PIPO. Cependant, la fonctionnalisation sur l'atome C-3 par une fonction amide apporte un gain de stabilité important au PIPO. L'excellente stabilité de la molécule modèle PIPOMAH (**9**) nous a donc conforté dans notre choix initial.

Nous avons développé une méthode efficace de synthèse et de purification de nouveaux motifs hydroxamiques cycliques énantiomériquement purs. La fonction acide carboxylique présente sur les cycles va nous permettre par la suite de synthétiser de nouveaux ligands tétrahydroxamiques. La synthèse et l'étude des PIPO amides (**9**) et (**10**) nous a permis de valider le choix de l'acide hydroxamique cyclique pour la complexation de métaux tétravalents.

IV. Synthèse de nouveaux ligands tétrahydroxamiques

Dans l'introduction, nous avons dressé un état de l'art exhaustif des ligands tétrahydroxamiques, en décrivant les différentes approches et les molécules majeurs de ce champs de recherche telle que la DFO* [41] ou le 3,4,3-LI(1,2-HOPO) [37,49] (Figure 100).

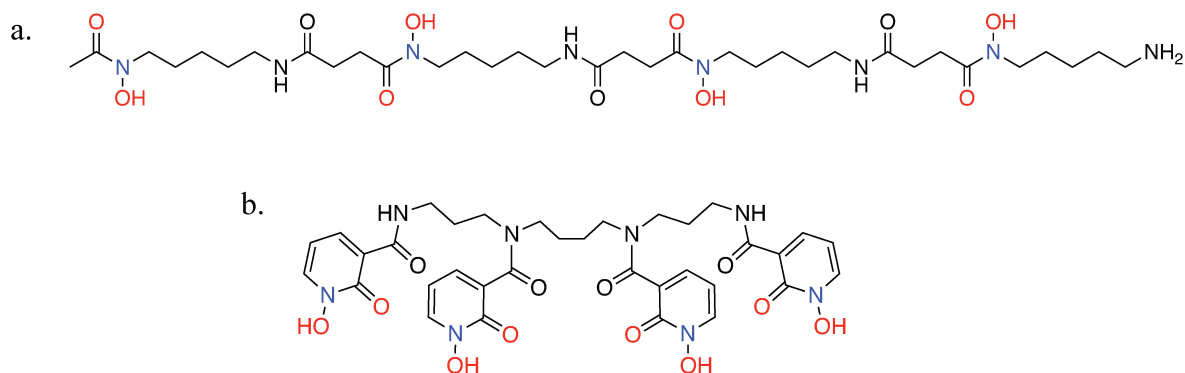


Figure 100 : a) Structure de la DFO*, b) Structure du 3,4,3-LI(1,2-HOPO).

Forts des données de la littératures ainsi que des connaissances développées précédemment par notre équipe, notamment sur le groupement PIPO et sur la synthèse du Calix[4]arène-PIPO (Figure 101),^[62] nous avons commencé la synthèse de nouveaux ligands tétrahydroxamiques.

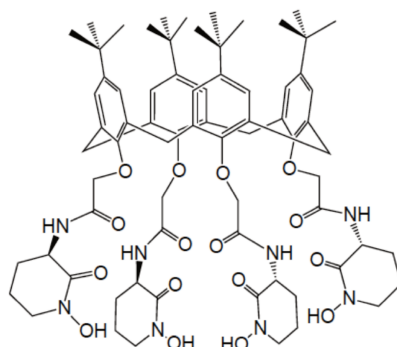


Figure 101 : Structure du ligand Calix[4]arène-PIPO.

4.1 Ligand DFO-PIPO

Comme nous l'avons présenté dans le chapitre I, un des atouts principaux de la DFO est la présence d'une fonction amine terminal, qui ne participe pas à la chélation. Ce groupement peut être mis à profit pour introduire différentes fonctions sur la DFO pour le greffage ou pour améliorer ses propriétés de complexation avec les métaux de degrés de coordination supérieurs à 6. C'est avec cette objectif que l'équipe de Raymond a synthétisé la DFO-HOPO à partir de la DFO en y ajoutant un groupement hydroxy pyridinone.^[37] De même, la DFO* a été préparée par hémisynthèse par l'équipe de Mindt à partir de la DFO (Figure 102).^[40,41]

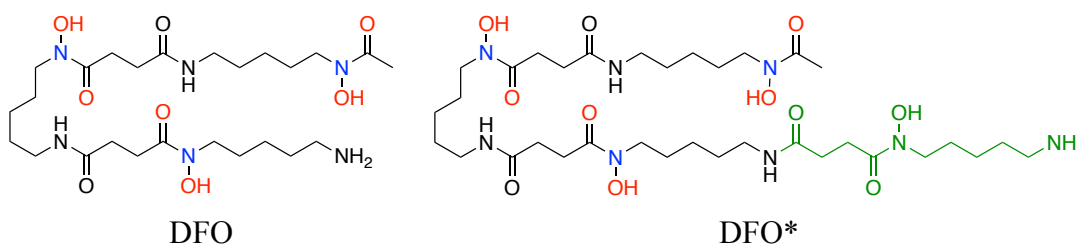


Figure 102 : Structure de la DFO et de son dérivé tétrahydroxamiques DFO*.

L'introduction du quatrième groupement chélateur est réalisée par la formation d'une liaison peptidique entre l'amine terminale de la DFO et une chaîne porteuse d'un acide carboxylique et d'une fonction acide hydroxamique. Nous nous sommes inspirés de cette approche pour synthétiser notre premier ligand tétrahydroxamique, la DFO-PIPO.

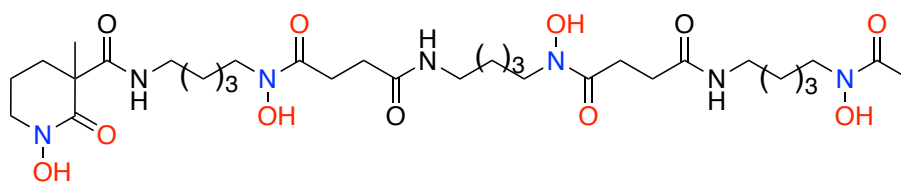


Figure 103 : Structure de la DFO-PIPO.

4.1.1. Synthèse

Lors des premiers essais de synthèse du ligand DFO-PIPO à partir de la DFO et du précurseur (5), il nous est rapidement apparu que le caractère amphiphile de la molécule formée posait de gros problèmes pour sa purification sur colonne de silice. En effet, la chaîne DFO est

hydrosoluble et fortement polaire, alors que la fonction PIPO protégée par un groupement benzyle est hydrophobe.

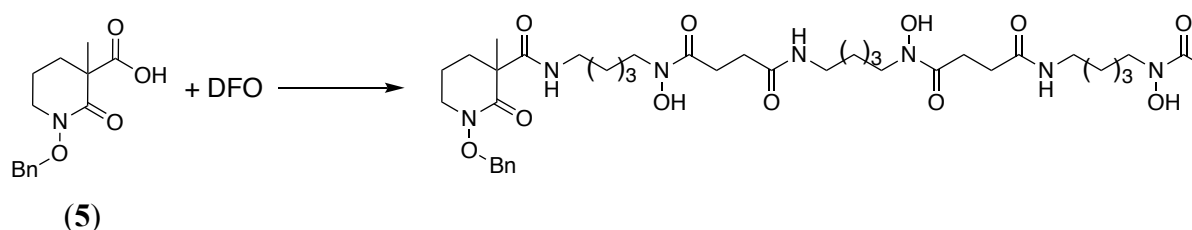


Schéma 22 : Synthèse de la DFO-PIPOBn.

Nous avons donc choisi de mettre au point un chemin réactionnel plus long, mais pour lequel nous pouvions contrôler à chaque étape la pureté des composés. Notre objectif était d'augmenter fortement la lipophilie de la DFO en diminuant sa polarité. Ainsi, nous avons procédé à la protection préalable de tous les groupements hydroxamate de la DFO avec une fonction benzyle. Cependant, l'amine terminale a été protégée dans un premier temps par un groupement Boc, par l'action du Boc_2O en milieu basique, afin d'éviter sa benzylation. En effet, l'ancrage du PIPO sur la fonction amine terminale requiert la discrimination des fonctions hydroxamiques et amine et leur protection sélective. Après obtention de la DFO(NBoc) les fonctions acides hydroxamique ont été benzylées par le bromure de benzyle en milieu basique. Finalement, l'amine terminale est déprotégée de manière sélective en utilisant du TFA dans le DCM.

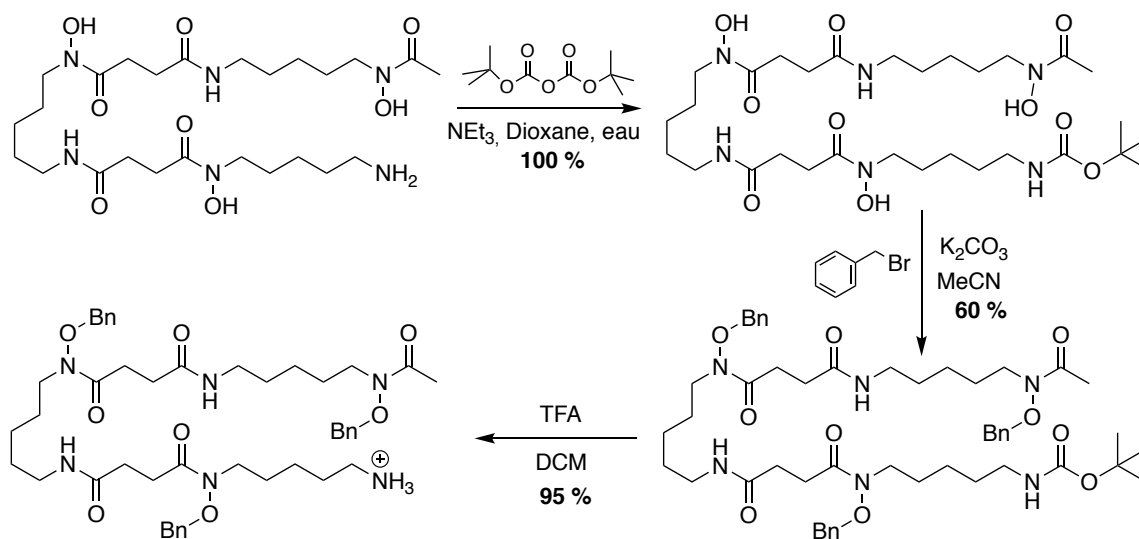


Schéma 23 : Protection des fonctions hydroxamique de la DFO.

Nous avons fait réagir le PIPO acide (5) avec la DFO protégée et désormais hydrophobe, dans le DCM avec les agents de couplage EDC et HOBt (Schéma 24). Après purification, ce

tétrahydroxamate a été entièrement déprotégé sous l'action de dihydrogène catalysée par du palladium sur charbon. Cette approche réactionnelle bien que longue et avec un rendement global assez faible (35 %) nous a permis de contrôler chaque étape et d'obtenir notre premier tétrahydroxamate pur.

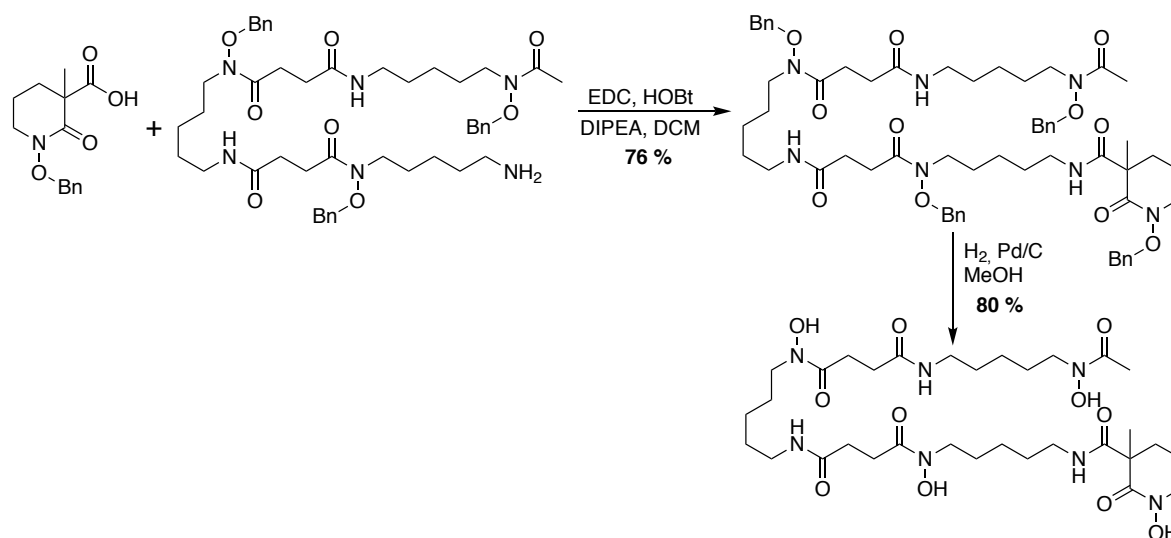


Schéma 24 : Synthèse de la DFO-PIPO à partir de la DFO protégée.

La deuxième voie de synthèse explorée consista à faire réagir directement le PIPOH et la DFO, suivie de la benzylation des fonctions hydroxamiques dans le brut réactionnel (Schéma 25).

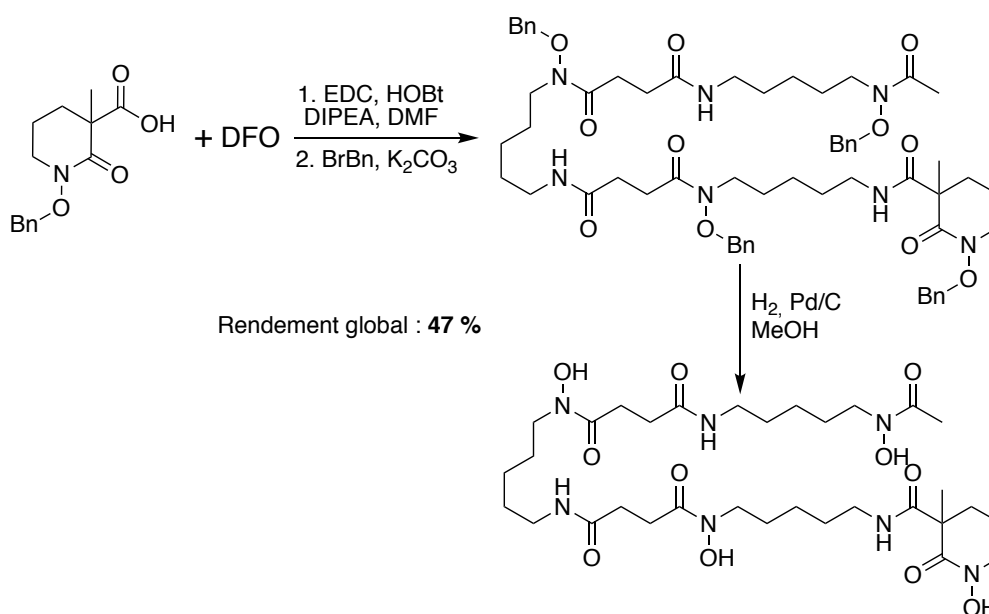


Schéma 25 : Synthèse de la DFO-PIPO par couplage et benzylation « one pot ».

Comme précédemment, la réaction de benzylation rend la molécule protégée plus lipophile. En effet, la présence d'un seul groupe benzyle sur le groupement PIPOH ne rend pas la molécule suffisamment lipophile pour être extraite par un solvant organique, ce qui empêche les lavages aqueux nécessaires pour éliminer les résidus des agents de couplage (EDC, HOBT, DIPEA). La protection de chaque groupements hydroxamate se révèle être une réaction lente et il est difficile d'obtenir une conversion complète. Cependant, tous les groupements hydroxamate n'ont pas besoin d'être protégés car à partir de deux groupements benzyle, la molécule devient insoluble dans l'eau. Nous avons pu isoler ce mélange de molécules di, tri et tétra-benzylées, puis par le biais d'une hydrogénation, obtenir la DFO-PIPO ciblée. Suivant ce chemin réactionnel en trois étapes, dont deux en « one pot », un rendement global de 47 % a été obtenu sans avoir à isoler d'intermédiaire.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, la difficulté de cette synthèse réside dans le caractère amphiphile et la polarité de la molécule intermédiaire le, PIPO(Bn)DFO (**11**), rendant impossible sa purification sur gel de silice. Cependant, l'acquisition d'une colonne chromatographique en phase inverse (C18) de taille suffisante a permis la purification du mélange réactionnel avec comme éluant un mélange eau/MeCN (95/5 → 0/100).

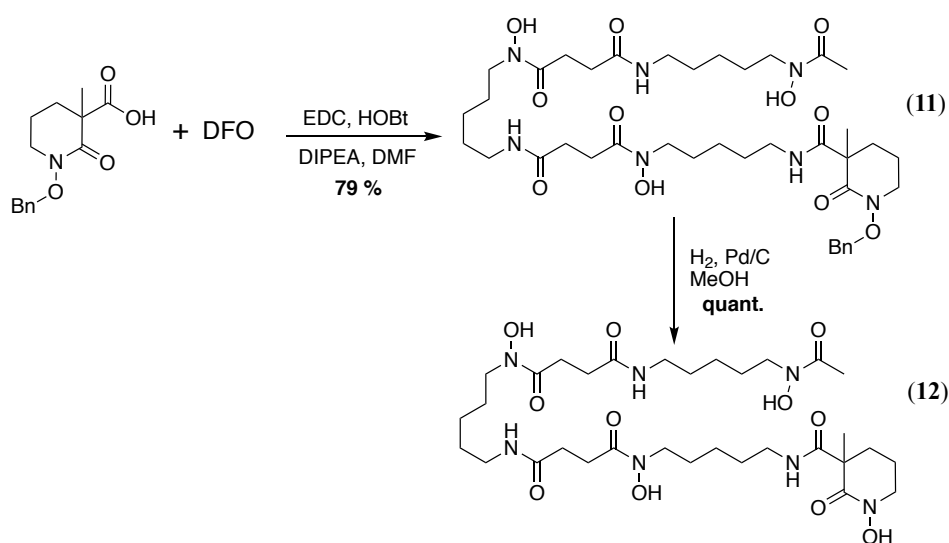


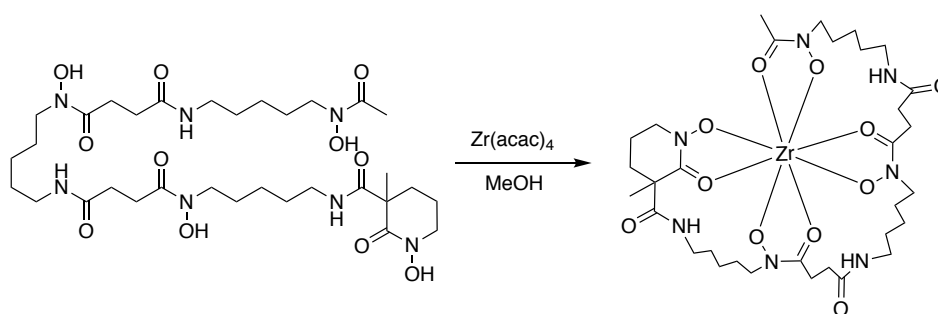
Schéma 26 : Synthèse de la DFO-PIPO (**12**) avec purification sur silice en phase inverse C18.

Grâce à une purification en phase inverse à l'aide de notre appareil de chromatographie flash, nous avons pu isoler l'intermédiaire de synthèse PIPO(Bn)DFO (**11**) pur à l'échelle du gramme. La DFO-PIPO (**12**) est alors obtenue après débenzylation sous hydrogène catalysée par Pd/C. Cette approche de synthèse est la plus efficace puisque seulement deux étapes réactionnelles sont nécessaires avec un rendement global atteignant 79 %.

4.1.2. Propriétés physico-chimiques

Complexation

À ce stade, le ligand doit être utilisé en prenant garde à toute contamination métallique. En effet, son pouvoir de complexation est tel qu'il complexe tous les métaux présents, même à l'état de trace, notamment les acides forts de Lewis (Fe^{3+} , ...). Pour éviter toute contamination, la verrerie utilisée a été systématiquement lavée à l'acide chlorhydrique. La complexation du ligand par Zr^{4+} a été effectuée en faisant réagir du $\text{Zr}(\text{acac})_4$ (1 équiv.) avec le ligand dissous dans le MeOH. L'acétylacétone produit et le méthanol ont été éliminés sous vide pour obtenir le complexe pur.

Schéma 27 : Complexation de la DFO-PIPO par $\text{Zr}(\text{acac})_4$.

La méthode d'analyse la plus simple et la plus efficace à mettre en œuvre pour identifier les complexes formés est la spectrométrie de masse haute résolution en mode électrospray (HR-ESI-MS). Outre la mise en évidence de la nucléarité des complexes, cette technique permet également d'observer s'il reste du ligand libre dans le milieu. Avant complexation, le ligand libre DFO-PIPO a été analysé à un m/z de 716,4170 pour un m/z calculé de 716,4189 pour l'ion moléculaire $[\text{C}_{32}\text{H}_{58}\text{N}_7\text{O}_{11}]^+$.

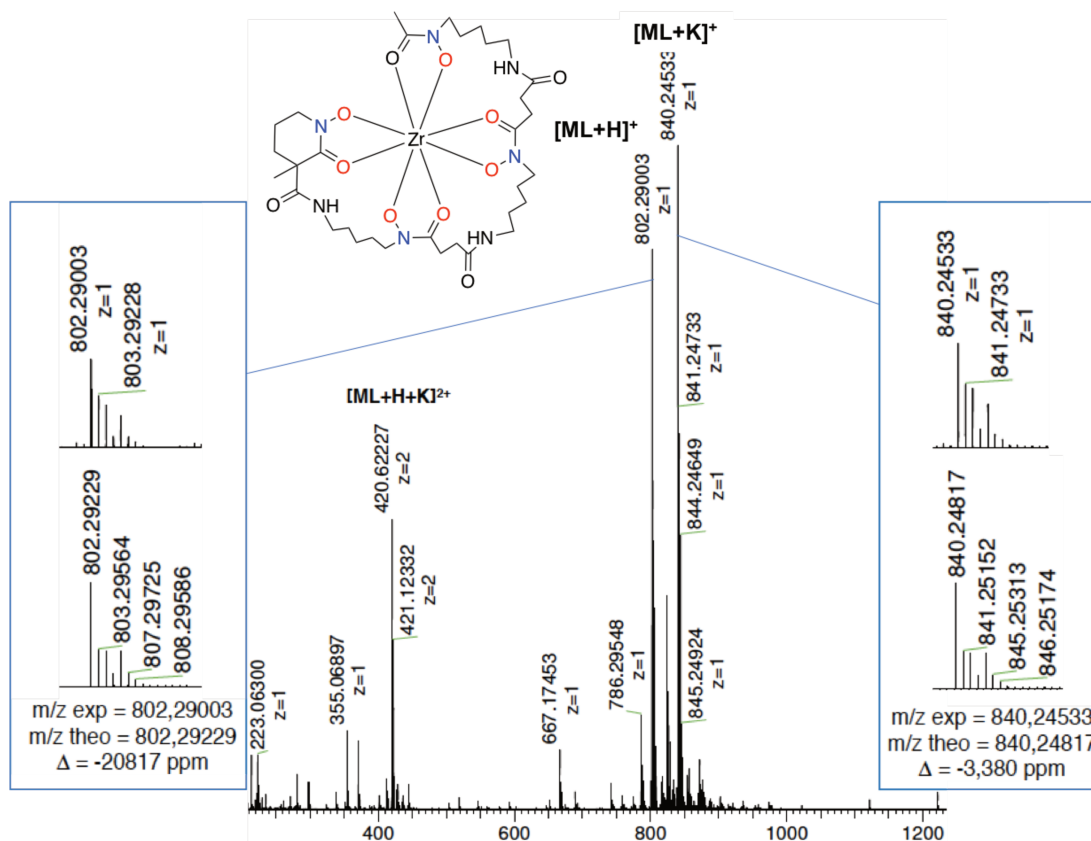


Figure 104 : Spectre de masse haute résolution en mode électrospray de $[Zr(DFO-PIPO)]$ (MeOH).

Les espèces principales sur le spectre correspondent à des complexes mononucléaires de zirconium monochargés par un proton ou du potassium. Il est à noter qu'aucune trace de ligand libre n'est observable. De plus, les massifs isotopiques observés pour $[ML+H]^+$ et $[ML+K]^+$ correspondent à leur massif théorique. L'ionisation du complexe a également produit une espèce dichargée correspondant à l'ion $[ML+H+K]^{2+}$ à $m/z = 420,62227$.

Les spectres de RMN 1H et ^{13}C du complexe enregistrés dans le MeOD sont difficilement interprétables compte tenu de la multitude de signaux qu'ils présentent. Même si leur dépouillement se révèle compliqué, nous pouvons tirer des informations intéressantes sur la complexation en nous focalisant sur certaines zones du spectre RMN du carbone et notamment la région comprise entre 180 et 160 ppm qui correspond à la zone d'observation des carbonyles. Dans le cas de figure de la DFO-PIPO, nous observons comme attendu sept signaux attribués aux groupes carbonyle, quatre dues aux acides hydroxamiques et trois aux fonctions amides.

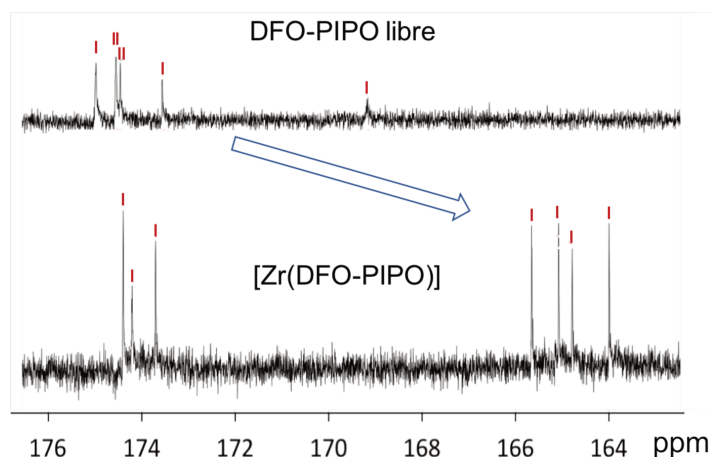


Figure 105 : Évolution des signaux RMN ^{13}C des groupes carbonyle après la formation de $[\text{Zr}(\text{DFO-PIPO})]$.

Après complexation, les sept atomes de carbone $\text{C}=\text{O}$ résonnent dans cette même fenêtre spectrale. Les trois signaux qui n'ont subi qu'un faible blindage (173 - 175 ppm) correspondent aux amides, puisqu'ils ne participent pas à la complexation. En revanche, les quatre signaux des carbonyles des fonctions hydroxamate subissent un blindage important suite à la complexation (164 - 166 ppm). Nous pouvons en conclure que le zirconium est totalement complexé par la DFO-PIPO et qu'une seule espèce est formée.

Propriétés optiques

Une fois la synthèse mise au point avec un acide hydroxamique cyclique racémique, nous avons synthétisé le DFO-PIPO sous ses deux formes énantiomériquement pures en mettant en jeu les précurseur optiquement actif $[R]$ -(5) et $[S]$ -(5).

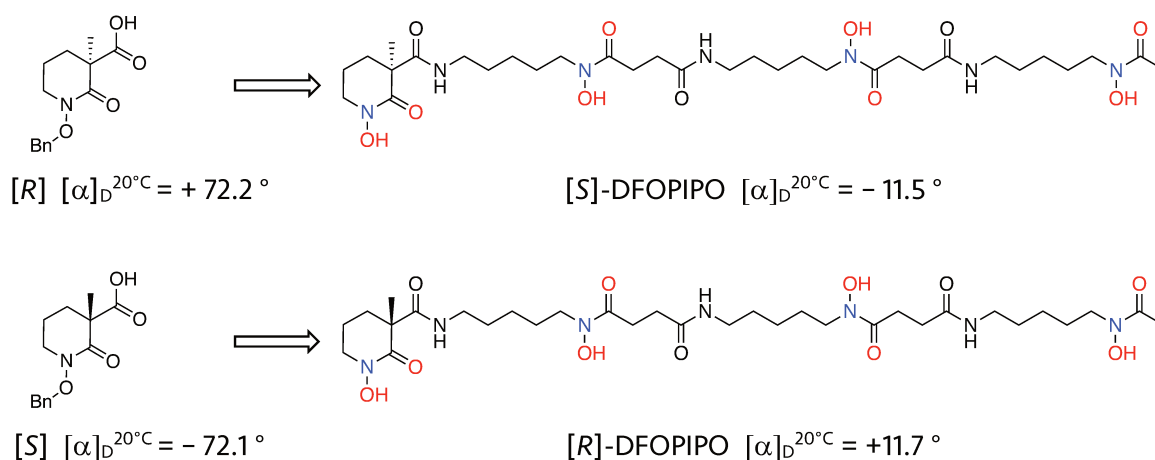


Figure 106 : Valeur des $[\alpha]_D$ des deux énantiomères de DFO-PIPO.

Comme nous l'avons précédemment décrit dans le chapitre III pour la synthèse de PIPO modèles porteurs d'une fonction amide (**9**) et (**10**), la formation de la liaison peptidique sur le PIPOCOOH s'accompagne d'une inversion de la configuration du centre asymétrique de la molécule et d'une inversion du signe du pouvoir rotatoire (Figure 106).

Nous avons alors enregistré les spectres de dichroïsme circulaire électronique (ECD) des deux énantiomères dans l'eau afin de comparer les données à celles obtenues pour le PIPOMAH (**9**).

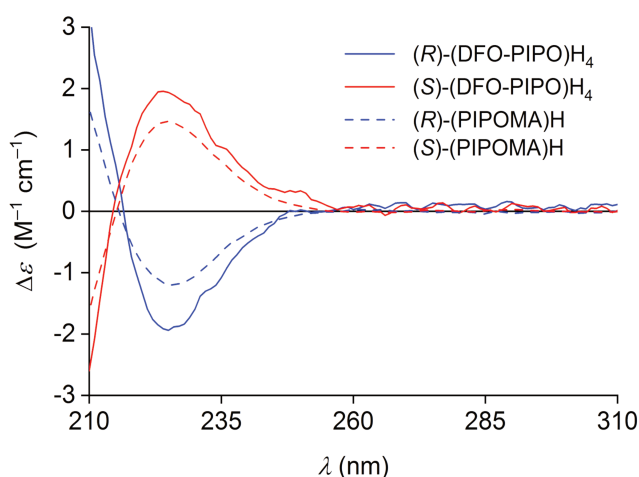


Figure 107 : Spectres de dichroïsme circulaire des ligands DFO-PIPO et PIPOMAH.

Bien que les spectres présentent un bruit de fond non négligeable, nous pouvons observer que le profil ECD de la DFO-PIPO et du PIPOMAH modèle sont très similaires avec un maximum/minimum à 225 nm.

Les mesures des spectres de dichroïsme circulaire peuvent nous révéler des informations sur les propriétés des complexes formés. Le thorium au degré d'oxydation IV est le meilleur substitut du plutonium(IV), les deux étant des actinides tétravalents qui possèdent des acidités de Lewis et des géométries de coordination similaires. C'est pourquoi les complexes hydroxamique du Th(IV), tout comme du Zr(IV), présentent un grand intérêt dans le cadre de notre étude. Nous avons donc mesuré les spectres de dichroïsme circulaire de mélanges équimolaires de Th⁴⁺ et de [S]-DFO-PIPO en fonction du pH dans l'eau (Figure 108).

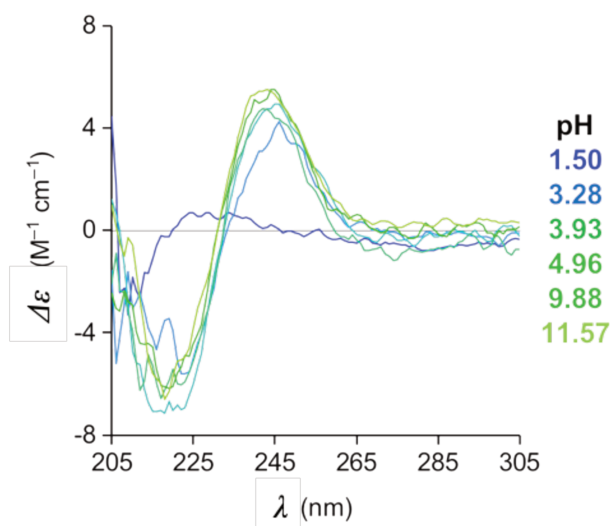


Figure 108 : Titration suivie par dichroïsme circulaire d'un mélange équimolaires de Th^{4+} et de $[S]$ -DFO-PIPO en fonction du pH dans l'eau.

Au pH le plus faible, le spectre du mélange est extrêmement proche de la signature ECD du ligand libre (Figure 107 et Figure 108). Cette technique semble donc montrer que la complexation n'a pas lieu à $\text{pH} \leq 2$. L'étude des spectres d'absorption UV-Vis réfutent ce résultat car le spectre du ligand acide n'est pas superposable à ceux enregistrés en présence de thorium(IV) (Figure 109).

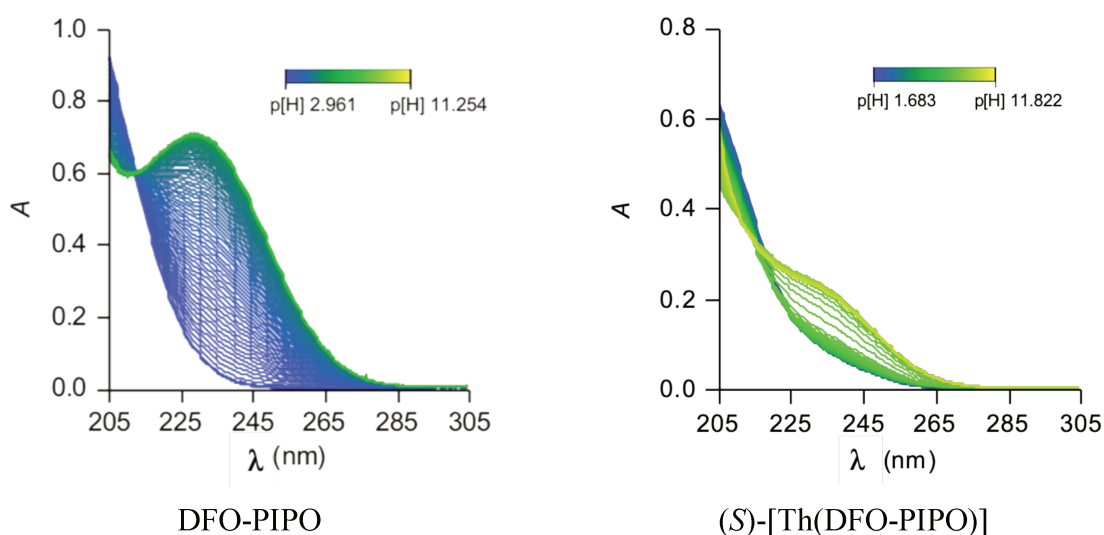


Figure 109 : Titrages spectrophotométriques de la DFO-PIPO et de $[\text{Th}(\text{DFO-PIPO})]$.

La complexation semble donc bien opérer à des faibles valeurs de pH. Afin d'expliquer cette contradiction, nous devons déterminer la nature du complexe formé à $\text{pH} \leq 2$. L'un de nos partenaires de l'ANR Pluton (V.Sladkov, IJCLab UMR9012, Orsay) a réalisé des mesures d'électrophorèse capillaire du système Th^{4+} /DFO-PIPO en fonction du pH. Cette technique

permet de connaître la charge de l'espèce observée et de déterminer le nombre d'espèce chargées en solution à un pH donné. Il a été clairement établi qu'à pH 2, le thorium n'est chélaté que par un seul hydroxamate, les autres restant protonés. Un complexe de formule $[\text{Th}(\text{DFO-PIPO})\text{H}_3]^{3+}$ est formé. Nous pouvons donc en conclure que l'ion Th^{4+} est chélaté par un motif hydroxamate acyclique du fragment DFO et non par le groupe hydroxamate PIPO. Celui-ci étant le seul centre de chiralité de la molécule, il semble cohérent que les signatures ECD du complexe $[\text{Th}(\text{DFO-PIPO})\text{H}_3]^{3+}$ et du ligand libre soient similaires.

En augmentant le pH, toutes les fonctions hydroxamate incluant le PIPO, sont impliquées dans la complexation. Au-delà de pH 4, plus aucun changement spectral n'est observé (Figure 108). Il apparaît donc qu'à partir de ce pH, le thorium est complètement complexé par la (*S*)-DFO-PIPO. De plus, une chiralité est induite par l'enroulement du ligand autour du centre métallique, certainement orienté par le centre de chiralité. Ceci explique le fait que la signature CD du (*S*)- $[\text{Th}(\text{DFO-PIPO})]$ est exacerbé par rapport à celle du ligand.

Le dichroïsme circulaire est aussi un bon outil pour comparer des complexes formés pour un même ligand, mais avec des cations métalliques différents. Des mesures de ECD ont été réalisées sur des complexes de thorium et de zirconium, en mettant en jeu l'énantiomère *R* du ligand (Figure 110).

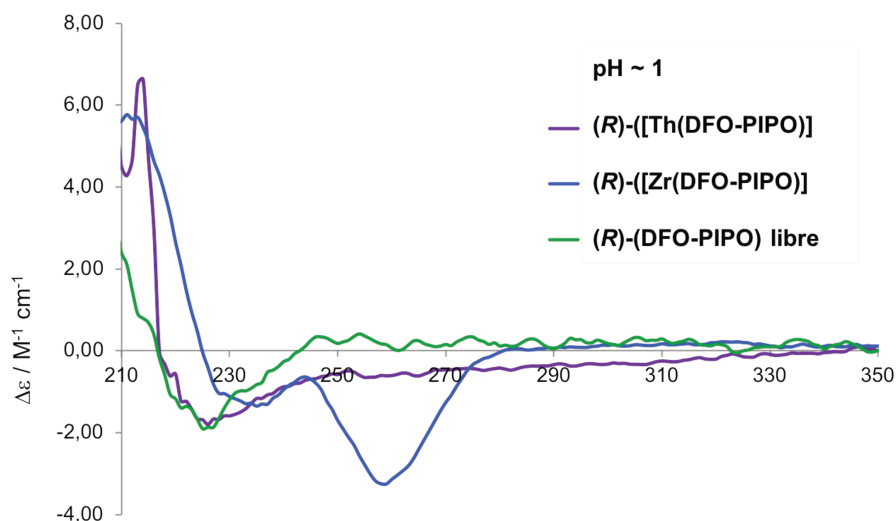


Figure 110 : Spectres de dichroïsme circulaire du (*R*)-DFO-PIPO et de ses complexes de zirconium et thorium à pH ~ 1.

A pH faible (~ 1), pour les raisons que nous avons évoquées ci-dessus, le spectre du complexe de thorium est très similaire à celui du ligand libre. Le spectre ECD du complexe de zirconium présente un minimum local de forte intensité à ~255 nm ($\Delta\varepsilon = -3,5$). Cette signature spectrale témoigne du fait que le groupement PIPO est probablement déjà engagé dans la

complexation du centre métallique. Cette différence de chélation s'explique par la plus forte acidité de Lewis de l'ion Zr^{4+} ($\log K(OH) = 14.32$) par rapport au Th^{4+} ($\log K(OH) = 11.5$).

Au-dessus de pH 4, pH à partir duquel toutes les fonctions hydroxamates sont impliqués dans la complexation de Th^{4+} et Zr^{4+} , les deux spectres bien qu'ayant un profil similaire ne sont pas superposables (Figure 111).

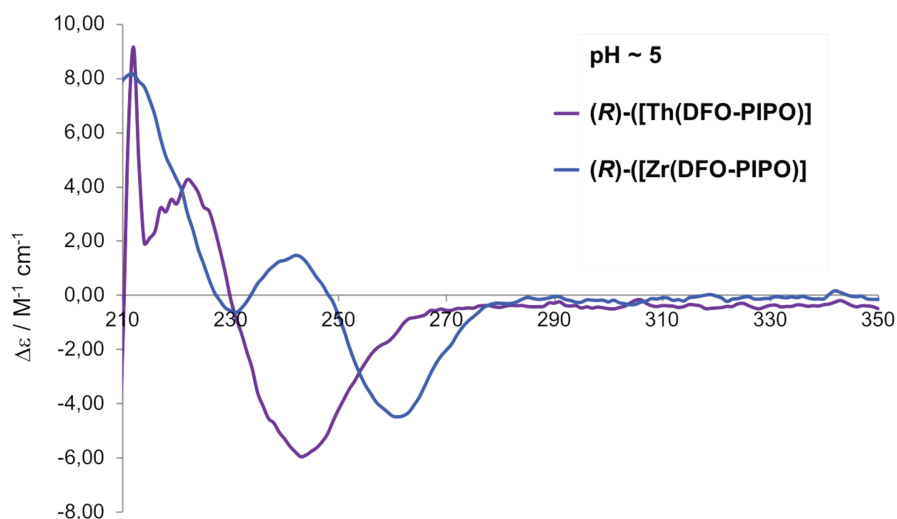


Figure 111 : Dichroïsme circulaire de $(R)-[Th(DFO-PIPO)]$ et de $(R)-[Zr(DFO-PIPO)]$ à pH ~ 5.

Pour le complexe de thorium, un maximum est observé à 220 nm ($\Delta\epsilon = 4$) et celui du complexe de zirconium est à 245 nm ($\Delta\epsilon = 1,6$). Il en est de même pour les minima à 245 ($\Delta\epsilon = -6$) et 265 nm ($\Delta\epsilon = -5$). Ce résultat peut paraître surprenant car les deux complexes sont formés à partir du même ligand possédant le même centre de chiralité. La différence entre les deux spectres ECD repose donc uniquement sur la chiralité induite par l'enroulement du ligand autour du centre métallique. Ainsi, les deux complexes doivent présenter des géométries de coordination différentes.

En accord avec le modèle de répulsion électrostatique développé par Kepert,^[155] nos complexes (octacoordinés par quatre groupements bidentes) peuvent adopter deux géométries idéales différentes dont le polyèdre de coordination est soit un dodécaèdre ou un antiprisme à base carrée.

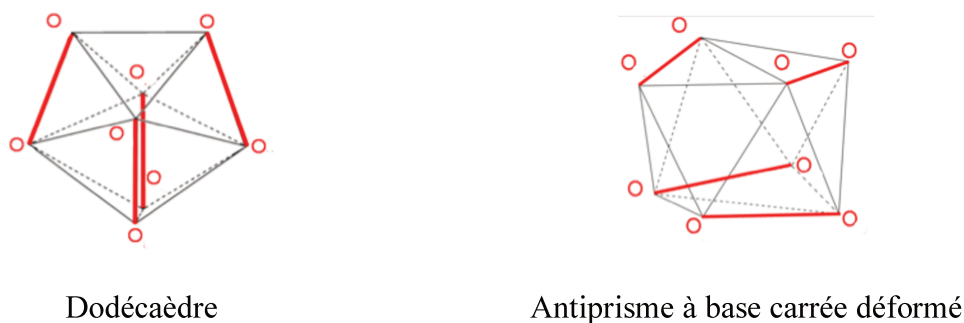


Figure 112 : Polyèdres de coordination de complexes octacoordinés par quatre groupements bidentes.

Sur ces représentations, les quatre arêtes rouges des polyèdres représentent les groupements bidentes hydroxamate. Pour définir les polyèdres de coordination et rationaliser leur formation, Kepert a défini un paramètre clé permettant la caractérisation du complexe et l'identification de sa géométrie. Cette variable est l'angle normalisé (normalized bite) défini par $b = d(\text{O}\cdots\text{O})/d(\text{M}\cdots\text{O})$, c'est-à-dire le ratio entre la distance entre les deux atomes d'oxygènes du groupement bidente et la distance métal-oxygène. Cette variable prend donc en compte la nature du ligand ainsi que celle du métal.

Dans notre cas, $d(\text{O}\cdots\text{O})$ est une constante pour les deux complexes. En revanche, étant donné que le rayon atomique du thorium est supérieur à celui du zirconium, nous pouvons affirmer que $d(\text{Th}\cdots\text{O}) > d(\text{Zr}\cdots\text{O})$ et donc que $b_{[\text{Zr}(\text{L})]} > b_{[\text{Th}(\text{L})]}$.

Le modèle de répulsion électrostatique de Kepert permet de définir la nature du polyèdre de coordination privilégié en fonction de b . Pour des complexes $[\text{M}(\text{L})_4]$, la géométrie tend vers un dodécaèdre si $b < 1,15$ et un antiprisme à base carrée si $b \geq 1,15$. Dans la littérature, on trouve des exemples^[24] de complexes tétrahydroxamate de zirconium ($b = 1,15$) de géométrie antiprisme carré.

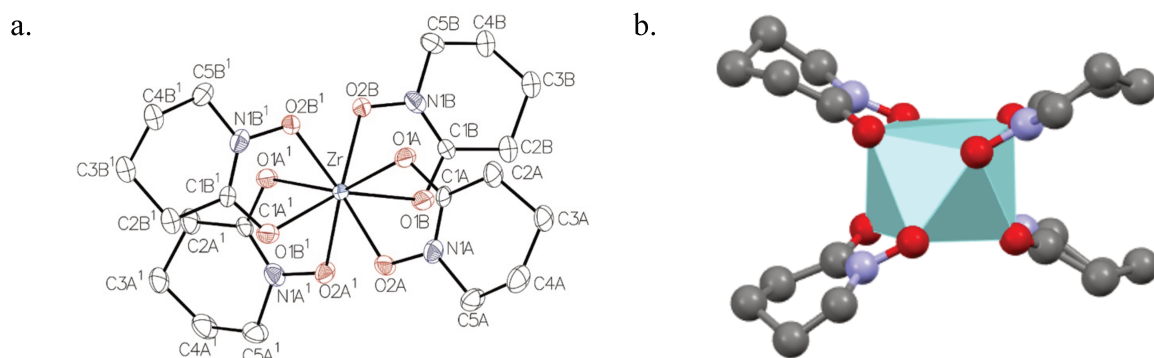


Figure 113 : Représentation radiocristallographique du complexe $[\text{Zr}(\text{PIPO})_4]$; a) Vue ORTEP (seuil de probabilité de 50%) ; b) Polyèdre de coordination antiprisme à base carrée.^[24]

Le dichroïsme circulaire nous a permis de montrer que nos deux complexes étaient de géométries différentes. En admettant que notre complexe de Zr se comporte comme d'autres complexes hydroxamates qui présentent une géométrie de type antiprisme à base carrée, et en considérant que $b_{[Zr(L)]} > b_{[Th(L)]}$, alors nous pouvons affirmer que le complexe de thorium possède très vraisemblablement une géométrie dodécaédrique.

4.2. Synthèse et caractérisation des ligands tétra-PIPO

La molécule de DFO-PIPO est un ligand prometteur pour la complexation de Zr^{4+} ,^[63] et constitue une alternative pour une utilisation *in vivo* de la DFO*. Cependant, nous avons essentiellement synthétisé ce chélate tétrahydroxamique comme preuve de concept de l'utilisation d'un groupement PIPO dans une molécule préparée par hémisynthèse. Cette étude a permis de valider notre concept et de déterminer les propriétés et les conditions de complexation d'un ligand tétrahydroxamique dont la synthèse est réalisable en un nombre restreint d'étapes réactionnelles. Le but final de notre projet de recherche était de mettre au point la synthèse de nouveaux ligands tétrahydroxamiques abiotique porteurs de quatre groupements PIPO et d'en étudier les propriétés de complexation avec des métaux tétravalents comme Zr^{4+} et Th^{4+} . La structure générale des ligands ciblés est la suivante :

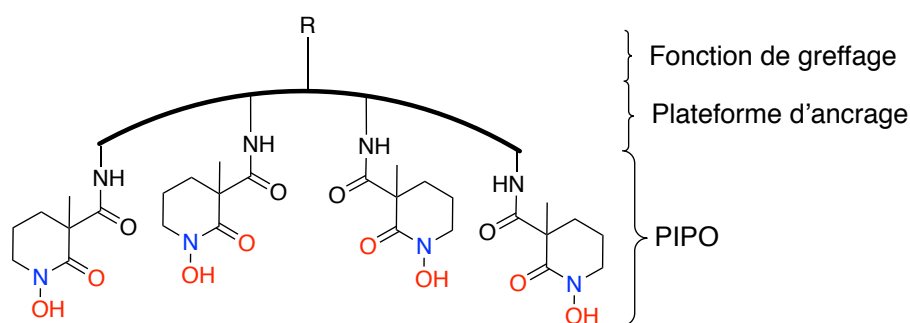


Figure 114 : Structure générale de nos ligands tétra-PIPO.

Les ligands se composent de quatre groupements PIPO ancrés sur une plateforme tétraamine par des liaisons peptidiques. Cette plateforme possède elle-même une fonction de greffage afin d'ancrer la molécule sur un support solide (résine) ou de la bioconjuguer à une molécule vectrice. Nous décrirons ultérieurement la nature de cette fonction de greffage et les voies de synthèse envisagées pour préparer ces ligands bifonctionnels. Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à synthétiser la plateforme d'ancrage tétraazotée la plus pertinente sans fonction de greffage. En effet, la structure du squelette de cette plateforme tétraamine est capitale car elle impacte directement les propriétés de complexation du ligand. Si l'on se réfère

aux données de la littérature, la structure de la plateforme d'ancrage doit être flexible et doit séparer deux chélateurs adjacents d'au minimum neuf atomes pour que le ligand s'enroule autour du métal et qu'il puisse compléter, avec le moins de contrainte et de tension possible, la sphère de coordination.

4.3. 3,4,3 LI-PIPO

4.3.1. Introduction

Le premier chélateur incorporant quatre groupes PIPO que nous avons synthétisé est inspiré du ligand 3,4,3-LI(1,2-HOPO).^[49] Cette molécule, présentée dans le chapitre I, a été très largement étudiée et présente des propriétés remarquables.

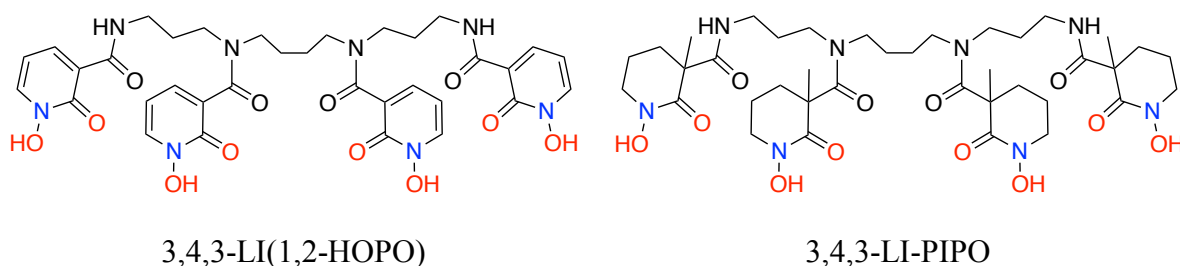


Figure 115 : Structure des ligands 3,4,3-LI(1,2-HOPO) et 3,4,3-LI-PIPO.

Notre approche était de synthétiser un ligand analogue à celui de Raymond et coll. mais portant quatre groupements PIPO. Ce cycle hydroxamique est moins rigide que le HOPO et possède a priori des propriétés de chélation supérieures en raison de sa basicité plus importante. Ce nouveau ligand 3,4,3-LI-PIPO, bien que très proches du 3,4,3-LI(1,2-HOPO), est une preuve de principe que le groupement PIPO peut être utilisé en lieu et place du groupement HOPO et que nous pouvons donc nous appuyer sur les recherches du groupe de Raymond afin d'avancer dans nos propres travaux.

4.3.2. Synthèse

Le squelette carboné de ce ligand est la spermine, une tétraamine linéaire commerciale. Comme nous l'avons évoqué précédemment, la formation de liaison peptidique entre un acide carboxylique et une amine secondaire s'effectue très difficilement, dans ce cas précis, la réaction n'est pas complète en utilisant les agents de couplage usuels (EDC, HOBt). En effet,

même en augmentant le temps et la température de réaction, nous avons isolé l'espèce porteuse de trois PIPO et avec un rendement très faible. Afin d'activer la fonction acide carboxylique, nous avons donc utilisé le PIPO sous sa forme chlorure d'acide (Schéma 28). La réaction de couplage sur la tétraamine a été effectuée en présence de DMAP et de DIPEA.

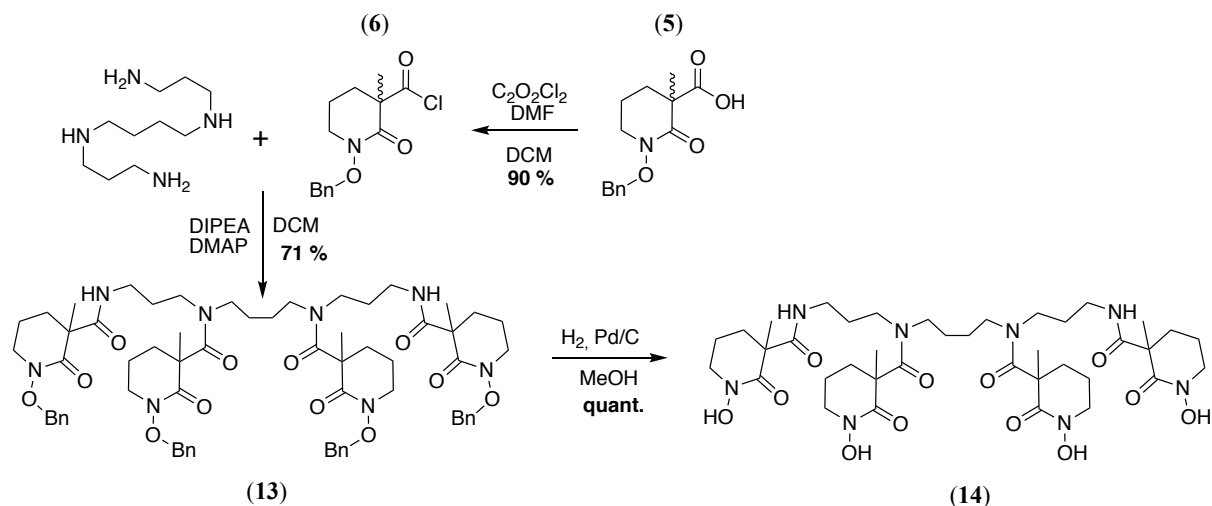


Schéma 28 : Synthèse du chélateur 3,4,3-LI-PIPO (14).

Une fois les quatre PIPO liés à la spermine, les acides hydroxamiques ont été déprotégés par hydro-génolyse pour obtenir le ligand tétra-PIPO : 3,4,3 LI-PIPO (14).

Nous avons donc validé le greffage du groupement PIPO sur une molécule naturelle pour obtenir la DFO-PIPO par hémisynthèse, puis nous avons préparé un premier ligand tétraPIPO totalement synthétique en adaptant une tête de pont tétraazoté et un chemin de synthèse connu. Après validation de ces preuves de concept, nous avons synthétisé une nouvelle famille de ligands plus prometteuse en mettant en jeu des plateformes d'ancrage ramifiées.

4.4. HA-2,2-PIPO et HA-2,3-PIPO

4.4.1. Introduction

Les deux cibles principales de cette étude sont les ligands HA-2,2-PIPO et HA-2,3-PIPO (HA = Hexa-Amine) (Figure 116). Ces deux ligands se différencient uniquement par la longueur de la chaîne carbonée centrale.

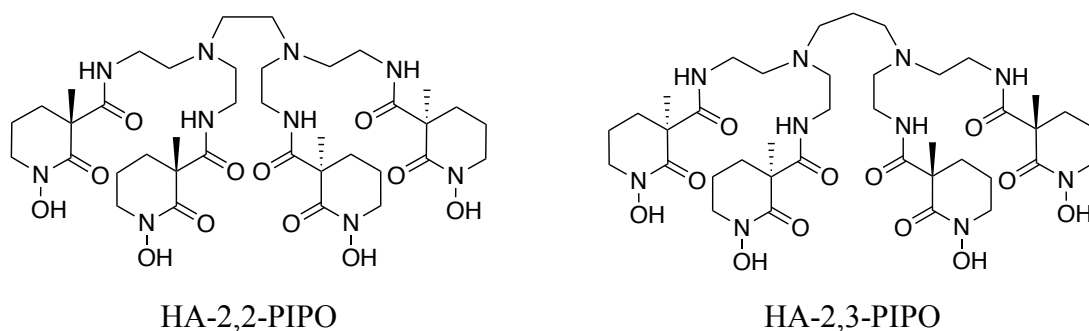


Figure 116 : Structures des ligands tétra-PIPO cibles, HA-2,2-PIPO et HA-2,3-PIPO.

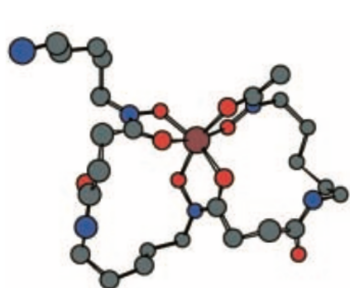
Les principaux avantages de ces ligands, par rapport au 3,4,3-LI-PIPO, sont d'une part une plus grande flexibilité due à la ramification du squelette et d'autre part un nombre plus important d'atome séparant deux fonctions acide hydroxamique adjacentes (Tableau 23). Des architectures similaires ont déjà été explorées par le groupe de Raymond et celui de Cuthbertson^[61,156,157] afin d'élaborer des chélateurs plus performants que le 3,4,3-LI(1,2-HOPO).

Tableau 23 : Distance entre deux fonctions chélatantes adjacente pour trois ligands hydroxamiques.

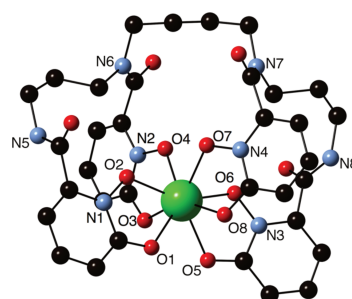
Ligands	Distance minimale entre deux chélateurs
<p>DFO</p>	9 atomes
<p>3,4,3-Li(1,2-HOPO)</p>	9 atomes
<p>HA-2,2-PIPO</p>	11 atomes

Comme observé dans la structure de la DFO, la présence de 9 atomes entre deux groupements hydroxamiques adjacents semble parfaitement convenir à une molécule linéaire afin qu'elle puisse s'enrouler autour du noyau métallique. Garder cette même distance de 9 atomes avec des groupements cycliques tels que des HOPO ou nos PIPO semble insuffisant, car ces cycles vont apporter de la rigidité et de l'encombrement. Pour vérifier cette théorie, nous

avons représenté, Figure 117, les deux seules structures radiocristallographiques de complexes de DFO^[139] et de 3,4,3-LI(1,2-HOPO)^[52] disponibles dans la littérature.



Complexe Fe-DFO



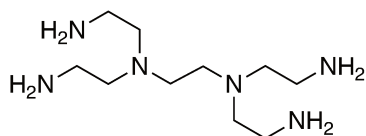
Complexe Zr-3,4,3-LI(1,2-HOPO)

Figure 117 : Structure radiocristallographiques des complexes $[\text{Fe}(\text{DFO})\text{H}]^+$ ^[139] et $[\text{Zr}(3,4,3\text{-LI}(1,2\text{-HOPO}))]$ ^[52].

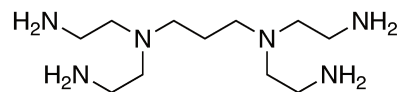
Bien que les deux noyaux métalliques soient différents et donc de rayons ioniques différents ($r(\text{Fe}) = 140 \text{ pm}$ et $r(\text{Zr}) = 155 \text{ pm}$), une différence drastique de tension est tout de même facilement observable entre les deux complexes. En effet, les chaînons de la DFO séparant deux hydroxamates semble lâches, contrairement à ceux du complexe de 3,4,3-LI(1,2-HOPO) dont le chaînon central à quatre atomes de carbones adopte une conformation anti totalement étendue. Pour cette raison, nous avons choisi des squelettes carbonés plus grands et offrant une meilleure flexibilité.

4.4.2. Tête de pont Hexaamine

Les têtes de ponts des ligands HA-2,2-PIPO et HA-2,3-PIPO sont respectivement les hexaamines suivantes :



HA-2,2



HA-2,3

Figure 118 : Structures des têtes de pont hexaamines cibles.

Les structures ramifiées de ces hexaamines sont intéressantes car les amines tertiaires centrales assurent une flexibilité importante de la molécule et les amines primaires terminales vont servir de site d'ancrage des motifs PIPO. Nous avons développé deux voies de synthèse

différentes de ces têtes de pont, chacune présentant des avantages et des inconvénients que nous décrirons. Les deux voies envisagées sont présentées sur le Schéma 29.

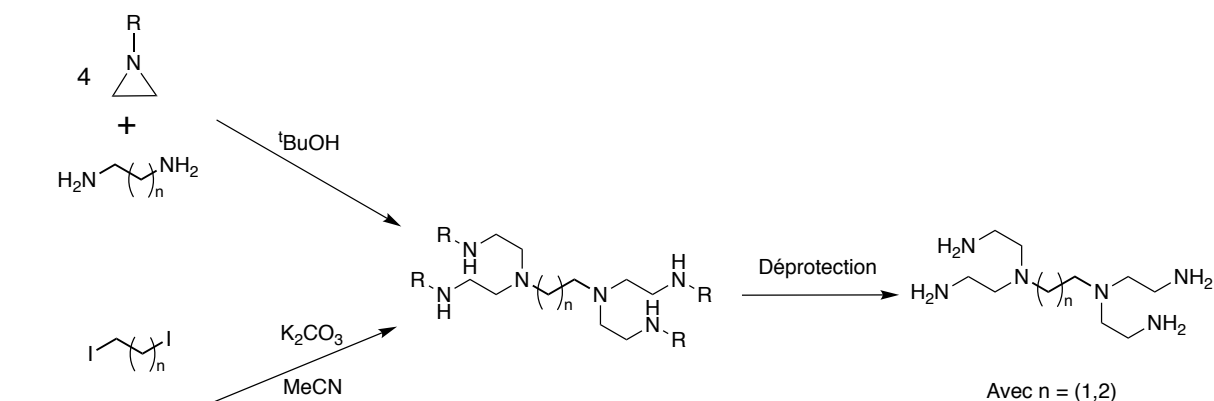


Schéma 29 : Synthèse des têtes de pont hexaamines.

Voie aziridine

La première voie de synthèse, que l'on intitulera « voie aziridine », consiste à faire réagir quatre équivalents d'une aziridine protégée sur une diamine. Une aziridine est un hétérocycle composé d'une amine et deux groupe méthylène. Cette molécule réagit avec des nucléophiles par ouverture de cycle, produisant un chaînon de deux carbones et une amine terminale. Pour éviter toute réaction de polymérisation, l'amine doit être protégée. Nous avons synthétisé plusieurs aziridines portant différents groupements protecteurs.

La première aziridine que nous avons synthétisée était protégée par un groupement Cbz^[158].

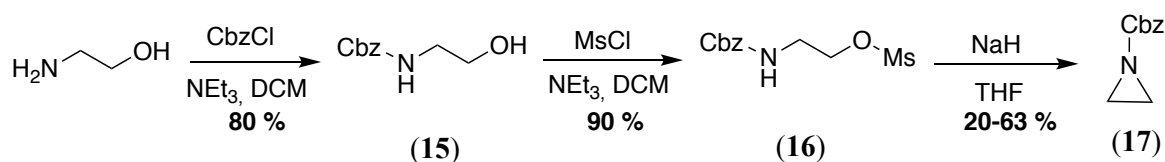


Schéma 30 : Synthèse de l'aziridine-Cbz (17).

En milieu basique dans le dichlorométhane, l'atome d'azote de l'éthanolamine est protégé par le chloroformiate de benzyle, puis l'alcool est activé avec le chlorure de méthanesulfonyle ou le chlorure de 4-toluènesulfonyle. La déprotonation du carbamate conduit alors à la cyclisation de la molécule donnant ainsi l'aziridine-Cbz (Az-Cbz (17)). Contrairement

aux deux premières étapes, la cyclisation est peu reproductible et son rendement varie énormément. Nous avons exploré la synthèse d'autres aziridines (Schéma 31).

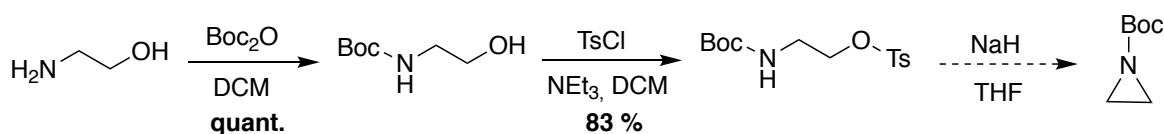


Schéma 31 : Synthèse de l'aziridine-Boc.

Pour l'aziridine-Boc, nous avons appliqué la même procédure que précédemment. Selon les analyses de produit brut, la cyclisation semble s'effectuer avec un bon rendement mais malheureusement le produit formé est trop réactif pour être purifié puisque l'aziridine s'ouvre sur le gel de silice. Cette méthode de synthèse a donc été abandonnée.

La troisième aziridine que nous avons synthétisée est l'aziridine tosyle (Az-Ts (**18**)) pour laquelle le groupement protecteur et le groupement partant sont tous deux des groupes tosyloxy.^[158,159]

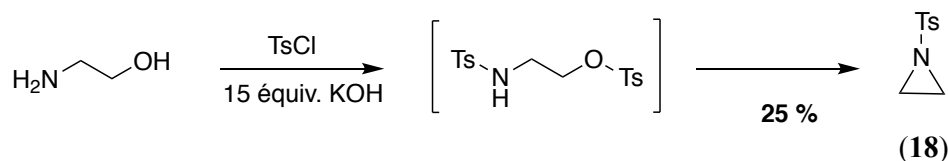


Schéma 32 : Synthèse de l'aziridine tosyle (**18**).

En milieu aqueux fortement basique, les deux extrémités de l'éthanolamine réagissent avec le chlorure de 4-toluènesulfonyl, puis la cyclisation s'effectue *in situ*. Le rendement global est de 25 %. Malgré ce faible rendement, compte tenu de la simplicité de cette synthèse en une seule étape et qui n'utilise que des réactifs très bon marché, c'est la voie de synthèse que nous avons privilégiée. Ainsi, nous avons donc pu produire facilement l'Az-Ts (**18**) à l'échelle de la dizaine de gramme.

Nous avons alors mis en jeu les deux aziridines synthétisées pour préparer l'hexamine HA-2,2 (Schéma 33).

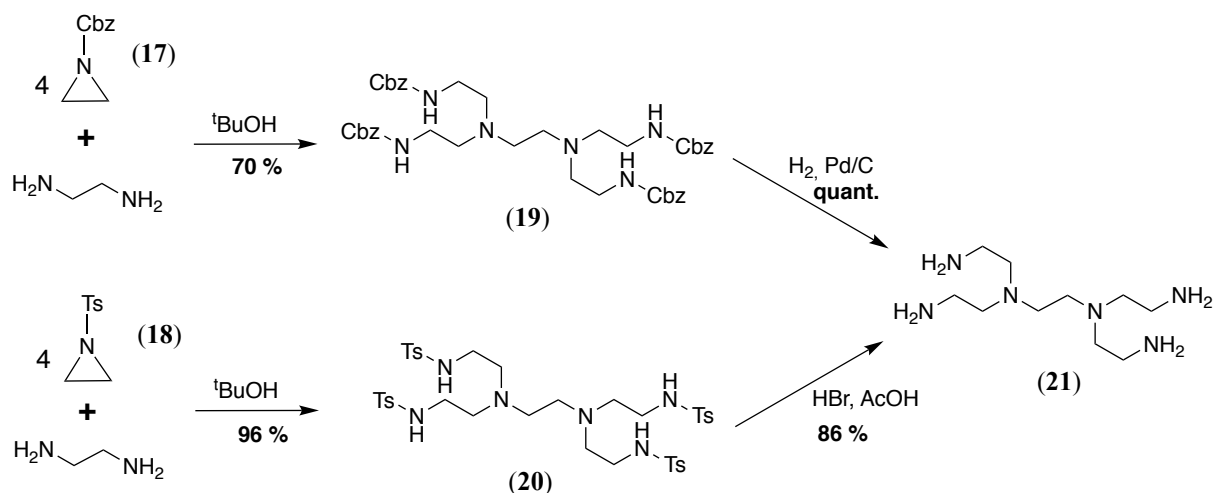


Schéma 33 : Synthèse de HA-2,2 avec l'Az-Cbz (17) et l'Az-Ts (18).

Les deux aziridines sont mises à réagir avec l'éthylènediamine dans les mêmes conditions,^[61] c'est-à-dire dans le *tert*-butanol à 80 °C. Dans les deux cas, la diamine conduit à l'ouverture de 4 équivalents d'aziridine, pour former l'hexamine protégée avec de bons rendements. La déprotection des groupes tosylo est réalisée à 110 °C dans de l'acide bromhydrique concentré dans l'acide acétique. Après isolement du produit, l'hexamine est déprotonés sur une résine échangeuse d'ions, afin d'obtenir HA-2,2 exempt de sels inorganiques. La facilité de synthèse de Az-Ts et son excellente réactivité avec la diamine semble être suffisante pour considérer cette voie de synthèse comme optimale. Cependant, les conditions drastiques de déprotection pourrait se révéler trop violentes pour des hexamines portant un groupe fonctionnel additionnel, comme pour le greffage sur support solide (Figure 114). C'est pourquoi nous avons continué de développer la voie Az-Cbz pour laquelle la déprotection des atomes d'azote se fait en condition douce. En effet, bien que Az-Cbz soit plus difficile d'obtention, la déprotection de l'hexamine Cbz est réalisée quantitativement par hydrogénation catalysée par du palladium sur charbon. Les synthèses de ces deux aziridines présentent donc chacune des points forts et des points faibles et nous avons par la suite utilisé la méthode la mieux adaptée à chaque situation.

Voie triamine

La « voie triamine » de synthèse d'hexamines consiste en une double substitution nucléophile entre un dihalogène propane ou éthane et deux diéthylènetriamines. Les amines primaires de la diéthylènetriamine doivent être protégées afin que la substitution nucléophile s'effectue uniquement sur l'amine secondaire centrale.^[160]

Différents groupements protecteurs ont été sélectionnés, en ne considérant que ceux susceptibles de réagir sélectivement avec les amines primaires. Lorsque le groupe protecteur a

été choisi, la triamine diprotégée a été opposée au 1,3 diiodopropane pour synthétiser le HA-2,3.

Le premier groupement protecteur que nous avons utilisé était le trifluoroacétate d'éthyle.

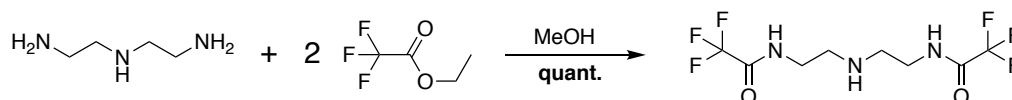


Schéma 34 : Protection des amines primaires de la diéthylènetriamine par des groupements trifluoroacétate.

La protection de la triamine par deux équivalents de trifluoroacétate d'éthyle est simple et quantitative. Malheureusement, le produit résultant n'a aucune réactivité avec le diiodopropane. Cette méthode de protection a donc été abandonnée.

Le deuxième groupement protecteur utilisé était le triphénylméthane.^[160,161]

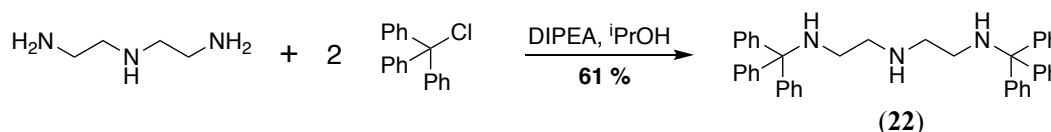


Schéma 35 : Protection des amines primaires de la diéthylènetriamine par des groupements triphénylméthane.

La réaction de protection a été réalisée par le chlorotriphénylméthane en milieu basique dans l'isopropanol. Grâce à cette triamine, l'hexamine HA-2,3 a pu être synthétisée. La première étape est la double substitution nucléophile, réalisée en milieu basique dans l'acétonitrile avec un rendement de 70 %. La déprotection des amines terminales a été réalisée dans une solution d'acide chlorhydrique 4 M.

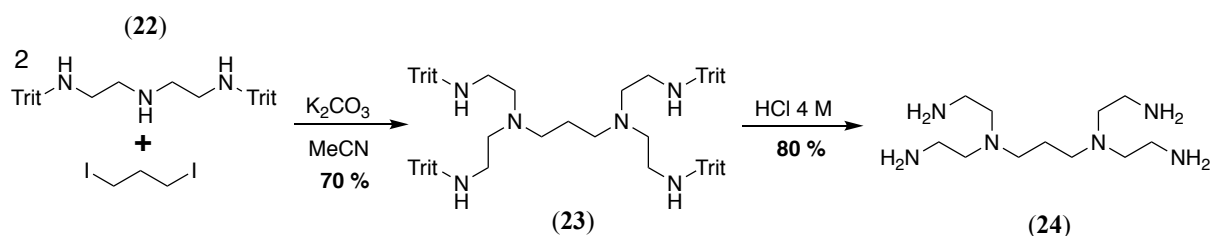


Schéma 36 : Synthèse de HA-2,3 (24) par la triamine bis(triphénylméthane) (22).

Le troisième groupement protecteur utilisé était le *tert*-butoxycarbonyle (Boc).^[157]

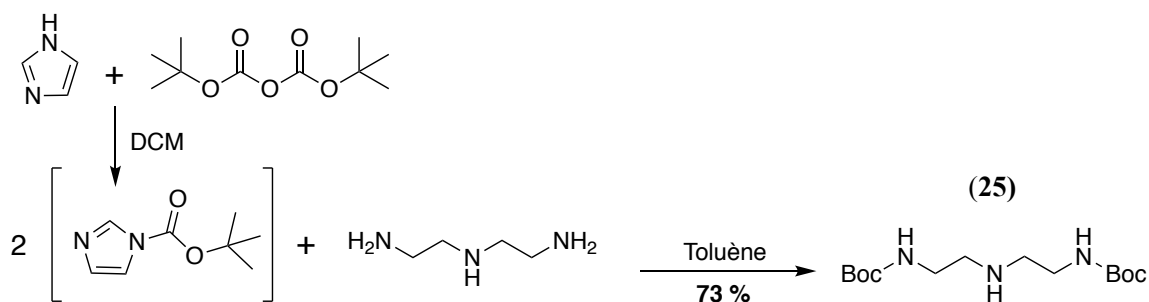


Schéma 37 : Protection des amines primaires de la diéthylènetriamine par des groupes Boc.

Utiliser l'anhydride Boc₂O directement sur le diéthylènetriamine entraînerait la protection non sélective des trois amines. Nous avons donc utilisé un composé moins réactif, l'intermédiaire imidazole-Boc, généré *in situ*. Cet intermédiaire est capable de transférer le groupement Boc mais uniquement sur une amine primaire.^[157] Cette triamine diprotégée nous a permis de synthétiser l'hexaamine HA-2,3.

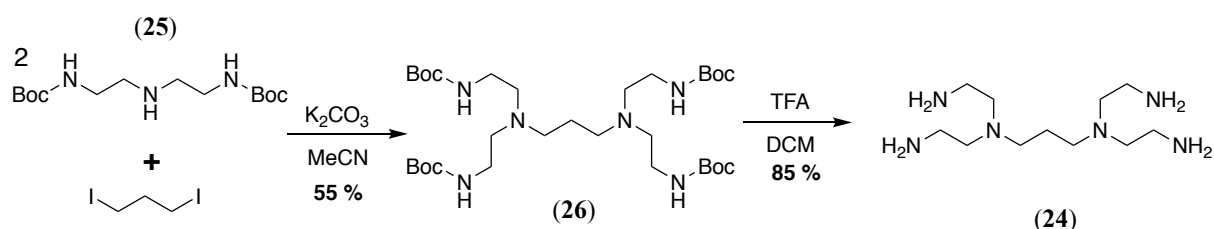


Schéma 38 : Synthèse de HA-2,3 (24) par les triamines diBoc (25).

La formation de l'hexaamine procède suivant le même protocole que celui décrit pour la triamine bis(triphenylméthane), mais la déprotection est réalisée dans des conditions plus douces dans le cas du Boc (TFA). L'hexaamine HA-2,3 a donc pu être synthétisée avec des rendements satisfaisant grâce aux triamines protégées Boc et triphényléméthane.

Nous avons montré la « voie aziridine » pour la synthèse de HA-2,2 et la « voie triamine » pour la synthèse de HA-2,3 car c'est avec ces méthodes que nous avons synthétisé respectivement ces deux molécules avec le meilleur rendement. Nous nous sommes assurés que chacune des deux hexaamines pouvait être synthétisée en empruntant les deux voies de synthèse. Pourtant aucune des deux méthodes n'a été abandonnée au profit de l'autre, car les deux voies de synthèse sont viables et présentent des atouts différents. Les aziridines ont une bien meilleure réactivité que les triamines pour former l'hexaamine, mais leur synthèse est plus compliquée à mettre en place que la simple protection du diéthylènetriamine.

4.4.3. HA-2,2-PIPO

Synthèse

Une fois la tête de pont hexaamine obtenue, la synthèse du ligand HA-2,2-PIPO consiste au couplage de quatre groupes PIPO porteurs d'une fonction acide carboxylique, suivie de la déprotection des acides hydroxamiques benzylés (Schéma 39).

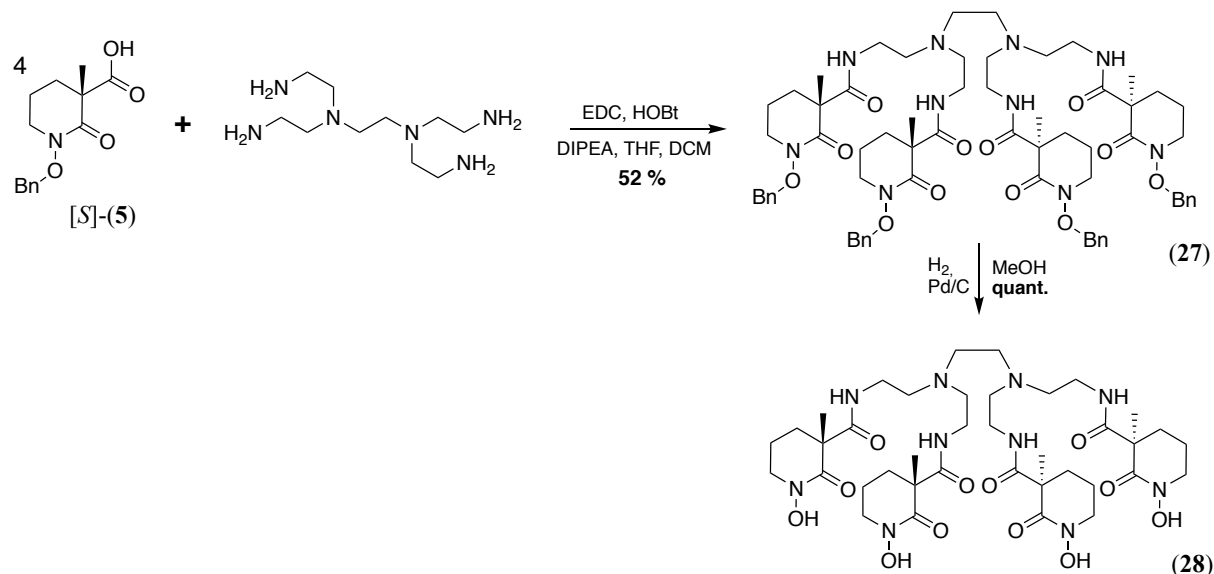
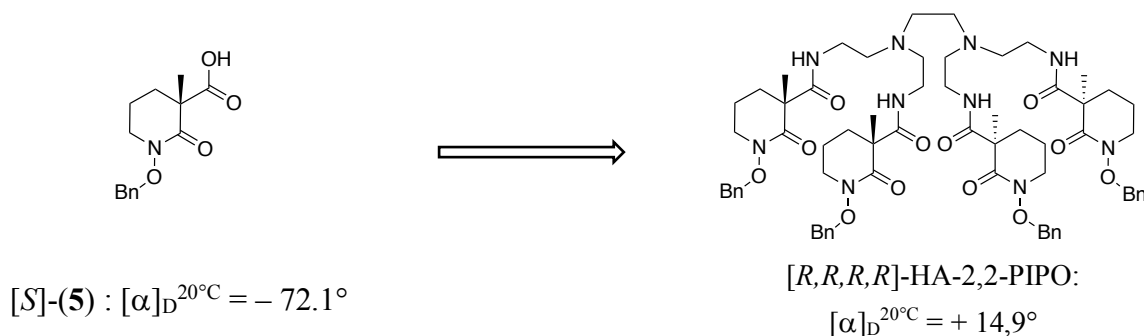


Schéma 39 : Synthèse du chélateur [R,R,R,R]-HA-2,2-PIPO (**28**).

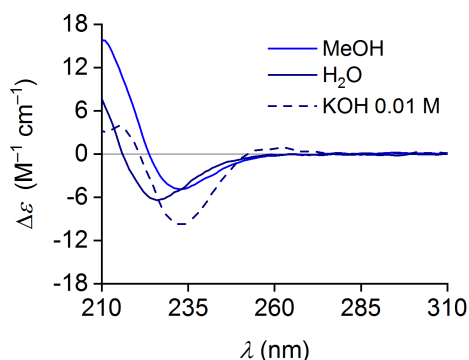
Le couplage pour former les liaisons peptidiques a été réalisé dans les mêmes conditions que celles décrites pour les ligands précédents, c'est à dire en présence d'EDC et d'HOBt en milieu basique dans un mélange THF/dichlorométhane. Le rendement de seulement 52 % s'explique par la formation de quatre liaisons peptidiques. La déprotection des acides hydroxamiques est réalisée quantitativement par hydrogénation catalysée par Pd/C pour obtenir le ligand [R,R,R,R]-HA-2,2-PIPO (**28**).

*Propriétés physico-chimiques**- Propriétés optiques*

Seul un énantiomère de ce ligand a été synthétisé, le [R,R,R,R]-HA-2,2-PIPO (**28**). Seuls les propriétés optiques de cet énantiomère seront présentées.

Figure 119 : Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ de $[R,R,R,R]\text{-HA-2,2-PIPO}$ (**28**).

Comme nous l'avons décrit dans le chapitre III pour les ligands modèles porteur d'une fonction amide, le greffage des PIPO par couplage peptidique s'accompagne d'un changement de configuration absolue de l'atome C-3 et d'une inversion du signe du pouvoir rotatoire. La chiralité de la molécule est également révélée par l'existence d'un spectre de dichroïsme circulaire électronique dont l'amplitude et la position des bandes d'absorption (220 et 235 nm) dépendent à la fois du solvant et du pH. En milieu basique (pH = 12), l'intensité de l'absorption augmente tandis que les bandes subissent un effet bathochrome avec l'apparition de deux extremats à 215 et 260 nm.

Figure 120 : Spectre de dichroïsme circulaire du ligand (+)- $[R,R,R,R]\text{-HA-2,2-PIPO}$.

- Étude par spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C

La caractérisation par spectroscopie RMN et l'attribution des signaux pour la molécule cible HA-2,2-PIPO sont très importantes pour valider la pureté de ce ligand. L'attribution des signaux protons est aisée, tout du moins pour les groupements PIPO de HA-2,2-PIPO, car ils présentent la même signature spectrale que celle du ligand modèle PIPOMAH. La partie centrale de la tête de pont est identifiable car elle ne possède que quatre protons qui résonnent sous la forme d'un singulet à 3,4 ppm. En utilisant le diagramme de corrélation ^1H - ^1H COSY et ^1H - ^{13}C HSQC et les attributions de PIPOMAH, nous avons pu identifier la majeure partie

des signaux du spectre RMN ^{13}C . Une ambiguïté subsiste pour les protons portés par les atomes de carbones C-9 et C-10 qui résonnent à 3,6 ppm (8H) et 3,2 ppm (8H). En utilisant le diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HMBC, nous observons une corrélation entre le signal C-8 et celui à 3,6 ppm et aucune avec le signal à 3,2 ppm. Ceci permet d'attribuer sans ambiguïté les deux signaux, correspondants respectivement au carbones C-9 (3,2 ppm) et C-10 (3,6 ppm). Il est à noter que les protons méthyléniques 9 couplent avec le proton NH de l'amide en ^3J , ce qui conduit à un multiplet plus complexe que le triplet dû aux protons H-10. Une fois cette ambiguïté levée, nous avons pu assigner tous les signaux des spectres RMN de la molécule HA-2,2-PIPO.

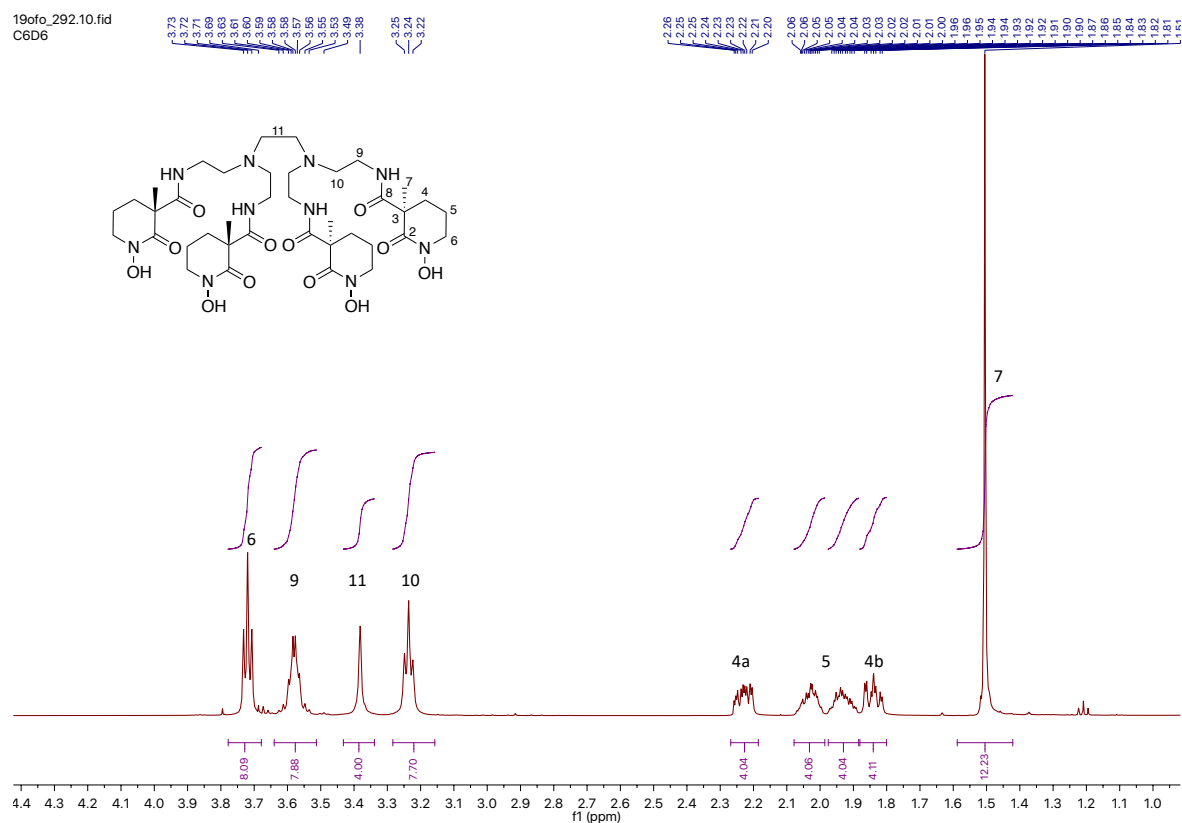


Figure 121 : Spectre RMN ^1H de HA-2,2-PIPO (500 MHz, D_2O avec un insert de C_6D_6 en référence).

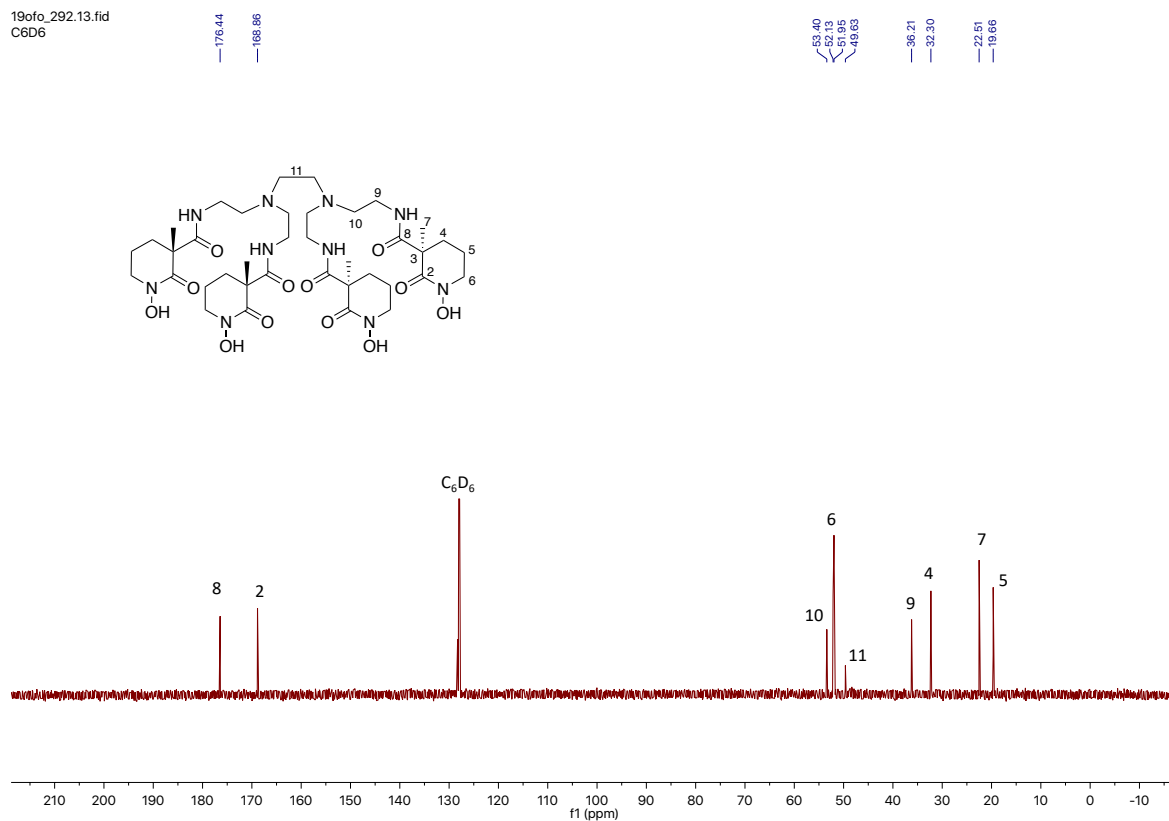


Figure 122 : Spectre RMN ^{13}C de HA-2,2-PIPO (126 MHz, D_2O avec un insert de C_6D_6 en référence).

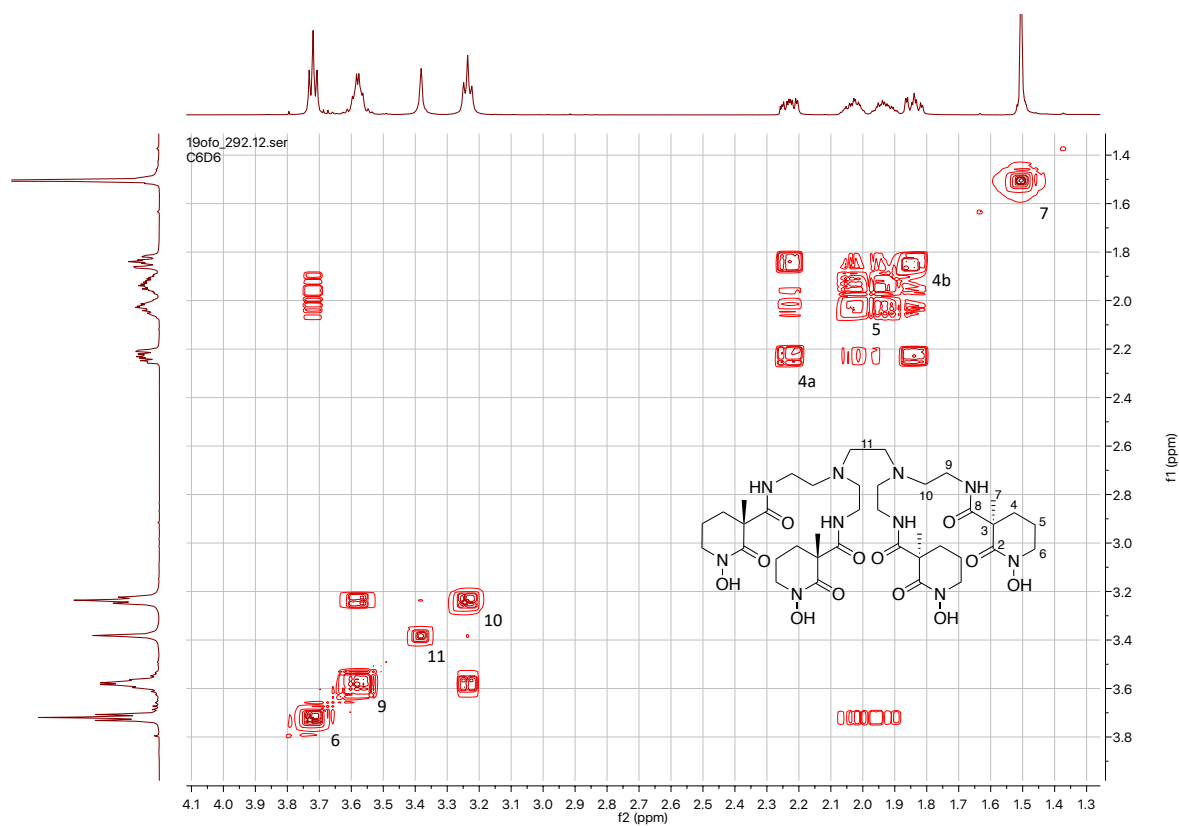


Figure 123 : Diagramme de corrélation ^1H - ^1H COSY de HA-2,2-PIPO (500 MHz, D_2O avec insert C_6D_6).

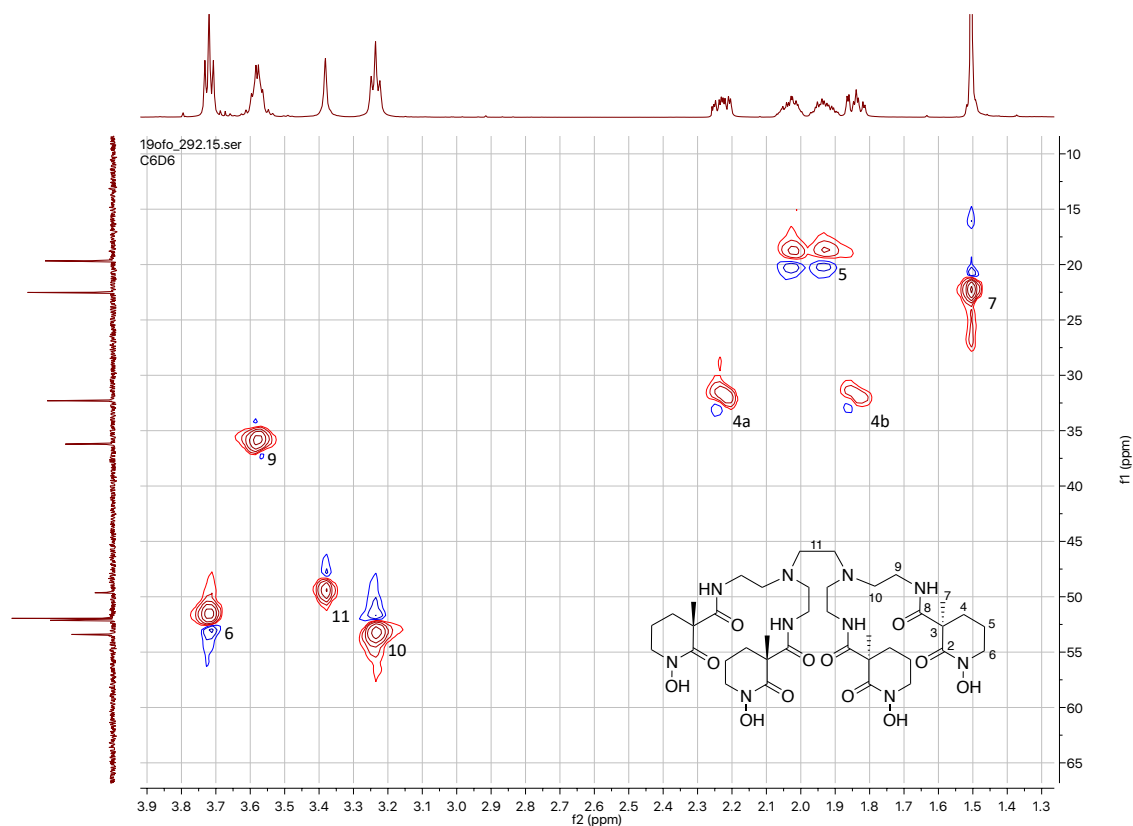


Figure 124 : Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HSQC de HA-2,2-PIPO (500 et 126 MHz, D_2O avec insert C_6D_6).

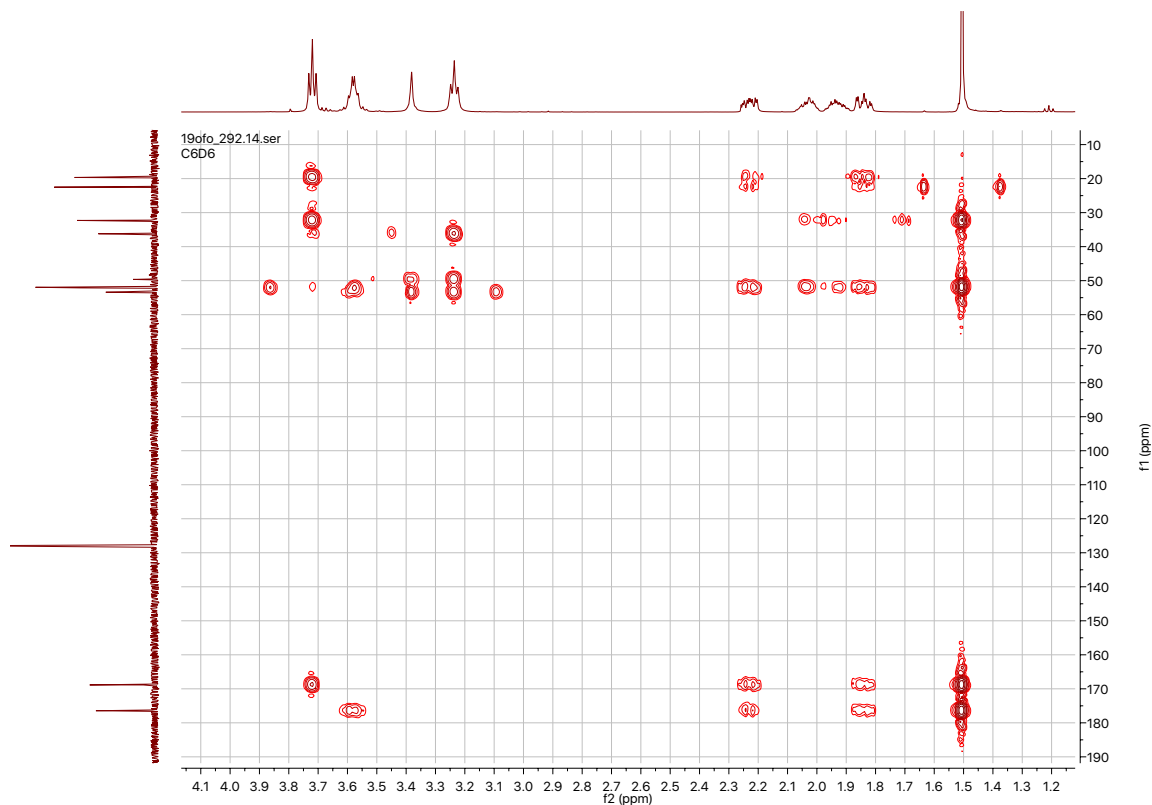


Figure 125 : Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HMBC de HA-2,2-PIPO (500 et 126 MHz, D_2O avec insert C_6D_6).

- Complexation par des métaux tétravalents

Suivant le protocole décrit pour la complexation de DFO-PIPO, des complexes de cérium(IV), d'hafnium(IV) et de zirconium(IV) ont été préparés dans le méthanol par transchélation avec des complexes d'acétylacétonate des différents métaux. Finalement, le solvant et l'acétylacétonone libérée ont été évaporés sous vides pour obtenir les complexes purs (Schéma 40).

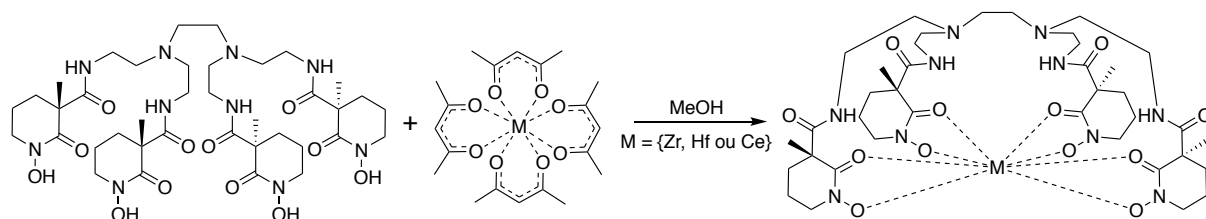


Schéma 40 : Complexation de HA-2,2-PIPO.

Dans un premier temps, le ligand libre HA-2,2-PIPO a été analysé par spectrométrie de masse haute résolution en mode électrospray. L'analyse montre la présence d'un seul pic à un m/z de 851,4617, correspondant à l'ion $[L-H]^-$ de formule $[C_{38}H_{63}N_{10}O_{12}]^-$ à m/z calculé de 851,4632. Les spectres du complexe $[Zr(HA-2,2-PIPO)]$, sont présentés à la Figure 126 et Figure 127.

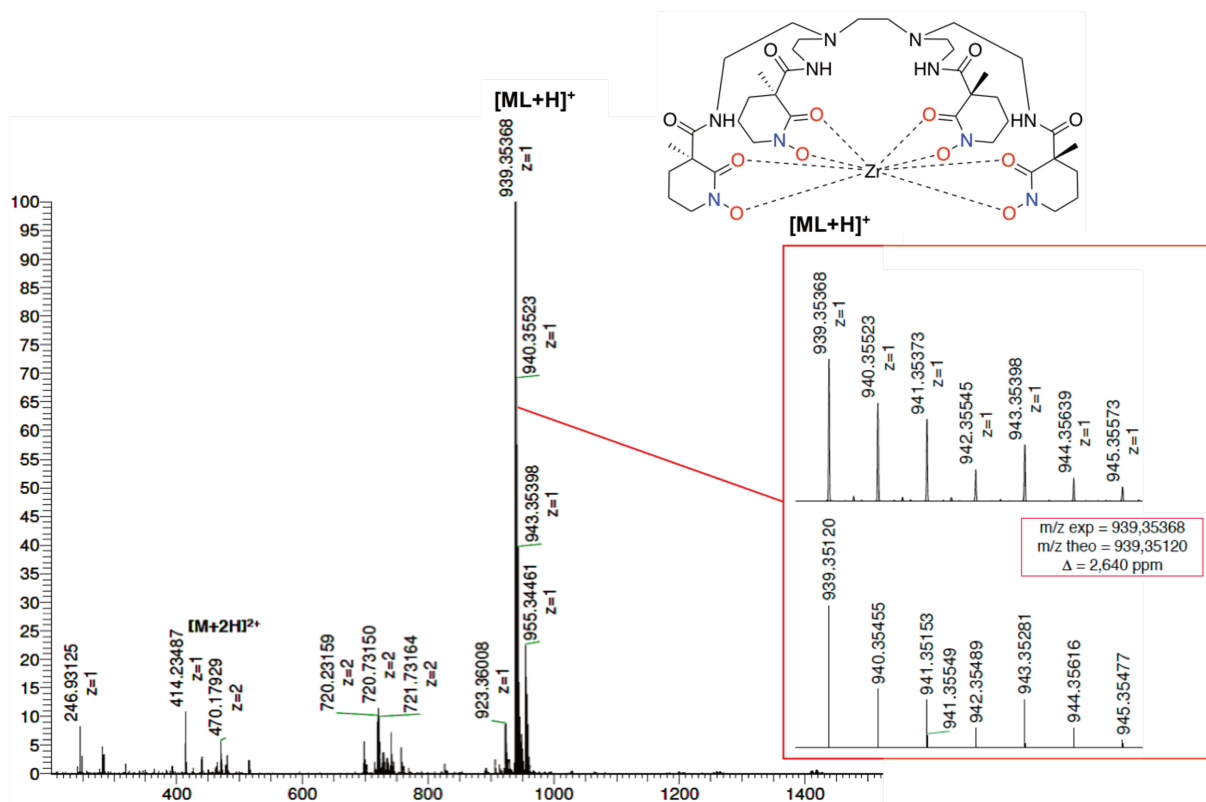


Figure 126 : Spectre de masse HR-ESI-MS de [Zr(HA-2,2-PIPO)] (MeOH).

Sur ce spectre de masse, l'amas isotopique majoritaire correspond au complexe mononucléaire de Zr^{4+} . La position et l'intensité respective des signaux de cet amas isotopique correspondent à celles attendues. Aucune trace de ligand libre n'a été détectée. Dans des conditions diluées, seul le complexe ZrL se forme. Cependant, nous avons réalisé des analyses sur des échantillons plus concentrés qui ont mis en évidence l'existence de complexes dinucléaire Zr_2L_2 . Le spectre suivant (Figure 127) correspond à une analyse faite sur un échantillon de complexe ayant subi après une concentration *in vacuo* rapide.

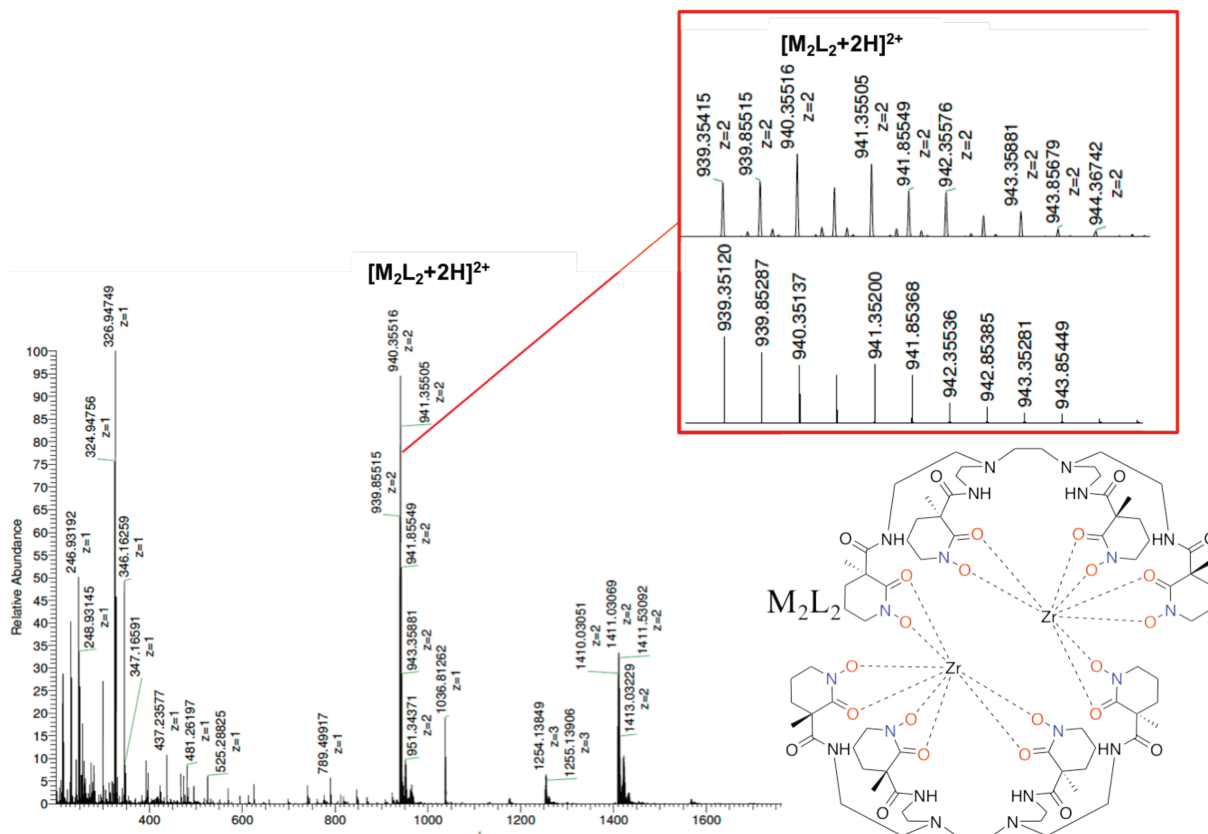


Figure 127 : Spectre de masse HR-ESI-MS de $[Zr(HA-2,2PIPO)]$ (MeOH).

Dans ces conditions, l'espèce majoritaire est un complexe dinucléaire Zr_2L_2 dicationique (Figure 127). Étant donné la charge +2 de ce complexe, la valeur de m/z reste identique à celle observée pour le complexe ZrL . Ces deux complexes se différencient grâce à leur massif isotopique. En effet, celui de l'espèce $[Zr_2L_2+2H]^{2+}$ possède une incrémentation de 0,5 unité de masse entre chaque signal, alors que cet incrément est de 1 pour $[ZrL+H]^+$. Le fait que le massif isotopique calculé ne corresponde pas exactement en intensité à l'amas isotopique expérimentale, montre qu'il existe dans ces conditions un mélange d'espèces mono- et dinucléaires. Ces analyses par spectrométrie de masse montrent que des espèces différentes peuvent être formées en fonction de la concentration du milieu et révèlent l'existence d'un équilibre entre les complexes ($2[ZrL] \rightleftharpoons Zr_2L_2$).

Ces analyses semblent montrer qu'un ligand plus flexible possédant une chaîne carbonée centrale plus longue devrait favoriser la formation du complexe ZrL uniquement. C'est pourquoi nous avons synthétisé le ligand HA-2,3-PIPO.

4.4.3 HA-2,3-PIPO

Synthèse

La synthèse de ce ligand est identique à celle décrite pour HA-2,2-PIPO et repose sur le couplage de quatre groupes PIPO(Bn)COOH sur la tête de pont hexaamine HA-2,3.

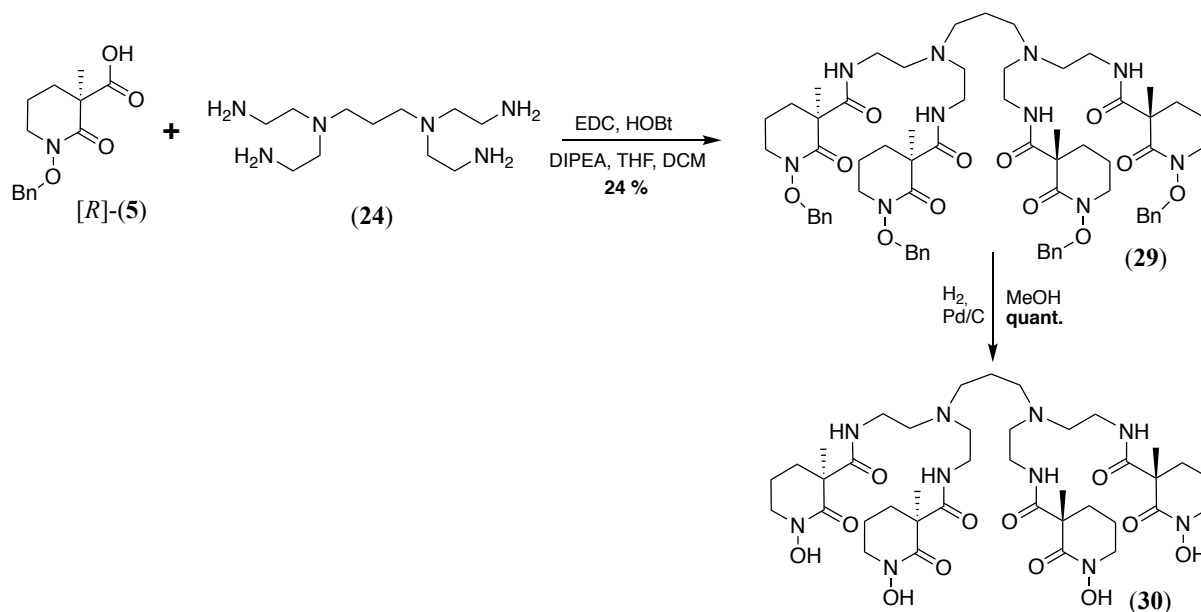


Schéma 41 : Synthèse du chélateur [S,S,S,S]-HA-2,3-PIPO (30).

Bien que le couplage ait été réalisé dans les mêmes conditions que celles employés pour préparer le ligand HA-2,2-PIPO, le rendement fut deux fois moins important (24 %). Cette synthèse n'a été toutefois pas optimisée puisqu'elle n'a été réalisée qu'à une seule reprise. Le rendement faible obtenu pourra sans aucun doute être amélioré lors de synthèses ultérieures de ce ligand.

Complexation par des métaux tétravalents

Comme précédemment, les complexes de zirconium(IV) et thorium(IV) formés ont été caractérisés par spectrométrie de masse haute résolution en mode électrospray. La complexation a été effectuée en présence de chlorure de zirconium(IV) en quantité stœchiométrique par rapport au ligand dissous dans l'eau ($C = 2,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). Le pH de cette solution a été mesuré à 4,9 et un échantillon a été prélevé pour la spectrométrie de masse.

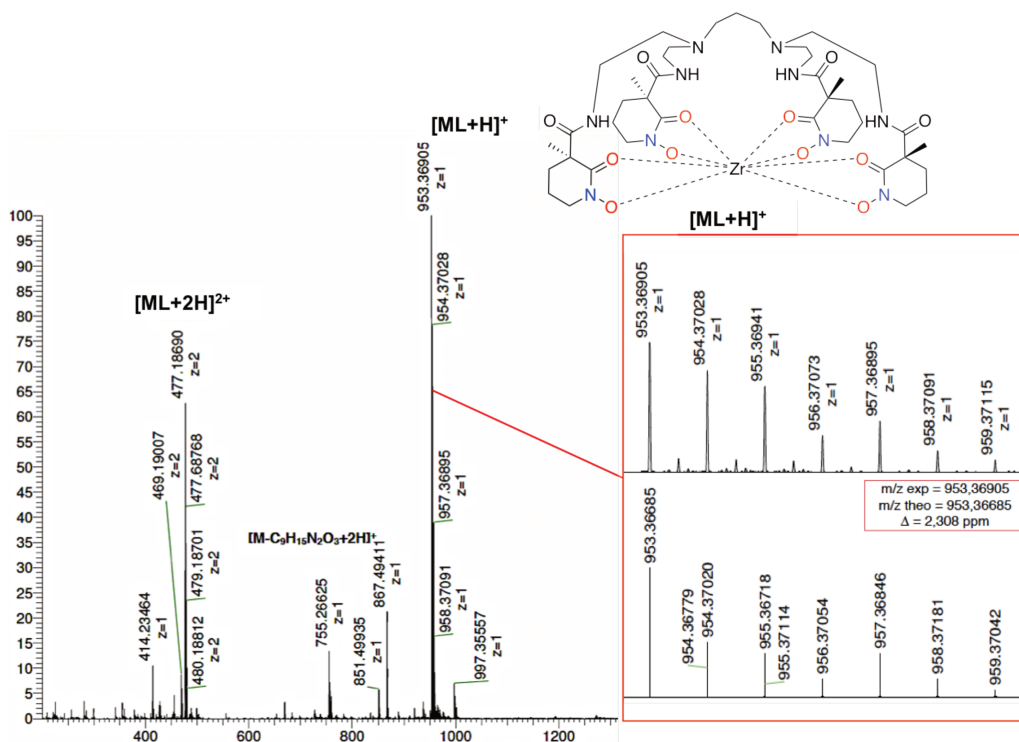


Figure 128 : Spectre de masse HR-ESI-MS de $[Zr(HA-2,3PIPO)]$ (H_2O , $pH = 4,9$).

La seule espèce observée est le complexe mononucléaire dont l'amas isotopique correspond à celui calculé avec la formule brute $[C_{39}H_{62}N_{10}O_{12}Zr+H]^+$. Pourtant, ce massif isotopique révèle également la présence de signaux à intervalle régulier entre les signaux de charge $z=1$, qui correspondent à des traces de complexe $[Zr_2L_2+2H]^{2+}$, bien que le complexe $[ZrL+H]^+$ soit largement majoritaire. Nous avons alors étudié l'influence du pH sur ce système pour vérifier le domaine de stabilité de l'espèce mononucléaire. Le pH de la solution de complexe a alors été fixé à 2 par ajout d'une solution de HCl et à 9 pour par ajout d'une solution de KOH. Ces deux solutions ont été analysées par spectroscopie de masse (Figure 129).

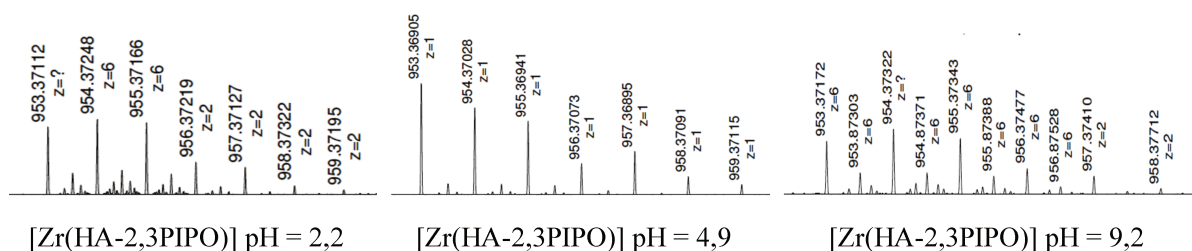


Figure 129 : Massifs isotopiques de $[Zr(HA-2,3PIPO)]$ en fonction du pH.

Bien que le complexe $[ZrL+H]^+$ soit dans tous les cas majoritaires, les massifs isotopiques des trois solutions révèlent, en milieu acide ou basique, une proportion plus importante de complexes dinucléaire $[Zr_2L_2+2H]^{2+}$ voire trinucléaire $[Zr_3L_3+3H]^{3+}$.

Pour la complexation au thorium, nous avons utilisé du nitrate de thorium en quantité stœchiométrique par rapport au ligand dissous dans l'eau. Le pH de cette solution mère a été mesuré à 4,5. A partir de celle-ci deux solutions ont été préparées : une à pH 2,2 en acidifiant le milieu par HNO₃ et la seconde à pH 10 en utilisant une solution de KOH. Les trois solutions ont été analysées par spectroscopie de masse.

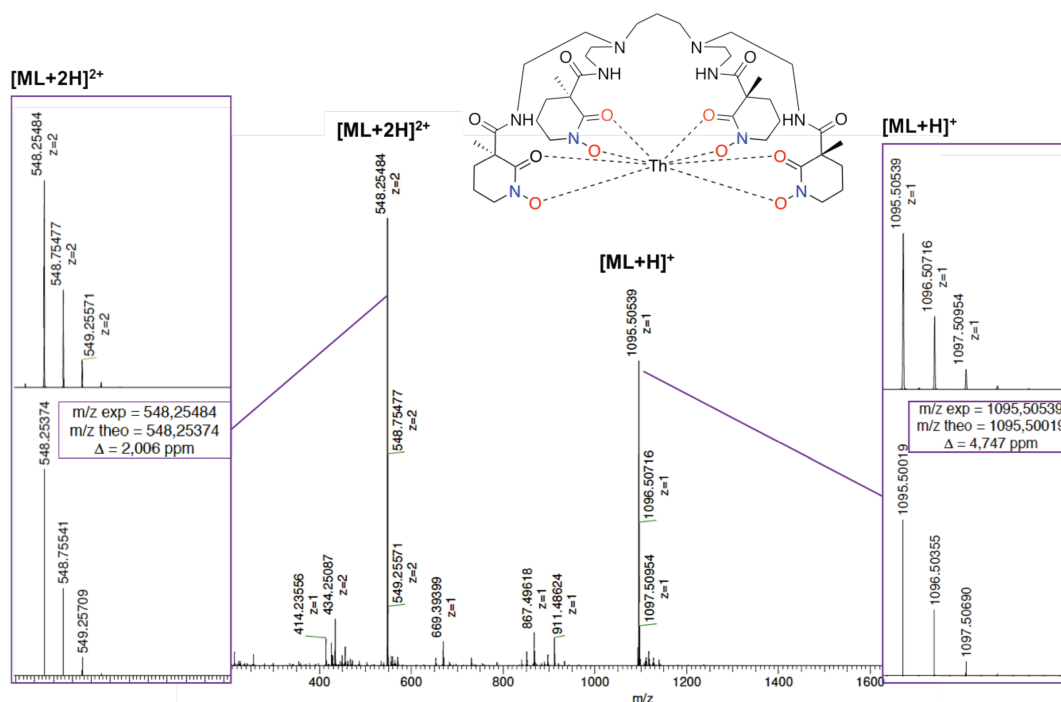


Figure 130 : Spectre de masse HR-ESI-MS de $[\text{Th}(\text{HA-2,3-PIPO})]$ (H₂O, pH = 4,5).

Selon le spectre de la solution à pH 4,5, la seule espèce observable est le complexe $[\text{Th}(\text{HA-2,3-PIPO})]$ une ou deux fois protonée. Les massifs isotopiques de $[\text{ML}+\text{H}]^+$ et de $[\text{ML}+2\text{H}]^{2+}$ correspondent parfaitement aux amas théoriques et aucun complexe dinucléaire dicationique n'a été observé. Les spectres enregistrés pour les solutions acide et basique donnent des résultats similaires. Ce ligand HA-2,3-PIPO semble donc être un excellent chélateur de métaux tétravalents comme Zr⁴⁺ et Th⁴⁺.

En résumé, nous avons synthétisé deux nouveaux ligands tétrahydroxamate extrêmement pertinents et prometteurs pour la complexation d'actinides tétravalents. Ces ligands ne possèdent pas de fonction d'accroche qui nous permettrait de les coupler avec une résine ou une autre molécule active. Cette modification structurale fait l'objet du paragraphe suivant.

4.5 Ligand tétrahydroxamique greffable : HA-2,3B-PIPO

4.5.1. Cible envisagée

La structure du ligand cible est basée sur celle du HA-2,3-PIPO qui a montré les meilleurs résultats de complexation de Zr^{4+} et Th^{4+} . De plus, la présence d'une fonction de greffage sur le carbone central de la tête de pont hexa-amines ne devrait pas modifier sensiblement les propriétés de complexation de la molécule.

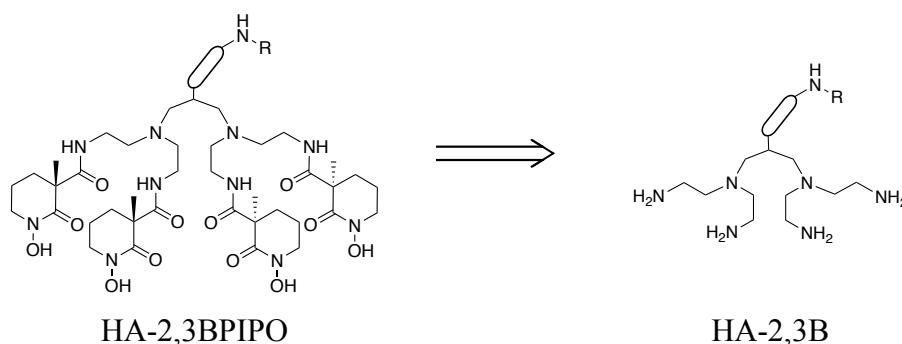


Schéma 42 : Structures des molécules cibles HA-2,3B-PIPO et HA-2,3B.

Il n'est pas possible de faire réagir le ligand HA-2,3-PIPO. Le schéma de synthèse a donc été entièrement modifié afin de synthétiser une nouvelle tête de pont hexaamine branchée appelée HA-2,3B. Celle-ci doit posséder un fonction amine protégée en position terminale et un espaceur suffisamment long pour que le greffage ne soit pas perturbé par l'encombrement stérique du ligand. Contrairement à des exemples de la littérature,^[157] nous avons écarté l'utilisation d'un bras d'ancrage aromatique afin de ne pas augmenter l'hydrophobie du ligand final. Il est nécessaire que la fonction de greffage soit une amine afin de mettre à profit les méthodes d'immobilisation sur résine développées avec la DFO. Le groupement protecteur de cette amine terminale doit être suffisamment stable pour ne pas être éliminé lors des étapes intermédiaires de synthèse et être éliminé dans des conditions différentes des benzyles qui protègent les fonctions hydroxamate des PIPO afin d'avoir un réel contrôle du greffage et de la complexation de la molécule.

4.5.2. Synthèse de HA-2,3B

De nombreuses tentatives infructueuses ont été réalisées avant de pouvoir obtenir la molécule souhaitée. Dans cette partie nous allons décrire la majorité de ces tentatives en expliquant les problèmes rencontrés. Pour plus de clarté, ces tentatives seront présentées en fonction des précurseurs commerciaux utilisés.

Malonate de diéthyle

Le premier chemin de synthèse imaginé pour préparer HA-2,3B (Schéma 43), commençait par une substitution nucléophile du 4-bromobutyronitrile sur le malonate de diéthyle, suivie d'une réduction conduisant à une amine diol.^[157] Après protection de l'amine terminale et activation des fonctions alcool sous forme de mésylates, ces derniers sont substitués par l'amine secondaire d'une triamineBoc, comme pour la synthèse de HA-2,3 (Schéma 38). Finalement, après déprotection, l'hexaamine HA-2,3B protégée par un groupe Cbz sur la fonction d'encrage aurait dû être obtenu.

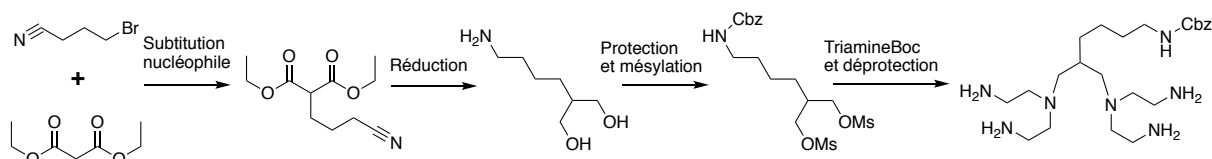


Schéma 43 : Plan de synthèse de HA-2,3B envisagé à partir du malonate de diéthyle.

Le premier problème rencontré concerne l'étape de réduction. Nous n'avons en effet pas trouvé de conditions optimales pour réduire à la fois les esters et le nitrile sans dégrader la molécule. Nous avons modifié cette voie de synthèse en faisant réagir la 3-bromopropylamine, préalablement protégée, sur le malonate (Schéma 44).

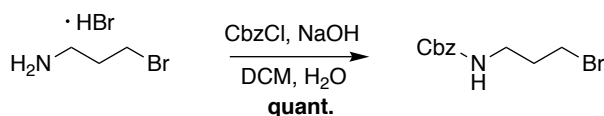


Schéma 44 : Synthèse du *N*-Cbz-3-bromo-propylamine.

La substitution nucléophile opère en milieu basique dans le THF (Schéma 45). La molécule obtenue a été réduite par du LiBH_4 pour donner le diol correspondant.

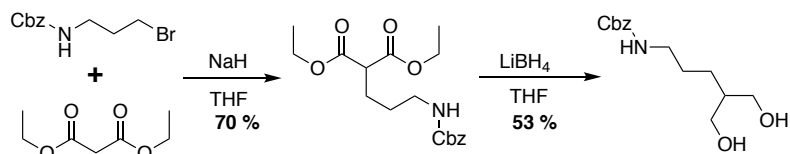


Schéma 45 : Synthèse du 2-(N-Cbz-aminopropyle)-1,3-propanediol.

Après transformation des fonctions alcool en groupe partant sous l'action du chlorure de mésyle, le diol activé a été mis au contact de la diéthylènetriamine protégée par deux Boc (**25**) dans l'acétonitrile en présence de carbonate de potassium.

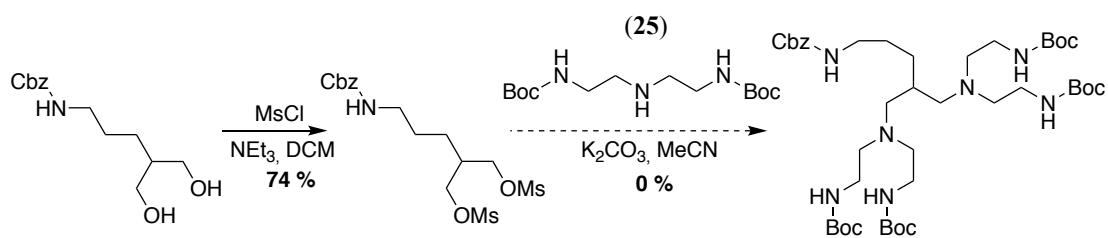


Schéma 46 : Tentative de synthèse de HA-2,3B(Boc, Cbz).

Malgré un chauffage à reflux pendant 3 jours, aucun produit de couplage n'a été observé. Nous avons donc choisi d'utiliser le triflate comme agent d'activation puisqu'il est un meilleur groupe partant que le mésylate (Schéma 47).

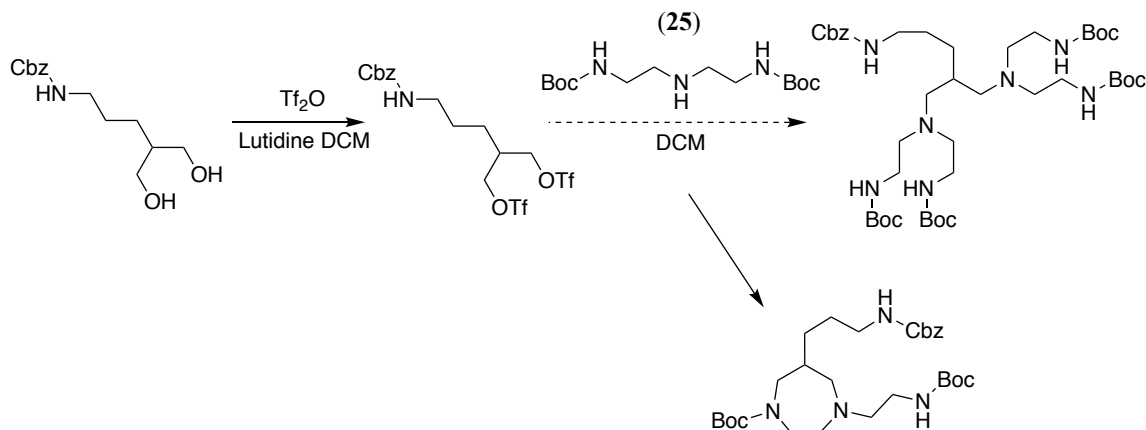


Schéma 47 : Tentative de synthèse de HA-2,3B-(Boc, Cbz).

La réaction a été réalisée en « one pot ». Dès que les triflates sont formés, sous l'action d'anhydride triflique, ils ont été mis au contact de la triamine Boc (**25**). Une réaction a eu lieu mais le produit formé résultait d'une cyclisation intramoléculaire. En effet, dès qu'un triflate a réagi avec l'amine centrale de la triamine, l'autre triflate a réagi sur une amine terminale protégée, pour former majoritairement un diazamacrocycle. Aucune trace du produit désiré n'a

été observé. La voie de synthèse utilisant le malonate comme précurseur synthétique a donc été abandonnée.

Acide 3-bromo-2-(bromométhyl)propionique

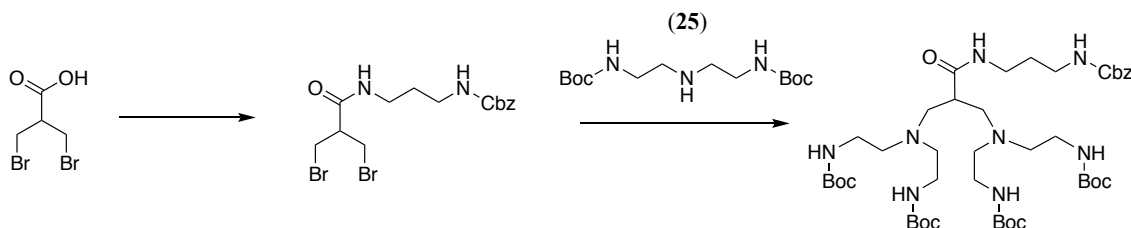


Schéma 48 : Plan de synthèse de HA-2,3B envisagé à partir de l'acide 3-bromo-(2-bromométhyl)propionique.

À l'image de la synthèse de HA-2,3, nous avons envisagé d'utiliser un dérivé dihalogéné, la fonction acide carboxylique additionnelle permettant alors le greffage par couplage peptidique. Nous avons choisi comme précurseur l'acide 3-bromo-(2-bromométhyl)propionique. L'acide carboxylique doit réagir en premier car dans les conditions basiques utilisées pour la substitution nucléophile, l'acide est sous sa forme carboxylate et conduirait à la formation d'un polymère par couplage intermoléculaire. Nous avons donc synthétisé au préalable une chaîne diamine mono protégée par un Cbz pour la faire réagir sur notre précurseur dihalogéné (Schéma 49).

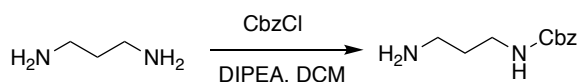


Schéma 49 : Synthèse du diaminopropane monoprotégée par un Cbz.

La diamine monoprotégée a été mis avec contact du chlorure d'acide préalablement formé, pour donner l'amide correspondant (Schéma 50).

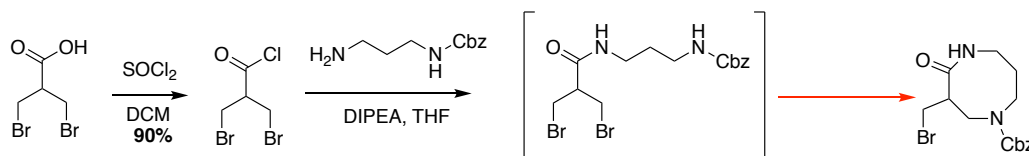


Schéma 50 : Greffage du bras d'ancrage sur l'acide 3-bromo-(2-bromométhyl)propionique.

L'amide a bien été formé mais il subit une réaction de cyclisation intramolécule pour former un diazamacrocycle, malgré la faible réactivité de l'azote du carbamate. Cet échec et cette réactivité inattendue nous ont contraint à modifier le schéma réactionnel et nous avons

alors décidé de protéger la fonction acide carboxylique sous la forme d'ester méthylique (Schéma 51).

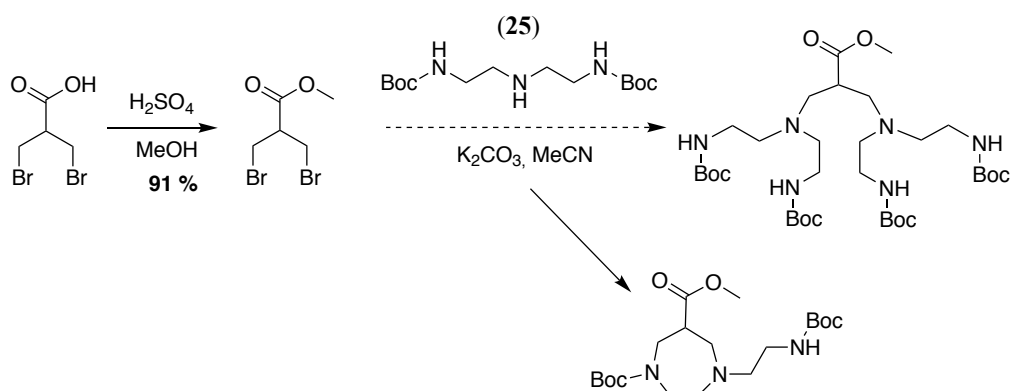


Schéma 51 : Tentative de synthèse de HA-2,3B-(Boc).

Une fois de plus, la réactivité du précurseur dibromé a conduit à une réaction de cyclisation non désirée. Après la première substitution nucléophile entre l'ester et une diéthylentriamineBoc (25), l'atome de carbone qui porte le brome subit l'attaque nucléophile de l'atome d'azote terminal du carbamate pour donner une espèce cyclique comme produit majoritaire. Afin d'éviter cette réaction parasite, nous avons envisagé de synthétiser de nouveaux bras amines protégés dont les atomes d'azote terminaux ne porteraient aucun hydrogène, évitant ainsi une substitution nucléophile intramoléculaire (Schéma 52).

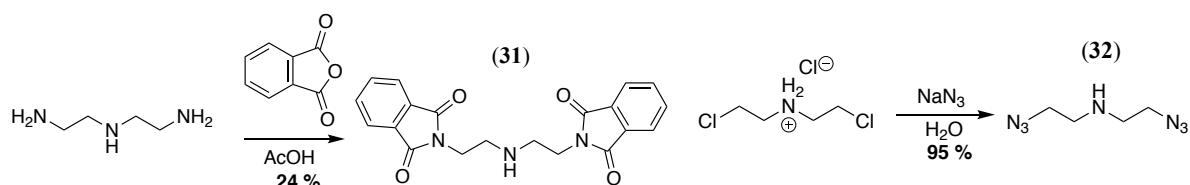


Schéma 52 : Synthèses du 2-phthalate-*N*-(2-phthalatéthyl)éthanamine (31) et 2-azido-*N*-(2-azidoéthyl)éthanamine (32).

La protection des amines par des phthalimides nous sembla être une approche intéressante car ils peuvent être éliminés en fin de synthèse en milieu acide ou avec de l'hydrazine. Le dérivé diazoture 2-azido-*N*-(2-azidoéthyl) éthanamine est également intéressant car les amines masquées par les azotures peuvent être générées par hydrogénation sur Pd/C. Ces deux chaînes amine ont été mise au contact de l'ester dibromé dans les mêmes conditions pour donner le même résultat (Schéma 53).

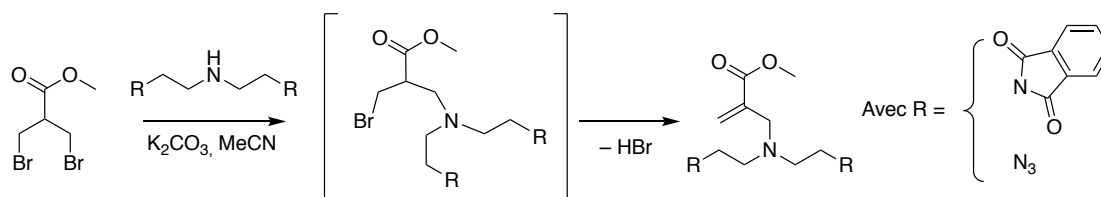


Schéma 53 : Tentative de synthèse de HA-2,3B.

Après la première substitution nucléophile, le dérivé monobromé intermédiaire s'est déprotoné au niveau de l'atome de carbone porteur de la fonction ester ce qui conduisit à la formation quantitative d'une fonction acrylate. L'utilisation d'une base plus forte telle que le *n*-BuLi pour essayer de faire réagir la deuxième chaîne amine avec l'alcène n'a donné aucun résultat.

Face à ces échecs pour synthétiser l'hexaamine HA-2,3B par la « voie triamine », nous avons envisagé de la synthétiser par la « voie aziridine ». Le plan de synthèse envisagé est décrit sur le Schéma 54. La première étape consista à substituer les atomes de brome par des fonctions azoture, puis à introduire la chaîne d'ancrage sur la fonction acide carboxylique.

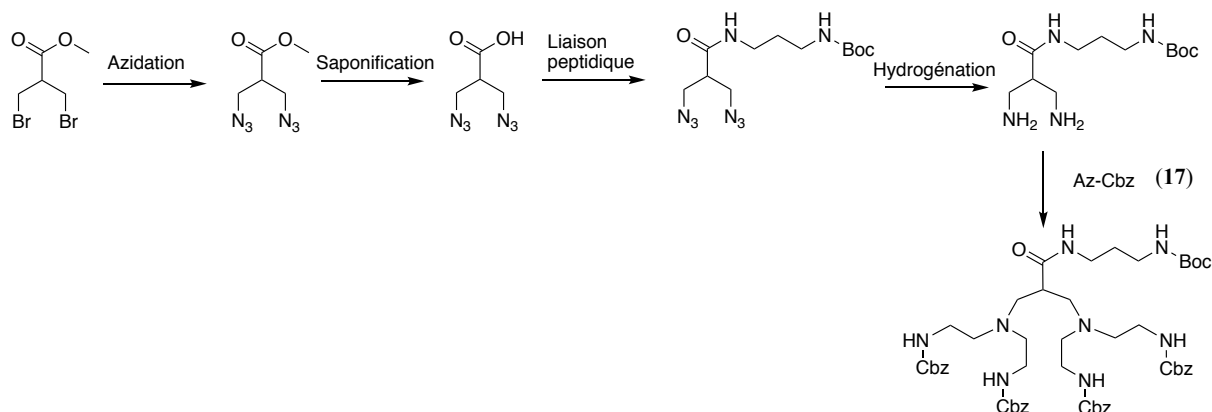


Schéma 54 : Plan de synthèse de HA-2,3B avec l'acide 3-bromo-(2-bromométhyl)propionique et l'Az-Cbz.

L'utilisation de l'Az-Ts n'est pas envisageable car les conditions de déprotection des tosyles sont trop drastiques et conduiraient à l'hydrolyse de la fonction amide. Nous avons donc utilisé l'aziridine protégé par un groupe Cbz, ce dernier étant déprotégé par hydrolyse. Le bras d'ancrage a été monoprotégé par un Boc afin de pouvoir l'éliminer dans des conditions différentes (TFA) de celles employées pour les groupes protecteurs Cbz.

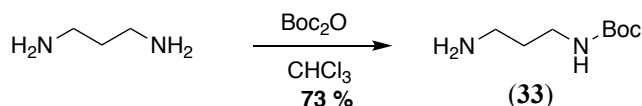


Schéma 55 : Synthèse du diaminopropane monoprotégé par un Boc (33).

Nous sommes parvenus avec difficulté à la dernière étape de cette synthèse du HA-2,3B, en observant presque à chaque étape la dégradation partielle des composés obtenus et/ou des rendements anormalement faibles. Ces mauvais résultats ont été attribués aux réarrangements possibles en alcène comme observé précédemment. Nous avons repris le même schéma de synthèse mais en mettant en jeu un précurseur de départ plus stable et susceptible de ne pas subir de réarrangement conduisant à des composés indésirables.

Acide 3-hydroxy-(2-hydroxyméthyle)-2-méthylpropionique

Le précurseur choisi est présenté à la Figure 131. Le groupe méthyle présent sur l'atome de carbone central est un atout majeur par rapport au dérivé dibromé mis en jeu précédemment, car la quaternisation empêche la déprotonation et la formation d'une fonction alcène. Le dérivé dibromé de cette molécule n'étant pas commercial, l'activation des deux fonctions alcool est nécessaire.

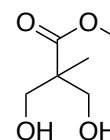


Figure 131 : Acide 3-hydroxy-(2-hydroxyméthyle)-2-méthylpropionique.

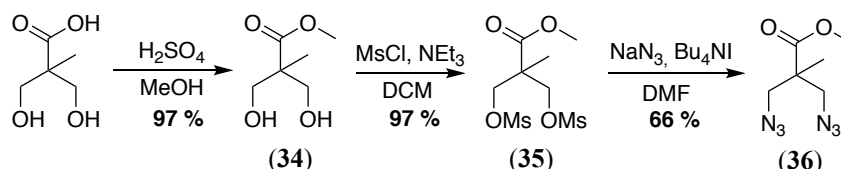


Schéma 56 : Synthèse du diazoture (36).

Comme précédemment, la première réaction consiste à estérifier par un groupement méthyle la fonction acide carboxylique. Les fonctions alcool du diol (34) sont activées en groupes partants sous l'action de chlorure de mésyle en conditions basiques dans le DCM. Le diazoture (36) est alors formé à partir du dimésylate (35) en présence d'azoture de sodium et d'iodure de tétra-*n*-butylammonium en quantité catalytique. Ce dernier sert à remplacer in situ les mésylates par des iodures, meilleurs groupes partants, afin de favoriser la substitution nucléophile. Les azotures ne sont pas réduits à ce stade en amine. Il est en effet impératif d'introduire dans un premier temps le bras d'ancrage par couplage peptidique (Schéma 57).

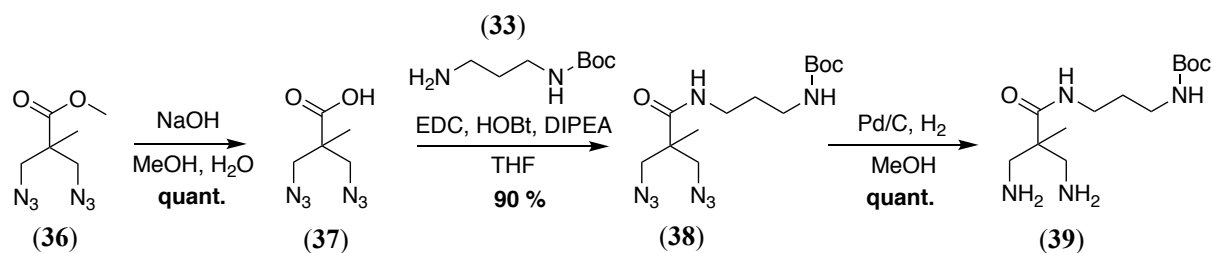


Schéma 57 : Synthèse de la diamine greffable (39).

Le diazoture ester (36) a été saponifié pour donner quantitativement l'acide carboxylique (37). La deuxième étape consista à effectuer le couplage peptidique en faisant réagir (37) avec l'amine primaire du diaminopropane monoprotégé (33). Les agents de couplage utilisés sont l'EDC et le HOBT en milieu basique dans le THF. Dans ces conditions, le rendement après purification fut de 90 %. Une fois le bras d'ancrage introduit, les azotures ont été réduits en amines par hydrogénation catalysée par le palladium sur charbon, pour obtenir quantitativement la diamine (39). Sous l'action de l'Az-Cbz (17), l'hexaamine branchée HA-2,3B (40) protégée par un Boc et quatre Cbz a été obtenue (Schéma 58).

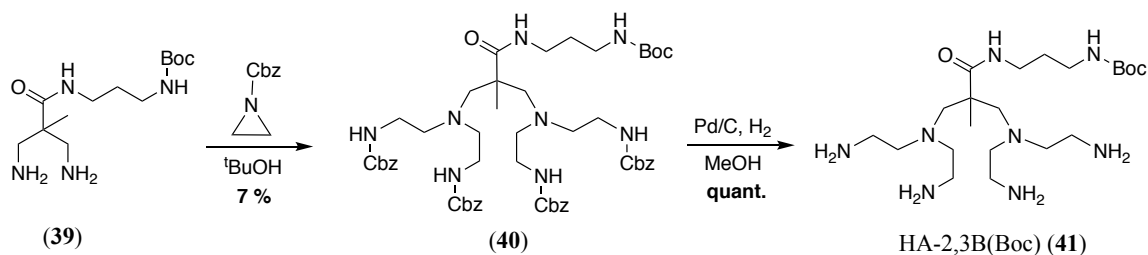


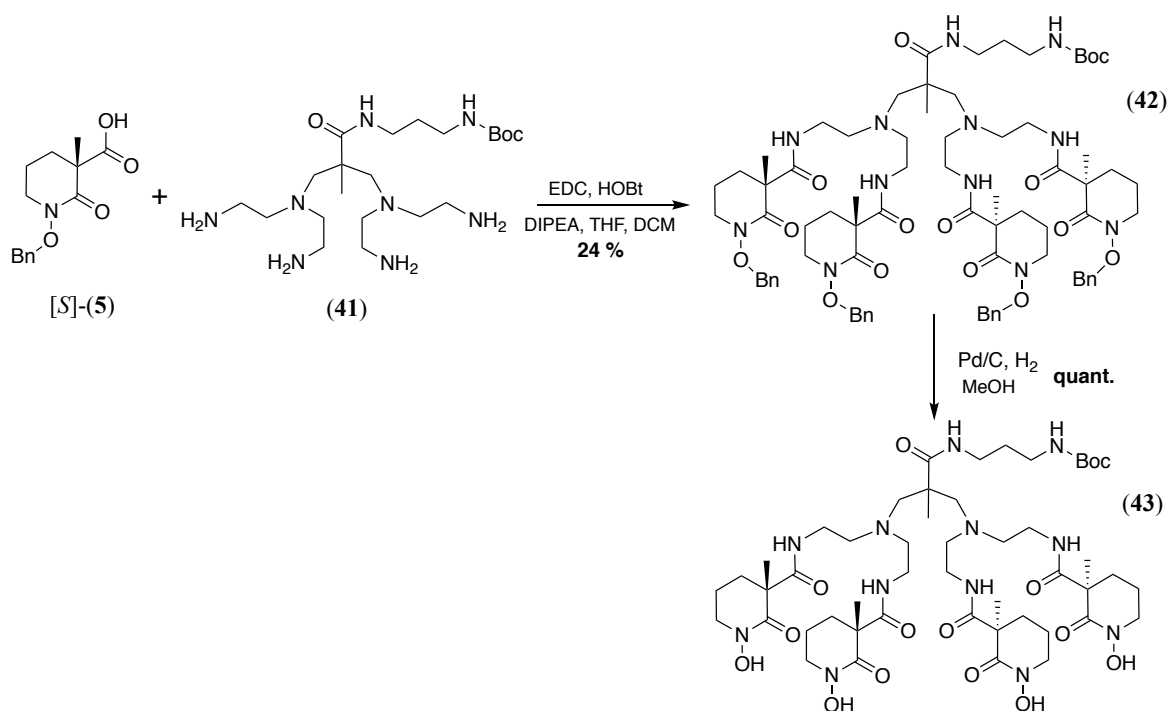
Schéma 58 : Synthèse de l'hexaamine greffable HA-2,3B(Boc) (41).

L'ouverture de l'aziridine et l'ancrage de chaînes éthylèneamine opère dans les mêmes conditions que celles décrites pour la synthèse de HA-2,2, à savoir dans le *tert*-butanol à 50 °C. Ces conditions permettaient d'avoir une bonne conversion sur l'éthylènediamine (Schéma 33), mais le rendement ne fut que de 7 % au départ de la diamine (39). En effet, la conversion n'est pas totale et la majorité des molécules arrêtent de réagir après l'ajout de trois aziridines. L'hexaamine et la pentaamine majoritaire sont proches, ce qui rend la purification chromatographique compliquée. À ce jour, cette étape est fortement limitante pour préparer l'hexaamine HA-2,3B en quantité pondérale et devra être optimisée. Finalement, les groupements protecteurs Cbz de l'hexaamine (40) ont été retirés par hydrogénation catalysée par du palladium sur charbon, pour obtenir quantitativement le composé HA-2,3B(Boc) (41).

4.5.3 HA-2,3B-PIPO

Synthèse

La synthèse de HA-2,3B-PIPO a été effectuée dans les mêmes conditions que les deux ligands tétrahydroxamiques HA-2,2-PIPO (28) et HA-2,3-PIPO (30).



Le rendement de formation des quatre liaisons peptidiques est le même que celui observé pour HA-2,3-PIPO. Ce rendement assez faible peut s'expliquer par l'encombrement stérique important de la molécule. La conversion non complète rend la purification par chromatographie délicate.

Propriétés physico-chimiques

- Étude RMN 1H et ^{13}C

La molécule cible finale ainsi obtenue, elle a été caractérisée par spectroscopie RMN mono- et bidimensionnelle afin de valider sa pureté, son identité en attribuant chaque signal. En mettant à profit les données spectroscopiques déjà recueillies pour les précédents ligands

tétraPIPO, la majorité des signaux (C-2 à C-10) ont été clairement attribués (Figure 133). Pour l'attribution des signaux du bras d'ancrage (C-15 à C-17), le diagramme de corrélation 2D COSY nous a permis d'identifier la position de C-16 car ce signal est corrélé aux deux autres signaux. La levée de l'ambiguïté entre les signaux C-15 et C-17 a été possible par comparaison avec le spectre RMN du diaminopropane monoBoc avant greffage. Cette attribution a été confirmée par le diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HMBC qui révèle la proximité des atomes C-14 et C-15 (Figure 137). L'atome de carbone quaternaire C-14 (carboxyle d'un amide) résonne à 178,8 ppm, sa position a été déterminée par déduction puisque les signaux de C-2, C-8 et celui du Boc sont clairement identifiables. À ce stade, tous les signaux du spectre ^1H ont été attribués, hormis ceux situés à 2,5 et 2,95 ppm. L'observation du diagramme de corrélation 2D HSQC révèle que les deux signaux correspondent à deux atomes d'hydrogène portés par le même carbone. Le diagramme de corrélation 2D HMBC indique que les seuls voisins de cet atome de carbone sont C-10 et C-14 (carboxyle). Ces deux signaux ont donc été attribués sans ambiguïté aux protons portés par l'atome C-11. La diastéréotopie des protons H-11a et H-11b s'explique par leur environnement différent, comme l'illustre la projection Newman selon l'axe de la liaison C-11–C-12.

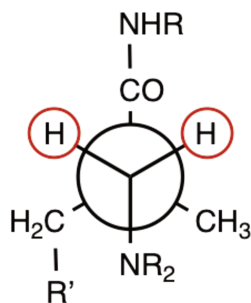


Figure 132 : Projection de Newman de HA-2,3B-PIPO (**43**) selon l'axe de la liaison C-11–C-12.

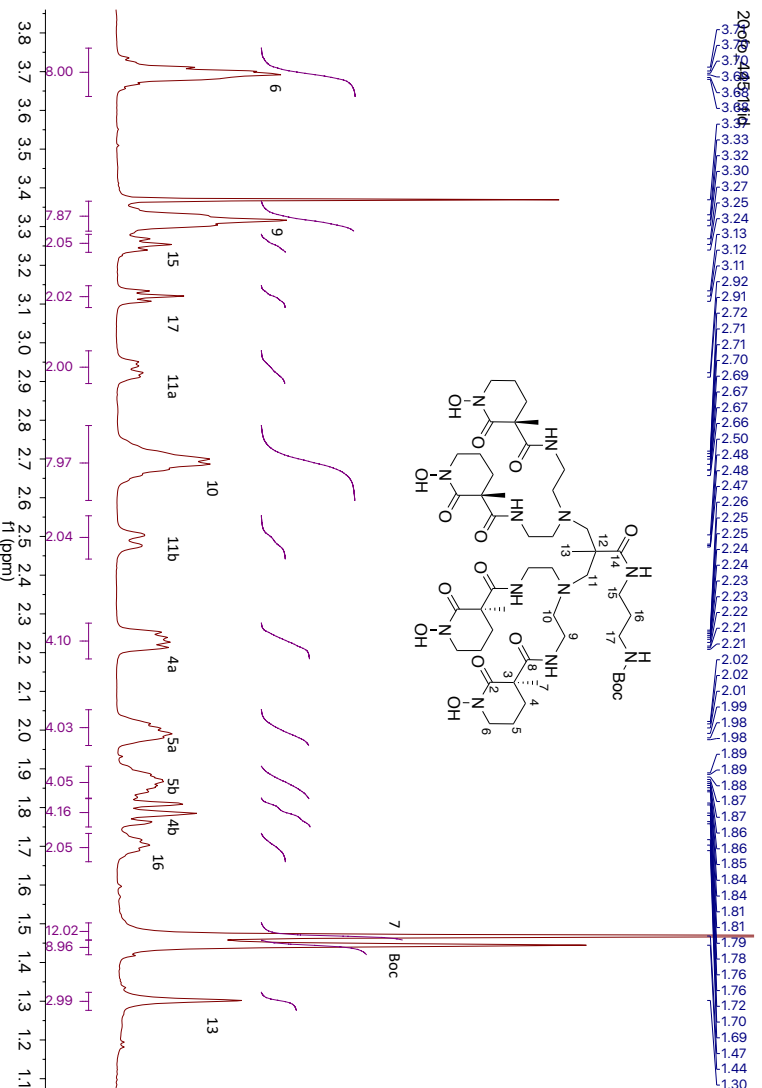


Figure 133 : Spectre RMN ^1H de HA-2,3B-PiPO (500 MHz, D_2O avec un insert de C_6D_6 en référence).

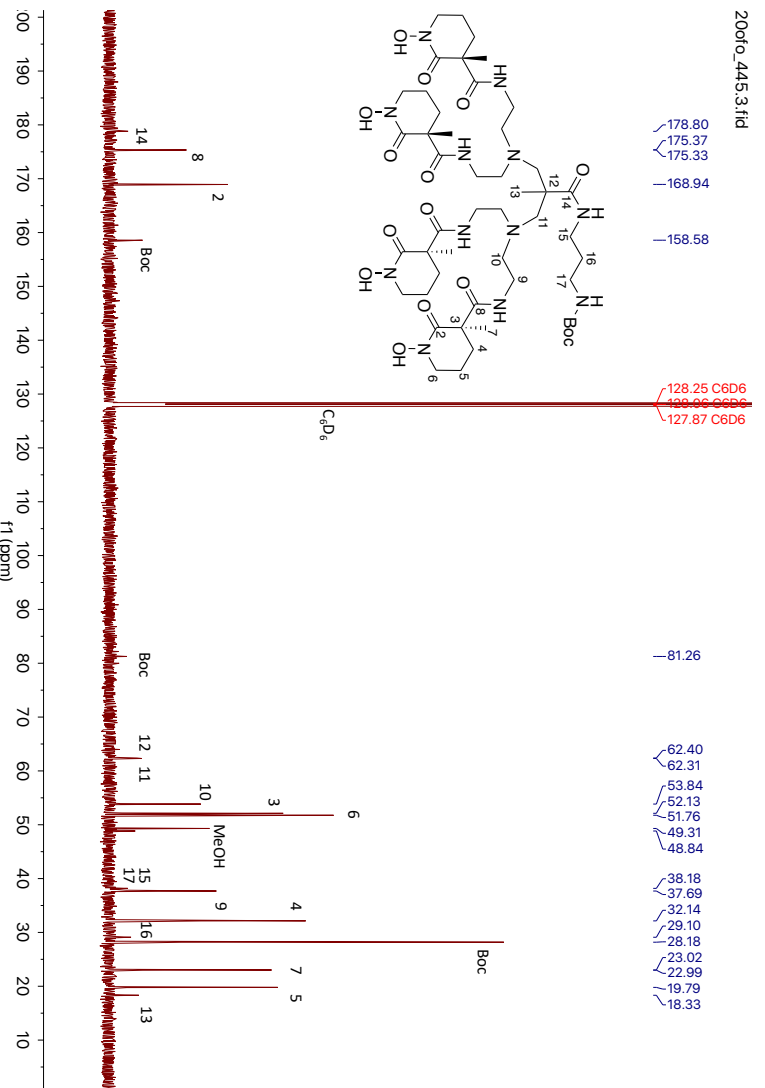


Figure 134 : Spectre RMN ^{13}C de HA-2,3B-PiPO (126 MHz, D_2O avec un insert de C_6D_6 en référence).

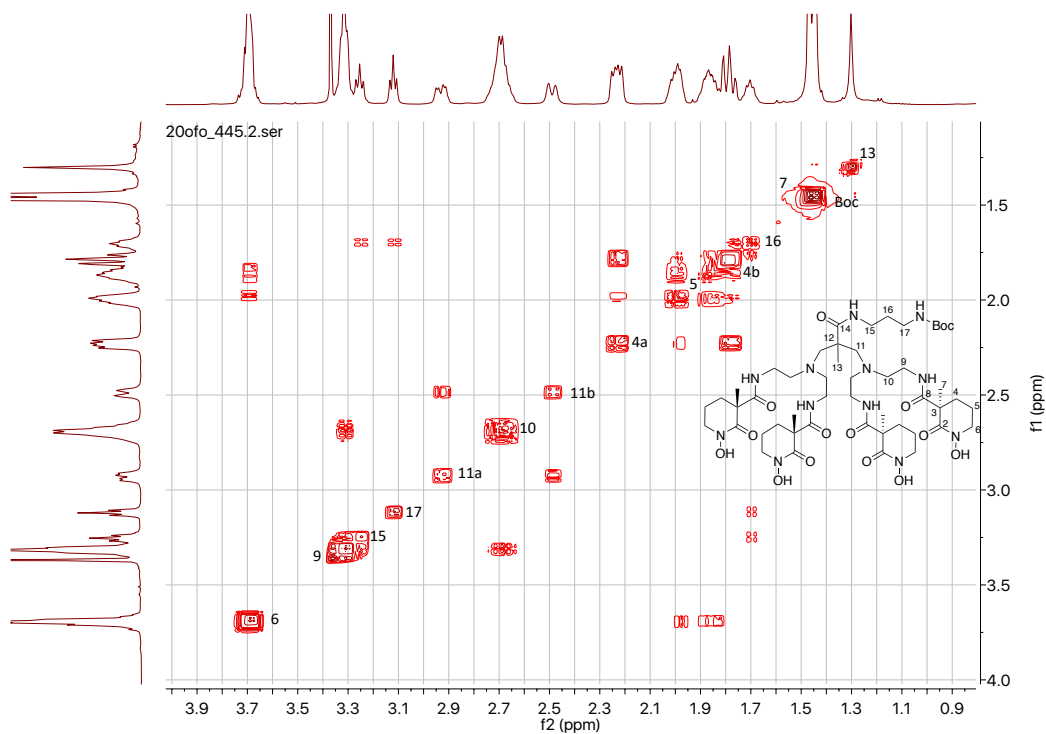


Figure 135 : Diagramme de corrélation ^1H - ^1H COSY de HA-2,3B-PIPO (500 MHz, D_2O avec insert C_6D_6).

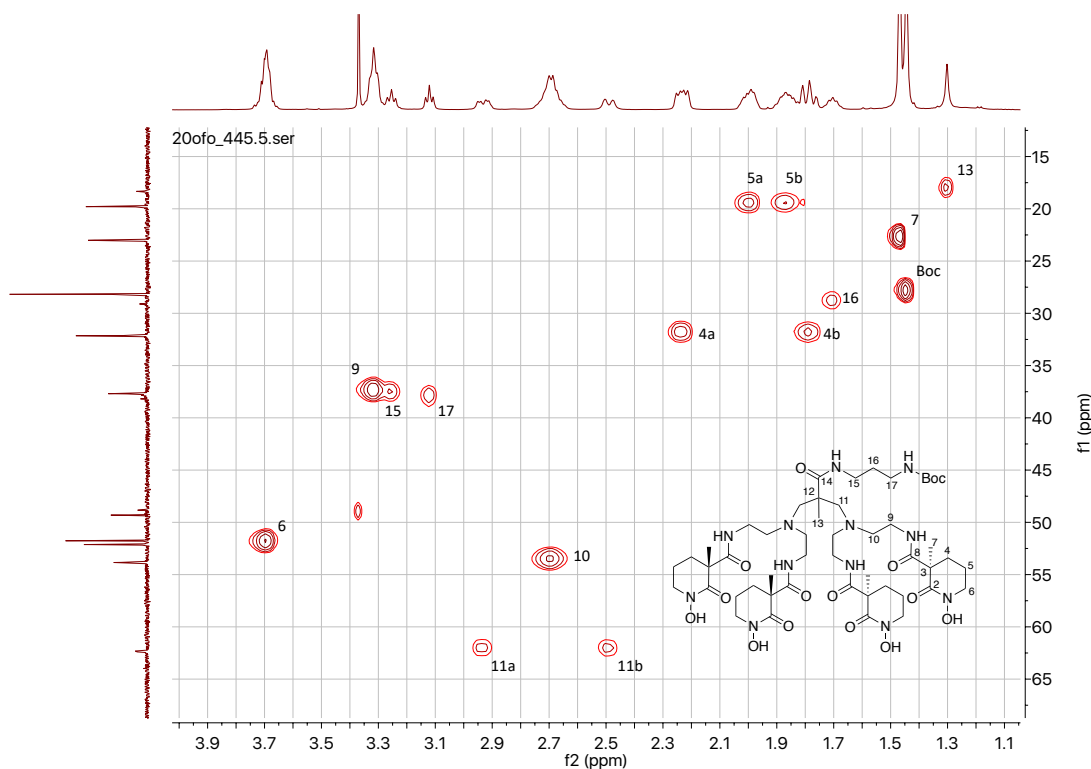


Figure 136 : Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HSQC de HA-2,3B-PIPO (500 et 126 MHz, D_2O avec insert C_6D_6).

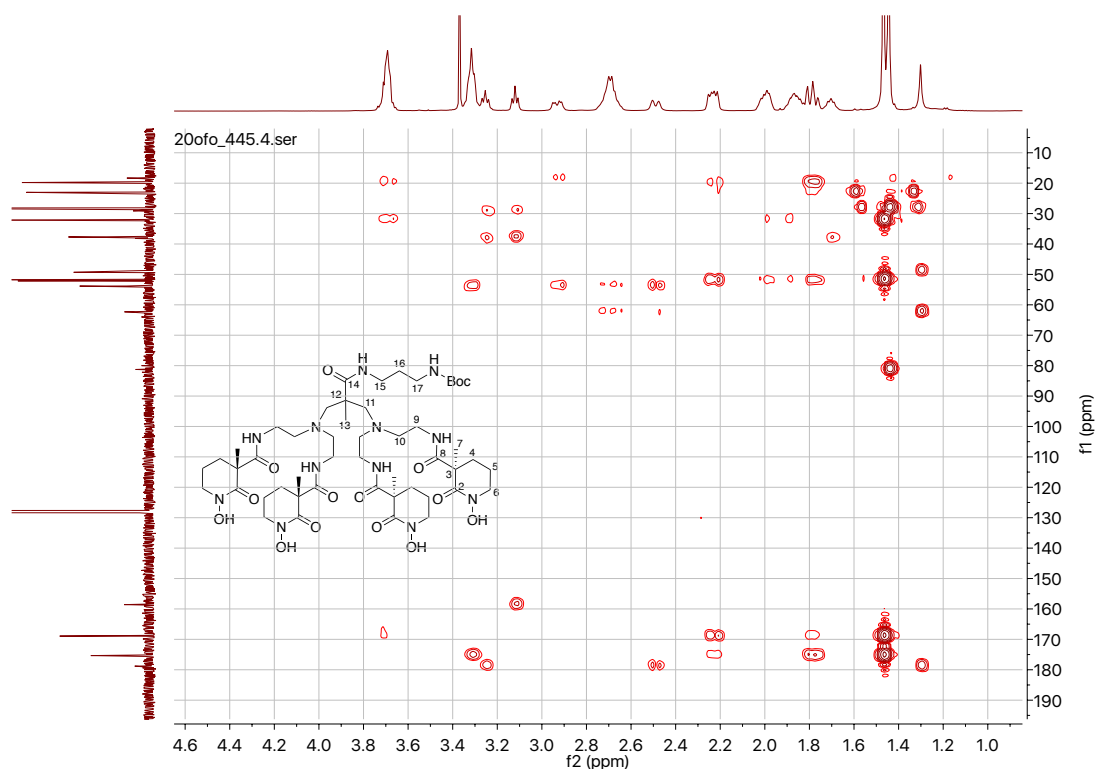


Figure 137 : Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HMBC de HA-2,3BPIPO (500 et 126 MHz, D_2O avec insert C_6D_6).

- Complexation

Le ligand libre HA-2,3B-PIPO a été analysé par spectrométrie de masse haute résolution en mode électrospray. Un pic à m/z 1103.6069 est observé, qui correspond à l'adduit $[\text{L}+\text{Na}]^+$. En effet, la valeur de m/z calculée pour le fragment $[\text{C}_{49}\text{H}_{84}\text{N}_{12}\text{O}_{15}\text{Na}]^+$ est égale à 1103.6071.

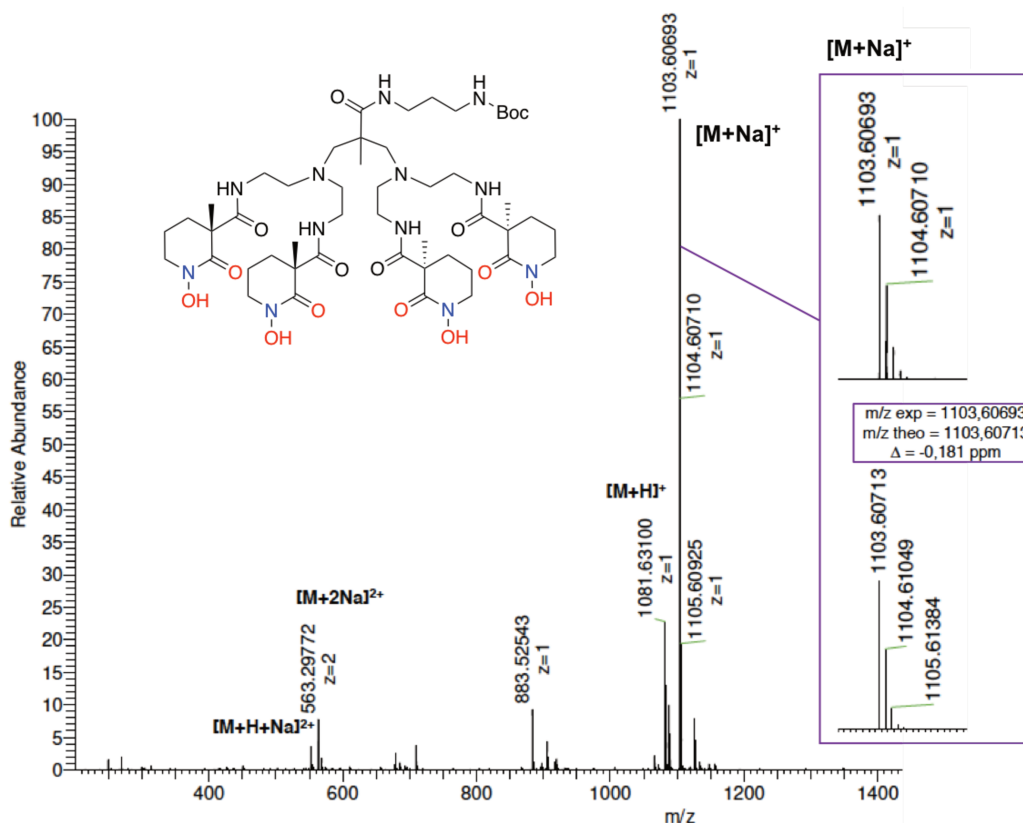


Figure 138 : Spectre de masse HR-ESI-MS de HA-2,3B-PIPO (MeOH).

Malheureusement, la complexation de ce ligand greffable n'a pu être réalisée. Dans le cadre de la poursuite du projet ANR Pluton, ce ligand sera synthétisé à plus grande échelle et ses propriétés de complexation seront étudiées ultérieurement pour l'élaboration de capteur DGT sélectif aux métaux tétravalents ou pour des applications en imagerie médicale. Un échantillon de ce ligand a été envoyé au Dr J.C.Chambon (Université de Strasbourg, UMR7177) et au Dr A.Ouadi (Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien de Strasbourg, UMR7178), partenaires du projet ZRpNET financé par le CNRS. Ils ont couplé le ligand à un anticorps monoclonal, le ramucirumab. Ce bioconjugué a été radiométallé par de l'oxalate de zirconium-89 en vue d'aquerir les premières images TEP de souris porteuse d'une tumeur neuroendocrine du pancréas. L'analyse des images est en cours.

Conclusion générale

Le but principal de mon sujet de thèse était est de développer une nouvelle méthode d'échantillonnage *in situ* de cation tétravalents tel que le plutonium. De par sa capacité de préconcentration et à sa praticité de mise en œuvre sur le terrain, c'est la technique de captation passive DGT qui fut choisie. Le fonctionnement de ces dispositifs repose sur leur cœur : le gel chélateur, constitué de ligands spécifiques à l'analyte ciblé, greffés sur une résine, elle-même emprisonnée dans un hydrogel. De là, se dessine les deux grands axes de ces travaux de thèse : d'une part développer une méthodologie de greffage de ligands sur résine et d'autre part, concevoir de nouveaux ligands octadentes de haute affinité vis-à-vis des actinides tétravalents.

Afin de mettre au point une méthode de greffage fiable de ligands sur résine, nous avons choisi la dans un premier temps la DFO. Cette molécule est un sidérophore, c'est-à-dire un ligand naturel de l'ion ferrique. La DFO est particulièrement intéressante car malgré le fait qu'elle ne porte que trois groupements chélateurs acide hydroxamique, elle possède une excellente affinité avec les actinides tétravalents (Th^{4+} et Pu^{4+}) ainsi qu'avec l'ion uranyle. De plus, elle possède une amine qui n'intervient pas dans le schéma de coordination de cations métalliques et constitue de ce fait le point d'ancrage de choix de la molécule.

Deux résines organiques commerciales ont été sélectionnées afin d'explorer deux voies de greffage différentes. La première résine, la CM Sephadex C25[®] est un polysaccharide carboxyméthylé. Le greffage a été réalisé par formation d'une liaison peptidique entre l'amine terminale de la DFO et une fonction acide carboxylique pendante de la résine. La réaction a lieu en milieu basique (DIPEA) sous l'action des agents de couplage EDC et HOBt. La seconde résine, la Purolite époxy[®] est un polyméthacrylate fonctionnalisé par des groupes époxy pendants. Le greffage a été effectué par l'ouverture des cycles époxy en milieu basique (DIPEA). Avant de produire ces deux résines modifiées à l'échelle de plusieurs dizaines de grammes, de nombreux tests à plus petite échelle ont été réalisés afin de trouver les conditions optimales de réaction. La caractérisation détaillée des résines modifiées a mis en œuvre l'analyse élémentaire C,H,N, la spectroscopie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) pour le dosage du fer piégé par la résine, la microscopie électronique à balayage (MEB), la spectroscopie infra-rouge, l'analyse thermogravimétrique (ATG), et la microscopie biphotonique. Des études de cinétique et de coordination du zirconium(IV), élément fantôme du plutonium(IV), ont été réalisées en partenariat avec le groupe du Pr. R.

Biesuz à l'université de Pavie. Les résultats suggèrent un comportement similaire de la DFO immobilisée et libre en solution vis-à-vis de la chélation de l'ion Zr^{4+} .

Les premiers dispositifs DGT issus de nos travaux ont été assemblés à partir de la résine Sephadex-DFO. En raison de la dangerosité et de l'accès très limité du plutonium, ces dispositifs DGT ont été validés pour la quantification de l'uranium(VI) au laboratoire, en utilisant des eaux minérales et de l'eau de mer synthétique dopées. Une campagne de terrain dans la rivière Œuf (affluent de l'Essonne) a permis de comparer les performances des DGT Sephadex-DFO à celles de dispositifs commerciaux préconisés pour l'uranyle. Les résultats sont très encourageants, bien meilleurs que ceux obtenus avec des dispositifs DGT équipés de résines peu sélectives Chelex[®] et MetsorbTM et équivalents à ceux obtenus par la résine commerciale Diphonix[®].

Afin de concevoir de nouveaux ligands spécifiques aux actinides tétravalents, cation oxophiles dures au sens de Pearson, nous nous sommes intéressés à la 1-hydroxypiperidine-2-one (PIPO), groupement chélateur responsable de l'efficacité de plusieurs sidérophores mixtes, tel que l'Exochelin MN. Le motif PIPO est un acide hydroxamique cyclique à 6 atomes préorganisé car bloqué en conformation *Z* ce qui accroît la stabilité des complexes. En effet, la majorité des acides hydroxamiques acycliques prédominent en solution aqueuse sous la forme *E*, impropre à la chélation, et nécessitent une rotation selon la liaison centrale C–N dont le surcoût énergétique est d'environ 5 kJ.mol⁻¹.

Dans ce contexte, il nous a paru intéressant de synthétiser des groupements PIPO avec des fonctions d'ancrage acide carboxylique, ainsi que des PIPO amides modèles, pour réaliser les premiers tests de chélation avec du zirconium.

Le bras d'ancrage du groupement PIPO introduit un centre de chiralité. Ainsi, un mélange statistique de diastéréoisomères est escompté pour tous ligand incorporant plusieurs motifs PIPO, synthétiser à partir du mélange racémique. Pour éviter ce problème, une séparation énantiomérique entre les formes *R* et *S* du groupement PIPO a été réalisée à l'aide d'une colonne d'amylose Chiralpak1A.

Afin de compléter la sphère de coordination d'un actinide tétravalent, typiquement huit fois coordonné, par un seul ligand celui-ci doit posséder 4 groupements bidentes comme l'acide hydroxamique. Avant de concevoir de nouveaux ligands tétrahydroxamiques nous avons commencé par synthétiser la DFO-PIPO en utilisant un nouveau chemin réactionnel,

augmentant ainsi le rendement et la répétabilité de cette hémisynthèse. A la manière de la DFO* et la DFO-HOPO, cette molécule est une DFO prolongée par un quatrième hydroxamate.

Le premier ligand à quatre sites PIPO synthétisé fut le 3,4,3 LI-PIPO, directement inspiré du ligand 3,4,3-LI-(1,2-HOPO) décrit par l'équipe de K. N. Raymond. Cette synthèse a permis de bien maîtriser le couplage simultané de quatre groupements PIPO sur une plateforme tétraazotée.

Dans un second temps, nous avons proposé la synthèse de plateformes azotées ramifiées de tailles différentes. Ces hexaamines (HA) ont été obtenues par deux chemins de synthèse différents.

À partir des plateformes hexaamines, les deux ligands tétrahydroxamique HA-2,2-PIPO et HA-2,3-PIPO ont été obtenus en ajoutant un groupement PIPO sur chaque amine terminale par création d'une liaison peptidique. Ces deux ligands forment des complexes de zirconium et de thorium de stœchiométrie 1 :1 selon les études par spectrométrie de masse en mode électrospray.

Les excellents résultats obtenus avec le ligand HA-2,3-PIPO, nous ont incité à développer la synthèse d'un analogue qui possède une chaîne sur l'atome de carbone centrale de l'hexaamine permettant l'immobilisation du chélateur à la surface d'un support solide ou sa bioconjugaison à un vecteur biologique. La synthèse de la plateforme hexaamine branché a donc été totalement repensée afin que la molécule possède un bras d'ancrage terminé par une amine protégée. A partir de cette plateforme branchée, isolée après de multiples tentatives infructueuse, le ligand final HA-2,3B-PIPO a été synthétisé.

En résumé, nous avons développé une méthodologie fiable de greffage de ligands sur résine afin d'assembler des dispositifs DGT innovants et nous avons conçu et synthétisé de nouveaux ligands tétrahydroxamiques destinés à la chélation de cations tétravalents, notamment des actinides. Les objectifs fixés pour ces travaux de thèse ont donc tous été atteints, pourtant le projet n'est pas terminé. Les travaux se poursuivront par la synthèse à plus grande échelle de HA-2,3-PIPO et de HA-2,3B-PIPO, afin de réaliser des études de coordination complètes. Fort de l'expérience avec la DFO, le ligand branché pourra être greffé sur une résine organique pour assembler de nouveaux dispositifs DGT ciblant le plutonium. Les applications de ces ligands tétraPIPO en imagerie médicale seront explorées en parallèle dans le cadre du projet ZRpNET (financé par le CNRS). En effet, HA-2,3B-PIPO est potentiellement un excellent ligand du zirconium et pourrait être utilisé pour l'imagerie TEP.

Bibliographie

- [1] W. J. Bair, R. C. Thompson, *Science* **1974**, *183*, 715-722.
- [2] J. C. Nenot, J. W. Stather, *The Toxicity of Plutonium, Americium and Curium*, Oxford, UK, **1979**.
- [3] R. G. Denning, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 4125-4143.
- [4] A. Barkleit, H. Foerstendorf, B. Li, A. Rossberg, H. Moll, G. Bernhard, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 9868-9876.
- [5] V. Neck, J. I. Kim, *Radiochim. Acta* **2001**, *89*, 1-16.
- [6] G. Seaborg, *The plutonium story*, Pergamon Press Ltd, **1981**.
- [7] A. E. Gorden, J. Xu, K. N. Raymond, P. Durbin, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4207-4282.
- [8] R. M. Boiteau, S. J. Fansler, Y. Farris, J. B. Shaw, D. W. Koppenaal, L. Pasa-Tolic, J. K. Jansson, *Metallomics* **2019**, *11*, 166-175.
- [9] W. L. Smith, K. N. Raymond, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1979**, *41*, 1431-1436.
- [10] W. L. Smith, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 3341-3349.
- [11] G. Anderegg, F. L'Eplattenier, G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta* **1963**, *46*, 1400-1408.
- [12] B. Borgias, A. D. Hugli, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **1989**, *28*, 3538-3545.
- [13] T. Kiss, E. Farkas, *J. Incl. Phenom. Mol. Recogn.* **1998**, *32*, 385-403.
- [14] H. Boukhalfa, S. D. Reilly, M. P. Neu, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 1018-1026.
- [15] I. Verel, G. W. Visser, R. Boellaard, M. Stigter-van Walsum, G. B. Snow, G. A. van Dongen, *J. Nucl. Med.* **2003**, *44*, 1271-1281.
- [16] J. P. Holland, V. Divilov, N. H. Bander, P. M. Smith-Jones, S. M. Larson, J. S. Lewis, *J. Nucl. Med.* **2010**, *51*, 1293-1300.
- [17] S. G. John, C. E. Ruggiero, L. E. Hersman, C.-S. Tung, M. P. Neu, *Environ. Sci. Technol.* **2001**, *35*, 2942-2948.
- [18] C. E. Ruggiero, J. H. Matonic, S. D. Reilly, M. P. Neu, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 3593-3595.
- [19] C. Xu, S. Zhang, D. I. Kaplan, Y. F. Ho, K. A. Schwehr, K. A. Roberts, H. Chen, N. DiDonato, M. Athon, P. G. Hatcher, P. H. Santschi, *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49*, 11458-11467.

- [20] S. Dhungana, M. J. Miller, L. Dong, C. Ratledge, A. L. Crumbliss, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7654-7663.
- [21] S. Brandès, A. Sornosa-Ten, Y. Rousselin, M. Lagrelette, C. Stern, A. Moncomble, J. P. Cornard, M. Meyer, *J. Inorg. Biochem.* **2015**, *151*, 164-175.
- [22] A. Sornosa-Ten, P. Jewula, T. Fodor, S. Brandès, V. Sladkov, Y. Rousselin, C. Stern, J.-C. Chambron, M. Meyer, *New J. Chem.* **2018**, *42*, 7765-7779.
- [23] R. Banerjee, S. B. King, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4580-4583.
- [24] P. Jewula, J.-C. Berthet, J.-C. Chambron, Y. Rousselin, P. Thuéry, M. Meyer, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015*, 1529-1541.
- [25] L. Panizzi, G. DiMaio, P. A. Tardella, L. d'Abbio, *Ricerca Sci.* **1961**, *1*, 312-318.
- [26] D. S. C. Black, R. F. C. Brown, A. M. Wade, *Tetrahedron Lett.* **1971**, *12*, 4519-4520.
- [27] S. Murahashi, T. Oda, T. Sugahara, Y. Masui, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1744-1749.
- [28] S. M. Neset, T. Benneche, K. Undheim, K. Hult, T. Norin, P. Coppens, O. Buchardt, *Acta Chem. Scand.* **1993**, *47*, 1141-1143.
- [29] J. C. Banks, C. J. Moody, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 3371-3373.
- [30] S. M. Yang, B. Lagu, L. J. Wilson, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8123-8126.
- [31] T. J. Donohoe, L. P. Fishlock, P. A. Procopiou, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 285-288.
- [32] L. Dong, M. J. Miller, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4759-4770.
- [33] J. Hu, M. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3462-3468.
- [34] Y. Liu, H. K. Jacobs, A. S. Gopalan, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 2206-2214.
- [35] W. R. Barker, C. Callaghan, L. Hill, D. Noble, P. Acred, P. B. Harper, M. A. Sowa, R. A. Fletton, *J. Antibiot.* **1979**, *32*, 1096-1103.
- [36] R. C. Scarrow, P. E. Riley, K. Abu-Dari, D. L. White, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **1985**, *24*, 954-967.
- [37] D. L. White, P. W. Durbin, N. Jeung, K. N. Raymond, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 11-18.
- [38] M. A. Santos, E. Rodrigues, M. Gaspar, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2000**, 4398-4402.
- [39] S. Heskamp, H. W. van Laarhoven, J. D. Molkenboer-Kuenen, G. M. Franssen, Y. M. Versleijen-Jonkers, W. J. Oyen, W. T. van der Graaf, O. C. Boerman, *J. Nucl. Med.* **2010**, *51*, 1565-1572.
- [40] I. V. J. Feiner, M. Brandt, J. Cowell, T. Demuth, D. Vugts, G. Gasser, T. L. Mindt, *Cancers* **2021**, *13*, 4466.

- [41] M. Patra, A. Bauman, C. Mari, C. A. Fischer, O. Blacque, D. Haussinger, G. Gasser, T. L. Mindt, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 11523-11525.
- [42] M. Briand, M. L. Aulsebrook, T. L. Mindt, G. Gasser, *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 16387-16389.
- [43] F. Guérard, Y. S. Lee, M. W. Brechbiel, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 5584-5591.
- [44] U. Seibold, B. Wangler, C. Wangler, *ChemMedChem* **2017**, *12*, 1555-1571.
- [45] C. J. Adams, J. J. Wilson, E. Boros, *Mol. Pharm.* **2017**, *14*, 2831-2842.
- [46] J. Rousseau, Z. Zhang, G. M. Dias, C. Zhang, N. Colpo, F. Benard, K. S. Lin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 708-712.
- [47] J. Rousseau, Z. Zhang, X. Wang, C. Zhang, J. Lau, E. Rousseau, M. Colovic, N. Hundal-Jabal, F. Benard, K. S. Lin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 899-905.
- [48] A. H. Alnahwi, S. Ait-Mohand, V. Dumulon-Perreault, Y. L. Dory, B. Guerin, *ACS Omega* **2020**, *5*, 10731-10739.
- [49] P. W. Durbin, N. Jeung, S. J. Rodgers, P. N. Turowski, F. L. Weitzl, D. L. White, K. N. Raymond, *Radiat. Prot. Dosim.* **1989**, *26*, 351-358.
- [50] J. Xu, B. Kullgren, P. W. Durbin, K. N. Raymond, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2606-2614.
- [51] D. W. Whisenhunt, M. P. Neu, Z. Hou, J. Xu, D. C. Hoffman, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 4128-4136.
- [52] M. A. Deri, S. Ponnala, P. Kozlowski, B. P. Burton-Pye, H. T. Cicek, C. Hu, J. S. Lewis, L. C. Francesconi, *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26*, 2579-2591.
- [53] N. Bhupathiraju, A. Younes, M. Cao, J. Ali, H. T. Cicek, K. M. Tully, S. Ponnala, J. W. Babich, M. A. Deri, J. S. Lewis, L. C. Francesconi, C. M. Drain, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 6866-6871.
- [54] L. J. Daumann, D. S. Tatum, B. E. Snyder, C. Ni, G. L. Law, E. I. Solomon, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 2816-2819.
- [55] G. J. P. Deblonde, T. D. Lohrey, D. D. An, R. J. Abergel, *New J. Chem.* **2018**, *42*, 7649-7658.
- [56] R. M. Pallares, K. P. Carter, S. E. Zeltmann, T. Tratnjek, A. M. Minor, R. J. Abergel, *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 2030-2036.
- [57] G. J. Deblonde, M. Sturzbecher-Hoehne, P. B. Rupert, D. D. An, M. C. Illy, C. Y. Ralston, J. Brabec, W. A. de Jong, R. K. Strong, R. J. Abergel, *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 843-849.
- [58] G. J. Deblonde, T. D. Lohrey, C. H. Booth, K. P. Carter, B. F. Parker, A. Larsen, R. Smeets, O. B. Ryan, A. S. Cuthbertson, R. J. Abergel, *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 14337-14346.

- [59] M. P. Kelley, G. J. Deblonde, J. Su, C. H. Booth, R. J. Abergel, E. R. Batista, P. Yang, *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 5352-5363.
- [60] B. Sadhu, V. Mishra, *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 16603-16615.
- [61] A. D'Aléo, E. G. Moore, J. Xu, L. J. Daumann, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 6807-6820.
- [62] P. Jewula, J.-C. Chambron, M.-J. Penouilh, Y. Rousselin, M. Meyer, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 22743-22754.
- [63] R. Raave, G. Sandker, P. Adumeau, C. B. Jacobsen, F. Mangin, M. Meyer, M. Moreau, C. Bernhard, L. Da Costa, A. Dubois, V. Goncalves, M. Gustafsson, M. Rijpkema, O. Boerman, J.-C. Chambron, S. Heskamp, F. Denat, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 1966-1977.
- [64] N. Hynes, D. Stren, *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, *1198*, 165-184.
- [65] D. J. Slamon, G. M. Clark, S. G. Wong, W. J. Levin, A. Ullrich, W. L. McGuire, *Science* **1987**, *235*, 177-182.
- [66] L. R. Perk, M. J. Vosjan, G. W. Visser, M. Budde, P. Jurek, G. E. Kiefer, G. A. van Dongen, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2010**, *37*, 250-259.
- [67] J. R. Dilworth, S. I. Pascu, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 2554-2571.
- [68] W. Cheung, M. Patel, Y. Ma, Y. Chen, Q. Xie, J. V. Lockard, Y. Gao, H. He, *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 5192-5199.
- [69] Z. Liu, T. M. Lin, M. Purro, M. P. Xiong, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 25788-25797.
- [70] E. G. Roy, C. Jiang, M. L. Wells, C. Tripp, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 4689-4695.
- [71] G. Alberti, G. Emma, R. Colleoni, M. Pesavento, V. M. Nurchi, R. Biesuz, *Analyst* **2014**, *139*, 3940-3948.
- [72] R. Biesuz, G. Emma, C. Milanese, G. Dacarro, A. Taglietti, V. M. Nurchi, G. Alberti, *Analyst* **2014**, *139*, 3932-3939.
- [73] B. L. Su, N. Moniotte, N. Nivarlet, L. H. Chen, Z. Y. Fu, J. Desmet, J. Li, *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *358*, 136-145.
- [74] P. Tansupo, C. Worakarn, C. Saksit, C. Ruangviriyachai, *J. Environ. Sci.* **2009**, *21*, 1009-1016.
- [75] Y. Takagai, H. Yamaguchi, T. Kubota, S. Igarashi, *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 136-137.
- [76] G. Alberti, F. Quattrini, R. Colleoni, V. M. Nurchi, R. Biesuz, *Chem. Pap.* **2015**, *69*, 1024-1032.
- [77] P. Tyagi, A. Kumar, D. Gupta, H. Singh, *AAPS PharmSciTech* **2017**, *18*, 156-165.

- [78] Z. Yehuda, Y. Hadar, Y. Chen, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5996-6005.
- [79] Y. Takagai, A. Takahashi, H. Yamaguchi, T. Kubota, S. Igarashi, *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, *313*, 359-362.
- [80] N. A. A. Rossi, Y. Zou, M. D. Scott, J. N. Kizhakkedathu, *Macromolecules* **2008**, *41*, 5272-5282.
- [81] Y. Takagai, M. Abe, C. Oonuma, M. Butsugan, W. Kerlin, K. Czerwinski, R. Sudowe, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2019**, *58*, 17928-17936.
- [82] W. Davison, H. Zhang, *Nature* **1994**, *367*, 546-548.
- [83] H. Zhang, W. Davison, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3391-3400.
- [84] H. Zhang, W. Davison, S. Miller, W. Tych, *Geochim. Cosmochim. Acta* **1995**, *59*, 4181-4192.
- [85] H. Zhang, W. Davison, B. Knight, S. McGrath, *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 704-710.
- [86] R. Buzier, M.-H. Tusseau-Vuillemin, M. Keirsbulck, J.-M. Mouchel, *Phys. Chem. Earth.* **2011**, *36*, 500-505.
- [87] W. Davison, H. Zhang, *Environ. Chem.* **2012**, *9*, 1-13.
- [88] H. Zhang, W. Davison, R. Gadi, T. Kobayashi, *Anal. Chim. Acta* **1998**, *370*, 29-38.
- [89] S. Scally, W. Davison, H. Zhang, *Anal. Chim. Acta* **2006**, *558*, 222-229.
- [90] K. W. Warnken, H. Zhang, W. Davison, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 3780-3787.
- [91] E. Uher, M. H. Tusseau-Vuillemin, C. Gourlay-France, *Environ. Sci. Process. Impact* **2013**, *15*, 1351-1358.
- [92] J. Webb, M. Keough, *Sci. Total Environ.* **2002**, *298*, 207-217.
- [93] Y. M. Nelson, L. W. Lion, M. L. Shuler, W. C. Ghiorse, *Limnol. Oceanogr.* **1999**, *44*, 1715-1729.
- [94] D. Devillers, R. Buzier, M. Grybos, A. Charriau, G. Guibaud, *Environ. Pollut.* **2017**, *230*, 523-529.
- [95] C. Pichette, H. Zhang, S. Sauvé, *Aquaculture* **2009**, *286*, 198-202.
- [96] E. Uher, H. Zhang, S. Santos, M. H. Tusseau-Vuillemin, C. Gourlay-France, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 3111-3118.
- [97] K. W. Warnken, H. Zhang, W. Davison, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 5440-5446.
- [98] J. Puy, J. Galceran, S. Cruz-Gonzalez, C. A. David, R. Uribe, C. Lin, H. Zhang, W. Davison, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 7740-7748.

- [99] N. Fatin-Rouge, A. Milon, J. Buffle, R. R. Goulet, A. Tessier, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 12126-12137.
- [100] L. P. Yezek, H. P. van Leeuwen, *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *278*, 243-250.
- [101] M. Jimenez-Piedrahita, A. Altier, J. Cecilia, J. Puy, J. Galceran, C. Rey-Castro, H. Zhang, W. Davison, *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 6567-6574.
- [102] I. J. Allan, B. Vrana, R. Greenwood, G. A. Mills, B. Roig, C. Gonzalez, *Talanta* **2006**, *69*, 302-322.
- [103] I. J. Allan, J. Knutsson, N. Guigues, G. A. Mills, A. M. Fouillac, R. Greenwood, *J. Environ. Monit.* **2008**, *10*, 821-829.
- [104] H. Zhang, W. Davison, *Environ. Chem.* **2015**, *12*, 85-101.
- [105] K. J. Kramer, R. G. Jak, B. van Hattum, R. N. Hooftman, J. J. Zwolsman, *Environ. Toxicol. Chem.* **2004**, *23*, 2971-2980.
- [106] J. A. Webb, M. J. Keough, *Mar. Pollut. Bull.* **2002**, *44*, 222-229.
- [107] M. H. Tusseau-Vuillemin, R. Gilbin, E. Bakkaus, J. Garric, *Environ. Toxicol. Chem.* **2004**, *23*, 2154-2161.
- [108] Z. Wang, P. Zhao, C. Yan, V. D. Chris, Y. Yan, Q. Chi, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, *21*, 4502-4515.
- [109] J. Sondergaard, L. Bach, K. Gustavson, *Mar. Pollut. Bull.* **2014**, *78*, 102-109.
- [110] R. Buzier, A. Charriau, D. Corona, J. F. Lenain, P. Fondaneche, E. Joussein, G. Poulhier, S. Lissalde, N. Mazzella, G. Guibaud, *Environ. Pollut.* **2014**, *192*, 52-58.
- [111] P. Divis, H. Docekalova, L. Brulik, M. Pavlis, P. Hekera, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *387*, 2239-2244.
- [112] Y. Gao, L. Lesven, D. Gillan, K. Sabbe, G. Billon, S. De Galan, M. Elskens, W. Baeyens, M. Leermakers, *Mar. Chem.* **2009**, *117*, 88-96.
- [113] M. Leermakers, V. Phrommavanh, J. Drozdak, Y. Gao, J. Nos, M. Descostes, *Chemosphere* **2016**, *155*, 142-151.
- [114] Z. Wu, M. He, C. Lin, *Environ. Pollut.* **2011**, *159*, 1123-1128.
- [115] W. W. Bennett, P. R. Teasdale, J. G. Panther, D. T. Welsh, D. F. Jolley, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 7401-7407.
- [116] J. G. Panther, P. R. Teasdale, W. W. Bennett, D. T. Welsh, H. Zhao, *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 9419-9424.
- [117] J. G. Panther, R. R. Stewart, P. R. Teasdale, W. W. Bennett, D. T. Welsh, H. Zhao, *Talanta* **2013**, *105*, 80-86.
- [118] H. L. Price, P. R. Teasdale, D. F. Jolley, *Anal. Chim. Acta* **2013**, *803*, 56-65.

- [119] S. Ding, D. Xu, Q. Sun, H. Yin, C. Zhang, *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 8169-8174.
- [120] S. Ding, F. Jia, D. Xu, Q. Sun, L. Zhang, C. Fan, C. Zhang, *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45*, 9680-9686.
- [121] D. X. Guan, P. N. Williams, J. Luo, J. L. Zheng, H. C. Xu, C. Cai, L. Q. Ma, *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49*, 3653-3661.
- [122] Q. Sun, J. Chen, H. Zhang, S. Ding, Z. Li, P. N. Williams, H. Cheng, C. Han, L. Wu, C. Zhang, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 3060-3067.
- [123] H. Osterlund, S. Chlot, M. Faarinen, A. Widerlund, I. Rodushkin, J. Ingri, D. C. Baxter, *Anal. Chim. Acta* **2010**, *682*, 59-65.
- [124] J. G. Panther, W. W. Bennett, D. T. Welsh, P. R. Teasdale, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 427-434.
- [125] M. Arsic, P. R. Teasdale, D. T. Welsh, S. G. Johnston, E. D. Burton, K. Hockmann, W. W. Bennett, *Environ. Sci. Technol.* **2018**, *52*, 1118-1127.
- [126] A. Widerlund, W. Davison, *Environ. Sci. Technol.* **2007**, *41*, 8044-8049.
- [127] C. Fernández-Gómez, J. M. Bayona, S. Díez, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **2011**, *92*, 1689-1698.
- [128] J. Drozdak, M. Leermakers, Y. Gao, V. Phrommavanh, M. Descostes, *Anal. Chim. Acta* **2015**, *889*, 71-81.
- [129] G. S. Turner, G. A. Mills, P. R. Teasdale, J. L. Burnett, S. Amos, G. R. Fones, *Anal. Chim. Acta* **2012**, *739*, 37-46.
- [130] R. Cusnir, P. Steinmann, F. Bochud, P. Froidevaux, *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 10829-10834.
- [131] J. D. Chaplin, P. E. Warwick, A. B. Cundy, F. Bochud, P. Froidevaux, *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 11937-11945.
- [132] V. B. Damodaran, C. J. Fee, T. Ruckh, K. C. Popat, *Langmuir* **2010**, *26*, 7299-7306.
- [133] V. B. Damodaran, C. J. Fee, K. C. Popat, *Surf. Interface Anal.* **2012**, *44*, 144-149.
- [134] A. M. Albrecht-Gary, T. Palanché-Passeron, N. Rochel, C. Hennard, M. A. Abdallah, *New J. Chem.* **1995**, *19*, 105-113.
- [135] B. Monzyk, A. L. Crumbliss, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4921-4929.
- [136] H. Siebner-Freibach, S. Yariv, Y. Lapidés, Y. Hadar, Y. Chen, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 3434-3443.
- [137] T. Ohnuki, T. Yoshida, *Chem. Lett.* **2012**, *41*, 98-100.
- [138] G. Tireso, Z. Garda, F. K. Kalman, Z. Baranyai, I. Pócsi, G. Balla, I. Toth, *J. Med. Chem.* **2013**, *127*, 53-61.

- [139] S. Dhungana, P. S. White, A. L. Crumbliss, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2001**, *6*, 810-818.
- [140] G. Nikolic, S. Zlatkovic, M. Cakic, S. Cakic, C. Lacnjevac, Z. Rajic, *Sensors* **2010**, *10*, 684-696.
- [141] N. Cennamo, G. Alberti, M. Pesavento, G. D'Agostino, F. Quattrini, R. Biesuz, L. Zeni, *Sensors* **2014**, *14*, 4657-4671.
- [142] R. Biesuz, M. A. Santos, V. M. Nurchi, G. Alberti, *New J. Chem.* **2018**, *42*, 15237-15244.
- [143] Y. Merle, J. A. Marinsky, *Talanta* **1984**, *31*, 199-204.
- [144] M. Pesavento, R. Biesuz, *Anal. Chem.* **2002**, *67*, 3558-3563.
- [145] F. Helfferich, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3237-3242.
- [146] A. Ringbom, E. Still, *Anal. Chim. Acta* **1972**, *59*, 143-146.
- [147] G. Alberti, V. Amendola, M. Pesavento, R. Biesuz, *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 28-45.
- [148] Y. Toporivska, E. Gumienna-Kontecka, *J. Inorg. Biochem.* **2019**, *198*, 110753.
- [149] M. A. French, H. Zhang, J. M. Pates, S. E. Bryan, R. C. Wilson, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 135-139.
- [150] H. Österlund, J. Gelting, F. Nordblad, D. C. Baxter, J. Ingri, *Mar. Chem.* **2012**, *132-133*, 34-43.
- [151] Y. Liu, H. K. Jacobs, A. S. Gopalan, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 782-788.
- [152] N. Carter, X. Li, L. Reavey, A. J. H. M. Meijer, I. Coldham, *Chem. Sci.* **2018**, *9*, 1352-1357.
- [153] R. A. F. Matos, C. K. Z. Andrade, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1652-1655.
- [154] X. Wang, L. Lv, Z. Bu, J. Yan, S. Tong, *J. Sep. Sci.* **2017**, *40*, 2045-2053.
- [155] D. L. Kepert, *Inorganic Stereochemistry*, Springer, New York, **1982**.
- [156] M. Seitz, E. G. Moore, A. J. Ingram, G. Muller, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15468-15470.
- [157] T. Ramdahl, H. T. Bonge-Hansen, O. B. Ryan, S. Larsen, G. Herstad, M. Sandberg, R. M. Bjerke, D. Grant, E. M. Brevik, A. S. Cuthbertson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 4318-4321.
- [158] G. Qian, M. Bai, S. Gao, H. Chen, S. Zhou, H. G. Cheng, W. Yan, Q. Zhou, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2018**, *57*, 10980-10984.
- [159] L. Bieber, M. De Araújo, *Molecules* **2002**, *7*, 902-906.

- [160] E. Zang, P. J. Sadler, *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 3145-3150.
- [161] K. Goto, T. Miura, D. Hosaka, H. Matsumoto, M. Mizuno, H.-k. Ishida, T. Inazu, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8845-8854.

Experimental part

Equipment

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR)

Measurements were performed on:

- RMN 600 MHz Bruker Avance III HD, at 600 MHz (^1H) and 150 MHz (^{13}C)
- RMN 500 MHz Bruker Avance NEO at 500 MHz (^1H) and 125 MHz (^{13}C)
- RMN 400 MHz Bruker Avance NEO at 400 MHz (^1H) and 100 MHz (^{13}C)

The spectra were recorded in various deuterated solvents (CDCl_3 , D_2O , MeOD, C_6D_6 ...), with the chemical shifts reported as δ in ppm relative to TMS (residual chloroform from deuterated chloroform chemical shift was set at 7.26 ppm, residual benzene 7.16 ppm, residual methanol from deuterated methanol at 3.31 ppm...) and coupling constants expressed in Hz. The following abbreviations were used to describe spin multiplicity: s = singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet.

Preparative chromatographic separation

Normal and inverse phase were performed using an InterchimTM Puriflash 4125 system equipped with of an injector (10 mL loop or in solid state using 2-fold of Celite), a fraction collector and a UV or ELSD detector. Separations were performed using this flash chromatography apparatus with InterchimTM silica normal phase prepacked columns (spherical particle size: 30 μm diameter, 4 to 120 g) or C18-AQ reverse phased prepacked columns (particle size: 15 μm , 24 g) at flow rate of 15 mL min^{-1} for 25 g column and 26 mL min^{-1} for 40 g column.

Chiral phase CHIRALPAK[®] IA (Chiral Technologies, Daicel) composed with amylose tris(3,5-dimethyl)phenylcarbamate immobilized on 20 μm silica-gel, was packed in a flash plastic column connected to the InterchimTM Puriflash 4125 system for preparative chiral resolution with THF/heptane gradients, starting from 15/85 composition to a 40/60 mixture.

High Pressure Liquid Chromatography

- Organic compounds were characterized by RP-HPLC-MS analyses performed on an UltiMate 3000 system Dionex (Thermo Scientific) equipped with a DAD detector and coupled to a low-resolution mass spectrometry detector MSQ Plus (Thermo Scientific), equipped with an ESI source. Separations were achieved using a RP KinetexTM column (Phenomenex) (2.6 μm , 100 Å , 50 \times 2.1 mm) with ultrapure water and HPLC-grade MeCN, using composition A: H_2O 0.1%

formic acid and composition B: MeCN 0.1% formic acid. Analyses were performed with the following gradient program: 5% to 100% of B in 5 min, 100% B for 1.5 min, 100% to 5% B in 0.1 min and 5% B for 1.9 min, at a flow rate of 0.5 mL/min.

- Chiral compounds were characterized by HPLC analyses performed on a Shimadzu chromatograph equipped with a UV detector at $\lambda = 254$ nm, using a Phenomenex Lux Amylose column (5 μ m), a flow rate of 1.0 mL min⁻¹, and Hexane/i-PrOH: 80/20 as eluent

Mass Spectrometry

High-resolution mass spectrometry analyses were recorded on a LTQ Orbitrap XL mass spectrometer (Thermo Scientific) equipped with an electrospray ionization source (HESI 2). The following source parameters were used if no further specification is mentioned:

Heater Temperature: 50°C ; Gas Flow: Sheath 15 / Aux 10 / Sweep 0 ; Spray Voltage: 4 kV ; Capillary Temperature: 275°C ; Capillary Voltage: 22 V ; Resolution (m/z = 400): 60 000

Typical conditioning: A stock solution of the analyte was prepared by dissolving c.a. 1 mg of the analyte in 1 mL of a HPLC-grade solvent chosen from the following list: CH₂Cl₂, MeOH, CH₃CN, H₂O, or in RPE-grade DMSO. For small molecules (MW < 1000 Da) a 1/100 dilution was performed using 10.0 μ L of the stock solution completed to 1.0 mL by a HPLC-grade solvent of the following list sorted by order of preference: MeOH, H₂O, CH₃CN, CH₂Cl₂. The 10⁻⁵ M resulting solution of the analyte was then directly injected into the spectrometer using a 500 μ L syringe. The system was rinsed three times between two consecutive analysis with 500 μ L of HPLC grade water and/or MeOH. Mass calibration in the 100-2000 Da mass range was operated using the commercially available Pierce LTQ ESI Positive/Negative ion Calibration solutions (ThermoFisher Scientific ref 88322/88324).

Elemental analysis

The centesimal composition of carbon, azote and hydrogen of organic compounds was measured using a CHNS/O Thermo Electron Flash EA 1112 Series instrument.

Inductively coupled plasma (ICP)

The centesimal composition of iron was measured by ICP on a ICP-AES iCAP 7400 instrument with axial and radial aiming. Beforehand all the resins samples were mineralized in nitric acid.

InfraRed Spectroscopy

Measurements were performed on a IR FR (BRUKER) Vertex 70v ATR, with a RockSold Interferometer. Measurements are carried out under vacuum and the detector was DLaTGS MIR.

Thermogravimetric

Thermogravimetric (TGA) analyses were recorded using a Netzsch STA 409 PC thermal analyzer. The samples were heated from 298 to 1273 K with a heating rate of 5 K min⁻¹ in the 298-873 K range and 10 K.min⁻¹ in the 873-1273 K range under a flow of nitrogen (30 mL.min⁻¹) and oxygen (10 mL.min⁻¹).

Scanning electron microscope

Scanning Electron Microscopy (SEM) pictures were taken on a JEOL JSM 7600F microscope. Transmission Electron Microscopy (TEM) measurements were performed using a JEOL JEM 2100F microscope operating at 200 kV (point to point resolution of 0.19 nm). The samples were dispersed in ethanol and one drop of this suspension was casted on a carbon-coated copper grid. These microscopes are available at the ARCEN platform belonging to the “Laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne” (ICB).

Two-photon excitation microscopy

Two-photon imaging microscopy was performed on a Nikon A1-MP scanning microscope (Nikon, Japan) with a x60 Apo IR objective (NA: 1.27, Water Immersion, Nikon, Japan). Two-photon excitation was provided at 750 nm by an infrared laser (Chameleon Vision II, Coherent). Fluorescence emission was collected on four detection channels (FF01-492/SP; FF03-525/50; FF01-575/255; FF01-629/56 filters, Semrock).

X-Ray diffraction

X-ray diffraction (XRD) data were collected using a Siemens D5000 automatic powder diffractometer, operating at 35 mA and 50 kV. The lattice parameters and the crystallite size (\varnothing_{XRD}) calculations were obtained using the Topas software from Bruker.

Specific rotation

The optical rotations were measured at 20 °C, using a Anton Paar MCP100 polarimeter with a stainless steel cell (2.4 mL, 1 dm (l)) on the D line of sodium (589 nm). The optical rotation (in degree) is calculated, knowing the concentration (c) expressed in g/100 mL and the length (l) in dm.

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{100 \times \alpha_{lu}}{l \times c}$$

Circular Dichroism

CD measurements were performed on a JASCO J-815 CD spectrometer in MeOH, water or a KOH solution.

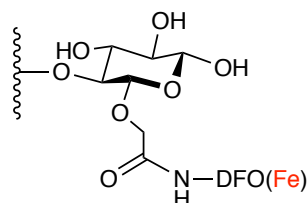
UV-Visible Spectroscopy

UV-Vis measurements were performed on a Agilent Cary60 and a Agilent Cary5000 spectrophotometers using glass cuvettes of 1 cm path.

Melting points

Melting points were determined on a Büchi Melting Point B-545 apparatus.

Synthetic procedures

Grafting of [Fe(DFO)] on carboxymethyl polysaccharide resin (CM Sephadex C25[®])

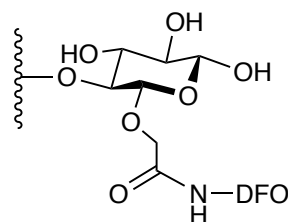
A solution of $[\text{Fe}(\text{acac})_3]$ (2.12 g, 6 mmol) in methanol (20 mL) was added to a solution of **DFO** (3.94 g, 6 mmol) in methanol (20 mL). The reaction mixture was stirred at 40°C for one hour. The solvent and acetylacetone were evaporated, to afford the complex $[\text{Fe}(\text{DFO})]$ as a dark red solid.

In a round bottom flask, the reactants were introduced in this order: Sephadex (6.00 g, 24 mmol of CO_2H function), $[\text{Fe}(\text{DFO})]$ (4.26 g, 6 mmol), HOBt (4.60 g, 24 mmol), EDC (3.67 g, 24 mmol), the solvent DMF (375 mL) and finally the base DIPEA (3.72 g, 28.8 mmol). The mixture was mechanically stirred, 4 days, at 40°C with a glass blade. The dark red resin was washed several times with successively: water, MeOH, water, acetic acid (1 M in water), water and MeOH. The resin was dried (7.1 g).

IR Vertex (ATR): ν_{max} 3307 ($\nu(\text{OH})$, b), 2926 ($\nu(\text{CH})$, w), 1733 ($\nu(\text{C}=\text{O}$ carboxylic acid), m), 1637 ($\nu(\text{C}=\text{O}$ amide, hydroxamate), s), 1571, 1466, 1354, 1259, 1104 ($\nu(\text{C}=\text{O}$ ethers), s), 1008, 758, 552

Elemental analysis: Anal. found (%): C 46.18, H 5.79, N 3.53, corresponding to 235.86 mg g^{-1} (0.420 mmol g^{-1}) of grafted DFO.

Inductively coupled plasma of Iron: The sample is mineralized (4 mL HNO_3 conc.) and the iron content was determined by ICP-AES (1.84 % of bound Fe), allowing to estimate the amount of grafted DFO (184.8 mg g^{-1} or 0.329 mol g^{-1} of DFO), assuming the formation of a 1:1 Fe/DFO complex.

DFO-Sephadex demetallation

The DFO-Sephadex resin (7.1 g) was introduced in an EDTA- Na_2 solution (0.2 M) for four days and the flask was stirred manually two times a day. The resin was filtered and the EDTA solution was put aside to control its iron concentration. Then the off-white resin was washed several times by water and MeOH and finally dried in vacuo.

IR Vertex (ATR): ν_{max} 3290 ($\nu(\text{OH})$, b), 2934 ($\nu(\text{CH})$, w), 1730 ($\nu(\text{C}=\text{O}$ carboxylic acid), m), 1618 ($\nu(\text{C}=\text{O}$ amide, hydroxamate), s), 1551, 1433, 1353, 1218, 1105 ($\nu(\text{C}=\text{O}$ ether), s), 1010, 736, 675, 545.

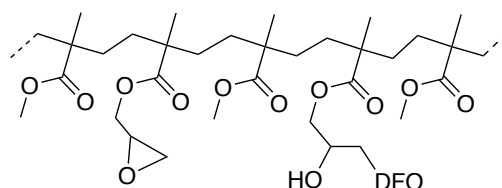
Inductively coupled plasma of Iron:

- The sample was mineralized (4 mL HNO_3 conc.), the iron content of the resin was determined by ICP-AES (0.001 % of bound Fe), showing that all the DFO was demetallated.

- A sample of the EDTA solution was also analyzed. The iron content was determined by ICP-AES (702.13 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ on a 197 mL solution so $m(\text{Fe}) = 138.32$ mg). Before demetallation the resin was 1.84 % iron that correspond to $m(\text{Fe}) = 130.6$ mg for 7.1 g.

Inductively coupled plasma of Sodium: The sample is mineralized (4 mL HNO_3 conc.), the sodium content was determined by ICP-AES (1.709 % of bound Na), allowing to estimate the amount of carboxyl groups under sodic form (0.74 mol g^{-1} of Na so 17% of carboxyl groups).

Grafting of DFO on epoxy methacrylate resin (Praesto Purolite®)

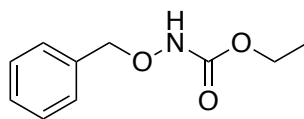


In a round bottom flask, EMC resin (14.80 g, 22.2 mmol of epoxy group) was suspended in 800 mL of methanol (800 mL) containing Desferal® (14.58 g, 22.2 mmol) and DIPEA (14.87 g, 115.0 mmol). The reactor was sealed with a glass stopper and placed in an oven for four days at 60 °C. The flask was stirred manually at least twice a day. The resin was recovered by filtration, washed several times successively with water, methanol, water, acetic acid (1 M in water), water, and methanol before drying *in vacuo* (16.9 g).

IR Vertex (ATR): ν_{\max} 2903 ($\nu(\text{CH})$, w), 1727 ($\nu(\text{C}=\text{O}$ esters), s), 1656 ($\nu(\text{C}=\text{O}$ amide, hydroxamate), w), 1452, 1389, 1256, 1145, 963, 908 ($\nu(\text{C}-\text{O}$ epoxy), w), 858, 753.

Elemental analysis: Anal. found (%): C 56.10, H 7.75, N 1.69 corresponding to 112.8 mg g⁻¹ (0.201 mmol g⁻¹) of grafted DFO.

Inductively coupled plasma of Iron: A small sample (30 mg) was suspended in a saturated solution of Fe(NO₃)₃ in methanol for 15 min. The resin was washed thoroughly with water and methanol, and dried *in vacuo*. The sample is mineralized (4 mL HNO₃ conc.) and the iron content was determined by ICP-AES (1.19% of bound Fe), allowing to estimate the amount of grafted DFO (119.5 mg g⁻¹ or 0.213 mol g⁻¹ of DFO), assuming the formation of a 1:1 Fe/DFO complex.

(1) – Ethyl BenzyloxycarbamateChemical Formula: C₁₀H₁₃NO₃

Exact Mass: 195,09

Molecular Weight: 195,22

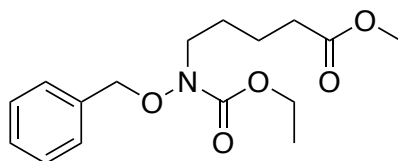
Under an inert atmosphere, the *O*-benzylhydroxylamine hydrochloride (1.297 g, 8.13 mmol) was stirred in pyridine (5 mL) for 1 h. The mixture was cooled to 0 °C and ethyl chloroformate (1.058 g, 9,76 mmol) was added. The mixture was stirred at 20 °C overnight.

The mixture was poured in ethyl acetate (100 mL) and washed with a hydrochloric acid solution (100 mL, 6.2 M) then with a saturated solution of NaHCO₃. Organic layers were dried on MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The tilted compound was obtained without further purification, as a pale yellow oil (1.348 g, 85%)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.43 – 7.32 (m, 5H), 7.24 (s, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.21 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (100.63 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 157.68 , 135.68, 129.29, 128.78, 128.71, 78.80, 62.13, 14.59.

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 157.68, 135.65, 135.63, 129.28, 128.76, 128.68, 78.77, 62.12, 14.58.

(2) – Ethyl 5-((benzyloxy)(ethoxycarbonyl)amino)pentanoate

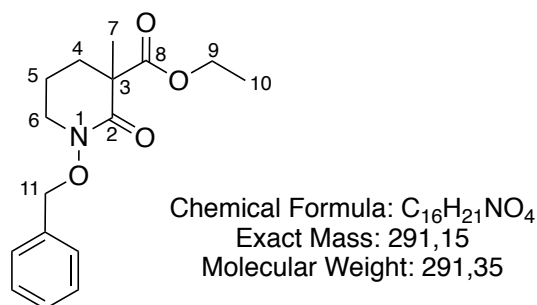
Chemical Formula: C₁₇H₂₅NO₅
Exact Mass: 323,17
Molecular Weight: 323,39

To a mixture of ester **1** (1.34 g, 6.88 mmol) and K₂CO₃ (7.4 g, 34.6 mmol) in acetonitrile (65 mL), was added ethyl-5-bromovalerate (1.74 g, 8.30 mmol). The reaction mixture was refluxed for 16 h, then cooled to RT and poured into water (400 mL). The product was extracted with dichloromethane (4x100 mL). The organic layers were washed with brine, dried, concentrated in vacuo and purified by column chromatography on silica using CH₂Cl₂/MeOH 1:0 → 8:2 to afford the desired product as a yellow solid (2.132 g, 95 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.43 – 7.31 (m, 5H), 4.85 (s, 2H), 4.21 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.11 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.45 (tt, *J* = 6.8, 5.4, 3.1 Hz, 2H), 2.29 (tt, *J* = 5.9, 4.7, 2.3 Hz, 2H), 1.63 (m, *J* = 3.4 Hz, 4H), 1.31 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 173.35, 157.48, 135.51, 129.32, 128.57, 128.45, 62.07, 60.27, 49.34, 33.91, 26.50, 22.12, 14.56, 14.23.

Elemental analysis calculated for C₁₇H₂₅NO₅ (*M* = 323.39 g.mol⁻¹): C 63.14%; H 7.79%; N 4.33%. Found: C 62.12%; H 7.92%; N 4.54%.

(4) – PIPO(Bn)CO₂Et

Under argon atmosphere, a solution of *n*-BuLi (1.6 M in hexane, 121 mL, 194.81 mmol) was added to a solution of HMDS (31.44 g, 194.81 mmol) in THF (300 mL) at 0 °C. After stirring for 30 min at 0 °C, the reaction mixture was cooled down to –78 °C. A solution of ester **2** (21 g, 64.94 mmol) in THF (80 mL) was added dropwise to the reaction mixture *via* cannula. The reaction mixture was further stirred at –78 °C for 2.5 h. After addition of methyl iodide (45.78 g, 324.68 mmol) the reaction mixture was allowed to reach room temperature and further stirred overnight. The reaction was quenched by addition of an aqueous solution of acetic acid (25 mL AcOH/300 mL H₂O). The resulting mixture was concentrated and the aqueous residue extracted with ethylacetate. The combined organic extracts were washed with water, dried over magnesium sulfate, filtrated and the solvent evaporated. The crude product was purified by column chromatography (silica gel, heptane/CH₂Cl₂/ethyl acetate 6:3:1 to afford compound **4** in pure form (13.24 g, 70 % yield).

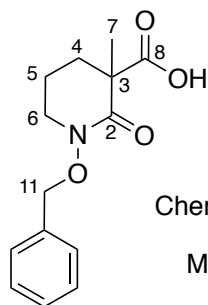
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 300 K) δ = 7.463 (m, 2 H; o-H), 7.354 (m, 3 H; m- and p-H), 4.970 (AB, ²J_{AB} = 10.60 Hz, Δν = 34.37 Hz, 2 H; Ph-CH₂), 4.224 (m, 2 H; 9-H), 3.376 (m, 2 H; 6-H), 2.201 (ddd, ²J = 13.58 Hz, J = 6.75 Hz, J = 3.50 Hz, 1 H; 4a-H), 1.807 (m, 2 H; 5-H), 1.619 (ddd, ²J = 13.82 Hz, J = 10.50 Hz, J = 3.55 Hz, 1 H; 4b-H), 1.499 (s, 3 H; 7-H); 1.293 (t, ³J = 7.12 Hz, 3 H, 10-H) ppm.

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, 300 K) δ = 173.20 (8-C), 167.37 (2-C), 135.58 (i-C), 129.92 (o-C), 128.87 (p-C), 128.57 (m-C), 75.72 (Ph-C), 61.70 (9-C), 52.09 (3-C), 51.22 (6-C), 33.00 (4-C), 22.44 (7-C), 20.45 (5-C), 14.29 (10-C) ppm.

Elemental analysis calculated for C₁₆H₂₁NO₄ (M = 291.35 g/mol): C 65.92%, H 7.26%, N 4.81%. Found: C 65.99%, H 9.92%, N 4.79%.

(+)-HR-ESI-MS: found 292,15399; calculated 292,15433 for [C₁₆H₂₁NO₄H]⁺ ([M+H]⁺).

HPLC: t_R = 4.3 min (87 % MeCN).

(5) – PIPO(Bn)CO₂H

Chemical Formula: C₁₄H₁₇NO₄
 Exact Mass: 263,12
 Molecular Weight: 263,29

To a solution of ester **PIPOBnCO₂Et (4)** (840 mg, 2.88 mmol) in a mixture EtOH (25 mL) and water (5 mL), was added NaOH (310 mg, 7.75 mmol). The reaction mixture was stirred at 40 °C overnight, then neutralized with 0.5 M HCl solution of HCl (20 mL). The product was extracted with CH₂Cl₂, dried with MgSO₄ and concentrated in vacuo. After crystallization in a acetone/methanol mixture, the titled product was obtained quantitatively without further purification as white solid (758 mg).

Mp = 112,9-115,8 °C.

¹H NMR (500 MHz, MeOD, 300 K) δ = 7.470 (m, 2 H; o-H), 7.369 (m, 3 H; m- and p-H), 4.930 (s, 2 H; Ph-CH₂), 3.475 (ddd, ²J = 14.08 Hz, J = 8.61 Hz, J = 5.48 Hz, 1 H; 6a-H); 3.385 (ddd, ²J = 10.95 Hz, J = 5.47 Hz, J = 5.27 Hz, 1 H; 6b-H), 2.175 (ddd, ²J = 13.49 Hz, J = 6.73 Hz, J = 3.16 Hz, 1 H; 4a-H), 1.862 (m, 2 H; 5-H), 1.693 (ddd, ²J = 13.80 Hz, J = 10.51 Hz, J = 3.44 Hz, 1 H; 4b-H), 1.440 (s, 3 H; 7-H) ppm.

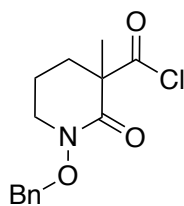
¹³C NMR (126 MHz, MeOD, 300 K) δ = 176.12 (8-C), 169.63 (2-C), 136.62 (i-C), 131.00 (o-C), 129.88 (p-C), 129.48 (m-C), 76.41 (Ph-C), 53.01 (3-C), 51.80 (6-C), 33.77 (4-C), 22.62 (7-C), 21.17 (5-C) ppm.

Elemental analysis calculated for C₁₄H₁₇NO₄ (M = 263.29 g/mol): C 63.87 %, H 6.51 %, N 5.32 %. Found: C 63.84 %, H 6.59 %, N 5.14 %.

IR Vertex (ATR): ν_{max} (cm⁻¹) = 2952 (ν(CH), w), 2885 (ν(CH), w), 1721 (ν(C=O acide), s), 1637 (ν(C=O hydroxamate), s), 1584, 1479, 1449, 1440, 1413, 1390, 1370, 1340, 1316, 1282, 1253, 1209, 1171, 1157, 1120, 996, 948, 925, 908, 891, 838, 815, 753, 730, 700, 646, 631, 534, 502, 436

HPLC: t_R = 3.61 min (74 % MeCN)

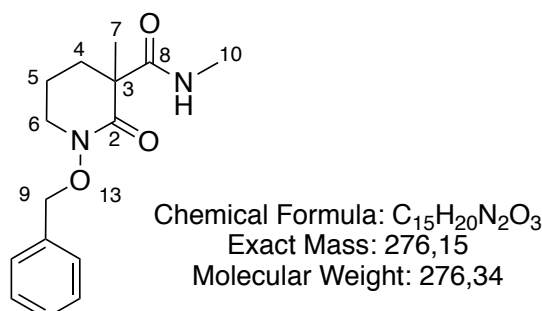
X-ray crystallography: Cristal data are reported in annexe

(6) – PIPO(Bn)Cl

Chemical Formula: C₁₄H₁₆ClNO₃
Exact Mass: 281,08
Molecular Weight: 281,74

To a mixture of **5** (400 mg, 1.54 mmol) and DMF (few drops, catalytic proportion) in dried DCM (10 mL) at 0°C, was slowly added oxalyl chloride (430 mg, 3.39 mmol) dissolved in DCM (10 mL). The reaction mixture was stirred overnight at 20 °C. The solvents and the excess of oxalyl chloride were evaporated in vacuo. A pale-yellow oil was obtained and its purity was estimated to be 90 % (390 mg) since it contains 10 % of starting carboxylic acid. The product must be use quickly without further purification, it is not stable in presence of air and go back into the acid carboxylic form.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.49 – 7.24 (m, 5H), 5.00 – 4.84 (dd, 2H), 3.39 – 3.27 (m, 2H), 2.34 (m, *J* = 14.0, 6.8, 4.5 Hz, 1H), 1.84 – 1.70 (m, 2H), 1.70 – 1.63 (m, 1H), 1.55 (s, 3H).

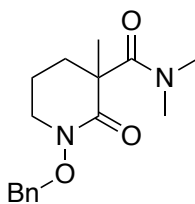
(7) – PIPO(Bn)MAH

To a mixture of PIPOH acid **PIPOBnCO₂H** (900 mg, 3.42 mmol), EDC (983 mg, 5.13 mmol) and HOBT (785 mg, 5.13 mmol) in THF (35 ml), was added DIPEA (1.763 g, 13.67 mmol) dissolved in THF (5 mL). The reaction mixture was stirred 15 min, then methylamine hydrochloride (462 mg, 6.84 mmol) was added. The reaction mixture was stirred 24 h, at 20 °C. The mixture was concentrated *in vacuo*, dissolved in DCM, washed by water/K₂CO₃, water/citric acid and water, dried on MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The tilted product was obtained without further purification as a transparent oil.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 300 K) δ = 7.396 (m, 2 H; o-H), 7.355 (m, 3 H; m- and p-H), 7.186 (bs, 1H; N-H), 4.949 (AB, ²J_{AB} = 10.48 Hz, Δν = 17.90 Hz, 2 H; Ph-CH₂), 3.360 (m, 2 H; 6-H), 2.773 (s, 1.5 H, 10-H), 2.264 (s, 1.5 H, N-CH₃), 2.504 (ddd, ²J = 13.61 Hz, J = 4.32 Hz, J = 3.79 Hz, 1 H; 4a-H), 1.737 (m, 2 H; 5-H), 1.445 (s, 3 H; 7-H), 1.381 (ddd, ²J = 14.90 Hz, J = 9.18 Hz, J = 5.90 Hz, 1 H; 4b-H) ppm.

¹³C NMR (125.70 MHz, CDCl₃, 300 K) δ = 171.83 (8-C), 170.14 (2-C), 134.86 (i-C), 129.83 (o-C), 129.09 (p-C), 128.63 (m-C), 75.59 (Ph-C), 51.05 (6-C), 50.87 (3-C), 30.79 (4-C), 26.67 (10-C), 26.06 (7-C), 20.50 (5-C) ppm.

HPLC: t_R = 3.56 min (73 % MeCN)

(8) – PIPO(Bn)DMAChemical Formula: C₁₆H₂₂N₂O₃

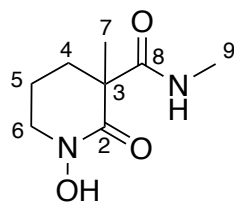
Exact Mass: 290,16

Molecular Weight: 290,36

DIPEA (2.55 g, 19.76 mmol) in THF (10 mL) was added to a mixture of **5** (1.300 g, 4.94 mmol), EDC (1.420 g, 7.41 mmol), and HOBt (1.130g, 7.41 mmol) in THF (50 mL). The reaction mixture was stirred for 15 min prior to the addition of dimethylamine hydrochloride (806 mg, 9.87 mmol). After stirring for 24 h, the reaction mixture was concentrated in vacuum, and the residue dissolved in DCM was washed successively by an aqueous solution of potassium carbonate, followed by an aqueous solution of citric acid, water, and then dried (MgSO₄). The titled compound was obtained as a clear oil without purification (1.321 g) in 92 % yield.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.46 – 7.32 (m, 5H), 4.96 (d, *J* = 1.0 Hz, 2H), 3.55 (td, *J* = 11.1, 4.6 Hz, 1H), 3.36 (dddd, *J* = 11.5, 5.4, 3.1, 1.6 Hz, 1H), 2.93 (s, 6H), 2.03 – 1.97 (m, 1H), 1.96 – 1.88 (m, 1H), 1.88 – 1.81 (m, 1H), 1.74 – 1.69 (m, 1H), 1.55 (s, 3H).

HPLC: *t_R* = 3.55 min (73 % MeCN)

(9) – PIPOMAH

Chemical Formula: C₈H₁₄N₂O₃
 Exact Mass: 186,10
 Molecular Weight: 186,21

Palladium on carbon (10 % Pd, 100 mg, 0.094 mmol) was activated *in vacuo*, at 100 °C for 2 h. The solution of PIPO(Bn)MAH 7 (580 mg, 2.01 mmol) dissolved in methanol (30 mL) was added. An H₂ atmosphere was introduced and the reaction mixture was stirred 24 h at RT. The catalyst was filtered and the methanol evaporated. The titled product was obtained quantitatively without further purification as white crystals. (370 mg)

¹H NMR (500 MHz, MeOD, 300 K) δ = 7.629 (s, 1 H; N-OH), 4.578 (s, 1 H; NH), 3.614 (m, 2 H; 6-H), 2.747 (s, 0.77 H, 9-H), 2.739 (s, 2.23 H, 9-H), 2.345 (ddd, ²J = 13.59 Hz, J = 6.21 Hz, J = 3.24 Hz, 1 H; 4a-H), 1.887 (m, 2 H; 5-H), 1.637 (ddd, ²J = 13.96 Hz, J = 10.38 Hz, J = 3.93 Hz, 1 H; 4b-H), 1.427 (s, 3 H; 7-H) ppm.

¹³C NMR (125.72 MHz, MeOD, 300 K) δ = 175.15 (8-C), 169.08 (2-C), 52.34 (6-C), 51.90 (3-C), 32.94 (4-C), 26.82 (9-C), 24.51 (7-C), 21.00 (5-C) ppm.

Elemental analysis calculated for C₈H₁₄N₂O₃ (M = 186.21 g mol⁻¹): C 51.60%, H 7.58%, N 15.04%. Found: C 51.60 %, H 7.66 %, N 14.63 %.

IR Vertex (ATR): ν_{\max} (cm⁻¹) = 3380 (ν (NH), w), 3365, 2914 (ν (CH), w), 2887 (ν (CH), w), 1651 (ν (C=O amide), s), 1623 (ν (C=O hydroxamate), s), 1520, 1447, 1427, 1413, 1326, 1257, 1195, 1176, 999, 918, 691, 654, 627, 590, 568, 533, 454, 419

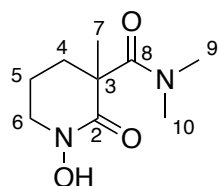
Protonation constant of the hydroxamic function:

NaClO₄, I = 2 M, 25°C: log K₀₁₁ = 8.616

KNO₃, I = 0.1 M, 25°C: log K₀₁₁ = 8.39

HPLC: t_R = 0.33 min (11 % MeCN)

X-ray crystallography: Cristal data are reported in annexe

(10) – PIPODMAChemical Formula: C₉H₁₆N₂O₃

Exact Mass: 200,12

Molecular Weight: 200,24

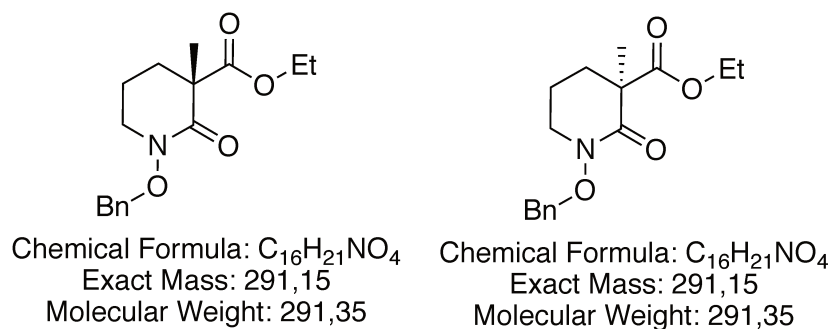
Palladium on carbon (5 % Pd, 300 mg, 0.141 mmol) was activated *in vacuo*, at 100 °C for 1 h. A solution of **8** (1.32 g, 4.58 mmol) dissolved in methanol (60 mL) was added. An H₂ atmosphere was introduced and the reaction mixture was stirred 20 h at RT. The catalyst was filtered and the methanol evaporated. The titled product was obtained quantitatively without further purification as a white solid. (910 mg)

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 3.76 (td, *J* = 11.8, 4.6 Hz, 1H, 6a-H), 3.70 – 3.62 (m, 1H, 6b-H), 2.93 (s, 6H, 9-H 10-H), 2.24 – 2.14 (m, 1H, 5a-H), 2.10 (td, *J* = 13.3, 3.2 Hz, 1H, 4a-H), 1.99 (dddd, *J* = 12.5, 7.1, 4.0, 2.3 Hz, 1H, 5b-H), 1.74 (dtd, *J* = 13.5, 3.3, 1.7 Hz, 1H, 4b-H), 1.51 (s, 3H, 7-H).

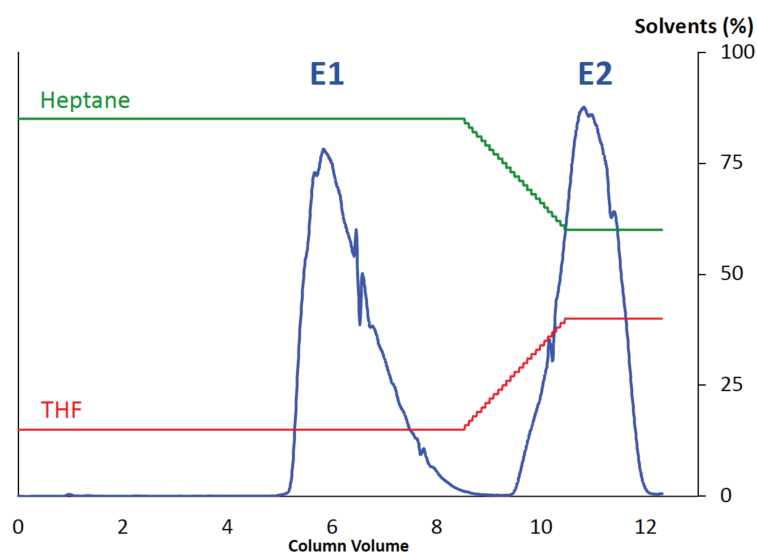
¹³C NMR (126 MHz, MeOD) δ 174.17 (8-C), 169.29 (2-C), 52.27 (6-C), 51.53 (3-C), 37.64 (10-C, 9-C), 32.65 (4-C), 24.83 (7-C), 20.73 (5-C).

Elemental analysis calculated for C₉H₁₆N₂O₃ (*M* = 200.24 g mol⁻¹): C 53.99%, H 8.05%, N 13.99%. Found: C 53.87%, H 8.24%, N 13.89%

HPLC: *t*_R = 0.33 min (11 % MeCN)

[S]-(4) and [R]-(4) PIPO(Bn)CO₂Et

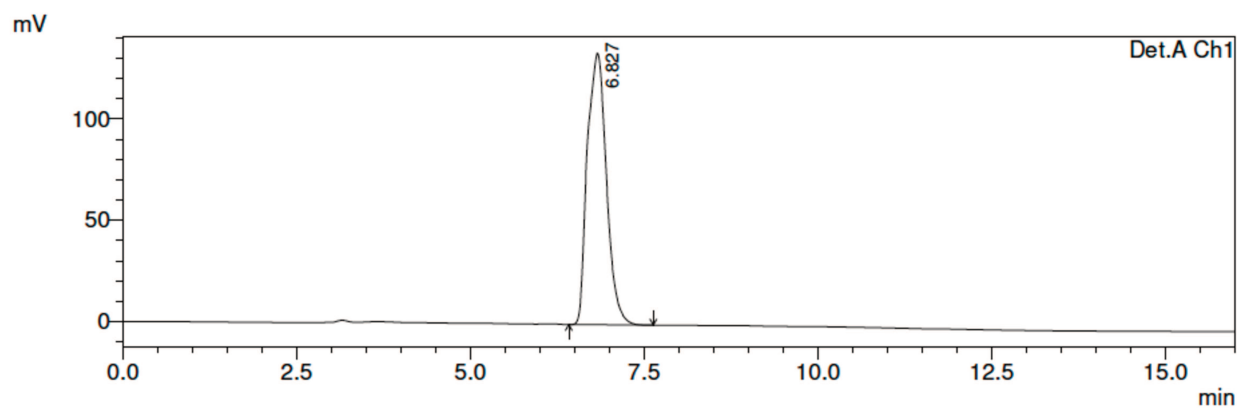
The enantiomers were separated using a chiral column (CHIRALPAK®IA, 24 g) by flash chromatography. The racemic compound (140 mg) dissolved in THF/Heptane 15/85 (1 mL) was introduced on the top of the column. The separation proceeded using THF/Heptane mixtures as eluents (15/85 → 40/60).



Elution profile showing the enantiomeric separation

$$[\alpha]_D(E1) = -52,3; [\alpha]_D(E2) = +51,7 \text{ (CHCl}_3, 20 \text{ }^\circ\text{C, c = 0,01 g ml}^{-1}\text{)}$$

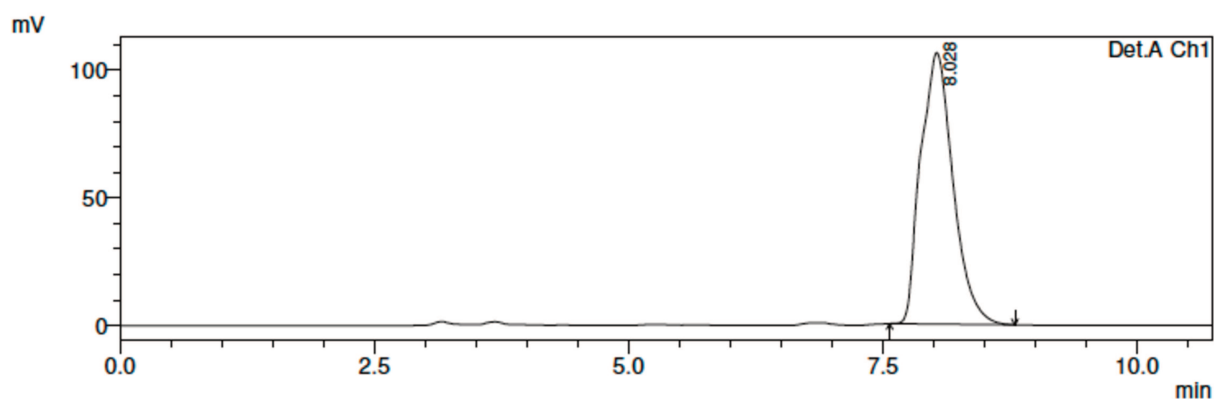
Chiral phase HPLC: t_R : E1= 6.83 min and E2 = 8.03 min (Hexane/ⁱPrOH: 80/20)



1 Det.A Ch1/254nm

Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	6.827	2568574	100.000
Total		2568574	100.000

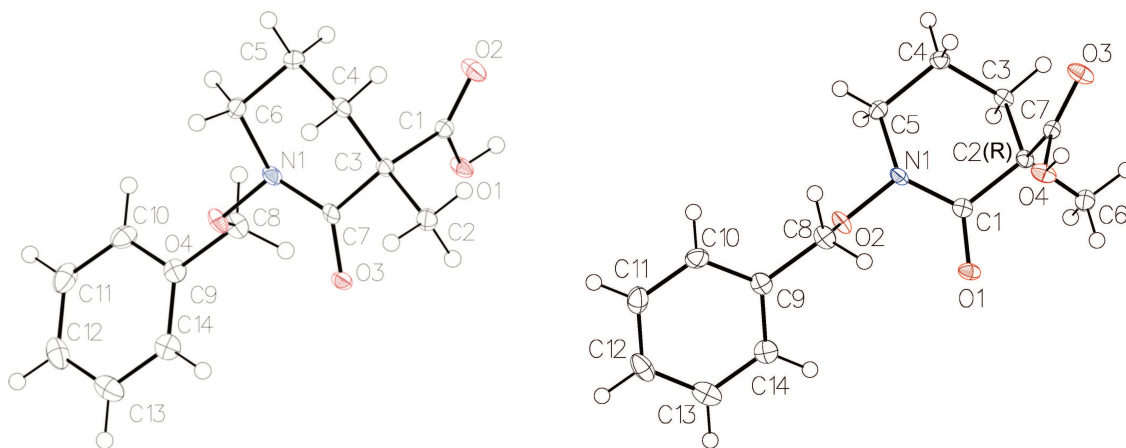


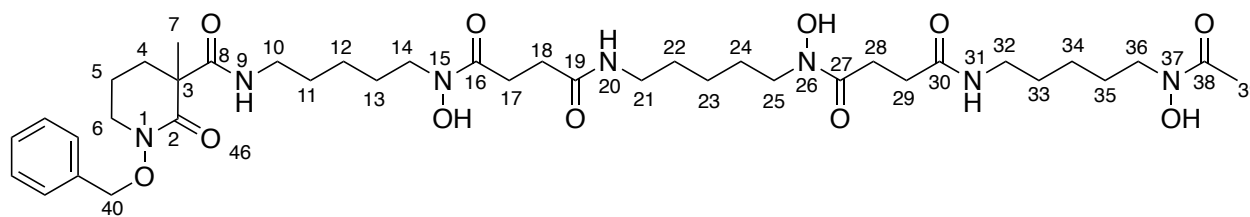
1 Det.A Ch1/254nm

Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Area %
1	8.028	2355178	100.000
Total		2355178	100.000

X-ray crystallography: Cristal data are reported in annexe



(11) – PIPOBn(Me)DFO

Chemical Formula: $C_{39}H_{63}N_7O_{11}$
 Exact Mass: 805,46
 Molecular Weight: 805,97

DFO (1.495 g, 2.28 mmol), PIPOBnCO₂H **5** (600 mg, 2.28 mmol), EDC·HCL (657 mg, 3.42 mmol) and HOBt (523 mg, 3.42 mmol) were introduced in a Schlenk flask under an argon atmosphere. DIPEA (1.935 mL, 11.4 mmol) diluted in DMF (45 mL) was then introduced and the reaction mixture was stirred 4 days at 40 °C. The solvent was evaporated to dryness and the residue was neutralized by a aqueous acetic acid solution (20 mL, 0.85 M). The solution was concentrated *in vacuo* and the crude compound purified by reverse phase flash chromatography (C18-AQ) using a gradient H₂O/MeCN: 95/5 → 0/1 as eluent. The desired product was obtained as a pale beige-orange powder (1.450 g, 79 %).

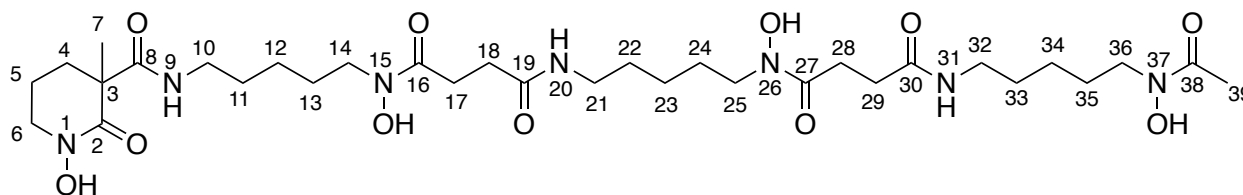
¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.48 – 7.35 (m, 5H, Ph), 4.98 – 4.92 (m, 2H, H40), 3.59 (m, 6H, H14 H25 H36), 3.47 (m, 2H, H6), 3.22 (dd, *J* = 13.3, 6.6 Hz, 2H, H10), 3.16 (m, 4H, H21 H32), 2.76 (t, *J* = 7.2 Hz, 4H, H17 H28), 2.45 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H, H18 H29), 2.29 (m, 1H, H4a), 2.09 (s, 3H, H39), 1.84 – 1.76 (m, 2H, H5), 1.69 – 1.59 (m, 6H, H13 H24 H35), 1.58 – 1.47 (m, 7H, H4b H11 H22 H33), 1.43 (s, 3H, H7), 1.37 – 1.29 (m, 6H, H12 H23 H34).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 174.06, 173.62, 173.37, 172.67, 170.03, 135.59, 130.09, 129.10, 128.66, 75.52, 51.91, 50.76, 49.00, 48.79, 48.58, 48.36, 48.15, 48.00, 47.94, 47.81, 47.73, 47.51, 39.75, 39.42, 31.86, 30.68, 30.63, 29.14, 29.11, 28.12, 28.07, 26.47, 24.04, 24.01, 23.77, 20.36, 19.39.

Elemental analysis calculated for C₃₉H₆₃N₇O₁₁·0.6 H₂O (M = 816.05 g/mol): C 57.35 %, H 7.92 %, N 12.00 %. Found: C 57.22 %, H 8.02 %, N 12.53 %.

(+)-HR-ESI-MS: found 828.44751; calculated 828.44778 for [C₃₉H₆₃N₇O₁₁Na]⁺.

HPLC: *t*_R = 3.81 min (77 % MeCN)

(12) – PIPO(Me)DFO

Chemical Formula: C₃₂H₅₇N₇O₁₁
 Exact Mass: 715,41
 Molecular Weight: 715,85

Compound PIPOBnDFO **11** (0.658 g, 0.818 mmol) in methanol (20 mL) was introduced into a flask containing 10 % Pd/C (0.050 g, 0.047 mmol) under argon. The reaction mixture was placed under a dihydrogen atmosphere and stirred for 24 h, at RT. The catalyst was removed by filtration. The solvent was evaporated leaving pure compound **12** as a white solid (0.556 g, 95 %)

Melting point = 127.1-129 °C.

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 3.65 – 3.57 (m, 8H, H6 H14 H25 H36), 3.24 – 3.15 (m, 6H, H10 H21 H32), 2.78 (t, *J* = 7.2 Hz, 4H, H17 H28), 2.46 (td, *J* = 7.2, 2.6 Hz, 4H, H18 H29), 2.36 (m, 1H, H4a), 2.10 (s, 3H, H39), 1.98 – 1.82 (m, 2H, H5), 1.69 – 1.60 (m, 7H, H13 H24 H35 H4a), 1.54 (m, 6H, H11 H22 H33), 1.44 (s, 3H, H7), 1.37 – 1.30 (m, 6H, H12 H23 H34).

¹³C NMR (126 MHz, MeOD) δ 174.90, 174.49, 174.36, 173.50, 169.20, 52.35, 51.86, 40.56, 40.27, 36.93, 32.79, 31.56, 31.51, 29.97, 29.93, 28.97, 28.92, 27.32, 24.91, 24.88, 24.80, 21.05, 20.22.

IR Vertex (ATR): ν(cm⁻¹) = 3307 (ν(NH), w), 3102, 2928 (ν(CH), w), 2856 (ν(CH), w), 1616 (ν(C=O amide), s), 1558 (ν(C=O hydroxamate), s), 1456, 1424, 1396, 1373, 1323, 1309, 1267, 1251, 1224, 1194, 1160, 1133, 960, 728, 667, 551, 526

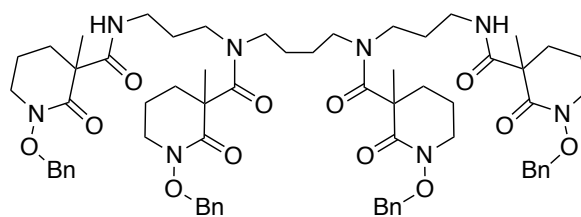
Elemental analysis calculated for C₃₂H₅₇N₇O₁₁ (M = 715.85 g/mol): C 53.69 %, H 8.03 %, N 13.70 %. Found: C 52.91 %, H 8.83 %, N 13.53 %.

(+)-HR-ESI-MS: found 738.40083; calculated 738.40058 for [C₃₂H₅₇N₇O₁₁Na]⁺.

HPLC: *t*_R = 3.16 min (65 % MeCN)

Protonation constant: 25°C:

$\log K_{011}$	$\log K_{012}$	$\log K_{013}$	$\log K_{014}$	I
9.70(7)	9.27(4)	8.72(3)	8.11(3)	0.1 M (KNO ₃)
10.05(6)	9.53(8)	9.15(3)	8.46(3)	2.0 M (NaClO ₄)

(13) – 3,4,3 LI-PIPO(Bn)Chemical Formula: C₆₆H₈₆N₈O₁₂

Exact Mass: 1182,64

Molecular Weight: 1183,46

To a mixture of spermine (59 mg, 0.290 mmol) DIPEA (225 mg, 1.74 mmol) and DMAP (3 mg, catalytic proportions) in DCM (5 mL) at 0 °C, was added dropwise **6** (343 mg, 1.22 mmol) dissolved in DCM (5 mL). The reaction mixture was stirred overnight at RT. The mixture was concentrated *in vacuo*, the crude product was washed with water, an acidic solution (water/citric acid) then a basic solution (water/Na₂CO₃). The product was purified by flash chromatographic column (DCM/MeOH: 1/0 → 96/04). The desired product was obtained as a thick oil, m = 243 mg (71 %)

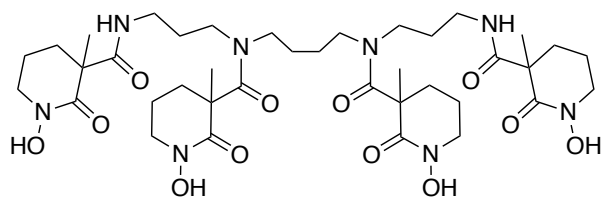
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.47 (s, 2H), 7.45 – 7.28 (m, 20H), 4.89 (d, *J* = 7.8 Hz, 8H), 3.71 – 3.39 (m, 8H), 3.27 (s, 2H), 3.01 (s, 10H), 2.15 (s, 2H), 1.84 (s, 6H), 1.70 (s, 6H), 1.58 – 1.38 (m, 10H), 1.32 (t, *J* = 7.4 Hz, 12H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 171.42, 171.09, 167.92, 167.56, 135.49, 135.30, 129.31, 128.48, 128.28, 74.44, 74.30, 62.03, 51.12, 50.64, 50.02, 49.60, 42.14, 36.54, 31.42, 26.81, 25.49, 24.84, 23.98, 23.64, 19.87, 19.77.

Elemental analysis calculated for C₆₆H₈₆N₈O₁₂ (M = 1183.46 g/mol): C 66.98 %, H 7.32 %, N 9.47 %. Found: C 66.31 %, H 7.32 %, N 9.33 %.

(+)-HR-ESI-MS -MS: found 1205.62574 ; calculated 1205.62561 for [C₆₆H₈₆N₈O₁₂Na]⁺.

HPLC: *t*_R = 5.42 min (100 % MeCN)

(14) – 3,4,3 Li-PIPO

Chemical Formula: $C_{38}H_{62}N_8O_{12}$
Exact Mass: 822,45
Molecular Weight: 822,96

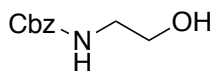
Palladium on carbon 5% (50 mg, catalytic proportions) was activated *in vacuo* 2 hours, at 100 °C. Compound **13** (170 mg, 0.144 mmol) dissolved in methanol (20 mL) was added. In the flask was introduced an atmosphere of H_2 and the reaction mixture was stirred 16 h at RT. The catalyst was filtered and the methanol evaporated. The tilted product was obtained quantitatively without further purification as a white solid. (115 mg, 97 %)

1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 3.78 (d, $J = 35.1$ Hz, 2H), 3.69 – 3.54 (m, 6H), 3.53 – 3.34 (m, 2H), 3.27 (p, $J = 1.6$ Hz, 2H), 3.25 – 3.00 (m, 9H), 2.35 – 2.26 (m, 2H), 2.21 – 2.02 (m, 4H), 1.98 (s, 2H), 1.88 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H), 1.76 – 1.66 (m, 4H), 1.62 (ddd, $J = 13.9, 9.4, 4.7$ Hz, 3H), 1.54 (s, 2H), 1.47 (s, 6H), 1.41 (s, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 173.73, 173.22, 173.01, 168.22, 51.53, 51.18, 50.97, 45.90, 43.54, 37.74, 37.31, 32.28, 32.12, 27.47, 27.14, 24.75, 24.30, 23.61, 20.18, 19.99.

Elemental analysis calculated for $C_{38}H_{62}N_8O_{12} \cdot H_2O$ (M = 840.97 g/mol): C 54.27 %, H 7.67 %, N 13.32 %. Found: C 54.28 %, H 7.64 %, N 13.26 %.

(+)-HR-ESI-MS: found 845.43793 ; calculated 845.43794 for $[C_{38}H_{62}N_8O_{12}Na]^+$.

(15) – Benzyl N-(2-hydroxyethyl)carbamateChemical Formula: C₁₀H₁₃NO₃

Exact Mass: 195,09

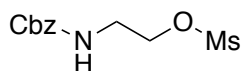
Molecular Weight: 195,22

To a mixture of ethanolamine (4 g, 65.50 mmol) and K₂CO₃ (9.95 g, 72.05 mmol) in water (250 ml), was added DCM (200 mL). The bi-phasic mixture was stirred vigorously, while a solution of benzylchloroformate (14 g, 81.90 mmol) in DCM (50 mL) was added dropwise. The reaction mixture was stirred 24 h at RT. The organic phase was collected and washed by water, then the crude product was concentrated *in vacuo*, washed by pentane and a pentane/ethanol solution (8/2). After drying, the titled product was obtained as a white powder (10.95 g, 87%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.42 – 7.28 (m, 5H, Ph), 5.21 (s, 1H, NH), 5.11 (s, 2H, CH₂Ph), 3.71 (q, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH₂O), 3.35 (q, *J* = 5.4 Hz, 2H, CH₂N), 2.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H, OH).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 157.28, 136.47, 128.65, 128.29, 128.23, 67.01, 62.26, 43.58.

Elemental analysis calculated for C₁₀H₁₃NO₃ (M = 195.22 g/mol): C 61.53 %, H 6.71 %, N 7.17 %. Found: C 61.96 %, H 6.04 %, N 7.26 %.

(16) – Benzyl *N*-[2-[(methylsulfonyl)oxy]ethyl]carbamateChemical Formula: C₁₁H₁₅NO₅S

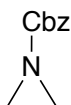
Exact Mass: 273,07

Molecular Weight: 273,30

To benzyl *N*-(2-hydroxyethyl)carbamate (10.9 g, 55.80 mmol) and NEt₃ (7.34 g, 72.30 mmol) dissolved in DCM (150 mL) at 0°C and under a nitrogen atmosphere, was added dropwise mesyl chloride (7.03 g, 61.40 mmol) dissolved in DCM (50 mL). The reaction mixture was stirred 24 h at RT. The organic layer was washed by water four time, dried on MgSO₄, and evaporated. The crude oil was precipitated in DCM/pentane solution. The powder was filtrated and washed with pentane. The desired product is obtained as a white powder (13.03 g, 85 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.44 – 7.30 (m, 5H, Ph), 5.12 (s, 2H, CH₂Ph), 4.30 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH₂O), 3.55 (q, *J* = 5.5 Hz, 2H, CH₂N), 2.99 (s, 3H, Me).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 156.43, 136.33, 128.71, 128.41, 128.30, 68.64, 67.18, 40.59, 37.55.

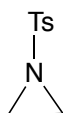
(17) – Aziridine-Cbz

Chemical Formula: C₁₀H₁₁NO₂
Exact Mass: 177,08
Molecular Weight: 177,20

To a solution of benzyl *N*-[2-[(methylsulfonyl)oxy]ethyl]carbamate (10 g, 36.6 mmol) in THF (200 mL) was added ^tBuOK (4.52 g, 40.2 mmol) portion wise . The mixture was stirred overnight at RT. The crude product was concentrated in vacuo, dissolved in water, extracted with AcOEt, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The compound was purified by chromatography with a silica gel column using DCM/heptane 4:6 v/v as eluant. The desired product was obtained as a transparent oil (2.51 g, 40 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.49 – 7.29 (m, 5H, Ph), 5.14 (s, 2H, CH₂Ph), 2.23 (s, 4H, CH₂N).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 128.70, 128.48, 128.31, 77.42, 77.16, 76.91, 68.37, 25.99.

(18) – Aziridine-TosylChemical Formula: C₉H₁₁NO₂S

Exact Mass: 197,05

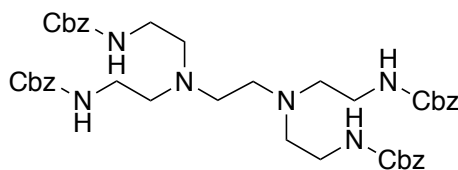
Molecular Weight: 197,25

KOH (13.78 g, 246 mmol) was dissolved in water (50 mL), and after cooling to RT, ethanolamine (1 g, 16.38 mmol) dissolved in DCM (10 mL) was added. Tosyl chloride (6.25 g, 32.76 mmol) dissolved in DCM (30 mL) was then added dropwise. The reaction mixture was stirred 24 h at RT. The layers were separated and the organic layer was washed four times with water, dried on MgSO₄, and evaporated. The product was purified on a flash chromatographic column (Hept/DCM: 1/1) The desired product was obtained as transparent oil (815 mg, 25 %)

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.84 – 7.77 (d, J = 8.0 Hz, 2H, Ph), 7.43 (d, J = 8.0 Hz, 2H, Ph), 2.46 (s, 3H, CH₃), 2.34 (s, 4H, Az-CH₂).

¹³C NMR (126 MHz, MeOD) δ 146.34 (Ph), 136.13 (Ph), 130.88 (Ph), 129.10 (Ph), 27.99 (Az-CH₂), 21.54 (CH₃).

HPLC: t_R = 5.67 min (100 % MeCN)

(19) – Hexaamine 2,2 Cbz

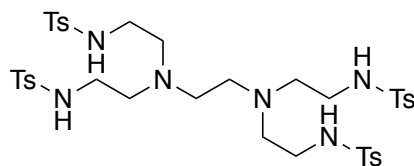
Chemical Formula: C₄₂H₅₂N₆O₈
Exact Mass: 768,38
Molecular Weight: 768,91

To a warm solution of ethylenediamine (100 mg, 1,66 mmol) in ^tBuOH (10 ml), was added Az-Cbz **17** dissolved in ^tBuOH (5 mL). The reaction mixture was stirred 6 h at 80 °C, then cooled down to 40 °C, and the reaction mixture was stirred at this temperature for 40 h. The solvent was evaporated *in vacuo*, the crude product was dissolved in DCM and purified on a flash chromatographic column (DCM/MeOH : 1/0 → 95/05). The titled product was obtained as a transparent yellowish oil (924 mg, 72%)

¹H NMR (500 MHz, CDCL₃) δ 7.29 (m, 20H), 5.03 (s, 8H), 3.16 (m, 8H), 2.48 (m, 12H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCL₃) δ 207.05, 156.81, 136.81, 128.59, 128.30, 128.18, 66.74, 53.81, 38.97, 31,08.

HPLC: *t*_R = 5.57 min (100 % MeCN)

(20) – Hexamine 2,2 TsChemical Formula: C₃₈H₅₂N₆O₈S₄

Exact Mass: 848,27

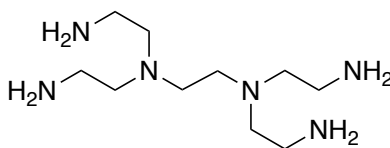
Molecular Weight: 849,11

To a warm solution of Az-Ts **18** (2,5 g, 12.65 mmol) in ^tBuOH (100 ml), was added ethylenediamine (138.4 mg, 2.30 mmol) via syringe. The reaction mixture was stirred 5 hours at 80 °C, then cooled down to 60 °C, and the reaction mixture was stirred at this temperature for 40 h. The solvent was evaporated in vacuo, the crude powder was washed by DCM and dried in vacuo to obtain a white powder (1.880 g, 96%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.79 – 7.75 (m, 8H, Ph-CH), 7.30 – 7.26 (m, 8H, Ph-CH), 5.87 (s, 4H, NH), 2.96 (dd, *J* = 6.5, 4.7 Hz, 8H; CH₂), 2.56 (dd, *J* = 6.5, 4.7 Hz, 8H, CH₂), 2.51 (s, 4H, CH₂ central), 2.40 (s, 12H, CH₃).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 143.71, 137.27, 130.13, 127.59, 54.42, 53.57, 41.34, 21.93.

HPLC: *t*_R = 5.56 min (100 % MeCN)

(21) – Hexaamine 2,2

Chemical Formula: C₁₀H₂₈N₆
Exact Mass: 232,24
Molecular Weight: 232,38

To the hexaamine 2,2 Ts **20** (1 g, 1,18 mmol) dissolved in acetic acid glacial (5 mL), was added HBr (33%) in acetic acid (20 mL). The reaction mixture was stirred vigorously four days, at reflux (118 °C). The mixture was cooled down to RT and poured into Et₂O (150 mL). The crude product was filtered, washed by Et₂O, DCM and dried. The protonated amines were neutralized through an ionic exchange column (Dowex 1X8 100-OH). The titled product was obtained as a obtain as a colorless oil (230 mg, 86 %)

The column was used as followed:

Conditioning with 150 mL of 0,5 M NaOH solution;

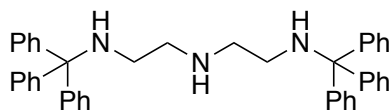
Washing by water until neutral;

Introduction of the product;

Elution by water, collect of the basic eluate, until it became neutral again.

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 2.70 (t, *J* = 6.3 Hz, 8H), 2.60 (s, 4H, H₂ central), 2.55 (t, *J* = 6.3 Hz, 8H).

HPLC: *t*_R = 0.31 min (11 % MeCN)

(22) – Triamine diTritylChemical Formula: C₄₂H₄₁N₃

Exact Mass: 587,33

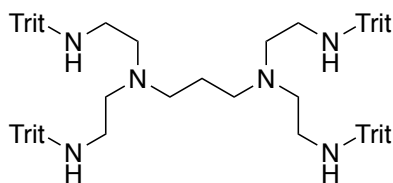
Molecular Weight: 587,81

To chlorotriphenyl methane (11.89 g, 42.65 mmol) dissolved in isopropanol (200 mL) was added diethylenetriamine (2 g, 19.39 mmol) and DIPEA (5.5 g, 42.65 mmol). The reaction mixture was stirred overnight at RT. The crude product was concentrated in vacuo, dissolved in a sodium hydroxide aqueous solution (800 mg in 300 mL), extracted with DCM and dried *in vacuo*. The product was purified on a silice chromatographic column (DCM/MeOH: 1/0 → 9/1) to obtain the desired product as a white solid (7 g, 61 %)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.43 – 7.37 (m, 12H), 7.16 (dd, *J* = 8.2, 6.8 Hz, 12H), 7.12 – 7.06 (m, 6H), 2.63 – 2.53 (t, 4H), 2.22 (t, *J* = 5.7 Hz, 4H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 146.33, 128.83, 127.93, 126.34, 70.88, 50.03, 43.32.

HPLC: *t_R* = 5.09 min (100 % MeCN)

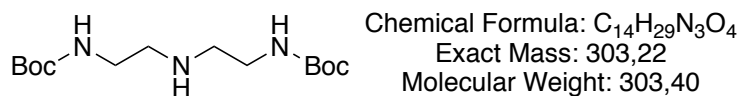
(23) – Hexaamine 2,3 Trityl

Chemical Formula: C₈₇H₈₆N₆
Exact Mass: 1214,69
Molecular Weight: 1215,69

To a mixture of triamine ditrityl **22** (300 mg, 0,51 mmol) and K₂CO₃ (79.05 mg, 0.572 mmol) in acetonitrile (10 mL), was added diiodopropane (77 mg, 0.26 mmol). The reaction mixture was stirred 48 h at reflux. The crude product was concentrated in vacuo, suspended in water and extracted with AcOEt. The product was purified by chromatographic column (Hept/AcOEt : 7/3 → 4/6) to obtain the desired product (220 mg, 70 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.47 – 7.39 (m, 24H), 7.22 – 7.16 (m, 24H), 7.12 (m, 12H), 2.31 (m, 8H), 2.13 (m, 8H), 1.93 (s, 4H), 1.83 (m, 4H), 1.21 – 1.12 (m, 2H).

HPLC: t_R = 5.97 min (100 % MeCN)

(25) – Triamine diBoc

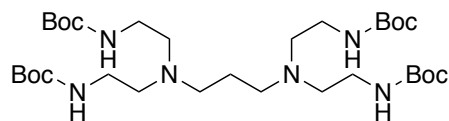
To the mixture of imidazole (5.49 g, 80.64 mmol) in DCM (80 mL) was added di-*tert*-butyl dicarbonate (18.28 g, 83.74 mmol). The mixture was stirred for one hour. All the DCM was evaporated in vacuo and the crude product was dissolved in toluene (80 mL). To this mixture diethylenetriamine (4 g, 38.78 mmol) was added. The mixture was stirred overnight at 50 °C. The precipitate was removed, and the toluene evaporated. The crude product was purified on a silica flash chromatography DCM/MeOH 1:0 → 9:1 v/v as eluent. The desired product is obtained as a colorless oil (8.62 g, 73 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.92 (s, 2H, NH), 3.21 (m, 4H), 2.72 (t, *J* = 5.8 Hz, 4H), 1.44 (s, 18H, Boc).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 156.32, 79.38, 48.97, 40.42, 28.56.

Elemental analysis calculated for C₁₄H₂₉N₃O₄·H₂O (*M* = 321.40 g mol⁻¹): C 52.32%, H 9.72%, N 13.07%. Found: C 52.36%, H 10.34%, N 12.98%.

HPLC: *t*_R = 2.91 min (60 % MeCN)

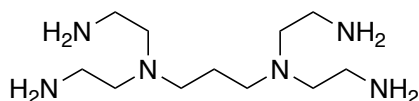
(26) – Hexamine 2,3 Boc

Chemical Formula: C₃₁H₆₂N₆O₈
Exact Mass: 646,46
Molecular Weight: 646,87

To the mixture of triaminediBoc **25** (1 g, 3.30 mmol) and K₂CO₃ (0.5 g, 3.62 mmol) in MeCN (35 mL), was added 1,3diiodopropane (0.488 g, 1.65 mmol). The mixture was stirred at 75 °C for 3 days. The solvent was evaporated *in vacuo*, the crude product was dissolved in DCM and washed abundantly with water. After concentration in vacuo the crude product was purified by flash chromatography on a silica column DCM/MeOH 1:0 → 94:06 v/v as eluent. The desired product is obtained as a colorless oil (0.560 g, 52 %)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.16 (q, *J* = 6.0 Hz, 8H), 2.51 (t, *J* = 6.0 Hz, 8H), 2.44 (t, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.57 – 1.51 (q, 2H), 1.44 (s, 38H).

HPLC: *t_R* = 3.71 min (75 % MeCN)

(24) – Hexamine 2,3

Chemical Formula: C₁₁H₃₀N₆
Exact Mass: 246,25
Molecular Weight: 246,40

To the mixture of hexaamine 2,3 Boc **26** (0.550 g, 0.85 mmol) DCM (5 mL) was added TFA (5 mL). The mixture was stirred vigorously overnight. All the solvent and TFA were evaporated *in vacuo*, the product obtained was neutralized through a ionic exchange column (Dowex 1X8 100-OH) and obtained as a colorless oil (0.175 mg, 84 %)

The column was used as followed:

Conditioning with 150 mL of 0,5 M NaOH solution;

Washing by water until neutral;

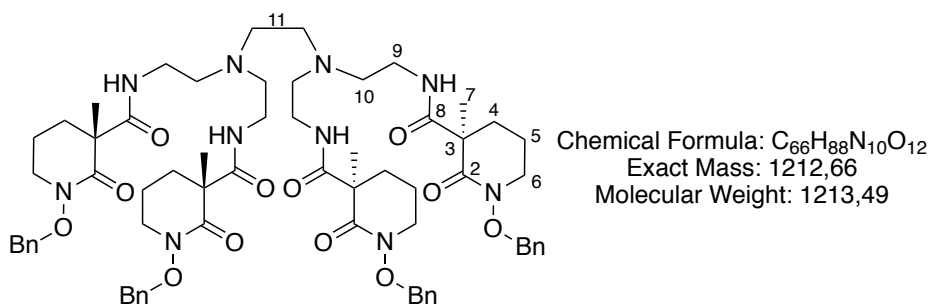
Introduction of the product;

Elution by water, collect of the basic eluate, until it became neutral again.

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 2.69 (t, $J = 6.4$ Hz, 8H), 2.52 (t, $J = 6.4$ Hz, 8H), 2.49 (t, $J = 7.3$ Hz, 4H), 1.65 (q, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, MeOD) δ 57.76, 57.73, 53.78, 49.63, 40.12, 25.73.

HPLC: $t_R = 3.11$ min (64 % MeCN)

(27) – [R, R, R, R]-HA22-PIOBn

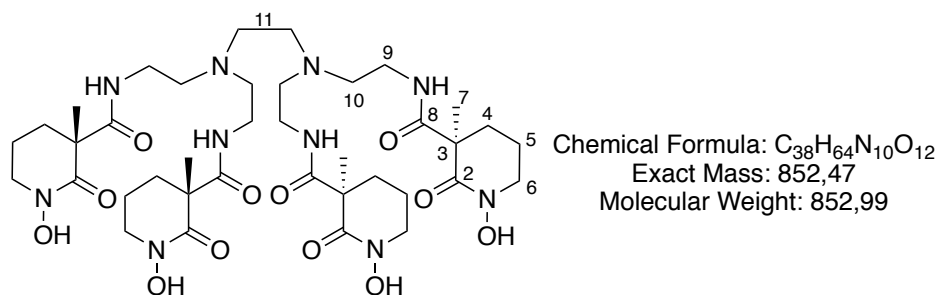
To a mixture of the hexaamine 2,2 **21** (220 mg, 0.946 mmol) in DCM (20 mL) and THF (20 mL), were added [*S*]-PIPO(Bn)COOH (1.047 g, 3.97 mmol), EDC (1.090 g, 5.68 mmol), HOBt (869 mg, 5.68 mmol) and finally DIPEA (513 mg, 3.97 mmol). The reaction mixture was stirred over night at RT. The solvents and DIPEA were evaporated *in vacuo*, the crude product was dissolved in DCM and washed by water and finally by a basic solution (water/K₂CO₃ sat.). The product was purified by flash chromatography on a silica column (DCM/MeOH: 1/0 → 85/15). The desired product is obtained as a thick yellowish oil (0.560 g, 52 %).

¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.55 – 7.25 (m, 20H, Ph), 4.98 – 4.89 (m, 8H, CH₂Ph), 3.50 – 3.39 (m, 8H, H6), 3.28 (m, 8H, H9), 2.63 (m, 12H, H10 H11), 2.30 (m, 4H, H4a), 1.82 – 1.68 (m, 8H, H5), 1.57 – 1.48 (m, 4H, H4b), 1.43 (s, 12H, H7).

¹³C NMR (126 MHz, MeOD) δ 174.49, 171.00, 136.87, 131.23, 130.26, 129.88, 76.71, 65.09, 55.12, 53.07, 51.94, 39.43, 32.97, 25.59, 25.22, 21.62.

HPLC: *t*_R = 4.85 min (97 % MeCN)

[α]_D = + 14.9 (MeOH, 20 °C, c = 6.04 mg ml⁻¹)

(28) – [R, R, R, R]-HA-2,2PIPO

Palladium on charcoal 10 % (50 % dispersed in water) (200 mg, 0.094 mmol) was activated *in vacuo* at 100 °C for 2 h. The solution of HA-2,2PIPOBn (800 mg, 0.659 mmol) dissolved in methanol (50 mL) was added. An H₂ atmosphere was introduced and the reaction mixture was stirred for 16 h at RT. The catalyst was filtered and the methanol evaporated. The tilted product was obtained quantitatively without further purification as a white solid (560 mg).

¹H NMR (500 MHz, D₂O with C₆D₆ insert as internal reference) δ 3.72 (t, *J* = 6.2 Hz, 8H, H6), 3.58 (m, 8H, H9), 3.38 (s, 4H, H11), 3.24 (t, *J* = 6.4 Hz, 8H, H10), 2.24 (m, 4H, H4a), 2.03 (m, 4H, H5a), 1.93 (m, 4H, H5b), 1.84 (m, 4H, H4b), 1.51 (s, 12H, H7).

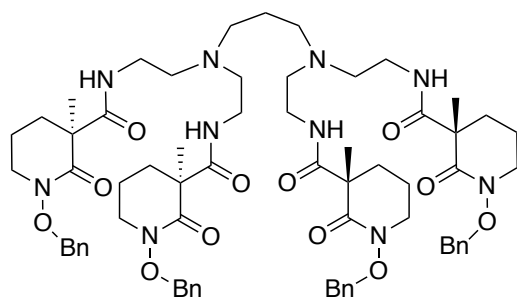
¹³C NMR (126 MHz, D₂O with C₆D₆ insert as internal reference) δ 176.44 (C8), 168.86 (C2), 53.40 (C10), 52.13 (C3), 51.95 (C6) 49.63 (C11), 36.21 (C9), 32.30 (C4), 22.51 (C7), 19.66 (C5).

Elemental analysis calculated for C₃₈H₆₄N₁₀O₁₂·4.4H₂O (*M* = 932.25 g/mol): C 48.95 %, H 7.87 %, N 15.02%. Found: C 49.17%, H 7.96%, N 14.32%.

IR (ATR): ν(cm⁻¹) = 3304 (ν(NH), w), 2936 (ν(CH), w), 2869 (ν(CH), w), 1618 (ν(C=O amide), s), 1524 (ν(C=O hydroxamate), s), 1454, 1374, 1348, 1323, 1266, 1213, 1189, 1021, 997, 921, 649, 555, 524.

(-)-HR-ESI-MS: found 851.46165; calculated 851.46324 for [C₃₈H₆₃N₁₀O₁₂]⁻.

HPLC: *t*_R = 2.87 min (60% MeCN)

(29) – [*S, S, S, S*]-HA-2,3-PIPOBn

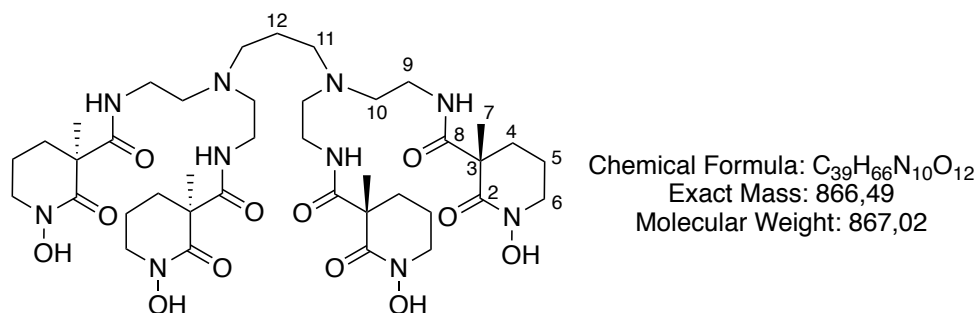
Chemical Formula: C₆₇H₉₀N₁₀O₁₂
 Exact Mass: 1226,67
 Molecular Weight: 1227,52

To a mixture of the hexamine 2,3 **26** (175 mg, 0.710 mmol) in DCM (30 mL) and THF (30 mL), were added [*R*]-PIPO(Bn)CO₂H (785.4 mg, 2.98 mmol), EDC (817.9 mg, 4.26 mmol), HOBT (651.8 mg, 4.26 mmol) and finally DIPEA (384.4 mg, 2.98 mmol). The reaction mixture was stirred 60 h at RT. The solvents and DIPEA were evaporated *in vacuo*, the product was purified by steric exclusion chromatography (Bio-beads SX3), eluted with THF 5mL/min. The desired product is obtained as a thick yellowish oil, m = 200 mg (23 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.37 (m, 20H), 5.03 – 4.85 (m, 8H), 3.34 (m, 12H), 3.24 (dd, *J* = 13.0, 6.3 Hz, 4H), 2.59 (m, 8H), 2.52 (t, *J* = 7.0 Hz, 4H), 2.46 (m, 4H), 1.75 – 1.62 (m, 10H), 1.44 (s, 12H), 1.37 (m, 4H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 171.73, 170.01, 135.39, 130.05, 129.25, 128.89, 75.84, 53.52, 52.71, 51.38, 51.27, 38.29, 31.25, 26.10, 20.81.

HPLC: *t*_R = 4.27 min (86 % MeCN)

(30) – [S, S, S, S]-HA-2,3-PIPO

Palladium on carbon 10% (50% dispersed in water) (100 mg, 0.047 mmol) was activated *in vacuo*, at 100 °C, 2 hours. The solution of [S, S, S, S]-HA-2,3PIPOBn **29** (200 mg, 0.162 mmol) dissolved in methanol (20 mL) was added. An H₂ atmosphere was introduced and the reaction mixture was stirred for 16 h at RT. The catalyst was filtered and the methanol evaporated. The tilted product was obtained quantitatively without further purification as white solids. (140 mg).

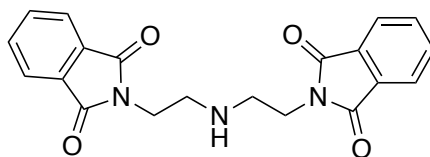
¹H NMR (500 MHz, D₂O with C₆D₆ insert as internal reference) δ 3.71 – 3.61 (t, 8H, H6), 3.40 (t, 8H, H9), 2.80 (t, *J* = 6.7 Hz, 8H, H10), 2.69 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H, H11), 2.20 (m, 4H, H4a), 1.97 (m, 4H, H5a), 1.85 (m, 4H, H5b), 1.78 (m, 6H, H4b and H12), 1.45 (s, 12H, H7).

¹³C NMR (126 MHz, D₂O with acetone insert as internal reference) δ 176.20 (C8), 168.36 (C2), 52.62 (C10), 52.55 (C6), 52.10 (C3), 51.98 (C11), 37.43 (C9), 32.59 (C4), 23.14 (C12), 23.01 (C7), 19.97 (C5).

Elemental analysis calculated for C₃₉H₆₆N₁₀O₁₁·4.4H₂O (*M* = 930.22 g/mol): C 48.95 %, H 7.87 %, N 15,02 %. Found: C 49.17 %, H 7.96 %, N 14. 32 %.

(-)-HR-ESI-MS: found 887.44069; calculated 887.43992 for [C₃₉H₆₆N₁₀O₁₁Cl]⁻.

HPLC: *t_R* = 2.46 min (52 % MeCN)

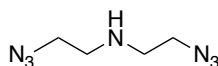
(31) – 2-phthalate-N-(2-phthalatéthyl) éthanamineChemical Formula: $C_{20}H_{17}N_3O_4$

Exact Mass: 363,12

Molecular Weight: 363,37

To diethylenetriamine (3.2 g, 31 mmol) in glacial acetic acid (200 mL) was added phthalic anhydride (11 g, 74.4 mmol). The reaction mixture was stirred 5 h at reflux. The crude product was concentrated *in vacuo*, and the residue was dispersed in hot ethanol. After cooling to 0 °C, the precipitate was filtered and washed thoroughly with methanol to obtain the titled product as a white powder (2.66 g, 24 %)

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.78 – 7.61 (m, 8H), 3.77 (t, $J = 6.1$ Hz, 4H), 2.95 (t, $J = 6.1$ Hz, 4H).

(32) – 2-azido-N-(2-azidoethyl) éthanamineChemical Formula: C₄H₉N₇

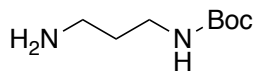
Exact Mass: 155,09

Molecular Weight: 155,17

To bis(2-chloroethyl)amine hydrochloride (10 g, 56.02 mmol) in water (300 mL) was added NaN₃ (21.85 g, 336.12 mmol). The reaction mixture was stirred for 24 h at 80 °C. The mixture was cooled to 20 °C and neutralized by NaOH (4 g, 95 mmol). The color switched from orange to white. The product was extracted with EtOAc (3 x 150 mL), dried *in vacuo* to obtain, without further purification, the titled product as a white powder (8.23 g 95 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.49 – 3.38 (m, 4H), 2.88 – 2.77 (m, 4H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 51.82, 48.62.

(33) – 1-Boc-diaminopropane

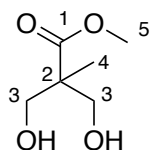
Chemical Formula: C₈H₁₈N₂O₂
Exact Mass: 174,14
Molecular Weight: 174,24

In a 2 L round bottom flask under nitrogen atmosphere, propane-1,3-diamine (74.12 g, 1 mol) was dissolved in dichloromethane (700 mL) and cooled at 0 °C in an ice water bath. Di-tert-butyl dicarbonate (21.83 g, 100 mmol) was dissolved in dichloromethane (300 mL) and added dropwise over 30 min. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and was stirred for 4 h. The mixture was poured into water (500 mL) and the organic phase was washed with water (3 x 500 mL). Aqueous layers were gathered and extracted with chloroform (4 x 100 mL). The combined organic phases were dried over MgSO₄, filtered and the filtrate was evaporated *in vacuo* to afford a white waxy solid (14.98 g, 86 mmol, 86 % yield).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.90 (s, 1H), 3.19 (m, 2H), 2.75 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.60 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.43 (s, 9H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃ + NaOD): δ = 156.25, 79.13, 39.82, 38.56, 33.57, 28.52.

Elemental analysis calculated for C₈H₁₈N₂O₂ (*M* = 174.24 g.mol⁻¹): C 55.15 %; H 10.21 %; N 16.08 %. Found: C 54.47 %; H 10.71 %; N 15.82 %.

(34) – Methyl 2,2-bis(hydroxymethyl)propanoate

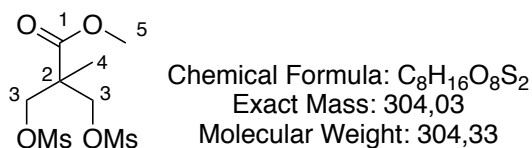
Chemical Formula: C₆H₁₂O₄
 Exact Mass: 148,07
 Molecular Weight: 148,16

To a 2,2-bis(hydroxymethyl)propanoate (15 g, 112 mmol) solution in methanol (160 mL) was added a catalytic amount of sulfuric acid (0.5 mL). The resulting mixture was stirred overnight under reflux, after which it was allowed to cool down to room temperature. Sodium bicarbonate (2.1 g, 25 mmol) was added and the solution was stirred for 10 min and then was filtered. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue was dispersed in dichloromethane (120 mL). The salts were filtered and dichloromethane was removed to obtain a colorless viscous oil (16.1 g, 109 mmol, 97 % yield) without further purification.

¹H NMR (400.16 MHz, CDCl₃) δ = 3.893 (d, J = 11.4 Hz, 2H, 3a-H), 3.760 (s, 3H, 5-H), 3.710 (d, J = 11.4 Hz, 2H, 3b-H), 2.700 (s, 2H, O-H), 1.065 (s, 3H, 4-H).

¹³C NMR (100.63 MHz, CDCl₃) δ = 176.54 (1-C), 68.46 (3-C), 52.35 (5-C), 49.31 (2-C), 17.26 (4-C).

Elemental analysis calculated for C₆H₁₀O₄ (M = 148.07 g·mol⁻¹): C 48.64 %; H 8.16 %. Found: C %; H %; N %.

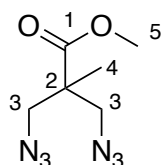
(35) – Methyl-2-2-bis[(methylsulfonyl)oxymethyl]propanoate

Methane sulfonyl chloride (27.2 g, 238 mmol) was added dropwise to a ice-cooled solution of **34** (16 g, 108 mmol) in Et₃N (25.1 g, 248 mmol) and dichloromethane (185 mL) under nitrogen. The mixture was allowed to warm to room temperature and was stirred overnight. The reaction mixture was washed with 0.2 M HCl (150 mL), extracted with dichloromethane (150 mL) and washed with water (300 mL). The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered and the solvent was removed *in vacuo* to provide a white/grey solid (31.96 g, 105 mmol, 97 % yield) without further purifications.

¹H NMR (400.16 MHz, CDCl₃) δ = 4.428 (d, *J* = 11,4 Hz, 2H, 3a-H), 4.313 (d, *J* = 11.4 Hz, 2H, 3b-H), 3.780 (s, 3H, 5-H), 3.045 (s, 6H, Ms), 1.327 (s, 3H, 4-H).

¹³C NMR (100.63 MHz, CDCl₃) δ = 171.79 (1-C), 69.26 (3-C), 53.02 (5-C), 46.85 (2-C), 37.49 (Ms), 17.80 (4-C).

Elemental analysis calculated for C₈H₁₆O₈S₂ (*M* = 304.33 g.mol⁻¹): C 31.36 %; H 5.92 %; S 20.93%. Found: C 31.33 %; H 5.04 %; S 20.93 %.

(36) – Methyl-2,2 bis(azidomethyl)propanoateChemical Formula: C₆H₁₀N₆O₂

Exact Mass: 198,09

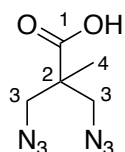
Molecular Weight: 198,19

To a stirred solution of **35** (28 g, 92 mmol) in DMF (100 mL) was added NaN₃ (33.3 g, 551.4 mmol) and tetrabutylammonium iodide (1.7 g, 4.6 mmol). The reaction mixture was stirred under nitrogen atmosphere at 100 °C for 24 h. The reaction mixture was allowed to cool to RT and filtered. The filtrate was concentrated *in vacuo*, then diluted with EtOAc (200 mL) and washed with a 0.2 M thiosulfate solution (200 mL) and water (3 X 200 mL). The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. Purification by chromatography on a silica column (DCM/heptane: 40/60) afforded a colorless oil (12 g, 60.7 mmol, 66 % yield).

¹H NMR (400.16 MHz, CDCl₃) δ = 3.759 (s, 3H, 5-H), 3.598 (d, *J* = 12.3 Hz, 2H, 3a-H), 3.489 (d, *J* = 12.2 Hz, 2H, 3b-H), 1.22 (s, 3H, 4-H).

¹³C NMR (100.63 MHz, CDCl₃) δ = 173.74 (1-C), 55.07 (5-C), 52.63 (3-C), 47.77 (2-C), 19.50 (4-C).

Elemental analysis calculated for C₆H₁₀N₆O₂ (*M* = 198.19 g.mol⁻¹): C 36,36 %; H 5,09 %; N 42,41 %. Found: C 36,44 %; H 5,29 %; N 42,76 %.

(37) – 2,2-Bis(azidomethyl)propionic acid

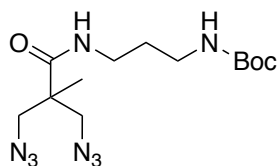
Chemical Formula: C₅H₈N₆O₂
Exact Mass: 184,07
Molecular Weight: 184,16

To a solution of ester **36** (5.06 g, 25.53 mmol) in a mixture of THF (80 mL) MeOH (80 mL) and water (50 mL), was added NaOH (3,06 g, 76.59 mmol). The reaction mixture was stirred overnight at RT, then neutralized with a 0.5 M HCl solution in water (180 mL). The product was extracted with AcOEt, washed with water, dried with MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The titled product was obtained as a colorless oil (4.5 g, 96 %).

¹H NMR (400.16 MHz, CDCl₃): δ = 3.621 (d, J = 12.3 Hz, 2H, 3a-H), 3.151 (d, J = 12.3 Hz, 2H, 3b-H), 1.267 (s, 3H, 4-H).

¹³C NMR (100.63 MHz, CDCl₃): δ = 179.35 (1-C), 54.77 (3-C), 47.67 (2-C), 19.46 (4-C).

Elemental analysis calculated for C₅H₈N₆O₂ (M = 184.16 g.mol⁻¹): C 32,61 %; H 4,38 %; N 45,64 %. Found: C 32,69 %; H 4,48 %; N 45,59 %.

(38)

Chemical Formula: C₁₃H₂₄N₈O₃
Exact Mass: 340,20
Molecular Weight: 340,39

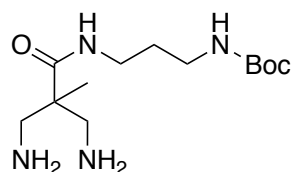
To a mixture of **37** (2 g, 10.09 mmol), **33** (1.76 g, 10.09 mmol), EDC (2.89 g, 15.14 mmol) and HOBT (2.32 g, 15.14 mmol) in THF (120 mL), was added DIPEA (3.905 g, 30.27 mmol) dissolved in THF (30 mL). The reaction mixture was stirred for 24 h at RT. The solution was concentrated *in vacuo* and the residue dissolved in EtOAc. The organic phase was washed thoroughly with water and finally by a basic solution (water/K₂CO₃), dried on MgSO₄ and concentrated in vacuo. The titled product was obtained as a yellow oil (3.08 g, 90 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.07 (s, 1H), 5.00 – 4.75 (s, 1H), 3.64 – 3.48 (dd, 4H), 3.33 (q, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.21 (m, 2H), 1.63 (p, *J* = 6.1 Hz, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.28 (s, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 172.87, 157.14, 79.77, 56.30, 47.56, 36.95, 35.86, 30.00, 28.49, 19.12.

Elemental analysis calculated for C₁₃H₂₄N₈O₃ (*M* = 340.39 g.mol⁻¹): C 45.87 %; H 7.11 %; N 32.92 %. Found: C 46.26 %; H 7.81 %; N 32.18 %.

HPLC: *t*_R = 2.88 min (60 % MeCN).

(39)

Chemical Formula: C₁₃H₂₈N₄O₃
Exact Mass: 288,22
Molecular Weight: 288,39

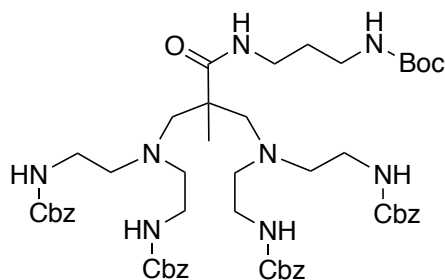
Palladium on carbon 10% (300 mg, 0.282 mmol) was activated *in vacuo* for 2 h at 100 °C. The solution of **38** (3.0 g, 8.81 mmol) dissolved in methanol (100 mL) was added. An H₂ atmosphere was introduced and the reaction mixture was stirred overnight at RT. The catalyst was filtered and the methanol evaporated. The tilted product was obtained quantitatively without further purification as a colourless oil (2.5 g) .

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 300 K) δ 8.78 (s, 1H), 5.21 (s, 1H), 3.29 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.13 (q, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.85 (s, 4H), 1.64 – 1.61 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.09 (s, 3H).

¹³C NMR (100.63 MHz, D₂O + DCl): δ = 172.88 , 157.15, 79.82, 56.37, 47.59 , 37.02, 35.92, 30.07, 28.53, 19.16.

Elemental analysis calculated for C₁₃H₂₈N₄O₃ (*M* = 288.39 g.mol⁻¹): C 54.14 %; H 9.79 %; N 19.43 %. Found: C 53.91 %; H 9.04 %; N 18.65 %.

HPLC: *t_R* = 0.31 min (11 % MeCN)

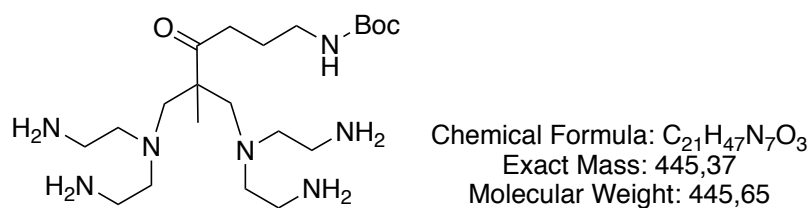
(40) – Hexamine 2,3B Cbz

Chemical Formula: C₅₃H₇₂N₈O₁₁
Exact Mass: 996,53
Molecular Weight: 997,20

To a mixture of **39** (1.25 g, 4.33 mmol) in hot ^tBuOH (50 mL, 50 °C) was added Az-Cbz (3.88 g, 19.07 mmol). The reaction mixture was stirred for 48 h at 50 °C. The crude product was concentrated *in vacuo*, and purified by chromatography on a silica column gel (heptane/ethyl acetate : 6/4) to afford compound as a thick oil (300 mg, 7 % yield)

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.28 (m, 20H), 5.04 (s, 8H), 3.16 (s, 10H), 2.75 (d, *J* = 13.8 Hz, 2H), 2.60 – 2.44 (m, 6H), 1.60 (s, 12H), 1.40 (d, *J* = 6.1 Hz, 9H), 1.09 (s, 3H).

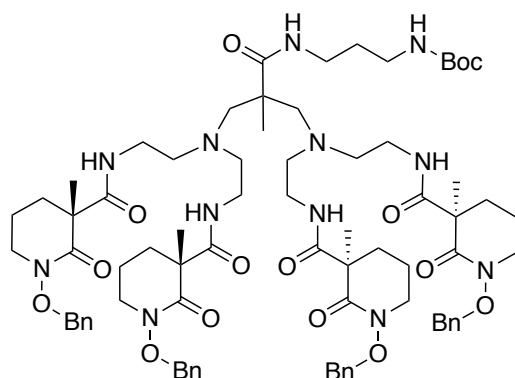
HPLC: *t*_R = 4.96 min (99 % MeCN)

(41) – Hexaamine 2,3B

Palladium on carbon 10% (10 mg, 0.094 mmol) was activated in vacuo for 1 hour at 100 °C. The solution of **40** (300 mg, 0.30 mmol) dissolved in methanol (20 mL) was added. An H₂ atmosphere was introduced and the reaction mixture was stirred overnight at RT. The catalyst was filtered and the methanol evaporated. The tilted product was obtained quantitatively without further purification as a colourless oil. (138 mg)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.24 (q, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 2H), 3.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.84 (d, *J* = 13.8 Hz, 2H), 2.78 – 2.66 (m, 8H), 2.63 – 2.52 (m, 8H), 2.41 – 2.27 (m, 2H), 1.65 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.33 (s, 3H).

HPLC: *t_R* = 0.31 min (11 % MeCN).

(42) – [R, R, R, R]-HA-2,3B-PIPOBn

Chemical Formula: C₇₇H₁₀₈N₁₂O₁₅
 Exact Mass: 1440,81
 Molecular Weight: 1441,78

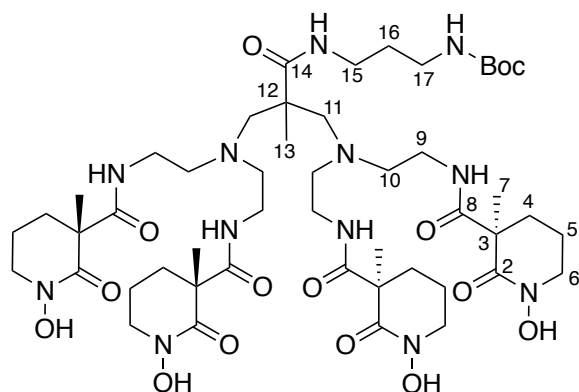
To a mixture of the **41** (138 mg, 0.30 mmol) in THF (40 mL), were added [*S*]-PIPO(Bn)CO₂H (503 mg, 3.97 mmol), EDC·HCl (500 mg, 2.60 mmol), HOBt (398 mg, 2.60 mmol) and finally DIPEA (742 mg, 5.74 mmol). The reaction mixture was stirred for 48 h at RT. The solvents were evaporated *in vacuo*, the crude product was dissolved in DCM and washed by water and a basic solution (water/K₂CO₃ sat.). The product was purified by flash chromatography on a silica column (DCM/MeOH: 1/0 → 94/6) The desired product was obtained as a pale yellow solid (105 mg, 24 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.47 – 7.33 (m, 20H), 5.00 – 4.89 (m, 8H), 3.41 – 3.20 (m, 18H), 3.11 (s, 2H), 2.95 – 2.87 (m, 2H), 2.59 (m, 8H), 2.46 (s, 4H), 2.31 (m, 2H), 1.68 (m, 14H), 1.44 (s, 9H), 1.40 (s, 12H), 1.34 (s, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 171.17, 169.69, 134.92, 134.89, 129.69, 129.65, 128.94, 128.92, 128.54, 75.49, 62.36, 54.20, 53.95, 51.02, 50.78, 48.95, 37.44, 37.36, 30.72, 29.70, 28.52, 25.90, 25.37, 20.37.

(+)-HR-ESI-MS-MS: found 1441.81693 ; calculated 1441.81299 for [C₇₇H₁₀₉N₁₂O₁₅].

HPLC: *t*_R = 3.44 min (70 % MeCN)

(43) – [R, R, R, R]-HA-2,3B PIPO

Chemical Formula: C₄₉H₈₄N₁₂O₁₅
 Exact Mass: 1080,62
 Molecular Weight: 1081,28

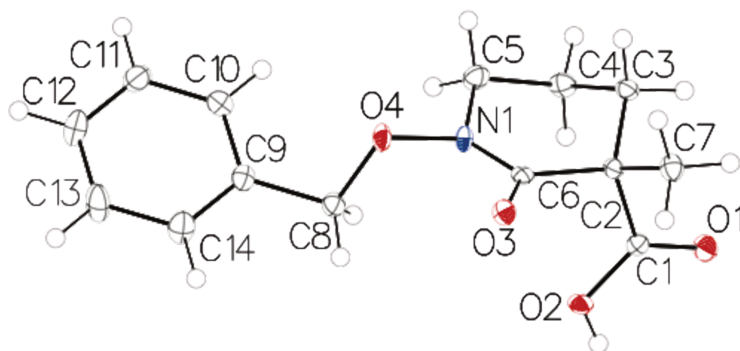
Palladium on charcoal 5 % (50 % dispersed in water) (100 mg, 0.024 mmol) was activated in vacuo at 100 °C for 2 h. The solution of HA-2,3B-PIOBn **42** (95 mg, 0.066 mmol) dissolved in methanol (20 mL) was added. An H₂ atmosphere was introduced and the reaction mixture was stirred for 16 h at RT. The catalyst was filtered and the methanol evaporated. The titled product was obtained quantitatively without further purification as a white solid (70 mg).

¹H NMR (500 MHz, D₂O with C₆D₆ insert as internal reference) δ 3.76 – 3.64 (m, 8H, H6), 3.32 (t, *J* = 7.1 Hz, 8H, H9), 3.25 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, H15), 3.12 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, H17), 2.93 (m, 2H, H11a), 2.79 – 2.59 (m, 8H, H10), 2.55 – 2.44 (m, 2H, H11b), 2.28 – 2.18 (m, 4H, H4a), 2.05 – 1.96 (m, 4H, H5a), 1.91 – 1.82 (m, 4H, H5b), 1.78 (td, *J* = 11.9, 10.8, 2.6 Hz, 4H, H4b), 1.70 (p, *J* = 7.6 Hz, 2H, H16), 1.47 (s, 12H, H7), 1.44 (s, 9H, Boc), 1.30 (s, 3H, H13).

¹³C NMR (126 MHz, D₂O with C₆D₆ insert as internal reference) δ 178.80 (C14), 175.37 (C8), 168.94 (C2), 158.58 (Cquad Boc), 81.26 (C=O Boc), 62.40 (C12), 62.31 (C11), 53.84 (C10), 52.13 (C3), 51.76 (C6), 49.31 (MeOH), 38.18 (C17), 37.85 (C15), 37.69 (C9), 32.14 (C4), 29.10 (C16), 28.18 (CH₃ Boc), 23.02 (C7), 19.79 (C5), 18.33 (C13).

(+)-HR-ESI-MS-MS: found 1103.60693 ; calculated 1103.60713 for [C₄₉H₈₄N₁₂O₁₅Na].

Annex

*Crystal data***(5) - PIPOBnCO₂H (Racemic)**

Experimental. Single clear light colourless prism-shaped crystals of **(17OF122)** were recrystallised from a mixture of MeOH and Et₂O by slow evaporation. A suitable crystal (0.35x0.17x0.17) mm³ was selected and mounted on a MITIGEN holder oil on a Bruker D8 VENTURE diffractometer. The crystal was kept at $T = 100(1)$ K during data collection. Using **Olex2** (Dolomanov et al., 2009), the structure was solved with the **ShelXT** (Sheldrick, 2015) structure solution program, using the Intrinsic Phasing solution method. The model was refined with version 2018/1 of **ShelXL** (Sheldrick, 2015) using Least Squares minimisation.

Crystal Data. C₁₄H₁₇NO₄, $M_r = 263.28$, orthorhombic, *Pbca* (No. 61), $a = 12.4522(3)$ Å, $b = 10.9857(3)$ Å, $c = 19.4584(6)$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, $V = 2661.83(13)$ Å³, $T = 100(1)$ K, $Z = 8$, $Z' = 1$, $\mu(\text{CuK}\alpha) = 0.799$, 69139 reflections measured, 2357 unique ($R_{int} = 0.0403$) which were used in all calculations. The final wR_2 was 0.0813 (all data) and R_1 was 0.0320 ($I > 2(I)$).

Table 1 Crystal data and structure refinement for PIPOBnCO₂H

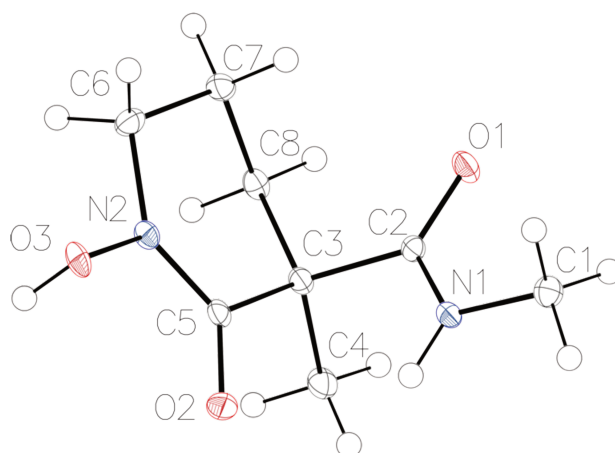
Identification code	17OF122
Empirical formula	C ₁₄ H ₁₇ NO ₄
Formula weight	263.28
Temperature (K)	100(1)
Crystal system	orthorhombic
Space group	<i>Pbca</i>
<i>a</i> (Å)	12.4522(3)
<i>b</i> (Å)	10.9857(3)
<i>c</i> (Å)	19.4584(6)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
Volume (Å ³)	2661.83(13)
<i>Z</i>	8
ρ_{calc} (g cm ⁻³)	1.314
μ (mm ⁻¹)	0.799
F(000)	1120.0
Crystal size (mm ³)	0.347 × 0.171 × 0.166
Radiation	CuK α (λ = 1.54178)
2 Θ range for data collection (°)	9.09 to 133.474
Index ranges	-14 ≤ <i>h</i> ≤ 13, -13 ≤ <i>k</i> ≤ 13, -23 ≤ <i>l</i> ≤ 23
Reflections collected	69139
Independent reflections	2357 [<i>R</i> _{int} = 0.0403, <i>R</i> _{sigma} = 0.0104]
Data/restraints/parameters	2357/0/174
Goodness-of-fit on F ²	1.033
Final <i>R</i> indexes [<i>I</i> ≥ 2 σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.0320, <i>wR</i> ₂ = 0.0800
Final <i>R</i> indexes [all data]	<i>R</i> ₁ = 0.0335, <i>wR</i> ₂ = 0.0813
Largest diff. peak/hole (e Å ⁻³)	0.27/-0.22

Table 2: Bond Lengths in Å.

Atom	Atom	Length/Å
O3	C6	1.2314(14)
O2	C1	1.3161(14)
O4	N1	1.4045(12)
O4	C8	1.4562(14)
O1	C1	1.2089(14)
N1	C6	1.3465(15)
N1	C5	1.4583(15)
C6	C2	1.5372(15)
C1	C2	1.5357(15)
C2	C3	1.5382(15)
C2	C7	1.5382(15)
C9	C8	1.5038(16)
C9	C10	1.3943(17)
C9	C14	1.3848(17)
C3	C4	1.5221(16)
C4	C5	1.5143(17)
C10	C11	1.3859(18)
C11	C12	1.3842(19)
C12	C13	1.3837(19)
C14	C13	1.3937(18)

Table 3 : Bond Angles in ° .

Atom	Atom	Atom	Angle/°
N1	O4	C8	109.56(8)
O4	N1	C5	111.72(8)
C6	N1	O4	116.34(9)
C6	N1	C5	128.75(10)
O3	C6	N1	122.41(10)
O3	C6	C2	121.70(10)
N1	C6	C2	115.88(10)
O2	C1	C2	114.83(9)
O1	C1	O2	124.21(10)
O1	C1	C2	120.96(10)
C6	C2	C3	111.64(9)
C6	C2	C7	108.62(9)
C1	C2	C6	111.19(9)
C1	C2	C3	107.62(9)
C1	C2	C7	107.19(9)
C7	C2	C3	110.49(9)
C10	C9	C8	119.91(11)
C14	C9	C8	121.22(11)
C14	C9	C10	118.79(11)
C4	C3	C2	110.30(9)
O4	C8	C9	107.27(9)
C5	C4	C3	109.18(10)
C11	C10	C9	120.93(12)
N1	C5	C4	110.98(9)
C12	C11	C10	119.96(12)
C13	C12	C11	119.52(12)
C9	C14	C13	120.24(12)
C12	C13	C14	120.52(12)

(8) – PIPOMAH (Racemic)

Experimental. Single clear light colourless block-shaped crystals of **(20180302OF145)** were recrystallised from MeOH by slow evaporation. A suitable crystal (0.34x0.34x0.30) mm³ was selected and mounted on a MITIGEN holder oil on a Bruker D8 VENTURE diffractometer. The crystal was kept at $T = 100(1)$ K during data collection. Using **Olex2** (Dolomanov et al., 2009), the structure was solved with the **ShelXT** (Sheldrick, 2015) structure solution program, using the Intrinsic Phasing solution method. The model was refined with version 2018/1 of **ShelXL** (Sheldrick, 2015) using Least Squares minimisation.

Crystal Data. C₈H₁₄N₂O₃, $M_r = 186.21$, triclinic, P-1 (No. 2), $a = 7.3673(6)$ Å, $b = 7.7222(5)$ Å, $c = 8.2299(5)$ Å, $\alpha = 75.474(4)^\circ$, $\beta = 76.512(5)^\circ$, $\gamma = 83.445(5)^\circ$, $V = 439.97(5)$ Å³, $T = 100(1)$ K, $Z = 2$, $Z' = 1$, $\mu(\text{CuK}\alpha) = 0.903$, 22541 reflections measured, 1549 unique ($R_{int} = 0.0272$) which were used in all calculations. The final wR_2 was 0.0828 (all data) and R_1 was 0.0318 ($I > 2(I)$).

Table 1 Crystal data and structure refinement for PIPOHMAH

Identification code	OF145
Empirical formula	C ₈ H ₁₄ N ₂ O ₃
Formula weight	186.21
Temperature (K)	100(1)
Crystal system	triclinic
Space group	P-1
<i>a</i> (Å)	7.3673(6)
<i>b</i> (Å)	7.7222(5)
<i>c</i> (Å)	8.2299(5)
α (°)	75.474(4)
β (°)	76.512(5)
γ (°)	83.445(5)
Volume (Å ³)	439.97(5)
<i>Z</i>	2
ρ_{calc} (g cm ⁻³)	1.406
μ (mm ⁻¹)	0.903
F(000)	1120.0
Crystal size (mm ³)	0.34 × 0.34 × 0.30
Radiation	CuK α (λ = 1.541840)
2 Θ range for data collection (°)	5.683 to 66.700
Index ranges	-14 ≤ <i>h</i> ≤ 13, -13 ≤ <i>k</i> ≤ 13, -23 ≤ <i>l</i> ≤ 23
Reflections collected	22541
Independent reflections	1549 [<i>R</i> _{int} = 0.0272, <i>R</i> _{sigma} = 0.0104]
Data/restraints/parameters	2357/0/121
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.097
Final <i>R</i> indexes [<i>I</i> ≥ 2 σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.0318, <i>wR</i> ₂ = 0.0828
Final <i>R</i> indexes [all data]	<i>R</i> ₁ = 0.0324, <i>wR</i> ₂ = 0.0820
Largest diff. peak/hole (e Å ⁻³)	0.285/-0.219

Table 2: Bond Lengths in Å.

Atom	Atom	Length/Å
O1	C2	1.2414(15)
O3	N2	1.3965(12)
O2	C5	1.2331(15)
N2	C5	1.3385(16)
N2	C6	1.4582(15)
N1	C2	1.3264(16)
N1	C1	1.4542(15)
C3	C2	1.5505(15)
C3	C5	1.5399(16)
C3	C4	1.5415(16)
C3	C8	1.5299(16)
C7	C6	1.5227(17)
C7	C8	1.5226(17)

Table 3: Bond Angles in ° for OF145.

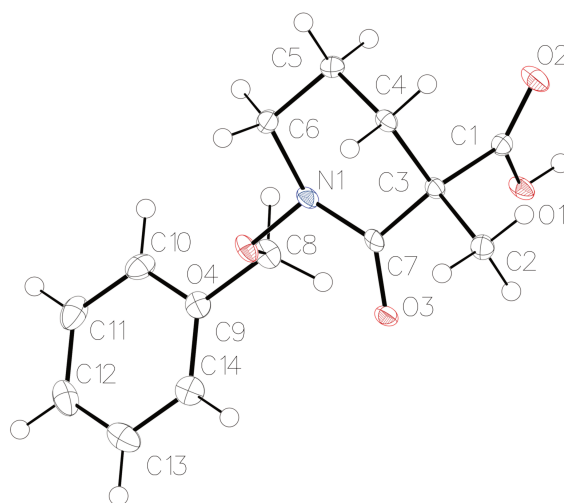
Atom	Atom	Atom	Angle/°
O3	N2	C6	112.01(9)
C5	N2	O3	117.39(9)
C5	N2	C6	130.51(10)
C2	N1	C1	122.82(10)
C5	C3	C2	108.24(9)
C5	C3	C4	108.90(9)
C4	C3	C2	107.38(9)
C8	C3	C2	110.42(9)
C8	C3	C5	111.35(9)
C8	C3	C4	110.44(10)
C8	C7	C6	110.95(10)
O1	C2	N1	123.64(11)
O1	C2	C3	120.10(10)
N1	C2	C3	116.22(10)
O2	C5	N2	122.28(11)
O2	C5	C3	121.18(10)
N2	C5	C3	116.54(10)
N2	C6	C7	111.69(10)
C7	C8	C3	111.37(9)

Table 4 : Hydrogen Bond information.

D	H	A	d(D-H)/Å	d(H-A)/Å	d(D-A)/Å	D-H-A/deg
O3	H3	O1 ¹	0.84	1.82	2.6497(12)	172.1
N1	H1	O2 ²	0.88	2.15	2.8685(13)	139.1

Table 5: Torsion Angles in ° .

Atom	Atom	Atom	Atom	Angle/°
C6	N2	C5	C3	1.61(18)

([S]-5) – [S]-PIPOBnCO₂H

Experimental. Single clear light colourless plate-shaped crystals of **20180711OF186** were recrystallised from a mixture of hexane and ethanol by slow evaporation. A suitable crystal 0.67x0.30x0.23 mm³ was selected and mounted on a MITIGEN holder oil on an Bruker D8 Venture diffractometer. The crystal was kept at a steady $T = 100(2)$ K during data collection. The structure was solved with the **ShelXT** (Sheldrick, 2015) structure solution program using the Intrinsic Phasing solution method and by using **Olex2** (Dolomanov et al., 2009) as the graphical interface. The model was refined with version 2018/3 of **ShelXL** (Sheldrick, 2015) using Least Squares minimisation.

Crystal Data. C₁₄H₁₇NO₄, $M_r = 263.28$, orthorhombic, $P2_12_12_1$ (No. 19), $a = 5.7506(3)$ Å, $b = 9.4843(4)$ Å, $c = 24.1501(11)$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, $V = 1317.16(11)$ Å³, $T = 100(2)$ K, $Z = 4$, $Z' = 1$, $\mu(\text{CuK}\alpha) = 0.807$, 27250 reflections measured, 2327 unique ($R_{int} = 0.0350$) which were used in all calculations. The final wR_2 was 0.0592 (all data) and R_1 was 0.0233 ($I > 2(I)$).

Table 1 Crystal data and structure refinement for [*S*]-PIPOBnCO₂H

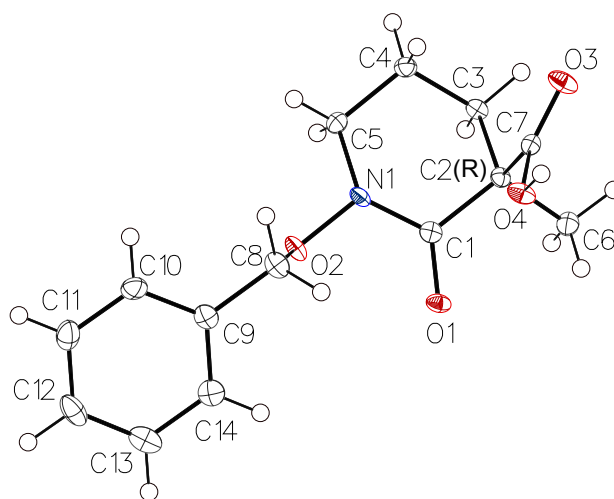
Identification code	OF186
Empirical formula	C ₁₄ H ₁₇ NO ₄
Formula weight	263.28
Temperature (K)	100(2)
Crystal system	orthorhombic
Space group	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
<i>a</i> (Å)	5.7506(3)
<i>b</i> (Å)	9.4843(4)
<i>c</i> (Å)	24.1501(11)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
Volume (Å ³)	1317.16(11)
<i>Z</i>	4
<i>Z'</i>	1
ρ_{calc} (g cm ⁻³)	1.328
μ (mm ⁻¹)	0.807
F(000)	1120.0
Crystal size (mm ³)	0.347 × 0.171 × 0.166
Radiation	CuK α (λ = 1.54178)
2 Θ range for data collection (°)	3.660 to 66.676
Index ranges	-14 ≤ <i>h</i> ≤ 13, -13 ≤ <i>k</i> ≤ 13, -23 ≤ <i>l</i> ≤ 23
Reflections collected	27250
Independent reflections	2327 [<i>R</i> _{int} = 0.0350, <i>R</i> _{sigma} = 0.0151]
Data/restraints/parameters	2327/0/174
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.064
Final <i>R</i> indexes [<i>I</i> ≥ 2 σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.0233, <i>wR</i> ₂ = 0.0590
Final <i>R</i> indexes [all data]	<i>R</i> ₁ = 0.0236, <i>wR</i> ₂ = 0.0592
Largest diff. peak/hole / e Å ⁻³	0.137/-0.154

Table 2: Bond Lengths in Å.

Atom	Atom	Length/Å
O3	C7	1.2326(18)
O4	N1	1.4113(15)
O4	C8	1.4533(17)
O1	C1	1.3288(18)
O2	C1	1.2059(19)
N1	C7	1.3549(19)
N1	C6	1.4665(19)
C7	C3	1.5356(19)
C1	C3	1.535(2)
C5	C4	1.521(2)
C5	C6	1.515(2)
C4	C3	1.531(2)
C3	C2	1.537(2)
C9	C14	1.393(2)
C9	C8	1.504(2)
C9	C10	1.390(2)
C14	C13	1.390(2)
C10	C11	1.387(2)
C13	C12	1.390(3)
C11	C12	1.384(3)

Table 3: Bond Angles in °.

Atom	Atom	Atom	Angle/°
N1	O4	C8	108.79(10)
O4	N1	C6	109.98(11)
C7	N1	O4	114.82(11)
C7	N1	C6	127.31(12)
O3	C7	N1	121.86(13)
O3	C7	C3	122.66(13)
N1	C7	C3	115.45(12)
O1	C1	C3	113.41(12)
O2	C1	O1	123.94(14)
O2	C1	C3	122.59(13)
C6	C5	C4	109.91(12)
C5	C4	C3	111.03(12)
C7	C3	C2	109.23(12)
C1	C3	C7	110.50(11)
C1	C3	C2	107.09(12)
C4	C3	C7	110.72(12)
C4	C3	C1	109.09(12)
C4	C3	C2	110.14(12)
N1	C6	C5	110.37(12)
C14	C9	C8	120.35(14)
C10	C9	C14	119.29(15)
C10	C9	C8	120.34(14)
C13	C14	C9	120.35(15)
O4	C8	C9	105.92(12)
C11	C10	C9	120.54(15)
C12	C13	C14	119.72(16)
C12	C11	C10	119.88(15)
C11	C12	C13	120.22(15)

([R]-5) - [R]-PIPOBnCO₂H

Experimental. Single clear light colorless prism-shaped crystals of **compound 5 (R)** were recrystallized from ethanol by slow evaporation. A suitable crystal 0.73x0.19x0.18 mm³ was selected and mounted on a MITIGEN holder oil on a Bruker D8 Venture diffractometer. The crystal was kept at a steady $T = 100.0(1)$ K during data collection. The structure was solved with the **ShelXT** (Sheldrick, 2015) structure solution program using the Intrinsic Phasing solution method and by using **Olex2** (Dolomanov et al., 2009) as the graphical interface. The model was refined with version 2018/3 of **ShelXL** (Sheldrick, 2015) using Least Squares minimization.

Crystal Data. C₁₄H₁₇NO₄, $M_r = 263.28$, orthorhombic, $P2_12_12_1$ (No. 19), $a = 5.7481(2)$ Å, $b = 9.4781(3)$ Å, $c = 24.1651(7)$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, $V = 1316.54(7)$ Å³, $T = 100.0(1)$ K, $Z = 4$, $Z' = 1$, $\mu(\text{CuK}\alpha) = 0.808$, 16663 reflections measured, 2325 unique ($R_{int} = 0.0310$) which were used in all calculations. The final wR_2 was 0.0582 (all data) and R_1 was 0.0237 ($I > 2(I)$).

Table 1 Crystal data and structure refinement for [R]-PIPOBnCO₂H

Identification code	OF338
Empirical formula	C ₁₄ H ₁₇ NO ₄
Formula weight	263.28
Temperature (K)	100.0(1)
Crystal system	orthorhombic
Space group	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
<i>a</i> (Å)	5.7481(2)
<i>b</i> (Å)	9.4781(3)
<i>c</i> (Å)	24.1651(7)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
Volume (Å ³)	1316.54(7)
<i>Z</i>	4
<i>Z'</i>	1
ρ_{calc} (g cm ⁻³)	1.328
μ (mm ⁻¹)	0.808
F(000)	1120.0
Crystal size (mm ³)	0.73x0.19x0.18
Radiation	CuK α (λ = 1.54184)
2 Θ range for data collection (°)	3.658 to 66.611
Index ranges	-14 \leq h \leq 13, -13 \leq k \leq 13, -23 \leq l \leq 23
Reflections collected	16663
Independent reflections	2325 [<i>R</i> _{int} = 0.0350, <i>R</i> _{sigma} = 0.0151]
Data/restraints/parameters	2278/0/175
Goodness-of-fit on F ²	1.071
Final <i>R</i> indexes [<i>I</i> \geq 2 σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.0237, w <i>R</i> ₂ = 0.0578
Final <i>R</i> indexes [all data]	<i>R</i> ₁ = 0.0246, w <i>R</i> ₂ = 0.0582
Largest diff. peak/hole / e Å ⁻³	0.133/-0.170

Table 2: Bond Lengths in Å.

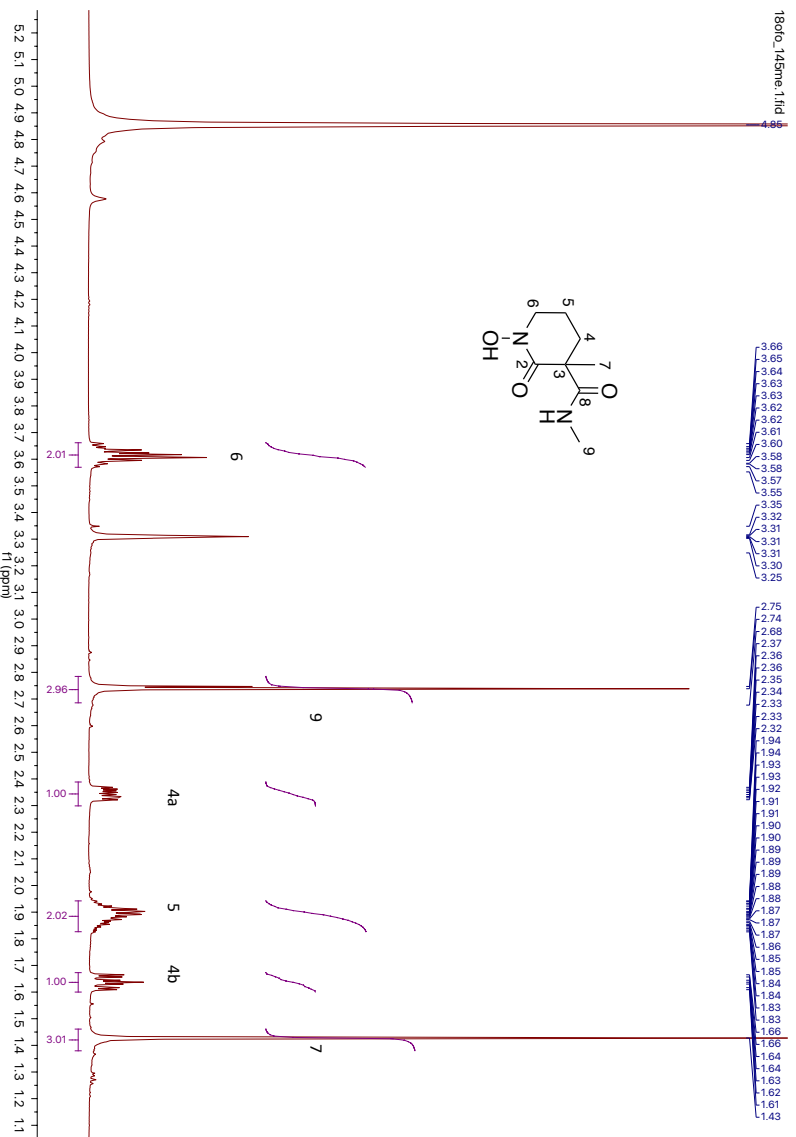
Atom	Atom	Length/Å
O1	C1	1.2327(19)
O4	C7	1.3289(18)
O2	N1	1.4108(15)
O2	C8	1.4536(18)
O3	C7	1.2070(19)
N1	C5	1.4645(19)
N1	C1	1.356(2)
C3	C4	1.522(2)
C3	C2	1.532(2)
C4	C5	1.515(2)
C6	C2	1.538(2)
C10	C11	1.387(2)
C10	C9	1.390(2)
C14	C13	1.391(2)
C14	C9	1.393(2)
C8	C9	1.502(2)
C13	C12	1.388(3)
C11	C12	1.384(3)
C1	C2	1.535(2)
C7	C2	1.534(2)

Table 3: Bond Angles in °.

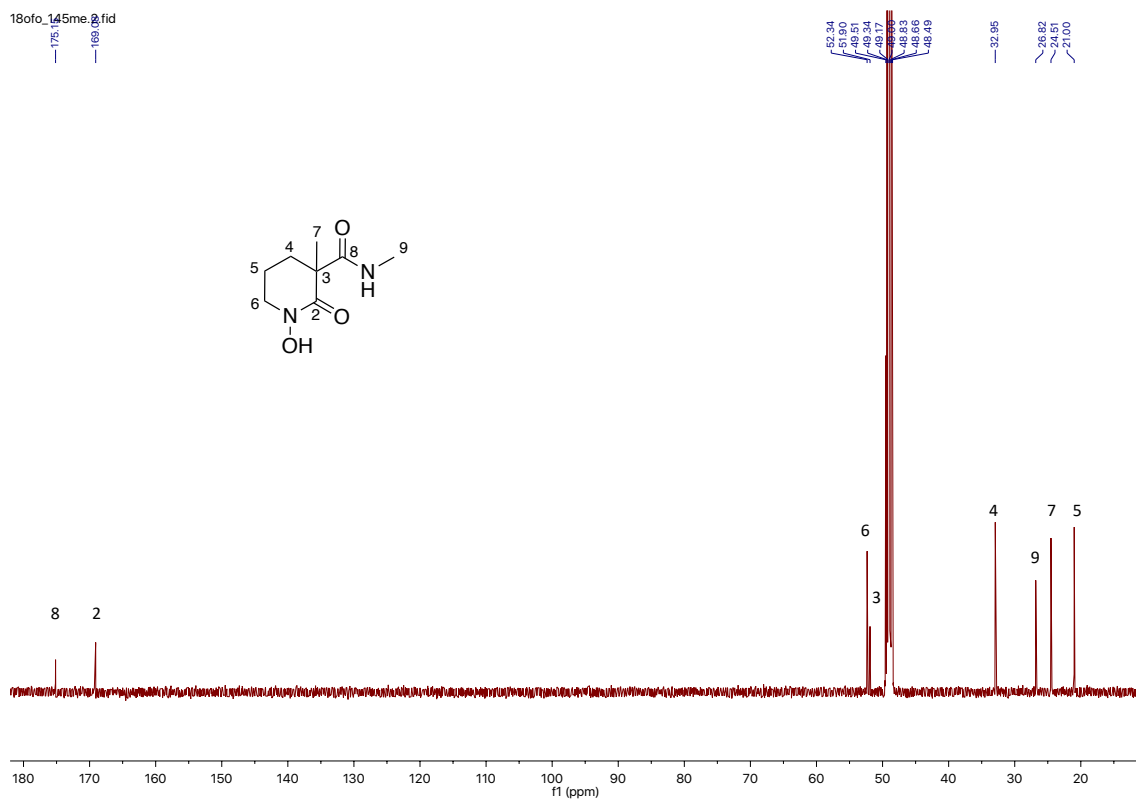
Atom	Atom	Atom	Angle/°
N1	O2	C8	108.90(10)
O2	N1	C5	110.02(11)
C1	N1	O2	114.79(12)
C1	N1	C5	127.21(12)
C4	C3	C2	110.98(12)
C5	C4	C3	109.90(13)
N1	C5	C4	110.45(12)
C11	C10	C9	120.65(16)
C13	C14	C9	120.24(16)
O2	C8	C9	106.05(12)
C12	C13	C14	119.86(16)
C12	C11	C10	119.79(16)
C11	C12	C13	120.25(15)
O1	C1	N1	121.83(13)
O1	C1	C2	122.67(14)
N1	C1	C2	115.46(13)
O4	C7	C2	113.40(12)
O3	C7	O4	123.93(14)
O3	C7	C2	122.61(13)
C3	C2	C6	110.03(12)
C3	C2	C1	110.72(12)
C3	C2	C7	109.09(12)
C1	C2	C6	109.29(12)
C7	C2	C6	107.10(12)
C7	C2	C1	110.55(12)
C10	C9	C14	119.20(15)
C10	C9	C8	120.49(15)
C14	C9	C8	120.29(14)

RMN

(9) - PIPOMAH



Spectre RMN ¹H de (9) (500 MHz, MeOD)



Spectre RMN ^{13}C de (9) (126 MHz, MeOD)

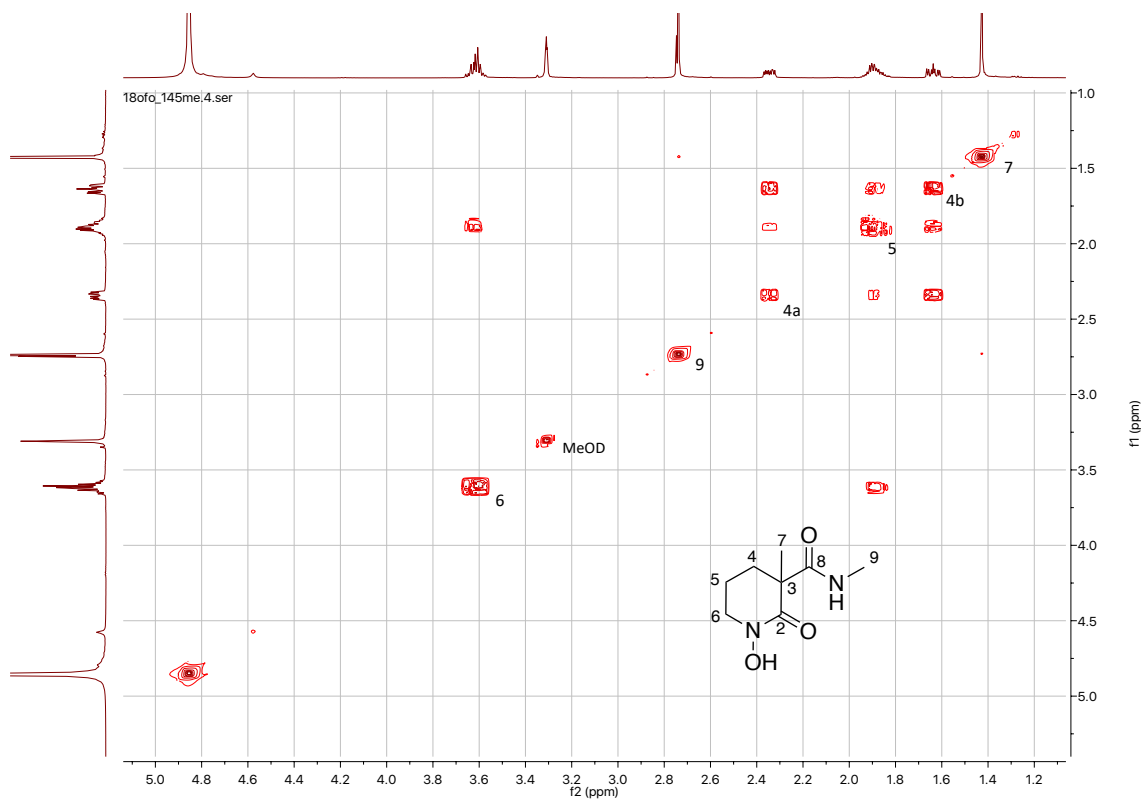
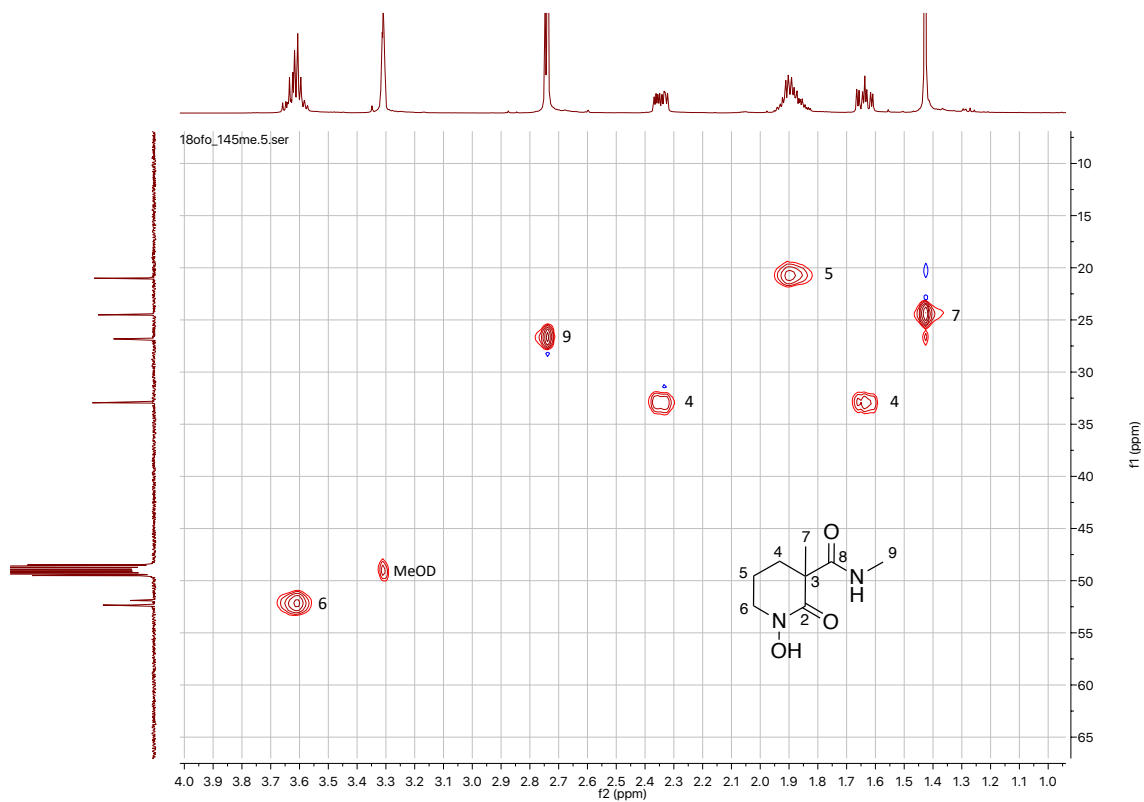
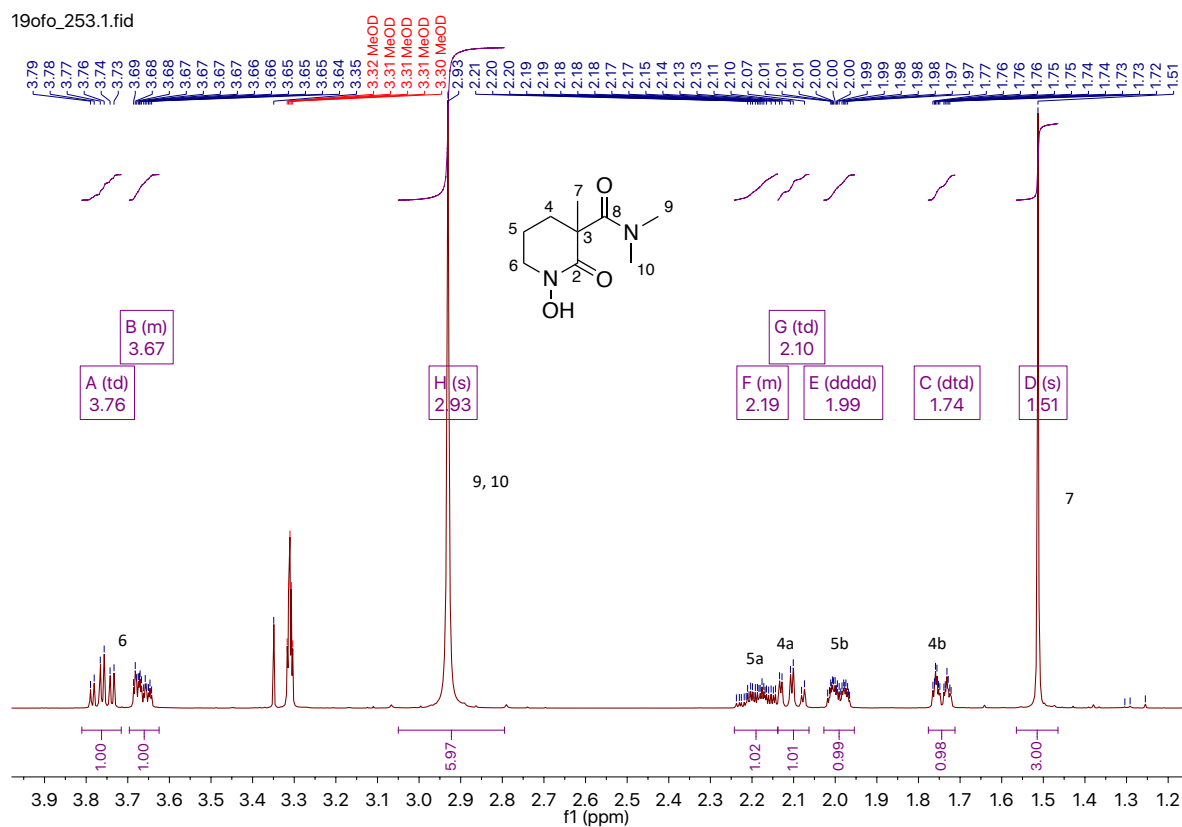
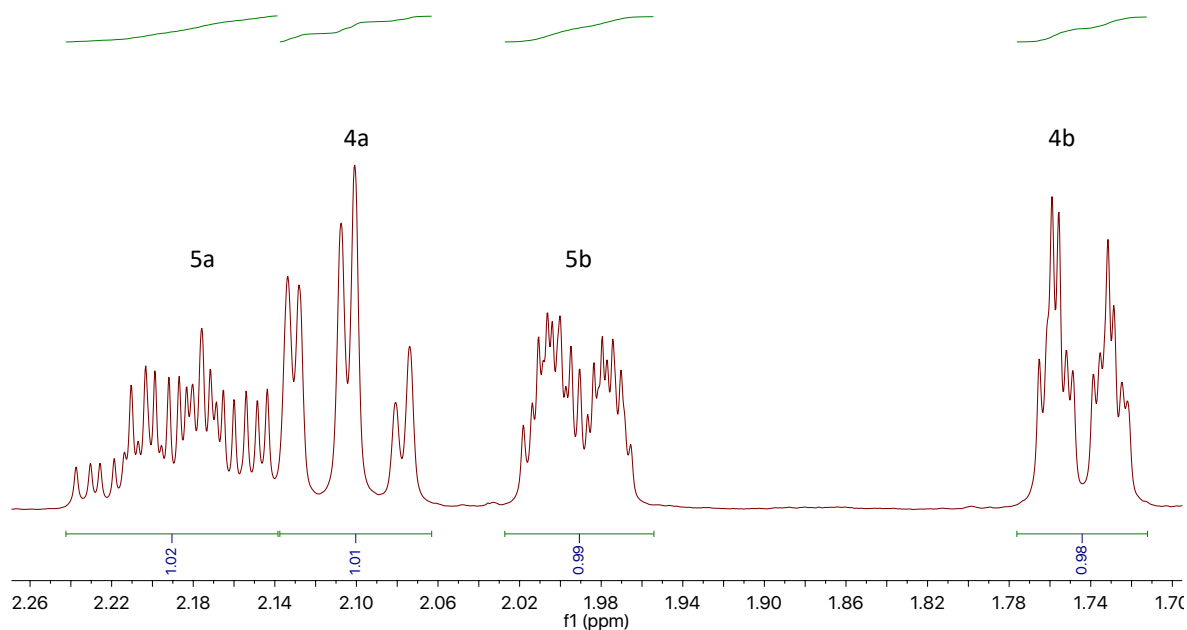
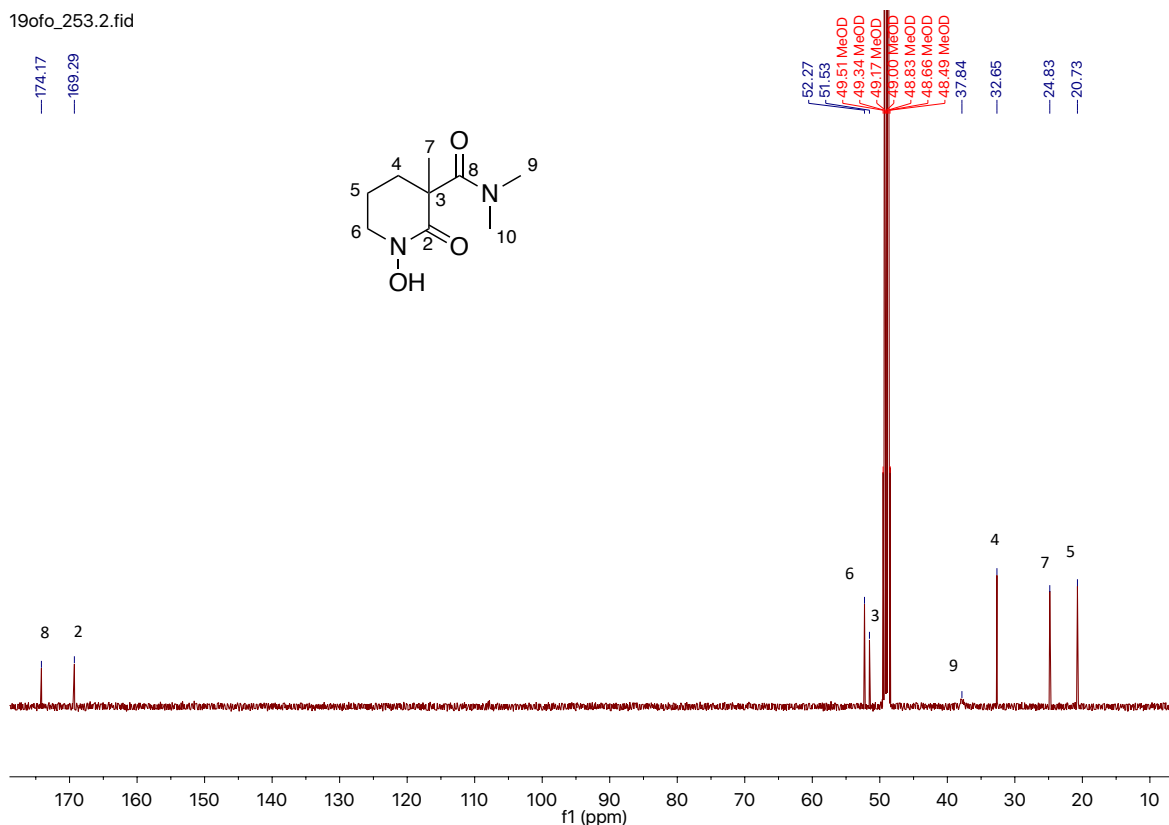


Diagramme de corrélation ^1H - ^1H COSY de (10) (500 MHz, MeOD)

Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HSQC de (**9**) (500 et 126 MHz, MeOD)

(10) - PIPODMASpectre RMN ^1H de (10) (500 MHz, MeOD)Spectre RMN ^1H de (10), focus on 2.3 to 1.7 ppm

19of0_253.2.fid



Spctre RMN ^{13}C de (10) (126 MHz, MeOD)

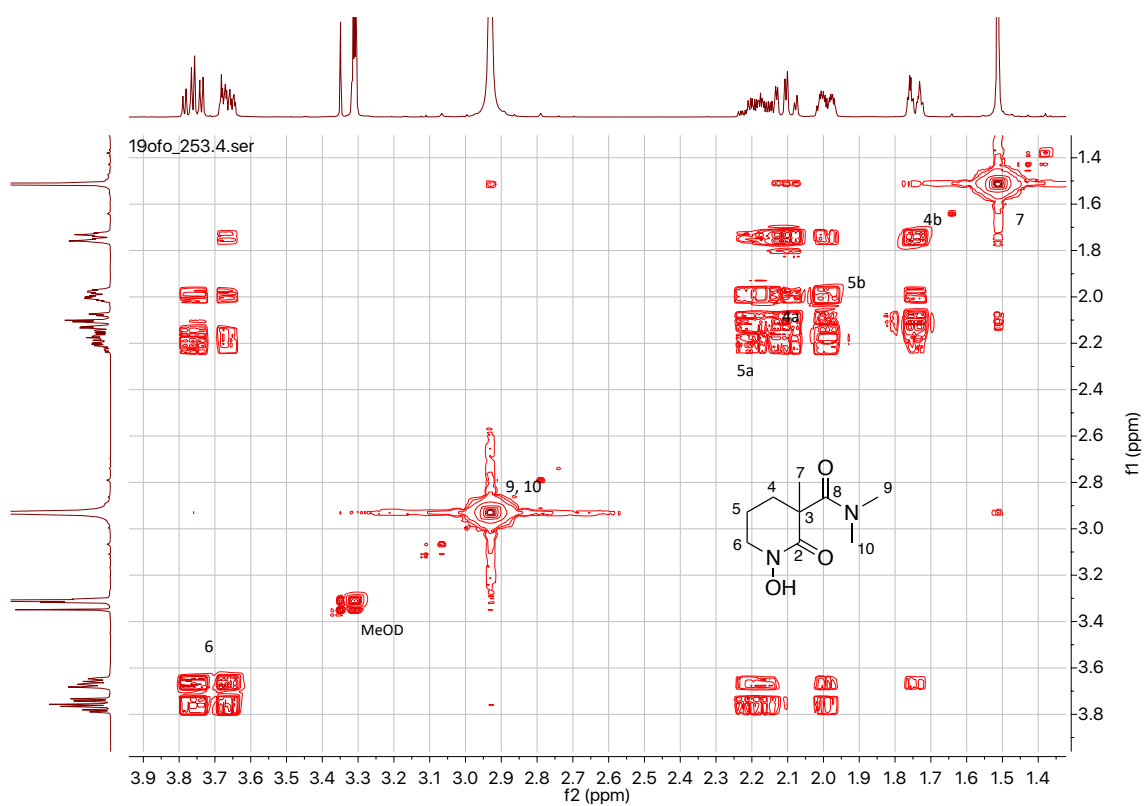
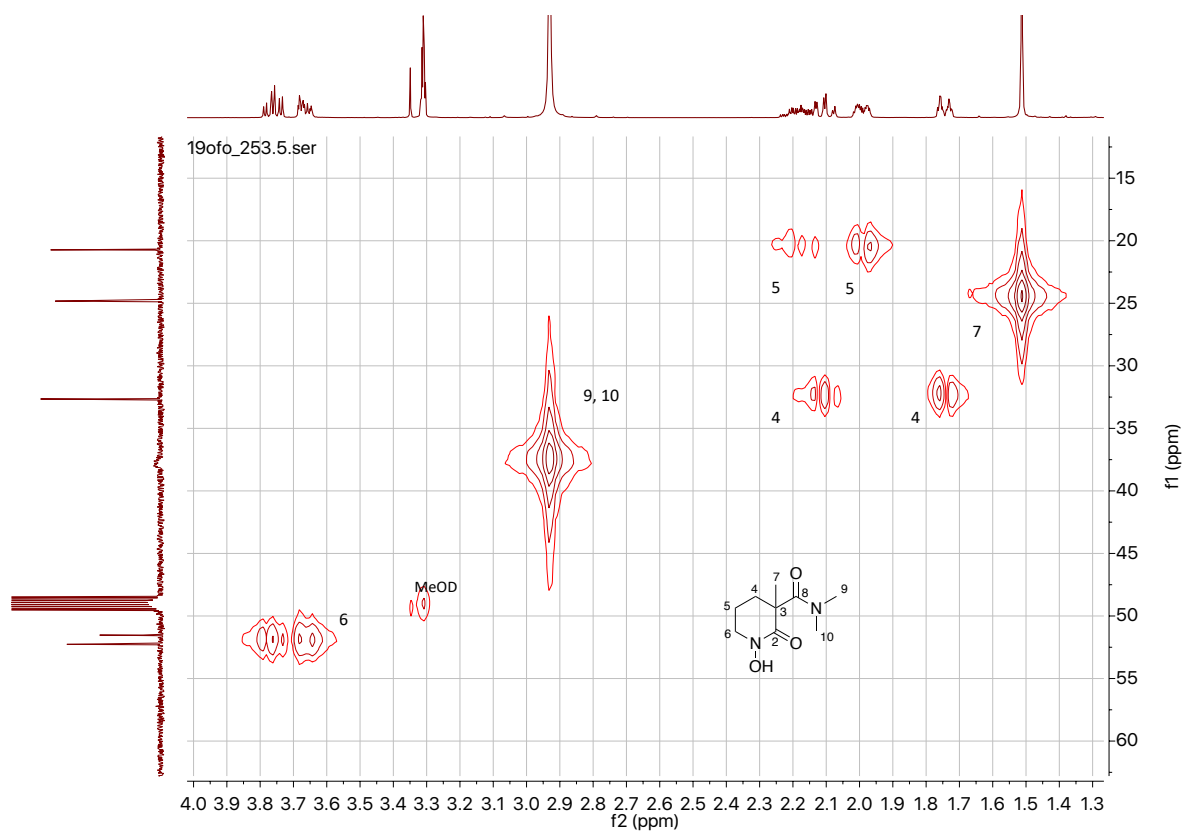
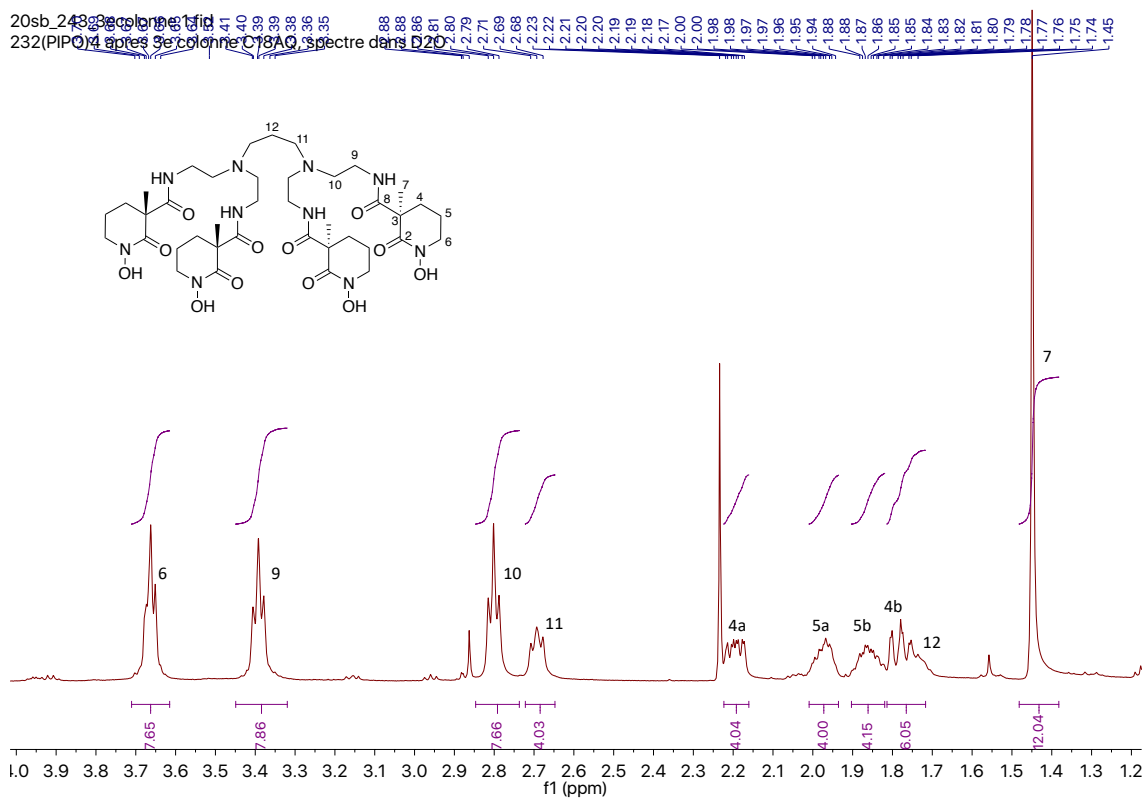
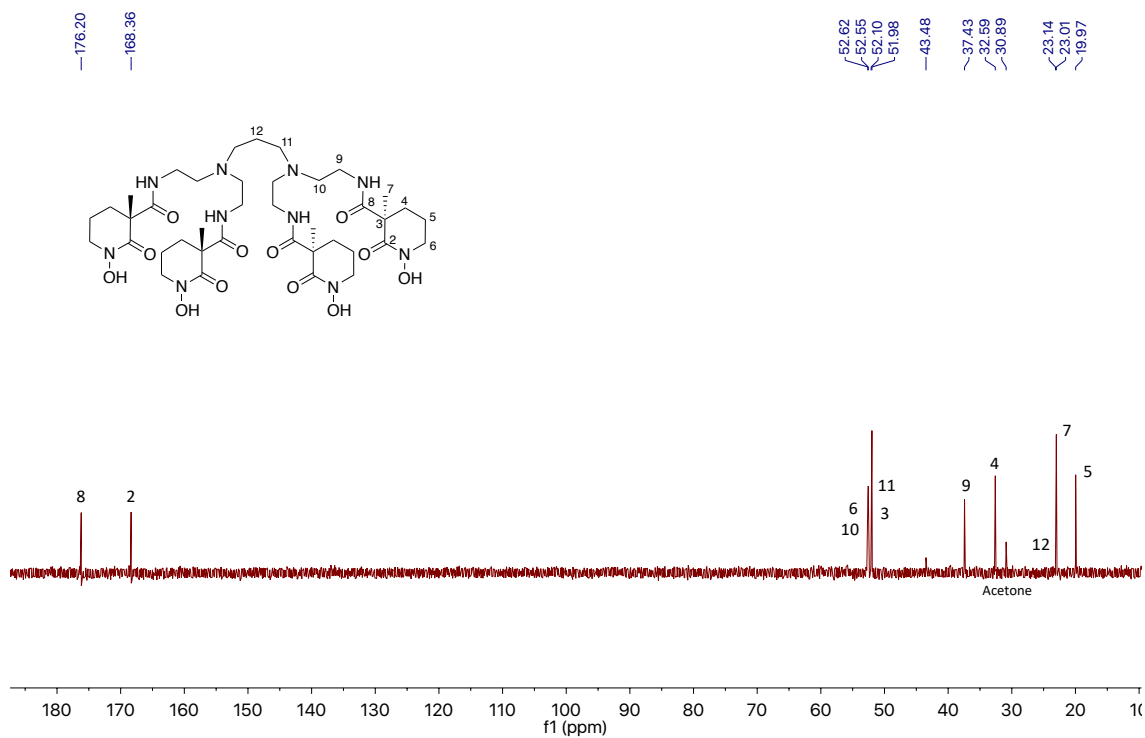
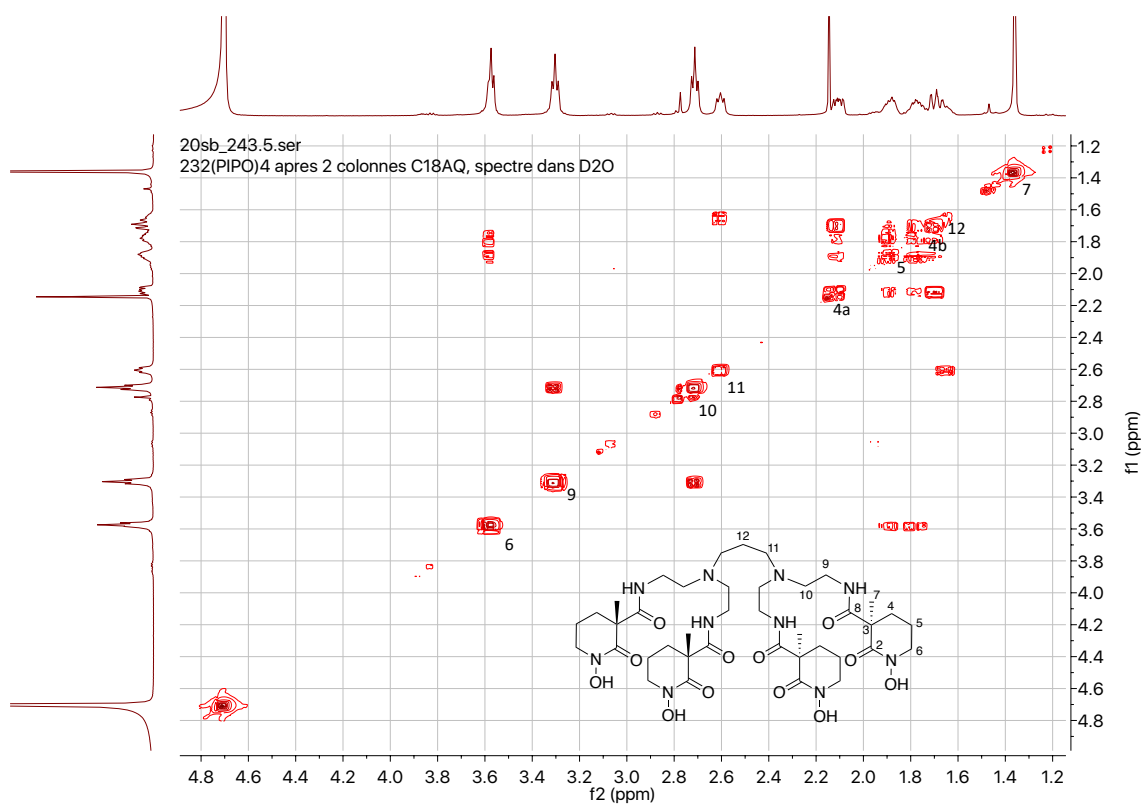
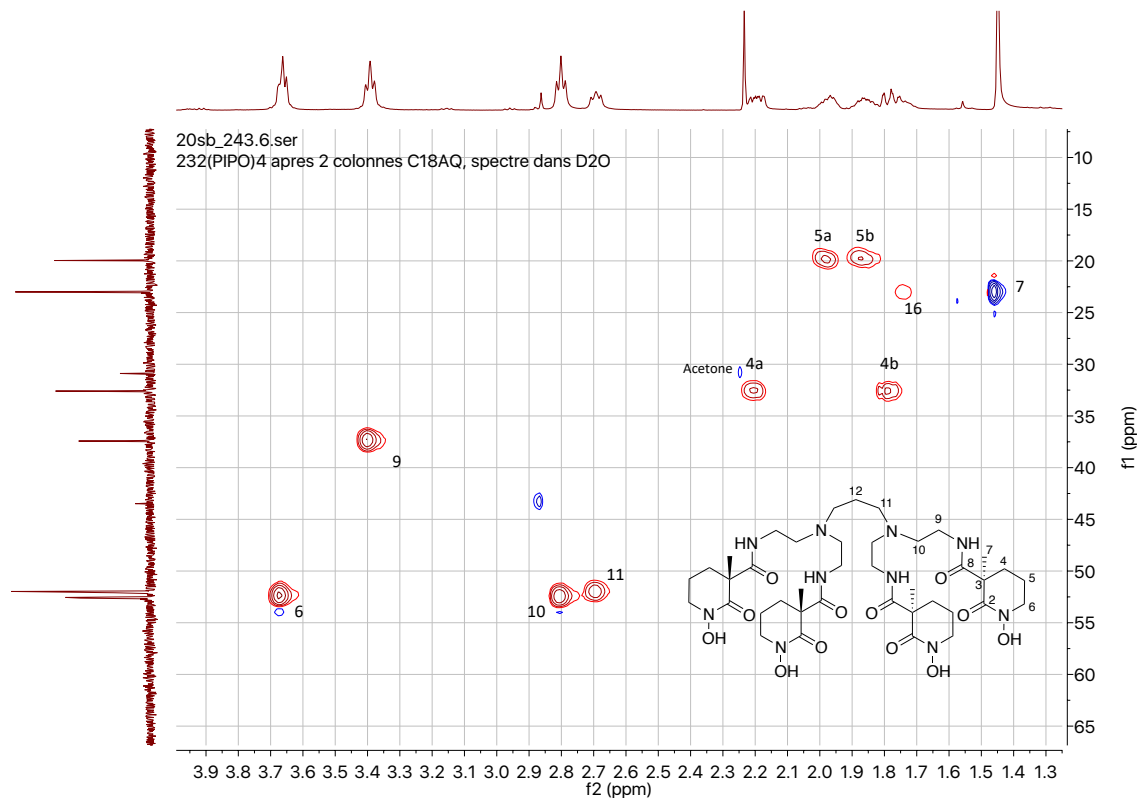


Diagramme de corrélation ^1H - ^1H COSY de (10) (500 MHz, MeOD)

Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HMBC de (10) (500 et 126 MHz, MeOD)

(30) – HA-2,3-PIPOSpectre RMN ^1H de HA-2,3-PIPO (500 MHz, D $_2$ O avec un insert de C $_6$ D $_6$ en référence)Spectre RMN ^{13}C de HA-2,3-PIPO (126 MHz, D $_2$ O avec un insert d'acétone en référence)

Diagramme de corrélation ^1H - ^1H COSY de HA-2,3-PIPO (500 MHz, D_2O avec insert C_6D_6)Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HSQC de HA-2,3-PIPO (500 et 126 MHz, D_2O avec acétone)

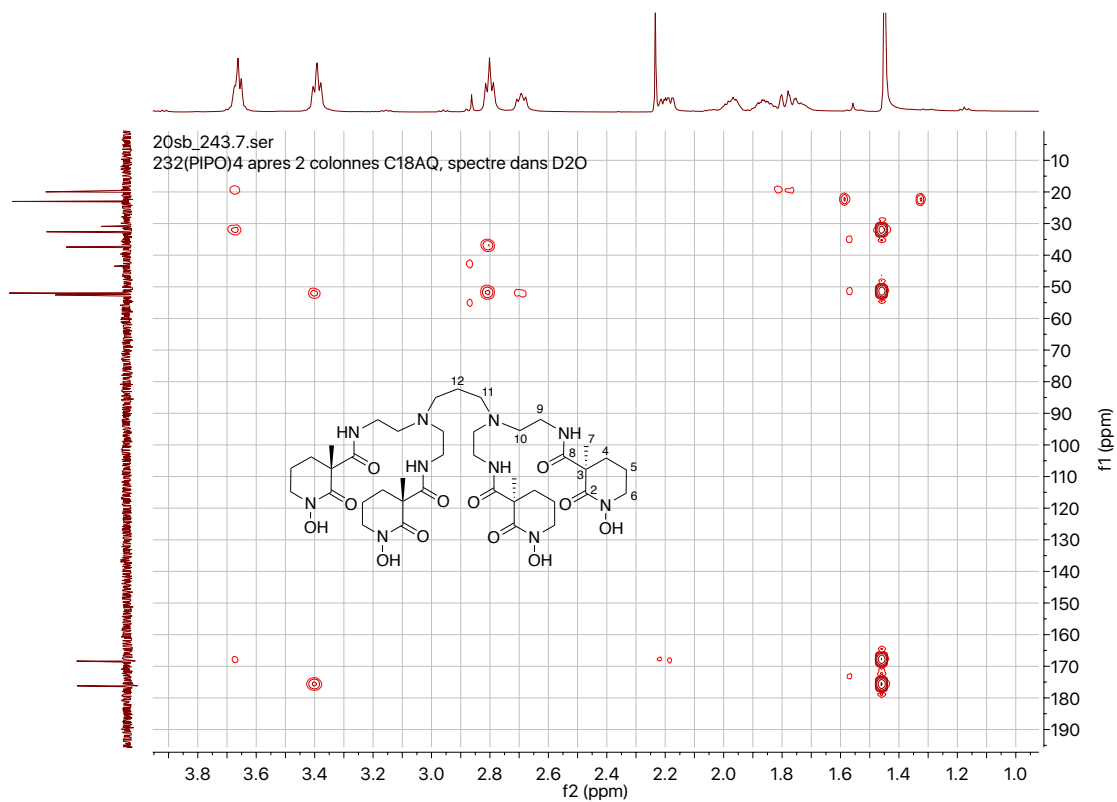


Diagramme de corrélation ^1H - ^{13}C HMBC de HA-2,3-PIPO (500 et 126 MHz, D_2O avec acétone).

Synthèse de nouveaux séquestrants bioinspirés de radionucléides tétravalents destinés à la mise-au-point de dispositifs analytiques de terrain pour le contrôle environnemental *in situ*.

Mots clés : acides hydroxamiques, résines d'extraction solide/liquide, séquestrants d'actinides, synthèse

Le but ultime de nos travaux était de développer un dispositif de gradients de diffusion en couches minces (DGT) spécifique des actinides tétra- (Th^{4+} , Pu^{4+}) et hexavalents (UO_2^{2+}). La partie active d'un accumulateur DGT est sa phase réceptrice, constituée d'une résine chélatrice spécifique de l'analyte ciblé encapsulée dans un gel hydrophile.

Le premier volet se focalise sur le développement d'une méthode fiable de greffage de ligands sur deux résines organiques hydrophiles commerciales. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés à un sidérophore bactérien disponible commercialement, la desferrioxamine B (DFO), chélateur naturel du fer qui possède une forte affinité pour tous les cations acides de Lewis forts, dont les ions *5f* ciblés. Nous avons tiré profit de l'amine primaire terminale portée par la DFO pour greffer la molécule sur les chaînes polymériques du support, soit par la création d'une liaison peptidique avec la résine carboxylique CM Sephadex® C25, soit par l'ouverture de cycles époxy portés par la résine PuroLite® ECR8209. Plusieurs dizaines de grammes de chaque lot ont été produits en vue de confectionner et qualifier les accumulateurs DGT à l'aide d'eaux minérales dopées en uranium(VI) avant de les déployer en milieu naturel aquatique.

Le deuxième axe concernait la synthèse de ligands adaptés pour la complexation d'actinides tétravalents, bioinspirés de l'exochéline MN. Ce sidérophore possède une fonction acide hydroxamique cyclique à 6 atomes dont les atomes donneurs sont bloqués en conformation Z. Ce motif, dit PIPO, présente une affinité accrue vis-à-vis des cations métalliques par rapport aux analogues acycliques.

La première étape consistait à synthétiser des précurseurs PIPO substitués, à séparer les énantiomères, puis à étudier leurs propriétés stéréochimiques et de coordination. Dans un second temps, trois ligands tétrahydroxamiques octadentes, destinés à chélater des actinides tétravalents, ont été conçus. Quatre motifs PIPO ont été introduits sur trois squelettes carbonés linéaires ou branchés, de longueur et de flexibilité variables. Les essais de complexation du thorium(IV) et du zirconium(IV), succédanés du plutonium(IV), indiquent la formation de complexes de stœchiométrie 1:1. Fort de ce résultat, nous avons modifié la synthèse de l'un des tétrapodes chiraux afin d'insérer un bras d'ancrage porteur d'une fonction amine terminale. Cette fonction a permis de conjuguer le chélateur à un anticorps et de préparer un radiotracer TEP marqué au ^{89}Zr en cours d'évaluation préclinique.

Synthesis of new bioinspired sequestering agents of tetravalent radionuclides and development of analytical field devices for their *in situ* environmental monitoring.

Keywords : actinide sequestering agents, synthesis, hydroxamic acids, solid/liquid extracting resins

The ultimate goal of our work was to develop diffusive gradient in thin-film (DGT) devices specific for tetra- (Th^{4+} , Pu^{4+}) and hexavalent actinides (UO_2^{2+}). The active part of a DGT accumulator is its receptor phase, consisting of a chelating resin specific to the targeted analyte embedded in a hydrophilic gel.

The first part focuses on the development of a reliable method for grafting ligands onto two commercial hydrophilic organic resins. For this purpose, we selected the commercially available bacterial siderophore desferrioxamine B (DFO), a natural iron chelator that has a high affinity for all strong Lewis acid cations, including the targeted *5f* ones. We took advantage of the terminal primary amine of DFO for grafting the molecule onto the polymeric chains of the support, either by creating a peptide bond with the carboxylic resin CM Sephadex® C25, or by opening one dangling epoxy ring of the PuroLite® ECR8209 resin. Several tens of grams of each material were produced in order to manufacture and validate the DGT devices, using uranium(VI)-doped mineral waters before deploying them in the Oeuf river (France).

The second topic dealt with the synthesis of sequestering agents of tetravalent actinides, bioinspired by exochelin MN. This siderophore incorporates a 6-membered cyclic hydroxamic acid moiety, whose donor atoms are blocked in their Z conformation. Coined PIPO, this binding unit exhibits an increased affinity towards metal cations compared to its acyclic analogs.

In a first step, we synthesized substituted PIPO precursors, isolated both enantiomers, and studied their stereochemical and coordination properties. In a second step, we designed three octadentate tetrahydroxamic ligands for the chelation of tetravalent actinides. Four PIPO units were attached to three linear or branched amines of varying length and flexibility. Complexation tests with thorium(IV) and zirconium(IV), taken as plutonium(IV) surrogates, indicated the formation of 1:1 metal/ligand complexes. Based on this result, we modified the synthesis of one of the chiral tetrapods by inserting an anchoring arm that bears a terminal amine group. The chelator was appended to an antibody and the resulting bioconjugate labeled with ^{89}Zr to produce a PET radiotracer that is currently undergoing preclinical evaluation.